

石蜡切片制作中小鼠某些器官三维结构变化的数据测试

戚晓利 高艳华* 徐秀芳 王柏欣*

(佳木斯大学理学院生物学系 佳木斯 154002)

摘要:通过对小白鼠某些器官在石蜡切片过程中回缩率(或膨胀率)范围的测试,为再现上述器官的形状大小提供了依据。

关键词:石蜡切片;切面变化;数据测试

中图分类号:Q336 **文献标识码:**A **文章编号:**0250-3263(2001)04-51-03

The Test about Tridimensional Changing Data of Some Rat's Organs in the Course of Making Paraffin Section

QI Xiao-Li GAO Yan-Hua XU Xiu-Fang WANG Bai-Xin

(Department of Biology, Science College of Jiamusi University Jiamusi 154002, China)

Abstract: Through the test about the rang of the shrinking rate (or expanding rate) in making paraffin section of rat's organs, the author provides the basic data for reappearing the organs sizes and shapes.

Key words: Paraffin section; Section alteration; Data test

在光学显微镜下研究一般动物的内部构造常采用石蜡切片法,而在制作石蜡切片过程中,组织一经固定、脱水、透明、浸蜡等过程,要发生回缩(或膨胀)。现今教材及各种报道涉及到石蜡切片法测得的数据均未考虑到回缩率(或膨胀率)。常用的10%中性福尔马林和 Bouin 固定液所引起的收缩(或膨胀)情况,还无人测量。有的资料只是笼统的提出^[1],或者是忽略^[2]。本文测试了某些器官在石蜡切片制作过程中收缩(或者膨胀)及展片后的数据变化,为再现活组织的真实性提供了依据。

1 材料与方 法

选取雄性小白鼠(重约 20 g),放血后整取心、肾、睾丸、大脑顶叶及右肺下叶,按上述方法

每个器官取 4 份,每 2 份大小相同。生理盐水洗后用体视解剖镜(精确度 50 μm)量出长、宽、高,每份器官大小相同的 2 份放入 10% 中性福尔马林,另外 2 份放入 Bouin 氏液中(材料与固定液的比例为 1:20,固定液温度为 37 $^{\circ}\text{C}$),分别固定 48 h 及水洗 24 h,经脱水到无水酒精后各测量 1 次。常规透明、浸蜡、包埋和切片,时间和方法参照文献[3]。切片时 2 份大小相同的同一器官分别做相互垂直的两切面,当切到最大面时以切片厚 7 μm 连续切 20 刀,分别将蜡片放入 41 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中展片 1~2 min,以洁净不涂

* 佳木斯大学基础医学院生理教研室;

第一作者介绍 戚晓利,女,29岁,讲师,学士;研究方向:生物教育;

收稿日期:1999-12-24,修回日期:2000-12-01

蛋白甘油的载片捞取,39℃温箱中干燥 24 h,分别选最大的 5 个蜡片用体视解剖镜(精确度 50 μm)量出长、宽及长(或宽)、高,分别求其平均值。

2 结果

各器官经一系列处理后数据变化见表 1。

其最终回缩情况见图 1 (绘图比例 5:3,单位:mm)。

表 1 器官固定、脱水至无水酒精、干燥展片后的数据变化

固定液	取材部位	取材后(mm)			固定后(mm)			无水酒精后(mm)			展片干燥后(mm)			回缩率 (%)
		长	宽	高	长	宽	高	长	宽	高	长	宽	高	
F	心	6.86	5.00	4.88	6.74	4.80	4.41	6.20	4.20	3.84	5.59	3.45	3.36	19~31
	脑	5.30	4.52	4.30	6.38	5.38	4.90	4.68	3.82	3.48	4.85	4.54	4.09	1~9
	肾	8.96	5.38	4.85	9.20	5.30	4.76	7.96	4.94	4.31	6.80	4.46	3.88	17~24
	肺	4.88	3.54	0.96	6.00	3.42	1.01	4.16	2.78	0.84	4.15	2.37	0.71	15~23
	睾丸	5.48	3.50	3.38	6.00	3.72	3.48	5.12	3.28	3.06	4.93	2.91	2.94	10~17
B	心	6.94	4.90	4.30	5.84	4.58	4.53	5.10	4.60	3.85	4.97	3.97	3.31	19~28
	脑	8.24	5.34	5.02	6.80	5.20	4.68	7.00	5.10	4.78	6.52	4.29	4.02	20~21
	肾	10.02	5.42	4.88	8.74	4.88	4.37	9.36	5.02	4.70	8.17	4.19	3.90	18~23
	肺	5.82	3.92	0.99	5.00	3.56	0.82	4.88	3.18	0.76	4.42	1.63	0.69	24~53
	睾丸	5.70	3.68	3.50	6.20	3.44	3.38	6.74	3.58	3.45	4.45	2.61	2.52	22~29

F:10% 福尔马林固定液;B: Bouin 氏固定液

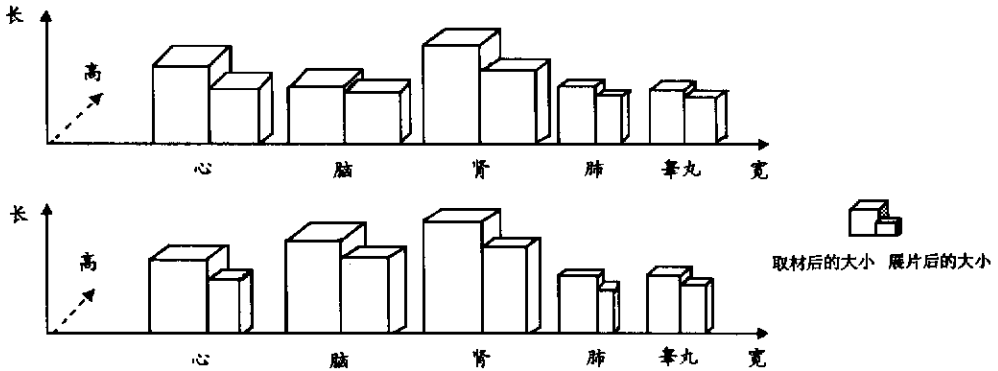


图 1 器官取材与展片后三维结构比较

上图为 10% 中性福尔马林固定的材料;下图为 Bouin 氏固定液固定的材料

3 讨论

石蜡切片制作过程中,从固定到浸蜡,器官组织收缩的大小与许多因素有关。如动物的年龄、器官的种类,固定液的种类、性质,石蜡切片制作过程中脱水、透明、浸蜡的时间长短和温度高低等。另外,在同一器官不同部位(如组织实质与空腔)的收缩表现不均等,展片后虽能恢复一些,但形状不似原来,不能用标本大小按比例换算出原器官的形状与大小。因此,只能测出

其长、宽、高变化范围的数据,供同道在教学和科研中认识活体组织形状与小时参考。

5 种器官在展片之前的收缩由大到小依次是心、肾、肺、睾丸和大脑(因心脏是整取的呈中空性器官,浸蜡引起心腔缩小,所以收缩最大),展片后长、宽、高的恢复与取材时的大小顺序相同。用 10% 中性福尔马林固定的材料,经固定、水洗、脱水、透明、浸蜡后收缩严重。而对软组织(如脑),10% 中性福尔马林固定较好,固定后略有膨胀,经脱水浸蜡后收缩,展片后恢复与

取材时相差无几。展片后的恢复,10%中性福尔马林比 Bouin 液略好。经 Bouin 液固定的组织收缩不显著,某些组织(如睾丸)引起膨胀。展片后的恢复情况不如经 10%中性福尔马林固定的组织。

对固定、脱水、透明、浸蜡的时间,按上述方法取材、固定之后,先预定 3 个时间组,每组严格掌握高浓度酒精(95%、100%)的脱水、透明及浸蜡时间,按预定时间操作。每个材料镜检后,凡组织结构良好(组织无裂隙、疏离、崩解及蜡片上无白茬),列为脱水、透明、浸蜡时间合理^[3]。结果表明,材料在宽 9 mm 与厚不超过 5 mm,10%中性福尔马林固定时间不能拖长,否则回缩严重。Bouin 液固定材料的时间拖长不会引起明显的再收缩。有人报道,低浓度酒精脱水的时间长短均可^[4],但我们认为低浓度酒精脱水的时间不能太短,在 85%酒精以前不能少于 3~3.5 h(Bouin 液固定材料浓度从 70%开始),否则材料在无水酒精中会回缩严重。高浓度酒精(95%、100%)最好备用两瓶,经 4 次脱水的时间不能少于 4 h。浸蜡时夏天一般选用

熔点 56~58℃,冬天选用熔点 54~56℃石蜡^[5]。我们依次用 1/2 二甲苯 + 1/2 石蜡、熔点 54~56℃石蜡、熔点 56~58℃石蜡共浸 2.5~3 h 左右,浸蜡效果好,组织收缩程度也最小。

掌握好展片的温度和时间是组织结构能否恢复到理想程度的较关键步骤。水浴展片时水温在(40±1)℃范围内 1~2 min 即可,水温高于 42℃,时间再拖长会出现组织疏离,低于 37℃,时间再拖长易发生皱缩。

致谢 本实验得到高德臣教授的指导,衷心致谢!

参 考 文 献

- [1] 郑国倡. 生物显微技术. 北京:人民教育出版社,1979. 39.
- [2] 芮菊生等. 组织切片技术. 北京:高等教育出版社,1984. 18.
- [3] 徐秀芳等. 石蜡切片制作过程的脱水、透明、浸蜡最佳时间和方法探讨. 佳木斯医学院学报,1994,17(6):15.
- [4] 龚自锦. 怎样制作好病理切片. 动物学杂志,1989(1):35.
- [5] 卢立军. 几种实验动物组织石蜡制片的体会. 细胞与分子免疫学杂志,1997,13(1):71.