

مقایسه‌ی استفاده از رنگ‌های طبیعی و شیمیایی در فرایند پلاستینیشن سه بعدی قابل انعطاف در قلب

دکتر عباسعلی ربیعی^۱، دکتر ابراهیم اسفندیاری^۲، دکتر مرتضی حاجیان^۳، عاطفه شموسی^۴،
دکتر محمد مردانی^۵، دکتر بهمن رشیدی^۱، دکتر شهناز رضوی^۵، دکتر حمید شفیعی زاده^۶، علی والیانی^۷

خلاصه

مقدمه: متخصصان علم تشریح از گذشته‌ای دور همواره در جستجوی روشی برای نگهداری بافت‌های نرم بدن انسان و تهیه‌ی نمونه‌هایی بادوام، خشک، بدون بو و قابل حمل بوده‌اند. پلاستینیشن یک تکنیک بی‌نظیر جهت نگهداری بافت‌ها است. در این روش، آب و چربی بافت توسط یک مایع حلال حد واسط جایگزین می‌گردد؛ سپس این حلال مایع، با یک پلی‌استر مخصوص جایگزین می‌شود. نمونه‌های پلاستینه شده بدون بو، بادوام، باقوام و انعطاف پذیر می‌باشند. یکی از مشکلات پیش رو در زمینه‌ی بررسی نمای ظاهری احشاء این است که همیشه بعد از عمل فیکساسیون توسط فرمالین، احشاء رنگ طبیعی خود را از دست داده، کیفیت ظاهری و زیبایی نمونه‌ها (عضله، عروق، اعصاب، بافت همبند، قشر و مغز کلیه و ...) کاهش می‌یابد و علاوه بر این، طی عمل پلاستینیشن در تمام قسمت‌های بافت، رنگی مشابه ایجاد شده، کیفیت ظاهری بیشتر کاهش می‌یابد. این تحقیق با هدف اعمال روشی انجام گرفت که برای درک بهتر قسمت‌های مختلف احشای پلاستینه شده، رنگ طبیعی احشاء را حفظ و یا بهبود بخشد و نمونه‌ی فیکس شده‌ی بدون رنگ را از لحاظ ظاهری مطلوب‌تر نماید تا قسمت‌های مختلف بافت (دریچه‌ها، عضله‌ی قلب (نمای خارجی)، تراباکول‌ها و ...) از لحاظ نمای ظاهری (Gross Anatomy) وضوح بهتری پیدا کند. همچنین بتوان نمونه‌ای تهیه نمود که در اثر برخورد با زمین و یا استفاده‌های مکرر شکننده نباشد.

روش‌ها: ابتدا نمونه‌های طبیعی قلب گوسفند تهیه و به وسیله‌ی فرمالین ۵ درصد به مدت ۶ تا ۱۰ روز (بسته به حجم نمونه) فیکس شد. سپس این نمونه‌ها تشریح و به وسیله‌ی رنگ طبیعی روناس و رنگ صنعتی اتوزین و مخلوطی از این دو رنگ، رنگ آمیزی گردید. این نمونه‌ها توسط استون و در درجه‌ی حرارت ۲۵- درجه‌ی سانتی‌گراد آب‌گیری شد و سپس به گرم‌خانه منتقل و به وسیله‌ی استون در درجه حرارت ۳۰+ درجه‌ی سانتی‌گراد چربی‌گیری گردید؛ به عبارت دیگر، استون جایگزین ملکول‌های آب و چربی در بافت شد. سپس نمونه‌ها به اطاقک خلأ منتقل و استون موجود در بافت خارج شد و به جای آن، ملکول‌های پلی‌استر تحت فشار خلأ در بافت تزریق گردید. آن‌گاه این نمونه‌ها از اطاقک خلأ خارج گردید و در مجاورت هوا و به وسیله‌ی اشعه‌ی UV پردازش شد.

یافته‌ها: رنگ آمیزی نمونه‌ها با مخلوطی از رنگ‌های روناس و اتوزین، بعد از عمل فیکساسیون و قبل از انجام پلاستینیشن، نمای ظاهری و زیبایی نمونه‌های پلاستینه شده را افزایش می‌دهد.

نتیجه‌گیری: رنگ آمیزی نمونه‌های پلاستینه شده باعث جذاب شدن رنگ ظاهری نمونه‌ها می‌گردد و می‌تواند در جذابیت درس آناتومی و همچنین افزایش کیفیت ظاهری نمونه‌های آناتومیک تأثیر بسزایی داشته باشد و به عنوان روشی مناسب و قابل قبول برای آموزش مورد استفاده قرار گیرد تا بر روند ارتقای کیفیت آموزش تأثیر مثبت اعمال کند.

واژگان کلیدی: پلاستینیشن، رنگ صنعتی، رنگ طبیعی، پلی‌استر.

^۱ استادیار، گروه علوم تشریحی و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

^۲ استاد، گروه علوم تشریحی و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

^۳ دانشیار، دانشکده‌ی شیمی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.

^۴ دانشجوی کارشناسی ارشد آناتومی، گروه علوم تشریحی و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

^۵ دانشیار، گروه علوم تشریحی و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

^۶ کارشناس میکروسکوپ الکترونی، گروه علوم تشریحی و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

^۷ دانشجوی دکتری آناتومی، گروه علوم تشریحی و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر بهمن رشیدی، استادیار، گروه علوم تشریحی و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

مقدمه

برای درک مفاهیم درس تشریح، استفاده از جسد انسان امری حتمی و اجتناب ناپذیر است (۱). متخصصان علم تشریح از گذشته‌های دور همواره در جستجوی روشی برای نگهداری بافت‌های نرم بدن انسان و تهیه‌ی نمونه‌هایی بادوام و قابل حمل بوده‌اند. Dickens و Brent در سال ۱۹۱۴ و Hokhester و Shemaidel در سال ۱۹۲۴ با نگهداری نمونه‌ها در پارافین به این هدف نزدیک شدند (۲). این نمونه‌ها خشک، دارای ظاهری طبیعی و نسبت به تأثیرات مکانیکی مقاوم بودند. با این وجود، دوام آن‌ها زیاد نبود و در مقابل گرما حساس و قابل اشتعال بودند؛ تا این که روشی نوین در سال ۱۹۷۸ توسط آناتومیست آلمانی، دکتر Gunther von Hagens ابداع شد (۳) که پلاستینیشن نام گرفت. در این روش، پس از فیکساسیون، رنگ طبیعی بافت از بین می‌رود (شکل ۱)؛ سپس آب و چربی بافت توسط استون ۹۸ درصد و در ادامه، استون با یک پلی‌استر (سیلیکون-پلی‌استر-اپوکسی) جایگزین می‌شود. پلاستینیشن به دو روش مقطعی (برش سریال از نمونه) و حجمی (کل نمونه) انجام می‌گیرد (۴). رنگ آمیزی احشای پلاستینه، روشی جدید جهت درک بهتر دانشجویان است. رنگ آمیزی توسط رنگ‌های صنعتی (در نمونه‌های خارجی) انجام می‌شود.

در سال ۱۷۱۴، Leeuwen Hoeck برای اولین بار رنگ زعفران (Safranine) را در مطالعات بیولوژیک عضله مورد استفاده قرار داد. در ۱۸۴۹، Goppert و Cohn رنگ کارمین (Carmin) و در ۱۸۵۳، Waldeyer رنگ هماتوکسیلین را کشف کرد (۵). رنگ‌ها موادی هستند که با توجه به خاصیت

اسیدوفیلی و بازوفیلی، باعث رنگ پذیری بافت می‌شوند (۶-۷). از انواع رنگ‌ها می‌توان به رنگ‌های حیاتی (Vital staining) و رنگ‌های غیرحیاتی (Non-vital staining) اشاره کرد. رنگ آمیزی حیاتی عبارتست از رنگ آمیزی بافت زنده، که ممکن است در داخل بدن موجود زنده (In vivo) یا در آزمایشگاه (In vitro) انجام گیرد. از انواع این رنگ‌ها، رنگ آمیزی حیاتی با عمل بیگانه خواری، واکنش‌های هیستوشیمی و رنگ‌های محلول در چربی را می‌توان نام برد. رنگ آمیزی غیرحیاتی عبارتست از رنگ کردن نسوج غیر زنده به وسیله‌ی مواد رنگی که توسط نسوج جذب می‌شود. اکثر روش‌های رنگ آمیزی جزء این نوع محسوب می‌شوند (۸-۹).

از رنگ‌های طبیعی می‌توان به موارد ایندیگو، کارمین، اورسئین، لیتموس و هماتوکسیلین اشاره کرد که مهم‌ترین و معروف‌ترین آن‌ها هماتوکسیلین می‌باشد. لازم به ذکر است که اجزای قلیایی نسوج با رنگ‌های اسیدی و اجزای اسیدی نسوج با رنگ‌های قلیایی واکنش می‌دهند؛ به عنوان مثال، گروه سولفونیک رنگ قلیایی را به رنگ اسیدی تبدیل می‌کند (۱۰، ۵). اتوزین پودر کریستالی قرمز رنگی می‌باشد که فرمول شیمیایی آن $C_{20}H_8O_5Br_4$ است؛ این ماده، در صنعت نساجی برای رنگ آمیزی و برای تهیه‌ی جوهر استفاده می‌شود (۱۱). نمک سدیم پودر اتوزین برای رنگ آمیزی سلولی به کار می‌رود و گروه‌های Xanthenes باعث رنگ آمیزی سیتوپلاسم سلولی می‌شود (۱۲). اتوزین در رنگ آمیزی میکروسکوپی سیتوپلاسم، کلاژن و فیبرهای عضلانی را به رنگ نارنجی - صورتی در می‌آورد (۱۳). در نهایت (بعد از طی مراحل پلاستینیشن) برای پلاستینه

تا نمونه‌ی پلاستینه شده، رنگ طبیعی قبل از فیکسسیون را باز یابد. واضح است که کیفیت ظاهری تأثیر بسزایی در آموزش درس آناتومی دارد و رنگ نامناسب باعث عدم تمایل و علاقه‌ی دانشجو به یادگیری می‌شود. از مزایای رنگ‌های طبیعی به کار برده شده می‌توان به ارزان بودن و دسترسی آسان به آن در کشور اشاره کرد. در این تحقیق همه‌ی تلاش‌ها بر روی اثر رنگ‌ها بر کیفیت ظاهری و جذابیت نمونه‌ها متمرکز گردید.

روش‌ها

تکنیک رنگ‌آمیزی:

الف. فیکس کردن: ابتدا نمونه‌های قلب تازه‌ی گوسفند (۵۰ عدد قلب) تهیه و در فرمالین ۵ درصد به مدت ۶ تا ۱۰ روز (بسته به حجم نمونه) فیکس شد؛ به این ترتیب که ماده‌ی فیکساتیو توسط سرنگ در تمام حفرات قلب وارد گردید و سطح خارجی و داخلی نمونه در تماس با مواد فیکساتیو قرار گرفت.

ب. تشریح: نمونه‌ها برای رؤیت اجزای آناتومیک (عروق کرونر و شاخه‌های آن، وریدهای قلب، شیار بین بطنی و شیار کرونری) با حذف چربی و بافت همبند به دقت تشریح شد.

ج. برش: برای مشاهده‌ی نمای داخلی حفرات (دریچه‌ها، عضلات پاپیلاری، خطوط شانهای، ترابکولای سپتومارژینال و ترابکولای بطنی) برش‌هایی بر روی بطن‌ها و دهلیزها توسط تیغ بیستوری داده شد؛ به نحوی که عروق اصلی قلب حفظ شوند و بررسی قسمت‌های مختلف حفرات امکان پذیر باشد.

چ. رنگ‌آمیزی: رنگ‌آمیزی در سه گروه انجام گرفت:

نمودن نمونه‌ها می‌بایست از پلی‌استرها استفاده نمود. پلی‌استرها ترکیباتی هستند که از جایگزینی یک هیدروژن اسیدی با آلکیل یا آریلیم مشتق می‌شوند. پراهمیت‌ترین پلی‌استرها از کربوکسیل اسیدها مشتق شده‌اند (۱۴). از انواع پلی‌استرها می‌توان پلی‌استر غیراشباع (آلکید پلی‌استرها، پلی‌الکیل استرها، پلی‌اتیلین ترفتلات‌ها، پلی‌بوتیلین ترفتلات‌ها و نرم کننده‌ها) و پلی‌استر اشباع (اپوکسی رزین‌ها) را نام برد (۱۵). اولین رزین‌های ساخته شده در بین پلی‌استرها، پلی‌استرهای خطی غیراشباع هستند که محل‌هایی را برای ایجاد پل‌های عرضی دارند. این پلیمر از اتیلن گلایکول و مالئیک انیدرید تهیه شده، در واکنش با استایرن به صورت شبکه در می‌آید. این پلیمر برای تهیه‌ی فیبرهای شیشه توسط تکنیکی که به فشار بالا احتیاج ندارد، مورد توجه قرار گرفته است. مواد اولیه‌ی لازم جهت تهیه‌ی پلی‌استرهای اشباع نشده، دو الکی‌ها، چند الکی‌ها، اسیدهای اشباع نشده، اسیدهای اصلاح کننده و انیدریدهای مربوط و منومرهای کراس لینک کننده می‌باشند (۱۶). برای تهیه‌ی پلی‌استرهای اشباع نشده جهت عمل پلاستینیشن دو مرحله‌ی اساسی باید طی شود که عبارت از مرحله‌ی واکنش انیدریدها با دو الکی‌ها و یا چند الکی‌ها می‌باشد. در این مرحله، دو الکی‌ها باعث باز شدن ساختمان حلقوی انیدرید شده، منجر به تشکیل مولکول‌های بزرگتری می‌شوند که دارای گروه‌های الکی و اسیدی در دو طرف مولکول است (۱۷). در این پژوهش، به دلیل انعطاف پذیری، از پلی‌استر غیر اشباع استفاده شد.

هدف از این مطالعه، تهیه‌ی نمونه‌های احشای پلاستینه‌ی بدن توسط رنگ‌های طبیعی و صنعتی بود

گردید و عدم تغییر رنگ استون به زرد، دلیل بر اتمام چربی‌گیری محسوب شد. پس از اتمام این مرحله، نمونه‌ها از استون خارج گردید.

ج. اشباع با فشار: نمونه‌ها درون ظروف حاوی پلی‌استر غیر اشباع مخصوص (Flexible polyester 2 یا FP2) به داخل اطاقک خلأ انتقال داده شد تا تحت فشار خلأ، پلی‌استر جایگزین استون گردد. خروج استون از بافت و تبخیر آن در خلأ و خروج گاز استون از پلیمر به صورت جوشیدن استون نمایان می‌شود؛ این عمل همگام با ورود پلی‌استر به داخل بافت انجام می‌پذیرد. اتمام حباب دهی و جوشیدن پلی‌استر در اطاقک خلأ نشانه‌ی اتمام خروج استون از نمونه‌ها و اشباع بافت‌ها از پلی‌استر است.

د. پرداخت: نمونه‌ها در مجاورت هوا و تحت تابش اشعه‌ی ماوراد بنفش (UV) پردازش گردید؛ این مرحله عبارت است از اتصال پیوندهای دوگانه‌ی موجود در منومر و تبدیل آن‌ها به پیوندهای یگانه که پلیمریزاسیون نیز نامیده می‌شود.

بعد از اتمام این مراحل، نمونه‌های پلاستینیشن با رنگ‌های مختلف آماده شد و از نظر ویژگی‌های ظاهری مورد مقایسه قرار گرفت.

یافته‌ها

نمونه‌ی بدون رنگ تهیه شده، به دلیل برخورداری از نمای ظاهری یکسان در تمام قسمت‌ها (عضله، دریچه، و ...) از نمای ظاهری مطلوبی برخوردار نبود (شکل ۱). در نمونه‌های تهیه شده‌ی هر سه گروه رنگ آمیزی با روناَس (شکل ۲)، رنگ آمیزی با ائوزین (شکل ۲) و رنگ آمیزی با مخلوط روناَس و ائوزین (شکل ۳)، قسمت‌های داخلی بطن و دهلیز با تمام

گروه ۱: نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در رنگ طبیعی (۲۵ گرم روناَس در ۱۰۰ سی‌سی آب) قرار داده شد.

گروه ۲: نمونه‌ها به مدت ۱۲ ساعت در رنگ صنعتی (ائوزین آبی ۰/۲۵ درصد) قرار داده شد.

گروه ۳: برای به دست آوردن نسبت‌های مناسب با روش آزمون و خطا مخلوطی از رنگ طبیعی و صنعتی به کار برده شد و بهترین نتیجه در نسبت‌های ۷۵ درصد روناَس و ۲۵ درصد ائوزین به مدت ۴۸ ساعت به دست آمد. ماده‌ی رنگی توسط سرنگ در تمام حفرات قلب وارد گردید و سطح خارجی و داخلی نمونه در تماس با رنگ قرار گرفت.

تکنیک پلاستینیشن:

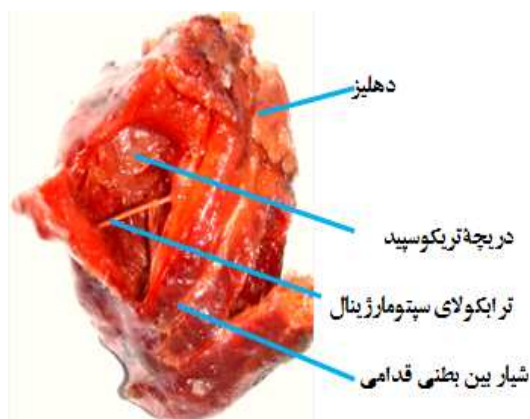
با توجه به این که در مرحله‌ی رنگ آمیزی نمونه‌ها فیکس شد، در ادامه‌ی کار تکنیک پلاستینیشن به شرح زیر انجام گرفت:

الف. آب‌گیری: نمونه‌ها در ظروف محتوی استون قرار داده شد و به فریزر ۲۵- درجه‌ی سانتی‌گراد منتقل گردید؛ در این درجه حرارت، به دلیل قطبی بودن آب و استون، استون جایگزین آب بافتی می‌شود ولی رنگ همچنان در داخل بافت حفظ می‌گردد. با تعویض ظروف استون و پس از خروج کامل آب بافتی (درصد خلوص و رقیق شدن استون بر اثر ورود آب، توسط استونومتر اندازه گیری می‌شود) هنگامی که غلظت استون در حد ۹۸ درصد باقی ماند، آب‌گیری به طور کامل انجام شده است.

ب. چربی‌گیری: نمونه‌ها درون ظروف استون به داخل گرم‌خانه با حرارت ۳۰+ درجه‌ی سانتی‌گراد منتقل گردید تا مرحله‌ی چربی‌گیری انجام شود؛ لازم به ذکر است که تعویض استون در چند مرحله انجام



شکل ۳. نمونه‌ی حجمی رنگ شده با اتوزین و پلی‌استر غیراشباع انعطاف پذیر



شکل ۴. نمونه‌ی حجمی رنگ شده با مخلوط روناس و اتوزین و پلی‌استر غیراشباع انعطاف پذیر

بحث

پلاستینیشن در سال ۱۹۷۸ توسط دکتر von Hagens ابداع شد (۱۸) و در سال‌های ۱۹۷۸ تا ۱۹۸۰ با استفاده از موادی نظیر سیلیکون S10، رزین E12 (اپوکسی رزین‌ها) و پلی‌استر P35 انجام گردید (۱۹). از سال ۱۹۸۰ به بعد، استفاده از سیلیکون به دلیل انعطاف پذیری ارجحیت بیشتری یافت (۲۰). نمونه‌های تهیه شده با E12 و پلی‌استر P35 قابلیت انعطاف پذیری نداشت و به دلیل استفاده‌های مکرر، می‌شکست ولی این نمونه‌ها دارای شفافیت بهتری نسبت به سیلیکون بود (۲۱-۲۲). در نمونه‌های پلاستینه شده در این تحقیق، به دلیل به کار گیری پلی‌استر قابل انعطاف، امکان شکستن نمونه وجود

جزئیات نمایان بود. شیارهای قلبی (شیار بین بطنی قدامی، شیار بین بطنی خلفی و شیار کرونری)، عروق بزرگ (آئورت، شریان ریوی، وریدهای اجوف فوقانی و تحتانی، وریدهای ریوی و عروق کرونری)، دریچه‌های قلبی (میترال و تریکوسپید) و عضلات پایلاری به خوبی قابل بررسی و مطالعه بود. همچنین نمونه‌های حجمی رنگ شده به دلیل استفاده از پلی‌استر غیر اشباع، دارای انعطاف پذیری مطلوبی بوده، شکننده نبود.



شکل ۱. نمونه‌ی حجمی رنگ نشده و پلاستینه شده با پلی‌استر غیراشباع انعطاف پذیر



الف. نمای قدامی



ب. نمای خلفی

شکل ۲. نمونه‌ی حجمی رنگ شده با روناس و پلی‌استر غیراشباع انعطاف پذیر در نمای قدامی (الف) و خلفی (ب)

انعطاف پذیر، علاوه بر این که انعطاف نمونه را به صورت بسیار مطلوب حفظ می‌کند، جلای خاصی نیز به نمونه می‌بخشد.

در نتیجه، رنگ آمیزی نمونه‌های پلاستینه شده باعث جذاب شدن رنگ ظاهری نمونه‌ها می‌گردد و به دلیل مشابهت با نمونه‌های طبیعی می‌تواند در جذابیت درس آناتومی و همچنین افزایش کیفیت ظاهری نمونه‌های آناتومیک تأثیر بسزایی داشته باشد؛ این روش، به عنوان روشی مناسب و قابل قبول برای آموزش، بر روند ارتقای کیفیت آموزش تأثیر مثبتی اعمال می‌کند.

در نهایت توصیه می‌گردد چنین پروژه‌ای با استفاده از دو رنگ قرمز و آبی و به صورت تزریق در عروق شریانی و وریدی انجام گیرد تا رنگ‌ها از مسیر سیستم مویرگی بافت‌ها را رنگ نماید؛ امید است با این روش، جزئیات آناتومیک با کیفیت بهتری رنگ شود و تفکیک شریانی و وریدی به راحتی انجام گیرد.

نداشت و این مسأله از جمله مزایای آن نسبت به نمونه‌های قبلی به شمار می‌رود. نمونه‌های رنگی تهیه شده در این تحقیق با پلی‌استر غیراشباع و انعطاف پذیر (شکل‌های ۳ و ۴) از نظر رنگ طبیعی، وضوح اجزای آناتومیک نظیر شیارهای قلبی (کرونری، بین بطنی خلفی و بین بطنی قدامی) و همچنین جزئیات ساختمانی داخل بطن‌ها Papillary muscle و Moderator band نسبت به نمونه‌های قبلی (شکل ۱) و نمونه‌ی بدون رنگ پلاستینه شده با پلی‌استر غیر اشباع انعطاف پذیر (شکل ۲) برتری داشت؛ به علاوه، نمونه‌های رنگ شده با مخلوط روناس و ائوزین (شکل ۴)، نسبت به نمونه‌های رنگ شده با روناس (شکل ۲) و یا ائوزین (شکل ۳) از کیفیت مطلوب‌تری برخوردار بود و از نظر ظاهری (Gross Anatomy) برای آموزش مناسب‌تر به نظر می‌آمد. از مزایای دیگر رنگ طبیعی روناس می‌توان به دسترسی آسان و قیمت بسیار کمتر آن نسبت به ائوزین اشاره کرد. رزین غیر اشباع

References

- Latorre RM, Garcia-Sanz MP, Moreno M, Hernandez F, Gil F, Lopez O, et al. How useful is plastination in learning anatomy? *J Vet Med Educ* 2007; 34(2): 172-6.
- K C N, Priya K, Lama S, Magar A. Plastination--an unrevealed art in the medical science. *Kathmandu Univ Med J (KUMJ)* 2007; 5(1): 139-41.
- Von Hagens G, Tiedemann K, Kriz W. The current potential of plastination. *Anat Embryol (Berl)* 1987; 175(4): 411-21.
- Alpar A, Glasz T, Kalman M. Plastination of pathological specimens -A continuing challenge. *J Int Soc Plastination* 2005; 20: 8-12.
- Bahadori M. *Histology Technique and Dying Methods*. Tehran: Tehran University Press; 1967.
- Marks DL, Chaney EJ, Boppart SA. Plastinated tissue samples as three-dimensional models for optical instrument characterization. *Opt Express* 2008; 16(20): 16272-83.
- Bancroft JD, Gamble M. *Theory and practice of histological techniques*. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2002.
- Steinke H, Spanel-Borowski K. Coloured plastinates. *Ann Anat* 2006; 188(2): 177-82.
- Deeb S, Nesr KH, Mahdy E, Badawey M, Badei M. Autofluorescence of routinely hematoxylin and eosin-stained sections without exogenous markers. *African Journal of Biotechnology* 2008; 7(5): 504-7.
- Salehnia M. *General and Advance Histological Technique*. Tehran: Paigan; 2003.
- Jörundsson E, Lumsden JH, Jacobs RM. Rapid staining techniques in cytopathology: a review and comparison of modified protocols for hematoxylin and eosin, Papanicolaou and Romanowsky stains. *Vet Clin Pathol* 1999; 28(3): 100-8.
- Barratt JO. The Staining Act: An Investigation into the Nature of Methylenblue-Eosin. *Staining Biochem J* 1906; 1(8-9): 406-28.
- Krutsay M. A new histological staining method; aniline blue-eosin staining. *Zentralbl Allg Pathol* 1958; 98(1-2): 7-8.
- Gao H, Liu J, Yu S, Sui H. A new polyester Technique for sheet plastination. *J Int Soc Plastination* 2006; 21: 7-10.
- Latorre R, Arencibia A, Gil F, Rivero M, Ramirez G, Vaquez JM, et al. Sheet plastination with polyester: alternative for all tissue. *J Int Soc*

- Plastination 2004; 19: 33-9.
16. Mavani S, Mehta NM, Parsania PH. Synthesis and physico- chemical study of epoxy resin 1,1-bis (3-methyl-4-hydroxy for phenyl) cyclohexane ricinoleic acid. *Polym Plast Technol Eng* 2007; 6(46): 605-11.
 17. Sakamoto Y, Miyaki Y, Kanahara K, Kajita H, Ueki H. Chemically reactivated plastination with shin- EtsuSilicone KE-108. *J Int Soc Plastination* 2006; 21: 11-6.
 18. Steinke H, Rabi S, Saito T, Sawutti A, Miyaki T, Itoh M, et al. Light-weight plastination. *Ann Anat* 2008; 190(5): 428-31.
 19. Burns L. Gunther von Hagens' BODY WORLDS: selling beautiful education. *Am J Bioeth* 2007; 7(4): 12-23.
 20. Cook P. Sheet plastination as clinically based teaching aid at university of Auckland. *Acta Anat (Basel)* 1997; 158(1): 33-36.
 21. Reina de la Torre F, Rodri'guez Baeza A, Domènech Mateu JM. Seetting up a plastination laboratory at the Faculty of medicine of Autonomous University of Barcelona. *European Journal of anatomy* 2004; 8(1): 1-6.
 22. Tiedemann K, von Hagens G. The technique of heart plastination. *Anat Rec* 1982; 204(3): 295-9.

Comparing Using of Natural and Chemical Dyes in Process of Flexible 3-Dimensional Plastination in Heart

Abbas ali Rabiei MD PhD¹, Ebrahim Esfandiary MD PhD², Morteza Hajian PhD³, Atefeh Shamosi⁴, Mohammad Mardani PhD⁵, Bahman Rashidi PhD¹, Shahnaz Razavi PhD⁵, Hamid shafizade MD⁶, Ali Valiani⁷

Abstract

Background: Anatomists had been searching to find methods for preserving soft human tissues and produce natural samples with durable, dry, odorless, and portable in briefcase properties. Plastination is a modern method for preparing such tissue samples. In plastination, water and fat are extracted from tissues and replaced with a dissolver fluid, which in its turn is replaced with a special kind of polyester. Usually, the organs like hearts, lungs, kidneys, striated muscles, vessels, nerves, connective tissue, etc, which are treated with formalin, loss their beautiful color and take a dull appearance after fixation. Tissue staining with natural dyes is one method for somehow preserving tissue natural color and increasing its appearance activity to prepare better samples in terms of appearance and suitable clearance of different parts (valves, muscles, trabeculae...). Also, we have to prepare non fragile samples.

Methods: At first, some visceral organs (sheep hearts) were prepared and fixed by formalin 5% for 4 to 10 days. Then they were dissected for anatomic details and were put in a chemical dye called eosin and natural dye called ronnas. After dehydration by acetone in -25 °C and defeating with acetone in +30 °C, samples were put in the vacuum chamber to replace acetone instead of polymer under the vacuum pressure; finally the samples were cured with the ultra violet wave.

Findings: We found that after fixation and before plastination staining of organs with eosin and ronnas resulted in beautiful appearance of tissues.

Conclusion: Staining of organs resulted in beautiful appearance of tissues which are effective in increasing the attractively of teaching and learning anatomy. Also, it has affection in the raising appearance quality and has positive impression in the quality of education.

Keywords: Plastination, Natural dye, Industrial dye, Polyester.

¹ Assistant Professor, Department of Anatomical Sciences and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

² Professor, Department of Anatomical Sciences and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

³ Associate Professor, School of Chemistry, The University of Isfahan, Isfahan, Iran.

⁴ MSc Student, Department of Anatomical Sciences and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

⁵ Associate Professor, Department of Anatomical Sciences and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

⁶ Department of Anatomical Sciences and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

⁷ PhD Student, Department of Anatomical Sciences and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

Corresponding Author: Bahman Rashidi PhD, Email: b_rashidi@med.mui.ac.ir