

◇ 经验与体会 ◇

## 琼脂石蜡双包埋法在小血管光镜制片中的优势

宾业健<sup>1</sup>, 黄华冰<sup>1</sup>, 洪燕语<sup>1</sup>, 伍源<sup>2</sup>, 程盼盼<sup>1</sup>, 卢明科<sup>3</sup>, 齐忠权<sup>1</sup>

**摘要** 预先将固定好的小血管包埋到 1.5% 琼脂中, 调整好其位置和管腔。采用自制的琼脂包埋模子可以方便快捷的获得结构完整大小适中的组织琼脂块。再按照常规的脱水包埋程序做石蜡包埋, 最后切片染色。结果显示, 琼脂石蜡双包埋法保持了小血管管腔的完整性和规则性, 内膜等组织结构几乎没有损坏和丢失, 最终得到较为理想的光镜切片。

**关键词** 小血管; 琼脂; 石蜡; 双包埋法; 光镜切片

中图分类号 R 331

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2014)08-1148-03

小血管因其体积微小、组织薄弱, 按照常规的石蜡包埋方法, 在脱水透明浸蜡等过程中, 由于器械夹持、加热等因素, 很容易塌陷变形甚至损坏, 最终得不到管腔较为规则和完整的血管光镜切片。为了解决这一困难, 该研究采用琼脂预先包埋小血管再进行常规石蜡包埋制作光镜切片的方法和效果<sup>[1-2]</sup>, 并与单纯石蜡包埋法得到的结果进行了比较, 现报道如下。

### 1 材料与方法

**1.1 材料与试剂** 以 4% 多聚甲醛固定好的昆明鼠胸主动脉为例, 其血管管径约 1 mm, 长度约 1.3 cm, 见图 1。普通琼脂粉, 规格为 1 ml 的一次性普通医用注射器, 眼科剪, 眼科镊, 大头针, 常规脱水包埋及 HE 染色所用试剂等。

### 1.2 操作步骤

**1.2.1 小血管预处理** 将固定好的小血管分割成 0.5 ~ 1.0 cm 若干段, 或根据需要进行包埋长度。为了便于观察血管的位置, 预先用伊红将血管染红,

见图 2。

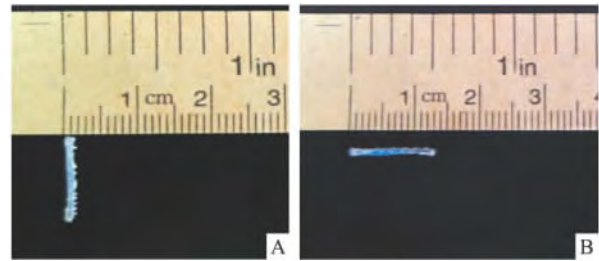


图 1 包埋用小血管

A: 小动脉直径约 1 mm; B: 长度约 1.3 cm

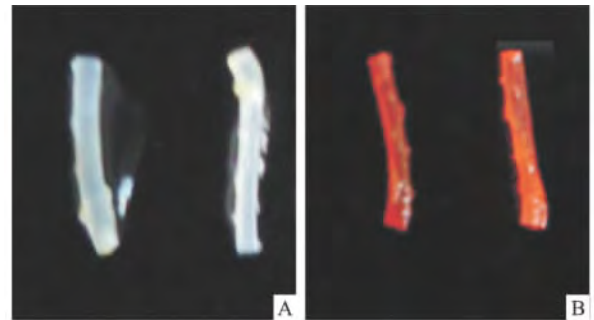


图 2 小血管预处理

A: 将小动脉均分成两段; B: 预先用伊红染色便于观察

**1.2.2 琼脂预包埋** 准备 1 ml 注射器, 切去注射器乳头靠后部分。将普通琼脂粉预先配成 1.5% 琼脂粉悬浊液, 再放入微波炉中低火加热至 50 °C 左右成液体状态, 再将处理过的注射器活塞往外拉出 1.5 ~ 2.0 ml 距离作为模子, 用移液枪将熔化的琼脂液加入注射器前端空缺处, 并迅速将小血管段放入琼脂中, 用缝衣针或大头针调整血管在琼脂中的位置, 尽量使血管段居中, 并用针尖小心探入血管管腔内, 将其塌陷的部分挑起来使管腔成为规则的圆形腔。待琼脂冷却凝固后, 将注射器活塞往前推出获得琼脂柱, 见图 3。

**1.2.3 脱水再包埋** 包含有血管段的琼脂柱作为一个整体再按照常规的脱水包埋程序做石蜡包埋。最后一步石蜡包埋时将琼脂柱竖立放于石蜡包埋模子中, 并在其周围充满熔化的石蜡, 便于后期切片。

**1.2.4 切片和染色** 包埋完毕后切片, 石蜡切片厚度为 3 μm, 染色采用常规 HE 染色<sup>[3-4]</sup>。

2014-03-20 接收

基金项目: 国家重点基础研究发展规划项目资助(973 计划项目)(编号: 2012CBA01303)

作者单位: 厦门大学<sup>1</sup> 器官移植研究所、<sup>3</sup> 生命科学学院, 厦门 361102

<sup>2</sup> 厦门大学附属中山医院心外科, 厦门 361104

作者简介: 宾业健, 男, 本科;

齐忠权, 男, 博士后, 教授, 博士生导师, 责任作者, E-mail: zqqi@xmu.edu.cn

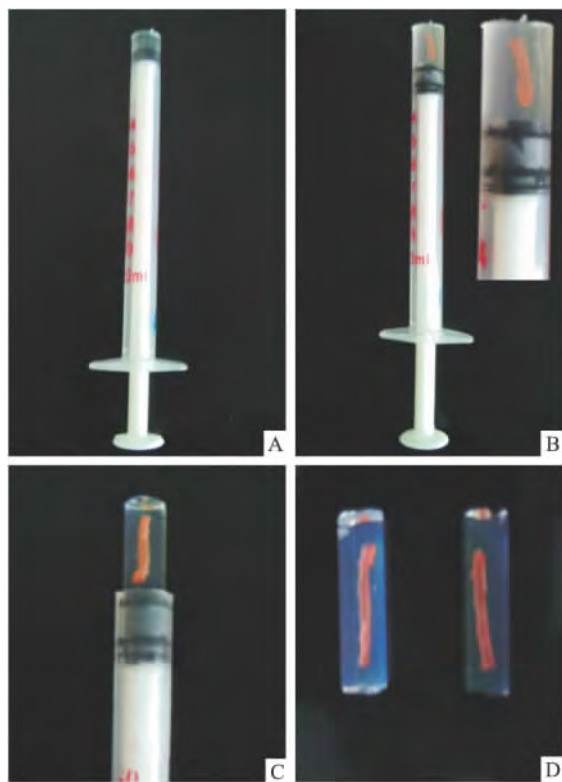


图3 琼脂包埋步骤

A: 自制琼脂包埋模具; B: 血管包埋入琼脂中, 调整好血管在琼脂块中的位置和管腔形状; C: 将琼脂块从模具中推出; D: 得到琼脂组织块

## 2 结果

琼脂石蜡双包埋法包埋的小血管组织块切片染色后, 可观察到管腔完整和规则的血管横断面, 血管内膜等组织结构保存较完好, 几乎没有损坏和丢失, 见图4A。而单纯石蜡包埋法包埋的小血管组织块切片染色后, 可观察到血管管壁打折和贴附在一起, 变形甚至破裂的现象, 见图4B、C。

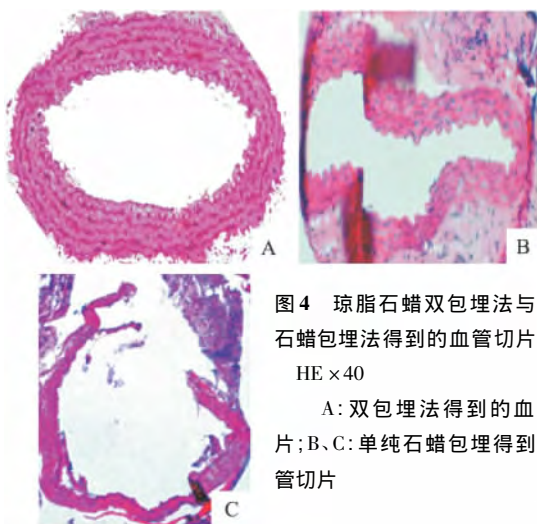


图4 琼脂石蜡双包埋法与常规石蜡包埋法得到的血管切片对比  
HE × 40

A: 双包埋法得到的血管切片; B、C: 单纯石蜡包埋得到的血管切片

## 3 讨论

研究<sup>[5-7]</sup>表明琼脂石蜡双埋法在制作一些精细组织的光镜切片上有着很大优势, 该研究应用在小血管的包埋和制片上也证实了这一点。采用琼脂石蜡双包埋法可保持小血管的管腔完整性和规则性, 小血管内膜等组织结构保存较完好, 几乎没有损坏和丢失, 切片得到较为理想的结果。然而采用单纯石蜡包埋法包埋的小血管, 在脱水包埋等操作过程中, 血管的管壁容易贴在一起, 且容易变形甚至破裂, 最终得不到令人满意的光镜切片。

琼脂块脱水浸蜡加热之后体积会固缩一半以上, 然而为了保证脱水完全, 琼脂包埋块又不能过大, 本实验证明课题组自制的1 ml注射器琼脂包埋模具较为适合管径为1~3 mm的小血管包埋所用, 体积大小适中, 且可以极为方便的将包埋琼脂块从模具中取出, 避免了用器械从其他类型的琼脂包埋模具中取出琼脂块时, 容易将已经包好组织的琼脂块夹烂碰损的情况发生。

包埋所用琼脂浓度不宜过高也不宜过低。高浓度琼脂(3%以上), 使用相同剂量的脱水剂不能完全脱水, 最终琼脂和石蜡不能很好的融合在一起, 无法正常切片, 推测原因可能是琼脂液密度过高导致琼脂块内部分子间隙过窄, 脱水剂等不易浸入其内部。经过浓度梯度对照试验表明质量分数为1.5%琼脂用于包埋较为合适; 琼脂浓度过低则不能很好的凝固, 而且脱水之后严重固缩亦不能获得良好的效果。

用琼脂预包埋小血管最大的优势是在琼脂包埋血管时可以调整和恢复在取用或固定等操作时发生塌陷变形的血管原有的圆形管腔, 且在整个脱水包埋过程中都起到一个很好的支撑和保护作用, 使血管在其中不易被器械夹损, 也不容易因加热等因素而变形和损坏, 更为重要的一点是切片时遗留的琼脂具有黏附作用, 染色洗片时不易掉片。

琼脂石蜡双包埋法还可适用于组织工程血管的包埋, 因为血管脱细胞后失去弹性支撑会变得更加柔软, 管腔更容易塌陷。本课题组用该方法包埋组织工程血管亦获得良好的效果。

琼脂石蜡双包埋法弥补了单纯石蜡包埋小血管时易损坏血管以致难以获得管腔完整和规则的血管光镜切片的不足, 在小血管的光镜制片上具有明显的优势。该方法操作简便快捷, 使用材料价格低廉, 对条件一般的实验室开展动物实验有一定的实用价值。

# 应用 E&Q 热牙胶连续波一次性充填感染根管的疗效分析

律 娜 孙 明 韩晓兰

**摘要** 选取临床诊断为牙髓坏死、急性或慢性根尖周炎的单根管患牙 105 颗作为研究对象。一次组 51 颗,应用 E&Q 热牙胶连续波一次性充填。二次组 54 颗,两次疗程间使用氢氧化钙封药 7 d,常规冷侧压法行根管充填。术后 6 个月、1 年一次组的治愈率为 66.67%、94.12%,二次组分别为 59.26%、77.78%。两组患牙在术后 6 个月治愈率差异无统计学意义,术后 1 年治愈率差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。在感染根管中应用 E&Q 热牙胶连续波一次性充填的远期治愈效果较好,具有一定的临床可行性。

**关键词** 热牙胶;一次性根管充填;感染根管;疼痛

中图分类号 R 781.05

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2014)08-1150-04

根管治疗术通常包括根管预备、根管消毒和根管充填 3 个步骤。将以上 3 个步骤在一次诊疗内完成,称为一次性根管治疗术。其优点包括:减少患者就诊次数,缩短治疗过程,减少治疗过程间细菌感染的机会,提高患者依从性。对于非感染性根管采用一次法治疗临床异议较少,但对于感染性根管的临床应用尚存在争议。E&Q 根管充填系统是热牙胶垂直加压充填系统,该系统包含了热牙胶连续波充填和热牙胶高温注射的功能,可以准确的控制器械尖端温度和加热时间,达到精确三维根管充填,能够有效消灭死腔,防治感染。该研究的目的在于感染根管中评价 E&Q 充填系统一次性根管治疗的临床应用价值,为新技术的应用提供临床资料和经验。

2014-04-02 接收

基金项目:安徽医科大学第一附属医院院内青年基金(编号:2010KJ20)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院口腔科,合肥 230022

作者简介:律娜,女,主治医师;

韩晓兰,女,副教授,主任医师,硕士生导师,责任作者, E-mail:656443500@qq.com

## 参考文献

[1] 曾晓蓓,张立新,甄亚平等. 制备组织石蜡切片琼脂预包埋法的应用性探讨[J]. 实验技术与管理, 2008, 25(12): 52-3, 57.

[2] 吴中华. 动物组织石蜡切片的琼脂预包埋法[J]. 黄冈师专学报, 1998, 18(4): 66-8.

[3] 刘岩,吴秉铨,钟锦镐等. 琼脂石蜡双包埋和免疫细胞化学染色的细胞学应用[J]. 诊断病理学杂志, 2013, 20(3): 184-6.

[4] 王可耕,曾庆仁,张愉快等. 日本血吸虫琼脂-石蜡双包埋纵向切片的制备[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2012, 30(5): 415-7.

[5] 张月,康健. 琼脂石蜡双包埋切片在胸水细胞学诊断中的应用[J]. 解剖科学进展, 2008, 14(4): 395-7.

[6] 吴庚利,周伊,白高玉等. 学生完成石蜡切片及 HE 染色操作对形态实验教学的作用分析[J]. 吉林医学, 2013, 34(5): 999-1000.

[7] 蔡晓雯,沈武成. 石蜡切片 HE 染色的体会[J]. 医药论坛杂志, 2011, 32(1): 167-9.

## Advantages of double-embedding with agar and paraffin in making light microscope slices of small vessels

Bin Yejian, Huang Huabing, Hong Yanyu, et al

(Organ Transplantation Institute of Xiamen University, Xiamen 361102)

**Abstract** The fixed small vessels were pre-embedded into 1.5% agar in advance, and its position and lumen were adjusted well. By using self-made agareembedding mould, the agar block in complete structure and right size could be obtained conveniently. Then paraffin embedding was done according to the conventional dehydration and embedding procedure, and staining was the last step. The results indicated that, by using the double embedding method, the integrity of lumen was kept, the intima and other tissues of vessel were not damaged and lost, the ideal light microscope slices were gotten ultimately.

**Key words** small vessels; agar; paraffin; double embedding method; light microscope slices