

Методологія наукових досліджень

Scientific research methodology

Шановні колеги! У рубриці „Методологія наукових досліджень” редакція продовжує публікацію матеріалів, що пов’язані з найважливішими аспектами наукової і навчальної діяльності: організаційно-методичним забезпеченням наукових видань, загальними принципами статистичного, біометричного і математичного супроводження досліджень, а також оригінальними методичними підходами вітчизняних і зарубіжних морфологів.

О.А.Горустович
Е.С.Околокулак

УО «Гродненский государственный медицинский университет»
Республика Беларусь

Ключевые слова: криопрепарирование; сосуды сердца; раствор; замораживание.

Надійшла: 24.02.2015

Прийнята: 23.03.2015

УДК 611:08=57.08

КРИОПРЕПАРИРОВАНИЕ СОСУДОВ СЕРДЦА ЧЕЛОВЕКА

Реферат. Целью работы была разработка нового способа препарирования сосудов сердца человека, позволяющего сократить временные затраты и улучшить качество получаемых анатомических препаратов. Методы исследования: макропрепарирование, микропрепарирование, криопрепарирование. Результаты исследования: в ходе исследования был разработан новый способ изготовления анатомических препаратов, позволяющий сократить время и улучшить качество анатомических препаратов. Данный способ также может быть использован для создания препаратов других органов и анатомических областей, где важные структуры проходят внутри жировой ткани.

Morphologia. – 2015. – Т. 9, № 1. – С. 82-85.

© О.А.Горустович, Е.С.Околокулак, 2015

✉ olga_g_a@tut.by

Gorustovich O.A., Okolokulak E.S. Cryodissection of vessels of the human heart.

ABSTRACT. Background. One of the most actual problems of applied morphology is the problem of demonstrativeness. In the educational process it is important to demonstrate the organs taken from the human body with all features of their structure preserved. The basic method of normal anatomy is a dissection of cadaveric material. It gives anatomical preparations demonstrating the structure of the human body. But classical dissection has certain difficulties: the complexity of layer-by-layer tissue separation and extraction of important anatomical structures. Currently for the manufacture of anatomical preparations a number of other methods are used: method of corrosion and polymeric embalming. However these techniques are time consuming, expensive, and also can cause damage to the structures of the heart during their extraction out of adipose tissue. **Objective.** To create a new method for the dissection of the human heart, allowing to reduce the time and to improve the quality of the preparations. **Methods.** We have prepared two solutions with different freezing temperature. Tissue which needed to be preserved (myocardium) was impregnated with solution №1. Tissue that need to be deleted (adipose tissue), impregnated with solution №2. After freezing the heart myocardium frizzes, but unfrozen adipose tissue could be easily separated. We examined 30 human hearts: 15 preparations by the classical dissection, 15 preparations with the help of cryodissection. **Results.** Preparation of hearts by the classical method took about 180 minutes, with the help of cryodissection – 30 minutes. Visualization of the coronary arteries and their branches after our method is better, myocardium is smooth, also preserve the natural color of the drug. Additionally, there is no contact of the researcher with harmful conservatives (for example formaldehyde). **Conclusion.** We have developed a method for dissection of cadaveric material, which improves the quality of anatomical preparations and reduces the time of their creation.

Key words: cryodissection; coronary artery; the solution; freezing.

Citation:

Gorustovich OA, Okolokulak ES. Cryodissection of vessels of the human heart. *Morphologia*. 2015;9(1):82-5. Russian.

Введение

Изучение анатомии невозможно без препарирования трупа. По учебникам и атласам можно

понять лишь общую организацию строения тела человека, но изучить анатомию можно только на трупном материале.

Препарирование является неотъемлемой составной частью учебного процесса кафедр морфологического профиля и несет в себе элементы исследовательской деятельности преподавателя. Во время этой довольно трудной и кропотливой работы исследователь не только прочно усваивает анатомию, но также выявляет индивидуальные морфологические особенности строения тела в отличие от нормы, которая описывается в соответствующих учебниках и руководствах. Таким образом, препарирование приучает начинающего преподавателя с его первых шагов на научном поприще к самостоятельному мышлению [1].

Метод препарирования позволяет при помощи простых анатомических инструментов (скальпель, пинцет, пила и др.) исследовать строение и взаимное расположение (топографию) органов. Применяется при изучении внешнего строения и топографии крупных образований. Объекты, видимые при увеличении до 20-30 раз, могут быть описаны после их макро- и микроскопического препарирования. Этот метод имеет ряд разновидностей: препарирование под падающей каплей, под слоем воды. Он может дополняться разрыхлением соединительной ткани различными кислотами, окраской изучаемых структур (нервов, желёз), наполнением трубчатых систем окрашенными маслами [2].

Метод инъекции – применяется с XVII - XVIII веков. В широком смысле под этим подразумевают заполнение полостей, щелей, просветов, трубчатых структур в человеческом теле окрашенной или бесцветной уплотняющей массой. Это часто делают в целях получения слепка исследуемой полости или сосуда, а также для того, чтобы этот сосуд легче было отделить от окружающих тканей. В настоящее время метод инъекции применяется, главным образом, для изучения кровеносных и лимфатических сосудов. Этот метод сыграл прогрессивную роль в развитии анатомических знаний, в частности, он позволил узнать ход и распределение кровеносных и лимфатических сосудов внутри органов, выяснить протяженность сосудов, особенности их хода. Известный способ препарирования сосудов после заполнения их инъекционными растворами (канифоль, смола, воск, желатин, целлоидин, масса Рейлинга, Старкова, Тихонова, естественных и синтетических латексов) имеет ряд недостатков: при затвердевании сосуда становятся хрупкими и ломкими, особенно мелкие, при этом естественная эластичность последних не сохраняется. Приготовление цветной желатиновой массы для наливки сосудов требует определенной последовательности: 1) смешивания различных веществ процесс довольно-таки трудоемкий (набухание желатина в течение 24 ч в воде, его отжатие, нагревание на водяной бане, смешивание красителя с аммиачной водой при

постепенном нагревании с добавлением затем к смеси расплавленного желатина, глицерина и хлоралгидрата; 2) фильтрация смеси; 3) расплавление желатина перед наливкой. Использование целлоидина вместо желатина также имеет свои недостатки: 1) твердость целлоидина неестественна для сосудов; 2) для растворения целлоидина используется смесь абсолютного спирта с эфиром [3].

Метод коррозии – в общих чертах заключается в том, что трудно препарировываемые ткани удаляются путем вытравливания их кислотами или при постепенном отгнивании в теплой воде. Предварительно кровеносные сосуды или полость органа наполняют массой, которая не разрушается под действием кислоты. Следовательно, этот метод тесно связан с методом инъекции. Метод коррозии дает более точные данные относительно хода и расположения кровеносных сосудов, чем метод простого препарирования. Недостатком этого способа является контакт препарата с вредными летучими веществами, а также то, что после удаления тканей теряются естественные топографические взаимоотношения между отдельными частями органа [4].

Очень популярным в последнее время стал **метод полимерного бальзамирования**. Полимерное бальзамирование – это процесс замещения в биологических объектах воды и липидов на силоксановые композиции с последующим приданием им естественного внешнего вида. По сравнению с традиционными, препараты, полученные способом полимерного бальзамирования, обладают целым рядом преимуществ: совершенно нетоксичны, лишены запаха, не оказывают вредного воздействия на организм человека; являются экологически чистыми; хранятся неограниченно долгий срок на воздухе без применения герметично закрытых контейнеров и соблюдения специальных условий; отличаются высокой стойкостью к внешним воздействиям; значительно повышают прочность натуральных анатомических и биологических препаратов, существенно увеличивая срок их использования в учебном процессе, что делает их применение экологически выгодным. Назначение полученных препаратов, может быть многопрофильным (возможность преподавания различных разделов морфологических дисциплин) [5].

В 2009 году был разработан способ анатомического препарирования сосудисто-нервного пучка и лимфатического аппарата на свежих (не бальзамированных) трупах. Предлагаемый способ осуществляется следующим образом. В зону предполагаемого анатомического препарирования вводят физиологический раствор из расчета 10 мл на 20-30 мг жира. После инъекции поля препаровки производят его обработку путем ультразвуковой кавитации аппаратом Soft Lipomodel, сертифицированным в ЕЕС

№0068/ETI-DM/057-99, вследствие чего происходит эмульгирование жира. Затем производят его удаление с помощью салфеток и электроотсосом. Полностью в едином блоке выделяют все лимфоузлы, лимфоколлекторы, сосуды и нервы. Ультразвуковая кавитация разрушает жировые клетки и ткань, которые окутывают важные анатомические структуры. После эвакуации жировой эмульсии, все анатомические структуры и ультраструктуры (мелкие лимфоузлы, лимфатические сосуды, капилляры, нервы) становятся доступными для изучения. В дальнейшем в зависимости от преследуемой цели препарат может быть дополнительно исследован. Однако эти методы являются достаточно дорогим, требуют специального оборудования и очень больших затрат времени.

Таким образом, широко используемые методы изготовления анатомических препаратов сопряжены с определенными трудностями, связанными, прежде всего, с невозможностью детального послойного разделения тканей, и, как следствие, сложностью выделения мелких сосудов, нервов и т. п. имеющих важное практическое значение. Предложенный нами способ позволяет в ряде случаев избежать вышеописанных трудностей, и, в комбинации с классическими методами препарирования, достичь более высоких результатов.

Цель: разработать способ препарирования артерий сердца человека, который позволил бы сократить время изготовления препарата и экономические затраты, а также улучшить качество препарирования анатомического объекта.

Материалы и методы

30 препаратов сердца людей обоего пола, умерших в возрасте от 18 до 45 лет от причин, не связанных с патологией сердечно-сосудистой системы. Органы были изъяты в соответствии с Законом Республики Беларусь № 55-3 от 12.11.2001 г. «О погребении и похоронном деле».

Криопрепарирование подразумевает под собой послойное пропитывание органа определенными растворами, имеющими разную температуру заморозки (компоненты подобраны экспериментально; состав запатентован), с последующей заморозкой и удалением лишних тканей.

Способ осуществляют следующим образом.

Полости сердца промывают проточной водой. Затем канюлируют устья венечных артерий и промывают под неконтролируемым давлением физиологическим раствором до полного истечения остатков крови через вены. Снимают эпикард методом классического препарирования при помощи анатомо-хирургических инструментов (пинцет, скальпель). После этого сосуды сердца заполняют раствором, состоящим из 80 г хлорида натрия (добавлен для создания гипертонического солевого раствора с целью недопущения повреждения замерзшими кристаллами воды

клеток миокарда), 5 г хлорида калия (способствует сохранению цвета миокарда), 1 г фенола (с антисептической целью) и 1 л воды. Полученный раствор имеет температуру заморозки -7°C . Препарат помещают на 40 мин. в этот же раствор. Дополнительно рекомендуются внутримиекардиальные инъекции этим же раствором для лучшего пропитывания тканей сердца, подлежащих сохранению (миокард, сосуды).

После окончания времени экспозиции в жировую ткань сердца инъекционно вводят 400 мл раствора, состоящего из 1 л 35% водного раствора глицерина (для создания определенной температуры заморозки), 50 мл диметилсульфоксида (повышает проницаемость мембран клеток и, тем самым, облегчает процесс проникновения раствора внутрь жировой ткани) и 1 г борной кислоты (с обеззараживающей целью). Данный раствор имеет температуру заморозки -15°C . После этого препарат помещают в морозильную камеру при температуре -10°C до полного замораживания. При этом миокард и сосуды, пропитанные первым раствором, полностью заморознут, а жировая ткань, пропитанная вторым раствором, останется мягкой и легко отделится. Во время следующего этапа полностью удаляют жировую ткань с помощью анатомо-хирургических инструментов (пинцета и скальпеля).

Результаты и их обсуждение

Для доказательства возможности осуществления данной методики нами было приготовлено 30 препаратов сердца человека, при этом 15 сердец – с помощью макро- и микропрепарирования, а 15 – с помощью криопрепарирования. После сравнения результатов было замечено, что на препарирование одного сердца классическими методами было затрачено в среднем 180 минут, а удаление жировой ткани во время криопрепарирования составило около 30 минут.

Качество полученных после криопрепарирования препаратов выше: полностью удалена жировая ткань, лучше визуализируются венечные артерии и их ветви, не происходит разволокнения миокарда и сохраняется его цвет (рис. 1, 2). Кроме того, несомненным плюсом данного способа является отсутствие контакта дыхательных путей препаратора с раздражающими бальзамирующими веществами, а также его относительная дешевизна.

Заключение

Таким образом, предложенный новый метод криопрепарирования позволит значительно сократить время и улучшить качество изготовления препаратов. Полученные препараты обладают высокой наглядностью и демонстративностью, не изменяют естественный цвет и форму бальзируемых органов и тканей, позволяют визуальное исследовать сосуды и нервы, тем самым, реально исследовать топографо-анатомические

взаимоотношения структур органа. Их назначение может быть многопрофильным (возможность преподавания различных разделов морфологических дисциплин).

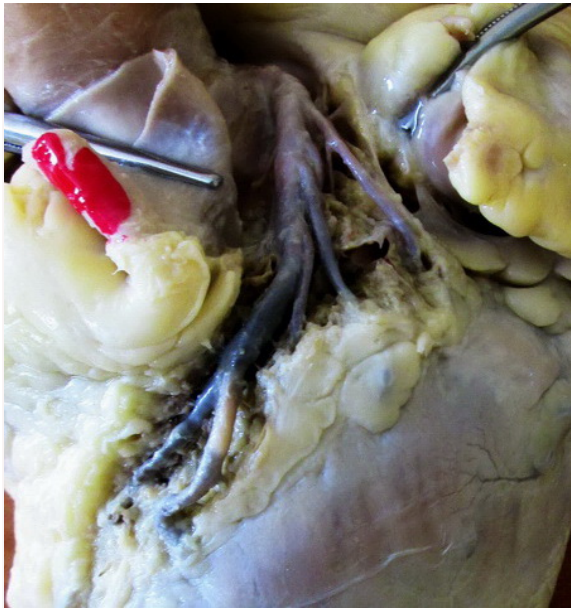


Рис. 1. Препарат артерий сердца, изготовленный методами классического препарирования.

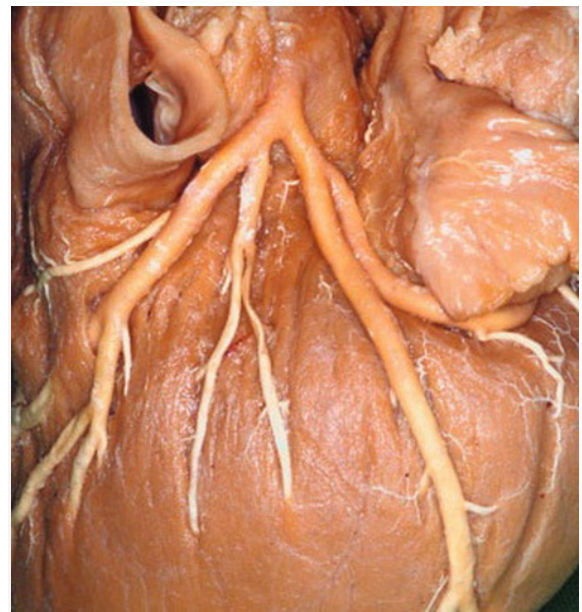


Рис. 2. Препарат артерий сердца, изготовленный методом криопрепарирования.

Данный способ также может быть использован для создания препаратов других органов и анатомических областей, где важные структуры проходят внутри жировой ткани.

Литературные источники References

1. Hilkevich SV, Volchkevich DA, authors; Vorobyev VV, editor. [Training anatomical preparations of heart, brain, eye: method of making, description]. Grodno: GrGMU; 2010. 35 p. Russian.
2. Prives MG, author; Ginzburg VV, editor. [Methods for conservation of anatomical preparations]. MedGiz; 1956. 127 p. Russian.
3. Yaroslavtsev BM, author; Znamenskiy MS, editor. [The anatomical technique]. Frunze; 1961. 436 p. Russian.
4. Goncharov NI, Speranskiy LS, Krayushkin

AI, DmitrienkoSV, authors; Valishin ES, editor. [Manual on preparation and production of anatomical preparations]. Moscow: Meditsinskaya kniga; 2002. 192 p. Russian.

5. Gayvoronskiy IV, Gayvoronskiy AI, Nichiporuk GI. [The polymeric embalming - innovative technology in the morphology]. In: [Proceedings of the Russian Forum 'Pirogov's surgical week'; 2010 Nov 24-28; St Petersburg]. Vestnik of St Petersburg State University: Series 11, Medicine. 2010;(Suppl):22-3. Russian.

Горустович О.А., Околокулак Є.С. Криопрепарування судин серця людини.

Реферат. Метою роботи була розробка нового способу препарування судин серця людини, що дозволяє скоротити часові витрати та покращити якість одержуваних анатомічних препаратів. Методи дослідження: макропрепарування, мікропрепарування, криопрепарування. Результати дослідження: в ході дослідження був розроблений новий спосіб виготовлення анатомічних препаратів, що дозволяє скоротити час і поліпшити якість анатомічних препаратів. Даний спосіб також може бути використаний для створення препаратів інших органів і анатомічних областей, де важливі структури проходять всередині жирової тканини.

Ключові слова: криопрепарування; судини серця; розчин; заморожування.