

T. C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANATOMİ ANA BİLİM DALI

80558

ÇEŞİTLİ DİSSEKSİYON AŞAMALARINDA
BÖBREĞİN PLASTİNASYONU

TÜRKİYE
BİLİMİNİN
FİNANSMAN KURUMU
KÜTÜPHANESİ

MASTER TEZİ

80558

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Behice DURGUN
Anatomi Ana Bilim Dalı
Araştırma Görevlisi

ADANA - 1985

İ Ç İ N D E K İ L E R

	<u>Sayfa</u>
GİRİŞ.....	I
GENEL BİLGİLER.....	3
GEREÇ ve YÖNTEMLER.....	8
BULGULAR ve TARTIŞMA.....	19
SONUÇLAR.....	27
ÖZET.....	30
KAYNAKLAR.....	31

G İ R İ Ő

Bir doku veya organın, gerek inceleme ve araştırma gerekse eğitim amacıyla, doğal ortamından uzaklaştırılması bir dizi sorunu gündeme getirir. Bu sorunların çözümü genellikle doku ve organların uzun süreler için bozulmadan saklanması amacına yöneliktir. Bu amaçla, alışlagelmiş yöntemler uzun yıllar boyunca morfologlara çok iyi bir şekilde hizmet etmesine karşın, bu yöntemler bir takım ciddi sakıncalar taşımaktadır.

Tahnit solüsyonu olarak kullanılan formalin, asit fenik, alkol ve propilen fenoksetol gibi sıvı organik maddelerin buharları pis kokulu ve zedeleyicidir. Çalışılan ortamda geniz ve gözlerin yanmasına neden olarak, çalışma koşullarını güçleştirir. Tahnit sıvısı belli bir süre sonra organ veya doku renginin solmasına neden olur. İncelenmek istenen örnek (specimen) sıvıdan çıkarıldığında, birkaç saat içinde kuruyarak nitelikleri değişir ve bozulur.

Şeffaf plastik bloklara gömme (plastic embedding), örneğe dokunulmayı ve mikroskop altında incelemeyi olanaksız kılar. Örnek, şeffaf plastik blok içerisinde ancak bir resme bakar gibi incelenebilir. Bunun yanı sıra, büyük boyutlu ve yumuşak örneklerle bu yöntemin uygulanması, plastik blok parçalandığı için, teknik açıdan bir takım zorluklar taşımaktadır.

Parafin bloklamada, parafin şeffaf olmadığından, ince yapıların ve ayrıntıların gözlenmesi zorlaşmaktadır.

Modeller yapay olduklarından, yapısal ayrıntılar ve varyasyonlar gözlenemez. Ayrıca, pahalı olduklarından, elde edilmeleri güçtür ve

öğrencilerin eğitimleri sırasında kırılma olasılıkları fazladır.

Doğal görünümlü, kolayca gözlenebilen, mekanik etkenlere dayanıklı bir örnek oluşturmak istenildiğinde, alışılacelmış yöntemlerin dışındaki seçenekler aranması gerekir. Plastinasyonun, istenilen nitelikte örnek sağlayan bir seçenek olduğu söylenebilir (9,14). Plastinasyon yöntemi, doku suyu ve lipidlerin yerine uygun optik ve fiziksel nitelikte bir polimer solüsyonunun doldurulması, böylece dokunun plastik duruma geçmesi ilkesine dayanır.

Plastinasyonun başlıca yararları arasında, söz konusu anatomik, patolojik veya biyolojik örneğin doğal rengi ve şeklinin korunması, tam steril, kokusuz ve dayanıklı olması, tüm yapısal ayrıntıları incelemeyi olanaklı kılması, bir bakıma alışılacelmış yöntemlerin sakıncalarını ortadan kaldırması gelmektedir. Bu özellikler insan dokusunun geniş çapta kullanıldığı temel ve klinik tıp eğitiminin yanısıra araştırma için de plastinasyon yöntemini uygun kılmaktadır. Bununla birlikte, plastinasyon yöntemi başlangıçta umulmadık sonuçlar verebilir. Ayrıca, dokudan su kaybettirme ve polimer işlenmesi aşamalarında kapsamlı deneylere gerek gösterir.

Bu tezde plastinasyonun bazı kuramsal yanları ve uygulanan yöntemler tanımlanmakta, özellikle böbreğin plastinasyonu üzerinde durulmaktadır. Böbrek, histolojik açıdan, genellikle bir tubulus ve damar sistemi olarak kabul edilmektedir. Bu çalışma, plastinasyonun çeşitli aşamalarında böbrek dokusunun yapısından kaynaklanabilecek sorunları çözümlenmek amacıyla yapılmıştır.

GENEL B İ L G İ L E R

Rengin solması, kuruma, kokuşma, çürüme ve böylece yapı bozulması, doku, organ veya tüm vücudun uzun süreler için korunmasını güçleştirir. Bilimsel amaçlar kadar dinsel nedenlerden ötürü de, ölümden sonra bir vücudun korunması sorunu ilk çağlardan beri insanları düşündürmüştür.

Sorunun çözümüne ilk yaklaşım, dinsel inançlardan köken alan mumyalama işlemi ile, Eski Mısırlılardan gelmiştir (10,12,20). Mumyalama işlemi, tüm insanların ölümden sonra dirileceği ve ruhun tekrar aynı vücutta girmesi için, vücut şeklinin bozulmaması gerektiği inancına dayanıyordu (10,12,20). Mumyalama tekniği ve sanatı M.Ö. 1738-1102 yıllarında en yüksek noktasına ulaşmasına karşın, ayrıntılı bilgiler M.Ö. V. yüzyılda yaşamış yazarlar tarafından verilmiştir. Herodotos, Diodoros ve Siculus gibi tarihçilerin bildirdiklerine göre, Mısırlılar vücuttaki suyu çıkarmak için, kalp ve böbrekleri dışında, iç organları alınan cesedi 50-70 gün kadar natron (sodyum karbonat) veya potasyum nitrat içerisinde dindendirirlerdi. Bu iş bittikten sonra cesedi yıkayıp temizler, vücut boşluklarına kokulu maddeler ve reçineler doldururlardı. Daha sonra cesedi keten bezlerle sıkıca sarmalarlardı. Birbiri üzerine yerleştirilerek sertleştirilip, çok dayanıklı bir zamk ile yapıştırılmış bezlerden oluşan bir sanduka içine konan cesedin üzeri renkli bir maddeyle örtülürdü. Bu durumdaki mumya lahit içerisine yerleştirilirdi (10,12,20).

Mısırlılar aynı inançla, kedi, köpek, maymun, boğa ve timsah gibi kutsal saydıkları hayvanları da mumyalamışlardır (10).

Mısır'la aynı iklim ve toprak özelliğine sahip Güney Amerika ve

Asya'da da mumyalama işlemi gelişmişti. Eski İnka Uygarlığı, Peru'daki Paraca Yerlileri, Hun Türkleri ve Selçuklulardan günümüze dek ulaşmış başarılı mumyalama örnekleri vardır.

Eski Yunan'da Koslu Praksagoras, Herophiolos (M.Ö. 307) ve Erasistratos (M.Ö. 304) tarafından yapılan insan kadavralarının disseksiyonlarında, olasılıkla hiçbir koruyucu önlem alınmadığından, disseksiyon yaraları önemli bir hastalık olarak görülüyordu (21). Daha sonra kadavra disseksiyonları için tahnitlemenin önemi anlaşılmıştır.

Rönesans boyunca anatomi ve cerrahi alanlarına duyulan büyük ilgiye koşut olarak, tahnitleme işleminde de gelişmeler görülmüştür. Çalışmaları için en az elli kadavra disseke eden Leonardo da Vinci, kadavraları korumak için, modern tahnitlemeyi başlatan venöz enjeksiyon yöntemini geliştirmiştir (12).

XVII. yüzyılın ilk yarısında İngiliz fizyologu William Harvey'in kadavra damarlarına renkli madde enjekte ederken kan dolaşımını keşfetmesinin, arteriyel tahnitlemenin geliştirilmesinde büyük payı vardır (12). Bu dönemde Hollandalı anatomist Ruysch (1666) kadavra damarlarına tespit edici ve donucu maddeler enjekte ederek, parçaları saklama yolunu bulmuş fakat işlemi nasıl yaptığını açıklamamıştır. (21).

XVIII. yüzyılda İskoçyalı anatomist William Hunter ve kardeşi John Hunter ile, XIX. yüzyılda Fransız Kimyacı Jean Gannal, insan vücudunun çürümesini ve kokuşmasını önlemek amacıyla, arterlere ve vücut boşluklarına koruyucu maddeler enjekte etmişlerdir (10,12).

Formalinin tespit edici özelliğinin Hoffmann (1850) tarafından keşfedilmesinden sonra, formalin tespit edici ve tahnit solüsyonu

olarak kullanılmıştır (II). Buharı pis kokulu ve zedeleyici olmasına karşın, formalin günümüzde de değerini yitirmiş sayılmaz.

XX. yüzyılda, özellikle anatomi, patoloji ve histoloji eğitiminin de materyal demonstrasyonunun önemli bir laboratuvar çalışması olduğu konusundaki evrensel görüşün yaygınlaşması üzerine, doku tahnitlemesi ve korunması sorununu çözme çabaları artmıştır. Bu konuda pekçok kimyasal madde ve yöntemin öne sürülmesine karşın, köklü bir çözümün sağlandığı söylenemez.

XX. yüzyılın başlarında yapay polimerik maddelerin elde edilmesi ve bunların oluşmasını düzenleyen temel bilimsel ilkelerin ortaya çıkarılması, polimerlerin doku saklanması ve bloklama alanında kullanılması fikrini doğurmuştur. Polimerler, monomer adı verilen yapı taşlarından oluşmuş büyük moleküllü maddelerdir. Yapay polimerlerin makromoleküllerden oluştuğu varsayımı 1920 yılında Staudinger tarafından öne sürülmüştür (6). 1920 yıllarından sonra çağdaş fiziksel ölçme yöntemlerindeki ilerlemeler sonucu polimer kimyasının ve fiziğinin hızla gelişmesi, doku ve organların plastik bloklara gömülmesi düşüncesine bir çıkış noktası sağlamıştır.

İlk kez Newman ve arkadaşları (1949), elektron mikroskop çalışmaları için parafin yerine metil metakrilatı kullanmışlardır (7). Rosenberg ve arkadaşları, onbir yıl sonra, çözünebilir akrilik ester ve glikol metakrilatın bloklama için amaçlara uygun olduğuna dikkati çekmişlerdir (7). Romeis (1948), Müller (1956), Piechocki (1961), Adam ve Czihak (1964) biyolojik örneklerin şeffaf plastik bloklara gömülmesi konusunda çalışmışlar ve başarılı sonuçlar elde ettiklerini bildirmişlerdir (1,4,5).

G. Ch. Anker ve arkadaşları (1974) epoksi resin içerisine gömme yöntemi-
ni geliştirmişlerdir (3).

Türkiye'de 1967 yılında, korozyon preparatları hazırlanması, koro-
zyon preparatlarının, ayrıca normal ve patolojik örneklerin polyester blo-
ka alınması yöntemi denenerek başarılı sonuçlar alınmıştır. Aynı yılda
anatomik ve biyolojik örneklerin öğretim materyali olarak müzelenmeleri
amacıyla, polyester bloklama çalışmaları yapılmıştır. Arıncı (1967),
Hassa (1967), Aktan ve arkadaşları (1971) bu çalışmaları yurdumuzda ilk
kez uygulamışlardır. (2,4,5,18).

Plastik bloklara gömme, klasik yöntemle parafine gömme'den hem ay-
rıntıların gözlenmesi hem de daha kolay kesit alınması açısından üstün
olmasına karşın, hazırlanma zamanının uzunluğu ve büyük örneklerle uygu-
lanmasındaki teknik zorluklar açısından sakıncalar taşımaktadır.

Biyolojik ve anatomik örneklerin doğal özelliklerini yitirmeden
uzun süreler saklanması için köklü çözümün getirilmesi yolunda ilk adı-
mı Gunther von Hagens (1979) yapmıştır (14,15,16,17). Hagens, plasti-
nasyon adını verdiği yöntemle ölü doku veya organı plastik hale getir-
meyi başarmıştır. Çalışmalarına 1977 yılında BAKELIT GmbH mühendisleri
ile işbirliği halinde başlamış olan Hagens, ilk sonuçları 1979'da yayımla-
mıştır (14,15,22). Bununla birlikte, yayınlarında yöntemin ayrıntıla-
rını açıklamamış ve düzenlediği kurslara katılanların ancak %20'sinin
başarılı olabildiğini belirtmişti. Ayrıca, bir sığır kalbi için 150 \$
gibi yüksek bir fiyat önermiştir (17).

Türkiye'de plastinasyon çalışmalarını ilk kez Ocak 1983'te,
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Ana Bilim Dalında Fahri

Dere başlatmıştır. Yöntemin tüm basamakları yapılan çalışma ve deneyler sonucu ortaya çıkmıştır. Plastinasyon için kullanılan polimer solüsyonları tamamen yerli plastik sanayine dayalı olarak geliştirilmiştir (9).

Plastinasyon modern bir tahnit ve impregnasyon yöntemi olup, bugüne değin gelişmiş durumuyla anatomik, patolojik, embriyolojik ve biyolojik örneklerin korunma ve incelenmesinde, diğer yöntemlerin sakıncalarını ortadan kaldırmaktadır.

Plastinasyon yönteminde, öncelikle doku suyu kaldırılarak yerine bir organik solvent geçirilir. Bu işlem freeze-substitution tekniğiyle gerçekleştirilir. Freeze-substitution tekniği ilk kez 1941 yılında Simpson tarafından tanımlanmıştır (8). Daha sonraki yıllarda Feder ve Sidman (1958), Chang ve Hori (1960) tarafından değiştirilerek geliştirilmiştir (8,13). Freeze-substitution, plastinasyon için, Hagens ve Schwab (1981) tarafından yeniden düzenlenerek uygulanmıştır (23).

Doku suyunun kaldırılmasından sonra, viskoziteleri hücre içine girebilecek şekilde ayarlanmış polimer solüsyonları, düşük vakum altında organik solventin yerine geçirilir. Bu şekilde, örnek plastik hale getirilmiş olur.

Plastinasyon yöntemiyle, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Ana Bilim Dalında, böbrek, kalp, beyin, göz, solucan, yılan, akrep, yarasa, bukalemun gibi birçok anatomik, patolojik ve biyolojik örnekler sert-şeffaf şekilde plastiklenerek başarılı sonuçlar alınmıştır.

G E R E Ç v e Y Ö N T E M L E R

Plastik hale getirilmiş bir ürünün son şekli ile fiziksel ve optik nitelikleri, kullanılan polimerin tipi ve seçilen dokunun yapısı tarafından belirlenir. Böbrek, az miktarda bağ dokusu, bol miktarda kan damarı ve tubulus içeren, hatta bez epiteli içerisinde yer alan özelleşmiş ve karmaşık bir damar ve tubulus sistemi olarak da kabul edilebilen bir organdır. İç yapısının görülebilmesi için şeffaf-sert plastinasyon işlemine tabi tutulması yararlıdır. Bu işlem için ısıplastikler (termoplastikler) ve ısıdengeli (termosetting) resinler uygun bulunmuştur.

Plastinasyon süreci boyunca plastik hale getirilecek dokunun özellikleri kadar donatımın tasarımı ve işleyişi de önem taşımaktadır. Bu açıdan plastinasyon donatımının sağlanması gerekmektedir. Bu gereçler şöyle sıralanabilir:

a) Derin dondurucu (deep-freeze): -20°C ile -30°C arasında çalışmalıdır.

b) Vakum kabini veya çeşitli büyüklükte dessikatörler.

c) Vakum pompası: 4.5- 5 Torr alanında çalışabilmelidir.

d) Manometre.

e) Isı kabini.

Bu çalışmada kullanılan koyun böbrekleri Adana Belediyesi Kemsimevinden, fetal lobulasyon gösteren insan böbrekleri ise Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalından sağlanmıştır. Böbrekler çeşitli aşamalarda disseke edilerek damar dağılımı, calyces major ve minor, cortex ve medulla'nın durumu gösterilmeye çalışılmıştır.

Plastinasyon işlemi şu aşamalarda gerçekleştirilmiştir:

- a) Disseksiyon ve renkli madde enjeksiyonu.
- b) Tespit etme (Fiksasyon).
- c) Dondurarak kurutma ve madde yer değiştirmesiyle su kaybettirme (Freeze-substitution).
- d) Vakumla polimer solüsyonunun impregnasyonu.
- e) Sertleştirme ve düzeltme.

Disseksiyon ve Renkli Madde Enjeksiyonu

Böbrekler ölümden sonra en geç 1-2 saat içerisinde vücuttan çıkarılmışlardır. Damarlar ve pelvis işlem kolaylığı açısından böbrekten olabildiğince uzak kesilmiştir. Vücuttan çıkarılan böbrekler, işlem öncesi, izotonik solüsyon (% 0.9'luk NaCl çözeltisi) içerisinde konulmuştur. Taze böbrekler, buzdolabında (+4°C) ve bu solüsyon içinde 1-2 gün saklanabilir.

Disseksiyonun böbrekler taze iken yapılmasında yarar vardır. Bu nedenle, böbrekler alındıktan sonra hemen disseksiyon yapılmıştır. Impregnasyonun tam olması için böbreği saran fibröz kapsül çıkarılmıştır. Birçok örnekte pelvisi ve kan damarlarını saran yağ dokusu, bu oluşumları ortaya çıkarmak amacıyla, temizlenmiştir. Bu sırada özellikle kan damarlarının zedelenmemesine özen gösterilmiştir.

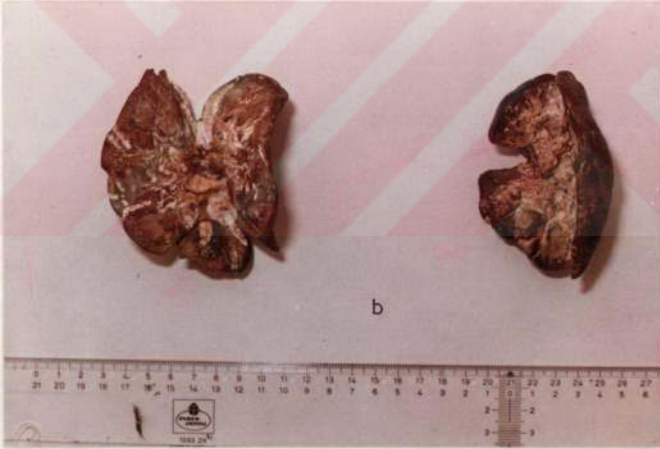
Bir grup böbrekte sadece kapsül alınarak, ya böbrek yatağıyla birlikte ya da böbrek yatağı temizlenerek hilus renalis'te a. ve v. renalis ile pelvis renalis serbest hale getirilmiştir (Resim 1a,1b). Fötal lobulasyon gösteren insan böbreklerinin de kapsülü çıkarılmıştır (Resim 2a,2b).

Böbreklerin bir kısmı amputasyon bıçağıyla frontal olarak kesilmiştir. Bir grup böbrekte a.renalis ve v.renalis dalları açığa çıkarılmıştır (Resim 3,4,9a,10a). Bir grup böbrekte, ilk planda v.renalis dağılımı, ikinci planda calyces major ve minor gösterilmeye çalışılmıştır (Resim 5a,5b). Bir diğer çalışmada, önde v.renalis dağılımı, arkada a.renalis dağılımı ortaya çıkarılmış ve v.renalis ile a.renalis'e renkli madde enjekte edilmiştir (Resim 6). Bir grup böbrekte de renal arter ağacı ortaya çıkarılarak renkli madde enjekte edilmiştir (Resim 7).

Damarlara renkli madde enjeksiyonu, disseksiyondan sonra yapılmıştır. Önce damarlar açığa çıkarılmıştır. A.renalis'in lümeni der olduğundan ucu koni şeklinde bir plastik tüp girdirilmiştir. V.renalis'in lümeni daha geniştir. Bu yüzden silindirik şeklinde ve venin çapında bir plastik tüp konulmuştur.



Resim 1. Kapsülü alınarak plastiklenmiş koyun böbrekleri. a) %10'luk formalinde tespit edilmiş ve böbrek yatağıyla plastiklenmiştir. b) Modifiye Mc Cormick solüsyonunda tespit edilmiş ve böbrek yatağı temizlenmiştir.



Resim 2. Plastiklenmiş ftal lobulasyon gösteren insan böbrek-
leri. Doku yüzeyinde beyaz lekeler görülmektedir. a) Dıtan g-
rnleri. b) İten görünüşleri.

Enjeksiyon için ALPHA-RX-T KOMPLEKSİ kullanılmıştır. Bir enjektör aracılığıyla, plastik tüpler içerisinde, artere kırmızı, vene mavi renkli ALPHA-RX-T KOMPLEKSİ verilmiştir. Tüpler, kompleks jelatinimsi bir kıvama gelinceye dek enjeksiyondan sonra da bırakılmıştır. Bu işlemin ardından doku içine giren renkli maddelerin temizlenmesi için, suyla kısa süreli ve kuvvetli bir çalkalama yararlı olmuştur.

Tespit Etme (Fiksasyon)

Disseksiyondan sonra böbrekler ya taze olarak doğrudan freeze-substitution işlemine tabi tutulmuş ya da tespit solüsyonuna alınmıştır. Çalışmanın başlangıcında, böbrekler klasik yöntemlerle %10'luk formalin solüsyonu içinde tespit edilmiştir. Ancak, formalin doku renginin bozulmasına yol açtığı ve bu, plastinasyonda istenilmeyen bir durum yarattığı için yeğlenmemiştir. Bu nedenle iki yeni fiksatif denenmiştir. Bu fiksatiflerden Jores solüsyonu taze organlar, Mc Cormick solüsyonu ise önce %10'luk formalinde tespit edilmiş ve rengini kaybetmiş organlarda, modifiye edilerek kullanılmıştır.

Jores solüsyonu için formül şu şekildedir (19):

Sodyum klorür	4.8	gr
Sodyum sülfat	11	gr
Sodyum bikarbonat	8.4	gr
Kloral hidrat	10	gr
Formalin (%37)	30	ml
Çeşme suyu	1000	ml

Bu çalışma için Jores solüsyonu şu şekilde değiştirilerek

kullanılmıştır:

Sodyum klorür	8	gr
Sodyum sülfat	10	gr
Sodyum bikarbonat	7.4	gr
Sodyum nitrit	0.3	gr
Kloral hidrat	8.5	gr
Formalin (%10)	50	ml
Çeşme suyu	1000	ml

Solüsyon 3 litrelik kaplarda hazırlanmış ve böbrekler içine yerleştirilmeden önce buzdolabında ($+4^{\circ}\text{C}$) soğutulmuştur. Böbrekler 15 gün bu solüsyonda bekletilmiş, bu arada sıkça karıştırılmıştır.



Resim 3. Plastiklenmiş koyun böbreğinde a.renalis dağılımı. Jores solüsyonunda tespit edilmiştir.



Resim 4. Plastiklenmiş koyun böbreğinde v.renalis dağılımı. Modifiye Mc Cormick solüsyonunda tespit edilmiştir.

Mc Cormick solüsyonu şu şekilde hazırlanmıştır (19):

Dibazik sodyum fosfat (anhidraz)	3.8	gr
Monobazik sodyum fosfat	10.2	gr
Sodyum klorür	8	gr
Potasyum nitrat	0.51	gr
Potasyum nitrit.	0.34	gr
Askorbik asit	1.7	gr
Formalin (%37)	50	ml
Çeşme suyu	1000	ml

Potasyum nitrit ve potasyum nitrat, iritan olan nitrik oksit beh-verengi gazının oluşumuna yol açtığından, solüsyona en son eklenmiştir.



Resim 5. Plastiklenmiş koyun böbreğinde ilk planda v.renalis dağılımı, ikinci planda calyces major ve minor gösterilmiştir. a) Modifiye Jores solüsyonunda tespit edilmiştir. b) Mc Cormick solüsyonunda bekletilmiştir.

Mc Cormick solüsyonundaki madde miktarları şu şekilde değiştirilmiştir:

Dibazik sodyum fosfat (anhidraz)	5	gr
Monobazik sodyum fosfat	7	gr
Sodyum klorür	8.5	gr
Potasyum nitrat	1	gr
Potasyum nitrit	0.5	gr
Askorbik asit	2	gr
Formalin (%10)	30	ml
Çeşme suyu	1000	ml



Resim 6. V.renalis'e renkli madde enjekte edilerek plastikleştirilmiş koyun böbreği. Modifiye Jores solüsyonunda bekletilmiştir.

Solüsyon oda sıcaklığında seklänmiştir. Genel olarak doku veya organın 10-12 saat bu solüsyonda tutulması yeterli olmasına karşın, böbrek çok miktarda kan içerdüğinden 2 gün bırakılmıştır.

Dondurarak Kurutma ve Madde Yerdeğıştirmesiyle Su Kaybettirme
(Freeze-substitution)

Plastinasyon sırasında doku suyunun kaldırılması için freeze-substitution tekniğı kullanılmıştır.

Tespit işleminden sonra, böbrekler alınarak fazla solüsyonun çekmesi sağlanmıştır. Renkli madde enjekte edilmemiş böbreklerde 3. renalis ve v. renalis ile üretere yuvarlak şekillerini korumak amacıyla, plastik tüp konularak iplikle gevşek bir şekilde bağlanmıştır.



Resim 7. Renkli madde enjeksiyonundan sonra plastiklenmiş renal arter ağacı.

Böbreklere istenilen pozisyon verildikten sonra, bir cam levha üzerine yerleştirilmiş ve donmaları için -20°C ile -30°C arasında çalışan bir derin dondurucu içerisine konmuşlardır. Derin dondurucudaki ısı sürekli olarak denetlenmiştir.

Sertleşmiş böbrekler, asetonun konsantrasyonu %99.8'de konuncuya dek birkaç değişik saf aseton banyosundan geçirilmişlerdir. Bu sırada plastik tüpler ve iplikler kaldırılmışlardır. Asetonun uymasını ve havadan su girmesini engellemek üzere aseton kabının ağzı sıkıca kapatılmıştır. Dehidrasyon 18 günde tamamlanmıştır.

Vakumla Polimer Solüsyonunun İmpregnasyonu

İmpregnasyon, örneğin özelliklerine uygun bir resin maddesi kullanılarak başarılmıştır.

Son ortam içerisinde bulunan böbrekler banyo kabı ile birlikte derin dondurucudan alınarak, oda sıcaklığında 1 saat bekletilmiştir. Öteyandan böbreğin en az 2.5 katı hacminde bir cam kap içerisine BIOPLAST S-I Komponentleri konmuştur. BIOPLAST kabı bir vakum kabini veya dessikatör içerisine yerleştirilmiş, daha sonra böbrekler bu kaba aktarılmıştır.

Dessikatör veya vakum kabinin kapağı kapandıktan sonra vakum pompası ile vakum 150 Torr'a düşürülmüştür. Bu sırada BIOPLAST solüsyonunda gerçek bir kaynama gözlenmiştir. İmpregnasyon kaynamanın durması ile son bulmuştur. Bu süre böbrekler için 3.5-4 saat olarak saptanmıştır.

Sertleştirme ve Düzeltme

İmpregnasyon tamamlandığında vakum durdurularak böbrekler uygun pozisyonda, bir tel destek üzerinde yerleştirilmişlerdir. Böylece boşluklarda kalan aşırı miktarda solüsyonun akması sağlanmıştır. Bu aşamadan sonra böbrekler tamamen polimerizasyon koşullarının etkisi altında kalmışlardır. Polimerizasyon oda sıcaklığında (22°C - 25°C) ve 48 saatte tamamlanmıştır.

İmpregnasyon için kullanılan BIOPLAST solüsyonları yanıcı maddeler olduğundan, çalışılan laboratuvarda yangın söndürme önlemleri alınmış, laboratuvar sık sık havalandırılmıştır. Maddelere dokunmanın gerektiği aşamalarda cerrahi eldiven ve pensetler kullanılmıştır. Çalışma sırasında BIOPLAST solüsyonlarının cilde, göze ve genize kaçmasından kaçınılmıştır.

Yukarıda sayılan işlemlerden geçirilen böbrekler artık sert-şeffaf plastik haline getirilmişlerdir. Açık havada müzelenebilir ve ele alınarak incelenebilirler.

B U L G U L A R v e T . A R T I Ŗ M A

Plastinasyon işlemi sonucunda, böbrekler elle tutulabilen, steril, kokusuz, doğal görünümlerini yitirmemiş, sert-seffaf plastik örnekler haline dönüştürülmüşlerdir. Böbreklerin plastiklenme ęalıřmaları sırasında, kuramsal olarak önceden kestirilemeyen durumlarla da karşılaşılmıştır. Bununla birlikte, yöntemin tam olarak kurulmasıyla istenilen sonuçlar elde edilmiştir.

Böbrek damarlarının vücuttan ęıkarılma veya disseksiyon işlemleri sırasında zedelenmeleri, dehidrasyon, impregnasyon ve renkli madde enjeksiyonunun başarısını önemli ölçüde etkiler. İlk ęalıřmalar sırasında posterior segmental arteri zedelenen bir böbreğin posterior segmentinde impregnasyon tam olarak gerçekleşmemiştir (Resim 8). Daha sonraki ęalıřmalarda damarların ve üreterin böbrekten olabildiğince uzakta kesilmesi ve disseksiyon sırasında zedelenmelerden kaınılmasıyla bu sorun ortadan kalkmıştır.

Renkli madde verilen böbreklerde enjeksiyon tespit işleminde sonra ve kısa sürede donan bir madde ile yapıldığında, maddenin kapillerlere ulaşamaması yüzünden başarılamaz. (Resim 6). Sorun enjeksiyonun böbrekler taze iken yapılması ve damarlara uzun sürede donan düşük viskoziteli bir maddenin verilmesiyle çözümlenebilir (Resim 7). Bu yüzden ALPHA-RX-T KOMPLEKSİ'nin kullanılması yeğlenmiştir.

Resin impregnasyonu rengi önemli derecede değiştirmediğinden, tespit aşamasında doğal rengin korunmasına zen gösterilmiştir. Tespit işleminin %10'luk formalinde yapılması rengin bozulmasına neden olmuştur

(Resim 1a,2a,2b,8,I2). Bu sorun Jores ve Mc Cormick solüsyonları kullanılarak ortadan kaldırılmıştır. Her iki solüsyon, tespit süresini azaltmak ve daha iyi sonuç almak amacıyla, modifiye edilmiştir. Taze iken modifiye Jores solüsyonuna alınan böbreklerde, renk tamamen korunmuştur (Resim 3,5a,6,II). Önceden formalinde tespit edilerek Mc Cormick solüsyonunda bekletilen böbreklerde doğal renge yakın sonuç elde edilmiştir (Resim 1b,4,5b). Taze iken doğrudan freeze-substitution işlemine tabi tutulan böbreklerde aseton içerisine askorbik asit ve potasyum nitrit eklenmesi, doğal rengi hemen hemen korumasına karşın, dokunun doğrudan asetonla karşılaşması başka yan etkilerin doğmasına (örneğin, böbrek yüzeyinde kırışıklıklar olmasına) yol açmıştır (Resim 9b).

Bu denemeler sonucunda, plastinasyon için en uygun tespit şeklinin, böbrekler taze iken modifiye Jores solüsyonuna konmaları olduğu saptanmıştır. Modifiye Jores solüsyonu etkisini $+4^{\circ}\text{C}$ 'de gösterir. Solüsyonun içeriğinde bulunan formalin biluribini biliverdine dönüştürdüğü ve bu, örneğin yeşil renk almasına neden olduğu için, Jores solüsyonu içindeki örnekler kesinlikle oda sıcaklığında bekletilmemelidir. Modifiye Jores solüsyonundaki tespit işleminin tek basamaklı olması da fiksatifi kullanıma uygun kılar.

Mc Cormick solüsyonunun içeriğinde bulunan potasyum nitrit ve askorbik asit, rengin korunmasında veya tekrar kazandırılmasında etkili maddelerdir. Bu açıdan solüsyon yalnızca %10'luk formalinde tespit edilmiş böbreklere değil, Jores solüsyonunda saklanmış böbreklere de rengin daha uzun süre korunması amacıyla kullanılmıştır.



Resim 8. Posterior segmental arteri zedelenen bir koyun böbreğinin de posterior lobda gerçekleşmemiş impregnasyon.



Resim 9. Doğrudan freeze-substitution'a alınarak plastiklenmiş koyun böbreği. a) V. renalis dağılımı gösterilmiştir. b) Doku yüzeyindeki kırışıklıklar görülmektedir.

Yapılan çalışmalar plastinasyonun aslında iki aşamada gerçekleştiğini gösterir:

1. Doku suyu yerine bir ara solventin (çözücü) geçirilmesi (freeze-substitution).

2. Ara solventin buharlaşarak dokuda bıraktığı boşlukları polimer solüsyonunun doldurması.

Freeze-substitution tekniğinin ilkesi, vakum kullanılmaksızın, donmuş durumdaki doku veya organın suyunu kaybettirmedir. Doku, dondurularak kurutulmuş duruma gelinceye dek soğutulur. Sonra buz kristallerinin oluşumunu geciktirmeyi sağlayacak kadar düşük sıcaklıklarda, su moleküllerini çeken bir organik çözücü (şon ortam) içerisine bırakılır.

Freeze-substitution için denemiş organik çözücüler içinde, aseton kaynama noktasının düşük olması ($58.2^{\circ}\text{C}/760\text{mmHg}$), plastik maddelerle uyumu ve ekonomik olması açısından, amagla uygun bir çözücü olarak seçilmiştir.

Hagens'ın bildirdiğine göre, dehidrasyon için formalinde bekletilmiş bir beyin dokusunda metanol, etanol ve aseton kullanıldığında, sırasıyla %53, 54, ve 44 oranında büzülme gözlenmiştir. Oysa freeze-substitution ile aseton kullanıldığında büzülme oranı %10'a düşmüştür (23). Bu çalışmada böbreklerin büzülme oranı %7-6 arasında sepmiştir.

Doku suyunun kaldırılması sırasında -20°C 'deki aseton hücrelerin içine girerek, bu derecede buz kristalleri durumunda bulunan doku suyunu eritip, onun yerini alacak bu arada kendisi de sayılabilecektir. Dehidrasyon sonunda hücrelerin içindeki su, saf asetonla hemen hemen tamamen yer değiştirmiş olacaktır. Aseton banyosu içerisindeki su miktarı,

Önceden oda sıcaklığında derecelendirilmiş bir asetometre ile ölçülebilmektedir. Bu çalışmada, böbreklerin dehidrasyon sonunda, %99-99.5 oranında su kaybettiği ve son ortamdaki su oranının ise %1'den daha az oranda olduğu saptanmıştır.

Plastinasyon işleminde aseton ana ekonomik etmen olduğu için, daha az aseton harcanması gerekmektedir. Hagens, dehidrasyon için doku hacminin 10 katı oranında aseton kullanılmasını önermiştir (17). Bu çalışmada dehidrasyon için böbrek hacminin 7 katı oranında aseton kullanılmasıyla istenilen sonuca ulaşılmıştır. Ayrıca seyretilmiş olan aseton tekrar damıtıldığında harcama en aza indirilebilmektedir. Freeze-substitution tekniğinin bir diğer üstünlüğü, dehidrasyon zamanını 1/5 oranında kısaltmasıdır.

İmpregnasyonda kullanılacak polimerin tipi çok önemlidir. Yapılan deneyler sonucunda, ısıplastikler (termoplastikler) ve ısıdengeli (termosetting) resinler, plastinasyon için uygun bulunmuştur (9).

Plastinasyon sırasında son ortamın polimer solüsyonuyla yer değiştirmesi olgusu şunları gerektirir:

1. Son ortam yüksek buhar basıncı yani düşük kaynama noktasına sahip olmalıdır.

2. Polimer solüsyonu düşük buhar basıncı yani yüksek kaynama noktasına sahip olmalıdır. Bu nedenle polimer solüsyonunun kaynama noktası 150°C - 200°C /760mmHg dolayında olmalıdır.

Demek ki, düşük vakum altında kaynama noktası daha da düşük son ortam buharlaşacak ve doku içerisinde bıraktığı boşlukları polimer solüsyonu dolduracaktır. Solüsyon yüksek kaynama noktasına sahip olduğundan

buharlaşması engellenecektir. Gerçekten de BIOPLAST solüsyonundaki kaynama, bu olayın oluştuğunu gösterir.

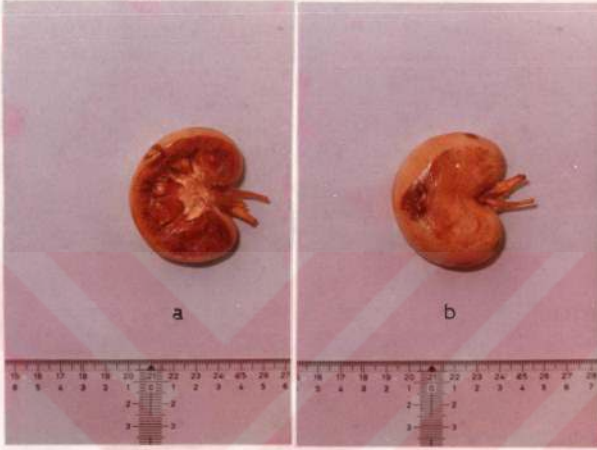
Bu arada dikkat edilmesi gereken noktalardan birisi, polimer solüsyonunun viskozitesidir. Çok viskoz bir solüsyon akıcı olmadığından hücre içerisine giremeyecektir. Bu nedenle solüsyonun viskozitesi impregnasyondan önce ayarlanmış olmalıdır. Yapılan çalışmalar polimer solüsyonunun biri katı diğeri sıvı iki komponentten oluşması gerektiğini göstermiştir. Katı komponent yüksek kaynama noktasına sahiptir. Vakum süresi ilerledikçe çok uçucu olan sıvı komponent buharlaşarak yalnızca katı komponentin hücrelere girmesini sağlar. Viskozitesi 25-26 saniye/DIN ÇJP 4/20°C olacak şekilde ayarlanmış solüsyonlar impregnasyona uygundur.

İmpregnasyonda kullanılan polimer solüsyonunun bir diğer özelliği, yüzey ayrıntılarını gizlemeyecek şeffaflığı sağlamasıdır. Bu açıdan kırılma indisi çok önemlidir. Şeffaflık için, polimer solüsyonunun kırılma indisi dokunun yüzey ayrıntılarını gösterebilecek özellikte olmalıdır.

İmpregnasyon işleminden sonra dokunun yüzeyi mat ve ayrıntılar korunmuş olarak ortaya çıkacaktır. Polimerizasyonun tamamlanmasından sonra, doku yüzeyinde beyaz sahalar görülebilir (Resim 2a,2b,IOa,IOb). Bu, impregnasyon zamanının yeterli olmamasından ve dokuda hava bulunmasından kaynaklanır. İmpregnasyonun tam uygulanması, bu sorunu ortadan kaldırır.

Plastik hale gelen böbreklerin fiziksel niteliklerine gelince, örnekler mekanik etkenlere karşı oldukça dayanıklıdırlar. Açık hava şartlarında herhangi bir önleme gerek kalmaksızın saklanabilirler. Bu arada çürüme ve kokuşma olmaz. Bu çalışma için plastiklenen böbreklerden 16 aydan

beri gözlem yapılmış olanlarda bozulma görülmemiştir.



Resim 10. Plastiklenmiş koyun böbreği. Yetersiz impregnasyonun neden olduğu beyazlaşma görülmektedir. a) Önde v.renalis dağılımı. b) Böbreğin arka yüzü.

Böbreği plastikleme çalışmaları sırasında iki böbrekte küçülme, bir böbrekte aşırı büzülme oluşmuştur (Resim IIa,IIb). Bu olgu şu durumlarda ortaya çıkar:

1. Aşırı su kaybı.
2. Aşırı vakum uygulanması.

Büzülme ve küçülmelerden, dehidrasyon solüsyonunun uygun oranlarda kullanılması ve uygulanan vakum gradientinin dikkatli bir ayarlanmasıyla kaçınılabılır. Bu nedenle, dehidrasyon sırasında son banyo dışındaki

aseton banyoları dilüe aseton ile yapılmıştır. Böbreklerdeki büzülme ve küçülme derecesi kabaca inspeksiyonla anlaşılabilir. Ayrıca işleme başlamadan önce ve işlemin bitiminden sonra böbreğin boyutlarının ölçülmesiyle de fikir edinilebilir.

Yöntemin tam uygulanmasıyla, doğal görünüşleri ve boyutları korunmuş örnekler ortaya çıkar. Yapılan çalışmalarda oldukça başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca, yöntemin bu temel motifi üzerinde birçok çeşitlemelere de olanak vardır.



Resim II. Plastiklenmiş koyun böbrekleri. a) İşlem sırasında büzülmüştür. b) Modifiye Jores solüsyonunda tespit edilen böbrekler. Plastinasyon işlemi sırasında boyutları küçülmüştür.

S O N U Ç L A R

Bir organın işlevleri ancak yapısının bilinmesiyle açıklanabilir. Bu açıdan; gross doku materyallerinin morfoloji eğitiminde değerli kaynaklar olduğu söylenebilir. Ancak, bunların elde edilmeleri gözönüne alındığında plastinasyon yönteminin önemi ortaya çıkar.

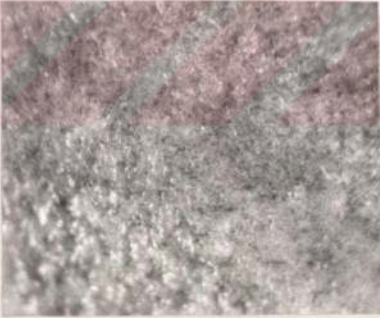
Plastinasyonun sağladığı yararlar şöyle sıralanabilir:

1. Plastiklenmiş örnekler tam steril ve kokusuzdur.
2. Kullanılmaları sırasında uzun yıllar bozulmaya uğramazlar.
3. Öğrenci, eline alıp inceleyebileceği örnekte, tüm yapısal ayrıntıları görebildiği için doğrudan görsel bilgi edinebilir.
4. Yöntem, uygulama ve eğitim için, insan kadavresi sağlanma zorluğunu ortadan kaldırır. Çünkü eldeki kadavra ve organlar plastiklenerek yıllarca kullanılabilir hale getirilebilirler.
5. Yapay modellerin aşırı pahalılığı ve elde edilmelerindeki güçlüğü karşın, plastik örnekler asetonun damıtılması ve polimer solüsyonunun tekrar kullanılması sonucu oldukça ekonomiktirler.
6. Taze veya tespit edilmiş organlar, röntgen filmlerinde hiç bir kontrast vermezken, plastiklenmiş örneklerin röntgen filmleri çekilebilir ve iç yapıları ayırt edilebilir (Resim 12). Böylece radyolojik anatomi eğitiminde de yeni ufukların açılması beklenebilir.
7. Plastinasyon işlemi sırasında BIOPLAST solüsyonu lümenlerde ve yüzeylerde hiç bir katman oluşturmadığı için, lümen ve adventitia gross yapısı stereomikroskop ile kolayca görülebilir (Resim 13,14,15).
8. Varyasyonlar ve patolojik durumlar öğrenciye gösterilebilir.

9. Plastiklenmiş örnekler sadece morfoloji eğitiminde kısıtlı kalmaz, patoloji, veteriner bilimleri, adli tıp ve biyoloji eğitim-öğretimi için yeni uygulama alanları yaratabilir.



Resim 12. Plastiklenmiş koyun böbreklerinin ön-arka pozisyonda çekilmiş röntgen filmi (kV:40 MAs: 5 Sec:0.03).

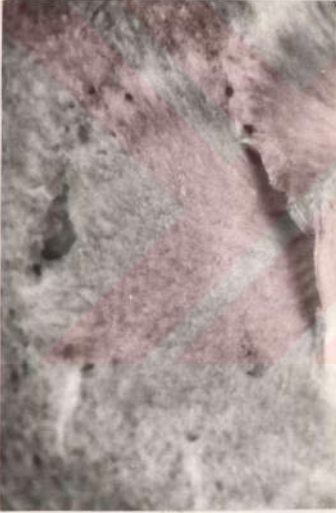


Resim 13. Plastiklenmiş koyun böbreğinde cortex'in stereomikroskopta görünüşü (10 X 10).

Plastinasyonun bu yararlarının yanında, kadavra disseksiyonunun çok önemli olduğu cerrahi eğitim için kısıtlayıcı olup olmayacağı sorunu

akla gelebilir. Bu sorun, sadece cerrahi eğitimi için kadavra kullanılarak çözümlenebilir. Böylece hem fazla sayıda kadvraya gereksinim duyulmayacak hem de kullanılan kadavra parçaları plastiklenerek değerlendirilmiş olacaktır.

Yöntemin başarılı uygulamaları, morfoloji eğitiminde geçerliliğini koruyan birçok sorunun çözümünde önemli bir yoldur ve gelecekte de çok çeşitli amaçlar için uyarlanması umulabilir.



Resim 14. Plastiklenmiş koyun böbreğinde cortex ve medulla ayrımının stereomikroskopta görünümü (6.3 X 10).



Resim 15. Plastiklenmiş koyun böbreğinde hilus renalis'in stereomikroskopta görünümü. (6.3 X 10).

Ö Z E T

Doğal ortamından uzaklaştırılmış doku, organ veya tüm vücudun bozulmadan uzun süre korunması için,,bugüne değin kullanılan, formalinde veya derin dondurucuda saklama, plastik bloklara veya parafine gömme gibi alışılacelmiş yöntemlerin sakıncalarını ortadan kaldırmak amacıyla plastinasyon yöntemi önerilmiştir.

Plastinasyon yöntemi ile doku suyu ve lipidler kaldırılarak yerine istenilen optik kalitede bir polimer solüsyonu geçirilir.

Bu çalışmada böbreğin çeşitli disseksiyon aşamalarında, sert-şeffaf plastinasyonu yapılmıştır. Süreç, vücuttan çıkarma, renkli madde enjeksiyonu, tespit etme (fiksasyon), dondurarak kurutma ve madde yer değiştirmesiyle su kaybettirme (freeze-substitution), vakumla polimer solüsyonunun impregnasyonu ve sertleştirme aşamalarını içermiştir.

Plastik madde impregnasyonu son ortamın yüksek buhar basıncı ile polimer solüsyonunun düşük buhar basıncı arasındaki farktan yararlanılarak başarılmıştır. İşlem sonucu plastik duruma dönüştürülen böbrekler, elle tutulabilen, şeffaf, doğal görünümlerini yitirmemiş örneklerdir.

Plastik hale getirilecek böbreklerin optik ve mekanik özellikleri, polimer solüsyonu kadar su kaybettirme için kullanılan ortamın özelliklerine de bağlıdır. Arzu edilen sonuçlar yöntemin tam olarak uygulanmasıyla elde edilmiştir.

K A Y N A K L A R

1. ADAM, H. und CZÍHAK, G. Arbeitsmethoden der makroskopischen und mikroskopischen anatomie. G. Fischer Verlag. Stuttgart, 1964.
2. AKTAN, F., BUDAK, T., PAYDAK, F. Biyolojik örneklerin müze ve eğitim materyali olarak konservasyonunda biyoplastik çalışmaları -Tekniği ve sonuçları hakkında ön yayın-. A.Ü. Diyarbakır Tıp Fak. Biyoloji Kürsüsü Monografisi, No:1, 1971.
3. ANKER, G. Ch., SCHEERS-DUBBELDAM, K., NOORLANDER, C. An epoxy resin embedding technique for large objects. Stain Technol., 49(4): 183-188, 1974.
4. ARINCI, K. Experimental investigations with Palatal P6 of the preparation of specimens for educational purposes and museums. Acta Medica Turcica, 4(1), 1967.
5. ARINCI, K. Experimental investigations of the preparation of anatomic and biologic specimens with polyesters. Acta Medica Turcica, 5(1), 1968.
6. BAYSAL, B. Polimer Kimyası. Ankara, ODTÜ Fen ve Edebiyat Fak., Yayın no:33, 1981.
7. BENNET, H.S., WYRICK, A.D., LEE, S.W., Mc NEIL, J.H. Science and art in preparing tissues embedded in plastic for light microscopy, with special reference to glycol methacrylate, glass knives and simple stains, Stain Technol., 51: 71-97, 1976.
8. CHANG, J.P., HORİ, S.H. The section freeze-substitution technique:I. Method. J. Histochem. Cytochem., 9: 292-300, 1961.

9. DERE, F. T.C. Patent no:2I533. T.C. Resmi Sinaî Mülkiyet Gazetesi (248) 1984. s. 7-8, Basım tarihi: 25.I.1985.
10. ENCYCLOPEDIA AMERICANA. 10: 272. U.S.A. Americana Corporation. 1970.
11. ENCYCLOPEDIA AMERICANA. 14: 279. U.S.A. Americana Corporation. 1979.
12. ENCYCLOPEDIA BRITANNICA. 6: 736-737. U.S.A. Encyclopedia Britannica Inc. 1974.
13. FEDER, N., SIDMAN, R.L. Methods and principles of fixation by freeze-substitution. J. Biophys. Biochem. Cytol., 4: 593-602, 1958.
14. v. HAGENS, G. Impregnation of soft biological specimens with thermo-setting resins and elastomers. Anat. Rec., 194(2): 247-256, 1979.
15. v. HAGENS, G. Emulsifying resins for plastination. Der Präparator, 25: 43-50, 1979.
16. v.HAGENS, G., BICKLEY, C.H., TOWNSEND, F.M. An improved method for the preservation of teaching specimens. Arch. Pathol. Lab. Med., 105: 674-676, 1981.
17. v.HAGENS, G., TIEDEMANN, K. The technique of heart plastination. Anat. Rec., 204: 295-299, 1982.
18. HASSA, O. Korozyon preparatlarının normal ve patolojik piyeslerin polyesterde bloka alma tekniği. Veteriner Fak. Dergisi, 14(3), 1967.
19. LEGAULT, J.M., HUANG, S. Color preservation of gross specimens for teaching and medical illustration. Arch. Pathol. Lab. Med., 103: 300-301, 1979.
20. MEYDAN LAROUSSE. 9: 59, İstanbul, Meydan Gazetecilik ve Neg. Ltd. 1969.
21. MEYDAN LAROUSSE. 12: 102, İstanbul, Meydan Gazetecilik ve Neg. Ltd.

1969.

22. REINBACHER, L. A new way of keeping that corpse lifelike. The German Tribune, 1006: 12-13, September 1981.
23. SCHWAB, K., v. HAGENS, G. Freeze-substitution of macroscopic specimens for plastination. Acta Anat., III: 139-140, 1981.