

روش وایتال پرفیوژن فیکسیشن از طریق عروق کاروتید: تهیه مقاطع هیستولوژیک از پریودنشیوم و استخوان فك سگ

علی‌اصغر بصیری، مهدی صاحبجمع اتابکی، شهریار ادیبی

دکتر علی‌اصغر بصیری

(پریودنتیست)، شماره 6،
ساختمان میرداماد،
خیابان بزرگمهر،
اصفهان.

basiri39@yahoo.com

دکتر مهدی صاحبجمع اتابکی،
استادیار دانشکده
دندان پزشکی دانشگاه
علوم پزشکی اصفهان و
دکتر شهریار ادیبی،
دام‌پزشک.

این مقاله در تاریخ
83/2/5 به دفتر مجله
رسیده، در تاریخ
83/12/21 اصلاح شده و در
تاریخ 84/1/30 تأیید
گردیده است.

مجله دانشکده دندان پزشکی
اصفهان

1384 : 1 (2) : 70-72

تهیه مقاطع هیستولوژیک مناسب در مطالعات حیوانی، نیاز به آماده‌سازی کافی بافت های به دست آمده، قبل از برش های هیستولوژیک دارد. ثبوت (Fixation) بافت، یکی از مراحل مهم آماده‌سازی بافت است. زمان نفوذ ماده فیکساتور به لایه های عمقی و قسمت های مرکزی بافت مورد آزمایش، در جلوگیری از لیز سلولی (Lysis) مهم است. معمولاً ثبوت بافت از طریق قرار دادن در فرمالین 10 درصد به مدت 10 تا 15 روز است [1]. این زمان در مورد بافت های سخت و پُرتراکم، مانند استخوان فکین سگ، کافی نیست. افزایش زمان ثبوت نیز تنها باعث رسوب فرمالین در لایه های سطحی می‌گردد و میزان نفوذ آن را در قسمت های مرکزی، مخصوصاً وقتی که قطعه وسیع تری از بافت، برای مطالعه لازم باشد، کاهش می‌دهد [2]. بنابراین، احتمال بروز اتولیز در این بافت ها زیاد است که موجب کاهش امکان بررسی های هیستولوژیک دقیق می‌شود.

هدف از روش وایتال پرفیوژن، ثبوت سریع و فوری بافت ها، قبل از بروز هرگونه تغییرات اتولیز و نکروز بافتی پس از مرگ حیوان است تا نمای طبیعی بافت حفظ شده، و بررسی های سلولی راحت‌تر و دقیق‌تر انجام شود. در این روش، عمل ثبوت بافت، در زمان حیات حیوان، از طریق تزریق در عروق خونی انجام می‌گیرد. این روش قبلاً در گربه، از طریق شریان آئورت صعودی از داخل قفسه سینه انجام شده [3] ولی در مورد سگ ناموفق بوده است [2]. بنابراین، در این مطالعه، استفاده از روش وایتال پرفیوژن برای سگ ها از طریق شریان کاروتید مشترک (Common carotid artery)، برای اولین بار در دانشکده دندان پزشکی اصفهان انجام شد.

برای این کار 2cc آسپرومازین (Asperomasin) به عنوان آرام‌بخش و مخلوطی از 2mg/kg کتامین (Ketamin) و 0/15mg/kg رامپون (Rampon) به صورت Iv برای بی‌هوشی اولیه استفاده شد. سپس اتصال سرم فیزیولوژی برای بی‌هوشی های بعدی از طریق سیاهرگ سفالیک دست حیوان انجام گرفت. پس از برطرف کردن موهای گردن حیوان، برای یافتن

عضلات گردن، با استفاده از نبض کاروتید، ورید گردنی و شریان کاروتید در دو طرف گردن مشخص گردید. به منظور جلوگیری از لخته شدن خون در حین عملیات بعدی، یک عدد آمپول 5000 واحدی هپارین به داخل یکی از کاروتیدها تزریق شد. پس از پیدا و ایزوله کردن عروق کاروتید و ورید جوگولار دوطرف، توسط دو عدد هموستات، عروق کاروتید دو طرف کلامپ شد و از بالای محل کلامپ شده، یک عدد برانول وارد

شریان کاروتید اصلی و ورید گردنی (Jugular vein) یک برش ورتیکالی به طول 20 سانتی متر از 10 سانتی متر پایین تر از زاویه ماندیبل داده شد. پس از تشریح

شکل 1. A- سفید شدن مخاط دهان و زبان پس از پرفیوژن فرمالین، جداسازی فک بالا از داخل دهان و وجود فرمالین در بین بافت

بود، عروق کاروتید از زیر محل کلامپ شده و جوگولار قطع شد. با خروج خون موجود در بدن حیوان و بروز حالت Hypovulomic ضربان قلب متوقف گردید. این روش بر روی پنج قلاده سگ انجام شد که طول زمان پرفیوژن فرمالین برای هر حیوان حدود 15 دقیقه برای هر لیترا، بطور همزمان در دو طرف گردن بود. در هنگام کار، تهویه کافی برای خروج بخار فرمالین از محیط برقرار بود. کلیه مخاط لب، گونه و زبان در فک بالا و پایین، با برش هایی از زیر Mucogingival line با حفظ پوشش لثه بر روی فک جدا گردید. با انجام این برش ها، وجود فرمالین در بین بافت ها و عروق خونی دیده شد. در نهایت، استخوان فک بالا و پایین، از کلیه اتصالات عضلانی و مخاطی جدا شد (شکل 1-B). انجام کلیه مراحل پیش گفت از ابتدا تا انتها برای هر سگ، حدود یک ساعت به طول انجامید.

کاروتید گردید. با برداشتن درپوش برانول، خون باقی مانده تخلیه شد. سرم فیزیولوژی توسط ست سرم به برانول وصل گردید. چون حیوان زنده و پمپاژ قلب و مکش دیاستولیک قلب از طریق ورید جوگولار برقرار بود، سرم براحتی داخل کاروتیدهای دو طرف رفت و با تخلیه خون، عروق ناحیه سر و گردن را شستشو داد، بطوری که مخاط لب، گونه، زبان و لثه ها کاملاً سفید شد (شکل 1-A). سپس محلول فرمالین 10 درصد از طریق ظرف سرم فیزیولوژی و برانول داخل کاروتید تخلیه و فکین حیوان توسط دهان بازکن، باز نگه داشته شد تا در همین حالت، فیکس گردد. با عبور فرم الین از عروق بافت های سر و گردن شروع به فیکس شدن می نماید که این موضوع به صورت حرکات لرزشی در عضلات این ناحیه قابل رؤیت است. در اواخر این مرحله، در حالی که ضربان قلب به تعداد کم برقرار

لام‌های هیستولوژیک تهیه شده از کیفیت مطلوبی برخوردار بودند بطوری که حتی عروق خونی کوچک

نیز کاملاً از خون تخلیه گردیده و زمینه لام کاملاً

شکل 2. A- نمای دندان پرمولر در لام هستولوژی تهیه شده پس از وایتال پرفیوژن، B- فاصله دو ریشه (r)، وجود یک سپتوم استخوانی نازک، (b) بین دو ریشه، عروق خونی خالی (v) نشان‌دهنده تخلیه خوب خون از بافتها هنگام وایتال پرفیوژن است ناگهانی ضربان قلب و مرگ حیوان یعنی قطع پمپاژ قلب قبل از پرفیوژن ماده فیکساتور می‌شود. (شکل 2 - A و B).

انجام روش وایتال پرفیوژن از طریق عروق کاروتید سبب ثبوت فوری بافت‌های پریودنشیوم و فکین سگ، در حین حیات حیوان می‌گردد که سبب جلوگیری از تغییرات بافتی می‌شود. استفاده از روش پرفیوژن فیکسیشن در مطالعاتی که به منظور بررسی میزان گسترش و نفوذ باکتری در بافت‌های پریودنتال درگیر در پریودنتیت صورت می‌گیرد، سبب کاهش جابجایی (Translocati) میکروارگانیزم‌ها در خلال عمل جراحی بیوپسی از بافت می‌گردد [4].

فیکسیشن بافت‌های فکین سگ قبلاً به صورت لوک‌ال پرفیوژن با استفاده از عروق کاروتید ولی با قطع همزمان عروق کاروتید و جوگولار و پس از معدوم کردن حیوان انجام یافته است [5]. قطع همزمان این عروق سبب حذف مکش دیاستولیک قلب و در نتیجه کاهش سیرکولیشن ماده شستشو دهنده (سرم فیزیولوژی) و ماده فیکساتور (فرمالین) می‌گردد. در روشی که این کار از طریق آئورت انجام می‌گیرد [3] قطع آئورت و ورید اجوف (Venacava) موجب قطع

در حقیقت، این روش‌ها نوع فیکسیشن فوری بافت پس از مرگ حیوان است نه وایت‌ال پرفیوژن فیکسیشن. در حالی که در روش اخیر، فیکسیشن بافت، در حین حیات و با وجود برقراری ضربان قلب و تنفس آن انجام می‌گیرد. علت این موضوع آن است که در سگ، عمده خون‌رسانی به مغز توسط Vertebral artery و Ventral spinal artery می‌باشد که هر دو منشعب از Subclavin artery هستند و از زیر مهره‌های گردن وارد شده و در مجاورت با طناب نخاعی، به سمت مغز می‌روند [6 و 7]. به این دلیل، با وجود قطع خون‌رسانی عروق کاروتید، همچنان نخچه و بصل‌النخاع دارای خون‌رسانی مناسب هستند و تنفس و ضربان قلب ادامه می‌یابند.

منابع

1. همای فر م. م. شرحی بر روش‌های عملی در تهیه لام‌های آسیب‌شناسی. مجله تشخیص آزمایشگاهی 1380؛ 18: 43-51.
2. صاحب‌جمع اتابکی م، بصیری ع. ا. بررسی هیستولوژیک تأثیر اتوترانسپلانت غشاء پریودنتال بر بازسازی ضایعات پریودنتال در سطوح پرواگزیمال دندان‌های کانین سگ. پایان‌نامه تخصصی پریودنتولوژی. دانشکده دندان‌پزشکی. دانشگاه علوم پزشکی اصفهان. 1382.
3. عسکری س، اقبال م، پری‌رخ م. ارائه تکنیک جدید وایتال پرفیوژن فیکسیشن. مجله طب و تزکیه 1377؛ 28: 20-22.
4. Silverstein LH, Schuster GS, Gavnick JJ, Singh B. Bacterial penetration of gingiva in the adult beagle dog with periodontitis. J Periodontol 1990; 61(1): 35-41.
5. Yoshida M, Hotta Y, Miyazaki T, Watanabe O, Ichikawa T. Local perfusion fixation of dog's head and neck for electron microscopy especially of teeth and their surrounding tissues. Shikawa Gakubo 1994; 97(2): 412-26.
6. Dyce M, Sack WO, Wensung CJG. Textbook of veterinary anatomy. 1th ed. WB Saunders Co. 1995: 307.
7. Popestko P. Atlas of topographical anatomy of the domestic animals. 5th ed. WB Saunders Co. 1975.

Vital Perfusion-Fixation Technique Through Carotid Arteries for Preparation of Histologic Sections from Periodontium and Jaw Bone of Dog

Basiri AA, Atabaki M, Adibi Sh

Abstract:

Adequate processing of tissues before histologic slices is necessary for preparation of proper histologic sections in animal studies. Fixation is one of the most important and early laboratory stages of tissue processing. Amount of penetration time of fixator material, into deep layers and central portions of hard tissues, is important factor for prevention of cell lysis. The purpose of vital perfusion technique is immediate and rapid fixation of tissue, before tissue lysis and necrosis.

After general anesthesia, the common carotid artery and jugular vein were isolated through a vertical incision and dissection of muscles, in both sides of the neck. The carotid arteries, were clamped, then normal saline and 10 percent formalin were injected respectively, through one branole. While heart rate and respiration slowed down, the content of jaw vessels were normal saline and formalin. Oral mucosa became completely pale and muscles got stiff. Formalin was observed in vessels and between tissues.

The histologic sections had favorable quality. Signs of tissue lysis were not observed and small vessels were also empty from blood. The vital perfusion fixation technique from carotid arteries can make rapid fixation of the periodontal tissue and jaw bone of dog and prevent tissue changes. This method can facilitate other laboratory stages for preparation of histologic sections.

Key words. Vital perfusion fixation, Histologic section, Carotid artery, Periodontium, Jaw bone, Dog.

Address. Dr. Ali Asghar Basiri, No. 6, Mirdamad Building, Bozorgmehr Av., Isfahan, IRAN. E-mail: basiri39@yahoo.com

