

用石蜡切片法制作内耳切片

徐秀芳 高德臣 戚晓莉

(佳木斯师专生物系 154007)

摘要 用含盐酸的 Bouin 氏液固定、脱钙软化,延长高浓度酒精的脱水时间,恰当掌握透明时间,注意耳蜗及半规管的包埋方向等方法制作内耳石蜡切片,获得了该器官主要组织结构较理想的切片。

关键词 内耳 石蜡切片法

内耳的重要组织结构 Corti 氏器、椭圆囊斑、球囊斑、壶腹嵴等均存在于软的膜迷路中。为保持上述结构完整,取材时不能破坏硬的骨迷路。所以切片难度较大,用常规方法较难做出理想切片。我们将石蜡切片法作几点改进,用于制作内耳切片,获得与内耳火棉胶切片法同样的效果。本项研究于 1993 年 11 月至 1995 年 2 月进行。

1 材料和方法

1.1 取材、固定和脱钙

用骨质未完全钙化的

2—3 月龄的幼兔,捕杀后破坏鼓泡,摘除鼓膜和听小骨,用骨剪粗略剪出骨迷路形状。将材料放入含 3% 盐酸的 Bouin 氏液中固定 4—5 天后,用火柴杆轻轻触压材料,感觉到材料软且有弹性,即可进一步仔细修出骨迷路外形后,再放入上述固定液中继续脱钙软化 2—3 天。

1.2 脱水、透明及浸蜡时间 固定、脱钙软化好的材料不经水洗,直接从 50% 酒精入各级酒精脱水,然后按常规方法透明、浸蜡、包埋,各步骤时间(见表 1)。

1.3 包埋、修块与切片 用纸盒包埋时,应使

表 1 脱水、透明及浸蜡时间

单位: 小时

各级酒精脱水							透明		浸蜡		
50%	70%	90%	95%	95%	100%	100%	二甲苯 + 无水酒精	二甲苯	石蜡 52—54℃	石蜡 54—56℃	石蜡 56—58℃
1	1(24)	1	3	3	2	1	1	0.3—0.5	1.5	1	1.5

耳蜗蜗轴与纸盒底平行,同时使后半规管与纸盒底垂直。上台木时要注意方向,能使切片刀沿蜗轴纵切。修块时材料周围留 2—3mm 石蜡,使每张载片放多个蜡片,便于连续展片。切片厚为 8 μ m,在 42℃ 恒温水浴锅中,每张载片展 6—8 个蜡片,边展片边镜检,找出具典型结构的切片。

1.4 染色与封藏 将烘干的载片放入二甲苯脱蜡后,为避免材料脱落,用 8% 火棉胶无水酒精液覆盖^[1],待自然干燥后(不可用吹风机吹干,否则引起主要结构位移),按 H. E 染色法

染色。由于 Bouin 氏固定液中含盐酸,使固定的材料显酸性,染色时,尤其是染伊红时不易着色,故染色前应用碱性水(0.1% 氨水)处理^[2]。最后用中位树脂胶封固。

2 结果

用上述方法制作的内耳切片,可在不同切片上观察到较理想的蜗管纵切面,其中 Corti 氏器(图 1,见封 3 上,下同)、球囊斑(见图 2)、壶腹嵴(见图 3)、椭圆囊斑(见图 4)的各种细胞明显可见。有的在—张切片上可同时看到上述

四种组织结构。在有的切片上,能总脚两侧相对的壶腹嵴,并且两个壶腹帽相连接(见图5),这是以往的组织学书中没有记载过的结构。

3 讨论

3.1 Bouin 氏液中的盐酸浓度,是材料脱钙软化的重要因素,本实验分别配制了盐酸含量为1%、2%、3%和4%的 Bouin 氏固定液,我们认为含3%盐酸的固定液脱钙软化效果较好。若材料脱钙软化不好,将出现骨迷路厚、膜迷路薄的现象。

3.2 脱水时,必须保证经过95%酒精和无水酒精的时间总和不能低于9小时。否则,膜半规管硬化程度不够,蜗管中 Corti 氏器与前庭膜、壶腹嵴上的壶腹帽、椭圆囊斑上的耳砂等易脱节或移位。透明时,把材料装入小瓶中,对着灯光随时观察,防止透明时间过长组织变脆和透明不彻底,浸不进去蜡。无论冬夏,为防止膜半规管中重要组织结构脱节或移位,在56—

58℃石蜡中浸蜡时间不能少于1小时30分。

3.3 按着前面叙述的包埋方法,可不必重新包埋或重上台木改变切向,就能获得椭圆囊、球囊与壶腹嵴三种结构。

3.4 脱蜡时和封藏前,放入二甲苯的时间不宜过长,否则能引起主要结构飘移或脱节。

3.5 半规管的总脚中,两侧对应的壶腹帽相连接的结构,在头部变速运动或身体弧形变速运动时,究竟起什么作用,有待感官生理进一步研究。

致谢 赫庆辉同志参加过本文部分工作,照片由佳木斯医学院电镜室冷蓁丽同志冲洗,谨致谢意。

参 考 文 献

- 1 龚志锦.怎样制作好实验动物病理的石蜡切片.动物学杂志,1989,24(1): 35—37.
- 2 芮菊生等.组织切片技术.人民教育出版社,1980. 93.

《用石蜡切片法制作好内耳切片》一文之附图

(正文见第 39 页)

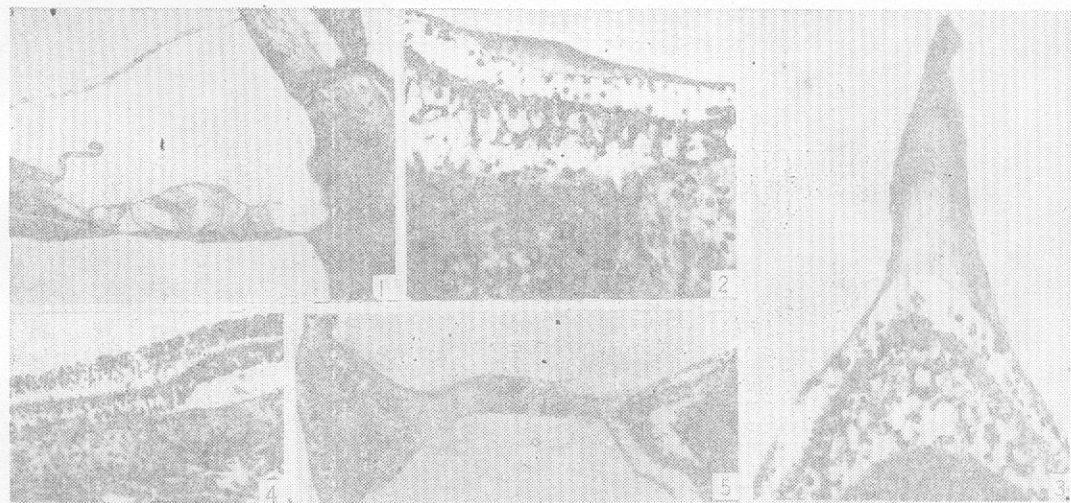
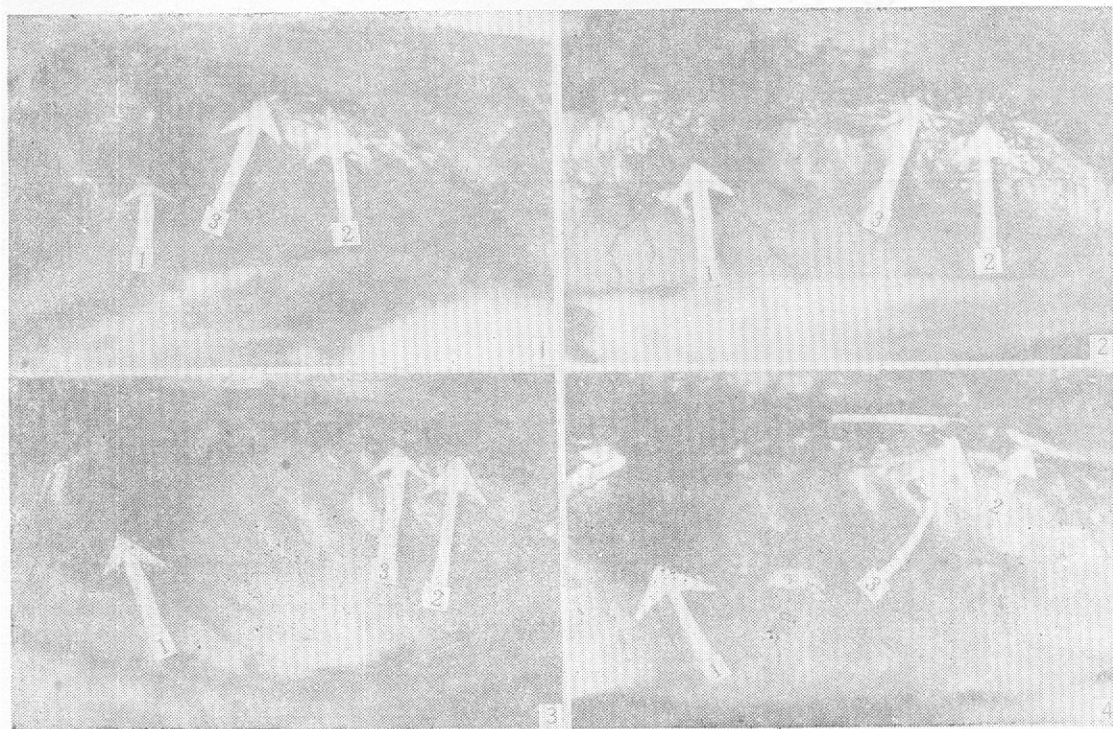


图 1 耳蜗 $\times 160$; 图 2 球囊 $\times 320$; 图 3 壶腹嵴 $\times 320$;
图 4 椭圆囊斑 $\times 320$; 图 5 双壶腹嵴 $\times 160$ 。

《斯坦尼小体的摘取和保存》一文之附图

(正文见第 37 页)



(图注见第 38 页)