

УДК: 619:636.4]:611.61.086

МОРФОЛОШКИ ОСОБЕНОСТИ НА ПАРЕНХИМОТ КАЈ ТЕНКОСЛОЈНИ S-10 ПЛАСТИНИРАНИ БУБРЕЗИ ОД СВИЊА

Пендовски Лазо., Илиески Влатко., Петков Владимир.,
Поповска-Перчиник Флорина., Мизрахи Рашела

Универзитет Св. Кирил и Методиј
Факултет за ветеринарна медицина
Катедра за Функционална морфологија
Адреса: Лазар Поп Трајков 5-7, 1000 Скопје, Македонија
e-mail: lpendovski@fvm.ukim.edu.mk

АБСТРАКТ

Целта на трудот е да се утврди морфолошката градба на бубрежниот паренхим кај анатомски препари од свински бубрези подготвени со методата S-10 тенкослојна пластинација.

Вкупно 60 бубрези од две раси се пластинирани во сагитални пресеци со дебелина од 2mm. На тенкослојните бубрежни препаратори направена е анализа на анатомските структури на паренхимот и одреден е нивниот анатомско-топографски сооднос.

Подготвените S10 тенкослојните бубрежни препаратори се трајни, флексибилни, суви, без мирис со мазни површини анатомски модели кои даваат јасна динстикција на анатомските структури од бубрежната срцевина(*medulla renis*) и бубрежната кора (*cortex renis*). Кај хибридената расата ландрас/јоркшир бројот на *Malpighi*-евите бубрежни пирамиди се движи во границите од 8-14 (просек 10.63) додека кај хибридната раса даланд нивниот број изнесува 8-13 (просек 9.94) ($p>0.05$). Кај двете раси, утврдени се три различни морфолошки варијации на сраснување на бубрежните пирамиди и начин на нивно дренирање во бубрежната карлица.

Според резултатите, може да се заклучи дека S10 методата за пластинацијата може да се користи за подготвка на тенкослојни анатомски модели од свински бубрези кои имаат јасен тродимензионален план-приказ на анатомските структури во внатрешноста на бубрежниот паренхим.

Клучни зборови: морфологија, свински бубрези, бубрежни пирамиди, бубрежни чашки, тенкослојна пластинација, силикон S-10.

ВОВЕД

Пластинацијата е метода за трајно фиксирање на анатомски модели преку импрегнација со цврсти полимери (1). Постојат повеќе техники за пластинација од кои најчесто методите на епокси-E12 и полиестер-P35/40 се користат за подготвка на полуатранспарентни или атранспарентни тенкослојни препаратори со

димензии од 2-5mm односно 8mm (2,3,5,6). Тенкослојните препаратори имаат апликативна примена во медицината бидејќи даваат јасен приказ на радиографска-анатомска-патолошка корелација на анатомските структури а како трајни модели може да се користат за изучување на комплексниот топографски сооднос во внатрешноста на органите (7).

Техниката на силикон S-10 најчесто се користи за пластинација на органи, делови од телото или цели кадавери (8-10). Од неодамна оваа метода се применува за подготовкa на препарати со пресек од 0.5–1cm, кои воглавно се користат за едукација (11-12).

Во литературата е описана пластинацијата на целосен бубрег со методата на силикон S-10 (1,13,14), меѓутоа не се сретнуваат студии во кои бубрезите се пластинирани стандардната техника за пластинација на пресеци со димензии помали од 5mm.

Токму затоа во овој труд направен е обид методата на пластинација со силикон S-10 да се примени за подготовкa на тенкослојни препарати од свински бубрези со димензии од 2mm со цел да се анализира нивната морфолошка градба и да се одреди анатомско-топографскиот сооднос на структурите од бубрежниот паренхим.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД

Студијата е изведена во Лабораторијата за пластинација на Катедрата за Функционална

Морфологија при Факултетот за ветеринарна медицина – Скопје.

Материјалот користен за изработка на овој труд опфаќа 60 бубрега, земени од адултни свинji со просечна тежина од 95kg и просечна старост од 150–155 денови. Бубрезите се земени од две раси кои најчесто се одгледуваат на фармите во Македонија (30 бубрега од вкрстената раса ландарс/јоркишир и 30 бубрега од хибридената раса даланд). Бубрезите се земени на линија на колење на животните во кланица заедно со нивната масна капсула за да се задржи нивната форма и големина.

Тенкослојната пластинација е изведена според следниот протокол:

После отстранување на бубрежната капсула со околното масно ткиво бубрезите се фиксираат со имерзија во 3% формалин (14). Употребена е ниска концентрација на формалин за да се превенира настанувањето на т.н „заштитен цврст слој“ кој најчесто се формира на површината на препаратите и ја оневозможува брзата дифузија на фиксативот во ткивата сместени во подлабоките слоеви на органот. (15)

Слика 1. Подготовка на тенкослојни 2-3 mm сагитални пресеци од свински бубрези.



Слика 2. Тенкослојните препарати се маркираат и се обложуваат во челични мрежи со димензии на отворите 2x2mm



Од фиксираните бубрези со "meat slicer", се прават препарати со сагитални пресеци со дебелина од 2mm кои се маркираат со сериски броеви а потоа се обложуваат на челични мрежи со димензии на отворите 2x2mm (слика 1 и 2). Вака подготвените препарати се ставаат во челична кошница и се испираат од вишокот на фикатив во ладна проточна вода (15,16).

Дехидратацијата на препаратите е изведена со методата на ладна субституција во 100% п.а ацетон на -25°C каде водата од бубрезите се заменува со ацетон кој истовремено претставува и интремедијален раствор во фазата на импрегнација (17). Кај оваа техника препаратите сукцесивно се префрлаат во три ацетонски бањи со технички чист ацетон (100%). (слика 3) Степенот и брзината на дехидратацијата се следат со ацетонометар. Постапката се смета за комплетна кога се постигнува ниво на дехидратација од 99% (17, 18). Дехидрираните препарати потоа се обезмаснуваат во 100% ацетонска бања на собна температура (18).

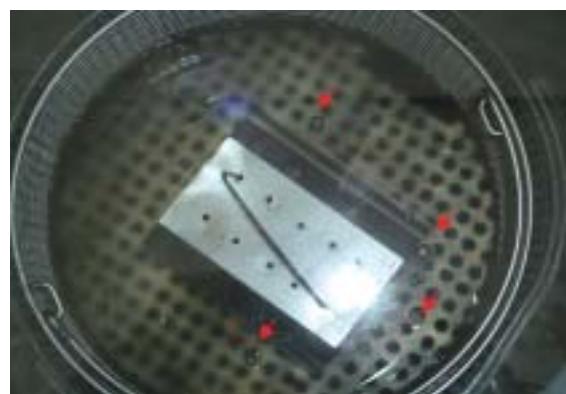
Слика 3. Дехидратација на бубрези со метода на ладна субституција. Препаратите се префрлаат сукцесивно во три ацетонски бањи во временски интервали од 5 дена.



За импрегнацијата на препаратите со силикон, применет е методот на „континуирана формирана импрегнација“ етаблиран од Von Hagens G. (1986) адаптиран според протоколот за тенкослојна пластинација (1, 11, 13, 16, 19). Процесот започнува кога кошницата со дехидрираните, обезмаснени и со ацетон заситени препарати се потопува во силиконска бања во вакум комора, составена од мешавина од полимери S10/S3 (100 делови S-10 – силикон и 0.5 делови S3 – издоложувач) на температура од -20°C . Со апликација на вакум,

интермедијалниот раствор(ацетон) преминува во гасна состојба и постепено се аспирира во ткивото на примероците. Евапорираниот ацетон креира волуменски дефицит во внатрешноста на бубрезите впивајќи го силиконот во ткивото како негова замена (1, 19). Индикатор за брзината и степенот на импрегнација е појавата на ацетонските меури на површината од силиконската бања. Импрегнацијата е целосна кога притисокот ќе се стабилизира на 10mbar а ацетонските меури престануваат да излегуваат на површината од силиконската бања (16).

Слика 4. Ацетонски меури (стрелки) на површината на ацетонската бања



Кога импрегнацијата е завршена вакум комората заедно со препаратите се отстранува од ладилникот и се оставаат на собна температура. Во следните денови притисокот постепено се зголемува и се доведува на ниво од атмосферски притисок (19).

Слика 5. S-10 импрегнирани тенкослојни препарати со вишок силикон на површината



Слика 6. Одстранување на вишокот на силикон од површината на импрегнираните бубрези



Следната постапка е одстранување на вишокот на силикон од површината на препаратите. За таа цел препаратите се ставаат на ткаенина која го впива силконот од нивната површина. (слика 5 и 6)

Слика 7. Зацврстување на тенкослојни примероци во гасна комора со зацврснувач S6



Зацврстувањето на препаратите е изведено во гасна комора со гасни пареи од зацврснувач S6 на собна температура. (слика 7) Употребена е мембранска пумпа за да се овозможи брза евапорација на зацврстувачот С6 и брзо зацврснување на површината на перпартите (20).

На крај, тенкослојните пластинирани бубрези се фотографирани на светла позадина.

Аналзирана е морфолошката структура на бубрежниот паренхим, утврден е бројот на бубрежни пирамиди и одреден е начинот на нивното отварање во бубрежните чашки. Статистичката обработка на податоците е направена со компјутерски софтвер Statistic for Windows пакет 7.

РЕЗУЛТАТИ

Подготвените тенкослојните препарати од свинските бубрези се трајни модели кои имаат јасна динстикција на анатомските структури од бубрежната срцевина (*medulla renis*) и бубрежната кора (*cortex renis*) овозможувајќи бубрежниот паренхим детално да се проучи. (слика 8)

Слика 8. Пластиниран тенкослоен препрат од бубрег на свиња. Постои јасна динстикција на бубрежна срцевина (*medulla renis*) и бубрежна кора (*cortex renis*). Во двата пола бубрежните пирамиди и папили од соседните ренкули сраснуваат и сочинуваат една голема заедничка брадавица која се отвара во голема бубрежна чашка (црни стрелки).



Табела 1: Фази и временска рамка за S-10 пластинација на тенкослојни препарати од свински бубрег

ФАЗА	ВРЕМЕ	ТЕМПЕРАТУРА
ФИКСАЦИЈА	5 денови	собна температура
ИСПИРАЊЕ	1 ден	проточна вода
ЛАДЕЊЕ	5 h	5°C
ДЕХИДРАТАЦИЈА	15 денови	-25°C
ОБЕЗМАСТУВАЊЕ	3 денови	собна температура
ИМЕРЗИЈА	3 денови	-20°C
ФОРСИРАНА ИМПРЕГНАЦИЈА	10 денови	-20°C
Пост-ИМПРЕГНАЦИЈА	3 денови	собна температура
Пред-ЗАЦВРСНУВАЊЕ	24 h	собна температура
ГАСНО ЗАЦВРСНУВАЊЕ	5 денови	собна температура

Протоколот за тенкослојната S-10 пластинација заедно со потребното време и температура за секоја фаза одделно, детално е прикажан во tabela 1.

Бројот на Malpighi-евите бубрежни пирамиди кај расата ландрас/јоркшир се движи во границите од 8–14 (просек 10.63) односно 8–13 (просек 9.94) кај расата далланд. ($p>0.05$) (табела 2, 3)

Кај двете раси, се утврдени три морфолошки варијации на сраснување и начин на отварање на бубрежните пирамиди во бубрежната карлица:

Табела 2. Резултати за вкупниот број на бубрежни пирамиди кај двете раси

Descriptive Statistics							
	Valid N	Mean	Median	Min.	Max.	Variance	Std. Dev.
ландрас/јоркшир	30	10.63	11	8	14	3.4678	1.8622
далланд	30	9.94	10	8	13	2.4970	1.5802

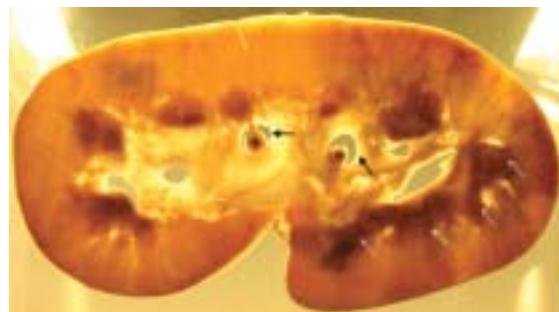
Табела 3. Резултати од компаративна анализа на бубрежни пирамиди кај двете раси

T-test Marked differences are significant at $p \leq .05000$											
Group 1 vs. Group 2	Mean Group 1	Mean Group 2	t-value	df	p	Valid N Group 1	Valid N Group 2	Std.Dev. Group 1	Std.Dev. Group 2	F-ratio variancs	P variancs
ландрас/јоркшир vs. далланд	10.63	9.94	1.2211	36	0.2299	30	30	1.8622	1.5802	1.3887	0.4929

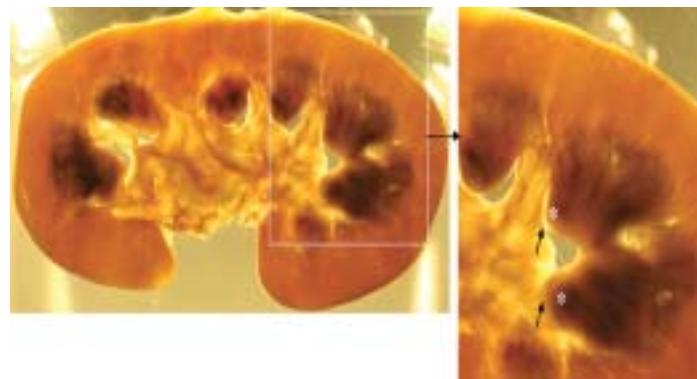
- бубрежни пирамиди и папили од најчесто 2–4 соседни ренкули сраснуваат и сочинуваат една голема заедничка брадавица која се отвара во единечна бубрежна чашка (calix minor) (слика 9)
- две соседни бубрежни пирамиди во својата база се сраснати но имаат одвоени бубрежни папили кои се отвараат во засебни мали бубрежни чашки. (слика 10)
- две соседни пирамиди со засебни бубрежни папили се отвараат во една зедничка мала бубрежна чашка. (слика 11)

Слика 9. Тенкослоен пластиниран препарат од свински бубрег. Бубрежните пирамиди и папили од четири соседни ренкули сраснуваат и сочинуваат една голема заедничка брадавица која се отвара во една бубрежна чашка. Во средишниот дел на бубрежната карлица се отвараат пенпендикуларни мали бубрежни

чашки (црни стрелки) во чиј лumen проминираат бубрежни папили (*).



Слика 10. Тенкослоен пластиниран препарат од свински бубрег. Две соседни бубрежни пирамиди сраснати во средишниот дел имаат одвоени бубрежни папили (*) кои се отвараат во засебни мали бубрежни чашки (црни стрелки).



Слика 11. Тенкослоенoplastиниран препарат од свински бубрег. Во зедничка мала бубрежна чашка (црна стрелка) се отвараат со одвоени бубрежни папили: една пендендикуларна чашка (*) и една директна бубрежна чашка (**).



ДИСКУСИЈА

Со подготовката на тенкослојните препарати од свински бубрези во оваа студија се потврди дека стандардната метода за пластинација со силикон S-10 која воглавно се користи за подготовкa на органи, делови од телото или цели кадавери (8-11,14) претставува инвентивен пристап за создавање на трајни тенкослојни анатомски модели.

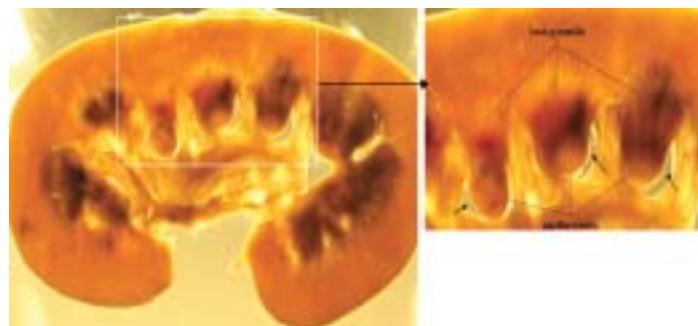
Времето потребно да се подготват тенкослојните бубрежни препарати изнесува 45 деноночи и е побрзо во однос на стандардната техника за пластинација S10 (9,13) но е истовремено подолга во однос на методите на епокси E12 и полиестер P35/40. (2-6, 16, 18).

Тенкослојните бубрежни препарати се трајни, флексибилни, суви, без мирис и со мазни површини модели, погодни за едукативни цели а воедно преставуваат материјал кој може да се користи за истражување. При нивната подготвка не е забележано насобирање и оштетување а пресекот со димензија од 2мм овозможува детален преглед на структурите од бубрежниот паренхим.

Во однос на квалитетот, овие препарати не отстапуваат значајно од препаратите подготвени со методите на епокси E12 или полиестер P35/40. Во студијата на Cook P. (1997) при епокси E-12 тенкослојно пластинирани делови од регион на карлица од човечки кадавери

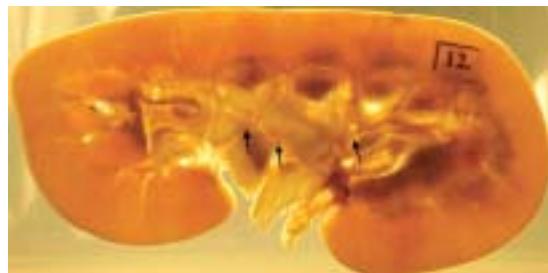
опишан е профилот на капсулата, бубрежната кора, бубрежната срцевина и бубрежните пирамиди на бубрезите со јасна колоритна динстикција (4). Кај тенкослојните S-10 препарати подготвени во оваа студија бубрежната кора (cortex renis) е со светла боја и јасно се одделува од бубрежната срцевина (medulla renis) која е претставена од Malpighi-еви бубрежни пирамиди (pyramides renalis) кои се изразито темна боја. Нивната база (basis pyramidis) е насочна кон периферијата на бубрегот, а врвовите во форма на брадавици (papillae renales) проминираат во бубрежните чашки со форма на пехар.(слика 12)

Слика 12. Тенкослоен пластиниран препарат од свински бубрег. Базата (*basis pyramidis*) на Malpighi-еви бубрежни пирамиди е насочна кон периферијата на бубрегот, а врвовите во форма на брадавици (*papillae renales*) проминираат во бубрежните чашки кои имаат форма на пехар (црни стрелки).



Според одреден број на автори тенкослојните епокси E12 и полиестер P35/40 препарати имаат апликативна примена во медицината поради нивната транспарентност. (1, 5, 6, 7, 21). Кај S10 тенкослојните препарати постигнат е задоволителен степен на транспарентност преку обезмастување на масните депоа акумулирани во бубрежниот синус со ацетон на собна температура. Така полутранспарентните бубрежни препарати даваат можност да се следи дистрибуцијата на сегменталните артерии во бубрежниот синус а со тоа и да се анализира сегменталната градба на свинскиот бубрег. (слика 13)

Слика 13. Полутранспарентните S10 препарати овозможуваат сегменталните артерии да се прикажат и бидат достапни за испитување (црни стрелки).



Слика 14. Границата помеѓу лобусите се одредува од интерлобарните артерии (црни стрелки) кои поминуваат преку бубрежните столбови (*).



Кај препаратите јасно се оцртува формирањето на бубрежното резанче(lobus renalis) од Malpighi-евата пирамида со околното кортикалното ткиво. Границите помеѓу лобусите може да се одредат од интерлобарните артерии (aa.interlobares) кои се протегаат долж Bertini-еви бубрежни столбови (columnae renales). (слика 14)

Исто така долж границата на бубрежната кора и срцевина, на самата база од бубрежните пирамиди кај тенкослојните препарати се достапни за приказ лачните артерии (a.arcuate) заедно со интерлобуларните артерии (a.interlobulares) кои излегуваат од нив и се движат кон периферијата на бубрегот. (слика 15)

Слика 15. Две соседни бубрежни пирамиди во својата база се сраснати и имаат одвоени бубрежни папили (*) кои се отвараат во засебни мали бубрежни чашки (црни стрелки). На базата од бубрежните пирамиди се забележува a. arcuate (бела стрелка) од

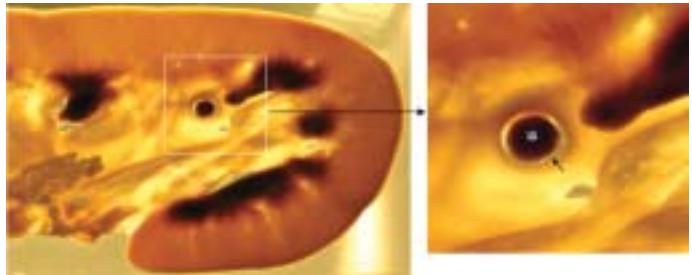
која излегуваат aa. intrelobulares (црна двојна стрелка).



Покрај дескриптивната анализа на бубрежниот паренхим, во овој труд, на тенкослојните препарати е утврден бројот на бубрежните пирамиди. Според резултатите од статистичката обработка на податоците, кај хибридната раса ландрас/јоркшир бројот на малпигиевите пирамиди се движи во границите од 8-14 (просек 10.63) додека кај расата далланд е во границите од 8-13 (просек 9.94). Споредбено, кај двете испитувани раси не постои сигнификантна разлика ($p>0.05$). Овие резултати се во согласност со наодите на Симић В. (1997) каде број на бубрежните пирамиди кај свињите се движи во границите помеѓу 8-12 односно може да биде до 14, зависно од расата (22).

Поради можноста од тридимензионален приказ, кај тенкослојните препарати одредени се и вариациите во сраснувањето на бубрежните пирамиди и начинот на нивно отварање во бубрежната карлица. Утврдени се три различни морфолошки форми кои се детално описаны во одделот резултати. Слични податоци во литературата не пронајдовме со што се потенцира потребата од понатамошни студии во кои детално ќе се анализира дренажниот систем во свинските бубрези.

Слика 16. Приказ за просторната позиција на бубрежна папила (*) во лumenот на пенпендикуларна бубрежна чашка (црна стрелка).



ЗАКЛУЧОК

S-10 пластинираните тенкослојни бубрежни препарати претставуваат траен едукативен материјал кој може да се користи за истражување. Бубрезите пластинирани на сагитални

пресеци од 2mm имаат јасен тродимензионален план-приказ на бубрежниот паренхим овозможувајќи на реконструиран свински бубрег да се осознаат специфичните анатомски детали во внатрешноста на органите.

MORPHOLOGICAL PECULIARITY OF THE RENAL PARENCHYMA ON S10 THIN PLASTINATED PIG KIDNEYS

*Pendovski Lazo., Ilieski Vlatko., Petkov Vladimir.,
Popvska-Percinic Florina., Mizrahi Rasela

*University Sts Cyril and Methodius, Faculty of Veterinary Medicine
Department of Functional Morphology
Address: Lazar Pop Trajkov 5-7, 1000 Skopje, Macedonia
e-mail: lpendovski@fvm.ukim.edu.mk*

ABSTRACT

The aim of this study is to investigate the morphological structures on the renal parenchyma on the pig kidneys, prepared in thin slices by S10 sheet plastination method.

A total number of 60 kidneys taken from two adult breeds are plastinated in 2mm sagittal thin sections. The morphological structure on thin kidney slices is analyzed and their anatomic-topographical relationship is investigated.

The prepared thin kidney slices are permanent, flexible, dry, and odorless with smooth surfaces anatomical models with clear distinction between renal medulla and renal cortex. In cross-breed landras/yorkshire, the number of renal pyramids is ranged between 8-14 (average 10.63) while in breed dalland the number is ranged between 8-13(average 9.94)($p>0.05$). Three morphological forms are found in pig kidneys based on the variation of adhesion of renal pyramids and derange of their renal papilla into renal pelvis.

According the results can be concluded that the S10 sheet plastination method could be used for preparing of thin anatomical models that are suitable for education and research purposes enabling three-dimensional plan view of anatomical structures inside of kidneys.

Key words: morphology, pig kidneys, renal pyramids, renal calices, sheet plastination, silicone S10

ЛИТЕРАТУРА

1. Von Hagens G: Heidelberg Plastination Folder: Collection of all technical leaflets for plastination. Anatomische Institut 1, Heidelberg, Germany, 1986.
2. Wolfgang Weber., R. W. Henry, Sheet Plastination of the brain - P 35 technique, Filling Method. J Int Soc Plastination, Vol 6:29-33, 1992
3. Weber W, Henry RW: Sheet plastination of body slices - E12 technique, filling method. J Int Soc Plastination 7 (1): 16-22, 1993
4. Cook P., Saad Al-Ali. Submacroscopic interpretation of human sectional anatomy using plastinated E12 sections. J Int Soc Plastination Vol 12, No 2:17-27, 1997
5. Russell J. Barnett. Plastination of coronal and horizontal brain slices using the P40 Technique. J Int Soc Plastination Vol 12, No 1: 33-36, 1997
6. Sora MC, Brugger P, Traxler H: P40 Plastination of human brain slices: Comparison between different immersion and impregnation conditions. J Int Soc Plastination 14 (1): 22-24, 1999
7. McNiesh LM, von Hagens G: The diagnostic imaging characteristics of plastinated anatomical specimens. J Int Soc Plastination Vol 2 (1): 24-39, 1988.
8. Lischka M, Prihoda M: Plastination of whole-body slices with polymerizing emulsion. J Int Soc Plastination Vol 1 (1): 17-22, 1987
9. Bickley HC, Donner RS, Walker AN, Jackson RL: Preservation of tissue by silicone rubber impregnation. J Int Soc Plastination Vol 1 (1): 30-39, 1987.
10. Henry RW, Janick L, Henry C: Specimen preparation for silicone plastination. J Int Soc Plastination Vol 12 (1): 13-17, 1997
11. Von Hagens G; Tiedeman K; Kriz W: The current potential of plastination. Anat Embryol 175 (4): 411-421, 1987.
12. Weiglein AH: Plastination. A tool for teaching and research. Acta Anatomica, 158: 1-82. 1997
13. Oostrom K. Plastination of the human kidney. J. Int. Soc. Plastination Vol 2 (2): 21-24, 1988.
14. Ilieski V., Pendovski L., Ulcar I. Evaluation of Shrinkage on Pig Kidneys with S10 technique: Study before and after plastination. Proceedings of the 8th Interim Conference for Plastination.; 42-43, 2005
15. Oostrom K. Fixation of tissue for plastination: General Principles J Int Soc Plastination Vol 1 (1): 3-11, 1987
16. Weiglein A: Preparing and using S-10 and P-35 brain slices J Int Soc Plastination Vol 10 (1): 22-25, 1996.
17. Tiedemann K; Ivic-Matijas D: Dehydration of macroscopic specimens by freeze substitution in acetone. J Int Soc Plastination, (2): 2-12, 1988.
18. Weiglein AH; Plastination in the neurosciences. Acta Anatomica 1997;158:6-9
19. Henry RW, Nel PPC: Forced impregnation for the standard S10 method. J Int Soc Plastination 7 (1): 27-31, 1993.
20. Weiglein AH; Henry RW: Curing (hardening, polymerization) of the polymer-Biodur S10. J Int Soc Plastination 7 (1): 32-35, 1993
21. Steinke H., Thomas M. Plastination: Correlation of anatomical specimens and MRI. KCS 2002, 3(3): 41-46
22. Simic V., Jankovic Z. Anatomy of domestic animals. Veterinarian faculty in Beograd. 1997; 450-453