گروه زیست شناسی

پایان نامه کارشناسی ارشد

رشته زیست شناسی گرایش سلولی تکوینی

با عنوان:

بررسی هیستومورفومتریک و رادیوگرافیک اثر سمّ دیازینون و مکمّل غذایی کلسیم بر تراکم بافت استخوان و پهنای غضروف صفحه‌ی رشد اپی‌فیزی در موش صحرایی نابالغ

اساتید راهنما

دکتر رؤیا لاری

دکتر ناصر مهدوی شهری

استاد مشاور

دکتر مسعود فریدونی

اساتید داور

دکتر علی مقیمی

دکتر مهدی جلالی

پژوهش و نگارش

میترا حقایقی رودی

بهمن ۱۳۹۲

فهرست مطالب:

چکیده: ..... أ

علائم اختصاری: ..... ب

مقدّمه: ..... ت

۱ فصل اوّل: کلّیّات ۲

۱-۱ بافت استخوان ۲

۱-۱-۱ سلّول‌های بافت استخوانی ۳

۱-۱-۱-۱ استئوبلاست ۳

۱-۱-۱-۲ استئوسیت ٤

۱-۱-۱-۳ استئوکلاست ٥

۱-۱-۲ مادّه‌ی بنیادی استخوان ٦

۱-۱-۲-۱ موادّ معدنی ٦

۱-۱-۲-۲ موادّ آلی ٦

۱-۱-۳ پریوستئوم و اندوستئوم ۷

۱-۱-۳-۱ اعمال اصلی پریوستئوم و اندوستئوم ۸

۱-۱-٤ طبقه‌بندی استخوان‌ها ۸

۱-۱-٤-۱ استخوان نابالغ (اوّلیّه)..... ۸

۱-۱-٤-۲ استخوان بالغ (ثانویه = تیغه‌ای) ۸

۱-۱-٤-۳ استخوان متراکم ۹

۱-۱-٤-٤ استخوان اسفنجی (حفره‌دار)..... ۱۰

۱-۱-٥ مغز استخوان ۱۲

۱-۱-٥-۱ مغز قرمز استخوان ۱۲

۱-۱-٥-۲ مغز زرد استخوان ۱۲

۱-۱-٦ استخوان‌سازی ۱۳
۱-۱-٦-۱ استخوان‌سازی داخل غشایی ۱۳
۱-۱-٦-۲ استخوان‌سازی درون غضروفی ۱٤
۱-۱-۷ هیستوفیزیولوژی استخوان ۱۵
۱-۱-۸ مکانیسم کلسیفیکاسیون ۱٦
۱-۱-۹ اثرات هورمون‌ها و ویتامین D بر روی سلّول‌های استخوانی ۱۸
۱-۱-۹-۱ هورمون پاراتیروئید (PTH)..... ۱۸
۱-۱-۹-۲ ۱ و ۲۵ دی هیدروکسی کوله‌کلسیفرول (ویتامین D3)..... ۱۹
۱-۱-۹-۳ کلسی‌تونین ۱۹
۱-۱-۹-٤ گلوکوکورتیکوئیدها ۱۹
۱-۱-۹-۵ استروژن ۲۰
۱-۱-۹-٦ هورمون رشد ۲۱
۱-۱-۹-۷ انسولین ۲۱
۱-۱-۱۰ فاکتورهای رشد تولید شده توسّط سلّول‌های استخوانی ۲۲
۱-۱-۱۰-۱ اینترلوکین ۱ (IL-1) و اینترلوکین ۲ (IL-2) ۲۲
۱-۱-۱۰-۲ فاکتور نکروز کننده‌ی توموری آلفا (TNF-α) ۲۲
۱-۱-۱۰-۳ اینترلوکین ٦ (IL-6) ۲۳
۱-۱-۱۰-٤ اینترلوکین ۷ (IL-7) ۲٤
۱-۱-۱۰-۵ پروستاگلاندین‌ها ۲٤
۱-۱-۱۱ پوکی استخوان ۲۵
۱-۱-۱۱-۱ دوباره‌سازی ۲٦
۱-۱-۱۱-۲ مراحل دوباره‌سازی ۲۷
۱-۱-۱۱-۳ انواع پوکی استخوان ۲۸

۱-۱-۱۱-۳-۱ Primary ۲۸
۱-۱-۱۱-۳-۲ Secondary ۲۹
۱-۱-۱۱-٤ عوامل خطرساز پوکی استخوان ۲۹
۱-۱-۱۱-٤-۱ عوامل ماژور ۲۹
۱-۱-۱۱-٤-۲ عوامل مینور ۲۹
۱-۱-۱۱-۵ درمان پوکی استخوان ۲۹
۱-۱-۱۱-۵-۱ درمان دارویی ۲۹
۱-۱-۱۱-۵-۱-۱ بیس‌فوسفونات‌ها ۲۹
۱-۱-۱۱-۵-۱-۲ استرونتیوم رانلات ۳۰
۱-۱-۱۱-۵-۱-۳ رالوکسیفن ۳۰
۱-۱-۱۱-۵-۱-٤ پپتیدهای هورمون پاراتیروئیدی ۳۰
۱-۱-۱۱-۵-۱-۵ درمان هورمونی ۳۱
۱-۱-۱۱-۵-۱-٦ کلسیم ویتامین D ۳۱
۱-۱-۱۱-۵-۱-۷ کلسی‌تونین ۳۱
۱-۱-۱۱-۵-۲ درمان غیر دارویی ۳۱
۱-۱-۱۱-۵-۳ موارد درمانی جدید ۳۲
۱-۱-۱۱-۵-۳-۱ آنتی بادی ۳۲
۱-۱-۱۱-۵-۳-۲ مهارکننده‌های Sclerostin ۳۲
۱-۱-۱۱-۵-۳-۳ مهارکننده های Dkk1 ..... ۳۲
۱-۱-۱۱-۵-۳-٤ مهارکننده‌های Cathepsin K ۳۲
۱-۱-۱۱-۵-۳-۵ آنتاگونیست‌های اینتگرین αvß3 ..... ۳۳
۱-۱-۱۱-۵-۳-٦ مهارکننده‌های C-Src کیناز ۳۳
۱-۱-۱۱-۵-۳-۷ مهارکننده‌های پمپ پروتونی V-ATPase ۳۳

۱-۱-۱۱-۵-۳-۸ مهارکننده‌های کانال کلریدی ۳۳

۱-۲ بافت غضروفی ۳۳

۱-۲-۱ کندروسیت‌ها ۳۵

۱-۲-۲ ماتریکس غضروف ۳۵

۱-۲-۳ تمایز غضروف ۳۷

۱-۲-٤ رشد غضروف ۳۷

۱-۲-۵ هیستوفیزیولوژی غضروف ۳۸

۱-۲-٦ نواحی مختلف غضروف صفحه‌ی رشد اپی‌فیزی ۳۹

۱-۲-٦-۱ ناحیه‌ی خاموش یا ذخیره ۳۹

۱-۲-٦-۲ ناحیه‌ی تکثیر ۳۹

۱-۲-٦-۳ ناحیه‌ی بلوغ یا هیپرتروفی ٤۰

۱-۲-٦-٤ ناحیه‌ی کلسیفیکاسیون ٤۰

۱-۲-٦-۵ ناحیه‌ی پسرفت ٤۰

۱-۲-٦-٦ ناحیه‌ی استخوان‌سازی ٤۰

۱-۲-٦-۷ ناحیه‌ی جذب استخوان ٤۰

۱-۳ سموم ارگانوفسفره ٤۲

۱-٤ دیازینون ٤۲

۱-٤-۱ مکانیسم عمل سمّ دیازینون ٤٤

۱-٤-۲ نشانه‌های آلودگی با سمّ دیازینون ٤٦

۱-٤-۳ اثر دیازینون بر بافت طحال ٤٦

۱-٤-٤ اثر دیازینون بر بافت مغز ٤۷

۱-٤-۵ اثر دیازینون بر بافت بیضه ٤۹

۱-٤-٦ اثر دیازینون بر بافت تخمدان ٤۹

۱-٤-۷ اثر دیازینون بر بافت کبد ۵۱
۱-٤-۸ اثر دیازینون بر گلبول‌های قرمز ۵۲
۱-٤-۹ اثر دیازینون بر بافت کلّیه ۵۳
۱-٤-۱۰ رابطه‌ی دیازینون و چاقی ۵۳
۱-٤-۱۱ رابطه‌ی دیازینون و سرطان ۵٤
۱-۵ مکمّل کلسیم ۵٤
۱-٦ تکنیک رادیوگرافی ۵۵
۱-۷ پیشینه‌ی تحقیق ۵۵
۱-۸ هدف ۵۷
۱-۹ فرضیّه ۵۷
۲ مواد و روش‌ها ۵۹
۲-۱ لیست مواد مورد استفاده در این پژوهش (جدول ۲-۱) ۵۹
۲-۲ لیست وسایل مورد استفاده در این پژوهش (جدول ۲-۲) ٦۰
۲-۳ تهیّه‌ی مواد مورد استفاده در این پژوهش ٦۱
۲-۳-۱ محلول دیازینون ٦۱
۲-۳-۲ محلول کلسیم ٦۱
۲-٤ تهیّه و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی ٦۱
۲-۵ گروه‌بندی حیوانات ٦۲
۲-٦ جداسازی بافت‌های ران و جمجمه ٦۳
۲-۷ روش رادیوگرافی ٦۳
۲-۷-۱ اندازه‌گیری تراکم استخوان ران ٦٤
۲-۷-۲ اندازه‌گیری تراکم استخوان جمجمه ٦٤
۲-۸ مطالعات بافت شناسی ٦٤

۲-۸-۱ تثبیت نمونه‌ها ٦٤
۲-۸-۲ آهک گیری یا دکلسیفیکاسیون ٦٤
۲-۸-۳ پاساژ بافت ٦٥
۲-۸-۳-۱ آبگیری ٦٥
۲-۸-۳-۲ الکل‌گیری و شفّاف‌سازی ٦٦
۲-۸-۳-۳ آغشتگی با پارافین ٦٦
۲-۸-۳-٤ قالب‌گیری ٦٦
۲-۸-٤ تهیّه‌ی مقاطع بافتی ٦٧
۲-۸-٤-۱ ژلاتینه کردن لام ٦٧
۲-۸-٤-۲ برش‌گیری با میکروتوم ٦٧
۲-۸-٥ رنگ‌آمیزی ٦٧
۲-۸-٦ تثبیت مقاطع رنگ‌آمیزی شده ٦٩
۲-۸-۷ عکس‌برداری میکروسکوپی از مقاطع ٦٩
۲-۹ اندازه‌گیری پهنای غضروف صفحه‌ی رشد اپی‌فیزی ٦٩
۲-۱۰ اندازه‌گیری مساحت و محیط تیغه‌های استخوانی بخش اپی‌فیز استخوان ران ۷۰
۲-۱۱ محاسبات آماری ۷۰
۳ نتایج ۷۲
۳-۱ نتایج حاصل از مطالعات رادیوگرافی ۷۲
۳-۱-۱ تراکم سر(Head) استخوان ران در گروه‌های مختلف ۷۲
۳-۱-۲ تراکم گردن (Neck) استخوان ران در گروه‌های مختلف ۷۲
۳-۱-۳ تراکم کلّ استخوان ران در گروه‌های مختلف ۷۳
۳-۱-٤ تراکم بخش آهیانه‌ی استخوان جمجمه ۷٤
۳-۲ نتایج حاصل از مطالعات بافت شناسی ۷٥

۳-۲-۱ مساحت تیغه‌های استخوانی بخش اپی‌فیز استخوان ران ۷۵
۳-۲-۲ محیط تیغه‌های استخوانی بخش اپی‌فیز استخوان ران ۷۸
۳-۲-۳ پهنای غضروف صفحه‌ی رشد اپی‌فیزی ۷۸
۳-۲-۳-۱ پهنای ناحیه‌ی در حال تکثیر غضروف صفحه‌ی رشد اپی‌فیزی ۸۱
۳-۲-۳-۲ پهنای ناحیه‌ی هیپرتروفی غضروف صفحه‌ی رشد اپی‌فیزی ۸۱
٤ نتیجه‌گیری و بحث ۸٤
٤-۱ نتیجه‌گیری از داده‌های حاصل از مطالعات رادیوگرافی ۸۵
٤-۱-۱ تراکم بخش‌های مختلف استخوان ران ۸۵
٤-۱-۲ تراکم استخوان جمجمه ۸۷
٤-۲ نتیجه‌گیری از داده‌های حاصل از مطالعات بافت شناسی ۸۸
٤-۲-۱ بررسی مساحت و محیط تیغه‌های استخوانی بخش اپی‌فیز استخوان ران ۸۸
٤-۲-۲ بررسی پهنای کلّی و پهنای نواحی در حال تکثیر و هیپرتروفی غضروف صفحه‌ی رشد اپی‌فیزی ۸۹
٤-۳ نتیجه‌گیری کلّی ۹۲
٤-٤ پیشنهادات ۹۳
منابع ۹۵

چکیده

بررسی هیستومورفومتریک و رادیوگرافیک اثر سمّ دیازینون و مکمّل غذایی کلسیم بر تراکم بافت استخوان و پهنای غضروف صفحه‌ی رشد اپی‌فیزی در موش صحرایی نابالغ

مقدّمه: بافت استخوان بافتی پویا و فعّال است که به طور مداوم توسّط سلّول‌های استئوکلاستی تجزیه شده و استخوان جدید توسّط سلّول‌های استئوبلاستی ساخته می‌شود. غضروف صفحه‌ی رشد اپی‌فیزی در انتهای استخوان‌های بلند بین اپی‌فیز و دیافیز وجود دارد و مسئول رشد طولی این استخوان‌ها می‌باشد. رشد طولی استخوان پدیده‌ای فعّال است که با تکثیر و تمایز کندروسیت‌ها ایجاد می‌شود و تا دوران بلوغ ادامه می‌یابد. دیازینون یکی از سموم ارگانوفسفره است که به طور گسترده برای کنترل آفات در مزارع کشاورزی و باغات به کار می‌رود. اثرات سمّی دیازینون از طریق مهار آنزیم استیل کولین استراز سیستم عصبی و هم‌چنین تولید رادیکال‌های آزاد و اختلال در سیستم آنتی‌اکسیدان بدن صورت می‌گیرد. هدف از این مطالعه بررسی اثرات سمّ دیازینون و مکمّل غذایی کلسیم بر روی تراکم بافت استخوان جمجمه و ران و پهنای غضروف صفحه‌ی رشد اپی‌فیزی در موش صحرایی در دوران قبل از بلوغ است.

مواد و روش‌ها: ۲٤ سر موش صحرایی نر نابالغ نژاد ویستار به چهار گروه کنترل (روغن ذرّت)، دیازینون (۵ mg/kg)، کلسیم (۳۵ mg/kg) و دیازینون + کلسیم (۵ mg/kg+۳۵ mg/kg) تقسیم شدند. بعد از ۲۸ روز گاواژ مواد مورد نظر، موش‌های صحرایی بیهوش شده و بافت‌های ران و جمجمه جدا شدند. تراکم استخوان‌های ران و جمجمه پس از عکسبرداری رادیوگرافی و مساحت و محیط تیغه‌های استخوانی بخش اپی‌فیز استخوان ران و پهنای غضروف صفحه‌ی رشد اپی‌فیزی پس از انجام مراحل بافت‌شناسی، با نرم‌افزار Image j تعیین شدند.

نتایج: تراکم استخوان‌های ران و جمجمه، مساحت و محیط تیغه‌های استخوانی بخش اپی‌فیز استخوان ران و پهنای غضروف صفحه‌ی رشد اپی‌فیزی در گروه دیازینون در مقایسه با گروه‌های کنترل، کلسیم و دیازینون + کلسیم به طور معناداری کاهش داشت.

نتیجه‌گیری: کاهش تراکم بافت استخوان ران و جمجمه، کاهش مساحت و محیط تیغه‌های استخوانی بخش اپی‌فیز استخوان ران و کاهش پهنای غضروف صفحه‌ی رشد اپی‌فیزی در گروه دیازینون می‌تواند در نتیجه‌ی استرس اکسیداتیو در بافت‌های استخوانی و غضروفی باشد. کاربرد مکمّل کلسیم اثرات سمّی دیازینون را روی بافت‌های استخوانی و غضروفی موش صحرایی بهبود بخشید.

واژه‌های کلیدی: بافت استخوان، غضروف صفحه‌ی رشد اپی‌فیزی، دیازینون، سیستم آنتی‌اکسیدان، موش صحرایی

علائم اختصاری

ROS: Reactive Oxygen Species

PON: Paraoxonase

SOD: Superoxide dismutase

CAT: Catalase

GSH: Glutathione

TBARS: Thiobarbituric acid reactive substances

MDA: Malondialdehyde

GFAP: Glial fibrillary acidic protein

LH: Luteinizing hormone

FSH: Follicle stimulating hormone

ESR: Erythrocytes sedimentation rate

PTH: Parathyroid hormone

BMD: Bone mineral density

TGFß: Transforming growth factor-ß

IGF-I: Insulin growth factor-I

IL: Interleukin

TNF-α: Tumor necrosis factor α

RANKL: Receptor activator of NFKB ligand

MCSF: Macrophage colony stimulating factor

OPG: Osteoprotegrin

H&E: Hematoxylin & Eosin

EDTA: Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid

PAS: Periodic Acid Schiff

PGE: Prostaglandin

IFN: Interferon

مقدّمه:

بافت استخوان مانند دیگر بافت‌های همبندی از سلّول‌ها، رشته‌ها و مادّه‌ی بنیادی تشکیل شده است، ولی برخلاف دیگر بافت‌های همبندی قسمت خارجی سلّول‌های آن کلسیفیه شده، سخت و محکم می‌گردد و این به دلیل عمل حفاظتی و نگهدارنده‌ی آن در سیستم اسکلتی است. استخوان نقش مهمّی در متابولیسم دارد و منبع ذخیره‌ی یون‌های کلسیم و فسفات است. استخوان قدیمی به طور مداوم توسّط سلّول‌های استئوکلاستی استخوان تجزیه شده و استخوان جدید توسّط سلّول‌های استئوبلاستی ساخته می‌شود. بنابراین استخوان بافتی است که به طور مداوم در حال تجدید و نوسازی است (دزفولیان و شریعت‌زاده، ۱۳۸٦). غضروف صفحه‌ی رشد اپی‌فیزی در انتهای استخوان‌های بلند بین اپی‌فیز و دیافیز وجود دارد و مسئول رشد طولی این استخوان‌ها می‌باشد. رشد طولی استخوان پدیده‌ای پویا و فعّال است که با تکثیر و تمایز کندروسیت‌ها ایجاد می‌شود. رشد طولی استخوان‌ها تا دوران بلوغ توسّط استخوان‌سازی درون غضروفی ادامه می‌یابد، به طوری که صفحه‌ی اپی‌فیزی به تشکیل سلّول‌های غضروفی جدید به طرف دیافیز ادامه داده و تشکیل ستون‌های سلّولی غضروفی، کلسیفیکاسیون غضروف و تولید استخوان انجام شده و در نتیجه طول استخوان افزایش می‌یابد. وقتی رشد متوقّف می‌گردد، دیگر تکثیر غضروف انجام نشده، صفحه‌ی اپی‌فیزی استخوانی می‌گردد و از این به بعد دیگر رشد طولی استخوان انجام نمی‌شود (Kosarian and Azar, 2012). با توجّه به بازسازی مداوم بافت استخوانی در سراسر طول زندگی و هم‌چنین فعّال بودن غضروف صفحه‌ی رشد اپی‌فیزی تا دوران بلوغ، بافت استخوان و غضروف صفحه‌ی رشد اپی‌فیزی می‌توانند سیستم‌های تکوینی مناسبی برای مطالعه‌ی اثرات تیمارهای مختلف و از جمله سموم باشند.

دیازینون یک حشره‌کش ارگانوفسفره است که به طور گسترده در کشاورزی برای کنترل شته‌ها و حشرات آفت گیاهان و محصولات غذایی به کار برده می‌شود. این سم بعد از استفاده وارد منابع آب زیرزمینی و آب‌های جاری می‌شود و می‌تواند به صورت گوارشی، تماس پوستی و استنشاق جذب شود (Fattahi et al., 2007). دیازینون فعّالیّت آنزیم استیل کولین استراز را مهار می‌کند و سبب بروز آسیب در دستگاه عصبی می‌شود (Flaskos, 2011). سمّ دیازینون می‌تواند استرس اکسیداتیو را القا کرده و سبب تحریک تولید گونه‌های فعّال اکسیژن، تولید رادیکال‌های آزاد، کاهش فعّالیّت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پراکسیداسیون لیپیدی شود و آسیب اکسیداسیون ایجاد کند (Shokrzadeh et al., 2012). با توجّه به نکات فوق، این مطالعه در راستای بررسی اثر سمّ دیازینون و مکمّل غذایی کلسیم بر تراکم بافت استخوان جمجه و ران و پهنای غضروف صفحه‌ی رشد اپی‌فیزی در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار در دوران پیش از بلوغ صورت گرفته است.

فصل اوّل

کلّیّات

فصل اوّل: کلّیّات

۱-۱ بافت استخوان

استخوان مانند دیگر بافت‌های همبندی از سلّول‌ها، رشته‌ها و مادّه‌ی بنیادی تشکیل شده است، ولی برخلاف دیگر بافت‌های همبندی قسمت خارجی سلّول‌های آن کلسیفیه شده، سخت و محکم می‌گردد و این به دلیل عمل حفاظتی و نگهدارنده‌ی آن در سیستم اسکلتی است. استخوان عاملی برای حفظ ساختار بدن و هم‌چنین به عنوان عامل خون‌ساز بدن است. به علاوه، نقش مهمّی در متابولیسم دارد و منبع ذخیره‌ی یون‌های کلسیم و فسفات است. در حالی که استخوان مادّه‌ای نسبتاً سبک وزن است، ولی در مقابل فشار و کشش بسیار مقاوم است. استخوان‌ها دستگاهی از اهرم‌ها را تشکیل می‌دهند که نیروهای حاصل از انقباض عضلانی را چند برابر کرده و آن‌ها را به حرکاتی بدنی تبدیل می‌کنند. برخلاف قدرت و سختی که استخوان دارد، مادّه‌ای است که از نظر دینامیکی زنده است و در تمام طول عمر مرتّباً تازه شده و ساخته می‌شود و به همین دلیل جراحان و ارتوپدها قادرند تغییرات مهمّی را در آن به وجود آورند. هم‌چنین در رابطه با تغییرات متابولیک، تغذیه‌ای و آندوکرین دچار تغییر می‌شود. عدم استفاده از آن موجب کوچک شدن و استفاده‌ی زیاد از آن موجب هیپرتروفی و افزایش حجم توده‌ی استخوانی می‌گردد. استخوان قدیمی به طور مداوم توسّط سلّول‌های استئوکلاستی استخوان برداشته شده و استخوان جدید توسّط سلّول‌های استئوبلاستی ساخته می‌شود. بنابراین استخوان بافتی است که به طور مداوم در حال تجدید و نوسازی است (دزفولیان و شریعت‌زاده، ۱۳۸٦).

به علّت سختی استخوان برش آن با میکروتوم دشوار است. تکنیک‌های ویژه‌ای که برای آن به کار می‌رود عبارت‌اند از:

۱. روش سایش[1]: قطعات استخوانی با وسیله‌ی مخصوص تا جایی که در مقابل عبور نور به اندازه‌ی کافی نازک گردند، ساییده می‌شوند و برش به این شکل به وجود آمده، برش شیشه‌ای نام دارد. این تکنیک سلّول‌ها را حفظ نمی‌کند، ولی امکان مطالعه‌ی جزئیات بستر، لاکوناها و کانالیکول‌ها را فراهم می‌آورد. لاکوناها و کانالیکول‌ها در برش‌های شیشه‌ای سیاه به نظر می‌رسند.

۲. دکلسیفیکاسیون استخوان: در این روش موادّ معدنی استخوان به وسیله‌ی ایمرسیون در یک محلول اسید رقیق مانند اسیدنیتریک ۰/۰۵ درصد یا در محلولی محتوی یک مادّه‌ی چنگ زننده‌ی کلسیم مانند اتیلن

[1] Ground section

دی‌آمین تترااستیک اسید (EDTA)[1] قرار گرفته، سپس بافت دکلسیفیه با تکنیک‌های معمول قالب‌گیری، برش‌گیری و رنگ آمیزی می‌شود. در استخوان دکلسیفیه سلّول‌ها چروکیده شده و جزئیات ماتریکس به علّت متورّم شدن الیاف استئوکلاژن تحت تأثیر مواد به کار رفته، با یکدیگر مخلوط می‌شوند (دزفولیان و شریعت‌زاده، ۱۳۸٦).

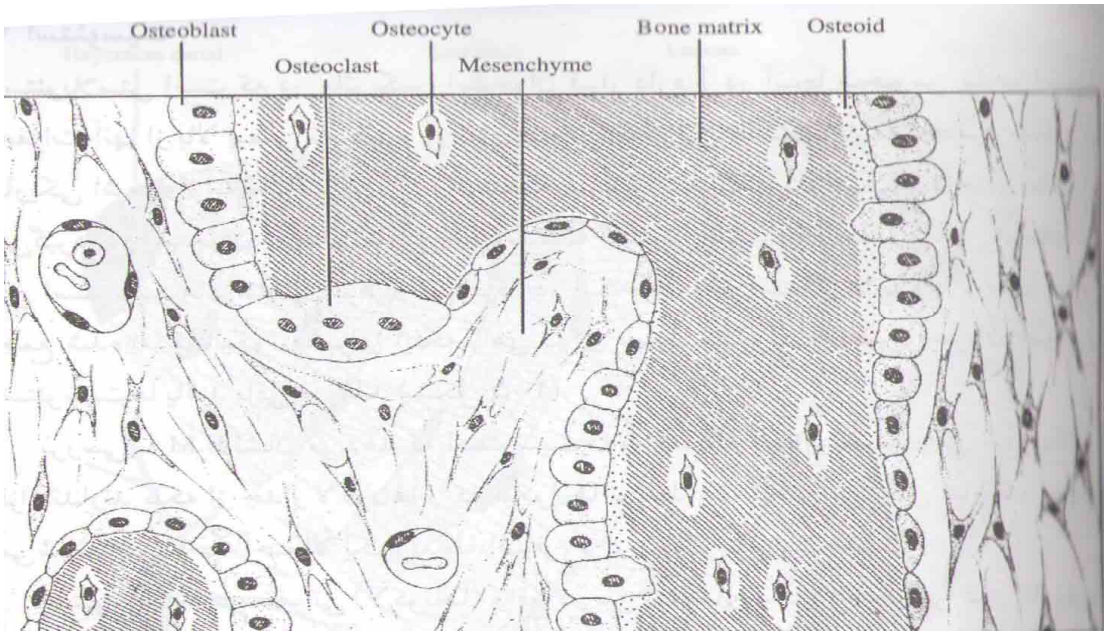
۱-۱-۱ سلّول های بافت استخوانی

۱-۱-۱-۱ استئوبلاست[2]

استئوبلاست‌ها سلّول‌های استخوان‌ساز بوده و در سطحی از استخوان که ماتریکس استخوانی در آن در حال تشکیل است، قرار دارند. بیش‌تر به صورت یک لایه سلّول نظیر یک اپی‌تلیوم درآمده و شکل آن‌ها متغیّر است. بعضی سلّول‌ها مکعبی و برخی هرمی و کشیده‌تر و دارای یک هسته درشت هستند. سلّول‌ها دارای آنزیم فسفاتاز آلکالین در غشای خود هستند، بنابراین نه تنها در تولید ماتریکس، بلکه در کلسیفیکاسیون آن شرکت دارند. سلّول‌ها قطبی بوده و خروج مولکول‌های سنتز شده در سطح سلّول و در تماس با بستر استخوانی صورت می‌گیرد. بستر تازه که هنوز کلسیفیه نشده و در مجاورت استئوبلاست‌ها قرار دارد به نام استئوئید[3] نامیده می‌شود شکل (۱-۱). استئوبلاست‌ها حاوی رسپتورهایی برای ویتامین D، کلسی‌تونین و هورمون‌های استروئیدی هستند. این سلّول‌ها مسئول سنتز اجزای بستر استخوانی هستند. ابتدا کلاژن می‌سازند و سپس مادّه‌ی بنیادی استخوان را ساخته و روی رشته‌ها قرار می‌دهند. استئوبلاست‌ها با ادامه‌ی این عمل یک محفظه‌ی استخوانی ایجاد می‌کنند که خود سلّول در حفره‌ی وسط این محفظه به نام لاکونا[4] قرار می‌گیرد. این سلّول با محصور شدن در این محفظه غیرفعّال شده و دیگر استخوان سازی نمی‌کند و از این پس استئوسیت[5] خوانده می‌شود. استئوبلاست‌ها وقتی که به شدّت مشغول سنتز استخوانی هستند، مکعبی تا استوانه‌ای و سیتوپلاسمی بازوفیل و با فعّالیّت زیاد آنزیم فسفاتاز آلکالین می‌باشند و وقتی که سنتز آن‌ها کاهش می‌یابد، سلّول‌ها پهن شده و سیتوپلاسم بازوفیلی و فعّالیّت آنزیم فسفاتاز آلکالین کاهش می‌یابد. در زندگی جنینی و دوره‌ی رشد پس از تولّد لایه‌ای از سلّول‌های مولّد استخوان (استئوبلاست) در تماس مستقیم با استخوان وجود دارد. در بالغین استئوبلاست‌ها به سلّول‌های مولّد استئوسیت[6] تبدیل می‌شوند که

[1] Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid (EDTA)
[2] Osteoblast
[3] Osteoid
[4] Lacuna
[5] Osteocyte
[6] Osteogenitor

از سلّول‌های دوکی شکل دیگر بافت‌های همبندی غیرفعّال تمیز می‌شوند. اگر استخوان آسیب ببیند، این سلّول‌ها مجدّداً فعّال شده و به شکل استئوبلاست‌ها درآمده و در استخوان سازی مجدّد شرکت می‌کنند (Lerner, 2006).



شکل ۱-۱: نمایی از ناحیه‌ی استئوئید. سلّول‌های استئوبلاست و استئوکلاست در شکل مشاهده می‌شوند (دزفولیان و شریعت‌زاده، ۱۳۸٦).

۱-۱-۱-۲ استئوسیت

این سلّول استئوبلاستی است که در ماتریکس استخوان قرار دارد و در آن جا محبوس شده است. حفرات آن‌ها از بالا بیضی نامنظّم و از کنار محدّب‌الطّرفین هستند. از هر حفره مجاری باریکی اشعه‌وار به اطراف می‌رود و استطاله‌ی سیتوپلاسمیک استئوسیت‌ها درون آن‌ها قرار می‌گیرد. در استخوان در حال تشکیل این استطاله گسترش بیش‌تری دارد و تماس مستقیمی بین استئوسیت‌های مجاور برقرار می‌شود. در استخوان بالغ، استطاله‌ها تقریباً به طور کامل جمع شده، اما کانالیکول‌ها برای این که راهی برای تبادل متابولیت‌ها بین جریان خون و استئوسیت‌ها باشد، باقی می‌مانند. بررسی با میکروسکوپ الکترونی نشان می‌دهد که استئوسیت‌ها و استطاله‌های آن‌ها مستقیماً روی ماتریکس قرار ندارند، بلکه از جدار لاکون‌ها و کانالیکول‌ها توسّط یک ناحیه‌ی بی‌شکل باریک مجزا می‌شوند. این ناحیه احتمالاً یک واسطه‌ی اضافی برای تبادل متابولیت‌هاست. استئوسیت‌ها در حفراتی (لاکوناها) واقع در بین تیغه‌های بستر استخوانی قرار دارند و در هر

لاکونا یک استئوسیت قرار دارد و هم‌چنین فضاهای دیگری به نام کانالیکول استطاله‌های استئوسیت‌ها را در خود جای می‌دهد. استئوسیت‌ها به صورت یک پمپ مکانیکی، مولکول‌های آلی و یون‌های معدنی را به داخل اجزاء مایع استخوانی[1] منتشر نموده و برگشت می‌دهند. در نتیجه این فعّالیّت تدریجاً و به مرور زمان بعضی از استئوسیت‌ها می‌میرند و جذب می‌شوند. این عمل را استئولیز[2] می‌نامند. بدیهی است تدریجاً در محل سلّول‌های جذب شده طبقاتی از ماتریکس کلسیفیه ساخته می‌شود که این عمل را استئوپلاریس[3] می‌خوانند. استئوسیت‌ها شامل دو نوع استئوسیت‌های دراز[4] و استئوسیت‌های مدور[5] هستند و تغییر شکل آن‌ها مربوط به اعمال متابولیکی آن‌هاست (دزفولیان و شریعت‌زاده، ۱۳۸٦).

۱-۱-۱-۳ استئوکلاست[6]

سلّولی بسیار درشت با سیتوپلاسم زیاد و چندین هسته با قطر ۸۰ میکرون می‌باشد. استئوکلاست‌های فعّال بازوفیل بوده و در سطح جذبی، حاشیه‌های چین‌دار یا مخطّط دارند، ولی استئوکلاست‌های غیرفعّال اسیدوفیل بوده و این حاشیه را ندارند. استئوکلاست‌های فعّال در محلّی به نام لاکون هوشیب[7] دیده می‌شوند. می‌شوند. در این محل استخوان در حال جذب است و عمل این سلّول‌ها جذب و تحلیل استخوان است. با بررسی میکروسکوپ الکترونی سطحی از استئوکلاست که مجاور ماتریکس قرار دارد، دارای زواید سیتوپلاسمیک فراوان و میکروویلی است و حاشیه‌ی پرچین[8] نامیده می‌شود. عمل استئوکلاست‌ها شامل برداشت موادّ معدنی و تجزیه‌ی موادّ آلی ماتریکس است که با کمک آنزیم اسید فسفاتاز و کلاژناز صورت می‌گیرد (دزفولیان و شریعت‌زاده، ۱۳۸٦). استئوکلاست یک سلّول قطبی است که یک حاشیه‌ی پرچین را در مکان‌های جذب استخوان فعّال تشکیل می‌دهد. استئوکلاست‌ها توسّط برهم‌کنش بین اینتگرین‌های استئوکلاستی αvß3 و پروتئین‌های ماتریکس استخوان به سطح استخوان می‌چسبند. استئوکلاست‌ها دارای ماشین آنزیمی هستند که احتیاج به ترشّح یون‌های H^+ و Cl^- از طریق حاشیه‌ی پرچین به داخل حفره‌ی بازجذبی دارد. این اسیدی شدن به تجزیه‌ی ماتریکس معدنی استخوان کمک می‌کند. استئوکلاست‌ها هم‌چنین دارای آنزیم‌های پروتئولیتیک هستند که پروتئین‌های ماتریکس استخوان را می‌شکنند (Lerner, 2006).

[1] Bone fluid
[2] Osteolysis
[3] Steopolaris
[4] Elangate osteocyte
[5] Roundish osteocyte
[6] Osteoclast
[7] Hourship's lacuna
[8] Ruffled border

۱-۱-۲ مادّه‌ی بنیادی استخوان

ماتریکس استخوان[1] از دو جزء مهم تشکیل شده است: موادّ آلی[2] و موادّ معدنی[3]

۱-۱-۲-۱ موادّ معدنی

قسمت اعظم مادّه‌ی بنیادی استخوان از موادّ معدنی ترکیب یافته است که حدود ۰/۰۸۵ آن فسفات کلسیم و ۰/۰۱۰ آن کربنات کلسیم است. کلسیم و فسفر در استخوان، کریستال‌های هیدروکسی‌آپاتیت[4] را به‌صورت ترکیب $Ca_{10}(OH)_2(PO_4)_6$ پدید می‌آورند. مقادیر زیادی از فسفات کلسیم بی‌شکل به صورت غیربلوری و کریستال نیز در بستر وجود دارد. فسفات کلسیم در داخل و روی رشته‌های کلاژن رسوب می‌کند که کریستال‌ها به فاصله‌ی ۷۰۰-۶۰۰ انگستروم به طور مرتّب روی رشته‌ها قرار دارند. مقادیر قابل توجّهی یون سیترات و یون بیکربنات در استخوان موجود است. یون فلوراید نیز در استخوان وجود دارد که مقدار آن بسته به مقدار فلورایدی است که در آب آشامیدنی وجود دارد. یون‌های سدیم و منیزیم نیز در استخوان وجود دارند. یون های رادیواکتیو (اورانیوم، پلوتونیوم و سرنیوم) اگر در محیطی باشند به استخوان وارد می‌شوند و خطرناک‌تر از همه یون سزیوم است که موجب تخریب مغز استخوان می‌گردد. در هنگام رشد مقدار موادّ آلی استخوان ثابت مانده، آب آن کم می‌شود و موادّ معدنی افزایش می‌یابد و موادّ معدنی ۰/۰۶۵ وزن عضو را تشکیل می‌دهد. انعطاف پذیری استخوان به عهده‌ی موادّ آلی و مقاومت و محکمی آن به خاطر وجود موادّ غیرآلی می‌باشد (دزفولیان و شریعت‌زاده، ۱۳۸۶).

۱-۱-۲-۲ موادّ آلی

این بخش متشکّل از رشته‌های کلاژن (۰/۰۹۵ از نوع I) و مادّه‌ی زمینه‌ای بی‌شکل که محتوی گلیکوزآمینوگلیکان‌ها توأم با پروتئین‌هاست. تعداد زیادی گلیکوپروتئین‌های اختصاصی از استخوان به دست آورده‌اند که عبارتند از : استئونکتین، سیالوپروتئین، پروتئوگلیکان و استئوکلسین که به شدت به کلسیم می‌پیوندند و ممکن است مسئول پیشبرد کلسیفیکاسیون بستر استخوان باشند. گلیکوزآمینوگلیکان‌های استخوان از نوع کندرواتین ٤ سولفات و ٦ سولفات و کراتان سولفات هستند. پس از این که یک استخوان دکلسیفیه شد شکل آن حفظ می‌شود، ولی مانند تاندون انعطاف‌پذیر می‌گردد. برداشت قسمت آلی بستر که اساساً ساختمان کلاژنی دارد، استخوان را با شکل اصلی خود برجای می‌گذارد، ولی در عین حال شکننده

[1] Matrix of bone
[2] Organic materials
[3] Inorganic materials
[4] Hydroxyapatite

بوده و هنگامی که در دست گرفته شود به آسانی می‌شکند. رشته‌ها در بافت استخوانی بیش‌تر از نوع کلاژن I می‌باشند. این رشته‌ها به صورت دسته‌جاتی به ضخامت ۵ میکرون طوری قرار گرفته‌اند که بلورهای هیدروکسی آپاتیت را لابلای خود قرار داده‌اند. در استخوان هاورسی یا استخوان بالغ[1] در نواحی کوچکی به نام سیستم هاورس، رشته‌ها موازی با استئوسیت‌ها هستند. اما در استخوان درهم بافته یا نابالغ[2]، سلّول‌ها و رشته‌ها نامنظّم بوده و اندازه‌ی سلّول‌ها بزرگ‌تر است (دزفولیان و شریعت‌زاده، ۱۳۸٦).

۱-۱-۳ پریوستئوم[3] و اندوستئوم[4]

سطوح داخلی و خارجی استخوان با لایه‌هایی از بافت همبند به نام پریوستئوم و اندوستئوم مفروش شده است. پریوستئوم (سطح خارجی) استخوان حاوی کلاژن تیپ I، رشته‌های الاستیک، سلّول‌های همبند (فیبروبلاست)، رگ‌ها و اعصاب است. رشته‌های کلاژن پریوستئوم که در بستر استخوان نفوذ کرده و پریوستئوم را به استخوان متّصل می‌سازند، رشته‌های شارپی[5] خوانده می‌شوند. سلّول‌های فیبروبلاست، سلّول‌های پهنی هستند که دارای پتانسیل تقسیم میتوزی و تمایز به استئوبلاست‌ها هستند. این سلّول‌ها نقش بارزی در رشد و ترمیم استخوان ایفا می‌کنند. پریوستئوم در محل‌هایی که تاندون‌ها و لیگمان‌ها به استخوان می‌چسبند، استخوان‌های ندولر کوچک که در تاندون یا کپسول قرار دارند، استخوان کشکک و ناحیه‌ی زیر کپسولی سر استخوان ران وجود ندارد و در محل‌هایی که پریوستئوم وجود ندارد بافت همبندی مجاور و چسبیده به استخوان توانایی ایجاد استخوان ندارد، لذا در مواقع شکستگی در ترمیم شرکت نمی‌کند. اندوستئوم (سطح داخلی) استخوان حاوی سلّول‌های مزانشیم است که در موقع شکستگی تبدیل به سلّول‌های اجدادی شده، سپس به استئوبلاست تبدیل می‌شوند. از این جهت این لایه دارای خاصیت استئوژنیک است. اندوستئوم شامل سلّول‌های پیش‌ساز استخوان همراه با مقدار بسیار کمی بافت همبند است، لذا اندوستئوم به مراتب از پریوستئوم نازک‌تر است. در استخوان‌های پهن جمجمه در هر دو سطح، استخوان متراکم تشکیل می‌شود که معمولاً به نام قابل خارجی و داخلی خوانده می‌شود و در بین آن‌ها لایه‌ای از استخوان اسفنجی با ضخامت متغیّر وجود دارد که به نام دوقطبی[6] معروف است. پریوستئوم سطح خارجی جمجمه را به نام

[1] Lamillar, Mature
[2] Wovex, Immature
[3] Periostium
[4] Endosteum
[5] Sharpy's fibers
[6] Dipole

پری‌کرانیوم[1] می‌خوانند، در حالی که لایه‌ی داخلی آن را سخت شامه[2] می‌نامند (دزفولیان و شریعت‌زاده، ۱۳۸٦).

۱-۱-۳-۱ اعمال اصلی پریوستئوم و اندوستئوم استخوان

اعمال اصلی پریوستئوم و اندوستئوم استخوان تغذیه‌ی بافت استخوانی و تهیّه‌ی مداوم سلّول‌های استئوبلاست تازه برای ترمیم یا رشد استخوان است. به همین دلیل لازم است در اعمال جراحی استخوان احتیاط لازم برای حفاظت‌شان اعمال شود (دزفولیان و شریعت‌زاده، ۱۳۸٦).

۱-۱-٤ طبقه‌بندی استخوان‌ها

الف) از نظر ساختار (طرح کلی ساختمان استخوان)

۱-۱-٤-۱ استخوان نابالغ (اوّلیّه)

قبل از تولّد در استخوان اسفنجی تیغه‌ها مشخّص نیستند و این از اختصاصاتی است که در استخوان در حال تشکیل وجود دارد. در این نوع استخوان، سلّول‌ها و تیغه‌ها در اطراف حفرات گشاد و نامنظّمی قرار گرفته‌اند. اندازه‌ی سلّول‌ها بزرگ‌تر شده و تعداد استئوسیت‌ها نسبت به استخوان بالغ بیش‌تر و مقدار موادّ معدنی آن‌ها کم‌تر است. رشته‌های کلاژن به طور دلخواه در جهات نامنظّم قرار دارند. این نوع استخوان در فرآیند ترمیم در محل شکستگی‌ها وجود دارد. در بالغین استخوان اوّلیّه موقّتی است و بعداً توسّط بافت استخوانی ثانویه جایگزین می‌شود. در بالغین این نوع استخوان فقط در استخوان‌های پهن جمجمه، حفرات دندانی و در محل اتّصال برخی از تاندون‌ها وجود دارد (دزفولیان و شریعت‌زاده،۱۳۸٦).

۱-۱-٤-۲ استخوان بالغ (ثانویه = تیغه‌ای)

این نوع استخوان، استخوان هاورسی نیز خوانده می‌شود. رشته های کلاژن به صورت منظّمی قرار گرفته‌اند و استئوسیت‌ها به صورت دوایر متّحدالمرکزی در اطراف کانال هاورس واقع شده‌اند (شکل ۱-۲). مجموع تیغه‌های متقارب استخوان به دور یک مجرای عروق خونی و اعصاب، بافت همبند سست را احاطه کرده‌اند و برحسب توزیع عروق خونی تغذیه کننده‌ی استخوان منظّم شده‌اند که در این حالت استخوان دارای مجاری طولی به نام مجاری هاورس[3] است که توسّط اتّصالات عرضی، به یکدیگر متّصل می‌شوند.

[1] Pericranium
[2] Duramater
[3] Haversian canal