

豚鼠肾脏整体切片标本的制作技术*

林邦和

(安徽中医学院组织学与胚胎学教研室)

摘要 本文介绍了在普通实验室条件下如何制作豚鼠肾脏整体组织学切片的全过程及其有关技术。其中成功的关键,一在切削,二在固定。尤其是切削一步,除首先要选择好最佳清除角外,还要力求做到用力均匀、转速适中。至于固定,则要求组织块硬度要掌握得当;固定液的选择以含升汞的 Zenker 氏液为佳。

肾脏是高等脊椎动物和人体内最重要的器官之一。它具有清除血液中代谢废物、维持和调节体内酸碱平衡和水盐代谢以及产生和激活某些重要激素等多种生理功能^[1]。因此,其形态结构历来都是学生必须掌握的内容。可是,由于这个器官体积较大,尤其是人体和一些个体较大的动物,其组织学切片都只能局部取材^[1,6],因而通常制作和使用的切片标本都无法反映出肾脏的全貌;其次,组织学切片所取材料的大小是受固定液的穿透率决定的^[2],组织块必须小而薄,一般都在 $5 \times 5 \times 2$ 或 $10 \times 10 \times 3$ 毫米左右,最大厚度也不超过 5 毫米^[1,2,3]。这样小的组织块制得的切片,学生肉眼观察时,不知材料取自何处;加之肾脏本身结构复杂,管道纵横,犹如迷宫,他们在镜下观察时就更难搞得清这些结构的相互关系及其来龙去脉了。因此,探讨制作既能显示肾脏的整体形态、又能显示这个器官所有各部细微结构的整体切片技术是必要的。为此,笔者选用了哺乳动物中肾脏大小约为 $22 \times 12 \times 7$ 毫米、且可用普通载玻片(76×26毫米)和较大盖玻片(24×24毫米)粘贴和封固的豚鼠,来制作这个器官的整体组织学切片,通过试验,获得成功。现将该项技术,包括材料、方法、步骤、结果和注意事项及某些关键之处的总结。介绍如下:

(一) 材料与方 法

1. 取材 将成年豚鼠用乙醚麻醉,迅速打开腹腔,取出肾脏。

2. 固定 (1) 将所取整块肾脏迅即投入盛有 Zenker 氏固定液[重铬酸钾 2.5 克、升汞 5.0 克、蒸馏水 100 毫升、冰醋酸 5 毫升(临用时加入)]的棕色瓶中,并衬以脱脂棉,在室温中放置 20—30 小时。在此期间,注意翻动组织块,令其两面轮流朝上,以便固定均匀;(2)因整块肾脏体积较大,表面又有被膜包裹,为有利于固定,宜待上述组织块有一定硬度后,用锋利的双面刀片或解剖刀将肾脏沿正中额状切面纵切为二,并移入新的固定液中,继续固定数小时。

3. 水洗 将已固定好的组织块置纱布袋中流水冲洗 20—30 小时。充分水洗后,置 50% 酒精中 3—4 小时,再转入 70% 酒精中一昼夜。

4. 脱汞 将组织块从 70% 酒精移入浓度约为 0.5% 的碘酒溶液(20 毫升 70% 酒精加 Lugol 氏碘液 3—5 滴)中约 24 小时,升汞的沉淀物即可基本溶化消除。

5. 脱碘 将组织块置于 0.25% 的硫代硫酸钠水溶液中进行脱碘处理 3—12 小时,并彻底水洗,再行脱水操作。

6. 脱水 从 70% 酒精开始,在各级酒精中分别脱水 2—4 小时。其中,95% 和 100% 酒精各备两份,重复操作,以保证将水脱净。

7. 透明 浸蜡和包埋 可按常规进行。包埋时应注意将已剖开的一面朝下,并尽可能使

* 本文所介绍的技术及制得的切片标本,曾于 1987 年 9 月在“华东地区 12 所高等医学院校组织学与胚胎学专业会议”上交流。

之与包埋纸盒底部平行。

8. 切片 切片是标本制作过程中举足轻重的关键步骤。为此, (1) 先要选择和调节好切片刀的倾斜度即所谓清除角 (clearance angle)。由于肾脏整体纵切平面大, 为防止切片卷曲和破碎, 应将清除角调得小一些。一般以 $4-5^{\circ}$ 为宜。(2) 调节并固定好已经修整过的蜡块, 使待切的一面对着刀口, 并尽可能平行。

(3) 小心地转动切片机的手柄, 以适中的速度切取厚约 $6-7$ 微米的切片, 在 37°C 左右的水浴锅中展平, 捞取并贴附在涂有甘油蛋白的载玻片上, 烘干、待染。

9. 染色和封固 根据不同需要和目的, 将切片行普通 H·E 染色或某些特殊染色 (例如 Heidenhain 氏 Azan 法染色) 后, 用加拿大树胶封存。

(二) 结果

1. 肉眼观察 整个切片色彩鲜艳, 肾脏形态一目了然: 肾的皮质、髓质、锥体、乳头、髓放线、肾盏、肾盂及肾门等都很明显; 肾小体及皮质迷路等也隐约可见 (见图 1)。

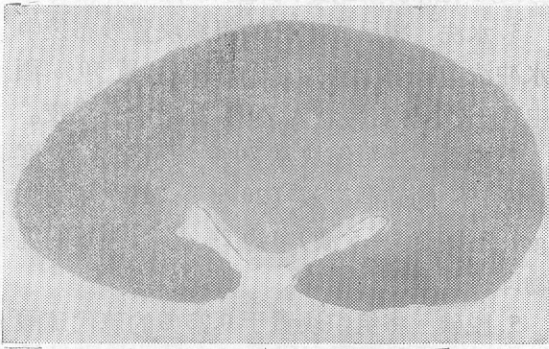


图 1 豚鼠肾脏整体纵切 (H·E 染色) $\times 5$

2. 镜下观察 整个肾脏结构完整、图像清晰。从被膜、皮质 (肾小球、肾小囊、近曲小管、

远曲小管等) 到髓质 (亨利氏袢、集合小管等) 和肾乳头 (乳头管等) 以及肾盂、肾盏的变异上皮等各个部分、各个层次的结构都清晰可见; 且整个切片无折叠、无破损、无刀痕。

(三) 注意事项 动物肾脏整体切片制作技术有一定的难度, 但在一般实验室里还是能够制作出来的。不过, 在上述步骤中, 2、3、4、6、8、要多加注意, 尤其 2、8 两步 (即固定和切片) 可谓是成败的关键。比如固定, 一是要选择好合适的固定剂, 肾的固定以含升汞的混合液最佳。当 Zenker 氏液, 用于组织学和细胞学制片时, 胞质和胞核都能充分固定, 且染色较清晰, 应首选之。二是固定时间要掌握得恰到好处: 短了, 固定不充分; 长了, 组织易变脆。故除应及时剖开器官、更换新液外, 还应勤于检查, 把握住分寸。再如切片, 有两个操作可说是关键: 1. 要选择好切片的最佳清除角, 以 5° 左右最为适宜, 超过 8° 时切片会卷曲和破碎; 2. 切削速度要适中, 用力一定要均匀。至于其他各步, 例如, 水洗要充分, 脱汞要完全, 脱水要彻底等。总之, 只要操作认真、得当, 是能够切出完整、合格的整体切片的; 再经染色、封固, 即能得到比较理想的肾脏整体切片标本。

参 考 文 献

- [1] 芮菊生等 1980 组织切片技术 教育出版社, 5-6。
- [2] 陈佛痴等 1964 组织学方法 吉林人民出版社, 28。
- [3] 田中克己 1961 显微镜本の作り方 长伯译 科学出版社, 12-14。
- [4] Jungueira LC and J Carneiro. 1980 Basic Histology 3rd ed. Lange Medical Publications: 393.
- [5] Kiernan JA. 1981 Histological and Histochemical Methods. Theory and Practice. 1st ed. Pergamon Press: 9.
- [6] Кирпичникова Е. С. и Л. Б. Левинсон, 1950 Практикум по Частной Гистологии. Государственное Издательство «Высшая Школа» Москва. 113.