

# 6种复合固定液对金黄仓鼠视网膜组织固定效果的比较

吴海凤, 周小江, 李晨江, 李怀银, 高 明

(兰州生物制品研究所有限责任公司, 甘肃省疫苗工程技术研究中心, 兰州 730046)

**[摘要]** **目的** 比较6种复合固定液对金黄仓鼠视网膜组织石蜡切片的影响, 优化金黄仓鼠视网膜组织石蜡切片的固定方法。**方法** 取18只雄性SPF级金黄仓鼠, 随机分为6组, 每组3只。每只动物经腹腔注射戊巴比妥钠麻醉后, 分别使用4%多聚甲醛、Bouin's、Carnoy、Davidson's、Zenker和Helly固定液进行心脏灌注固定。将每只动物的眼球组织取出后制作眼杯, 并投入对应的复合固定液中固定, 48 h后取出进行石蜡包埋, 并将包埋块在切片机下切片, 然后进行苏木精-伊红(hematoxylin and eosin, HE)染色。在光学显微镜下观察视网膜组织细胞的形态学特征并进行双盲法评分, 统计分析各种复合固定液的固定效果和染色质量。**结果** Davidson's固定液固定后的切片中, 视网膜完整无断裂, 各层结构清晰, 细胞核形态良好, 视网膜与巩膜、葡萄膜连接紧密; 4%多聚甲醛、Bouin's和Carnoy固定液固定的切片中均有不同程度的视网膜断裂以及视网膜与巩膜脱离现象; Zenker和Helly固定液固定后的切片质量最差, 视网膜组织脱落明显, 裂隙大, 各层细胞不清晰, 染色淡。对视网膜细胞形态特征进行双盲法评分后, SPSS 27.0软件分析结果显示: 6种固定液的平均得分差异有统计学意义 ( $P < 0.001$ ), 其中Davidson's固定液  $>$  4%多聚甲醛  $>$  Bouin's固定液  $>$  Carnoy固定液  $>$  Helly固定液  $>$  Zenker固定液; Zenker固定液和Helly固定液与其他4种试剂的平均得分相比均有显著差异 ( $P < 0.001$ ), 其他试剂之间两两相比无明显差异 ( $P > 0.05$ )。**结论** Davidson's固定液染色效果最佳, 4%多聚甲醛和Bouin's固定液染色效果次之, Carnoy固定液染色效果较差, Zenker固定液和Helly固定液染色效果最差。据此提示, 金黄仓鼠视网膜组织的固定首选Davidson's固定液, 其次为4%多聚甲醛、Bouin's和Carnoy固定液。

**[关键词]** 固定液; 金黄仓鼠; 视网膜; 石蜡切片

**[中图分类号]** R774; Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2024)06-0675-07



## Comparison of the Fixation Effects of Six Composite Fixatives on Retinal Tissue of Golden Hamsters

WU Haifeng, ZHOU Xiaojang, LI Chenjiang, LI Huaiyin, GAO Ming

(Lanzhou Institute of Biological Products Co., Ltd., Gansu Vaccine Engineering Technology Research Center, Lanzhou 730046, China)

Correspondence to: GAO Ming (ORCID: 0009-0003-2618-6587), E-mail: gaominglss@163.com

**[ABSTRACT]** **Objective** To compare the effects of six composite fixatives on paraffin sections of golden hamster retinal tissue, and to optimize the fixation methods for retinal tissue paraffin sections of golden hamsters. **Methods** Eighteen male SPF grade golden hamsters were taken and randomly divided into six groups of three animals each. After each animal was anesthetized by intraperitoneal injection of sodium pentobarbital, cardiac perfusion was performed using 4% paraformaldehyde, Bouin's, Carnoy, Davidson's, Zenker, and Helly fixatives, respectively. The eye tissues of each animal were taken out to make eye cups and put into the corresponding compound fixative solution for fixation, and then taken out for paraffin embedding after 48 h. The embedded blocks were sliced using microtome, and then stained with hematoxylin and eosin (HE). The morphological characteristics of retinal tissue cells were observed under a light microscope and scored in a double-blind method to statistically analyze the fixation effect and staining quality of various composite fixative solutions. **Results** Retinal sections fixed with Davidson's fixative exhibited intact morphology without breaks, clear structural layers, well-morphosed nuclei, and

**[第一作者]** 吴海凤(1977—),女,硕士,医学生物工程师,研究方向:实验动物病理检测。E-mail: 1092999471@qq.com

**[通信作者]** 高 明(1992—),男,助理研究员,研究方向:实验动物学。E-mail: gaominglss@163.com。ORCID: 0009-0003-2618-6587

tight adhesion between the retina, sclera, and uvea. In contrast, sections fixed with 4% paraformaldehyde, Bouin's, and Carnoy fixatives showed varying degrees of retinal breaks and detachment from the sclera. Sections fixed with Zenker and Helly fixatives demonstrated the poorest quality, characterized by pronounced detachment, large fissures, unclear cell layers, and pale staining. Statistical analysis using SPSS 27.0 software revealed significant differences in mean scores among the six fixatives ( $P < 0.001$ ). The fixation quality ranking was as follows: Davidson's fixative > 4% paraformaldehyde > Bouin's fixative > Carnoy fixative > Helly fixative > Zenker fixative. Zenker and Helly fixatives showed significantly lower scores than the other fixatives ( $P < 0.001$ ), while no significant differences were observed among the remaining fixatives ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** Davidson's fixative provides the best fixation and staining results, followed by 4% paraformaldehyde and Bouin's fixative. Carnoy fixative exhibits suboptimal performance, while Zenker and Helly fixatives result in the poorest outcomes. Therefore, Davidson's fixative is recommended as the optimal fixative for golden hamster retinal tissue, with 4% paraformaldehyde, Bouin's and Carnoy fixatives as alternative options.

**[Key words]** Fixative solution; Golden hamster; Retinal; Paraffin section

实验动物视网膜组织被广泛用于眼科相关疾病的实验研究<sup>[1-7]</sup>。眼球壁结构分为3层，外层为角膜和巩膜；中层为葡萄膜，包括虹膜、睫状体和脉络膜；内层为视网膜。由于眼球中空且构造复杂，各部分组织结构差异较大，各层间连接性差，容易发生视网膜脱离，导致病理切片的制作难度较高。近年来，研究人员对不同实验动物视网膜石蜡切片的制作技术进行了改良<sup>[8-9]</sup>。而关于金黄仓鼠眼球视网膜石蜡切片的研究却鲜有报告。

固定液是制备病理切片的关键因素。在进行眼球固定和脱水的过程中，由于高度分化的视网膜层与外部的纤维血管膜对固定液的渗透程度不同，引起组织收缩的程度也不同，容易导致视网膜各层分离脱落，其中最易发生脱离的是视网膜神经上皮层和色素上皮层<sup>[10-11]</sup>。另外由于眼球各结构的软硬度不同，在石蜡切片标本的制作过程中极易发生组织碎裂、细胞变形、组织皱缩、脱水不完全，甚至出现裂隙等现象，这些现象的出现导致眼球视网膜石蜡切片的质量下降，进而不利于后期的组织学研究。本研究通过苏木精-伊红(hematoxylin and eosin, HE)染色，比较6种不同固定液对金黄仓鼠视网膜组织形态结构的影响，以筛选适合金黄仓鼠视网膜组织的最佳固定液。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

SPF级雄性金黄仓鼠18只，分为6组，每组3只，均为11周龄，由兰州生物制品研究有限责任公司[SCXK(甘)2023-0001]提供，质量合格证号为0002809；动物在兰州生物制品研究有限责任公司的屏障环境设施[SYXK(甘)2023-0001]中饲养，温

度为20~26℃，相对湿度为30%~70%，噪声≤60 dB(A)，其他条件均符合实验动物饲养环境的国家标准要求。本实验通过兰州生物制品研究有限责任公司实验动物管理和使用委员会审查(批准文号：IACUC-LIBP-202402003)。

### 1.2 仪器与试剂

分体组织包埋机(型号AP250)和旋转式切片机(型号HM360)均购自美康仪器设备(北京)有限公司；生物显微镜(型号CX33)购自仪景通光学科技有限公司；高效切片石蜡(批号20230416)、二甲苯(批号20231116)均购自国药集团化学试剂有限公司；苏木精和伊红染色液试剂盒(批号20230304)购自南京森贝伽生物科技有限公司；无水乙醇(批号20231213)购自昆山金城试剂有限公司；质量分数为4%的多聚甲醛固定液(批号20230725)、Bouin's固定液(批号20240221)、Zenker固定液(批号20240205)、Helly固定液(批号20240225)、Carnoy固定液(批号20240129)和Davidson's固定液(批号20231206)均购自福州飞净生物科技有限公司；戊巴比妥钠(编号57-33-0)购自德国Merck公司。

### 1.3 取材固定

先用4%戊巴比妥钠溶液经腹腔注射麻醉金黄仓鼠，随后在其右心耳处剪一小切口，用生理盐水置换血液，接着向各组金黄仓鼠中分别推注4%多聚甲醛、Bouin's、Carnoy、Davidson's、Zenker和Helly固定液，若观察到金黄仓鼠下肢抽动及尾巴摆动，表明心脏灌注成功。待金黄仓鼠眼球变苍白、质地变硬后，将其眼球取下并置于相应的固定液中。30 min后，从固定液中取出眼球并剪去角膜组织、剥出晶状体、制作眼杯后，投入原固定液中固定48 h。

1.4 HE 染色

取出固定好的眼球组织经乙醇溶液梯度脱水、HE 染色、二甲苯透明、浸蜡包埋后切片。将切片用二甲苯（Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ）脱蜡、下行梯度乙醇溶液脱水后，分别经苏木精染色、流水冲洗，1% 盐酸乙醇分色、流水冲洗，蓝化液蓝化、流水冲洗，然后经伊红染色和上行梯度乙醇溶液脱水，最后经二甲苯（Ⅰ、Ⅱ）透明处理，用中性树胶封固，并置于光学显微镜下观察。

1.5 结果观察

在光学显微镜下分别取 4 倍、10 倍和 40 倍视野观察 HE 染色效果，并对切片染色结果进行双盲法评分。视网膜完整度及各层结构排列：无断裂、完整无脱落，排列整齐、紧密，记为 5 分；较少断裂、脱落松散、很多裂隙，结构较模糊、松散，根据程度不同可记为 2~4 分；破碎、脱片，结构模糊、消失，记为 0 分。视网膜结构清晰度及各层连接：清晰，连接紧密，记为 5 分；不同程度的不清晰及裂隙，记为 2~4 分；模糊，完全脱离，记为 0 分。视网膜各层染色及细胞质染色强度：鲜艳，清晰，记为 5 分；不同程度淡染，记为 2~4 分；模糊，记为 0 分。细胞核形态：良好，记为 5 分；较模糊，记为 2~4 分；固缩不清，记为 0 分。细胞间紧密程度：整齐无裂隙，记为 5 分；不同

程度松散，记为 2~4 分；裂隙较多，记为 0 分。单项满分为 5 分，最低为 0 分；5 项检查合计满分为 25 分，若所有项都不合格则记为 0 分。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 27.0 软件进行统计学处理，评分数据以  $\bar{x} \pm s$  表示，多组间比较采用单因素方差分析，组内两两比较采用 SNK-*q* 检验法，以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 低倍镜下观察视网膜完整性

在 4 倍光学显微镜下观察使用不同固定液处理后的 HE 染色结果，如表 1 和图 1 所示：经 4% 多聚甲醛固定的切片中，视网膜完整无断裂，各层结构清晰平整（图 1A）；经 Bouin's 固定液固定的切片中，视网膜发生断裂，各层细胞尚清晰（图 1B）；经 Carnoy 固定液固定的切片中，视网膜无断裂，各层结构变薄，层次不分明（图 1C）；经 Davidson's 固定液固定的切片中，视网膜结构完整清晰，各层排列整齐（图 1D）；经 Helly 固定液固定的切片中，视网膜有断裂，各层细胞不清晰，染色淡（图 1E）；经 Zenker 固定液固定的切片中，视网膜组织脱落明显，视网膜完整性消失（图 1F）。

表1 低倍镜下观察使用6种固定液后金黄仓鼠视网膜组织的HE染色效果比较  
Table 1 Comparison of HE staining effects on retinal tissue of golden hamsters fixed with six fixatives under low magnification

| 固定液种类<br>Types of fixative            | 视网膜完整度<br>Integrity of the retina | 视网膜各层结构排列<br>Uniformity of each layer of the retina | 视网膜结构清晰度<br>Retinal structural resolution | 视网膜各层染色<br>Staining of each layer of the retina | 视网膜各层连接<br>Connection of retinal layers |
|---------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------------------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| 4% 多聚甲醛<br>4% paraformaldehyde        | 完整无断裂                             | 整齐                                                  | 清晰                                        | 鲜艳                                              | 紧密                                      |
| Bouin's 固定液<br>Bouin's fixative       | 断裂较多                              | 较整齐                                                 | 清晰                                        | 鲜艳                                              | 紧密                                      |
| Zenker 固定液<br>Zenker fixative         | 破碎、脱片                             | 各层结构消失                                              | 不清晰                                       | 淡染                                              | 完全脱离                                    |
| Helly 固定液<br>Helly fixative           | 较少断裂                              | 结构模糊                                                | 模糊                                        | 模糊                                              | 完全脱离                                    |
| Carnoy 固定液<br>Carnoy fixative         | 完整无断裂                             | 紧密，结构不清                                             | 不清晰                                       | 鲜艳                                              | 紧密                                      |
| Davidson's 固定液<br>Davidson's fixative | 完整无断裂                             | 结构整齐                                                | 清晰                                        | 鲜艳                                              | 较多裂隙                                    |

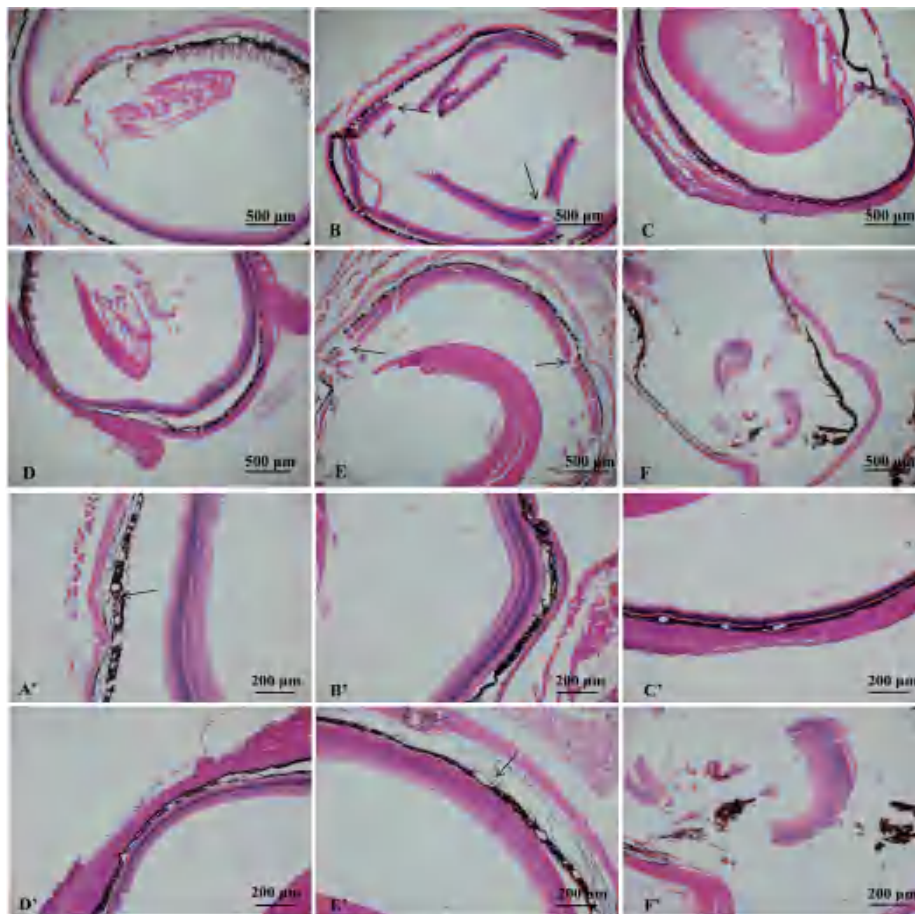
2.2 低倍镜下观察视网膜与巩膜、葡萄膜等各层组织的连接情况

在 10 倍光学显微镜下观察使用不同固定液的 HE

染色结果，如图 1 所示：经 4% 多聚甲醛固定的切片中，视网膜与巩膜、葡萄膜裂隙较大，视网膜与巩膜脱离（图 1A'）；经 Bouin's 固定液固定的切片中，视

网膜与巩膜、葡萄膜连接紧密(图1B');经Carnoy固定液固定的切片中,视网膜、巩膜、葡萄膜收缩变薄,紧贴在一起,层次不清(图1C');经Davidson's固定液固定的切片中,视网膜与巩膜、葡萄膜连接紧

密,无裂隙,层次清晰(图1D');经Helly固定液固定的切片中,巩膜与葡萄膜分离,裂隙较大(图1E');经Zenker固定液固定的切片中,各层组织脱离,呈碎片状(图1F')。



注: A和A', 使用4%多聚甲醛固定液(A'图中箭头所示为视网膜与巩膜、葡萄膜之间裂隙较大); B和B', 使用Bouin's固定液(B图中箭头所示为多处断裂); C和C', 使用Carnoy固定液; D和D', 使用Davidson's固定液; E和E', 使用Helly固定液(E图中箭头所示为断裂, E'图中箭头所示为巩膜与葡萄膜分离); F和F', 使用Zenker固定液。A~F图中比例尺为500 μm; A'~F'图中比例尺为200 μm。

Note: A and A', fixed with 4% paraformaldehyde (the arrow in fig A' shows a large fissure between the retina and the sclera and the uvea); B and B', fixed with Bouin's fixative (multiple breaks shown by arrows in fig B); C and C', fixed with Carnoy fixative; D and D', fixed with Davidson's fixative; E and E', fixed with Helly fixative (the arrow in fig E shows breaks, while the arrow in the fig E' shows the separation between the sclera and the uvea); F and F', fixed with Zenker fixative. The scale bar=500 μm (A-F) or 200 μm (A'-F').

图1 低倍镜下观察使用不同固定液后的金黄仓鼠视网膜切片HE染色结果

Figure 1 HE staining results of retinal sections of golden hamsters fixed with different fixatives under low magnification

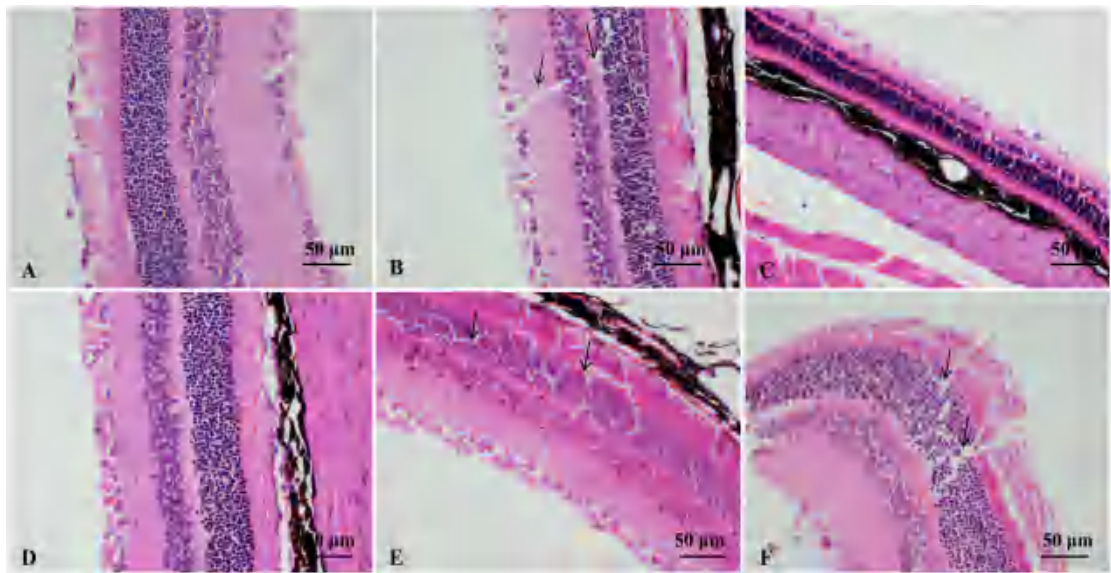
### 2.3 高倍镜下观察视网膜各层细胞结构

在40倍光学显微镜下观察使用不同固定液的HE染色结果,如图2和表2所示:经4%多聚甲醛固定的切片中,视网膜各层结构清晰,细胞排列整齐无裂隙,细胞核形态良好(图2A);经Bouin's固定液固定的切片中,视网膜各层结构清晰,视网膜内核层可见明显的空白裂隙,细胞核形态良好(图2B);经Carnoy固定液固定的切片中,视网膜各层收缩,视网膜内核层细胞核固缩,各层结构不清晰(图2C);经Davidson's

固定液固定的切片中,视网膜各层结构清晰,细胞排列整齐无裂隙,细胞核形态良好(图2D);经Zenker固定液固定的切片中,视网膜各层结构松散,裂隙较多,染色较淡(图2E);经Helly固定液固定的切片中,视网膜各层结构模糊,细胞核细胞质染色淡,裂隙较多(图2F)。

### 2.4 视网膜切片的染色结果评分

采用双盲法对不同固定液的HE染色结果评分,结果如表3所示。6种固定液处理的视网膜切片HE染色



注：A，使用4%多聚甲醛；B，使用 Bouin's 固定液；C，使用 Carnoy 固定液；D，使用 Davidson's 固定液；E，使用 Helly 固定液；F，使用 Zenker 固定液；箭头所示为裂隙。图中比例尺为 50  $\mu\text{m}$ 。

Note: fixed with 4% paraformaldehyde; B, fixed with Bouin's fixative; C, fixed with Carnoy fixative; D, fixed with Davidson's fixative; E, fixed with Helly fixative; F, fixed with Zenker fixative. The fissures are indicated by arrows. The scale bar=50  $\mu\text{m}$ .

图2 高倍镜下观察使用不同固定液后的金黄仓鼠视网膜切片 HE 染色结果

Figure 2 HE staining results of retinal sections of golden hamsters fixed with different fixatives under high magnification

表2 高倍镜下观察使用6种固定液后金黄仓鼠视网膜组织 HE 染色效果的比较

Table 2 Comparison of HE staining effects on retinal tissue of golden hamsters fixed with six fixatives under high magnification

| 固定液种类<br>Types of fixative            | 视网膜完整度<br>Integrity of retina | 视网膜各层结构排列<br>Uniformity of each layer of the retina | 细胞核形态<br>Nuclear morphology | 细胞间紧密程度<br>Degree of intercellular tightness | 细胞质染色强度<br>Cytoplasmic staining intensity |
|---------------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------------------------|-----------------------------|----------------------------------------------|-------------------------------------------|
| 4%多聚甲醛<br>4% paraformaldehyde         | 完整无脱落                         | 松散                                                  | 良好                          | 整齐无裂隙                                        | 清晰                                        |
| Bouin's 固定液<br>Bouin's fixative       | 完整无脱落                         | 紧密                                                  | 较好                          | 松散                                           | 清晰                                        |
| Zenker 固定液<br>Zenker fixative         | 脱落松散                          | 松散                                                  | 基本正常                        | 裂隙较多                                         | 较淡                                        |
| Helly 固定液<br>Helly fixative           | 很多裂隙                          | 消失                                                  | 模糊                          | 裂隙较多                                         | 模糊                                        |
| Carnoy 固定液<br>Carnoy fixative         | 较完整                           | 消失                                                  | 固缩, 不清                      | 松散                                           | 模糊                                        |
| Davidson's 固定液<br>Davidson's fixative | 完整                            | 紧密                                                  | 良好                          | 整齐无裂隙                                        | 清晰                                        |

平均得分差异均具有统计学意义 ( $P < 0.001$ ), 评分由高到低依次为 Davidson's 固定液 ( $20.63 \pm 3.18$ ) > 4%多聚甲醛 ( $20.13 \pm 1.19$ ) > Bouin's 固定液 ( $19.62 \pm 0.26$ ) > Carnoy 固定液 ( $14.13 \pm 2.25$ ) > Helly 固定液 ( $6.63 \pm 3.06$ ) > Zenker 固定液 ( $5.38 \pm 3.93$ )。SNK- $q$  检验法两两比较显示, Helly 组和 Zenker 组与其他 4 组的平均得分相比均有显著差异 ( $P < 0.001$ ), 其他组两两

相比的差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

### 3 讨论

制作视网膜病理切片不但可以用于评估视网膜的结构功能, 而且对探究疾病机制具有重要意义。由于视网膜结构的特殊性, 制作石蜡切片时较难保持其完整的形态结构<sup>[12]</sup>。笔者在以往的石蜡切片制作过程中

发现, 固定液选择不当容易造成视网膜各层组织收缩、组织层间脱离以及切片出现裂隙等问题。也有研究报告指出固定液是影响制片效果的重要因素之一<sup>[13]</sup>。

4%多聚甲醛固定液主要由多聚甲醛和磷酸盐组成, 具有配制简单和操作方便的特点, 是实验室常用的固定液<sup>[14]</sup>。4%多聚甲醛固定液同时具有渗透力强、固定均匀、收缩组织和损伤较少等优点, 能较好地保护组织和细胞的形态结构<sup>[15]</sup>。因此, 4%多聚甲醛固定液适用于多种组织的固定, 包括脑组织、肝组织等大组织, 在眼科实验研究中也用于小鼠和大鼠眼球的固定<sup>[16]</sup>。本研究发现, 经4%多聚甲醛固定液固定的视网膜各层组织清晰完整, 但是视网膜与巩膜、葡萄膜之间的裂隙较大, 且视网膜与巩膜脱离, 这和宋惠欣等<sup>[17]</sup>的研究结果一致, 说明4%多聚甲醛固定液作为视网膜石蜡切片标本固定液的效果并不理想。

Bouin's固定液是由甲醛、苦味酸和醋酸按一定比例混合而成。其中, 苦味酸对坚韧组织有软化作用<sup>[18]</sup>。醋酸可抑制细菌和酶的活性, 防止自溶, 但其缺点是组织膨胀较明显, 对于胶原纤维与纤维蛋白尤其明显。苦味酸和醋酸配合使用能很好地保存组织结构, 其组织渗透性强且渗透速度快而均匀, 组织收缩幅度小, 不容易出现组织变脆现象<sup>[19]</sup>。本研究结果显示, 使用Bouin's固定液固定的视网膜各层组织断裂明显, 视网膜各层结构清晰, 视网膜内核层有明显的空白裂隙, 细胞核形态良好。

相比于Bouin's固定液, Davidson's固定液是一种快速固定液, 组织放入后会快速变白并呈不透明状。Davidson's固定液是由4%甲醛溶液、冰醋酸、95%乙醇及蒸馏水按比例配制而成。其中, 冰醋酸可使组织膨胀, 抵偿因乙醇、甲醛等固定液引起的组织收缩和硬化, 能较好地保存组织原有形态, 从而显示出清晰的结构<sup>[20]</sup>。本研究结果显示, Davidson's固定液在金黄仓鼠眼球视网膜石蜡切片中的固定效果良好; 切片HE染色结果显示, 眼球视网膜完整无断裂, 视网膜与巩膜、葡萄膜连接紧密, 视网膜各层结构清晰、无裂隙, 且细胞核形态良好。

Carnoy固定液是由无水乙醇、三氯甲烷和冰醋酸按比例配制而成, 其中无水乙醇可固定细胞质, 冰醋酸用来固定染色质, 常用于糖原、尼氏体和肌纤维等的染色。光学显微镜下观察发现, 经Carnoy固定液固定的切片中视网膜各层组织收缩, 视网膜内核层细胞核固缩, 结构不清晰。

Zenker固定液也是组织切片中常用的固定液, 它

由氯化汞、重铬酸钾、硫酸钠、蒸馏水和冰醋酸按比例配制而成。氯化汞使组织快速硬化, 对细胞核和细胞质有良好的固定作用, 并促进染色; 重铬酸钾常用于混合固定液中, 有助于组织染色。把Zenker固定液中的乙酸用甲醛饱和水溶液替代则为Helly固定液, 故Helly液又常被称为Zenker-formol固定液。这两种固定液的配制较复杂, 且固定后需去除组织内的重铬酸钾和“汞色素”, 步骤较繁琐。本实验发现经Zenker固定液和Helly固定液处理后制作的视网膜组织石蜡切片HE染色均不太好, 视网膜组织结构不清晰, 出现了不同程度的淡染色、断裂、各层组织脱落等问题。

综上所述, Davidson's固定液能够保留完整的视网膜组织和细胞形态结构, 相较其他5种固定液而言, 更适合金黄仓鼠视网膜组织的固定; 4%多聚甲醛固定液和Bouin's固定液有相近的固定效果, 但会出现视网膜和巩膜脱离、视网膜断裂现象, 不建议作为首选。Carnoy、Zenker和Helly固定液的染色效果差, 不适宜作为金黄仓鼠视网膜组织石蜡切片的固定剂。

#### [医学伦理声明 Medical Ethics Statement]

本研究涉及的所有动物实验均已通过兰州生物制品研究所有限责任公司实验动物管理和使用委员会审查(批准文号IACUC-LIBP-202402003)。所有实验过程均遵照中国实验动物相关法律法规条例要求进行。

All the animal experiments involved in this study have been reviewed by the Laboratory Animal Management and Use Committee of Lanzhou Institute of Biological Products Limited Liability Company (Approval No. IACUC-LIBP-202402003). All the experimental procedures were carried out in accordance with the requirements of the relevant laws and regulations on laboratory animals in China.

#### [作者贡献 Author Contribution]

吴海凤负责实施研究并起草文章;

周小江负责方法设计;

李晨江负责数据统计分析, 并提供行政、技术或材料支持;

李怀银参与动物实验以及文章修改工作;

高明负责研究的监督指导及文稿修订。

#### [利益声明 Declaration of Interest]

所有作者均声明本文不存在利益冲突。

#### [参考文献 References]

- [1] 李娟娟, 陈晨, 张利伟, 等. 缺血-再灌注损伤鼠模型中视网膜微循环的结构损伤[J]. 中华实验眼科杂志, 2019, 37(1): 5-9. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.01.002.  
LI J J, CHEN C, ZHANG L W, et al. Structural changes of retinal microcirculation in mouse model of ischemia-reperfusion injury[J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2019, 37(1): 5-9. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.01.002.
- [2] SANO H, NAMEKATA K, KIMURA A, et al. Differential effects

- of N-acetylcysteine on retinal degeneration in two mouse models of normal tension glaucoma[J]. Cell Death Dis, 2019, 10(2):75. DOI: 10.1038/s41419-019-1365-z.
- [3] STORM T, BURGOYNE T, DUNAIEF J L, et al. Selective ablation of megalin in the retinal pigment epithelium results in megaophthalmos, macromelanosome formation and severe retina degeneration[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2019, 60(1):322-330. DOI: 10.1167/iops.18-25667.
- [4] 陈肖君, 林鑫, 于瑶瑶, 等. HUC-MSCs对视网膜挫伤大鼠的治疗作用[J]. 潍坊医学院学报, 2020, 42(5):356-359. DOI: 10.16846/j.issn.1004-3101.2020.05.011.
- CHEN X J, LIN X, YU Y Y, et al. Therapeutic effect of HUC-MSCs in rat retinal contusion[J]. Acta Acad Med Weifang, 2020, 42(5):356-359. DOI: 10.16846/j.issn.1004-3101.2020.05.011.
- [5] 袁晨, 张梅, 谢学军. 血-视网膜内屏障体外模型构建研究进展[J]. 国际眼科杂志, 2021, 21(6):991-995. DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2021.6.10.
- YUAN C, ZHANG M, XIE X J. Progress in the construction of inner blood retinal barrier model *in vitro*[J]. Int Eye Sci, 2021, 21(6):991-995. DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2021.6.10.
- [6] 张懿, 孙兴怀, 王中峰. 生长抑素对视网膜的生理调控及神经保护作用[J]. 中华实验眼科杂志, 2021, 39(10):915-918. DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20191112-00492.
- ZHANG Y, SUN X H, WANG Z F. Physiological role and neuroprotective effects of somatostatin in retina[J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2021, 39(10): 915-918. DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20191112-00492.
- [7] 赵福新, 汪琪, 王莉, 等. Vpr2 敲除对小鼠视网膜功能的影响[J]. 中华眼视光学与视觉科学杂志, 2022, 24(7):485-493. DOI: 10.3760/cma.j.cn115909-20210826-00342.
- ZHAO F X, WANG Q, WANG L, et al. The effect of Vpr2 knockout on retinal function in mice[J]. Chin J Optom Ophthalmol Vis Sci, 2022, 24(7): 485-493. DOI: 10.3760/cma.j.cn115909-20210826-00342.
- [8] 罗灿桥, 莫木琼, 聂铭铭, 等. 比较 5 种混合固定液对小鼠眼球标本制片质量和染色效果的影响[J]. 中国卫生检验杂志, 2015, 25(13):2065-2067.
- LUO C Q, MO M Q, NIE Z M, et al. Effect of 5 mixed stationary liquids on the mouse eyeball specimen sectioning and the staining quality[J]. Chin J Health Lab Technol, 2015, 25(13): 2065-2067.
- [9] 张云龙. 无醛混合固定液与甲醛固定液对大鼠器官组织检材形态学保存效果的比较研究[J]. 基层医学论坛, 2020, 24(16):2223-2225. DOI: 10.19435/j.1672-1721.2020.016.002.
- ZHANG Y L. A comparative study on the morphological preservation effect of formaldehyde-free fixative and formaldehyde on tissue samples of rat organs[J]. Med Forum, 2020, 24(16):2223-2225. DOI: 10.19435/j.1672-1721.2020.016.002.
- [10] 高延娥, 杜秀娟, 董卫红, 等. 心脏灌流固定在大鼠视网膜石蜡切片中的应用[J]. 中国实用眼科杂志, 2016, 34(10):1109-1111. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-4443.2016.10.019.
- GAO Y E, DU X J, DONG W H, et al. Application of cardiac perfusion fixation in rat retinal paraffin section[J]. Chin J Pract Ophthalmol, 2016, 34(10): 1109-1111. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-4443.2016.10.019.
- [11] 高洪彬, 林英, 宋向荣, 等. 四种固定液对小鼠视网膜固定效果的比较[J]. 临床与实验病理学杂志, 2016, 32(3):352-353. DOI: 10.13315/j.cnki.cjcep.2016.03.032.
- GAO H B, LIN Y, SONG X R, et al. Comparison of the effects of four fixatives on retinal fixation in mice[J]. Chin J Clin Exp Pathol, 2016, 32(3): 352-353. DOI: 10.13315/j.cnki.cjcep.2016.03.032.
- [12] STRADLEIGH T W, ISHIDA A T. Fixation strategies for retinal immunohistochemistry[J]. Prog Retin Eye Res, 2015, 48: 181-202. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2015.04.001.
- [13] LIU Y, EDWARD D P. Assessment of PAXgene fixation on preservation of morphology and nucleic acids in microdissected retina tissue[J]. Curr Eye Res, 2017, 42(1):104-110. DOI: 10.3109/02713683.2016.1146777.
- [14] BACZEWSKA M, EDER K, KETELHUT S, et al. Refractive index changes of cells and cellular compartments upon paraformaldehyde fixation acquired by tomographic phase microscopy[J]. Cytometry A, 2021, 99(4):388-398. DOI: 10.1002/cyto.a.24229.
- [15] MIKI M, OHISHI N, NAKAMURA E, et al. Improved fixation of the whole bodies of fish by a double-fixation method with formalin solution and Bouin's fluid or Davidson's fluid[J]. J Toxicol Pathol, 2018, 31(3):201-206. DOI: 10.1293/tox.2018-0001.
- [16] 孙自强, 王军, 陈明亮, 等. 小鼠眼球标本石蜡切片制作方法的改进[J]. 河南大学学报(医学版), 2015, 34(1):36-39.
- SUN Z Q, WANG J, CHEN M L, et al. Improved method for paraffin sections of mouse eyeball[J]. J Henan Univ Med Sci, 2015, 34(1):36-39.
- [17] 宋惠欣, 蒋文君, 毕宏生. 三种不同固定液对豚鼠眼球的固定效果比较[J]. 国际眼科杂志, 2018, 18(6):1010-1013. DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2018.6.07.
- SONG H X, JIANG W J, BI H S. A comparative study on the effect of fixation for guinea pigs eyeballs among three different fixation solution[J]. Int Eye Sci, 2018, 18(6):1010-1013. DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2018.6.07.
- [18] SOUSA S, ROCHA M J, ROCHA E. Characterization and spatial relationships of the hepatic vascular-biliary tracts, and their associated pancreocytes and macrophages, in the model fish guppy (*Poecilia reticulata*): a study of serial sections by light microscopy[J]. Tissue Cell, 2018, 50:104-113. DOI: 10.1016/j.tice.2017.12.009.
- [19] WANG H, YANG L L, JI Y L, et al. Different fixative methods influence histological morphology and TUNEL staining in mouse testes[J]. Reprod Toxicol, 2016, 60:53-61. DOI: 10.1016/j.reprotox.2016.01.006.
- [20] LATENDRESSE J R, WARBRITTON A R, JONASSEN H, et al. Fixation of testes and eyes using a modified Davidson's fluid: comparison with bouin's fluid and conventional Davidson's fluid[J]. Toxicol Pathol, 2002, 30(4): 524-533. DOI: 10.1080/01926230290105721.

(收稿日期: 2024-03-28 修回日期: 2024-07-03)

(本文编辑: 张俊彦, 翟玉凤, 丁宇菁, 吴昊晟)

#### [引用本文]

吴海凤, 周小江, 李晨江, 等. 6 种复合固定液对金黄仓鼠视网膜组织固定效果的比较[J]. 实验动物与比较医学, 2024, 44(6): 675-681. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2024.049.

WU H F, ZHOU X J, LI C J, et al. Comparison of the fixation effects of six composite fixatives on retinal tissue of golden hamsters[J]. Lab Anim Comp Med, 2024, 44(6): 675-681. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2024.049.