

● مقاله تحقیقی



دکتر مهدی قدری گلستانی^۱

انوشه کاظمیان^۲

دکتر بابک ارجمند^{۱*}

دکتر سیدحمیدرضا آقایان^۱

دکتر سیدامیرحسین توکلی^۲

سید کاظم حسینی^۴

دکتر فرخ تیرگری^۵

دکتر پیمان قهاری^۱

دکتر سیدمحمد جواد مرتضوی^۶

بررسی اثر استریل سازی با پرتو گاما بر خواص القای استخوانسازی پودر دمنیرالیزه استخوان آلوگرافت

چکیده

نرمینه: یکی از روش های استریل سازی نهایی استخوان های آلوگرافت استفاده از پرتو گاما می باشد. این مطالعه به منظور بررسی اثرات این پرتو با دوز ۲۵ کیلوگری، بر خواص القای استخوان سازی پودر استخوان دمنیرالیزه انجام شده است.

روش کار: این تحقیق به روش تجربی و در مدل حیوانی انجام شد. پودر استخوان دمنیرالیزه استریل شده با پرتو گاما با دوز ۲۵ کیلو گرمی به مدت ۱۸ ساعت، به عنوان گروه مورد بررسی و پودر استخوان دمنیرالیزه تهیه شده به روش استریل اولیه، به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شد. ۳۰ میلی گرم پودر استخوان از هر گروه به صورت مجزا در عضلات پاراورتبرال چپ و راست ۱۸ موش صحرایی^۱ کاشته شدند. پس از ۴ هفته نمونه های پیوند شده همراه با حاشیه ۰/۵ سانتیمتر برداشت و قابلیت تحریک استخوان سازی در دو گروه با بررسی هیستوپاتولوژیک مقایسه گردید.

یافته ها: در بررسی نمونه های شاهد بجز یک مورد در بقیه نمونه ها (۹۴/۴٪) شواهد تشکیل بافت جدید استخوانی دیده شد؛ که این تغییرات در گروه مورد بررسی تنها در ۵ نمونه (۲۷/۷٪) مشاهده گردید که این اختلاف از نظر آماری معنی دار بود.

نتیجه گیری: با توجه به این که استفاده از پرتوگاما منجر به کاهش قابل توجه در خاصیت القای استخوان پودر استخوان دمنیرالیزه می شود، استفاده از روش های استریل سازی جایگزین می تواند منجر به ارتقای کیفیت و اثر بخشی این محصول پیوندی شود.

واژگان کلیدی: آلوگرافت، القای استخوان سازی، پرتو گاما، پودر استخوان دمنیرالیزه

۱. پزشک عمومی، مرکز تحقیقات و بانک فرآورده های پیوندی ایران، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۲. کارشناس میکروب شناسی، مرکز تحقیقات و بانک فرآورده های پیوندی ایران، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۳. متخصص بیماری های اعصاب و روان، مرکز تحقیقات و بانک فرآورده های پیوندی ایران، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۴. کارشناس ارشد میکروب شناسی، مرکز تحقیقات و بانک فرآورده های پیوندی ایران، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۵. متخصص آسیب شناسی، انستیتو کانسر، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۶. متخصص جراحی استخوان و مفاصل، مرکز تحقیقات و بانک فرآورده های پیوندی ایران، دانشگاه علوم پزشکی تهران

***نشانی نویسنده مسئول:** تهران، انتهای بلوار کشاورز، بیمارستان امام خمینی، مرکز تحقیقات و بانک فرآورده های پیوندی ایران، صندوق پستی ۱۴۱۸۵/۸۶۸، تلفن: ۶۶۴۲۸۲۸۸، فکس: ۶۶۹۳۱۸۱۸، پست الکترونیکی: arjmand_itb@yahoo.com

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۶/۳/۱۶

تاریخ اصلاح نهایی: ۱۳۸۶/۳/۱۲

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۵/۲/۲۲

مقدمه

امروزه پیوند استخوان آلوگرافت کاربرد فراوانی در رشته های مختلف علم پزشکی دارد. اعمال جراحی ارتوپدی، جراحی اعصاب، جراحی های فک و صورت و دندانپزشکی نمونه هایی از حیطه کاربردی این رده از محصولات می باشند. سابقه پیوند استخوان آلوگرافت به حدود ۱۰۰ سال قبل باز می گردد. در طی سال های ۱۸۸۰ تا ۱۹۸۰ مشکل اصلی، تهیه استخوان آلوگرافت و اغلب پیوندها در این دوره از نوع اتوگرافت بود. اولین مورد پیوند استخوان آلوگرافت در سال ۱۸۸۱ توسط مک ایوان^۱ انجام گرفت. در طی این عمل قطعه ای از استخوان بازوی فرد مبتلا به استئومیلیت با استخوان آلوگرافت جایگزین شد [۱] با توجه به استقبال روز افزون جراحان از محصولات پیوندی مشتق از استخوان آلوگرافت، توجه به اثربخشی و مطمئن بودن بافت پیوندی اهمیت ویژه دارد. امکان انتقال بیماری های عفونی ویروسی از قبیل HIV 1&2, HTLV 1&2، هپاتیت B و C، سیتومگالو ویروس و بیماری های پریونی از طریق پیوند بافت های آلوده انسانی در مطالعات مختلفی گزارش شده است. خطر انتقال این گونه بیماری ها در پیوند نسوج اسکلتی - عضلانی، ارتباط نزدیکی با

روش های فرآوری و نوع نسج مورد استفاده دارد [۲-۴]. خطر انتقال بیماری ها از طریق ارزیابی و انتخاب صحیح اهداکننده، انجام تست های غربالگری، فرآوری صحیح و استفاده از روش های استریل سازی نهایی محصول، به حداقل می رسد [۵]. روش های مختلفی برای استریل سازی نهایی استخوان آلوگرافت وجود دارد که از جمله آنها می توان به استریل سازی با پرتوهای پرنرژ، دمای بالا و مواد شیمیایی اشاره نمود. از سال ۱۹۵۰ میلادی مطالعات فراوانی در مورد اثربخشی و عوارض سوء پرتو گاما بر روی استخوان های آلوگرافت، انجام شده است. باید در نظر داشت که دوز بالای پرتو گاما تغییرات شیمیایی و فیزیکی متعددی در بافت ایجاد می کند که می تواند منجر به اختلال در خواص بیوفیزیک و بیولوژیک استخوان شود. با وجود این که ویروس ها بیشترین مقاومت را نسبت به پرتو تابانی دارند، در مطالعاتی مشخص شده است که در صورت استفاده از روش ها و دوز مناسب و کافی اشعه، ویروس های HCV و HIV موجود در بافت های اسکلتی - عضلانی، از بین می روند [۶]. هیلمی^۲ و همکاران اثر بخشی بالینی استخوان های بلند را که در معرض ۲۵ کیلوگری پرتو گاما قرار گرفته بودند، مورد مطالعه قرار دادند که تفاوت معنی داری با استخوان های آسپتیک نداشتند [۷]. انجمن

نسج اروپا و آژانس بین المللی انرژی اتمی دوز ۲۵ کیلوگری و انجمن بانک های نسج آمریکا حداقل دوز بیش از ۱۵ کیلوگری را، قابل قبول می دانند [۸-۱۰]. برخی از صاحب نظران دوز ۳۵ کیلوگری را پیشنهاد می کنند [۱۱]. در مطالعه گلوآکی^۳ و مولی کن^۴ اثر روش های مختلف فرآوری بر خواص القای استخوان سازی، بررسی شد [۱۲]. یوریست^۵ و هراندز^۶ نشان دادند که تابش گاما در حد ۴۰ کیلوگری، خواص القای استخوان سازی پودر استخوان دمینرالیزه را کاهش می دهد [۱۳]. گلوآکی و همکاران اثر تابش ۲۰ کیلوگری پرتو گاما بر خواص القای استخوان سازی را در پودر استخوان دمینرالیزه مدل حیوانی، بررسی کردند که نتیجه این بررسی کاهش ۲۰ درصدی نسبت به گروه کنترل بود [۱۴]. گوکلاوسکا^۷ و همکاران نشان دادند که تابش ۳۵ تا ۵۰ کیلوگری پرتو گاما در دمای محیط، خواص القای استخوان سازی پودر استخوان دمینرالیزه موش صحرایی را به طور کامل از بین می برد [۱۵].

علاوه بر خواص بیولوژیک، خواص بیومکانیک استخوان نیز تحت تأثیر گاما قرار می گیرد. در مطالعه انجام شده توسط آکوس^۸ و وریمناک^۹ قطعات پرتو دهی شده استخوان

3 - Glowacki
4 - Mulliken
5 - Urist
6 - Hernandez
7 - Goclawaska
8 - Akkus
9 - Rimnac

2 - Hilmy

1 - Mac Ewan



کورتیکال آلوگرافت با دوز ۲۷/۵ کیلوگری، در مقابل نیروهای کششی و فشارنده نسبت به گروه کنترل، کاهش مقاومت معنی‌داری دارند [۱۶].

با توجه به نظرات مختلف در مورد اثرات پرتو گاما بر خواص زیستی استخوان آلوگرافت و مشتقات آن، این مطالعه با هدف بررسی اثرات پرتو گاما به عنوان روش استریل کننده ثانویه، بر خاصیت القای استخوان‌سازی پودر استخوان دمینرالیزه انجام شده است.

روش کار

این تحقیق به روش تجربی در مدل حیوانی، در مرکز تحقیقات و بانک فرآورده‌های پیوندی ایران و بخش هیستوپاتولوژی انستیتو کانسر بیمارستان امام خمینی، از فروردین ماه سال ۱۳۷۹ لغایت اردیبهشت ماه سال ۱۳۸۳ انجام شد. آلوگرافت‌های استخوانی منطبق با دستورالعمل‌های استاندارد شده از سوی بانک فرآورده‌های پیوندی ایران و پس از کسب رضایت آگاهانه از اولیای دم، تا ۲۴ ساعت پس از فوت برداشت شدند. نمونه‌ها از دیافیز استخوان فمور تهیه شدند و از هر نمونه به طور مساوی دو قسمت طولی، انتخاب و تحت آماده‌سازی قرار گرفت. با توجه به انجام مطالعه بر روی آلوگرافت‌های استخوان

انسانی و محدودیت تهیه این آلوگرافت‌ها برای بیماران کاندید پیوند استخوان و وجود لیست انتظار، تنها آلوگرافت‌هایی برای این مطالعه انتخاب شدند که طبق بررسی‌های آزمایشگاهی به دلیل آلودگی با مارکرهای ویروسی، غیرقابل پیوند بودند. با توجه به این که نمونه‌های مورد استفاده در مطالعه از نظر آلودگی ویروسی مثبت بودند؛ محققین نسبت به این مطلب آگاهی کامل داشته و در طول مدت تحقیق رعایت کلیه اصول و مراقبت‌های لازم در تماس با مایعات و مواد مشکوک، الزامی بوده و هر گونه وسیله مصرفی قبل از عملیات استفاده مجدد و پس از دفع ضایعات و رفع آلودگی، با محلول استریل کننده کارخانه دکونکس یا تحت استریل‌سازی با بخار، قرار می‌گرفتند. جهت تهیه پودر استخوان دمینرالیزه ابتدا نمونه‌های تنه فمور از انتهای قسمت کورتیکال با اره ارتوپدی ساخت کارخانه استریکر^۱ به صورت چوب کبریتی برش داده شدند. قطعات با سطح مقطع ۲-۴ میلیمتر در هر بعد تهیه شده، با استفاده از دنده بر به قطعات کوچکتر از ۲ میلی‌متر تبدیل شدند. سپس با دستگاه آسیاب استخوان (IKA آلمان) تبدیل به ذرات پودری شدند. برای این کار از دو نوع فیلتر استیل زنگ نزن با قطر سوراخ ۱۵۰ میکرومتر و ۷۵۰ میکرومتر، جهت جداسازی

1 - Stryker

ذرات حد فاصل این دو اندازه، استفاده شد. در مرحله دمینرالیزاسیون، نمونه‌های پودری تهیه شده به مدت سه ساعت تحت اثر اسیدکلریدریک ۰/۵ نرمال (کمپانی Merck آلمان) قرار گرفتند تا میزان کلسیم به زیر ۱۰٪ برسد. سپس اسید باقیمانده با آب فوق خالص^۲ بدون اندوتوکسین، شسته شد. این کار حداقل ۶ مرتبه (بسته به حجم پودر) انجام شد که در صورت رسیدن PH به ۶-۷ شستشو کامل تلقی شده و خاتمه می‌یافت. در پایان برای تثبیت PH خنثی از بافر تریس^۳ (کمپانی ICN آمریکا) در نرمال سالین با غلظت ۵ gr/lit استفاده شد. در مرحله چربی‌زدایی^۴ ترکیبی از اتانول خالص (شرکت بیدستان) و کلروفرم (کمپانی Merck آلمان) با حجم برابر تهیه شد و قطعات استخوان به مدت ۲۴ ساعت در ۴ درجه سانتی‌گراد درون این محلول قرار گرفتند. پس از طی این مرحله نمونه‌ها ۲ مرتبه با اتانول استریل ۱۰۰٪ و ۵ مرتبه با آب فوق خالص، شستشو داده شدند. در گروه A (گروه شاهد) هیچگونه عملیات استریل‌سازی ثانویه‌ای صورت نگرفت. در گروه B (گروه مورد بررسی) پس از بسته‌بندی مناسب، نمونه‌ها همراه با یخ خشک به سازمان انرژی اتمی ارسال شدند. عملیات استریل‌سازی در چشمه کبالت ۶۰ با

2 - Ultra Pure Water

3 - Tries

4 - Defating

دوز ۲۵ کیلوگری پرتو گاما و به مدت ۱۸ ساعت انجام گرفت. نمونه‌های استریل شده با پرتو گاما پس از تحویل، همانند نمونه‌های شاهد تا زمان پیوند در فریزر ۸۶- درجه سانتی‌گراد (کمپانی New Brunswick آمریکا) نگهداری شدند. برای پیوند نمونه‌ها از تعداد ۱۸ سر موش صحرایی ماده با سن ۶ هفته استفاده شد که به صورت مجزا در قفس نگهداری می‌شدند و آب و غذای مناسب برای آنها تأمین می‌شد. محل نگهداری موش‌ها، آزمایشگاه حیوانات مرکز تحقیقات سرطان بیمارستان امام خمینی بود. برای انجام پیوند، موش‌ها با کمپلکس دیازپام و کتامین با تزریق داخل پری‌توئن به مدت ۳۰-۴۵ دقیقه بیهوش شدند. پس از زدودن موهای محل عمل، و تمیز کردن موضع جراحی با بتادین ۱۰٪، در پشت هر کدام از موش‌ها برش طولی به طول ۳ سانتی‌متر در خط وسط بر روی پوست ایجاد شده، پس از مشخص شدن عضلات پارا ورتبرال در هر طرف عضله، کیسه‌ای به صورت جداسازی غیرنافذ^۱ درون عضله ایجاد شد و ۳۰ میلی گرم از نمونه‌های A و B به صورت تصادفی و مجزا از هم در سمت چپ و راست و در محل کیسه عضلانی ایجاد شده، کاشته شدند. جهت جلوگیری از شسته شدن نمونه‌ها در اثر خونریزی مرتباً کیسه ایجاد شده با گاز استریل پاک می‌شد و در

صورت مخلوط شدن یا شسته شدن نمونه با خون، تمام محتویات کیسه خارج شده و مجدداً عملیات کاشت انجام می‌شد. پس از پیوند نمونه‌ها، شکاف فاسیای عضله با نخ نایلون ۴/۰ و پوست با نخ نایلون ۲/۰ به صورت مجزا^۲ بخیه زده شد و با چسب لکوپلاست کاملاً روی محل بخیه پوشانده شد؛ تا جلوی جویده شدن احتمالی بخیه توسط موش گرفته شود. این چسب در مراقبت‌های روزانه موش‌ها، مرتباً چک می‌شد. در تمام مدت عمل تا مرحله هوشیاری، موش‌ها روی تخت دارای گرم‌کن نگه داشته شدند و نگهداری روزانه تا مدت ۴ هفته انجام شد. موش‌های آماده شده پس از ۴ هفته و با استنشاق گاز CO₂ (با فشار ۱ اتمسفر)، در عرض نیم‌ساعت و بدون درد، کشته شدند. نمونه‌ها بلافاصله توسط فرد پیوند کننده با باز کردن بخیه‌های محل کاشت با ۵/۰ سانتیمتر از حاشیه اطراف برداشته شدند. هر نمونه به صورت جداگانه در فرمالین ۱۰٪ (کارخانه Merck آلمان) قرار داده شد و جهت انجام بررسی هیستوپاتولوژی به بخش هیستوپاتولوژی مرکز تحقیقات سرطان بیمارستان امام خمینی، ارسال شد. نمونه‌ها جهت بررسی، تحت عملیات تهیه لام و رنگ آمیزی H&E قرار گرفتند.

کلیه نمونه‌ها توسط یک آسیب‌شناس از

نظر ایجاد بافت استخوانی جدید به صورت بافته شده^۳ یا لایه‌ای^۴، وجود بافت غضروفی جدید، سلول‌های استئوبلاست و عناصر سلولی مغز استخوان، بررسی شدند. نمونه‌های حاوی بافت استخوانی زنده، از نظر القاء استخوان سازی مثبت و نمونه‌های حاوی پودر دمنیرالیزه استخوان بدون سلول استخوانی، منفی گزارش شدند. جهت تفسیر نتایج و مقایسه بین دو گروه از آزمون دقیق Fisher استفاده شد. مقادیر $P\text{-value} < 0.05$ ، از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شدند.

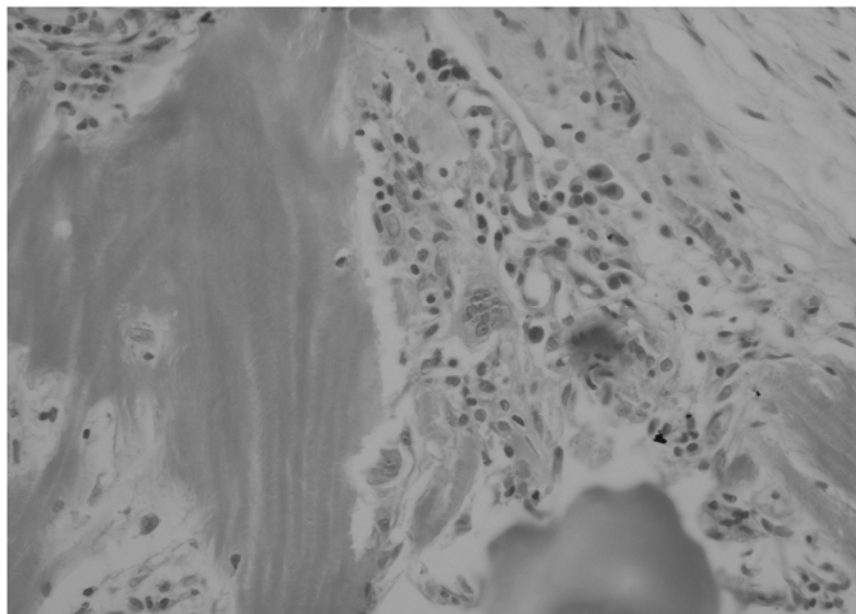
نتایج

در بررسی‌های هیستوپاتولوژیک، ایجاد بافت استخوانی جدید به صورت استخوان بافته شده همراه با سلول‌های استئوبلاست یا استئوسیت‌های قرار گرفته در ماده استئوئید زمینه‌ای، به عنوان اثر القاکننده تشکیل بافت استخوانی در نظر گرفته شد. همچنین رسوب لایه‌ای استئوسیت‌ها در بافت غیرزنده استخوان کاشته شده و تشکیل استخوان لایه‌ای همراه با ماده زمینه‌ای غضروف هیالین یا عناصری از مغز استخوان، به عنوان استخوان زنده در نظر گرفته شد که شاهی بر القاء ایجاد بافت استخوانی جدید می‌باشد. عدم تغییر در بافت استخوانی کاشته شده،

3 - Woven
4 - Lamellar

2 - Separate

1 - Blunt Dissection



شکل ۱

بوده و بررسی این اثرات برخواص القای استخوان‌سازی از اهداف اصلی تحقیق حاضر، بوده است.

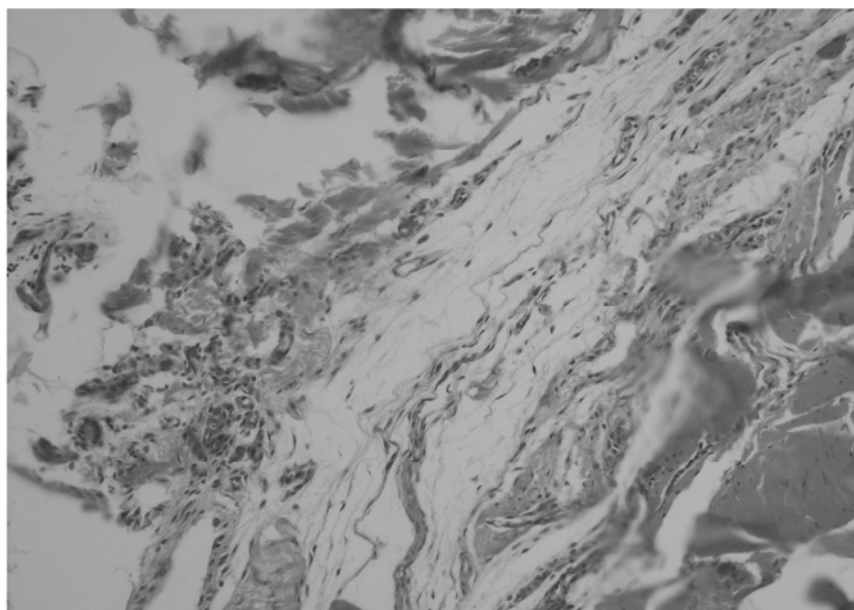
استفاده از پرتوهای پرنرژی (گاما و چشمه‌های الکترونی) با دو اثر مستقیم و غیرمستقیم می‌تواند باعث غیرفعال شدن میکروارگانیسم‌ها شود. اثر مستقیم ناشی از واکنش پرتو بر ذرات سلولی، به ویژه اسیدهای نوکلئیک است و اثر غیرمستقیم به دلیل ایجاد رادیکال‌های آزاد و سمی ایجاد شده در آب و اکسیژن موجود در فضای بین بافتی، می‌باشد. اختلاف نظر زیادی در مورد استفاده از پرتوهای پرنرژی در استریل‌سازی نسوج پیوندی وجود دارد که به طور عمده ناشی از اطلاعات ناکافی در مورد اثرات درمانی و عواقب استفاده نادرست از

کندروسیت و استئوبلاست نیز از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < 0.05$).

بحث

با توجه به افزایش روزافزون مصرف فرآورده‌های پیوندی در اعمال جراحی ارتوپدی، جراحی اعصاب، جراحی‌های فک و صورت و دندانپزشکی و افزایش ضریب اطمینان استفاده از این فرآورده‌ها، روش‌های استریل‌سازی محصولات و نتایج حاصل از آن همواره مورد توجه و بررسی بوده است. استفاده از پرتو گاما به دلیل سهولت کاربری و هزینه کمتر مقبولیت فراوانی دارد. اثرات سوء بر خواص فیزیکی و زیستی بافت از معایب روش استریل‌سازی نهایی با پرتو گاما

فقدان سلول‌های استئوبلاست یا استئوسیت زنده و ایجاد بافت فیبرو همراه با استئوکلاست، دلیلی بر عدم ایجاد استخوان جدید در نظر گرفته شد. پس از بررسی، تشکیل بافت استخوانی زنده که نشان‌دهنده اثر القای استخوان‌سازی پودر استخوان کاشته شده است، در ۱۷ نمونه (۹۴/۴٪) از گروه شاهد دیده شد (شکل ۱) و در گروه استریل شده با پرتو گاما به جز پنج نمونه (۲۷/۷٪)، در بقیه موارد مشاهده نشد (شکل ۲). در بررسی‌های آماری این اختلاف معنی‌دار بود ($P < 0.002$). تشکیل کندروسیت در گروه شاهد ۵/۵٪ و در گروه مورد بررسی، مشاهده نشد و تشکیل استئوبلاست در گروه شاهد ۸/۸٪ و در گروه مورد بررسی، ۵۰٪ بود. اختلاف تشکیل



شکل ۲

آن، می باشد. اثر پرتوتابی در داخل بدن جانداران، با اثر آن بر همان بافت در محیط آزمایشگاه متفاوت است. پرتو گاما با دوز ۳ تا ۵ گری می تواند آسیب وسیعی به بافت های داخلی فرد زنده، وارد نماید؛ در حالی که تابش ۱۰ کیلوگری به همان بافت در محیط آزمایشگاهی هیچ گونه تغییر قابل مشاهده ای در بافت، ایجاد نمی کند. در بین میکروارگانیسم ها، ویروس ها بیشترین مقاومت نسبت به پرتوتابی را دارند. با این وجود در مطالعات متعدد مشخص شده است که در صورت استفاده از روش های مناسب و دوز کافی اشعه می توان ویروس های HCV و HIV موجود در بافت های اسکلتی - عضلانی را از بین برد [۶]. هیلمی و همکاران دریافتند، اثر بخشی بالینی

استخوان های بلند که در معرض ۲۵ کیلوگری پرتو گاما قرار گرفته اند، تفاوت معنی داری با استخوان های آسپتیک ندارد [۷]. در انتخاب دوز مناسب، اختلاف نظر زیادی وجود دارد. انجمن نسج اروپا و آژانس بین المللی انرژی اتمی دوز ۲۵ کیلوگری [۸، ۹] و انجمن بانک های نسج آمریکا حداقل دوز بیش از ۱۵ کیلوگری را قابل قبول می داند [۱۰]. برخی از صاحب نظران جهت حصول اطمینان بیشتر از سلامتی بافت، دوز ۳۵ کیلوگری را پیشنهاد می کنند [۱۱]. نکته قابل توجه این است که با افزایش دوز، اگرچه اطمینان از سلامت بافت بیشتر می شود؛ لیکن احتمال آثار سوء بر خواص فرآورده از نگرانی های اصلی خواهد بود. روش های متعددی برای بررسی خواص

القای استخوان سازی فرآورده های مشتق از استخوان آلوگرافت، وجود دارد. این روش ها به دو صورت Invivo و Invitro انجام می شوند. مدل های حیوانی متعددی برای بررسی Invivo مورد استفاده قرار گرفته اند. غالب مطالعات از موش صحرایی برای بررسی استفاده کرده اند. طبق تعریف یک ماده القا کننده استخوان سازی قادر است در محلی که در حالت طبیعی فاقد بافت استخوانی است، استخوان طبیعی ایجاد کند. این تعریف با تبدیل بافت همبندی به بافت استخوانی تکمیل می شود. بنابراین جهت بررسی خواص القای استخوان سازی یک ماده در مدل حیوانی، باید تعریف فوق را مدنظر داشت. روش های کمی و کیفی مختلفی برای اندازه گیری استخوان سازی وجود دارد



که شامل بررسی‌های هیستو مورفولوژیک، رادیوگرافیک و بیوشیمی (اندازه‌گیری آلکالین فسفاتاز، مقدار کلسیم یا ایزوتوپ ^{45}An) است [۷]. در مطالعه انجام شده توسط گلوآکی و مولی‌کن اثر روش‌های مختلف فرآوری بر خواص القای استخوان‌سازی بررسی شد. برای این منظور از موش صحرایی نر ۲۸ روزه، استفاده شد و داخل بافت زیرجلدی، کانال کوچکی ایجاد و ۲۵ میلی‌گرم پودر دیمینرالیزه در فضای ایجاد شده، کاشته شد. پس از ۳ روز افزایش بافت همبندی و پس از ۹ روز شبکه‌ای از سلول‌های کندروبلاست با ماده زمینه غضروفی، قابل مشاهده است. ۱۴ روز بعد بافت استخوانی کلسیفیه به داخل پودر استخوان کاشته شده، نفوذ می‌کند که همراه با ردیفی از استئوبلاست‌های داخل استخوانی است [۱۲]. یوریست و هرناندز گزارش نمودند، تابش گاما در حد ۴۰ کیلوگری منجر به کاهش ۲۰ درصدی در خواص القای استخوان‌سازی پودر استخوان دیمینرالیزه، می‌شود [۱۳]. گلوآکی و همکاران با تابش ۲۰ کیلوگری پرتو گاما به پودر استخوان دیمینرالیزه، اثر خواص القای استخوان‌سازی آن را در مدل حیوانی، بررسی کردند. نتیجه این بررسی، کاهش ۲۰ درصدی نسبت به گروه کنترل بود. البته در این بررسی مشخص شد پرتو گاما بدلیل از بین بردن بار آنتی ژنی، واکنش جسم خارجی را به حداقل

رسانده و موفقیت پیوند را افزایش می‌دهد [۱۴]. گوکلاوسکا و همکاران در یک بررسی ثابت کردند تابش ۳۵ تا ۵۰ کیلوگری پرتو گاما در دمای محیط، خواص القای استخوان‌سازی پودر استخوان دیمینرالیزه موش صحرایی را به طور کامل از بین می‌برد [۱۵].

علاوه بر خواص بیولوژیک خواص بیومکانیک استخوان نیز تحت تأثیر گاما قرار می‌گیرد. این مسأله زمانی که استخوان بلند برای جایگزینی بافت تحمل کننده وزن به کار می‌رود، بسیار مهم است. مطالعات فراوانی از اثر تابش گاما بر افزایش شکنندگی استخوان‌های بلند، وجود دارد. آکوس و ریمناک در بررسی بر روی قطعات پرتودهی شده استخوان آلوگرافت از نوع کورتیکال با دوز ۲۷/۵ کیلوگری، نشان دادند مقاومت استخوان در مقابل نیروهای کششی و فشارنده نسبت به گروه کنترل، کاهش معنی‌داری دارد [۱۶].

نتیجه این بررسی نشان می‌دهد استریل‌سازی با پرتو گاما اثر قابل توجهی در کاهش خواص القای استخوان‌سازی پودر استخوان دیمینرالیزه دارد. همچنین در مورد تشکیل سلول‌های کندروسیت و استئوبلاست، تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد مشاهده شد. نتایج به دست آمده در مطالعه ما با اغلب مطالعات همخوانی دارد. البته میزان کاهش خواص القاکننده

استخوان‌سازی بیش از مطالعات مشابه بوده است (کاهش بیش از ۶۰ درصد). یکی از دلایل احتمالی این اختلاف می‌تواند مربوط به زمان طولانی پرتودهی (حدود ۱۸ ساعت) باشد که دلیل آن کاهش نیمه عمر چشمه کبالت ۶۰ موجود در سازمان انرژی اتمی است. این امر با افزایش زمان قرارگیری نمونه در معرض دمای بالا، می‌تواند منجر به تخریب پروتئین‌های فعال در امر استخوان‌سازی شود. متأسفانه به دلیل مشکلات موجود در تجدید چشمه کبالت ۶۰، این محدودیت به راحتی قابل حل نمی‌باشد و در صورت استفاده از چشمه جدید و کاهش زمان پرتودهی به نصف زمان موجود، کسب نتایج بهتر محتمل به نظر می‌رسد.

سهولت دسترسی و هزینه پایین استفاده از پرتو گاما در مقایسه با سایر روش‌های استریل‌سازی و تأثیر کم آن بر خواص القای استخوان‌سازی استخوان‌های بلند، استفاده از این روش را به ویژه در کشورهای درحال توسعه بسیار مقبول کرده است و استریل‌سازی به روش مذکور در مورد این رده از محصولات، کاملاً منطقی به نظر می‌رسد؛ اما با توجه به اثرات منفی آن بر خواص القای استخوان‌سازی پودر دیمینرالیزه استخوان، نیاز به مطالعات بیشتر و اصلاح پروتکل‌ها برای کاربرد این روش استریل‌سازی، در این موارد می‌باشد.

مراجع

1. Tomford WW. Bone Allograft; past, present and future. *Cell and Tissue Banking* 2000; (1): 105-109
2. Tomford WW. Transmission of Disease through Transplantation of Musculoskeletal Allografts. *J Bone Jt Surg* 1995; 77-A: 1742-44
3. Sanzen L, Carlsson A. Transmission of Human T-Cell Lymphotropic virus type 1 by a deep frozen bone allograft. *Acta Orthop Scand* 1997; 68:72-4
4. Cook Sd, Salkeld SL, Prewett AB. Simian immunodeficiency virus (human HIV-II) transmission in allograft bone procedures. *Spine* 1995;20: 1338-1342
5. Conrad EU, Gretch D, Obermeyer K, Moogk M, Sayers M, Wilson J, Strong DM. The transmission of Hepatitis C virus through tissue transplantation. *J Bone Joint Surg* 1995; 77A: 214-224
6. Hilmy N, Lina M. Effect of Ionising Radiation on Viruses, Proteins and Prions. In: Hilmy N, Lina M. *Advances in Tissue Banking*. Vol 5. Singapore: World Scientific Publication. 2005; 359-375.
7. Glowacki JA. A Review of Osteoinductive Testing Methods and sterilization Process for demineralized bone. *Cell and Tissue Banking* 2005; 6: 3-12.
8. International Atomic Energy Agency 2002. 2006 Oct 25. Available at: <http://www.iaea.org>.
9. European Association of Tissue Banks. General Standards for Tissue banking. (EATB). Germany: 1997.
10. American Association of Tissue Banks. *Musculoskeletal Technical Manual*. US: American Association of Tissue Banks; 1991
11. Dziedzic - Goclawska A, Kaminiski A, Uhrynowska - Tyszkiewicz I, Stachowicz W. Irradiation as a Safety Procedure in Tissue Banking. *Cell and Tissue Banking* 2005; 6: 201-219.
12. Glowacki J, Mulliken JB. Demineralized Bone Implants. *Clin Plas Surg* 1985; 12: 233-241
13. Urist MR, Hernandez A. Excitation transfer in bone. *Arch Surg* 1974; 109: 486-493
14. Glowacki J, Kaban LB, Murray JE, Folkman J, Mulliken JB. Application of the Biological principle of Induced Osteogenesis for Craniofacial Defects. *Lancet* 1981; 959-963.
15. Dzeidzic-Goclawski A, Ostrowski K, Stachowics W, Michalik J, Grzesik W. Effect of Radiation Sterilization On The Osteoinductive Properties and The Rate of Remodeling of Bone Implants Preserved by Lyophilization and Deep Freezing. *Clin Orthop* 1991; (272):30-37
16. Akkus O, Rimnac CM. Fracture Resistanc of Gamma Radiation Sterilized Cortical Bone Allografts. *J Orthop Res* 2001;19:927-934

