

© Д. А. Старчик, 2015
УДК 578.67

Д. А. Старчик

МЕТОДИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ПЛАСТИНАЦИИ РАСПИЛОВ ТЕЛА

Международный морфологический центр (науч. руков. — Д. А. Старчик), Санкт-Петербург

В статье описана техника изготовления прозрачных пластинчатых срезов человеческого тела методом пластинации с помощью эпоксидной смолы. Исследованы факторы, влияющие на скорость дегидратации и импрегнации срезов, установлена зависимость степени прозрачности пластинатов от коэффициента преломления эпоксидной смолы. Предложены физические и химические методы коррекции вязкости и оптического преломления эпоксидной композиции. Установлено, что наилучшими демонстрационными качествами обладают пластинированные срезы толщиной от 3 до 5 мм. Предложенная методика может быть использована для изготовления учебных пособий по топографической анатомии и проведения клинико-анатомических исследований.

Ключевые слова: пластинация, срезы тела, пластинированный препарат

Изучение топографической анатомии, как одной из фундаментальных медицинских дисциплин, предполагает использование натуральных анатомических препаратов. Еще в середине XIX в. великий русский хирург Николай Иванович Пирогов предложил использовать срезы замороженных частей тела для обучения практической анатомии. Этот метод получил широкое распространение в России и за рубежом, так как с его помощью удалось изготовить совершенно новый класс анатомических препаратов, позволяющих оценить взаимное расположение анатомических структур в двухмерной системе координат. Пироговский метод послужил основой для создания первого атласа распилов замороженных частей тела, что в конечном счете, привело к появлению отдельной морфологической науки — топографической анатомии.

В настоящее время невозможно представить себе процесс обучения топографической анатомии без использования пироговских срезов. Однако применение натуральных распилов частей тела в качестве учебных пособий имеет ряд недостатков, существенно ограничивающих их применение на лекциях и практических занятиях [1, 9]. Во-первых, при экспозиции на воздухе традиционные срезы быстро мумифицируются и деформируются, что затрудняет их дальнейшее использование для демонстрации и требует изготовления новых препаратов. Во-вторых, натуральные срезы тела являются непрозрачными объектами, поэтому на них не всегда возможно продемонстрировать мелкие анатомические структуры и оценить их взаимоотношение в срезанном сегменте.

В-третьих, распилы головы, шеи, груди, живота и таза часто распадаются на отдельные компоненты вследствие отсутствия связей между анатомическими структурами, попавшими в плоскость среза. Это требует дополнительных усилий по прошиванию и фиксации таких структур хирургическим шелком. Не случайно, что из-за вышеперечисленных недостатков на некоторых кафедрах топографической анатомии предпочитают схемы и рисунки вместо использования натуральных препаратов.

В начале 80-х годов прошлого столетия немецкий анатом Гунтер фон Хагенс предложил использовать эпоксидную смолу для пропитывания тонких срезов тела, которые после полимеризации смолы приобретали прозрачность, твердость и были намного удобнее в практическом использовании [1, 6, 8]. Данный метод получил название пластинация (plastination) и был внедрен в практику Института анатомии и клеточной биологии Гейдельбергского университета в Германии. В своих статьях автор особо отметил долговечность новых препаратов и возможность их использования практически в любой аудитории [3, 9, 16]. Однако в публикациях фон Хагенса и его последователей предложенный метод описывается лишь в общих чертах, что не позволяет применять эту методику для изготовления учебных препаратов и проведения морфологических исследований. Также ни в одной из публикаций не удалось найти информацию по составу и физико-химическим свойствам эпоксидных смол, используемых для пластинации. Данное обстоятельство затрудняет использование эпоксидных смол, при-

Сведения об авторе:

Старчик Дмитрий Анатольевич (e-mail: starchik@mail.ru), Международный морфологический центр, 197375, Санкт-Петербург, ул. Репищева, 9 — 94

обретенных на российском рынке. В обозреваемой литературе единственным источником для приобретения эпоксидной смолы указывается созданная Хагенсом немецкая компания «Biodur», которая является поставщиком 90% оборудования и химреактивов для лабораторий пластинации во всем мире [1, 14].

В качестве экспериментальной модели нами была использована методика пластинации Гунтера фон Хагенса, состоящая из четырех последовательных стадий: 1) изготовление срезов; 2) обезвоживание и обезжиривание; 3) пропитывание срезов эпоксидной смолой; 4) отвердевание смолы в срезах.

Для изготовления срезов телá человека и домашних животных замораживали в жидком азоте при температуре $-195\text{ }^{\circ}\text{C}$ или в морозильной камере Dancag DS630 (Дания) при температуре $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ленточной пилой Kolbe K430 (Германия) производили серии распилов частей тела человека в горизонтальной, фронтальной и сагиттальной плоскостях при скорости полотна от 20 до 50 м/с. В экспериментальных целях были изготовлены срезы толщиной от 1 до 40 мм. Полученные распилы очищали от образовавшейся стружки механическим путем либо посредством промывания срезов в проточной водопроводной воде или в охлажденном ацетоне.

Обезвоживание срезов производили в возрастающих концентрациях этилового спирта, ацетона или смеси ацетона с гексаном в течение 7 сут при температуре от -10 до $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ [4, 10]. Контроль за процессом обезвоживания осуществляли путем измерения плотности обезвоживающего раствора с помощью спиртометра или расчетным методом. Обезвоживание завершали, если концентрация воды в растворе понижалась до 1%. После обезвоживания препараты обезжиривали при комнатной температуре путем погружения срезов в чистый ацетон или хлористый метилен, а также в смесь ацетона с гексаном в соотношении 3:1. Обезжиривание считали завершенным, если обезжиривающий раствор не изменял цвет после экспозиции срезов в течение 7 сут.

Для приготовления импрегнационной композиции были использованы предлагаемые на российском рынке оптически прозрачные эпоксидные смолы ЭД-20 (Дзержинским, Россия) и YD-128 (NanYa Plastics Corp, Тайвань) с коэффициентом преломления от 1,3 до 1,6 ед. Пропитывание срезов смолой осуществляли при комнатной температуре путем погружения обезвоженных и обезжиренных срезов в смесь эпоксидной смолы ЭД-20 и отвердителя ТЭТА (NanYa Plastics Corp, Тайвань) в соотношении 20:1 с последующим помеще-

нием в вакуумную камеру Biodur Plastination Kettle (Германия) и плавным снижением давления с помощью пластинчато-роторного вакуумного насоса Гидромех АВПР-16Д (Россия). При падении давления ниже 300 мбар в срезах происходило образование пузырьков промежуточного растворителя, которые всплывали на поверхность, а их место в тканях замещалось эпоксидной смолой. Интенсивность импрегнации зависела от глубины вакуума в камере, что регулировали с помощью игольчатого крана и контролировали манометром [5, 13]. Важное значение имел также визуальный контроль за скоростью всплывания и размерами пузырей промежуточного растворителя. Процесс импрегнации завершался после прекращения выхода пузырьков растворителя на поверхность смолы.

Для отвердевания срезы извлекали из импрегнационной композиции и оставляли на столе в течение 1–2 ч, что давало возможность избытку смолы стекать с препаратов. После чего срезы помещали в плоские камеры из полиметилметакрилата и заливали новой смесью эпоксидной смолы ЭД-20 (YD-128) с отвердителем ТЭТА в соотношении 10:1. Образовавшиеся в процессе заливки пузырьки воздуха удаляли специальными иглами или посредством нагревания эпоксидной смолы потоком теплого воздуха. После полного застывания смолы срезы извлекали из плоских камер и обрезали ленточной пилой до нужного размера [8, 10, 15].

Установлено, что оптимальная демонстрация всех анатомических образований на пластинированных срезах достигается при изготовлении распилов толщиной от 3 до 5 мм (рис. 1, 2). Для изготовления более толстых пластинчатых срезов потребовалось, в среднем, в 1,5 раза больше времени на этапах импрегнации и отвердевания. Срезы толщиной более 10 мм получались непрозрачными и не могли быть использованы для исследования в проходящем свете.

Для изготовления пластинчатых срезов по данной методике могут быть использованы как фиксированные, так и нефиксированные анатомические объекты. Отмечено, что на срезах, полученных от трупов, которые фиксировали с применением вязких жидкостей, таких как глицерин или этиленгликоль, наблюдалось значительное сморщивание нервных структур, что особенно хорошо заметно на горизонтальных распилах головы.

На срезах, полученных от объектов, подвергавшихся медленному замораживанию в морозильной камере до температуры $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$, выявлено формирование крупных кристаллов льда в головном мозгу и паренхиматозных органах. Эти

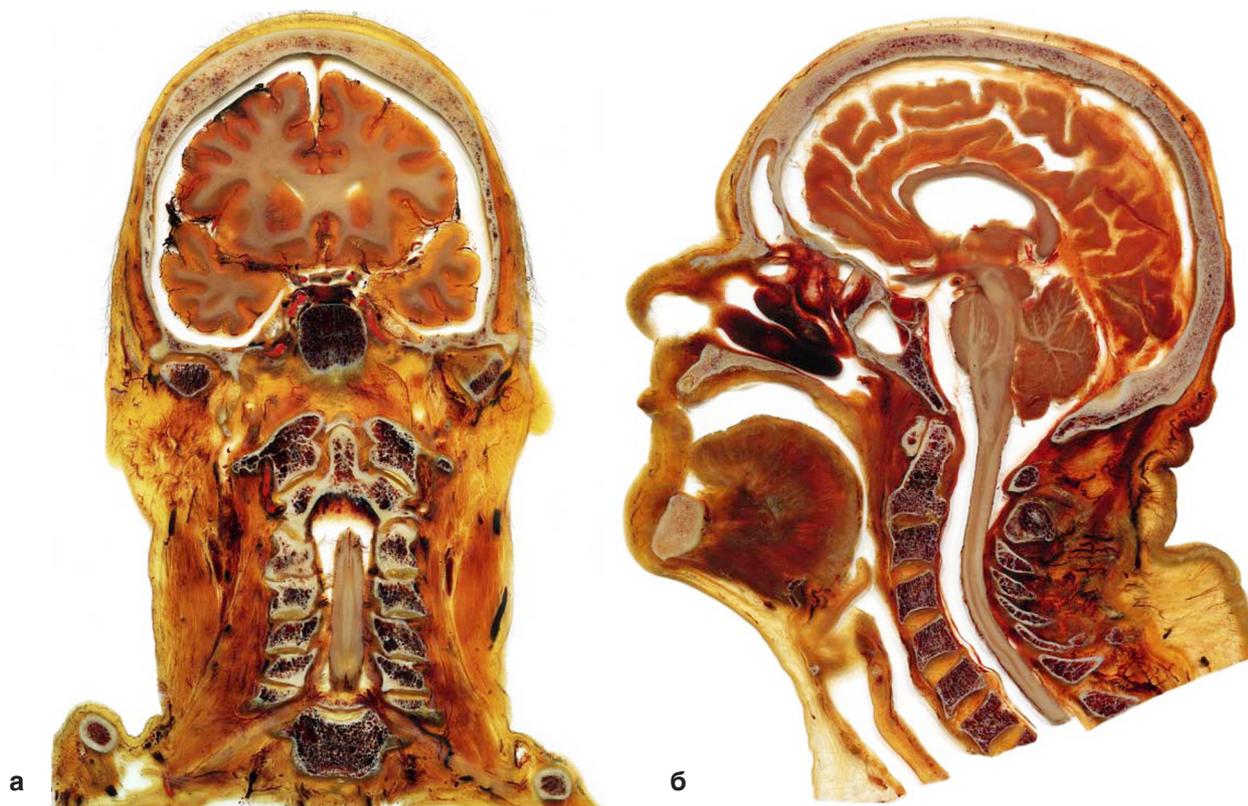


Рис. 1. Пластинированные распилы головы.

а — фронтальный распил через зуб осевого позвонка; б — сагиттальный распил по срединной линии

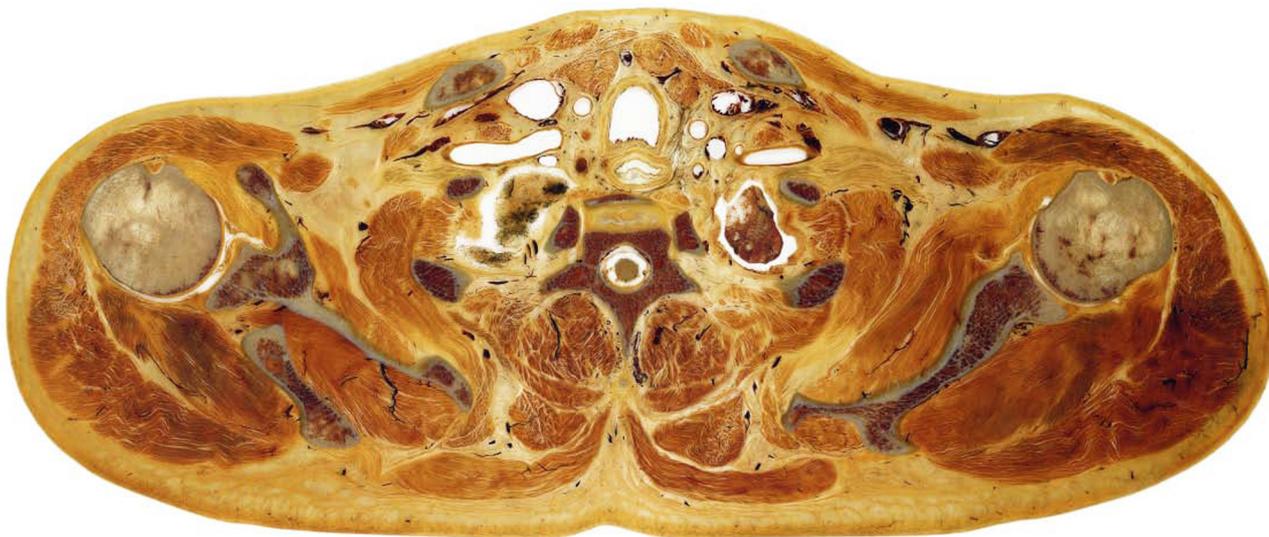


Рис. 2. Пластинированный горизонтальный распил грудной клетки через суставы головок III ребер

кристаллы деформировали ткани, что на готовых препаратах воспринималось как артефакт (рис. 3). Подобные дефекты не были выявлены на распилах полученных от объектов, замороженных быстрым способом в жидком азоте.

Дополнительная инъекция сосудистого русла и полых органов окрашенными силиконовыми композициями позволила получить более инфор-

мативные срезы (рис. 4). Однако, полимеризовавшийся в крупных сосудах силикон при распиливании нередко разрывался ленточной пилой на несколько частей, которые могли разрушать окружающие анатомические структуры.

При сравнении скорости обезвоживания срезов в разных растворителях установлено, что лучше всего использовать для дегидратации рас-

пилов смесь ацетона с гексаном в соотношении 3:1. По сравнению с этиловым спиртом и чистым ацетоном обезвоживание в этой композиции происходит эффективнее за счет отбора влажного ацетона, оседающего на дно емкости, что позволило сократить продолжительность этапа обезвоживания в 1,5–2 раза. Также установлено, что смесь ацетона и гексана обладает лучшими обезжиривающими свойствами даже при отрицательных температурах [4]. Отмечено, что ректификация ацетон-гексановой смеси требует меньших энергозатрат, но должна проводиться только на взрывобезопасном оборудовании с соблюдением правил противопожарной безопасности.

Установлено, что глубина импрегнации тканей эпоксидной композицией напрямую зависит от вязкости смолы. Хороших результатов удалось достичь при использовании эпоксидных смол с динамической вязкостью до 15 Па·с. Применение более вязких смол ухудшало проникновение смолы в ткани и замедляло процесс импрегнации. Добавление в эпоксидную смолу с высокой вязкостью пластификаторов, таких как дибутилфталат, в количестве до 15% от массы готовой композиции позволило снизить динамическую вязкость смолы до требуемых значений. Ускорению импрегнации способствовали также нагревание вакуумной камеры в термостате и про-



Рис. 3. Фронтальный прозрачный распил головы на уровне моста.

Стрелки — места формирования кристаллов льда в коре большого мозга



Рис. 4. Пластинированный горизонтальный распил головы на уровне 24 мм над нижним краем скуловой дуги через зрительные каналы.

1 — отводящий нерв; 2 — зрительный нерв; 3 — нижняя ветвь глазодвигательного нерва к медиальной прямой мышце глазного яблока; 4 — микрососуды слизистой оболочки верхней стенки клиновидной пазухи; 5 — глазная артерия; 6 — ресничный узел. Артерии инъецированы красным силиконом

ведение пропитки срезов смолой при температуре от 30 до 40 °С. Это позволило снизить вязкость эпоксидной композиции и ускорить элиминацию промежуточного растворителя из распилов.

Была выявлена зависимость прозрачности отвержденных пластинчатых препаратов от коэффициента преломления эпоксидной композиции, использованной для пропитывания срезов. Наилучшие результаты были достигнуты при использовании эпоксидной композиции с коэффициентом преломления от $1,52 \pm 0,3$ ед. Оправдано применение эпоксидных композиций с разными преломляющими коэффициентами для различных органов, так как разные ткани содержат разное количество жидкости и имеют различные коэффициенты преломления. Использование специальных добавок, таких как диоксид титана, позволяет увеличить коэффициент преломления смолы, а использование пластификаторов и алифатических отвердителей — снизить этот показатель.

Установлено, что отверждение импрегнированных срезов в плоских камерах из полиметилметакрилата протекает быстрее при повышенной температуре. Увеличение температуры на 10° позволяло сократить длительность отверждения, в среднем, в 2 раза. Однако чрезмерное нагревание неотвержденных срезов выше 55 °С может вызывать формирование в препаратах микроскопических пузырьков промежуточного растворителя, что в целом ухудшает демонстрационные свойства пластинатов.

Проведенные исследования позволили разработать оригинальную методику пластинации и выбрать группу эпоксидных смол, отвердителей и пластификаторов для изготовления прозрачных пластинчатых срезов. При пластинации происходит замещение воды и тканевых липидов на эпоксидную композицию, в результате чего мягкие и непрозрачные распиловы приобретают твердость и прозрачность [7, 8, 14]. Полученные пластины лишены запаха, не подвержены высыханию и разложению, длительно сохраняют анатомические структуры в исходном состоянии и могут быть исследованы визуально и под небольшим увеличением как в проходящем, так и в отраженном свете. Срезы, пластинированные с помощью эпоксидной смолы, не требуют особых условий хранения, и их можно использовать в любой аудитории, а также применять для научных морфологических исследований [6, 9, 12]. Однако по сравнению с полимерным бальзамированием силиконом изготовление прозрачных пластинированных срезов является более трудоемкой методикой и требует дополнительных приспособлений и оборудования [1, 15]. В то же время, при наличии простого

оборудования (холодильная камера, вакуумный насос, вакуумная камера) и соответствующей подготовке персонала подобная методика не будет сложнее, чем изготовление гистологических микропрепаратов, и может быть внедрена в работу морфологических кафедр и лабораторий.

Для получения наилучших результатов следует изготавливать распиловы тела толщиной около 4 мм. Эти срезы можно использовать либо для изготовления пластинчатых моделей целого тела, или для разрезания уже готовых, твердых пластин на более тонкие распиловы. Нам представляется нецелесообразным изготовление по этой методике пластинатов толщиной более 40 мм.

Таким образом, для производства прозрачных пластинатов можно с успехом использовать эпоксидные смолы ЭД-20 и YD-128 с отвердителем ТЭТА, предлагаемые на российском рынке. При выборе других марок необходимо ориентироваться на оптически прозрачные низковязкие эпоксидные смолы с коэффициентом преломления от 1,45 до 1,55 ед.

Несомненно, что прозрачные пластинированные срезы в будущем с успехом заменят традиционные распиловы и позволят открыть новые горизонты в морфологических и клинико-анатомических исследованиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Борзяк Э.И., Усович А.К., Борзяк И.Э., Тузова С.Ю. Руководство по пластинации или новая технология изготовления анатомических препаратов. Витебск: изд. Витебск. гос. мед. ун-та, 2009.
2. Бусарин Д.Н., Старчик Д.А., Кучер Ф.В. Использование пластинированных прозрачных срезов для исследования топографии сосудисто-нервных структур конечностей // Медико-биологические аспекты физической культуры и спорта: Материалы Всерос. науч. конф. посвящ. 60-летию кафедры медико-биологических дисциплин и 170-летию со дня рождения П.Ф.Лесгафта. СПб.: ВИФК, 2007. С. 167–168.
3. Гайворонский И.В., Старчик Д.А., Григорян С.Л., Ничипорук Г.И. Новые методы бальзамирования биологических объектов // Науч. ведом. Белгородск. ун-та. 2000. № 2. С. 31–32.
4. Патент РФ № 2257058, МПК7 А01N1/00, А01N1/02. Раствор для дегидратации и обезжиривания анатомических препаратов при полимерном бальзамировании / Д.А. Старчик. Заявка № 2004116139 от 27.05.2004 г. Опубл. в БИ. 2007. № 16.
5. Патент РФ № 2282354 РФ, МПК А01N1/02 (2006.01). Способ полимерного бальзамирования анатомических препаратов / Д.А. Старчик. Заявка № 2005116455/04 от 30.05.2005 г.; № 2004116139 от 30.05.2005 г. Опубл. в БИ. 2009. № 3.
6. Старчик Д.А. История и перспективы развития полимерного бальзамирования человеческого тела // Biomed. Biosoc. Anthropol. 2004 № 2. С. 82–84.

7. Gao H., Liu J., Yu S., Sui H. A New polyester technique for sheet plastination // J. Int. Soc. Plastination. 2006. Vol. 21. P. 7–10.
8. Hagens G. Impregnation of soft biological specimens with thermosetting resins and elastomers // Anat. Rec. 1979. Vol. 194, № 2. P. 247–256.
9. Hagens G., Tiedemann K., Kriz W. The current potential of plastination // Anat. Embryol. 1978. Vol. 175. P. 411–421.
10. Latorre R.M., Reed R.B., Gil F. Epoxy Impegnation without hardener: to decrease yellowing, to delay casting and air bubble removal // J. Int. Soc. Plastination. 2002. Vol. 17. P. 17–22.
11. Reed R.B., Whaley R.J. Acetone discoloration of epoxy reaction mixture // J. Int. Soc. Plastination. 2008. Vol. 23. P. 5–9.
12. Sora M.-C. Epoxy plastination of biological tissue: E12 ultra-thin technique // J. Int. Soc. Plastination. 2007. Vol. 22. P. 40–45.
13. Sora M.C., Brugger P.C., Strobl B. Shrinkage during E12 plastination // J. Int. Soc. Plastination. 2002. Vol. 17. P. 23–27.
14. Sora M.-C., Cook P. Epoxy plastination of biological tissue: E12 technique // J. Int. Soc. Plastination. 2007. Vol. 22. P. 31–39.
15. Starchik D., Kucher F. Sheet plastination of whole anatomical objects with keeping its own shape // J. Int. Soc. Plastination. 2008. Vol. 23. P. 46–47.

Поступила в редакцию 28.04.2014
Получена после доработки 08.12.2014

THE METHODOLOGICAL BASIS FOR THE PLASTINATION OF BODY SAWCUTS

D.A. Starchik

The article describes the technique for making transparent lamellar human body slices using the method of plastination with epoxy resin. Different factors influencing the velocity of dehydration and impregnation of body slices were examined, the dependence of transparency of plastinated slices on the refraction coefficient of the epoxy composition was established. Physical and chemical methods for viscosity correction and optical refraction of epoxy resin composition were suggested. It was shown that plastinated slices with the thickness from 3 to 5 mm had the best demonstration characteristics. The technique suggested can be used for producing educational plastinated specimens for topographic anatomy and for clinical anatomical studies.

Key words: *plastination, body slices, plastinated specimen*
International Morphological Center, St. Petersburg