مجله علمی سازمان نظام پزشکی جمهوری اسلامی ایران، دوره ۲۵، شماره ۱، بهار ۱۳۸٦: ۱٦-۹

● **مقاله تحقیقی**

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

دکتر مهدی قدری گلستانی [۱]
انوشه کاظمیان [۲]
دکتر بابک ارجمند [۱] *
دکتر سیدحمیدرضا آقایان [۱]
دکتر سیدامیرحسین توکلی [۳]
سید کاظم حسینی [٤]
دکتر فرخ تیرگری [٥]
دکتر پیمان قهاری [۱]
دکتر سیدمحمد جواد مرتضوی [٦]

۱. پزشک عمومی، مرکز تحقیقات و بانک فرآورده‌های پیوندی ایران، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۲. کارشناس میکروب شناسی، مرکز تحقیقات و بانک فرآورده‌های پیوندی ایران، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۳. متخصص بیماری‌های اعصاب و روان، مرکز تحقیقات و بانک فرآورده‌های پیوندی ایران، دانشگاه علوم پزشکی تهران
٤. کارشناس ارشد میکروب شناسی، مرکز تحقیقات و بانک فرآورده‌های پیوندی ایران، دانشگاه علوم پزشکی تهران
٥. متخصص آسیب شناسی، انستیتو کانسر، دانشگاه علوم پزشکی تهران
٦. متخصص جراحی استخوان و مفاصل، مرکز تحقیقات و بانک فرآورده‌های پیوندی ایران، دانشگاه علوم پزشکی تهران

***نشانی نویسنده مسئول:** تهران، انتهای بلوار کشاورز، بیمارستان امام خمینی، مرکز تحقیقات و بانک فرآورده‌های پیوندی ایران، صندوق پستی ۱٤۱۸٥/۸٦۸، تلفن: ٦٦٤۲۸۲۸۸، فکس: ٦٦۹۳۱۸۱۸
پست الکترونیکی: arjmand_itb@yahoo.com

چکیده

زمینه: یکی از روش‌های استریل‌سازی نهایی استخوان‌های آلوگرافت استفاده از پرتو گاما می‌باشد. این مطالعه به منظور بررسی اثرات این پرتو با دوز ۲۵ کیلوگری، بر خواص القای استخوان‌سازی پودر استخوان دمینرالیزه انجام شده است.

روش کار: این تحقیق به روش تجربی و در مدل حیوانی انجام شد. پودر استخوان دمینرالیزه استریل شده با پرتو گاما با دوز ۲۵ کیلو گرمی به مدت ۱۸ ساعت، به عنوان گروه مورد بررسی و پودر استخوان دمینرالیزه تهیه شده به روش استریل اولیه، به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شد. ۳۰ میلی‌گرم پودر استخوان از هر گروه به صورت مجزا در عضلات پاراورتبرال چپ و راست ۱۸ موش صحرایی [۱] کاشته شدند. پس از ٤ هفته نمونه‌های پیوند شده همراه با حاشیه ۰/٥ سانتیمتر برداشت و قابلیت تحریک استخوان‌سازی در دو گروه با بررسی هیستوپاتولوژیک مقایسه گردید.

یافته‌ها: در بررسی نمونه‌های شاهد بجز یک مورد در بقیه نمونه‌ها (۹٤/٤٪) شواهد تشکیل بافت جدید استخوانی دیده شد؛ که این تغییرات در گروه مورد بررسی تنها در ٥ نمونه (۲۷/۷٪) مشاهده گردید که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به این که استفاده از پرتوگاما منجر به کاهش قابل توجه در خاصیت القای استخوان پودر استخوان دمینرالیزه می‌شود، استفاده از روش‌های استریل‌سازی جایگزین می‌تواند منجر به ارتقای کیفیت و اثر بخشی این محصول پیوندی شود.

واژگان کلیدی: آلوگرافت، القای استخوان‌سازی، پرتو گاما، پودر استخوان دمینرالیزه

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸٥/۲/۲۲ تاریخ اصلاح نهایی: ۱۳۸٦/۳/۱۲ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸٦/۳/۱٦

1 - Rat

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

امروزه پیوند استخوان آلوگرافت کاربرد فراوانی در رشته‌های مختلف علم پزشکی دارد. اعمال جراحی ارتوپدی، جراحی اعصاب، جراحی‌های فک و صورت و دندانپزشکی نمونه‌هایی از حیطه کاربردی این رده از محصولات می‌باشند. سابقه پیوند استخوان آلوگرافت به حدود ۱۰۰ سال قبل باز می‌گردد. در طی سال‌های 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 مک‌ایوان[1] انجام گرفت. در طی این عمل قطعه‌ای 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 بیماری‌های عفونی ویروسی از قبیل HIV 1&2,HTLV1&2، هپاتیت B وC، سیتومگالو ویروس و بیماری‌های پریونی از طریق پیوند بافت‌های آلوده انسانی در مطالعات مختلفی گزارش شده است. خطر انتقال این گونه بیماری‌ها در پیوند نسوج اسکلتی – عضلانی، ارتباط نزدیکی با روش‌های فرآوری و نوع نسج مورد استفاده دارد [۴-۲]. خطر انتقال بیماری‌ها از طریق ارزیابی و انتخاب صحیح اهداکننده، انجام تست‌های غربالگری، فرآوری صحیح و استفاده از روش‌های استریل‌سازی نهایی محصول، به حداقل می‌رسد [۵]. روش‌های مختلفی برای استریل‌سازی نهایی استخوان آلوگرافت وجود دارد که از جمله آنها می‌توان به استریل‌سازی با پرتوهای پرانرژی، دمای بالا و مواد شیمیایی اشاره نمود. از سال ۱۹۵۰ میلادی مطالعات فراوانی در مورد اثربخشی و عوارض سوء پرتو گاما بر روی استخوان‌های آلوگرافت، انجام شده است. باید در نظر داشت که دوز بالای پرتو گاما تغییرات شیمیایی و فیزیکی متعددی در بافت ایجاد می‌کند که می‌تواند منجر به اختلال در خواص بیوفیزیک و بیولوژیک استخوان شود. با وجود این که ویروس‌ها بیشترین مقاومت را نسبت به پرتوتابی دارند، در مطالعاتی مشخص شده است که در صورت استفاده از روش‌ها و دوز مناسب و کافی اشعه، ویروس‌های HCVو HIV موجود در بافت‌های اسکلتی – عضلانی، از بین می‌روند [۶]. هیلمی[2] و همکاران اثر بخشی بالینی استخوان‌های بلند را که در معرض ۲۵ کیلوگری پرتو گاما قرار گرفته بودند، مورد مطالعه قرار دادند که تفاوت معنی‌داری با استخوان‌های آسپتیک نداشتند [۷]. انجمن نسج اروپا و آژانس بین‌المللی انرژی اتمی دوز ۲۵ کیلوگری و انجمن بانک‌های نسج آمریکا حداقل دوز بیش از ۱۵ کیلوگری را، قابل قبول می‌دانند [۱۰-۸]. برخی از صاحب نظران دوز ۳۵ کیلوگری را پیشنهاد می‌کنند [۱۱]. در مطالعه گلوآکی[3] و مولی‌کن[4] اثر روش‌های مختلف فرآوری بر خواص القای استخوان‌سازی، بررسی شد [۱۲]. یوریست[5] و هرناندز[6] نشان دادند که تابش گاما در حد ۴۰ کیلوگری، خواص القای استخوان‌سازی پودر استخوان دمینرالیزه را کاهش می‌دهد [۱۳]. گلوآکی و همکاران اثر تابش ۲۰ کیلوگری پرتو گاما بر خواص القای استخوان‌سازی را در پودر استخوان دمینرالیزه مدل حیوانی، بررسی کردند که نتیجه این بررسی کاهش ۲۰ درصدی نسبت به گروه کنترل بود [۱۴] گوکلاوسکا[7] و همکاران نشان دادند که تابش ۳۵ تا ۵۰ کیلوگری پرتو گاما در دمای محیط، خواص القای استخوان‌سازی پودر استخوان دمینرالیزه موش صحرایی را به طور کامل از بین می‌برد [۱۵].

علاوه بر خواص بیولوژیک، خواص بیومکانیک استخوان نیز تحت تأثیر گاما قرار می‌گیرد. در مطالعه انجام شده توسط آکوس[8] و وریماک[9] قطعات پرتودهی شده استخوان

1 - Mac Ewan

2 - Hilmy

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

Archive of SID
www.SID.ir

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 برروی 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[1] به صورت چوب کبریتی برش داده شدند. قطعات با سطح مقطع ۴-۲ 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 میکرو متر، جهت جداسازی 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 (کمپانیMerck آلمان) قرار گرفتند تا میزان کلسیم به زیر ۱۰٪ برسد. سپس اسید باقیمانده با آب فوق خالص[2] بدون اندوتوکسین، شسته شد. این کار حداقل ۶ مرتبه (بسته به حجم پودر) انجام شد که در صورت رسیدن PH به ۷-۶ شستشو کامل تلقی شده و خاتمه می‌یافت. در پایان برای تثبیت PH خنثی از بافر تریس[3] (کمپانی ICN آمریکا) در نرمال سالین با غلظت gr/lit ۵ استفاده شد. در مرحله چربی‌زدایی[4] 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 گروهA (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

1 - Stryker

2 - Ultra Pure Water
3 - Tries
4 - Defating

Archive of SID

www.SID.ir

دوز ۲۵ کیلوگری پرتو گاما و به مدت ۱۸ ساعت انجام گرفت. نمونه‌های استریل شده با پرتوگاما 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 ۴۵-۳۰ 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 ۳سانتی‌متر در خط وسط بر روی پوست ایجادشده، پس از مشخص شدن عضلات پارا ورتبرال در هر طرف عضله، کیسه‌ای به صورت جداسازی غیرنافذ[1] درون عضله ایجاد شد و ۳۰ میلی‌گرم 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 شسته‌شدن نمونه‌ها در اثر خونریزی مرتباً کیسه ایجادشده 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[2] بخیه زده شد و با چسب لکوپلاست کاملا روی محل بخیه پوشانده‌شد؛ 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 بخیه‌ها ی محل کاشت با ۰/۵ 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 رنگ‌آمیزی H&E قرار گرفتند.

کلیه نمونه‌ها توسط یک آسیب‌شناس از نظر ایجاد بافت استخوانی جدید به صورت بافته شده[3] یا لایه‌ای[4]، وجود بافت غضروفی جدید، سلول‌های استئوبلاست و عناصر سلولی مغز استخوان، بررسی شدند. نمونه‌های حاوی بافت استخوانی زنده، از نظر القاء استخوان‌سازی مثبت و نمونه‌های حاوی پودر دمینرالیزه استخوان بدون سلول استخوانی، منفی گزارش شدند. جهت تفسیر نتایج و مقایسه بین دو گروه از آزمون دقیق Fisher استفاده شد. مقادیر P-value <۰/۰۵، از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شدند.

نتایج

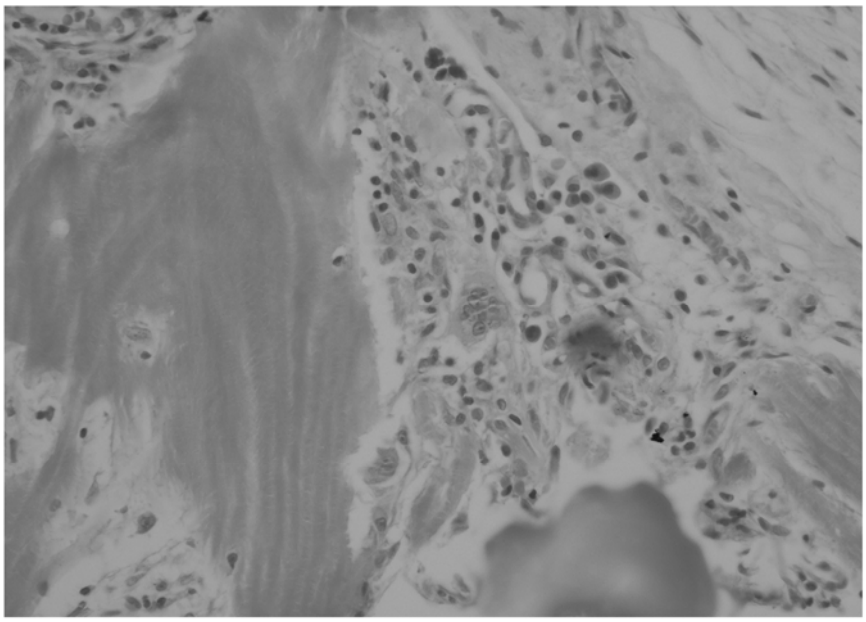
در بررسی‌های هیستوپاتولوژیک، ایجاد بافت استخوانی جدید به صورت استخوان بافته شده همراه با سلول‌های استئوبلاست یا استئوسیتهای قرار گرفته در ماده استئوید زمینه‌ای، به عنوان اثر القاکننده تشکیل بافت استخوانی در نظر گرفته شد. همچنین رسوب لایه‌ای استئوسیتها در بافت غیرزنده استخوان کاشته شده و تشکیل استخوان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

1 - Blunt Dissection

2 - Separate

3 - Woven
4 - Lamellar

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۱

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 ($P < ۰/۰۰۲$). تشکیل کندروسیت در گروه شاهد ۵/۵٪ و در گروه مورد بررسی، مشاهده نشد و تشکیل استئوبلاست درگروه شاهد ۸۸/۸٪ و در گروه مورد بررسی، ۵۰٪ بود. اختلاف تشکیل کندروسیت و استئوبلاست نیز از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۵$).

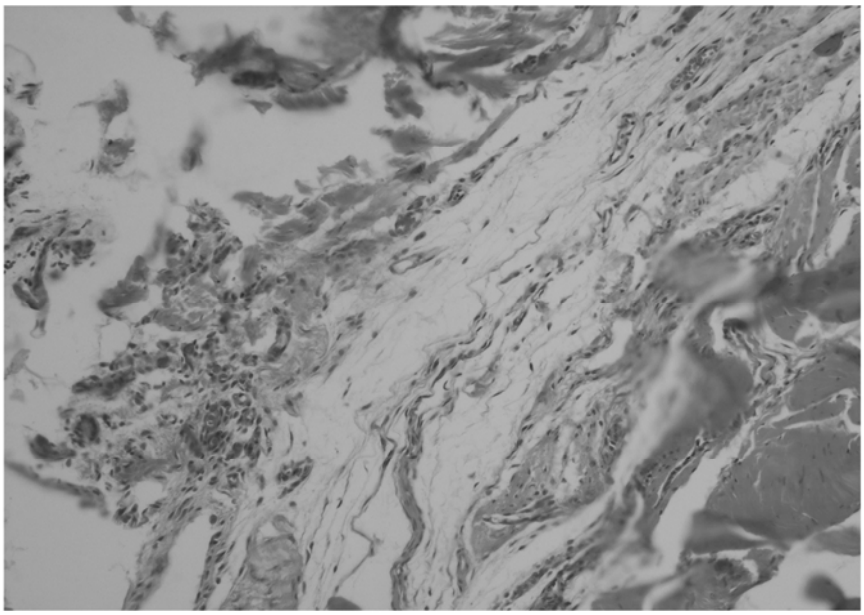
بحث

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

استفاده از پرتوهای پر انرژی (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 پر انرژی در استریل‌سازی نسوج پیوندی وجود دارد که به طور عمده ناشی از اطلاعات ناکافی در مورد اثرات درمانی و عواقب استفاده نادرست از

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۲

آن، می‌باشد. 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 می‌تواند آسیب وسیعی به بافت‌های داخلی فرد زنده، وارد نماید؛ در حالی که تابش ۱۰ کیلوگری به همان بافت در محیط آزمایشگاهی هیچ گونه تغییر قابل مشاهده‌ای در بافت، ایجاد نمی‌کند. در بین میکروارگانیسم‌ها، ویروس‌ها بیشترین مقاومت نسبت به پرتوتابی را دارند. با این وجود در مطالعات متعدد مشخص شده است که در صورت استفاده از روش‌های مناسب و دوز کافی اشعه می‌توان ویروس‌های HCV و HIV موجود در بافت‌های اسکلتی – عضلانی را از بین برد [۶]. هیلمی و همکاران دریافتند، اثر بخشی بالینی استخوان‌های بلند که در معرض ۲۵ کیلوگری پرتو گاما قرار گرفته‌اند، تفاوت معنی‌داری با استخوان‌های آسپتیک ندارد [۷]. در انتخاب دوز مناسب، اختلاف‌نظر زیادی وجود دارد. انجمن نسج اروپا و آژانس بین‌المللی انرژی اتمی دوز ۲۵ کیلوگری [۸، ۹] و انجمن بانک‌های نسج آمریکا حداقل دوز بیش از ۱۵ کیلوگری را قابل قبول می‌داند [۱۰]. برخی از صاحب‌نظران جهت حصول اطمینان بیشتر از سلامتی بافت، دوز ۳۵ کیلوگری را پیشنهاد می‌کنند [۱۱]. نکته قابل توجه این است که با افزایش دوز، اگرچه اطمینان از سلامت بافت بیشتر می‌شود؛ لیکن احتمال آثار سوء بر خواص فرآورده از نگرانی‌های اصلی خواهد بود.

روش‌های متعددی برای بررسی خواص القای استخوان‌سازی فرآورده‌های مشتق از استخوان آلوگرافت، وجود دارد. این روش‌ها به دو صورت Invitro و Invivo انجام می‌شوند. مدل‌های حیوانی متعددی برای بررسی Invivo مورد استفاده قرار گرفته‌اند. غالب مطالعات از موش صحرایی برای بررسی استفاده کرده‌اند. طبق تعریف یک ماده القا کننده استخوان‌سازی 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 می‌شود. بنابراین جهت بررسی خواص القای استخوان‌سازی یک ماده در مدل حیوانی، باید تعریف فوق را مدنظر داشت. روش‌های کمی و کیفی مختلفی برای اندازه‌گیری استخوان‌سازی وجود دارد

Archive of SID
www.SID.ir

که شامل بررسی‌های هیستو مورفولوژیک، رادیوگرافیک و بیوشیمی (اندازه‌گیری آلکالین فسفاتاز، مقدار کلسیم یا ایزوتوپ ۴۵ آن) است [۷]. در مطالعه انجام شده توسط گلواکی 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 دمینرالیزه 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 دمینرالیزه، می‌شود [۱۳]. گلواکی و همکاران با تابش ۲۰ کیلوگری پرتو گاما به پودر استخوان دمینرالیزه، 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 دمینرالیزه 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 دمینرالیزه 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 تأثیرکم 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 دمینرالیزه استخوان، نیاز به مطالعات بیشتر و اصلاح پروتکل‌ها برای کاربرد این روش استریل‌سازی، در این موارد می‌باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

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 J.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 Ttissue 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*

Archive of SID

www.SID.ir