مقاله تحقیقی

مقایسه اثر مطلوب تثبیت کننده جدید بخش تشریح مشهد با تثبیت کننده‌های رایج در بخشهای تشریح دانشکده‌های پزشکی ایران روی جسد

حسن فراهی شالچی .Ph.D*، قاسم سازگار .Ph.D*

*گروه علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی مشهد

تاریخ وصول: تیرماه ۸۱، تاریخ پذیرش: شهریورماه ۸۱

چکیده

هدف: متأسفانه عدم دسترسی به تثبیت‌کننده‌های صحیح و علمی باعث تغییر رنگ بافتها و گاهی تغییرات کلی در ساختار ارگانهای بدن می‌شود بنابراین برای دستیابی به تثبیت‌کننده دقیق و علمی برای رفع این مشکل، پژوهش حاضر انجام شد. هدف از این تحقیق بررسی اثر تثبیت‌کننده جدید بخش تشریح مشهد روی جسد و نحوه تثبیت عناصر مختلف بدن است.

مواد و روشها: در این تحقیق ۱۰ جسد در دو گروه تجربی و شاهد مورد بررسی قرار گرفتند، جسدها از نمونه‌های تازه که بیش از دوازده ساعت از مرگشان نگذشته بود و آثار بریدگی و نیز جراحت ناشی از عمل جراحی نداشتند انتخاب شدند. گروه تجربی شامل ۵ جسد با میانگین وزن ۷۰ کیلو و گروه شاهد نیز ۵ جسد با همان مشخصات وزنی بود. در گروه تجربی، مقدار ۱۲ لیتر تثبیت‌کننده جدید به شریان فمورال هر یک با استفاده از اختلاف سطح، طی مدت ۴۸ ساعت تزریق شد. همین مقدار تثبیت‌کننده معمولی به هر یک از جسدهای شاهد طی شرایط مساوی تزریق شد. نمونه‌ها در وانهای محلول محافظ و در شرایط یکسان برای هر دو گروه قرار داده شدند.

یافته‌ها: نتایج تحقیق حاضر نشان داد که جسدهای گروه تجربی پس از ۱۴ ماه به‌خوبی تثبیت شده و اجزای آن از نظر آمادگی بافتها به نحو مطلوب قابل رؤیت و ارزیابی بودند، در صورتی‌که جسدهای گروه شاهد در این زمان نه تنها تثبیت نشدند بلکه اجزای آنها نیز قابل ارزیابی نبودند.

نتیجه‌گیری: براساس تحقیق حاضر استفاده از تثبیت‌کننده جدید سبب افزایش قوام و کیفیت بافت عضلانی، بهبود تثبیت بافت چربی، فاسیاها، غشاءها و بررسی بهتر اعصاب محیطی، مرکزی و عروق خونی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: تثبیت‌کننده، جسد، فنل

مقدمه

تشریح و کار عملی روی جسد برای دانشجویان رشته‌های پزشکی، دندانپزشکی، پیراپزشکی و دوره‌های مختلف دستیاری و تخصصی برای درک عمیق و زیربنایی اجزای مختلف بدن ضروری است. در این راستا دستیابی به جسد و تشریح آن به‌صورت دقیق و علمی جهت تأمین هدف فوق همیشه مورد نظر متخصصین علوم تشریح بوده است که رسیدن به آن مستلزم فراهم نمودن اجسادی است که به‌خوبی تثبیت و آماده تشریح شده باشند میسر خواهد بود. متأسفانه با به‌کارگیری تثبیت‌کننده‌های معمول و متداول در بخشهای تشریح دانشکده‌های پزشکی دستیابی به این هدف به‌خوبی میسر نبوده و اساتید و دانشجویان آنچنان که باید میل به کارکردن روی جسدهایی که به‌طور دقیق و علمی تثبیت نشده‌اند را ندارند؛ چون وجود مواد سرطان‌زا در داخل تثبیت‌کننده از یک سو و نیز عواملی مانند رشد قارچهای مضر در روی جسد و عفونتهای بیماریزا مانند توبرکلوز، هپاتیت، ایدز و غیره از سوی دیگر،

آدرس مکاتبه: مشهد، خیابان دانشگاه، دانشکده پزشکی،گروه علوم تشریح، کدپستی ۹۱۳۷۵ E-mail: dr-shalchi@hotmail.com

باعث بی‌علاقگی به کار روی جسد می‌شود. در این زمینه با مطالعه روشهای تثبیت‌کننده در کشورهای پیشرفته دنیا نظیر کانادا، آمریکا و نیز کشورهای اروپایی به‌خصوص آلمان که در آماده سازی و نیز به‌کارگیری روشهای جدید پلاستیناسیون پیشرفت چشمگیری داشته است، به این نتیجه رسیدیم که با مطالعه اثر هریک از ترکیبات از تلفیق تثبیت کننده‌های آنان با هم به تثبیت‌کننده جدیدی که واجد نکات لازم باشد دست پیدا کنیم و با بررسی اثرهای آنان روی جسدهای متفاوت اثر این تثبیت‌کننده را در آماده سازی جسدها با زمان لازم برای اثر مواد بر ارگانهای مختلف به‌دست آوریم [۱ و ۲].

مواد و روشها

برای بررسی حاضر تعداد ۱۰ جسد مرد با متوسط وزن ۷۰ کیلوگرم و با دامنه سنی بین ۳۵ تا ۵۰ سال انتخاب شدند. در ابتدا به‌صورت تصادفی به دو گروه پنج‌تایی تجربی و شاهد تقسیم و با استفاده از روش اختلاف سطح منبع و توسط دو نوع تثبیت‌کننده مرسوم و جدید تثبیت شدند. اجساد مورد استفاده کاملاً سالم و بدون بریدگی ناشی از جراحی، گلوله و غیره بودند و تزریق با فاصله زمانی حداکثر ۷۲ ساعت پس از مرگ انجام شد و مقدار ماده تزریقی معادل ۱۲ لیتر بود که با سرعتی معادل ۲۵۰ سانتیمتر مکعب در ساعت و در زمان حدود ۴۸ ساعت انجام شد. با تغییر زاویه میز، در ۲۴ ساعت اول تزریق، سر جسد و بدن پایین‌تر از سطح افقی میز قرار گرفت و در ۲۴ ساعت بعدی به‌صورت برعکس؛ اندام تحتانی پایین‌تر از سطح افق قرار داشت. پس از اتمام تزریق و بستن شریان جسد در وان مخصوص حاوی ماده محافظ قرار گرفتند.

مواد اصلی تشکیل‌دهنده تثبیت‌کننده جدید شامل موارد زیر است:

فرمالدیید HcHo به‌صورت محلول ۴۰، ۱۰ و ۱۵ درصد در آب مصرف می‌شود؛ پروتئین را رسوب نمی‌دهد و با گروه NH ترکیب شده، یک ژل غیر محلول درست می‌کند که باعث حفظ همه عناصر و چربی می‌شود و تنها تثبیت‌کننده‌ای است که عمل تشریح را آسان می‌کند ولی اثر آن خیلی تدریجی است [۳، ۴، ۵، ۶].

الکل اتیلیک به‌صورت ۹۶ تا ۱۰۰ درجه مورد استفاده قرار می‌گیرد گلیکوژن را حفظ می‌کند و نوکلئوپروتئین را تغییر نمی‌دهد.

مواد بافر مصرفی از بوراکس هولمس شامل Borax ($Na_2B_7O_7$ و $10H_2O$) و اسیدبوریک ($B(OH)_3$) با pH بین ۷/۴ تا ۹ ساخته می‌شود.

در این روش به‌جای گلیسرین از اتیلین گلیکول[1] با مقدار متناسب با جثه جسد استفاده شد. سایر ترکیبات تثبیت‌کننده شامل نیترات پتاسیم به‌عنوان شفاف کننده بافت عصبی، تیمول[2] ماده مؤثر در جلوگیری از رشد قارچ و اسیدسالیسیلیک به‌عنوان ماده مؤثر روی پروتئین است و از آب اکسیژنه HOبه‌عنوان سفید کننده بافتها استفاده شد [۵، ۷، ۸].

از مهمترین ترکیبات به‌کار برده شده در تثبیت‌کننده جدید می‌توان به Lisoformin و نیز ترکیب دیگر به‌نام Sterillium اشاره کرد که به‌جای ماده ضد عفونی کننده متداول فنل یا اسیدفنیک مصرف می‌شود که تا حدود زیادی بی‌خطر بودن تثبیت‌کننده جدید را تضمین می‌نماید و نیز بوی نافذ و آزاردهنده فنل را ندارد [۱ و ۲].

یافته‌ها

جسدهای مورد بررسی، نتایج مطلوب و ثمر بخشی را در مقایسه با جسدهای شاهد که با روش تثبیت‌کننده‌های رایج آماده شده بودند، نشان می‌دهند. نتایج حاصل از این تحقیق به ترتیب زیر است:

۱. در بررسی بافت عضلانی مشاهده شد که اجساد گروه تجربی از قوام و کیفیت بالاتری نسبت به گروه شاهد برخوردار هستند که این تفاوت از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($P=0.000, X^2=126.78$) (شکل ۱).

۲. در بررسی اعصاب محیطی و مرکزی اختلاف معنی‌داری بین دو گروه تجربی و شاهد مشاهده شد ($P=0.000, X^2=101.96$) (شکل ۲).

۳. آزمون آماری در مورد تثبیت احشای مختلف بدن در گروه تجربی نیز نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار آماری بین

1- Eehylene giycol 2- Thymol

گروههای شاهد و تجربی است ($P=0.000, X^2=43.22$) (شکلهای ۳، ۴، ۷ و ۸)

۴. فاسیاها و غشاءها نیز مورد بررسی قرار گرفته و آزمون آماری بین دو گروه نشان داد که در گروه تجربی تثبیت به نحو مطلوبتر و با تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه دیگر روی داده است ($P=0.000, X^2=101.51$) (شکلهای ۲، ۵ و ۶).

۵. بررسی عروق خونی نشان داد که این اختلاف نیز معنی‌دار است ($P=0.000, X^2=111.58$) (شکل ۷).

۶. آزمون آماری در مقایسه تثبیت بافت چربی بین دو گروه مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری را به نفع گروه تجربی نشان داد ($P=0.000, X^2=61.72$) (شکل ۸).

بحث

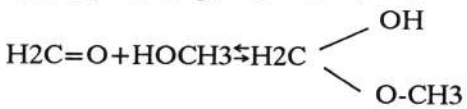
در تشریح واژه تثبیت‌کننده عبارت از محلولهای شیمیایی ثابت کننده و نگهدارنده ایست که با مقدار مشخص و تعیین شده‌ای قادر خواهد بود پس از تزریق در داخل شریان جسد به قسمتهای مختلف بافتهای بدن نفوذ کرده و با از بین بردن و جلوگیری از رشد عوامل میکربی با اثر مداوم بر ارگانهای مختلف باعث نگهداری و ثبوت و پایداری آن شود و جسد در حقیقت به‌صورت مومیایی شده درآید که سالها می‌تواند وضعیت ثابت و طبیعی خود را حفظ کند [۷ و ۹].

در ترکیب تثبیت‌کننده‌های رایج مواد و ترکیبات اصلی شامل الکل، فرمالدیید، اسید فنیک، گلیسرین، آب مقطر و مواد محافظ مانند دترژن و ضد قارچ به‌کار می‌رود که هریک با دوز و مقدار مشخص استفاده می‌شود. روشهای نوین و تازه‌ای که در کشورهای پیشرفته و مترقی به‌کار می‌رود و امروزه اکثریت دانشکده‌های پزشکی در بخش تشریح از آن استفاده می‌نمایند، تغییرات عمده‌ای را در فرمولهای قبلی نشان می‌دهد و شایان توجه است که این روشها در کار تثبیت دانشکده‌های پزشکی ایران نیز گنجانیده شود و در انجام آن موارد زیر در نظر گرفته شده است.

ساختمان بافتهای حیوانی تا حد زیادی بوسیله فرم پروتئینهای آن تعیین می‌شود. کمک کننده‌های اصلی به ساختمان بافتی، لیپوپروتیینها هستند که بیشترین جزء پلاسما و غشای اندامهای سلولی را تشکیل می‌دهند و گلیکوپروتیینهای فیبروزه آن دسته عناصر خارج سلولی مثل کلاژن و غشای پایه و پروتئینهای موجود، در سیتوپلاسم و مایع خارج سلولی محلول هستند [۸، ۱۰ و ۱۱]. اصلی‌ترین ماده مؤثر در تثبیت پروتئینها فرمالدیید است.

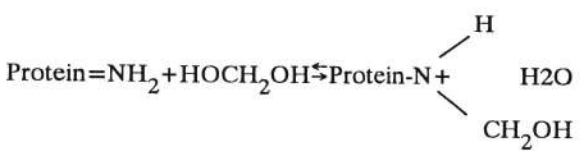
فرمالدیید

فرمالدیید گازی (نقطه جوش ۲۰- درجه سانتی‌گراد) با فرمول CH_2O است. این گاز به‌عنوان محلول (فرمالین) حاوی ۴۰-۳۷ درصد گاز در آب، به‌عنوان پلیمر جامد، پارافرمالدیید HO CH2O)nH که n ۱۰۰-۶ است در دسترس آناتومیست‌ها و بافت شناسان است. هرچند فرمالدیید ساده‌ترین آلدیید است ولی شیمی آن بسیار پیچیده است [۵]. در محلولهای آبی فرمالدیید به‌عنوان متیلین هیدرات موجود است. محصول واکنش H2C=O+H2O⇆HOCH2OH فرمالین حاوی حدود ۱۰ درصد متانول است که به‌عنوان یک پایدار کننده برای جلوگیری از پلیمریزاسیون اضافه می‌شود. متانل بوسیله تشکیل دادن یک همی‌استال با فرمالدیید این کار را انجام می‌دهد (همی استال= متیلال) که از متلین هیدرات پایدارتر است.

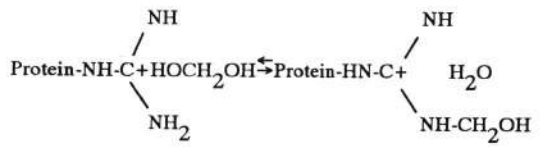


فرمالدیید با قسمتهای مختلف مولکولهای پروتئین واکنش می‌دهد [۶، ۷ و ۸]. مولکول متیلن گلیکول به خیلی از گروهها برای تشکیل همی استالها و بخشهای مربوطه و مرتبط با آنها اضافه می‌شود.

با آمینهای اولیه



با گروههای گوانیدیل



با گروههای سولفیدریل سیستئین

$$Protein\text{-}SH + HOCH_2OH \rightleftarrows Protein\text{-}S\text{-}CH_2OH + H_2O$$

به هر حال بخشهای مشابه همی‌استال همگی گروههای آزاد هیدروکسی متیل دارند که مسئول واکنش بیشتری با گروههای عملکردی پروتئینها که در موقعیت مناسب قرار دارند، هستند [۲ و ۸].

یک تثبیت‌کننده براساس اجزا ساختمانی و شیمیایی بافت انتخاب می‌شود معمولاً به منظور مقابله با اثرهای نامطلوب هریک از مواد و بدست آوردن بیش از یک نوع تثبیت شیمیایی یک مخلوط از عوامل مختلف بکار می‌رود. تعدادی از مواد و مایعاتی که معمولاً بکار می‌روند اکنون توضیح داده می‌شود [۲، ۱۰ و ۱۲].

اتیل الکل در حد وزن ۹۲/۳-۹۳/۸ درصد حجمی ۹۴/۴-۹۶ درصد در دمای شفاف، C_2H_5OH 15.5C (60f) بی‌رنگ، سیال، فرار با بوی کم ولی خاص خودش نقطه جوش ۷۸ درجه سانتی‌گراد و حتی در دمای پایین فرار است. قابل حل در آب -استن- کلروفرم- اتر و بسیاری از حلالهای آلی دیگر، اساساً از قدرت حلالیتش استفاده می‌شود به‌عنوان نقطه شروع در تهیه بسیاری از ترکیبات مهم در غلظت ۹۰-۶۰ درصد باکتری کش است و در درصد وزنی ۷۰ درصد یک آنتی‌سپتیک خوب جهت ضد عفونی کننده لوکالیزه بکار می‌رود [۴ و ۵].

اسید بوریک (H3BO3) این اسید در گذشته از دریاچه‌های زلزله‌خیز توسکانی تهیه می‌شد در حال حاضر به‌صورت گیاه بومی در کالیفرنیا یافت می‌شود. این اسید از بوراکس بومی یا سایر بوراتها توسط واکنش با اسید هیدروکلریک یا اسید سولفوریک تهیه می‌شود.

به صورت کریستالهای سفید و یک گرم آن در ۱۸ سانتیمتر مکعب آب یا الکل و یا در ۴ سانتیمتر مکعب گلیسرین یا آب جوش حل می‌شود یک باکتری کش است و سمی است [۴].

بورات سدیم سدیم ترابورات (Na2B4O7,10H2O) بطور وسیع در کالیفرنیا به‌صورت کریستال وجود دارد و به‌صورت پودر سفید و بی‌بو و قلیاییت بالا با pH= ۹/۵ است [۵].

فنل (کربولیک اسید) در حال حاضر به‌طور مصنوعی ساخته می‌شود. بی‌رنگ تا صورتی روشن به‌صورت بلورهای سوزنی با بوی مخصوص بوده و اگر غلیظ مصرف شود سفید کننده است که با اضافه‌کردن ۱۰ درصد آب به‌صورت مایع در می‌آید؛ در حرارت آرام ذوب می‌شود؛ در معرض نور و هوا تیره می‌شود و وزن مخصوص آن ۱/۰۷ است. در الکل بسیار حلال است با متانل، استالدیید، آمینوپیرین، آنتی‌پیرین، متن‌آمین فنیل سالیسیلات و تیمول تشکیل آلکالوییید می‌دهد به‌عنوان ضد عفونی کننده قوی به‌کار می‌رود و استفاده فارماکولوژی آن به‌عنوان نگهدارنده در داروهای تزریقی است و به‌عنوان باکتری‌کش با سایر آنتی‌سپتیک‌های استاندارد رقابت می‌کند ولی در پزشکی مدرن استفاده قانونی محدودی دارد. تغییر رنگ ارگانهای مختلف جسد روی میزهای سالن تشریح به‌علت اکسیده شدن اسید فنیک در محیط آزمایشگاه با هوا است [۱۳ و ۱۴].

تقدیر و تشکر

مجریان طرح لازم می‌دانند از معاونت محترم پژوهشی و همکاران محترمشان در جهت تصویب طرح، جناب آقای دکتر حجازی ریاست محترم پزشکی قانونی به‌دلیل همراهیهای لازم، جناب آقای دکتر فاضل به جهت نظارت و راهنماییهای لازم و ثمربخش، از جناب آقای دکتر محمد اسماعیلی و جناب آقای مهندس عمادزاده برای استخراج موارد آماری، جناب آقای حسین یزدانیان بابت عکسبرداری‌های متعدد تشریح تشکر و قدردانی نمایند.

References

1. **Hop Wood D.** Fixatives and fixation: A Rev Histochem J. 1968; 1: 323-360
2. **Singer RH.** Biotechnique 1986; 4: 230
3. **Heslinga FJM, Deierkauf FA.** The action of histological fixatives on tissue lipids. Comparison of the action of several fixatives using paper chromatography. J Histochem Cytochem. 1961; 9: 572-577

4. **Martindale**. The complete drug reference 32 edition Pharmaceutical press 1999 p 930

5. **Gennaro AR.** Remington the science and practice of pharmacy. 19 edition, Volum II, 1995, p 642

6. **Walker JF**. Formaldehyde, 3rd ed. London, Chapman, Hall, 1964, pp 112-117

7. **Van Gieson I**. Laboratory notes of technical methods for the nervous system. NY Med J. 1989; 50-57

8. **Hardly PM, Nicholls AC, Rydon HN**. The nature of the crosslinking of proteins with glutaraldehyde. J Chem Soc. 1976; 1: 958-962

9. **Hop Wood D**. Theoretical and practical aspects of glutaraldehyde fixation . Histchem J. 1972; 4: 267-303

10. **Lawrence JB, Singer RH**. Quantitative analysis of in situ hybridiztion methods for thedetection of action gene expression nucleic acids. Research. 1985; 13: 1777-1799

11. **Senior PV, Critehley DR, Beek F, Walker RA, Varley JM**. The localization of laminin nRNA and Protein in the postimplantation embryo and placenta of the mouse: an in situ hybridization and immunocytochemical study. Development. 1988; 104: 431-446

12. **Coghlan JP, Aldred P, Haralambidis J, Niall HD, Penschow JD, Tregear GW**. Hybridization histochemistry. Anal Biochem. 1985; 149:1-28

13. **Pearse AGE**. Theoretical & Applied. Histochemistry. 1961; 8: 210-212

14. **Baker JR**. The principles underlying routine methods. Cytological. 1966; 2: 115-118

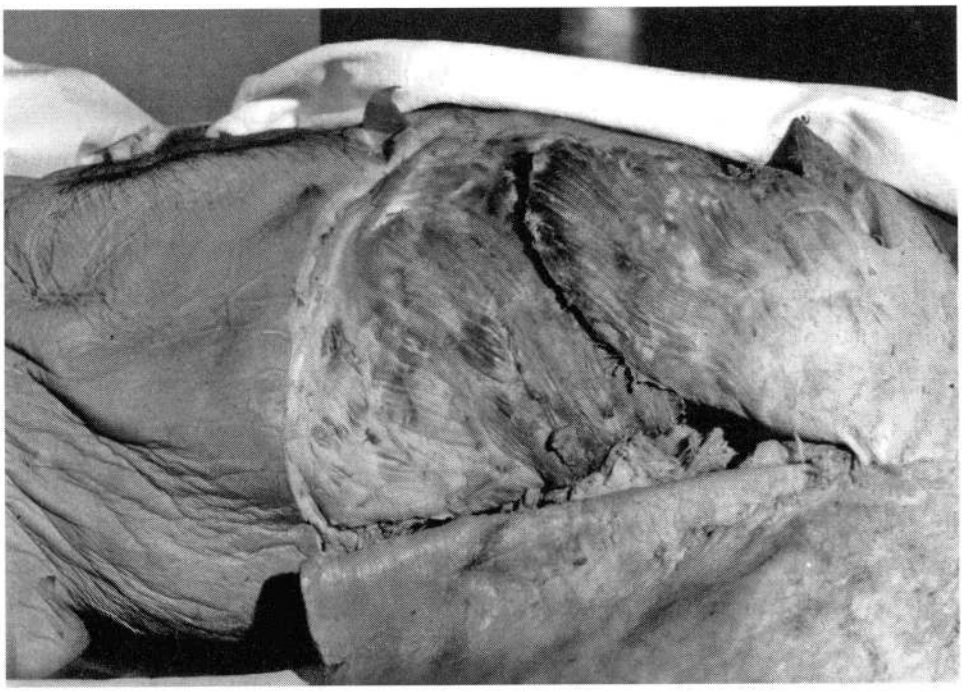
15. **Haase AT, Stowring L, Harris JD, Traymor B, Ventura P, Peluso R, Brahic M.** Virol. 1982; 119: 399-410

16. **Faulkner-jones BE, Cram DS, Kun J, Harrison LC**. Localization and quantitation of expression of two glutamate decarboxylase genes in Pancreatic b. cells and other peripheral tissues of mouse and rat. Endocrinal. 1993; 133: 2962-2972

17. **Hassell J, Hand AR**. Tissue fixation with diimidoesters as an alternative to aldehydes. J Histochem Cytochem. 1976; 22: 223-229

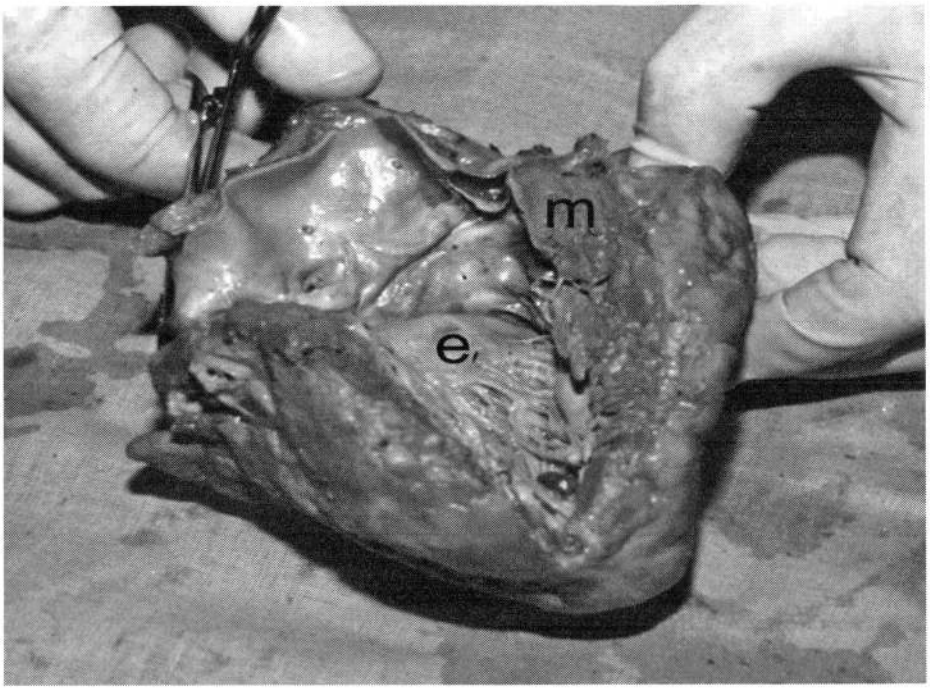
18. **Pringle JH, Senior PV, Warford A.** In situ hybridisation to cellular mRNA using single-stranded cRNA probes labelled with 35 S in situ hybridisation course. Course manual Revised. 1989; 2: 58-60

19. **Penschow JD, Horalambidis J, Pownal S, Coghlan JP**. The location of gene expression by hybridisation histochemistry using oligodeoxyribo-nucleotide probes Methods in Neurosceiences I (Gene Probes) 1989; pp 222-238



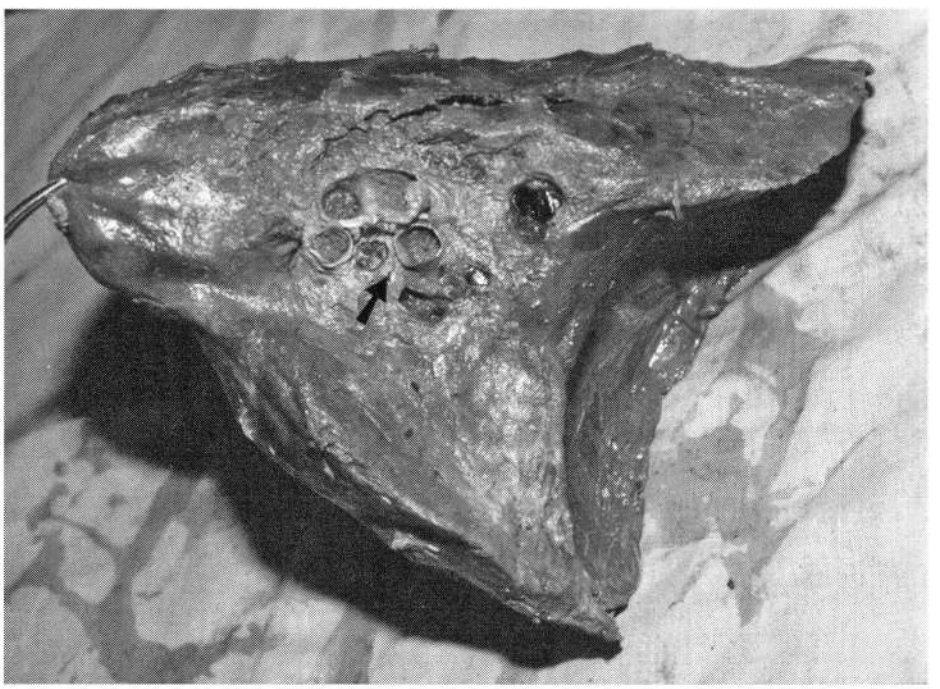
شکل ۱. جدار سمت چپ قفسه سینه جسد برای بررسی عضلات‌پکتورال و سراتوس پوست برداری شده و شکل و قوام عضلات و فاسیاهای آنها به‌صورت کامل تثبیت شده مشهود است. رنگ پوست جدار شکم با وضعیت و رنگ طبیعی مطابقت دارد.

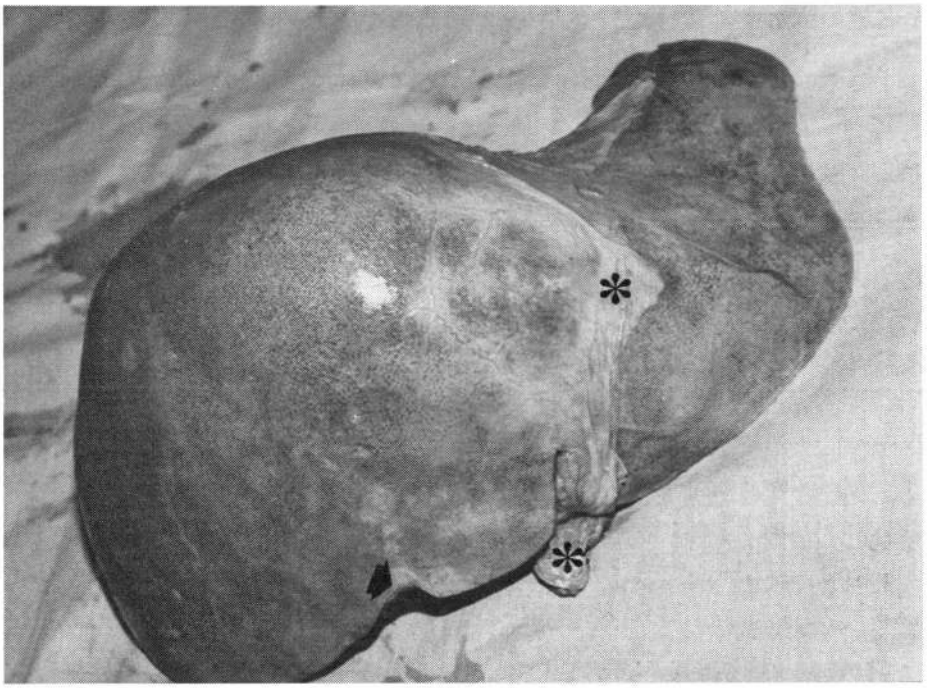
شکل ۲. قفسه سینه برای بررسی حفره توراکس و عناصر تشریحی آن برش خورده و باز شده است. پلور جداری و عضلات اینترکوستال و عروق پریکاردیوفرنیکا به‌صورت کاملاً گویا دیده می‌شوند (فلش).



شکل ۳. نمای ظاهری و درونی قلب تثبیت شده پس از برشهای تثبیت دقیق اپی‌کارد (m) و اندوکارد (e)، به آناتومی میوکارد توجه شود

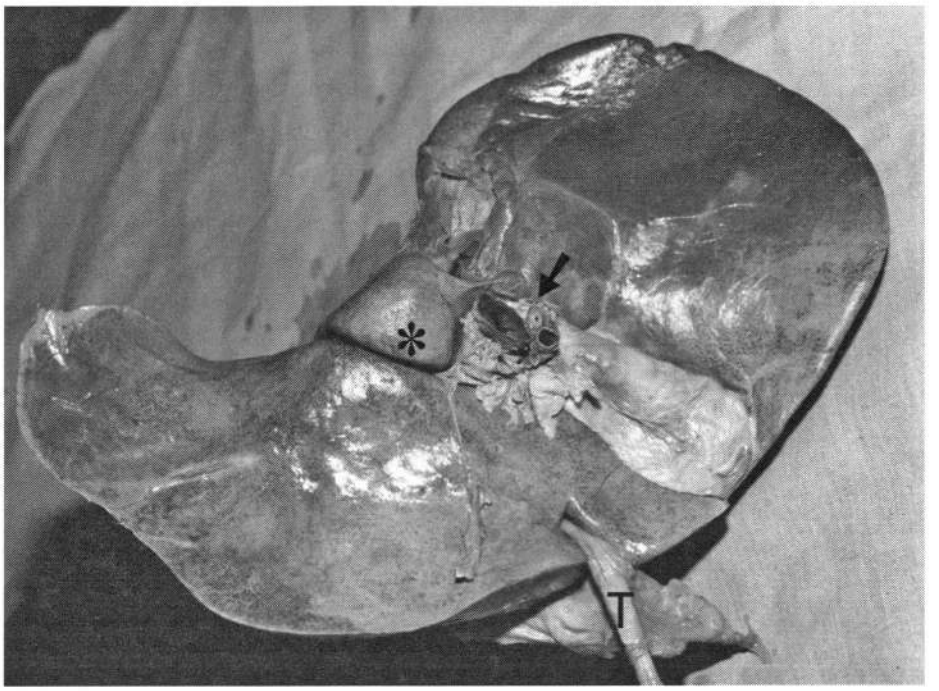
شکل ۴. سطح مدیاستینال ریه راست در رابطه با عروق و برنش ناحیه ناف ریه (فلش)، قوام ریه از تثبیت کامل برخوردار است.

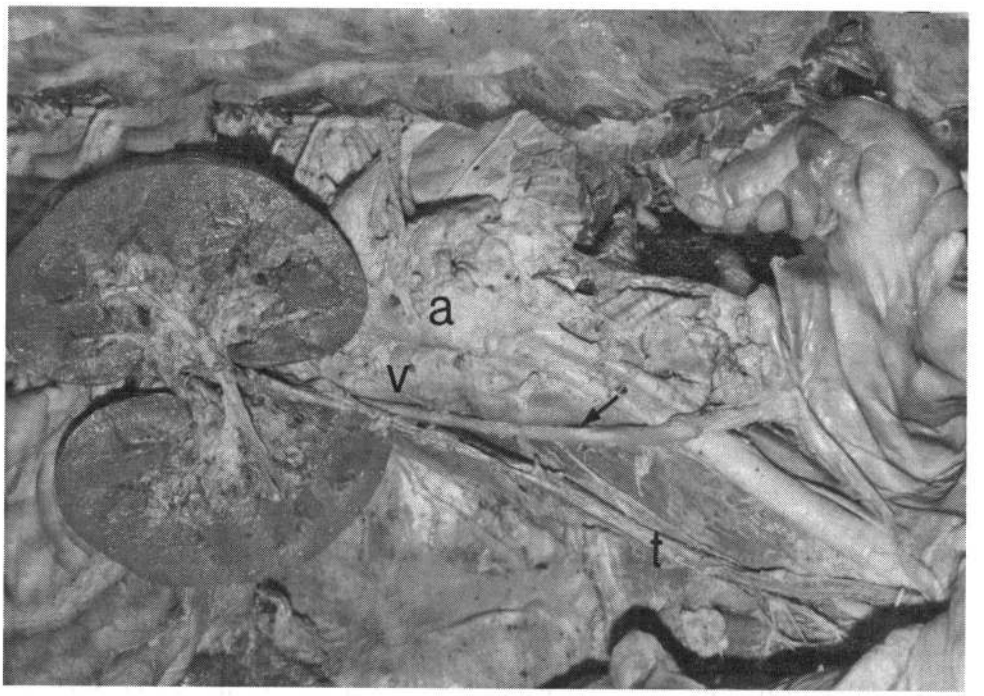




شکل ۵. نمای فوقانی و قدامی کبد تثبیت شده، محل کیسه صفرا (فلش) و همچنین رباطهای گرد و فالسیفورم باستاره مشخص شده‌اند.

شکل ۶. سطح احشایی کبد در رابطه با عناصر موجود در ناف کبد (فلش). کیسه صفرا، مجاری صفراوی که همگی از فیکساسیون بسیار خوب برخوردارند، مشاهده (T) می‌شود.





شکل ۷. نمای داخلی حفره شکم و تثبیت مطلوب احشا و عروق داخل شکم. برش سهمی کلیه تثبیت دقیق پارانشیم حالب (a) و ورید اجوف تحتانی (v) کلیه، هرمها و کالیسها (فلش) ورید رانشان می‌دهد. شریان آئورت و قولون سیگموید هریک به نحو مطلوبی تستیکولار (T) مشخص هستند.

شکل ۸. مقطع ساژیتال لگن مرد. تثبیت دقیق و کامل عروق (فلش) مثانه (B)، پروستات (P)، رکتوم (R)، اجسام غاری (C) و جسم اسفنجی (S) در دستگاه تناسلی قابل مشاهده است.