

О.П. Мельник

к. вет. н.

В.В. Костюк

к. вет. н.

М.В. Мельник

к. вет. н.

К.В. Дідаш

к. вет. н.

Національний аграрний університет, м. Київ

**ДО МЕТОДИКИ ВИГОТОВЛЕННЯ АНАТОМІЧНИХ ПРЕПАРАТІВ МОЗКУ
ШЛЯХОМ ПЛАСТИНАЦІЇ**

У статті викладена сутність новітньої технології полімерного бальзамування анатомічних препаратів мозку шляхом пластинації, уперше запровадженій в Україні співробітниками кафедри анатомії тварин ім. акад. В. Г. Касьяненка Національного аграрного університету України.

© О.П. Мельник, В.В. Костюк, М.В. Мельник, К.В. Дідаш

Постановка проблеми

З розвитком медичної науки в XVI–XVII століттях при виготовленні анатомічних препаратів, з метою вивчення анатомії людини для збереження органів почали застосовувати консерванти. Ними були фенол (карболова кислота), етиловий спирт, водні розчини солей і кислот, гліцерин і формалін – ось далеко не повний перелік речовин, які використовуються анатомами в якості консервантів і донині. І весь цей час в анатомічних театрах та лабораторіях відбувалося і відбувається хронічне отруєння викладачів і студентів, дослідників і препаратів, вимушених використовувати шкідливі хімічні реактиви при роботі з трупним матеріалом. Окрім цього недоліку, оброблені консервантом навчальні анатомічні препарати зберігаються на повітрі лише невеликий період часу, після чого вони муміфікуються, пліснявіють і стають непридатними, а замість них доводиться виготовляти все нові і нові зразки.

Анатомічні препарати, виготовлені традиційними способами, зазвичай мають неприємний запах. Остання обставина пов'язана з розвитком посмертних змін у біологічних об'єктах, які використовуються анатомами. Запобігти розкладанню тканин мертвих тіл людини і тварини можна за допомогою консервантів – спеціальних хімічних речовин, що викликають коагуляцію білкових молекул. Протягом багатьох століть це був єдиний метод збереження трупного матеріалу.

Методи вирішення проблеми збереження трупного матеріалу цікавлять анатомів вже давно.

Найвні методики консервації, виготовлення та збереження морфологічних об'єктів хребетних та безхребетних тварин на сьогодні є застарілими і не задовольняють потреб музейної справи та не відповідають сучасним вимогам якості та безпеки зберігання музейних і навчальних колекцій, а потребують удосконалення та розробки нових.

В останні десятиріччя у практику морфологічних досліджень гуманної і ветеринарної медицини почали впроваджувати нові методи виготовлення музейних препаратів шляхом полімерного бальзамування – пластинації.

Проблема виготовлення музейних препаратів нового покоління шляхом заміни води в тканинах на полімери, яка отримала назву – пластинація, турбує багатьох морфологів України, але у зв'язку зі складністю методик та відсутністю спеціальних приладів жоден з науковців та спеціалістів музейної анатомічної та загальнобіологічної справи в Україні не працює над вирішенням цього питання.

Актуальність дослідження і вдосконалення даного напрямку полягає у необхідності розробки новітніх технологій виготовлення та збереження анатомічних препаратів для забезпечення навчального процесу під час викладання анатомії тварин та людини.

Мета та завдання. Удосконалення методики пластинації неврологічних анатомічних препаратів та запровадження вперше в Україні новітньої технології полімерного бальзамування анатомічних об'єктів.

Об'єкти та методика досліджень

Матеріалом досліджень були анатомічні препарати головного та спинного мозку свійських тварин, яких бальзамували методом пластинації.

Результати досліджень

У середині двадцятого століття почався бурхливий розвиток хімії високомолекулярних з'єднань, що дозволило отримати широкий спектр полімерів з унікальними властивостями. Анатоми давно звернули на них свою увагу і стали використовувати полімерні композиції для ін'єкції судин і порожнистих структур з метою отримання оригінальних деревоподібних зліпків. У той же час проводилися експерименти з покриття поверхні органів різноманітними полімерами з метою зменшення муміфікації анатомічних препаратів і збільшення терміну їх використання. Проте лише в кінці 70-х років у Німеччині викладач анатомії Гейдельберзького університету Гюнтер фон Хагенс розробив і запатентував методику насичення органів і зрізів тіла прозорими полімерними композиціями.

З 2004 року з метою вдосконалення анатомічних технологій нами проводиться пошук нових способів консервації анатомічних і біологічних об'єктів з використанням полімерів. Перші анатомічні препарати, бальзамовані силіконом, були отримані нами у 2004 році. Останніми роками випробувані та вдосконалені декілька оригінальних технологічних процесів [1, 2, 3, 4].

Наріжним каменем процесу полімерного бальзамування є заміна води і ліпідів у біологічних тканинах на прозорі полімери і смоли.

У результаті цієї обробки анатомічні препарати набувають нових унікальних властивостей:

1. Токсичні консерванти та інші шкідливі для здоров'я речовини видалюються з органів разом з водою. Це робить пластиновані препарати безпечними для здоров'я і дає можливість поводитися з ними без захисного спецодягу (халат і гумові рукавички).

2. Видалення води зупиняє ферментативні реакції і розвиток мікроорганізмів, що запобігає будь-яким змінам у біологічних тканинах. Тому пластиновані зразки не мають ніякого запаху і не псуються протягом багатьох років.

3. Заміщення води на хімічно інертний полімер дає можливість зберігати препарати на повітрі без повторної обробки консервантами і не вимагає використання спеціальних ємкостей і герметичних контейнерів.

4. Міцність і зносостійкість пластинованих зразків значно вищі, ніж у традиційних анатомічних препаратів. Саме тому навчальні експонати, виготовлені методом полімерного бальзамування, мають тривалий термін експлуатації, прості і зручні у використанні.

5. Процес полімерного бальзамування починається з фіксації біологічного матеріалу і закінчується затвердінням полімеру усередині біологічного об'єкта. Тривалість процесу становить від 2 до 7 місяців і залежить від розміру і складності анатомічного препарату, що виготовляється.

У процесі полімерного бальзамування виділяють чотири етапи, що виконуються у такій послідовності:

1. Виготовлення анатомічного препарату;
2. Дегідратація і знежирення біологічного об'єкта;
3. Просочення анатомічного препарату рідким полімером;
4. Полімеризація (тверднення полімеру) анатомічного препарату.

Виготовлення анатомічних препаратів шляхом препарування традиційно є складною роботою, що вимагає ретельності і акуратності. Іноді в цьому процесі можуть використовуватися спеціальні пристосування, але більш ніж на 90% ця робота вимагає тільки пінцета і скальпеля в умілих руках. Як не існує двох однакових картин або скульптур, так і кожен з виготовлених нами препаратів унікальний.

Для виготовлення препаратів може бути використаний як фіксований, так і нефіксований матеріал. При цьому як фіксуючі агенти можуть застосовуватися будь-які відомі консерванти.

Препарування головного мозку. Препарати з головного мозку зазвичай зберігають у консервуючих рідинах. Можна зберігати їх і у вигляді мумій, але вони крихкі і менш демонстративні.

Щоб приготувати препарати з головного мозку, необхідно провести підготовчі роботи, що тривають 4–5 місяців. Від голови відокремлювали нижню щелепу. З поверхні черепа знімали м'язи і окістя. Передню (оральну) частину черепа відпилювали по рівню переднього (орального) краю орбіт. Дуже обережно, не порушуючи цілості мозкових оболонок, видаляли частину луски скроневої кістки, окремі ділянки лобових і тім'яних кісток і біля атланта й епістрофея спилювали верхні стінки спинномозкового каналу. Таким чином створювали доступ фіксуючої рідини до мозку. Мозок занурювали в розчин формаліну. Концентрацію формаліну поступово збільшували: у 2%-му розчині мозок витримували 2 тижні, у 5%-му – місяць, в 8 і 10%-му 1–2 місяці. Після такої обробки мозок стає щільним, що створює умови для витягання його з черепної коробки без пошкоджень.

Маркером відзначали три лінії майбутніх розпилів. Поперечний розпил робили по лінії, що сполучає середини лобових країв орбіт, бічні – на 1 см вгору від зовнішнього слухового проходу, у напрямку до точок, розташованих дещо вище від основи яремних відростків. Кістки розпилювали пилкою, але розрізи не доводили до твердої мозкової оболонки; завершували роботу долотом, прагнучи не пошкодити тверду мозкову оболонку. Зачепивши раневим гачком за передній край черепної коробки, її зривали. Видаляли залишки луски потиличної кістки, перетинали судини і спинний мозок. Головний мозок зручніше витягувати разом з твердою мозковою оболонкою, починаючи із задніх відділів мозку. Знаходили і перерізували язикоглотковий, блукаючий, додатковий і під'язиковий нерви. Злегка підіймали мозкову оболонку разом з поміщеним у ній довгастим мозком, розтинали слуховий і лицьовий нерви, що впадають у слуховий прохід, розрізали трійчастий нерв, розташований дещо попереду від попередніх. Підводили ручку скальпеля під гіпофіз і піднімали його разом із “чудовим” судинним сплетенням мозку,

прилеглим до бічних поверхонь гіпофіза.

Дещо піднявши всю задню частину головного мозку, перетинали зорові нерви, передню гілку трійчастого нерва, відвідний, блоковий і окоруховий нерви. Ручкою скальпеля дуже обережно препарували нюхові цибулини і, нарешті, вийнявши головний мозок разом з усією твердою мозковою оболонкою, поміщали їх на один день в 10%-й розчин формаліну для ущільнення, потім тверду мозкову оболонку знімали, а мозок витримували в такому ж розчині ще декілька днів.

Результати будуть ще кращі, якщо при витяганні головного мозку з черепної коробки відокремлюють кістки від мозку, а не мозок від кісток. Подібна процедура вимагає досить багато часу, але створюється можливість отримати мозок з достатньо довгими відрізками черепно-мозкових нервів. Застосовуючи вказаний спосіб, кістки видаляли невеликими шматочками кістковими щипцями, кусачками, долотом. Особлива обережність необхідна при знятті клиноподібної кістки і її крил, оскільки через отвори в цій кістці виходять численні нерви.

Якщо є можливість, бажано мати препарати з головним мозком, як звільненим від твердої мозкової оболонки, так і такі, що знаходиться в ній.

Препарат – поздовжній розріз через головний мозок. Головний мозок клали у воду базальною поверхнею. Розсунувши великі півкулі, поволі робили поздовжній розріз чітко по середній лінії, послідовно розтинаючи при цьому передню комісуру, передню сполучну артерію, склепіння (пластинку з білої речовини), кришку третього шлуночка (сірувату пластинку). Проходячи через порожнину третього шлуночка, розрізали епіфіз і продовжували розріз до нижньої поверхні головного мозку. Одночасно із цим, просуваючи ніж назад, розтинали, також по середній лінії, мозочок, четвертий шлуночок і довгастих мозок. Мозок різали спеціальними мозковими ножами.

Препарат – сегментальні розрізи через головний мозок. Мозок клали у воду нижньою поверхнею догори і робили розріз через зорове перехрестя точно в поперечному напрямі. Кожну половинку у свою чергу розрізали на чотири рівних пластинки. На аборальних поверхнях усіх пластинок приклеювали номери, що показують послідовність зрізів.

Препарат – фронтальний розріз головного мозку через бічні шлуночки. Спосіб виготовлення – аналогічний техніці виготовлення попереднього препарату.

Препарат – спинний мозок, що розрізаний упоперек. Брали відрізок хребетного стовпа з трьома крупними грудними хребцями без ребер і м'яких тканин. Витримували його у фіксуючій рідині. Середній хребець перепилювали навпіл у поперечному напрямі. Залишок однієї з половинок перепилюваного хребця обережно, по шматочках видаляли кістковими кусачками і в результаті оголяли ділянку спинного мозку і відрізки пари спинномозкових нервів. Препарували мозкові оболонки, нервові корінці і спинномозкові вузли, розташовані в основі дорсальних корінців. Матеріал знову витримували у фіксуючій рідині, потім мозковим ножом відсікали вузьку смужку від кінця відрізка спинного мозку і отримували гладку поверхню, на якій добре видно

структуру мозку. Так само робили і з другою половиною розпиляного хребця і в результаті отримували ще один препарат. Зберігали їх у консервуючій рідині.

Препарат – спинний мозок. Випилювали весь хребетний стовп. Відпилювали ребра. Використавши подвійну пилку (після спилування остистих відростків), перепилювали і знімали всі дужки хребців. Бічні стінки дужок хребців зрізали кістковими щипцями-кусачками. Препарат деякий час витримували у фіксуєчій рідині. На невеликому відрізьку в подовжньому напрямі розкривали тверду мозкову оболонку (відкриваючи доступ до інших оболонок). Упорядковували спинномозкові корінці. Препарат зберігали у вологому стані.

Для поліпшення демонстраційних якостей полімеризованих препаратів і підвищення їхньої навчальної цінності в судинне русло органів, що виготовляються, ін'єктували підфарбовані застигаючі суміші на основі латексу, желатину, силікону або епоксидної смоли.

Застосування тонких зрізьв органів і частин тіла для виготовлення пластинчастих препаратів може з успіхом використовуватися для показу внутрішньої структури органів і їх взаємного розташування.

Дегідратацію органів проводили у спеціальній установці при низькій температурі. Спеціально розроблений і запатентований розчин заміщає воду в органах, знижуючи її вміст у тканинах до 1% протягом декількох днів. Завдяки декільком технічним удосконаленням забезпечується поступова дегідратація органів, що дозволяє зберігати об'єм біологічних об'єктів на подальших етапах хімічної обробки.

Знежирення здійснювали після обезводнення препаратів при кімнатній температурі, оскільки в цих умовах значно зростає розчинність тканинних ліпідів у проміжному розчиннику. Завдяки модернізації процесу можна досягти екстракції тканинних жирів протягом семи днів. Ретельний контроль за знежиренням і обезводненням препаратів забезпечує високу якість зразків і скорочення термінів їх виготовлення.

Просочення (імпрегнація) біологічних об'єктів полімерною композицією проводили у вакуумній камері як при низькій, так і при кімнатній температурі. Знежирені і зневоднені біологічні об'єкти занурювали у полімер і поміщали у вакуумну камеру, після чого в камері плавно знижували тиск. При зниженні тиску відбувається „кипіння” проміжного розчинника і виділення міхурців, що утворилися, місце яких у міжклітинному просторі заміщається на полімер. Застосування нових полімерів дозволяє проводити імпрегнацію при кімнатній температурі, що істотно скорочує тривалість цього етапу.

На етапі полімеризації полімер, що проник в органи і тканини, вступає в хімічну реакцію при якій відбувається зв'язування окремих молекул одна з одною і формування гігантських полімерних ланцюгів. У результаті цієї реакції полімер твердне і втрачає текучість. На цьому етапі зразки можуть бути допрепаровані, а деяким частинам тіла і органам може надаватися потрібна форма. Після застигання полімеру на поверхні зразків препарати необхідно витримати декілька годин в ізостатичних і ізотермічних умовах з

тим, щоб відбулася остаточна полімеризація силікону в глибоких шарах органів, після чого препарати можна використовувати в навчальному процесі.

Подальша розробка технології полімерного бальзамування дозволить виготовляти як прозорі тонкі зрізи органів і частин тіла, так і тотальні препарати цілих тіл, які можна з успіхом використовувати у навчальних і наукових цілях.

Порівняно з традиційними вологими препаратами наші зразки мають багато переваг, основними з яких є такі: нетоксичність анатомічних препаратів; відсутність будь-якого запаху; препарати зберігають природну форму і, в деяких випадках, природній колір органів; надзвичайно демонстративні і можуть вивчатися як візуально, так і мануально; мають необмежений термін придатності; не вимагають для зберігання ніяких ємностей; мають високу міцність і зносостійкість; їх використання заощаджує навчальний бюджет.

Через ці властивості препарати, виготовлені методом полімерного бальзамування, можна з успіхом використовувати при проведенні лабораторних занять, лекцій, прийому іспитів, а також при проведенні виставок і публічних виступів та у будь-якій іншій діяльності, яка припускає макроскопічне вивчення біологічних об'єктів.

Висновки

1. З метою поліпшення рівня підготовки фахівців ветеринарної медицини на кафедрі анатомії тварин ім. акад. В.Г. Касьяненка НАУ запроваджена новітня технологія виготовлення анатомічних препаратів шляхом полімерного бальзамування.

2. Пластиновані навчальні препарати та анатомічні музейні експонати нервової системи є довговічними, не потребують ніяких особливих умов зберігання, не мають запаху, не бояться вологи, зберігають еластичність, не підвладні біологічним пошкодженням, є екологічно чистими, мають необмежений термін експлуатації.

3. Метод пластинації, або полімерного бальзамування, дозволяє виготовляти не лише навчальні, але й оригінальні музейні анатомічні препарати. Вони можуть бути цілком придатними для викладання клінічних дисциплін.

Перспективи подальших досліджень

Удосконалення технологічного процесу і устаткування дозволить нам поширювати виготовлені шляхом полімерного бальзамування препарати серед інших вузів України. Ми сподіваємося, що виготовлені нами пластиновані анатомічні препарати стануть буденним явищем на кожній кафедрі анатомії.

Література

1. До питання виготовлення анатомічних музейних препаратів із риб. *О.П. Мельник, В.В. Костюк, К.В. Дідаш., М. В. Мельник* // Наук. вісн. НАУ. – 2005. – Вип. 89. – С. 110–115.
 2. *Мельник О.П., Костюк В.В.* Про новітню технологію пластинації біологічних об'єктів // Тези доп. V конф. проф.-викл. складу та асп. ННІВМЯБПК. – К., 2006. – С. 73.
 3. *Мельник О. П., Ткачук С. А., Костюк В. В.* Роль анатомічного музею у підготовці лікаря // Збірник праць Міжнародної наради-семінару завідувачів кафедр та провідних викладачів морфологічних дисциплін факультетів ветеринарної медицини ВНЗ III–IV рівнів акредитації «Адаптація методик викладання морфологічних дисциплін до вимог Болонської угоди». – 2005. – С. 34–38.
 4. Сучасні методи виготовлення морфологічних музейних препаратів. *О.П. Мельник, В.В. Костюк, К.В. Дідаш., М. В. Мельник* // наук. вісн. НАУ. – К., 2005. – Вип. 98. – С. 133–136.
-
-