

[文章编号] 1000-1182(2006)02-0185-02

• 方法介绍 •

改良的Gomori特殊染色在口腔硬组织切片中的应用

程 敏, 王 颖, 李保泉, 王 渝, 孙宏展, 李成库

(吉林大学口腔医学院 病理学教研室, 吉林 长春 130041)

[中图分类号] R780.2 [文献标识码] B

口腔组织病理学教学及口腔医学实验研究都需要制作牙齿、颌骨、腭骨及其相连周围组织的病理切片, 而口腔硬组织标本的染色直接影响观察效果。笔者将原来用于显示和区分心肌病变的改良Gomori特殊染色^[1-3], 稍加改进用于口腔硬组织病理切片的染色, 取得了满意效果, 现介绍如下。

1 方法

1.1 标本的制备

标本可来自鼠、兔、犬等的牙及牙周组织、颌骨、颞下颌关节、腭骨及其相连的周围组织等。4%多聚甲醛或10%中性福尔马林血管灌注固定标本, 10%EDTA或含50%甲酸和7%氯化铝的溶液脱钙, 梯度乙醇正丁醇脱水, 氯仿透明, 由低至高熔点石蜡逐级浸蜡, 松香石蜡包埋^[4]、切片。

1.2 染液的配制

①天青石蓝染液: 天青石蓝B 0.5 g, 硫酸铁铵5 g, 蒸馏水100 ml, 甘油15 ml。先将硫酸铁铵加入蒸馏水中, 充分溶解后加入天青石蓝B。搅拌, 加热并煮沸3 min, 过滤后加入甘油。②变色酸2R染液: 变色酸2R 0.5 g, 1%磷酸水溶液100 ml, 醋酸0.2 ml。③亮绿染液: 亮绿0.5 g, 70%乙醇100 ml。此3种染液皆可配后即使用, 也可存放数月, 多次使用。

1.3 染色

①按石蜡切片常规方法脱蜡至水; 天青石蓝染液染色5 min, 水洗, 常规明矾苏木精染液染核, 水洗, 盐酸酒精分化、水洗、显蓝(同HE染色); 水洗, 镜检。以核呈蓝色, 背景几乎无色为宜。否则再分化或重染至满意为止。②变色酸2R染液染色5—10 min; 0.2%醋酸水溶液冲洗2—3次, 洗除组织切片上的染液及浮色。肉眼观察牙本质、牙骨质及颌骨等密质骨呈红色, 其他部分无色即可。否则可再冲洗或返回染液重染。③亮绿染液复染, 一般不超过1 min。④95%及无水乙醇脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封固。

2 结果

染色结果表明, 改良染色法可将牙齿、骨骼及与其相连的周围组织染成对比鲜明、艳丽的红色和绿色, 各组织和细

胞的形态特征均很清晰。其中, 细胞核呈蓝色或蓝紫色, 牙本质、牙骨质、密质骨及骨基质呈红色, 肌纤维、神经纤维、纤维素等呈浅红色, 软骨、胶原纤维及网状纤维等结缔组织呈绿色。图1为犬牙及牙周组织的改良Gomori图像, 自左向右依次为牙槽骨、牙周膜、牙骨质和牙本质; 图2为兔下颌关节髁突的改良Gomori图像。

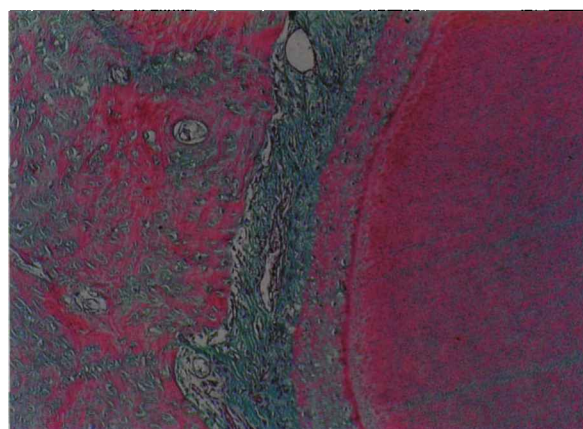


图1 犬的牙及牙周组织 改良的Gomori ×33

Fig 1 The tooth and periodontal tissue of dog Modified Gomori ×33

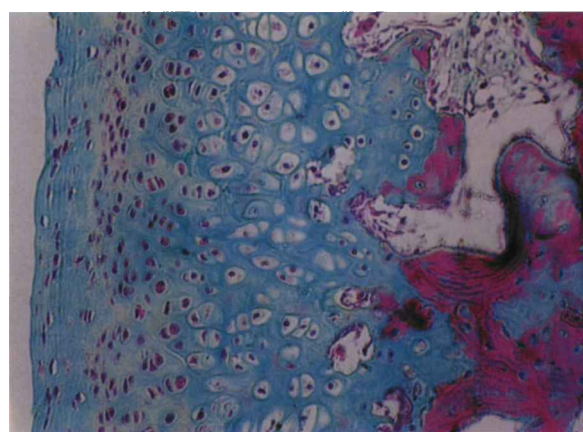


图2 兔的下颌关节髁突 改良的Gomori ×66

Fig 2 Temporomandibular joint and condyle of rabbit Modified Gomori ×66

3 讨论

3.1 标本的固定

标本的固定方法与染色效果有密切关系。一般标本常采用浸泡固定法固定, 固定液不能很快渗透到坚硬致密的牙体

[收稿日期] 2005-06-21; [修回日期] 2005-09-26

[基金项目] 吉林大学精品课程建设基金资助项目(2004年)

[作者简介] 程 敏(1957-), 女, 黑龙江人, 主任医师, 博士研究生

[通讯作者] 孙宏展, Tel: 0431-8913506

及颌骨内,更无法进入牙髓和牙周膜内,固定不好甚至会出现自溶而染色不佳。本研究采用新鲜标本灌注固定,固定液经血管迅速渗透到组织和细胞内,从而固定充分和均匀,并能保持活体时的形态和物质成分性质,是染色效果优良的基础和前提。

3.2 脱钙

脱钙是决定牙齿及骨组织切片染色效果的重要技术关键。以往常采用硝酸脱钙,其破坏了组织和细胞的形态结构及物质成分性质,从而染色不良。本研究采用10%EDTA或含50%甲酸和7%氯化铝的溶液脱钙。EDTA脱钙不会引起明显的组织形态损害和改变细胞物质成分的性质,染色效果最佳。甲酸氯化铝脱钙液中的铝离子易被吸附而起到保护作用,同时铝离子又是苏木精等色素的媒染剂,故可取得优良的染色效果,与EDTA比较脱钙效果无明显差异。

3.3 染色

传统的Gomori染色是先明矾苏木精染核,再以红绿两种色素及媒染剂、促染剂的混合染液进行两步三色染色。其问题在于:①加强一个色调的同时往往减弱甚至损害另一色调;②配制后的混合染液存放不久染色力即减弱,甚至产生沉淀而失效不能再用,故每次染色前需现配染液,从而使用麻烦。针对这些不足而改良的Gomori法,是先天青石蓝及明矾苏木精染核后,再用红和绿两种染液分别染色,从而可得到满意效果。因为天青石蓝能与染液中的铁离子形成天青石蓝铁色淀,它是明矾苏木精的媒染剂,经天青石蓝染色后再染苏木精,核的染色既深又不褪色,并可达到只有核呈蓝色,其他组织和细胞成分几乎不着色,从而利于变色酸2R和亮绿两种染液再分别将相应的组织和细胞成分有选择地染成红色及绿色,并且红、绿、蓝三色皆鲜艳。20多年前李成库^[1]曾用该法对心肌和骨组织切片进行染色,其染色结果久存未见明显褪色。

笔者将改良的Gomori法用于牙、牙周组织、颌骨、颞下颌关节、髌骨及其相连周围组织等的研究。染色结果表明,改良染色法可将牙齿、骨骼及与其相连的周围组织染成对比鲜明、艳丽的红色和绿色,各组织和细胞的形态特征均很清

晰。并且改良的Gomori特殊染色操作简单、容易掌握,不同的组织和条件下均可取得良好的染色效果。染液一般不会沉淀或失效,能长期保存多次使用。它不但可以用于口腔医学实验研究和图像分析定量研究,还可制作教学切片,用其摄制的彩色照片及幻灯片效果更佳。

染色时应注意以下事项:①福尔马林固定久的标本染色不佳时,染色前用2.5%重铬酸钾和5%醋酸进行铬化处理,染色效果会改善^[2];②切片厚度不宜超过5 μm ,否则高倍镜检时色彩不鲜艳;③变色酸2R染色后,勿用自来水洗,否则会使红色减弱变暗;④乙醇能增强绿色减弱红色,故用乙醇配制的亮绿染液染色时间不宜过久,否则绿色深而红色浅;⑤亮绿染液染色后勿用自来水洗,否则会损害红色;⑥染色后脱水用的乙醇应为该染色专用,不能用HE染色用的乙醇,以免彼此互相污染,影响染色效果。

[参考文献]

- [1] 李成库. 对Gomori结缔组织多色染色变法的改进[J]. 病理通讯, 1982, (40):108.
(LI Cheng-ku. Improvement of Gomori's multi-color staining on connective tissue[J]. Pathology Communication, 1982, (40):108.)
- [2] 张哲, 陈辉. 实用病理染色技术[M]. 沈阳:辽宁科学技术出版社, 1988:91-92.
(ZHANG Zhe, CHEN Hui. Practical pathological staining technology [M]. Shenyang: Liaoning Science & Technology Press, 1988:91-92.)
- [3] 李成库. 显示与判定心肌早期病变的染色方法研究[J]. 中国法医学杂志, 1989, 4(3):148-149.
(LI Cheng-ku. Staining method of displaying and judging early-onset pathology of myocardial[J]. Chinese J Forensic Medicine, 1989, 4(3):148-149.)
- [4] 王伯云. 病理学技术[M]. 北京:人民卫生出版社, 2001:951
(WANG Bo-yun. Pathological technology [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2001:951.)

(本文编辑 李彩)

本刊对来稿格式的要求

因为本刊实行“双盲法”审稿,请作者来稿时注意:①请将文题、全部作者姓名及单位(中英文)、作者详细地址、邮政编码、第一作者和通讯作者的联系方式(包括电话、E-mail等)打印于首页。②论文从第2页开始,请重新书写文题。中英文文题和摘要下不再署名(包括单位和作者)。③投稿时文章及照片均应一式两份(图片切忌复印件),两份文稿均按以上要求书写。④投稿时将文章以Word格式存入杀毒后软盘,连同打印稿件一并寄至编辑部。⑤请参见稿约要求交纳审稿费。希望广大作者支持和谅解。

本刊对文稿附图的要求

本刊要求所有文稿的附图采用照片形式。请作者投稿时注意,照片必须有良好的清晰度和对比度,不可折损。照片中的符号(包括箭头)必须另用纸标示。每幅照片的背面应注明序号、作者姓名及图的上下方向。病理照片务必注明染色方法和放大倍数,大体标本照片应有尺度标记。若有人像,应征得患者的书面同意。投稿一式两份中必须附照片两份,切忌复印件。若为线条图,应墨绘在白纸或硫酸纸上,或用制图软件绘制,并提供激光打印图样。文中所有附图应附有中英文图注,如图中使用缩写,请注释其中、英文全称。图号应按其在正文中出现的顺序连续编码。