

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

دکتر علیقلی سبحانی^۱، دکتر حسین نیکزاد^۱، دکتر محمد اکبری^۲

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، فنسل، الکل و گلیسرین 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 قرار گرفتند و پس از شستشو و خشک کردن استخوان‌ها در Oven پنج‌جاه درجه سانتی‌گراد، جرمی آنها به وسیله محلول بنزین-اتیل الکل گرفته شد. در مرحله بعد، استخوان‌ها را در هوای آزاد خشک نسوده 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 کاملاً حفظ گردیده، از نظر بهداشتی مناسب‌تر می‌باشد، می‌توان آنها را تمیز کرد 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

^۱ - دانشگاه علوم پزشکی تهران، گروه آناتومی

^۲ - دانشگاه علوم پزشکی کاشان، گروه آناتومی

مقدمه

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 ۴ 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 ۲۴ ساعت در محلول آب و هیپوکلریت سدیم (NaCl) به نسبت ۲ به ۱ قرار داده تا بافت‌های ظریف متصل به استخوان کاملاً 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 ۳۰ تا ۶۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد درون دستگاه خشک کن (Oven) قرار گرفتند.

۳- حذف چربی استخوان

در این مرحله، استخوان‌های خشک شده به مدت ۲۴ ساعت در محلول بنزن و اتیل الکل

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

روغن جلا جهت محافظت بیشتر زده شد. در پایان استخوان‌های تهیه گردیده از نظر شکستگی، میزان خوردگی و حفظ ساختار طبیعی آناتومیک با استخوان‌های مشابه و موجود در بخش کسه به طور عمده از استخوان‌های خارج شده از زیر خاک بودند مورد مقایسه قرار گرفته و از آنها فتوگرافی به عمل آمد.

یافته‌ها

مقایسه استخوان‌های تهیه شده با روش پیشنهادی با استخوان‌های خارج گردیده از زیر خاک نشان داد که از استحکام و قوام بیشتری برخوردار بوده، ساختار آناتومیک آنها به طور کامل حفظ شده و فاقد پوسیدگی، خوردگی و شکستگی می‌باشند (شکل‌های ۱ و ۲ و ۳). در این روش پیشنهادی تهیه استخوان‌هایی به تعداد زیاد با هزینه کمتر و بهداشتی بهتر امکان‌پذیر است.

(نسبت ۲ به ۱) قرار داده شدند. استخوان‌ها باید کاملاً در محلول غوطه‌ور بوده و هر چند ساعت یکبار به هم زده شوند. در پایان این مرحله استخوان‌ها به مدت ۲۴ ساعت در هوای اتاق قرار داده شدند تا کاملاً خشک شوند.

۴- سفید کردن استخوان

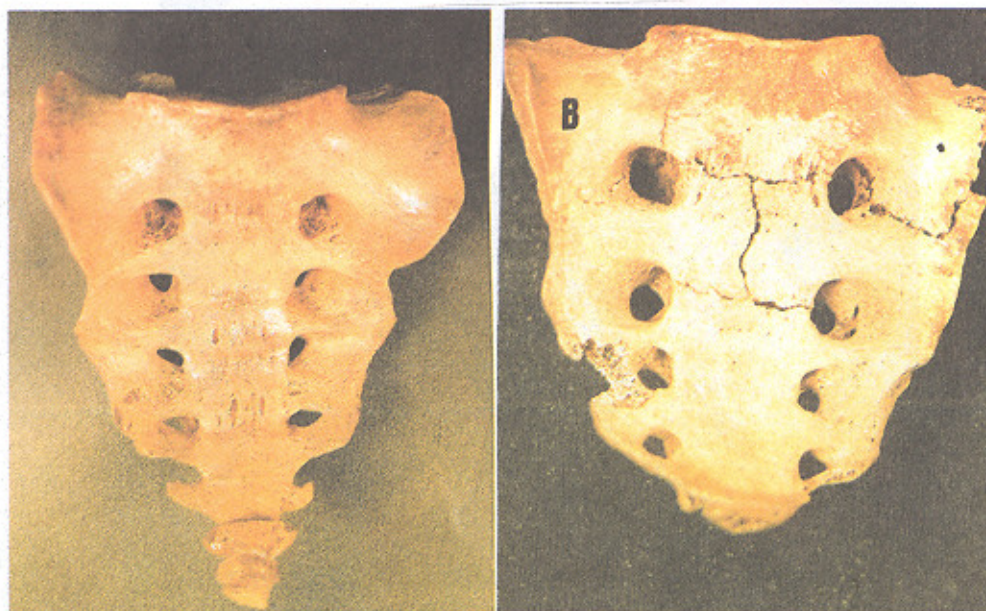
در این مرحله، استخوان‌ها به مدت ۷۲ ساعت در محلول ۵ درصد آب اکسیژنه (H_2O_2) قرار داده شدند. ارتفاع ظرف چنان انتخاب شده بود که محلول مذکور به خوبی همه استخوان‌ها را در بر می‌گرفت. در پایان این مرحله، استخوان‌ها با پودر شوینده و آب جاری به مدت ۲ ساعت شسته شدند.

۵- خشک کردن نهایی استخوان

در این مرحله، استخوان‌ها حداقل به مدت ۲۴ ساعت در هوای آزاد زیر نور آفتاب قرار داده شد تا به طور کامل خشک گردند.

۶- جلا دادن به استخوان

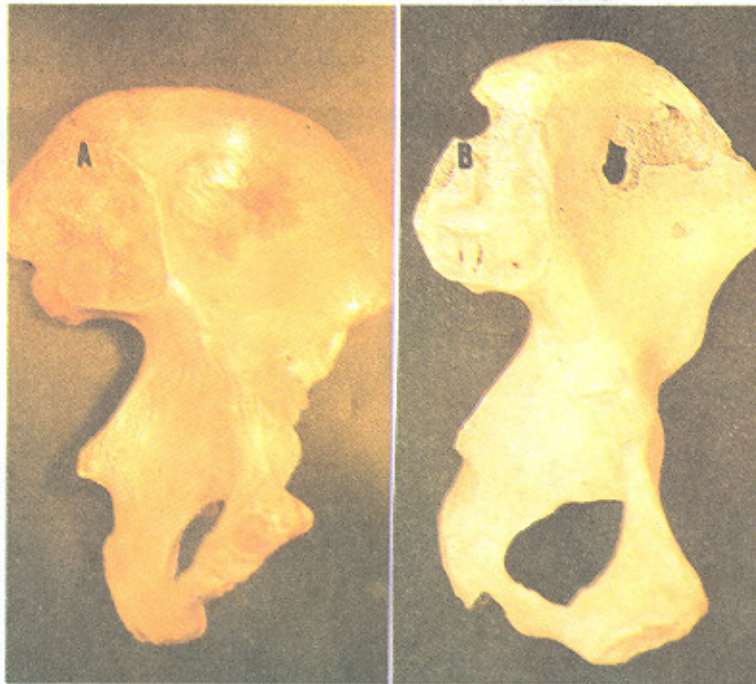
در این مرحله، بر روی استخوان یک لایه



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 کاملاً فرسوده بوده و آثار شکستگی در قسمت‌های گوناگون آن به طور کامل مشهود است.



شکل ۲- 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 ساییدگی در ناحیه سروترکانتر بزرگ کاملاً مشخص می‌باشد.



شکل ۳- 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 جسد های فیکس شده و سفید کردن آنها مقدر بوده و از لحاظ کیفی و ساختار آناتومیک نسبت به استخوان های موجود در بخش آناتومی که به صورت عمده از روش خارج نمودن از زیر خاک تهیه شده بودند از کیفیت بالاتری برخوردار می باشند.

روش های شیمیایی مختلفی جهت جداسازی استخوان از بافت نرم ارایه گردیده که به طور کلی در نمونه های فیکس نشده و حیوانات آزمایشگاهی می باشند. استفاده از هیدروکسید پتاسیم، پاپاین و پاپاین به همراه دستگاه Sonication می باشد که نتایج کاملاً رضایت بخشی داشته اند (۴،۵). انجام این روش بر روی جسد های فیکس نشده نیز در بعضی از بخش های آناتومی مرسوم بوده است (مشاهدات محقق) که این روش نیز به علت جوشاندن طولانی مدت استخوان، انتشار مواد فیکس کننده در محیط و عوارض جسمانی و روحی، کمتر مورد استفاده قرار می گیرد. و از طرف دیگر استخوان های تهیه شده به علت جوشانده شدن طولانی مدت تیره رنگ بوده و از استحکام کمی برخوردارند (۶،۷). روش شایع دیگری که برای تهیه استخوان در ایران مرسوم است، استفاده از استخوان های خارج شده از زیر خاک در قبرستان های متروکه می باشد که در این روش استخوان ها دچار پوسیدگی و خوردگی شدید بوده، ساختار آناتومیک و طبیعی آنها از بین رفته است و احتمال ایجاد آلودگی در آنها نیز بالا می باشد (۴).

بدین ترتیب مقایسه روش پیشنهادی در این بررسی با روش های ذکر شده در بالا از ارجحیت نسبی برخوردار بوده و امکان تهیه استخوان هایی با کیفیت

بالاتر، استحکام بیشتر و عوارض کمتر را فراهم می نماید.

در روش پیشنهادی، ماده شیمیایی هیوکلریت سدیم جهت جداسازی بافت های ظریف از استخوان به کار رفت که در اثر ترکیب گروه هالوژنه (Cl^-) این ماده با فنل و ایجاد نمک های غیر سمی محلول در آب، این عمل سریع تر صورت می پذیرد. میزان حلالیت فنل در آب ۹ گرم در ۱۰۰ سی سی می باشد، در صورتی که حلالیت آن در نمک های هالوژنه به مراتب بیشتر است (۵)، رعایت غلظت و مدت زمان تماس با استخوان باید به دقت کنترل شود تا موجب خوردگی و شکستگی استخوان نگردد.

استفاده از دستگاه خشک کن با حرارت ۵۰ درجه سانتی گراد جهت خشک کردن استخوان ها به خصوص در مناطق مرطوب و سرد پیشنهاد می شود ولی در مناطقی که نور آفتاب به میزان کافی وجود دارد می توان استخوان ها را در آفتاب خشک کرد. البته استفاده از دستگاه خشک کن بعد از مرحله چربی گیری با بتزن و الکل توصیه نمی شود، چون احتمال آتش سوزی وجود دارد.

استفاده از آب اکسیژنه جهت سفید کردن استخوان روش مرسوم می باشد. در این مرحله، امکان ظهور لکه های آجری و قرمز رنگ بر روی استخوان وجود دارد که در صورت مشاهده این لکه ها استخوان ها را باید بلافاصله در آب جاری شست و داد. استفاده از رنگ جلا در پایان کار باعث شفافیت استخوان ها و افزایش استحکام آنها می گردد و از نظر بهداشتی نیز از کیفیت بالاتری برخوردار می گردند.

در پایان با توجه به نیاز بخش های آناتومی به استخوان های 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.
- ۴- سبحانی ع. تغییرات مورفولوژیک جمجمه و نحوه رویش دندان در موش استنوپورتیک مجله دندانپزشکی ۱۳۷۵؛ ۸(۲): ۳۸-۲۵.
- ۵- بهجتی، برات اله و همکاران. شیمی آلی، جلد دوم، چاپ سوم، سال ۱۳۷۴، صص ۳۶۱-۳۶۰.
- ۶- سیدی اصفهانی ع. شیمی آلی، چاپ سوم. جلد دوم. تهران: ۱۳۷۴؛ ۱۰۷۱-۱۰۷۰.
- ۷- اصیلان ع. اصیلان ح. بیماری‌های شغلی پوست. جلد اول تهران: ۱۳۷۲؛ ۱۲۴.
- ۸- احمدی س. دایره المعارف فشرده شیمی و مهندسی شیمی تهران : ۱۳۶۸؛ ۵۶۲.