

区分大白鼠肾上腺髓质内去甲肾上腺素细胞的一种有效方法*

李月奎 张宇新 张作风 卢敏洁**

(华北煤炭医学院人体解剖学教研室 唐山市 063000)

摘要 本文介绍一种适用于光镜和电镜观察大白鼠肾上腺髓质去甲肾上腺素细胞(NA)和肾上腺素细胞(A)的方法。通过光镜明、暗视野对比观察,发现在暗视野下,不仅易于区分肾上腺髓质NA和A,而且可以指导同一组织块进一步定位超切做电镜观察。该方法简便,实用。

除了人和猴等的肾上腺髓质一般只有一种细胞,其内既含有去甲肾上腺素颗粒,又有肾上腺素颗粒,多数动物肾上腺髓质内均含有去甲肾上腺素细胞(NA)和肾上腺素细胞(A)。在普通染色的切片上要想区分这两种细胞有一定困难。本文介绍一种适用于在光镜和电镜下观察肾上腺髓质去甲肾上腺素细胞和肾上腺素细胞的有效方法。

材料和方法

实验于1990年10—12月用Wistar大鼠4只,体重250—300g,2%戊巴比妥钠(35mg/kg体重)腹腔深麻醉,暴露心脏,经左心室-主动脉灌入3%戊二醛-0.1mol/L二甲砷酸钠缓冲液(pH7.2)150—200ml(以下称灌流液),约半小时灌完,取出肾上腺除去其周围脂肪组织。每只鼠一侧肾上腺做石蜡包埋,另一侧做环氧树脂包埋。石蜡包埋组:将肾上腺置于上述灌流液中,在室温下继续固定4小时后,用0.1mol/L二甲砷酸钠缓冲液(pH7.2)冲洗5—6次(每半小时冲洗一次),然后组织在此缓冲液中浸泡过夜。次日入3%重铬酸钾液8小时,蒸馏水冲洗1小时,置于70%、80%、90%、100%酒精逐级脱水,二甲苯透明,石蜡包埋。做5 μ m石蜡切片,欧立式苏木精法染色;环氧树脂包埋组:将肾上腺切成1mm的薄片。在灌流液中继续固定4小时后,用0.1mol/L二甲砷酸钠缓冲液(pH7.2)漂洗过夜(方法同石蜡包埋组)。次日

将组织浸入1%锇酸液中1小时,蒸馏水漂洗5—6次后,经梯度内酮逐级脱水,国产618环氧树脂包埋,LKB切片做半薄及超薄切片。半薄切片经甲苯胺蓝染色。超薄切片经枸橼酸铅和醋酸铀染色,石蜡切片及半薄切片均在Olympus光学显微镜下,明、暗视野对比观察及照相。超薄切片在JEM100透射电镜下观察及照相。

结 果

在光学显微镜明视野下,经重铬酸钾和苏木精染色的石蜡切片中,可见髓质内主要有两种细胞,一种为NA细胞,胞浆被重铬酸钾染成淡黄色,胞核呈蓝色。许多去甲肾上腺素细胞聚集成团散布于髓质之中;另一种细胞,胞浆淡蓝,核也呈蓝色,占居髓质大部分区域,即为A细胞。在黑白照片上两者反差不很明显(图1,见封2,下同)。在暗视野下,NA细胞胞浆明亮,核暗,似空泡状。A细胞灰暗,两种细胞非常分明(见图2)。经甲苯胺蓝染色的半薄切片在明视野下观察,髓质内细胞均呈现蓝色,不易区分出两种细胞,但当在暗视野下观察,NA细胞明亮,胞浆内有较多发亮颗粒,核暗。A细胞灰暗,两者形成明显的差异,很易区分。

在透射电镜下,NA细胞与A细胞最明显

* 本文蒙李淑芬教授审阅,谨致谢意。

** 本院电镜室

特征是细胞质内含有许多有膜包围的分泌颗粒,大多数呈圆形。NA 细胞的分泌颗粒核心电子密度高,颗粒形态常不规则,界膜与颗粒间空隙较大,颗粒核心常偏向界膜的一侧形成“偏心”颗粒(见图 3)。A 细胞内颗粒核心电子密度中等,形态规则,界膜与颗粒核心间的空隙较小(见图 4)。根据分泌颗粒的形态不难区分这两种细胞。

讨 论

Coupland^[1]曾报道由于戊二醛与去甲肾上腺素形成的多聚体易被一些物质染色,如钼酸,重铬酸钾,钼酸钠等,因而在电镜下去甲肾上腺素颗粒和肾上腺素颗粒呈现的电子密度以及形态有一定差异,在光镜下出现颜色不同。经重铬酸钾处理后的髓质,在光镜下虽然可以分辨出两种细胞,但该组织块要想进一步做电镜观察会受到一定影响,另外,过程也较复杂。笔者经多次实践,发现利用光学显微镜暗视野集光器观察经甲苯胺蓝染色的半薄切片,就可以明显区分出在明视野下较难区分的 NA 和 A 细胞。

依据暗视野所见定位超切做电镜观察,所得电镜图象与近年来一些作者报道相似^[2,3],超微结构显示良好。可见该方法不仅在定位取材观察髓质细胞超微结构上有一定意义,同时也可达到同一组织块既可做光镜观察又可进行电镜观察的目的。经重铬酸钾染色的石蜡切片在明视野下虽然可以区分出 NA 和 A 细胞。但若在暗视野下观察,照相,既使在黑白照片上效果也是非常显著,因此利用暗视野集光器在对肾上腺髓质细胞的研究中简便、经济、实用。

参 考 文 献

- 1 Coupland RE 1966 The mechanism of the differential staining reaction for adrenaline and noradrenaline storing granules in tissues fixed with glutaraldehyde. *J. Anat* 100: 227—243
- 2 Boshier DP, Claire B, Gavin and Hilary Holloway. 1989 Morphometric analyses of adrenal gland growth in fetal and neonatal sheep II The adrenal medulla, with some observation on its ultrastructure. *J. Anat* 167: 15—30
- 3 Tomlinson A. and RE. Coupland. 1990 The innervation of the adrenal gland. IV innervation of the rat adrenal medulla from birth to old age. *J. Anat* 169: 209—236.

《区分大白鼠肾上腺髓质内去甲肾上腺素细胞的一种有效方法》

一文之附图(正文见第 37 页)

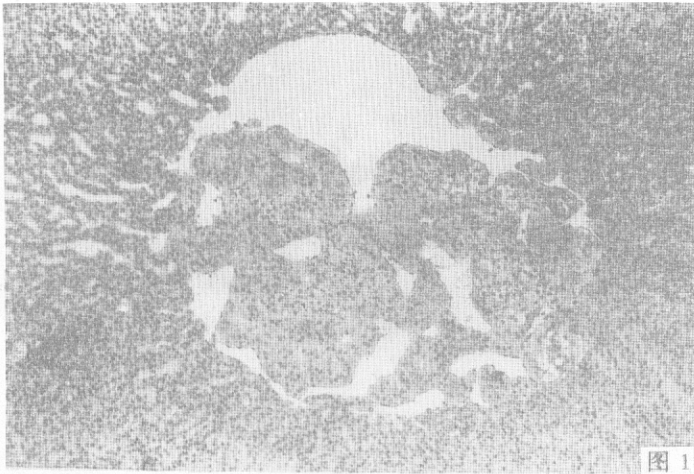


图 1

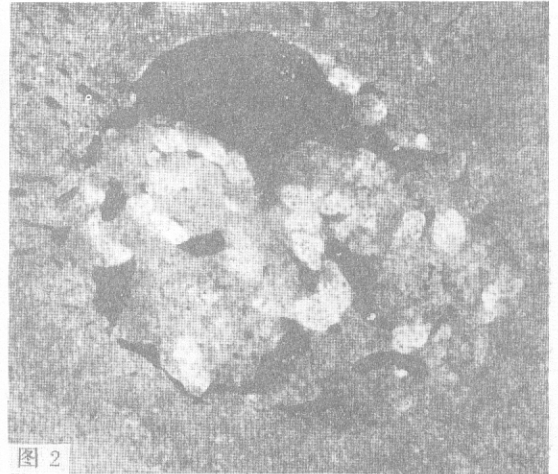


图 2

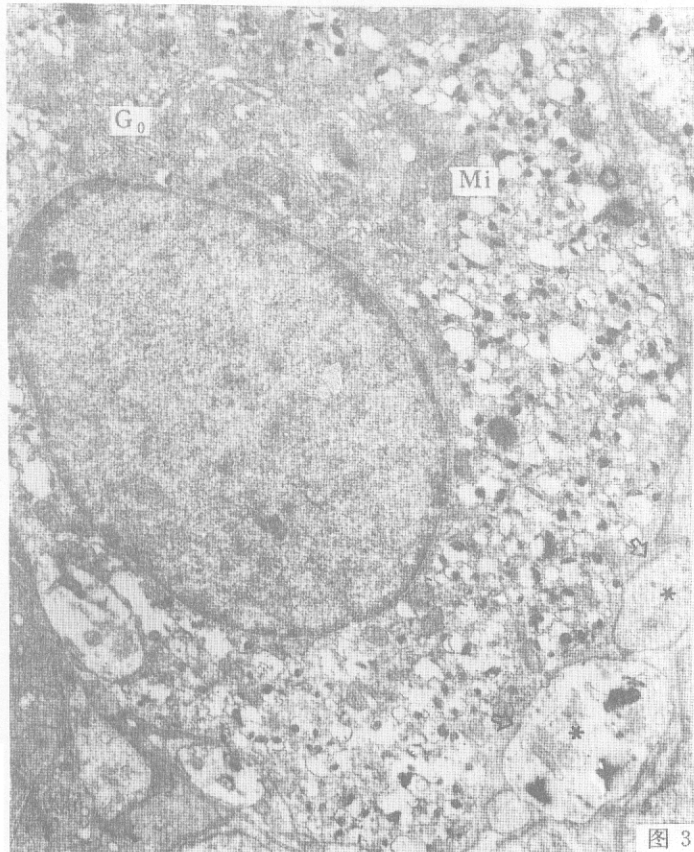


图 3

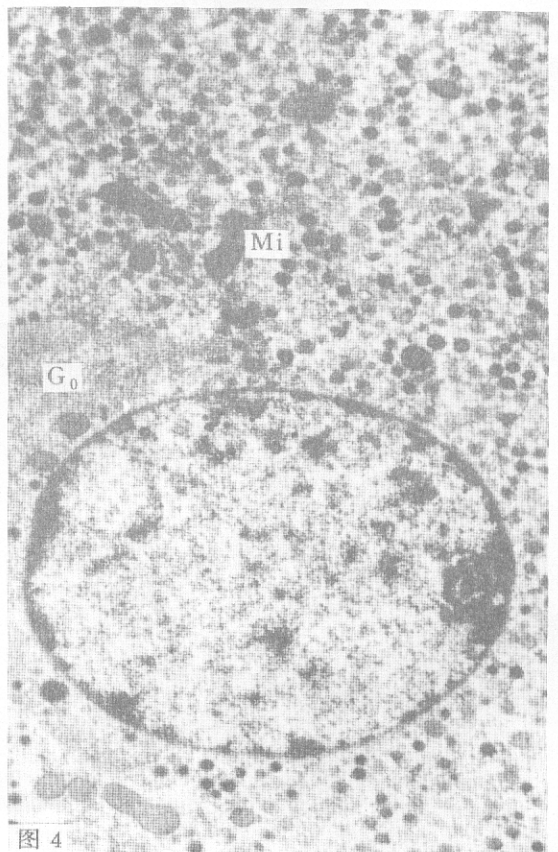


图 4

图 1 经重铬酸钾和苏木精染色的肾上腺髓质。明视野 100×

图 2 图 1 切片在暗视野下去甲肾上腺素细胞团明亮, 散布于髓质内。暗视野·100×

图 3 去甲肾上腺素细胞。胞浆内可见许多致密的偏心颗粒, 还可见许多高尔基氏器(Go)和线粒体(Mi)及轴突末梢(*)和细胞突触(∅)。9,900×

图 4 肾上腺素细胞, 胞浆中可见许多圆形颗粒及高尔基氏器(Go), 线粒体(Mi)等。9,900×