

무릎 관절과 주위조직의 Sheet Plastination

계명대학교 의과대학 해부학교실, 의과학 연구소 및 의학유전 연구소,
첼거리대학교 의과대학 해부학교실*

이인환 · Gilbert C Mangubat* · 장성의

A sheet plastinated knee joint and around tissue

In Hwan Lee, M.D., Gilbert C Mangubat, M.D.* , and Sung Ik Chang, M.D.

*Department of Anatomy, Keimyung University School of Medicine,
Institute for Medical Science, and Institute for Medical Genetics, Taegu, Korea
Department of Anatomy, Calgery University School of Medicine, Calgery, Canada**

-Abstract-

In the plastination process, water and lipids in biological tissues are replaced by curable polymer which are subsequently hardened. The procedure consists of fixation, dehydration, forced impregnation in a vacuum, and hardening.

After distention of the knee joint capsule by 20% formalin injection the specimen was immersed in 5% formalin for 1 week, the knee joint could be plastinated. Entire specimen should be approximately 25cm in length (10cm below and 15cm above the femorotibial joint). Maintaining a distended capsule during the curing of the impregnation polymer provides well defined and expanded joint cavity. Slice thickness for sheet plastination, filling method, was 2.5-3mm in sagittal sections. Biodur E12/E1 epoxy resin mixture was used for transparency. Epoxy resin mixture yields flexible, resilient specimens, allows transparency. While not an exact model of natural structure, the plastinated knee joint specimen provides many important advantages to understand the structure of knee joint and around tissue in the gross anatomy and histology.

Key Words : Plastination, Knee joint

서 론

Plastination은 해부학, 병리학, 법의학 및 생물학 영역에서 썩기쉬운 생물체 표본을 보존하여 교육, 연구 및 전시에 응용함으로써 새로운 방법으로 발전되고 있다. 특히나 연하고 수분이 많은 뇌, 심장, 간, 폐, 신장, 근육같은 장기나 관절 혹은 신체 절편 (body slice) 보존에 유리하다(Bickley, 1984).

역사적으로 인체 조직을 보존하기 위한 노력은

고대 미이라로부터 긴 역사를 가지고 있으나 의학적 측면에서 내구적이고 마르며, 다루기 쉬운 표본을 만든 것은 20 세기 초반 Deegener & Berndt (1914), Hochstetter & Schmeidel(1924)에 의해 표본을 파라핀화(paraffinization)함으로써 시작되었다. 생체조직의 물과 지방질대신 paraffin으로 치환하여 마르고 굳으며 냄새도 없는, 반 영구적인 인체 표본을 만들었다. 그러나 이것들은 쉽게 손상 받으며 열에 약하고, 가연성이어서 다루기

쉬운 표본이 아니었다.

근자에 와서 von Hagens(1979)에 의해 paraffin 대신 냄새도 없고 내구성이 강한 polymer가 만들어져 실제적인 plastination이 되었다. 이 방법은 표본은 마른 상태에서 관찰되고 냄새도 없으며 색깔 까지 가미할 수 있는 장점을 지닌다. 지금까지 알려진 polymer로는 silicon rubber(S), epoxy resin(E), polyester resin(P), polymerizable emulsion(PEM) 들이 있다(von Hagens et al, 1987). 작은 동물일 경우 혹은 태아일 경우 절단(section) 없이 whole body plastination이 이루어 질수 있다. 방법의 기본 과정은 고정과 염색(fixation and staining), 탈수(dehydration), 플라스틱(polymer)의 강암적 침윤(forced impragnation), 및 고형화(hardening, curing)로 이루어져 있다. 이런과정들은 종국에 조직의 수분과 지방질을 cured polymer로 대체하는데 있다. 사용되는 polymer의 종류는 표본의 성상에 따라 요구되는 유연성, 시각적 투명성, 조직학적으로 필요로하는 미세기관의 보존성에 따라 결정된다(von Hagens et al, 1987).

그밖에도 장기별 지방질과 수분 함량이 상이하고 조직의 성상 혹은 두께에 따라 플라스틱의 치환 및 침투력이 상이하여 각 과정마다 보정이 필요하다. 고정에 있어서 심장 또는 위장의 경우 20% 포르말린으로 수압하에서 고정하지만 태반이나 태아의 경우 5% 포르말린으로 고정함이 조직의 수축이나 손상을 막을 수 있다(Bickley et al, 1981).

무릎 관절과 그 주위 조직은 다양한 결체조직들이 모여 있어서 일반적인 절개나 표본 제작으로는 영구적이며 관절의 경계, synovial capsule 들의 변형방지가 쉽지않다(Tiedeman, 1988).

저자들은 고정된 무릎관절의 시상단면을 Biodur E12/E1 epoxy resin 혼합액으로 진공 냉동 침윤시켜 50°C 오븐에서 하루, UV-A하에서 하루동안 curing 하여 표본을 제작하여 관절의 세밀한 해부학적 구조 및 조직학적 구조를 조사할 하였다.

재료 및 방법

무릎관절과 주위조직 : 고정되지 않은 신선한 사체에서 무릎관절(femorotibial joint, knee joint)에서 상부 15cm, 하부 10cm 되게하여 톱으로 절

단하여 사용하였다.

고정 : 관절낭의 고정을 위해서 관절을 20도 정도 구부리고 15 gauge 주사침으로 20% 포르말린 250ml 을 주사하였다. 주사후 주사기, 주사침은 압력유지를 위해서 그냥 둔채로 색깔의 변화를 막기위하여 표본 조직을 5% 포르말린 용액에 메탄올을 10%되게하여 이 혼합액에 1 주일간 담구어 고정하였다.

절편 제작 : 고정된 표본을 rotary meat slicer에서 칼슘제거(decalcification)없이 2.5-3 mm 두께로 자르고 plastic netting 과 grid로 고정(stack) 시켰다.

탈수 : 탈수전에 흐르는 물에 표본을 1시간 수세하여 포르말린을 제거하고 관절낭은 주사기를 이용하여 몇차례 수세하였다. 탈수는 5배 량의 아세톤을 이용한 냉동치환(freeze-substitution)으로 -25°C에서 이루어졌으며 92% 아세톤에서 1시간, 95% 아세톤 및 99%아세톤에서 각각 3일씩 방치하였다. 표본을 실온의 아세톤으로 옮겨 아세톤이 맑아질때까지(2-3일) 지방제거(defatting)를 위해 방치한후 degreasing 과정으로 실온의 methylene chloride에 하루씩 두 번 방치하였다.

강암적 침윤 : 미리 -25°C로 조정된 Biodur E12/E1/AT30/AT1010 epoxy resin reaction mixture (epoxy resin/amine hardner/accelerator/contrast material = 100/28/20/2)에 표본을 담구어 -60 mmHg의 압력에서 진공침윤을 시작하여 발생하는 기포의 량에따라 점차 압력을 높여 1 주일에 0 mmHg가 되게하였다. 침윤후 표본을 유리판 사이에 끼우고 가장자리를 elastic gasket로 막은후 epoxy resin으로 빈 공간을 채웠다.

Curing(hardening) : 기포가 없음을 확인하고 오븐에서 하루동안 열(50°C)을 가하고 UV-A 빛을 하루동안 쪼여 polymerization이 일어나게하였다. 유리판을 떼고 표본의 굴곡에 따라 자른 다음 결이 가는 sand paper로 표면 처리하였다.

결과 및 고찰

육안적 관찰 뿐 만 아니라 현미경하에서 미세구조의 관찰까지 할 수 있게 하기 위해서, 크고 투명하며, 얇은 표본을 만들고자 할 때 쓰이는 filling method의 sheet plastination을 하였다. Biodur E12은 epoxy resin으로 중간 정도의 점성을 가지

며 투명하고 curing후에도 얼마간의 탄력성을 지닌다. 표본이 냄새없이 만들어 졌으며 부서지지 않으며 빛에 투과성이 있고 길이의 변화없이 두께는 5 mm가 되었다(그림 1). 뼈를 비롯하여 골격근, 건, 피하지방등이 잘 보존되었다. 즉 넓적다리 네갈래근(quadriceps femoris muscle(이하 m.)), 무릎인대(patellar ligament), 안쪽넓은근(vastus medialis m.), 큰모음근(adductor magnus m.), 오금근(popliteus m.), 빗오금인대(oblique popliteal ligament), 장딴지근(gastrocnemius m.)과 근육이 붙지않는 오금면(popliteal surface : 그림 1 화살표), 무릎밑지방(infrapatellar fat pad : 그림 1 *) 등을 잘 보여 주고 있다. 반면에 무릎위주머니(suprapatellar bursa : 그림 1, A), 장딴지근밑주머니(gastrocnemius bursa : 그림 1, B)는 공간의 위축을 보였다. 이 위축을 줄일려면 고정후 section없이 주사된 자리를 통해 바로 탈수하고 침윤동안에도 관절낭에 Biodur E12/E1 reaction mixture로 가득 채워 둔채 실시한후 curing 전후의 section방법이 필요하겠다(Tiedeman et al, 1982). 색깔은 다소 노란색쪽으로 치우쳐 있다. 고정 과정에서 온도를 더 내리고 고정 기간을 줄이며, 고정액의 base를 아세톤으로 하거나, 고정액 모두를 Kayserling 고정액(potassium acetate: 30 parts by weight, potassium nitrate: 15 parts by weight, formalin: 200ml, water: 800ml)으로 바꾸어 색깔의 변화를 줄인 보고가 많이있다(O'Conner & Shahriaree, 1984; Pfeil, 1986). 이 표본을 현미경 하에서 50배의 배율로 관찰하면 뼈의 경우 그림 2A와 같고, 골격근의 경우 그림 2B와 같았다. 그림2A에서는 endosteum의 확대이며 그림2B는 골격근의 longitudinal section으로 세포막하의 핵들이 보이지 않으며 횡문 등을 나타낼려면 고정과 section후 적절한 염색과정이 필요하다. (Grondin et al, 1994)는 Biodur S10에의한 plastination인 경우 sodium methotraxate deplastination에 성공하여 silicone을 벗기고 다시 광학 및 전자현미경으로 관찰이 가능한 표본을 만들었다. 특히나 초기과정에서 glutaraldehyde/formaldehyde으로 고정하면 인공산물(artifact)을 없앨수 있어서 retrograde 연구를 가능하게하고 있다. 이런 긴 과정이 아니더라도 표본조직이 얇은 두께이므로 침윤이 아닌

plastic coating으로도 같은 효과를 볼 수도 있다(Pond et al, 1992). 실제 시간과 경비를 줄이기 위한 많은 노력이 이루어지고 있다. O'Sullivan& Mitchell(1995)은 plastination에서 사용되는 냉장고, 냉동고(-30°C), explosion resistant vacuum container, explosion resistant vacuum pump, Bennert vacuometer, hood, oven 등에 대해서 저렴한 대체물을 보고하고있다.

Legends

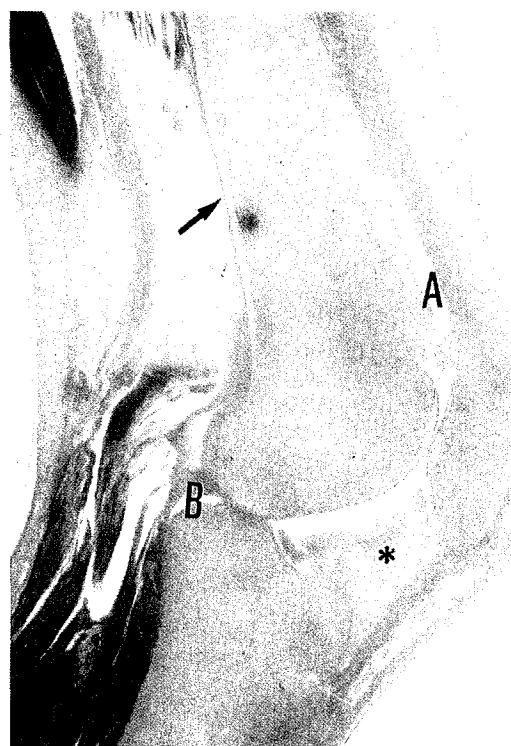


Fig. 1. Plastinated knee joint.

arrow ; popliteal surface
* ; infrapatellar fat pad
A ; suprapatellar bursa
B ; gastrocnemius bursa

요약

Plastination 과정은 생체조직에서 물과 지방질 성분을 polymer로 대체하여 고형화할 수 있는 영구적이며, 다투기쉬운 실물에 가까운 표본을 얻고자 함이다. 이 과정에는 고정, 탈수, 침윤, 고형화

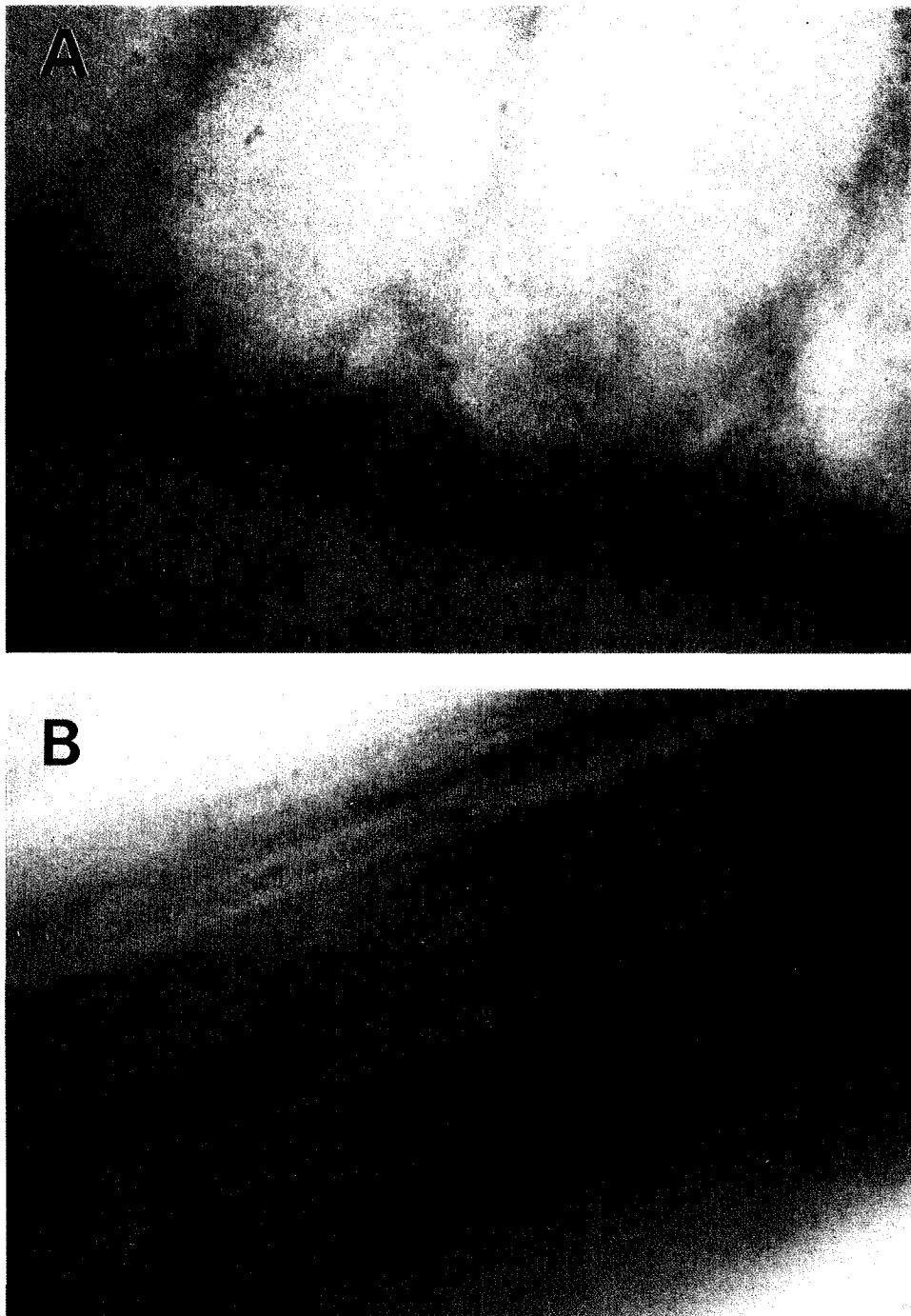


Fig. 2. Magnified tissue arround knee joint:

A ; endosteum x50

B ; skeletal muscle x50

과정으로 이루어진다.

무릎 관절의 시상단면을 Biodur E12/E1 epoxy resin을 이용한 sheet plastination을 하기 위해서 신선한 무릎 관절을 관절의 상부 15cm와 하부 10cm에서 자르고 관절낭에는 20% formalin을 주사하고 전체 표본은 5% formalin으로 고정하였다. 이 표본의 중앙부를 2.5-3.0mm 간격으로 잘라 시상단면을 얻었다. 단면의 표본을 plastic grid에 고정시킨후 수세와 -25°C의 acetone에 의한 탈수과정을 거친 후 Biodur E12/E1 epoxy resin 혼합액으로 진공 냉동 침윤시키고 plastic grid를 제거한 후 유리판 사이에 끼우고 가장자리를 elastic gasket로 막은 후 epoxy resin으로 빈 공간을 채워 50°C 오븐에서 하루 UV-A 빛에서 하루동안 curing 하여 무릎 관절의 육안적 관찰과 더불어 현미경하에서 낮은 배율의 미세구조를 관찰할 수 있었다.

참 고 문 헌

Bickley HC, v Hagens G, Townsend FM : An improved method for the preservation of teaching specimens. *Arch Pathol Lab Med* 1981 ; 105 : 674-676.

Bickley HC : Plastination : A new technique for anatomic pathology and forensic science. *Pathol Update Series* 1984 ; 2 : 2-8.

Deegener P, Berndt W : Process of preserving animal objects. *USPat* 1914 ; 1 : 163, 645.

Grondin G, Grondin GG, Talbot BG : A study of criteria permitting the use of plastinated specimens for light and electron microscopy. *Biotech-Histochem* 1994 ; 69 : 219-234.

v Hagens G : Impregnation of soft biological

specimens with thermosetting resins and elastomers. *Anat Rec* 1979 ; 194 : 247-255.

v Hagens G, Tiedemann K, Kriz W : The current potential of plastination. *Anat Embryol* 1987 ; 175 : 411-421.

Hochstetter F, Schmeidel G : Method or process of permanently preserving animals and plants. *USPat* 1924 ; 1 : 602, 489.

O'Conner RL, Shahriaree H : Arthroscopic techniques and normal anatomy of the knee. In : *O'Conner's textbook of arthroscopic surgery*, H. Shahriaree Ed. Lippincott, Philadelphia 1984 : 43-71.

O'Sullivan E, Mitchell BS : Plastination for gross anatomy teaching using low cost equipment. *Surg Radiol Anat* 1995 ; 17 : 277-281.

Pfeil J : Sheet plastination of the vertebral column : technique and clinical applications. Lecture, 3rd International conference on plastination. April 19-24, 1986. Department of Pathology, The University of Texas Health Science Center at San Antonio, San Antonio Texas.

Pond KR, Holladay SD, Luginbuhl JM : Technical note: preservation of tissue and gastrointestinal tract portions by plastic coating or plastination. *J Anim Sci* 1992 ; 70 : 1011-1014.

Tiedeman K : A silicone-impregnated knee joint as a natural model for arthroscopy. *J Int Soc Plastination* 1988 ; 2 : 13-17.

Tiedeman K, v Hagens G : The technique of heart plastination. *Anat Rec* 1982 ; 204 : 295-299.