ارایه روشی برای جداسازی و تهیه استخوان‌های طبیعی از جسدهای فیکس شده و ارزیابی کیفی آن

دکتر علیقلی سبحانی[1]، دکتر حسین نیکزاد[2]، دکتر محمداکبری[1]

خلاصه

سابقه و هدف: استفاده از استخوان‌های طبیعی در امر آموزش آناتومی از اهمیت خاصی برخوردار است. با توجه به کمبود و پایین بودن کیفیت استخوان‌های موجود در بخش‌های آناتومی و به منظور ارایه روشی مناسب برای جداسازی و تهیه استخوان‌های طبیعی از جسدهای فیکس شده، این تحقیق در سال ۱۳۷۸ انجام گرفت.

مواد و روشها: این تحقیق از استخوان‌های جسد فیکس شده با محلول فرمالین، فنل، الکل و گلیسیرین در گروه آناتومی دانشگاه علوم پزشکی تهران صورت پذیرفت. ابتدا با قیچی و چاقوی جراحی بافت نرم از روی استخوان‌ها برداشته شد و جهت حذف کامل بافت نرم، استخوان‌ها به مدت ۲۴ ساعت در محلول آب و هیپوکلرید سدیم قرارگرفتند و پس از شستشو و خشک کردن استخوان‌ها در Oven پنجاه درجه سانتی‌گراد، چربی آنها به وسیله محلول بنزین-اتیل الکل گرفته شد. در مرحله بعد، استخوان‌ها را در هوای آزاد خشک نموده و با استفاده از محلول ۵ درصد آب اکسیژنه(H_2O_2)سفید گردیدند. در پایان، پس از خشک کردن نهایی روی استخوان‌ها یک لایه نازک از روغن جلا زده شد. استخوان‌های تهیه گردیده در این روش با استخوان‌های موجود در بخش از نظر کیفیت (پوسیدگی، شکستگی) و حفظ ساختار آناتومیک مورد مقایسه قرار گرفته و از آنها فتوگرافی به عمل آمد.

یافته‌ها: استخوان‌های تهیه شده در این روش در مقایسه با استخوان‌های موجود در بخش آناتومی، پوسیدگی و شکستگی نداشته و ساختار آناتومیک آنها کاملا حفظ گردیده. از نظر بهداشتی مناسب‌تر می‌باشد. می‌توان آنها را تمیزکرد و تهیه آنها در تعداد زیاد و با هزینه کم امکان‌پذیر است.

نتیجه‌گیری: تهیه استخوان‌های با کیفیت بالاتر و به تعداد زیاد به روش پیشنهادی امکان‌پذیر بوده و استفاده از این استخوان‌ها در بخش‌های آناتومی باعث ارتقای آموزش آناتومی می‌گردد. تحقیقات بیشتر با تغییر در نوع مواد و روش‌های ارایه شده توصیه می‌گردد.

واژگان کلیدی: استخوان، جسد فیکس شده، روش جداسازی، روش سفید کردن استخوان

[1] - دانشگاه علوم پزشکی تهران، گروه آناتومی
[2] - دانشگاه علوم پزشکی کاشان، گروه آناتومی

مقدمه

آناتومی یکی از دروس پایه و مهم در برنامه‌های آموزشی دانشجویان پزشکی و رشته‌های وابسته می‌باشد که دانشجویان با ساختمان بدن انسان آشنا می‌شوند(۱) . مطالعات نشان می‌دهد که استفاده از ابزارهای آموزشی مثل مولاژ و استخوان طبیعی باعث تسهیل در امر یادگیری دانشجویان می‌گردد (۲،۳) . تهیه استخوان‌های طبیعی و با کیفیت مناسب همیشه با مشکلاتی همراه بوده و بخش‌های آناتومی با کمبود این استخوان‌ها روبرو می‌باشند. امروزه، از روش‌های مختلفی برای جداکردن بافت نرم از استخوان‌های طبیعی استفاده می‌کنند.

به کارگیری موادی مثل هیدروکسید پتاسیم، پاپاین papain و پاپاین به همراه دستگاه sonication در نمونه‌های فیکس‌نشده و حیوانات آزمایشگاهی گزارش گردیده است (۴،۵) . روش تهیه استخوان از طریق جوشاندن جسد و استفاده از استخوان‌های خارج‌شده از زیر خاک در قبرستان‌های متروکه نیز وجود دارد (مشاهدات محقق) که این روش‌ها هر کدام مشکلات و معایبی دارند که امکان تهیه استخوان به تعداد زیاد و با کیفیت خوب را غیرممکن می‌سازد(۵،۶).

در روش جوشاندن به علت انتشار مواد ثابت‌کننده در محیط، عوارض جسمانی و روحی و از بین رفتن قوام و رنگ طبیعی استخوان‌ها کمتر مورد توجه قرار می‌گیرد(۶،۷) و از طرف دیگر، استخوان‌های خارج شده از زیر خاک به علت پوسیدگی شدید و از بین رفتن ساختار آناتومیک آنها و احتمال سرایت بیماری ویروسی و باکتری‌هایی از جمله کزاز و هپاتیت از طریق خاک آلوده از کیفیت خوبی برای آموزش برخوردار نمی‌باشند(۴). با توجه به موارد مذکور و نیاز بخش‌های آناتومی به استخوان‌های طبیعی و به منظور تهیه این استخوان‌ها و تضمین سلامتی دانشجویان و افراد شاغل، این تحقیق به منظور بررسی روش جدیدی را برای تهیه استخوان‌های طبیعی از جسدهای فیکس و موجود در بخش‌های آناتومی انجام گرفت تا نتایج آن جهت استفاده همکاران ارایه شود.

مواد و روشها

در این تحقیق از استخوان‌های جسدی که ٤ سال قبل با استفاده از محلول فرمالین، فنل، الکل و گلیسرین در بخش آناتومی دانشگاه علوم پزشکی تهران فیکس شده بود، استفاده گردید و مراحل زیر به ترتیب برای حصول به نتیجه صورت پذیرفت.

۱- برداشتن بافت نرم از استخوان

ابتدا بافت‌های نرم اطراف استخوان با استفاده از چاقوی جراحی مناسب برداشته شده و سپس استخوان‌ها را بر حسب حجم و بزرگی به مدت ۸ تا ٢٤ ساعت در محلول آب و هیپوکلریت سدیم (NaCl) به نسبت ۲ به ۱ قرار داده تا بافت‌های ظریف متصل به استخوان کاملا حذف گردند. در پایان این مرحله، جهت جلوگیری از اثرات جانبی محلول هیپوکلریت سدیم، استخوان‌ها به مدت ۳ ساعت در آب جاری شستشو داده شدند.

۲- آبگیری و خشک کردن استخوان

در این مرحله، استخوان‌ها، به مدت ۳۰تا ٦۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد درون دستگاه خشک‌کن (Oven) قرار گرفتند.

۳- حذف چربی استخوان

در این مرحله، استخوان‌های خشک شده به مدت ٢٤ ساعت در محلول بنزن و اتیل الکل

(نسبت ۲ به ۱) قرار داده شدند. استخوان‌ها باید کاملا در محلول غوطه‌ور بوده و هر چند ساعت یک‌بار به هم زده شوند. در پایان این مرحله استخوان‌ها به مدت ۲٤ ساعت در هوای اتاق قرار داده شدند تا کاملا خشک شوند.

۴- سفید کردن استخوان

در این مرحله، استخوان‌ها به مدت ۷۲ ساعت در محلول ۵ درصد آب اکسیژنه (H_2O_2) قرار داده شدند. ارتفاع ظرف چنان انتخاب شده بود که محلول مذکور به خوبی همه استخوان‌ها را در بر می‌گرفت. در پایان این مرحله، استخوان‌ها با پودر شوینده و آب جاری به مدت ۲ ساعت شسته شدند.

۵- خشک کردن نهایی استخوان

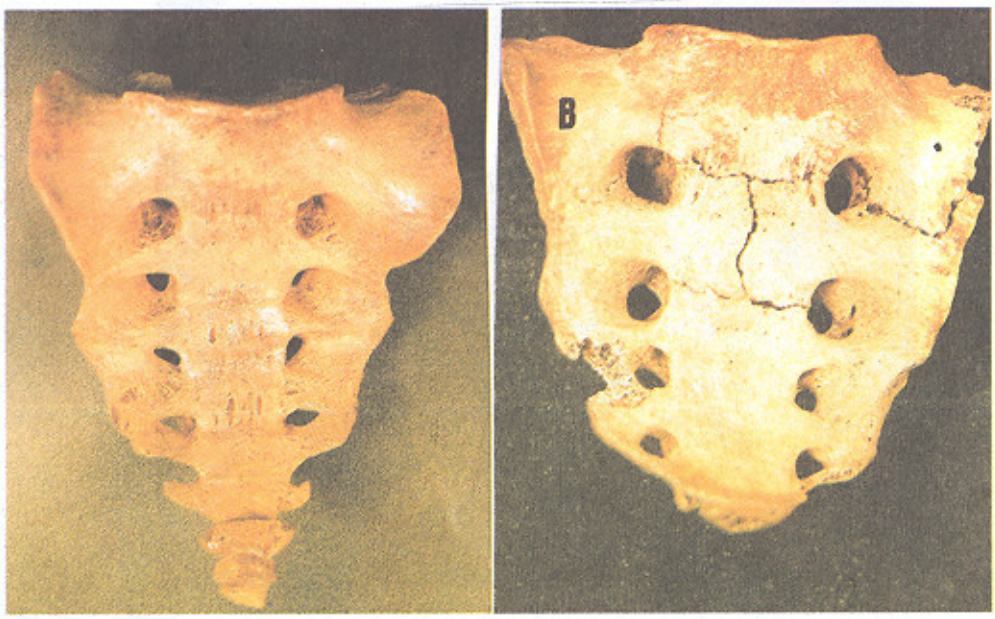
در این مرحله، استخوان‌ها حداقل به مدت ۲٤ ساعت در هوای آزاد زیر نور آفتاب قرار داده شد تا به طور کامل خشک گردند.

۶- جلا دادن به استخوان

در این مرحله، بر روی استخوان یک لایه روغن جلا جهت محافظت بیشتر زده شد. در پایان استخوان‌های تهیه گودیده ازنظرشکستگی، میزان خوردگی و حفظ ساختار طبیعی آناتومیک با استخوان‌های‌مشابه وموجوددربخش که به‌طورعمده ازاستخوان‌های‌خارج شده از زیر خاک بودند مورد مقایسه قرار گرفته و از آنها فتوگرافی به عمل آمد.

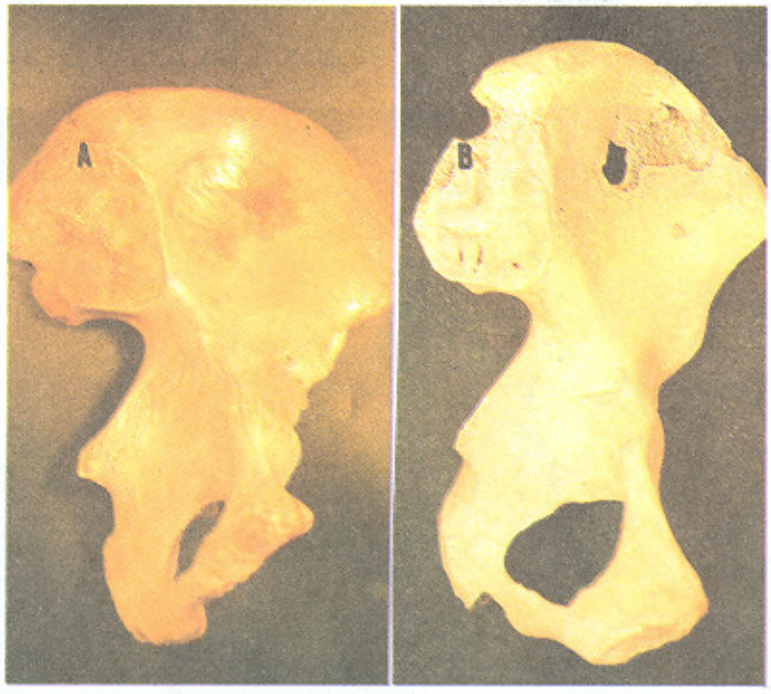
یافته‌ها

مقایسه استخوان‌های تهیه شده با روش پیشنهادی بااستخوان‌های‌خارج گردیده اززیرخاک نشان‌داد که از استحکام و قوام بیشتری برخوردار بوده،ساختار آناتومیک آنها به طور کامل حفظ شده و فاقد پوسیدگی،خوردگی و شکستگی می‌باشند(شکل‌های ۱و۲و۳).دراین روش پیشنهادی تهیه استخوان‌هایی به تعداد زیاد با هزینه کمترو بهداشتی بهترامکان‌پذیر است.



شکل ۱- فتوگرافی معمولی از استخوان خاجی تهیه شده در این طرح (A) و استخوان خاجی مورد استفاده دانشجویان در بخش آناتومی (B). استخوان خاجی موجود در بخش آناتومی کاملا فرسوده بوده و آثار شکستگی در قسمت‌های گوناگون آن به طور کامل مشهود است.

شکل۲- فتوگرافی معمولی از استخوان ران تهیه شده در این پروژه (A) و استخوان ران مورد استفاده دانشجویان در بخش آناتومی (B). استخوان‌های ران مورد استفاده در بخش‌های آناتومی به طور عمومی در انتها فرسوده است که در این شکل نیز سایدگی در ناحیه سروتر کانتر بزرگ کاملا مشخص می‌باشد.



شکل۳- فتوگرافی معمولی از استخوان لگن تهیه شده در این پروژه (A) و استخوان لگن موجود در بخش آناتومی (B). استخوان لگن مورد استفاده در بخش دارای پوسیدگی و خوردگی شدید بوده و بعضی از ساختارهای آناتومیک آن از بین رفته است.

بحث

تحقیق نشان داده که روش جداسازی استخوان از جسدهای فیکس شده و سفید کردن آنها مقدور بوده و از لحاظ کیفی و ساختار آناتومیک نسبت به استخوان‌های موجود در بخش آناتومی که به صورت عمده از روش خارج نمودن از زیر خاک تهیه شده بودند از کیفیت بالاتری برخوردار می‌باشند.

روش‌های شیمیایی مختلفی جهت جداسازی استخوان از بافت نرم ارایه گردیده که به طور کلی در نمونه‌های فیکس نشده و حیوانات آزمایشگاهی می‌باشند. استفاده از هیدروکسید پتاسیم، پاپاین و پاپاین به همراه دستگاه Sonication می‌باشد که نتایج کاملا رضایت‌بخشی داشته‌اند(٤،٥). انجام این روش بر روی جسدهای فیکس نشده نیز در بعضی از بخش‌های آناتومی مرسوم بوده است(مشاهدات محقق) که این روش نیز به علت جوشاندن طولانی مدت استخوان، انتشار مواد فیکس‌کننده در محیط و عوارض جسمانی و روحی، کمتر مورد استفاده قرار می‌گیرد. و از طرف دیگر استخوان‌های تهیه شده به علت جوشانده‌شدن طولانی مدت تیره رنگ بوده و از استحکام کمی برخوردارند(٦،٧). روش شایع دیگری که برای تهیه استخوان در ایران مرسوم است، استفاده از استخوان‌های خارج شده از زیر خاک در قبرستان‌های متروکه می‌باشد که در این روش استخوان‌ها دچار پوسیدگی و خوردگی شدید بوده، ساختار آناتومیک و طبیعی آنها از بین رفته است و احتمال ایجاد آلودگی در آنها نیز بالا می‌باشد(٤).

بدین ترتیب مقایسه روش پیشنهادی در این بررسی با روش‌های ذکر شده در بالا از ارجحیت نسبی برخوردار بوده و امکان تهیه استخوان‌هایی با کیفیت بالاتر، استحکام بیشتر و عوارض کمتر را فراهم می‌نماید.

در روش پیشنهادی، ماده شیمیایی هیپوکلریت سدیم جهت جداسازی بافت‌های ظریف از استخوان به کار رفت که در اثر ترکیب گروه هالوژنه (Cl^-) این ماده با فنل و ایجاد نمک‌های غیر سمی محلول در آب، این عمل سریع‌تر صورت می‌پذیرد. میزان حلالیت فنل در آب ۹ گرم در ۱۰۰ سی‌سی می‌باشد، در صورتی که حلالیت آن در نمک‌های هالوژنه به مراتب بیشتر است(۵)، رعایت غلظت و مدت زمان تماس با استخوان باید به دقت کنترل شود تا موجب خوردگی و شکنندگی استخوان نگردد.

استفاده از دستگاه خشک‌کن با حرارت ۵۰ درجه سانتی‌گراد جهت خشک کردن استخوان‌ها به خصوص در مناطق مرطوب و سرد پیشنهاد می‌شود ولی در مناطقی که نور آفتاب به میزان کافی وجود دارد می‌توان استخوان‌ها را در آفتاب خشک کرد.البته استفاده از دستگاه خشک‌کن بعد از مرحله چربی‌گیری با بنزن و الکل توصیه نمی‌شود، چون احتمال آتش‌سوزی وجود دارد.

استفاده از آب اکسیژنه جهت سفید کردن استخوان روش مرسومی می‌باشد. در این مرحله، امکان ظهور لکه‌های آجری و قرمز رنگ بر روی استخوان وجود دارد که در صورت مشاهده این لکه‌ها استخوان‌ها را باید بلافاصله در آب جاری شستشو داد. استفاده از رنگ جلا در پایان کار باعث شفافیت استخوان‌ها و افزایش استحکام آنها می‌گردد و از نظر بهداشتی نیز از کیفیت بالاتری برخوردار می‌گردند.

در پایان با توجه به نیاز بخش‌های آناتومی به استخوان‌های طبیعی و اهمیت استفاده از این

استخوان‌ها در بهبود میزان یادگیری دانشجویان به نتایج کامل‌تر با تغییر در نوع مواد و روش‌های توصیه می‌گردد که تحقیقات بیشتری جهت رسیدن ارایه شده انجام گیرد.

References:

1- Aziz MA. Mc Kemzie JC. The sead can still teach the living: The status of cadaver-based anatomy in The age of electronic media. Perspec Biol Med . 1999; 42: 402-421.

2- Max SC Jr. Information technology, mesical education and anatomy for the twenty-first century. Clin Anat. 1996; 9: 343-348.

3- Dinsmore CE. Daugherry S. Teaching and learning gross anatomy: dissection, prosection, or both of the above. Clin Anat.1998; 12: 110-114.

٤- سبحانی ع . تغییرا ت مورفولوژیک جمجمه و نحوه رویش دندان در موش استئوپورتیک مجله دندانپزشکی ۱۳۷۵؛ ۸(۲): ۳۸-۲۵.

٥- بهجتی، برات اله و همکاران. شیمی آلی،جلد دوم، چاپ سوم، سال ۱۳۷٤، صص ۳٦۱-۳٦۰.

٦- سیدی اصفهانی ع . شیمی آلی، چاپ سوم. جلد دوم. تهران؛۱۳۷٤: ۱۰۷۱-۱۰۷۰.

۷- اصیلیان ع. اصیلیان ح. بیماری‌های شغلی پوست. جلد اول تهران: ۱۳۷۲ ؛۱۲٤.

۸- احمدی س. دایره المعارف فشرده شیمی و مهندسی شیمی تهران : ۱۳٦۸: ٥٦۲.