การทำ sheet plastination สำหรับแผ่นสมอง โดยเครื่องมือ plastination unit ที่ผลิตขึ้นเอง

เอมอร เจริญสรรพพืช, วท.ม. (กายวิภาคศาสตร์)*
อุทัย ตันกิตติวัฒน์, สพ.บ.*

บทคัดย่อ ในการทำ sheet plastination ของแผ่นสมองตัวอย่างโดยใช้เครื่อง plastination unit ที่ผลิตขึ้นเอง พบว่า เครื่องมือดังกล่าวสามารถนำมาใช้ในขบวนการกำซาบสารพลาสติกเข้าสู่เนื้อเยื่อซึ่งเป็นขั้นตอนที่สำคัญที่สุดของขบวนการทำ plastination ได้เป็นอย่างดี โดยเนื้อสมองตัวอย่างที่ได้มีการหดตัวหลังสิ้นสุดขบวนการทำ plastination เพียงร้อยละ 6.9 และชิ้นสมองตัวอย่างมี ลักษณะ แห้ง ไม่เน่า สามารถจับต้องได้อย่างใกล้ชิด โดยไม่มีกลิ่นน้ำยาฟอร์มาลินที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ และยังทำให้เห็นความแตกต่างระหว่างเนื้อเทา (grey matter) กับเนื้อขาว (white matter) ของสมองได้อย่างชัดเจนกว่าสมองที่ไม่ได้ผ่านการทำ sheet plastination

Abstract **Sheet plastination technique for brain slices from department-made plastination unit**

Em-orn Jaroensuppaperch, M.Sc.(Anatomy)*
Uthai Tankittiwat, D.V.M.*

Apart from the sheet plastination of brain slices, it was found out that the plastination unit developed by the department can also be used in the forced impregnation which is the crucial step in plastination.

The shrinkage of the plastinated brain slices is only 6.9 percents. Plastinated brains are dry, durable, adorless and easy to handle and provide an excellent distinction between grey and white matter.

(MJS 1999 ; 1 : 19 – 24)

บทนำ

การศึกษาทางระบบประสาทโดยเฉพาะสมองในวิชามหกายวิภาคศาสตร์และประสาทศาสตร์ของนักศึกษาแพทย์ มีความจำเป็นต้องศึกษากลุ่มเซลล์ประสาทและทางเดินของใยประสาทของสมองจริงให้ถ่องแท้ ซึ่งจะต้องศึกษาลักษณะภายนอกและภายในชิ้นสมองที่ทำการตัดทั้งตามยาวและตามขวางในลักษณะต่างๆ ซึ่งเดิมสมองที่ใช้ศึกษาทั้งที่ตัดตามยาวและตามขวางนั้น จะเก็บไม่ให้เน่าในรูปของการแช่ในน้ำยาดอง

*ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University

ฟอร์มาลินที่อยู่ในโหลพลาสติกใส ในการเก็บวิธีนี้ผู้ศึกษาไม่สามารถจับต้องศึกษาได้อย่างใกล้ชิดเนื่องจากอยู่ภายในภาชนะที่ปิดสนิท หรือในกรณีที่สามารถนำออกจากภาชนะดองออกมาศึกษาภายนอกได้ ก็จะทำให้เป็นอันตรายต่อสุขภาพเนื่องจากน้ำยาฟอร์มาลินมีความระคายเคืองต่อเยื่อบุทางเดินหายใจเป็นอย่างมาก นอกจากนี้กลุ่มของเซลล์ประสาทและทางเดินของเส้นใยประสาทที่สำคัญในการศึกษาก็เห็นได้ไม่ชัดนักทำให้ศึกษาทำความเข้าใจได้ไม่ดีเท่าที่ควร และสมองที่ใช้ศึกษาบางส่วนที่ตัดตามยาวและตามขวางในแนวต่าง ๆ ต้องสั่งซื้อจากต่างประเทศซึ่งมีราคาแพงมาก

ในปัจจุบันได้มีการเก็บรักษาสมองที่ตัดให้เป็นแผ่นตามระนาบต่าง ๆ ไม่ให้เน่าเพื่อใช้ศึกษาระบบประสาทโดยวิธีที่เรียกว่า sheet plastination ตามวิธีของ P–35 technique ซึ่งสมองที่ตัดตามยาวและตามขวางนั้นสามารถตัดให้เป็นแผ่นบาง ๆ เพื่อให้แสดงกลุ่มของเซลล์ประสาทและทางเดินของใยประสาทได้ชัดเจน ประกอบกับเทคนิคการเก็บรักษาสมองด้วยวิธีนี้จะแยกให้เห็นความแตกต่างระหว่างเนื้อเทา (grey matter) และเนื้อขาว (white matter) ได้ดียิ่งขึ้น จึงทำให้ง่ายต่อการนำมาศึกษาทำความเข้าใจ และตัวอย่างสมองที่ได้จะมีลักษณะแห้งสามารถจับต้องศึกษาได้อย่างใกล้ชิดโดยไม่มีกลิ่นและอันตรายจากน้ำยาเคมีจะเห็นได้ว่าการเก็บรักษาสมองโดยวิธีนี้มีข้อดีและมีประโยชน์กว่าการเก็บรักษาสมองไม่ให้เน่าตามวิธีเดิมมากเพียงแต่การทำ sheet plastination นี้ต้องอาศัยเครื่องมือ plastination unit ซึ่งเป็นตู้สูญญากาศที่อยู่ในตู้เย็น –25 องศาเซลเซียส ในขั้นตอนการทำ sheet plastination ดังกล่าว จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจศึกษาการทำ sheet plastination โดยใช้เครื่องมือ plastination unit ที่ผลิตขึ้นเองในประเทศไทย เพื่อประโยชน์ในการผลิตชิ้นส่วนสมองเพื่อการเรียนการสอนเกี่ยวกับระบบประสาทของนักศึกษาแพทย์ต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาการทำ sheet plastination โดยวิธี P–35 technique
2. เพื่อศึกษาประสิทธภาพของเครื่อง plastination unit ที่ผลิตขึ้นเองในประเทศไทย ว่าสามารถใช้เทคโนโลยีที่มีอยู่ในเมืองไทยมาประยุกต์ใช้ในการทำ plastination ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพียงใด เพื่อประหยัดงบประมาณค่าใช้จ่าย เพราะไม่ต้องสั่งซื้อจากต่างประเทศซึ่งมีราคาแพง
3. นำผลการศึกษาดังกล่าวมาใช้ผลิตชิ้นส่วนสมองเพื่อใช้ในการเรียนการสอนทางการแพทย์ หรือจัดแสดงไว้ในพิพิธภัณฑ์กายวิภาคศาสตร์ต่อไป
4. เป็นจุดเริ่มต้นของการพัฒนา และการประยุกต์การทำ plastination ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

ศึกษาโดยทำการตัดสมองให้เป็นแผ่นบาง ๆ ตามแนวระนาบต่าง ๆ ขนาดความหนา 2–6 มม. แล้วนำมาผ่านขบวนการ การทำ sheet plastination โดยวิธี P–35 technique ตามวิธีของด๊อกเตอร์ Gunther von Hagens โดยในขั้นตอนการกำซาบ (forced impregnation) สารโพลีเมอร์ P–35 เข้าสู่เนื้อสมองนั้นจะใช้เครื่อง plastination unit ที่ผลิตขึ้นเองในประเทศไทย โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. การดองสมอง (fixation of the brain)

นำสมองที่จะใช้ศึกษามาแช่ในน้ำยาดองฟอร์มาลินความเข้มข้น 10–20 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลาประมาณ 1 สัปดาห์

2. การตัดสมองให้เห็นแผ่นบาง (slicing the brain)

นำสมองที่ผ่านการแช่ในน้ำยาฟอร์มาลินไว้อย่างดีแล้วมาล้างน้ำยาดองฟอร์มาลินส่วนเกินออกด้วยน้ำเปล่า หลังจากนั้นกำหนดแนวระนาบต่าง ๆ ที่ต้องการตัดสมองและตัดสมองให้เป็นแผ่น บางตามแนวระนาบที่กำหนดโดยใช้เครื่องตัดชิ้นเนื้อ (meat slicer) ซึ่งสามารถกำหนดขนาดความหนาของชิ้นสมองที่นำมาตัดได้ตามความต้องการ ปกติชิ้นสมองที่ตัดได้เป็นแผ่นจะให้มีขนาดความหนาประมาณ 2–6 มิลลิเมตร

3. การล้างแผ่นชิ้นสมอง

ล้างทำความสะอาดแผ่นชิ้นสมองที่ตัดได้ให้สะอาดด้วยน้ำ จากนั้นแช่ทิ้งไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 คืน

4. การดึงน้ำออกจากเนื้อเยื่อ (dehydration)

เป็นการดึงน้ำออกจากชิ้นสมองด้วยวิธี freeze substitution โดยการแช่ชิ้นสมองดังกล่าวในน้ำยาอะซีโตนที่อุณหภูมิ –25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1–3 วัน

5. การแช่ชิ้นสมองในน้ำยา P–35 (immersion)

หลังจากขั้นตอนการดึงน้ำออกจากสมองด้วยวิธี freeze substitution เป็นเวลา 48–96 ชั่วโมง แล้วนำชิ้นสมองที่ได้มาแช่ในโพลิเมอร์ P–35 ที่ผสมตัวทำแข็งเรซิ่น A9 จำนวน 2% ที่อุณหภูมิ 5 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

6. ขั้นตอนการกำซาบด้วยสารพลาสติก (forced impregnation)

นำสมองที่ได้จากการแช่ในเรซิ่น P–35 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาใส่ในเครื่องมือ plastination unit เพื่อให้เกิดขบวนการกำซาบด้วยสารพลาสติกในที่นี้คือเรซิ่น P–35 เข้าสู่ชิ้นสมองเป็นเวลาอย่างน้อย 21 ชั่วโมง โดยค่อย ๆ เพิ่ม ระดับสูญญากาศให้ได้ประมาณ 20 มิลลิเมตรปรอท

7. การเตรียมกระจกสำหรับหล่อชิ้นสมอง (preparation of double glasses)

ในระหว่างขั้นตอนการกำซาบด้วยสารพลาสติกให้เตรียมกระจกหนา 5 มิลลิเมตร และ 2 มิลลิเมตร ประกอบกันจำนวน 2 ชุด โดยให้หันด้านกระจกบางเข้าหากันเพื่อให้แกะแบบหลังจากทำการหล่อสมองและเรซิ่นแข็งตัวตัวแล้วออกได้ง่าย เนื่องจากกระจกบางสามารถยืดหยุ่นได้มากกว่ากระจกหนา โดยมีกระจกหนาคอยรองรับไม่ให้กระจกบางแอ่นขณะเทเรซิ่น ระหว่างกระจกบางทั้ง 2 ชุด ให้คั่นตามขอบด้วยสายยาง gasget โดยรอบทั้ง 3 ด้าน โดยให้ห่างจากขอบกระจกประมาณ 1 นิ้ว แล้วใช้ clamp หนีบให้ติดกับกระจกทั้ง 2 ชุดไว้ ส่วนด้านบนเปิดเป็นช่องไว้สำหรับใส่ชิ้นสมองและเทเรซิ่นสายยาง gasget ที่ใช้ให้มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่าความหนาของชิ้นสมองประมาณ 2 มิลลิเมตร ซึ่งเป็นขนาดที่เหมาะสมที่สุด

8. ขั้นตอนการหล่อชิ้นสมอง (casting และ filling the mold)

หลังจากสิ้นสุดขั้นตอนการกำซาบด้วยสารพลาสติกแล้ว ให้นำชิ้นสมองออกจากเครื่อง Plastination unit มาใส่ในกระจกหล่อแบบที่ได้เตรียมขึ้นแล้ว เทเรซิ่นที่เป็นส่วนผสมของ P–35 กับตัวทำแข็ง A9 จำนวน 2% (P–35 จำนวน 100 กรัมและตัวทำแข็ง A–9 จำนวน 2 มิลลิลิตร) โดยใช้แผ่นพลาสติก ทำเป็นกรวยใส่ลงในช่องระหว่างกระจกหล่อแบบสำหรับช่วยเทเรซิ่น

9. ขั้นตอนการทำให้สารพลาสติกแข็งตัว (curing)

เป็นขั้นตอนที่ทำให้เรซิ่น P–35 แข็งตัวโดยใช้แสงอุลตร้าไวโอเล็ตจนเรซิ่นเริ่มแข็งตัวหลังจากนั้นทำให้เรซิ่นแข็งตัวต่อโดยอบไว้ที่อุณหภูมิ 45–50 องศา–เซลเซียส เป็นเวลา 5–7 วัน

10. การแกะแบบและการเลื่อยชิ้นสมอง (dismantling and trimming)

ทำการแกะชิ้นสมองหลังจากเรซิ่นแข็งตัวดีแล้วออกจากกระจกหล่อแบบ จากนั้นทำการเลื่อยชิ้นสมองให้มีลักษณะตามต้องการหลังจากนั้นนำไปขัดขอบชิ้นสมองที่ได้ทำการเลื่อยให้เรียบโดยใช้กระดาษทรายน้ำแล้วล้างให้สะอาด

จากนั้นทำการศึกษาชิ้นสมองที่ผ่านขบวนการทำ sheet plastination เพื่อดูประสิทธิภาพของเครื่องมือดังกล่าวว่าสามารถนำมาใช้ในขบวนการกำซาบสารพลาสติกเข้าสู่เนื้อเยื่อได้ดีเพียงใด โดยใช้เกณฑ์ดังนี้

1. ความสามารถการเก็บรักษาชิ้นเนื้อไม่ให้เน่าและความแตกต่างระหว่างเนื้อเทาและเนื้อขาวของสมองโดยเปรียบเทียบกับชิ้นสมองที่ดองอยู่ในน้ำยาฟอร์มาลินตามวิธีเดิมที่ใช้อยู่ทั่วไป

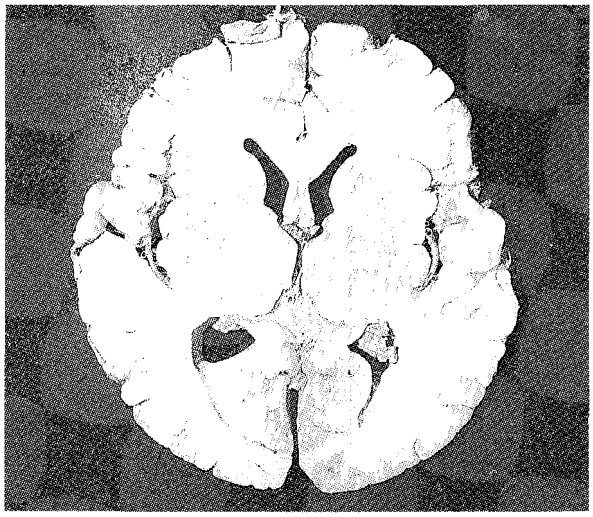
2. การกำซาบสารพลาสติกเข้าสู่เนื้อเยื่อสมองโดยศึกษาเปรียบเทียบจากระดับการหดตัวของชิ้นเนื้อสมองตัวอย่างก่อนทำและหลังเสร็จสิ้นขบวนการทำ sheet plastination โดยการวัดขนาดทั้งตามยาวและตามขวางของชิ้นสมองแล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย

ผลการวิจัย

1. ความแตกต่างระหว่างเนื้อเทาและเนื้อขาวสมองโดยเปรียบเทียบกับชิ้นเนื้อสมองที่ดองอยู่ในน้ำยาดองฟอร์มาลิน

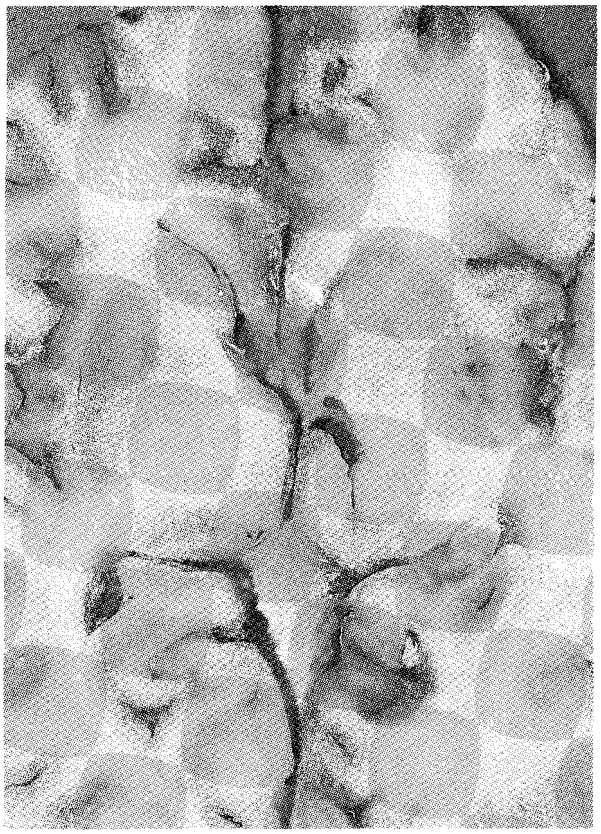
แผ่นสมองที่ผ่านการทำ sheet plsstination ด้วยวิธี P–35 technique โดยใช้เครื่อง plastination

unit ที่ผลิตขึ้นเอง จะมีลักษณะแห้ง ไม่เน่าไม่มีกลิ่น น้ำยาฟอร์มาลินและสามารถจับต้องได้อย่างใกล้ชิด สามารถเก็บรักษาตัวอย่างชิ้นสมองไม่ให้เน่าได้เป็นอย่างดี โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สามารถทำให้ชิ้นสมองที่ได้เห็นความแตกต่างระหว่าง เนื้อเทาและเนื้อขาว ของสมองได้อย่างชัดเจนยิ่งขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับสมองที่ไม่ได้ผ่านการทำ Plastination และยังสามารถเห็นกลุ่มเซลล์ประสาท และทางเดินของใยประสาทในสมองได้ชัดเจนอีกด้วย (รูปที่ 1, 2, 3)



รูปที่ 1 แผ่นสมองที่ดองในน้ำยาฟอร์มาลินจะเห็นความแตกต่างระหว่างเนื้อเทาและเนื้อขาวของสมองไม่ชัดเจน

รูปที่ 2 แผ่นสมองที่ผ่านการทำ sheet plastination ด้วยวิธี P–35 technique จะทำให้เห็นความแตกต่างระหว่างเนื้อเทาและเนื้อขาวของสมองได้อย่างชัดเจน



รูปที่ 3 รูปขยายแผ่นสมองเปรียบเทียบให้เห็นความแตกต่างระหว่างเนื้อเทา และเนื้อขาวภายหลังการทำ sheet plastination

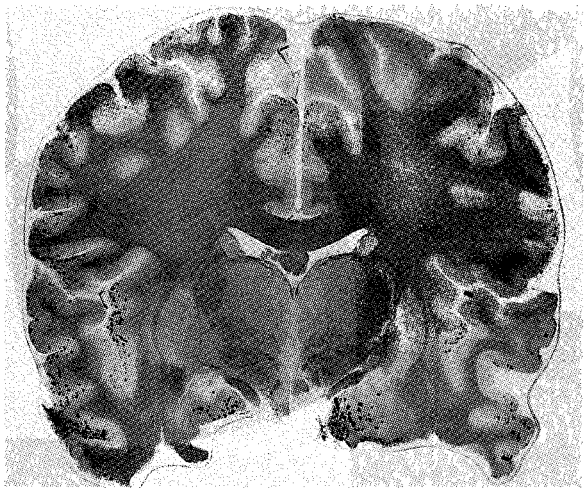
2. การกำซาบสารพลาสติกเข้าสู่เนื้อเยื่อสมอง โดยการเปรียบเทียบจากระดับการหดตัวของชิ้นสมองตัวอย่างก่อนการทำและหลังการทำ sheet plastination ดังตารางที่ 1 และระยะเวลาที่ใช้ในการทำ sheet plastination ด้วยวิธี P–35 technique ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 1 ตารางแสดงระดับการหดตัวของชิ้นสมองตัวอย่าง

ขั้นตอน	ระดับการหดตัวเฉลี่ย (ร้อยละ)
การหดตัวหลังขบวนการดึงน้ำออกจากเซลล์	4.4
การหดตัวหลังขบวนการกำซาบด้วยสารพลาสติก	2.5
รวมการหดตัวทั้งหมดหลังสิ้นสุดขบวนการทำ sheet plastination	6.9

ตารางที่ 2 ตารางแสดงระยะเวลาที่ใช้ในการทำ sheet plastination ด้วยวิธี P–35 technique

ขั้นตอน	ระยะเวลาที่ใช้
การตัดสมองให้เป็นแผ่นบางหนา 2–6 มม. และการเตรียมแผ่นสมองก่อนการดึงน้ำออกจากเซลล์	1 วัน
การดึงน้ำจากเซลล์	1–3 วัน
การกำซาบด้วยสารพลาสติก P–35	1 วัน
การทำให้สารพลาสติกแข็งตัว	7 วัน
ระยะเวลารวมหลังสิ้นสุดการทำ sheet plastination	10–13 วัน



รูปที่ 4 แผ่นสมองที่ย้อมด้วยสี luxol fast bule แล้วนำมาทำ sheet plastination ด้วยวิธี P–35 technique

สรุปและวิจารณ์ผล

จากการศึกษาการทำ sheet plastination ด้วยวิธี P–35 technique โดยใช้เครื่อง plastination unit ที่ผลิตขึ้นเองพบว่าเครื่อง plastination unit ที่ผลิตขึ้นโดยใช้เทคโนโลยีที่มีอยู่ในประเทศไทย สามารถนำมาใช้ผลิตชิ้นส่วนสมองไม่ให้เน่าเพื่อการศึกษาทางกายวิภาคศาสตร์โดยวิธีที่เรียกว่า sheet plastination ด้วยวิธี P–35 technique ได้เป็นอย่างดีโดยมีระดับการหดตัวของแผ่นสมองหลังสิ้นสุดขบวนการทำเพียงร้อยละ 6.9 ซึ่งเป็นการหดตัวจากขบวนการดึงน้ำออกจากเซลล์ ร้อยละ 4.4 และเป็นการหดตัวหลังจากขบวนการกำซาบด้วยสารพลาสติกร้อยละ 2.5 ทำให้ไม่ต้องสั่งซื้อเครื่อง plastination unit จากประเทศเยอรมันนีซึ่งมีราคาแพงมาก

ชิ้นสมองที่ผ่านการทำ sheet plastination จะมีลักษณะแห้ง ไม่เน่า จับต้องศึกษาได้อย่างใกล้ชิด ไม่มีกลิ่น และไม่มีอันตรายจากน้ำยาดองฟอร์มาลิน และที่สำคัญการทำ sheet plastination ของสมองที่ตัดให้เป็นแผ่นบางสามารถแยกความแตกต่างระหว่าง เนื้อเทาและเนื้อขาว ของสมองได้อย่างชัดเจนโดยเฉพาะสามารถเห็นกลุ่มเซลล์ประสาทและทางเดินของใยประสาทในสมองได้ชัดเจนกว่าสมองที่ไม่ได้ผ่านการทำ sheet plastination มาก และสามารถเพิ่มความแตกต่างให้เห็นชัดเจนขึ้นได้โดยการย้อมสมองด้วยสี luxol fast blue (รูปที่ 4) ทำให้สามารถนำมาผลิตชิ้นสมองสำหรับการศึกษาทางประสาทศาสตร์ของนักศึกษาแพทย์ทำให้การเรียนการสอนเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพและนักศึกษาแพทย์สามารถเรียนรู้และเข้าใจโครงสร้างในสมองได้ดียิ่งขึ้นและยังสามารถประหยัดงบประมาณโดยไม่ต้องสั่งซื้อชิ้นเนื้อสำหรับใช้ศึกษาจากต่างประเทศได้อีกด้วย นอกจากนี้สมองที่ผ่านการทำ sheet plastination ยังสามารถเปรียบเทียบภาพที่ถ่ายสมองออกจากเครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ (CT Scan) สามารถช่วยนักศึกษาแพทย์ในการอ่านภาพสมองที่ถ่ายจากเครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ได้ดียิ่งขึ้นและเข้าใจง่ายขึ้น เนื่องจากมีสมองจริงที่เห็นทางเดินประสาทและกลุ่มเซลล์ประสาทได้อย่างชัดเจนเป็นตัวเปรียบเทียบนั่นเอง

ในอนาคตอันใกล้นี้เชื่อว่าการทำ plastination คงเข้ามาแพร่หลายในประเทศไทยตามโรงเรียนแพทย์ต่างๆ เนื่องจากมีประโยชน์อย่างมากต่อการศึกษาทางกายวิภาคศาสตร์และพยาธิวิทยา ฉะนั้นจึงเป็นจุดเริ่มต้นของการศึกษาการทำ plastination ในประเทศไทยโดยใช้เครื่อง plastination unit ที่ผลิตขึ้นเองโดยไม่ต้องสั่งซื้อจากต่างประเทศที่มีราคาแพง อย่างไรก็ตามก็ยังคงต้องสั่งน้ำยาเรซิ่นจากต่างประเทศซึ่งมีราคาแพงเช่นกันจึงต้องศึกษาค้นคว้าน้ำยาดังกล่าวที่สามารถผลิตได้ในประเทศไทยต่อไปเพื่อพัฒนาการทำ sheet

plastination ดังกล่าวที่มีราคาถูกสุดโดยไม่ต้องอาศัยเครื่องมือและน้ำยาจากต่างประเทศและสามารถผลิตชิ้นส่วนสมองมาใช้ศึกษาทางการแพทย์ได้อย่างดีและมีประสิทธิภาพต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Bickley HC, von Hagens G, Townsend FM: An Improved Method the Preservation of Teaching Specimens. Arch Pathol Lab Med 105 : 674-676 , 1981.
2. Bickley HC, Townsend FM: Preserving Biological Material by Plastination. Curator 27 (1) : 65-73, 1984.
3. Lyons W, Gubbins B, Hunt R: An economical approach to sheet plastination. J Int Soc Plastination 10 (1) : 8-15, 1996.
4. Riepertinger A: Fixation of the human brain for plastination: Special considerations. J Int Soc Plastination 2 (1) : 8-12, 1988.
5. Ulfig N: Staining of human fetal and adult brain slices combined with subsequent plastination. J Int Soc Plastination 4 (1) : 33-38, 1990.
6. Ulfig N, Wuttke M: Plastination of stained sections of the human brain. Anat Anz 170 (5) : 309-312, 1990.
7. Ulmer D : Fixation, The Key to Good Tissue Preservation. J Int Soc Plastination 8 (1) : 7-10, 1994.
8. von Hagens G, Tiedemann K, Kriz W : The current potential of plastination. Anat Embryol 175 (4) : 411-421, 1987.
9. Weber W, Henry RW : Sheet plastination of the brain - P35 technique, filling method, J Int Soc Plastination 6 (1) : 29-33, 1992.
10. Weiglein a : Preparing and using S-10 and P-35 brain slices. J Int Soc Plastination 10(1) : 22-25, 1996.
11. Weiglein AH, Bahadori K : Nerve plexuses demonstrated by the P-35 technique. J Int Soc Plastination 10 (1) : 4-5, 1996.