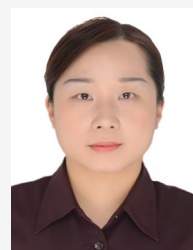




田雪松, 研究员, 医学博士, 硕士生导师, 主要从事中医药防治脑与视网膜疾病、中药安全评价工作。主持国家自然科学基金面上项目3项, 并主持上海市教委创新项目、中国科学院上海药物研究所知识创新工程青年人才领域前沿项目、上海中医药大学预算内项目及复旦大学研究生创新基金资助项目各1项。兼任教育部学位中心评审专家、国家自然科学基金函审专家、上海市科学技术委员会项目函审专家、中国药理学学会药物安全评价专业委员会委员等。近3年以通信作者发表SCI论文6篇、中文核心期刊论文5篇。2012年获美国神经科学年会暨休斯敦医学中心Travel Award。2015年负责的注射用血塞通(冻干)安全药理项目(与其他单位的工作一起申报)获国家中药品种保护审批[(2016)国药中保字第006号]。

黄明珠, 医学博士, 副研究员。2009年毕业于日本东京大学医学系, 获病因与病理学专业博士学位; 2010年回国, 进入国家上海新药安全评价研究中心病理部工作, 历任病理诊断负责人、病理部副部长, 2014年底晋升为副研究员。2020年9月至今, 在上海中医药大学药物安全评价研究中心工作, 担任病理研究室主任, 主要从事药物毒理病理学的研究与评价工作。现任中国药学会毒性病理专业委员会副主任委员、上海市预防医学会环境病理专业委员会副主任委员、中国毒理学会毒性病理学技术咨询委员会委员及上海市药理学学会毒理专业委员会委员。参与国家“十二五”、“十三五”重大新药创制国家科技重大专项, 主编及参编专著5部, 发表学术论文10余篇。



一种自研固定液用于制备大鼠眼球切片的组织学染色效果评价

唐小杭¹, 谷颖敏¹, 吕阳阳¹, 黄明珠¹, 田雪松²

(1. 上海中医药大学创新中药研究院, 上海 201203; 2. 上海中医药大学实验动物中心, 上海 201203)



[摘要] 目的 比较包含本团队自研固定液在内的4种组织固定液用于制备大鼠眼球组织石蜡切片的组织学染色效果。**方法** 将20只5周龄的SPF级雄性SD大鼠, 随机分为4组, 每组5只。腹腔注射舒泰™50 (45 mg/kg体重) 麻醉大鼠后, 采用腹主动脉放血法安乐死大鼠, 沿眼眶完整摘取双侧眼球, 分别于体积分数为10%的甲醛固定液、戊二醛-甲醛混合固定液、改良Davidson固定液和自研固定液中固定72 h。固定结束后, 沿视神经纵向切开眼球, 保留带有视神经的部分组织, 脱水、包埋, 并制备切片。切片经HE染色后, 比较角膜、晶状体、视网膜等眼球结构的组织学染色效果。**结果** 10%甲醛组和戊二醛-甲醛组大鼠眼球整体外观出现明显收缩, 而改良Davidson固定液组和自研固定液组大鼠眼球形态保持圆润。改良Davidson固定液组、10%甲醛组和自研固定液组的角膜基质层明显断裂, 细胞排列不整齐; 而戊二醛-甲醛组的角膜细胞排列整齐、未见断裂或褶皱、染色清晰, 提示戊二醛-甲醛组的角膜制片效果最佳。10%甲醛组的晶状体赤道和皮质部位出现裂痕, 但晶状体纤维结构完整; 改良Davidson固定液组的晶状体出现大面积明显破裂和脱片现象; 戊二醛-甲醛组仅赤道部位有轻微裂痕, 自研固定液组仅晶状体外围部位有轻微红色褶皱, 其余结构完整、无破碎, 提示戊二醛-甲醛组与自研固定液组的晶状体制片效果最佳。10%甲醛组的视网膜与脉络膜/巩膜层严重分离, 各细胞层出现大面积断裂; 而戊二醛-甲醛组的视网膜与脉络膜/巩膜层部分分离, 外网层和神经纤维层可见分离肿胀, 各层细胞排列整齐; 改良Davidson固定液和自研固定液的视网膜均完整无断裂, 各层结构无分离, 在保持视网膜各层细胞完整性、排列整齐度等方面均有优势, 但自研固定液组视网膜切片的对比度更高。**结论** 固定液的选择对大鼠眼球各结构的形态保存效果具有显著影响。自研固定液在维持眼球整体形态、晶状体结构完整性及视网膜贴合度等方面的综合效果最佳。如果仅针对眼球的角膜结构展开研究, 推荐使用戊二醛-甲醛混合固定液。体积分数为10%的甲醛固定液在上述所有眼球结构的固定效果均不理想, 不建议用于眼球组织的精细形态学研究。

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目“基于激活RPE细胞上 δ -阿片受体探讨‘通络明目’电针调节CD4⁺T细胞亚群改善缺血再灌注视网膜小胶质细胞M1/M2极化的神经免疫机制研究”(82575224)

[第一作者] 唐小杭(1982—), 男, 硕士, 助理实验师, 主要从事中药毒理学研究。E-mail: js19820209@163.com。ORCID: 0009-0000-6648-1036

[通信作者] 田雪松(1973—), 男, 博士, 研究员, 硕士生导师, 主要从事中医药防治脑、视网膜疾病研究。E-mail: xuesong.tian@shutcm.edu.cn。ORCID: 0000-0001-6162-2856;

黄明珠(1980—), 女, 博士, 副研究员, 主要从事药物毒理病理学研究。E-mail: kou24@hotmail.com。ORCID: 0009-0004-7583-8366

[关键词] 眼球组织制片; 固定液; 角膜; 晶状体; 视网膜; 大鼠

[中图分类号] R-332; Q95-33 [文献标志码] A [文章编号] 1674-5817(2026)02-0261-10

Evaluation of the Histological Staining Performance of Rat Eyeball Sections Prepared Using a Self-Developed Fixative

TANG Xiaohang¹, GU Yingmin¹, LÜ Yangyang¹, HUANG Mingshu¹, TIAN Xuesong²

(1. Innovation Research Institute of Traditional Chinese Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 2. Laboratory Animal Center, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

Correspondence to: TIAN Xuesong (ORCID: 0000-0001-6162-2856), E-mail: xuesong.tian@shutcm.edu.cn;

HUANG Mingshu (ORCID: 0009-0004-7583-8366), E-mail: kou24@hotmail.com

[ABSTRACT] Objective To compare the histological staining performance of four various tissue fixatives, including a self-developed fixative, for preparing paraffin sections of rat eyeball tissue.

Methods Twenty 5-week-old male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into 4 groups ($n=5$ per group). After anesthesia by intraperitoneal injection of Zoletil™ 50 at a dose of 45 mg/kg body weight, the rats were euthanized by exsanguination via the abdominal aorta. Bilateral eyeballs were carefully extracted intact and fixed for 72 h in 10% formaldehyde fixative, glutaraldehyde-formaldehyde mixed fixative, Davidson's fixative, and self-developed fixative, respectively. After fixation, the eyeballs were longitudinally sectioned along the optic nerve, with the portions containing the optic nerve preserved. The tissues were then dehydrated, embedded, and sectioned. Following hematoxylin and eosin (HE) staining, histological staining quality was compared among ocular structures including the cornea, lens, and retina. **Results**

The overall appearance of rat eyeballs showed marked shrinkage in the 10% formaldehyde group and the glutaraldehyde-formaldehyde group, whereas the eye morphology remained round and intact in the modified Davidson's fixative group and self-developed fixative group. The corneal stroma exhibited obvious rupture, and the cells were arranged in folded arrangement in the modified Davidson's fixative group, 10% formaldehyde group, and self-developed fixative group. In contrast, the corneal cells in the glutaraldehyde-formaldehyde group were neatly arranged, showing no rupture or folding, and exhibited clear staining, indicating the highest quality of corneal sectioning among all groups. In the 10% formaldehyde group, cracks were observed in the equatorial and cortical regions of the lens, but the lens fiber structure remained intact. The lenses in the modified Davidson's fixative group showed extensive rupture and detachment. The glutaraldehyde-formaldehyde group displayed only slight cracks at the equator. In the self-developed fixative group, mild red folding was limited to the peripheral lens region, with the remaining structures intact and unbroken. These findings indicated that the glutaraldehyde-formaldehyde and self-developed fixative groups achieved the best lens sectioning quality. The retina was severely detached from the choroid/sclera layer, with extensive rupture of each cellular layer in the 10% formaldehyde fixative group. In the glutaraldehyde-formaldehyde group, partial detachment between the retina and choroid/sclera was observed. The outer plexiform layer and nerve fiber layer showed separation with edema, while the cells in all layers were neatly arranged. In both the Davidson's fixative and the self-developed fixative groups, the retina remained intact without rupture, and no structural separation was observed in any layer. Both demonstrated advantages in preserving the integrity and orderly arrangement of all retinal layers; however, the self-developed fixative group exhibited greater contrast. **Conclusion** The choice of fixative significantly affects the morphological preservation of various structures in the rat eye. The self-developed fixative demonstrates the best overall performance in maintaining overall eye morphology, the structural integrity of the lens, and retinal adhesion. For studies focusing solely on the corneal structure, the glutaraldehyde-formaldehyde mixed fixative is recommended. The 10% formaldehyde fixative exhibits unsatisfactory fixation effects for all the aforementioned ocular structures and is not recommended for detailed morphological studies of eyeball tissues.

[Key words] Eyeball tissue section; Fixative; Cornea; Lens; Retina; Rats

随着医疗技术的进步和生活水平的提高,人类平均寿命显著延长,老龄人口视力障碍问题日益突出。据统计,我国50岁以上人群中,中重度视力障碍的患病率为10.8%,失明率为2.29%^[1]。老龄人群的视力障碍多与眼球内部结构病变密切相关,例如:青光眼与视网膜神经节细胞变性及相关凋亡相关,老年性黄斑变性则与视网膜色素上皮细胞衰老及功能衰退相关,而白内障主要由晶状体蛋白质变性引发^[2-4]。由于人类眼球样本获取困难,而实验动物(尤其是啮齿类动物)符合科研伦理规范、成本可控,且与人类眼球结构有一定的相似性,成为研究眼部疾病机制的理想模型。因此,基于啮齿类动物开展实验探究眼球内部结构与功能变性机制,可为眼科疾病的防治提供重要理论依据。

在眼科疾病及其相关动物模型的研究中,眼球病理标本的制备至关重要。组织处理是制作病理标本的关键步骤,其目的在于通过化学固定防止组织细胞自溶与腐败,并借助化学交联(如使蛋白质交联变性)、沉淀(如保存糖原)等方式,最大程度地稳定细胞内的大分子物质(主要是蛋白质和核酸)及关键结构成分,使样本尽可能接近在体的形态学特征^[5]。然而,由于角膜、晶状体、视网膜等眼球内部结构在组织结构、硬度和收缩特性方面存在显著差异,固定过程中易出现组织分离、断裂等人工假象,严重影响后续切片制作和病理学诊断的可靠性^[6]。此外,目前常用的固定液均存在一定的局限性,如多聚甲醛固定液会导致眼球组织严重收缩,Bouin固定液和Verhoeff固定液中所含的苦味酸毒性高且易爆。因此,开发兼具优异固定效果和高安全性的新型固定液具有重要意义。本研究团队在前期研究中研制了一种新型眼球专用固定液,本研究在相同制片条件下,将其与体积分数为10%的甲醛固定液、戊二醛-甲醛混合固定液及改良Davidson固定液进行对比分析,系统评估该固定液对大鼠角膜、晶状体和视网膜等眼球关键结构的固定效果,旨在为眼科病理学研究提供更优的实验方法。

1 材料与方法

1.1 实验动物

5周龄SPF级雄性SD大鼠20只,体重150~170 g,购自浙江维通利华实验动物技术有限公司[SCXK(浙)2024-0001],质量合格证号为20250106Aazz0619000124336280。动物饲养于上海中医药大学新药安全

评价中心动物屏障设施[SYXK(沪)2020-0009],室温(22±2)℃,相对湿度40%~60%,12 h明暗交替。动物房提供实验动物反渗透饮用水和钴⁶⁰辐照饲料(购自江苏省协同医药生物工程有限责任公司)。所有实验操作均经过上海中医药大学实验动物伦理委员会审查批准(审批号PZSHUTCM220926006),遵循实验动物伦理规范和相关法律法规,确保动物福利和实验的科学性。

1.2 主要试剂与仪器

分析纯戊二醛(批号3092836)、分析纯二甲苯(批号3242854)、分析纯无水乙醇(批号3124197)、分析纯冰醋酸(批号1875839)、分析纯丙酮(批号01104445)和0.01 mol/L PBS(pH=7.2,批号A7353A DDB)均购自上海泰坦科技股份有限公司;分析纯甲醛(批号20230511)购自国药集团化学试剂有限公司;苏木精(批号241009)和伊红(批号250102)染液均购自珠海贝索生物技术有限公司;舒泰™50(批号968AA)购自维克贸易(上海)有限公司。全封闭组织脱水机(型号VIP-5)购自日本樱花医疗集团;石蜡包埋机(型号HistoStar)和轮转式组织切片机(型号RM2235)购自德国Leica仪器有限公司;自动染色机(型号HD-400i)购自宁波察微生物科技有限公司。

1.3 固定液的配制

(1) 10% 甲醛固定液:将甲醛原液(37%~40%)和纯净水按1:9体积比混合。(2) 戊二醛-甲醛混合固定液:分别配制A液(0.01 mol/L PBS, pH=7.2)、B液(将0.01 mol/L PBS与甲醛原液按9:1体积比混合, pH=7.2)和C液(将0.01 mol/L PBS与50%戊二醛按3:2体积比混合, pH=7.2),使用时将A液、B液和C液按2:1:1体积比混合。(3) 改良Davidson固定液:将无水乙醇、甲醛原液、冰醋酸和纯净水按3:6:1:10体积比混合。(4) 自研固定液:分别配制A液(0.01 mol/L PBS, pH=7.2)、B液(将0.01 mol/L PBS与甲醛原液按9:1体积比混合, pH=7.2)和C液(将0.01 mol/L PBS与50%戊二醛按3:2体积比混合, pH=7.2),使用时将A液、B液、C液、D液(冰醋酸)和E液(丙酮)按10:10:10:3:6体积比混合。以上固定液配制后置于冰箱4℃保存(保质期约90 d),于解剖大鼠摘取眼球前取出使用。

1.4 取材与固定

将20只SD大鼠随机分为4组,分别为10%甲醛组、戊二醛-甲醛组、改良Davidson固定液组和自研固

定液组。通过腹腔注射舒泰™50 (45 mg/kg) 对大鼠进行麻醉, 待大鼠完全麻醉后, 将其仰卧位置于解剖板上, 用绳子固定四肢; 沿大鼠腹部中线剪开皮肤, 用干棉球轻轻拨开腹部脂肪, 暴露腹主动脉; 剪断腹主动脉, 采用放血法使大鼠安乐死。待血流尽、大鼠眼球发白后, 沿眼眶完整摘取双侧眼球, 保留约2 mm视神经, 不作切开处理。按照分组顺序连续摘取眼球, 每组共10只眼球样本, 分别浸泡于相应的固定液中, 每组固定液的体积均为50 mL, 室温固定72 h。

1.5 常规制片和HE染色步骤

固定结束后, 沿视神经纵向切开眼球, 保留视神经部分, 对眼球进行常规制片。将眼球组织依次浸入95%乙醇30 min、100%乙醇I~IV各60 min进行梯度脱水; 依次浸入二甲苯I~III各60 min透明; 依次浸入石蜡I~IV各60 min浸蜡。浸蜡结束后, 把眼球水平切面朝下放入包埋盒中, 再将63℃液体石蜡注入包埋盒, 待蜡块冷却凝固后取出, 室温保存备用。

使用轮转切片机进行切片, 厚度为3 μm, 眼球切片于46℃水浴中展平后, 平放在展片机上展片, 随后在50℃烘箱里过夜烘干。将眼球切片依次置于二甲苯I~III各5 min脱蜡; 随后置于100%乙醇I~III各2 min、75%乙醇IV 1 min进行梯度水化, 用自来水冲洗2 min。将水洗后的切片放入苏木精染液中染色

15 min, 随后用自来水冲洗8 min; 放入1%盐酸乙醇溶液中分化5 s, 接着用自来水冲洗2 min; 最后置于伊红染液中染色3 min。切片经伊红染色后, 在自来水中快速漂洗3 s, 随后依次浸入75%乙醇I 3 s、100%乙醇II 10 s、100%乙醇III 30 s脱水, 二甲苯IV 30 s、二甲苯V 1 min、二甲苯VI 2 min透明。透明后取出切片, 用中性树胶封片。

1.6 主要观察指标

(1) 眼球的整体形态与收缩程度: 观察固定后眼球的整体形态是否保持圆润, 是否存在收缩、变形或凹陷现象。(2) 角膜的完整度: 评估角膜各层结构(上皮层、基质层、内皮层)的完整性, 观察是否存在断裂、褶皱或细胞排列紊乱的现象。(3) 晶状体的完整度: 检查晶状体的形态是否完整, 观察赤道、皮质及核区是否存在裂痕、破碎或脱片现象。(4) 视网膜各层细胞的清晰性与分离程度: 评估视网膜各层细胞(如神经节细胞层、感光细胞层、双极细胞层等)的排列是否整齐, 染色是否清晰; 观察视网膜与脉络膜/巩膜层的连接是否紧密, 是否存在分离、断裂现象。评估参数由两名病理诊断人员独立阅片、客观分析后汇总评判, 分值范围为0~4分, 代表不同的病理损伤程度, 分值越高表示损伤越严重。参考文献^[7]制定本研究的评分标准, 具体评分标准见表1。

表1 眼球HE染色质量的定量评分标准

Table 1 Quantitative scoring criteria for eyeball HE staining quality

分值(程度)	评分标准
Score(grade)	Scoring criteria
0(正常)	各层组织结构完整, 无裂痕、褶皱或脱片现象; 各层细胞染色清晰、排列整齐、形态完整
1(轻微)	裂痕、褶皱范围在10%以下, 各层结构无分离, 断裂; 细胞染色清楚、形态完整、无变形
2(轻度)	裂痕、褶皱范围在10%~30%, 各层结构排列整齐, 无分离; 细胞染色清楚、组织完整、无变形
3(中度)	裂痕、褶皱范围在30%~50%, 各层结构分离、断裂; 细胞界限不明显, 颜色对比度降低, 组织明显变形、破碎
4(重度)	裂痕、褶皱在50%以上, 大范围脱片、破碎明显; 细胞界限不明显, 颜色对比度降低, 组织变形严重、收缩明显、结构不完整

1.7 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件对评分结果进行处理和分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。首先对数据进行正态性检验和方差齐性检验(Levene检验)。若数据符合正态分布且方差齐, 采用单因素方差分析进行统计学比较; 若差异有统计学意义, 采用Dunnett T3检验。方差不齐时, 采用Kruskal-Wallis *H*秩和检验进行统计分析; 若差异有统计学意义, 则采用Mann-Whitney *U*秩和检验进行组间比较。若数据不符合正态分布, 采用非参数检验(Mann-Whitney Test)。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

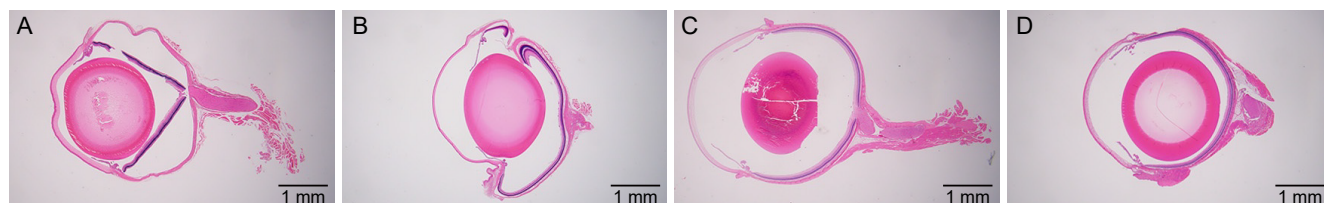
2 结果

2.1 眼球的整体形态和组织结构

经过固定、脱水、包埋、切片和HE染色后, 于12.5倍光学显微镜下观察各组大鼠眼球的整体形态和组织结构, 结果显示4组切片间存在明显差异(图1、表2)。其中, 经10%甲醛固定的10只眼球均出现眼球壁皱缩和凹陷现象; 视网膜大面积分离并断裂; 晶状体大体保持完整, 无明显破裂, 角膜可见裂隙(图1A)。经戊二醛-甲醛固定的10只眼球中有8只出现不同程度

的收缩变形,余下2只眼球收缩程度较轻;视网膜出现分离和断裂现象;晶状体结构完整、无破裂,角膜完整(图1B)。经Davidson固定的10只眼球形态圆润,未见收缩或变形;视网膜完整,无分离或断裂现象;但

晶状体明显破碎,完整性较差,角膜见明显裂隙(图1C)。经自研固定液固定的10只眼球形态圆润,未见收缩或变形;视网膜完整,未见分离或断裂现象;晶状体基本保持完整,无破裂;角膜见明显裂隙(图1D)。



注: A, 10% 甲醛组的眼球组织切片; B, 戊二醛-甲醛组的眼球组织切片; C, 改良 Davidson 固定液组的眼球组织切片; D, 自研固定液组的眼球组织切片。比例尺为 1 mm。

Note: A, The eyeball tissue section from 10% formaldehyde group; B, The eyeball tissue section from the glutaraldehyde-formaldehyde group; C, The eyeball tissue section from the modified Davidson's fixative group; D, The eyeball tissue section from the self-developed fixative group. Scale bar = 1 mm.

图1 不同固定液组大鼠眼球的整体形态和组织结构($\times 12.5$)

Figure 1 Overall morphology and tissue structure of rat eyeballs in different fixative groups ($\times 12.5$)

表2 不同固定液组大鼠眼球的整体形态和组织结构比较

Table 2 Comparison of overall morphology and tissue structure of rat eyeballs in different fixative groups

($n=10$)

固定液种类 Fixative types	眼球圆润度 Sphericity of eyeball	角膜完整度 Corneal integrity	晶状体完整度 Lens integrity	视网膜完整度 Retinal integrity
10% 甲醛组(10% Formaldehyde group)	皱缩、凹陷	可见裂隙	基本完整	完全分离、断裂
戊二醛-甲醛组(Glutaraldehyde-formaldehyde group)	皱缩、凹陷	完整	完整	部分分离、断裂
改良 Davidson 固定液组(Modified Davidson's fixative group)	圆润、无变形	明显裂隙	破碎	完整
自研固定液组(Self-developed fixative group)	圆润、无变形	有裂隙	完整	完整

2.2 眼球的各层组织结构

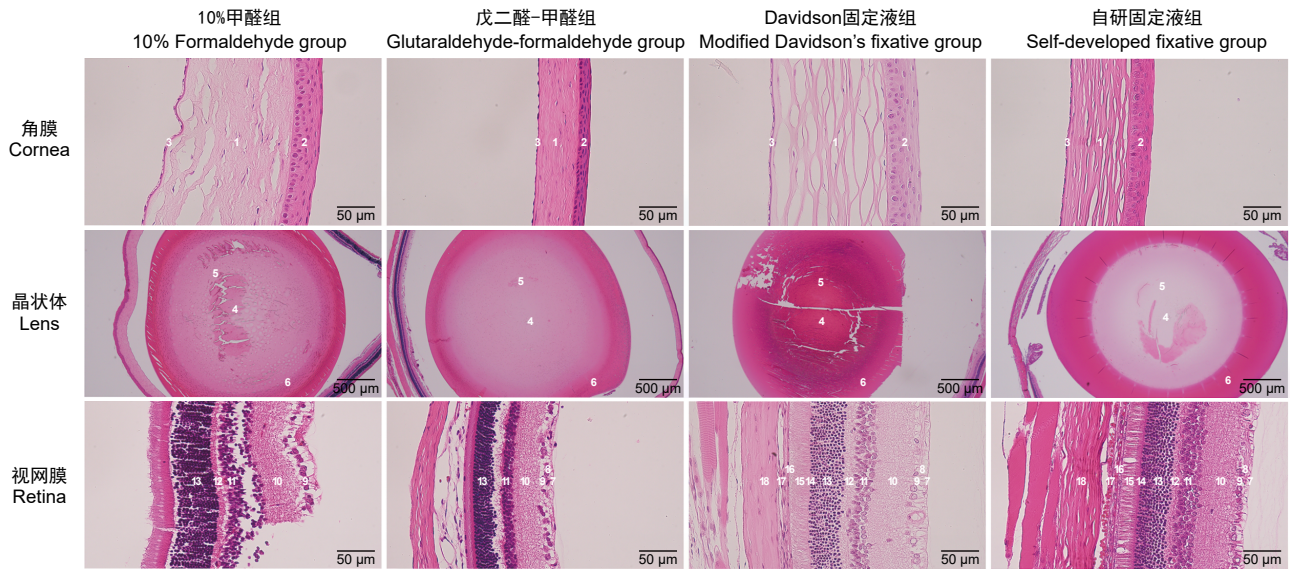
2.2.1 角膜的形态学观察结果

在400倍光学显微镜下观察各组大鼠眼球HE染色后的角膜形态变化,结果如图2和表3所示。其中,经10%甲醛固定的眼球角膜基质层可见不连续断裂现象,胶原板层细胞排列褶皱不规则,结构完整性较差;复层扁平上皮细胞染色较戊二醛组浅,分层清晰,内皮层细胞排列整齐无裂隙。细胞核和细胞质的对比度较低。经戊二醛-甲醛固定的大鼠眼球角膜基质层结构完整,细胞排列整齐,未见断裂或褶皱现象;上皮层细胞染色清晰,细胞核和细胞质对比明显,内皮层细胞排列整齐,各层结构紧密,整体形态保持良好,但基质层连同上皮层整体过于致密。经改良Davidson固定液固定的大鼠眼球角膜基质结构完整性最差,可观察到连续的组织断裂;上皮层细胞核染色较淡,细胞质与细胞核的对比度较低;内皮层染色浅,但未见断裂。

经自研固定液固定的大鼠眼球角膜基质层结构呈规则性断裂,完整性不足,有褶皱现象;上皮层细胞染色清晰,细胞核和细胞质对比明显;内皮层未见断裂,排列整齐。各组眼球角膜的评分情况见表4:改良Davidson固定液组(10/10, 100%)和10%甲醛组(6/10, 60%)主要集中在3分(中度)和4分(重度);戊二醛-甲醛组(10/10, 100%)全部集中在0分(正常)和1分(轻微);自研固定液组(10/10, 100%)分布与改良Davidson固定液组和10%甲醛组类似,集中于3分(中度)和4分(重度)。与改良Davidson固定液组相比,10%甲醛组和戊二醛-甲醛组的固定效果优异。

2.2.2 晶状体的形态学观察结果

在40倍光学显微镜下观察各组大鼠眼球HE染色后晶状体的形态变化,结果如图2和表3所示。经10%甲醛固定的大鼠眼球晶状体赤道和皮质部位均出现了



注：显微镜下10%甲醛组、戊二醛-甲醛组、改良 Davidson 固定液组 and 自研固定液组的角膜、晶状体和视网膜 HE 染色结果。1，角膜基质层；2，角膜上皮层；3，角膜内皮层；4，赤道部；5，晶状体核区；6，晶状体皮质；7，内界膜；8，神经纤维层；9，节细胞层；10，内网层；11，内核层；12，外网层；13，外核层；14，外界膜；15，光感受器层；16，色素上皮层；17，脉络膜；18，巩膜。晶状体切片的比例尺为 500 μm，角膜和视网膜切片的比例尺为 50 μm。

Note: HE staining results of the cornea, lens, and retina in the 10% formaldehyde group, glutaraldehyde-formaldehyde group, modified Davidson's fixative group, and self-developed fixative group observed under light microscopy. 1, corneal stroma; 2, corneal epithelium; 3, corneal endothelium; 4, lens equator; 5, lens nucleus; 6, lens cortex; 7, inner limiting membrane; 8, nerve fiber layer; 9, ganglion cell layer; 10, inner plexiform layer; 11, inner nuclear layer; 12, outer plexiform layer; 13, outer nuclear layer; 14, external limiting membrane; 15, photoreceptor layer; 16, pigment epithelium layer; 17, choroid; 18, sclera. Scale bar: 500 μm for lens sections; 50 μm for corneal and retinal sections.

图2 显微镜下不同固定液组大鼠的眼球结构

Figure 2 Microscopic observation of rat eyeballs structures in different fixative groups

表3 不同固定液组大鼠眼球组织结构比较

Table 3 Comparison of the histological structure of rat eyeballs in different fixative groups

观察指标		10% 甲醛组	戊二醛-甲醛组	改良 Davidson 固定液组	自研固定液组
Observation indicators		10% Formaldehyde group	Glutaraldehyde-formaldehyde group	Modified Davidson's fixative group	Self-developed fixative group
角膜 Cornea	结构完整度	基质层明显裂痕	紧密	基质层明显裂痕	基质层轻微裂痕
	各层结构	褶皱不规则、完整性差，上皮层与基质层分离	整齐、紧密无断裂	褶皱不规则、完整性差，上皮层与基质层分离明显	完整性尚可，基质层结构不紧密
	细胞紧密程度	裂隙较多	整齐无裂隙	裂隙较多	裂隙轻微
	染色情况	淡染	鲜艳	淡染	鲜艳
晶状体 Lens	结构完整度	赤道和皮质有裂痕	完整	大面积破碎、脱片	外围轻微褶皱
	细胞紧密程度	有裂隙	整齐无裂隙	有裂隙	整齐无裂隙
	染色情况	鲜艳	鲜艳	深染	鲜艳
视网膜 Retina	完整度	断裂，部分结构脱落	较少断裂	完整无断裂	完整无断裂
	各层结构	与脉络膜/巩膜严重分离	外网层分离肿胀，神经纤维层分离肿胀	各层完整无分离	各层完整无分离
	细胞紧密程度	大面积裂隙	部分有裂隙	整齐无裂隙	整齐无裂隙
	染色情况	鲜艳	鲜艳	淡染	鲜艳

不同程度的裂痕，但晶状体纤维结构保持完整，未观察到明显的破裂或脱片现象，细胞间有裂隙，晶状体染色鲜艳。经戊二醛-甲醛固定的大鼠眼球晶状体赤道

部位有轻微裂痕，其余部位结构均保持完整，无破损或脱片现象，细胞整齐无裂隙，晶状体染色鲜艳。经 Davidson 固定的大鼠眼球晶状体均出现明显的大面积

表4 不同固定液组大鼠眼球的组织学评分

Table 4 Histological scoring results of rat eyeballs in different fixative groups

观察指标 Observation indicators	分值/程度 Score/grade	(n)		
		角膜 Cornea	晶状体 Lens	视网膜 Retina
10% 甲醛组	0(正常)	0	0	0
10% Formaldehyde group	1(轻微)	0	1	0
	2(轻度)	4	5	0
	3(中度)	4	4	1
	4(重度)	2	0	9
戊二醛-甲醛组	0(正常)	6	2	0
Glutaraldehyde- formaldehyde group	1(轻微)	4	5	0
	2(轻度)	0	3	4
	3(中度)	0	0	5
	4(重度)	0	0	1
改良 Davidson 固定液 组	0(正常)	0	0	8
Modified Davidson's fixative group	1(轻微)	0	0	2
	2(轻度)	0	0	0
	3(中度)	2	0	0
	4(重度)	8	10	0
自研固定液组	0(正常)	0	2	9
Self-developed fixative group	1(轻微)	0	6	1
	2(轻度)	0	2	0
	3(中度)	3	0	0
	4(重度)	7	0	0

破裂和脱片现象,各部位(赤道、皮质、核区)结构几乎被完全破坏,无法观察到完整的晶状体形态,细胞间有裂隙,染色深。经自研固定液固定的大鼠眼球晶状体外围部位有轻微红色褶皱,细胞整齐无裂隙,其余部位结构均保持完整,染色鲜艳,无破损或脱片现象。各组眼球晶状体的评分情况见表4:戊二醛-甲醛液组(7/10, 70%)与自研固定液组(8/10, 80%)的损伤程度最轻,绝大多数眼球集中在0分(正常)和1分(轻微);改良 Davidson 固定液组(10/10, 100%)所有样本均在4分(重度);10% 甲醛组(9/10, 90%)的固定效果不均,大部分处于2分(轻度)和3分(中度)。与改良 Davidson 固定液组相比,另外3组固定液的固定效果良好,其中自研固定液效果最好。

2.2.3 视网膜的形态学观察结果

在400倍光学显微镜下观察各组大鼠眼球HE染色后的视网膜形态学变化,观察结果如图2和表3所示。经10% 甲醛固定的视网膜与脉络膜/巩膜层严重分离,视网膜组织大面积断裂,形态完整性缺失;各细胞层存在大面积裂隙,细胞染色鲜艳,但染色效果差,细

胞核与细胞质对比不清,无法分清细胞层次。经戊二醛-甲醛固定的视网膜与脉络膜/巩膜层明显分离,但各层细胞染色鲜艳,细胞排列整齐、层次清晰;最内层的神经纤维层出现分离和肿胀现象;部分眼球的外网层出现破碎和分离;整体视网膜结构仍保持相对完整。经 Davidson 固定的视网膜各层细胞结构完整,排列整齐、无断裂现象;细胞核和细胞质染色清晰、对比明显,内界膜、神经纤维层、节细胞层、内网层、内核层、外网层、外核层、外界膜、光感受器层、视网膜色素上皮层和脉络膜各层结构层次分明,细胞染色较淡,整体固定效果较好。经自研固定液固定的视网膜各层细胞结构完整、无断裂,排列整齐;细胞核和细胞质染色清晰、对比明显,染色颜色鲜艳,视网膜形态和细胞结构均保持良好。各组眼球视网膜的评分情况见表4:改良 Davidson 固定液组(10/10, 100%)和自研固定液组(10/10, 100%)的视网膜评分集中在0分(正常)和1分(轻微);10% 甲醛组(10/10, 100%)均在3分(中度)和4分(重度);戊二醛-甲醛组效果不稳定,评分分散(2~4分,轻微~重度)。与改良 Davidson 固定液组相比,戊二醛-甲醛组和10% 甲醛组的固定效果明显较差,自研固定液组无显著差异。

2.2.4 不同固定液组眼球各部位的形态学观察结果

各组眼球不同部位的形态学观察统计结果显示(表5):在角膜结构中,戊二醛-甲醛的固定效果明显好于其余3组;在晶状体结构中,改良 Davidson 固定液的固定效果最差,自研固定液和戊二醛-甲醛固定液的固定效果最好;在视网膜结构中,改良 Davidson 固定液和自研固定液的固定效果最佳。

3 讨论

在眼科病理研究中,固定液的选择是影响组织切片质量的关键因素。固定液的化学成分、pH值及固定时间等参数均会影响组织固定效果,从而进一步影响后续实验的可靠性^[8]。若选用不适宜的固定液或固定时间不足,可能引发视网膜层间分离等人工假象,不仅会降低组织制片的结构完整性、影响特定染色的显色效果,更可能损害病理诊断的准确性,并对相关科学研究结论的有效性造成干扰。体积分数为10%的甲醛溶液因其优异的组织固定特性,在病理学研究中应用广泛。该固定剂分子可与蛋白质中的多种氨基酸(如赖氨酸、精氨酸等)发生交联反应,具有渗透性

表5 不同固定液对大鼠眼球各部位切片的制备的效果评价

Table 5 Evaluation of sectioning quality of different parts of rat eyeballs in different fixative groups

($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别 Group	角膜 Cornea	晶状体 Lens	视网膜 Retina
改良 Davidson 固定液组(Modified Davidson 's fixative group)	3.80±0.42	4.00±0.00	0.20±0.42
10% 甲醛组(10% Formaldehyde group)	2.80±0.79**	2.30±0.67**	3.90±0.32**
戊二醛-甲醛组(Glutaraldehyde-formaldehyde group)	0.40±0.52**	1.10±0.74**	2.70±0.67**
自研固定液组(Self-developed fixative group)	3.70±0.48	1.00±0.67**	0.10±0.32

注: 10% 甲醛组、戊二醛-甲醛组、自研固定液组均与改良 Davidson 固定液组比较, ** $P<0.01$ 。

Note: The 10% formaldehyde group, glutaraldehyde-formaldehyde group, and self-developed fixative group were compared with the modified Davidson 's fixative group, ** $P<0.01$.

强、固定均匀的特点, 对多数组织脏器的收缩效应较小, 能较好地保持组织弹性^[9]。然而, 本研究观察到, 眼球样本在 10% 甲醛固定液中固定约 2 h 后即出现明显的收缩和塌陷。在固定结束后切开眼球, 发现视网膜与脉络膜/巩膜层、肌肉层结构松散, 已呈现分离趋势。实验结果显示, 所有经甲醛固定的眼球均出现明显的整体收缩, 角膜基质层可见断裂, 晶状体大体结构基本完整, 视网膜出现层间分离及碎片化等严重病理假象。本研究认为, 可能是眼球壁结构致密, 甲醛难以迅速渗透至眼球内部, 导致内外固定不均, 从而引起结构塌陷。此外, 后续病理制样过程中使用的乙醇、二甲苯等有机试剂进一步加剧了视网膜结构的剥离。上述结果表明, 单一使用甲醛溶液难以满足眼球组织的理想固定要求。

戊二醛-甲醛混合固定液由戊二醛、甲醛及 PBS 按特定比例配制而成。实验结果显示, 该混合固定液对角膜和晶状体的固定效果良好。其优势主要源于甲醛的快速均匀渗透能力与戊二醛的双醛基结构的协同作用: 戊二醛可与蛋白质中的氨基、巯基等基团形成更广泛的交联网络, 从而更有效地稳定细胞的超微结构^[10-11]。两者联合使用可显著提升固定效果, 减少晶状体的收缩变形。在本研究中, 该混合固定液是 4 组固定液中唯一能良好保持角膜结构的固定液。然而, 从眼球整体观察来看, 所有样本均出现明显收缩和褶皱, 视网膜也普遍存在层间分离现象。这主要是由于眼球壁组织结构的异质性: 视网膜为薄层脆弱的神经组织, 中间的脉络膜富含血管和胶原蛋白网络, 而外层的巩膜则由致密的胶原纤维组成。各层间的结构和成分差异导致它们在固定过程中收缩程度不一致, 进而引发视网膜层间分离。因此, 尽管戊二醛-甲醛混合固定液在角膜和晶状体中显示出良好的固定效果, 但

对维持眼球整体形态及保持视网膜结构方面仍存在一定的局限性。

改良 Davidson 固定液是一种由乙醇、冰醋酸和甲醛组成的复合固定液, 其独特配方通过各组分的协同作用实现固定效果的优化。实验结果显示, 经该固定液处理后的眼球整体形态保持圆润, 视网膜结构完整、无断裂, 细胞层次清晰可辨。这一性能可归因于各组分的功能互补: 甲醛提供基础交联固定作用; 冰醋酸具有组织膨胀效应及双亲性(兼具亲水性和亲脂性), 可显著提高固定液在组织中的渗透速率与组织均匀性^[12]; 而乙醇则通过脱水作用抵消由冰醋酸引起的过度膨胀^[13-15], 从而在维持眼球形态的同时, 保障视网膜结构的完整性。然而, 该固定液也表现出一定的局限性。所有样本的角膜基质层均出现明显断裂, 可能与其中富含的胶原纤维和糖胺聚糖对酸性环境较为敏感有关。有研究指出, 冰醋酸可破坏胶原纤维的稳定性^[16], 导致基质结构松散。此外, 固定后的晶状体硬度较高, 切片中可见不同程度的破碎或脱片, 推测酸性条件引起晶状体蛋白构象改变、聚集沉淀, 从而增加了组织脆性^[17]。综上所述, 改良 Davidson 固定液虽能够较好地维持眼球整体形态并实现视网膜的有效固定, 目前已被广泛应用于实验室及工业场景中, 但仍不适用于以晶状体或角膜为重点研究对象的组织固定工作。

基于上述常用固定液的局限性, 本研究团队开发了一种新型复合眼球固定液。该固定液在戊二醛-甲醛体系的基础上, 创新性地引入了冰醋酸与丙酮作为功能性调节组分。实验结果显示, 经该固定液处理后的眼球形态保持圆润, 未出现明显收缩或变形; 晶状体结构明显软化, 并可完整切片; 视网膜亦保持完整, 未发生层间分离或断裂。这一改善主要归因于丙酮的

独特调控作用。作为一种极性有机溶剂，丙酮兼具脂溶性与强脱水能力：一方面可溶解晶状体纤维细胞的脂质双分子层，显著增加膜通透性^[18-20]；另一方面通过破坏晶状体蛋白的水合层，促使细胞内蛋白发生沉淀，形成致密的“蛋白凝胶”^[21-22]。在此基础上，戊二醛-甲醛体系通过高效交联将细胞内容物（如线粒体、溶酶体内质网等）稳固于细胞内，从而实现对细胞的良好固定作用。此外，由于晶状体纤维细胞的脂质膜被溶解，石蜡可以快速浸入细胞间隙，为脱水后的组织蛋白提供足够的硬度和支撑力，使得切片时晶状体不易碎裂^[23]，从而实现整体“软化”效果。三者的协同作用显著提升了固定液对组织的固定质量。尽管如此，该固定液仍存在一定局限：所有样本的角膜基质层仍可见明显裂隙，推测是配方中冰醋酸成分对胶原结构的破坏作用所致。

综合上述的系统性评估结果，4种固定液中，改良Davidson固定液和自研固定液均能良好维持眼球整体形态，固定后眼球保持圆润且无明显收缩。当需要对角膜进行研究时，推荐使用戊二醛-甲醛固定液；当需要对晶状体与视网膜同时进行研究时，更推荐使用本研究研制的固定液，而不建议采用目前实验室常用的改良Davidson固定液。传统的10%甲醛固定液会导致明显的眼球收缩和视网膜分离，不建议用于眼球组织固定。

在将本实验结果推广至不同种属实验动物眼球固定时，本研究结论仍具有参考价值。对于小鼠、豚鼠等啮齿类动物，因动物体型差异不大，且其眼球在角膜厚度、晶状体形态及视网膜层次结构等方面与大鼠高度相似^[24]，本固定液具备良好的可推广性。然而，对于比格犬、食蟹猴等非啮齿类动物，由于体型差异大，且其眼球体积显著大于大鼠，外膜结构也更厚，需根据其组织特性对固定液的配比和成分进行相应调整，以实现更理想的固定效果。

[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上海中医药大学实验动物伦理委员会审查批准（动物伦理件批号为PZSHUTCM220926006）。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 animal experiments involved in this study have been approved by the Animal Ethics Committee of Shanghai University of Traditional Chinese Medicine (Approval No. PZSHUTCM220926006). All experimental procedures were conducted in accordance with the relevant laws and regulations for laboratory animals in China.

[作者贡献 Author Contribution]

唐小杭负责初稿撰写、实验实施、眼球病理制片；
谷颖敏负责动物采购、饲养及设备管理；
吕阳阳负责实验材料准备与数据收集；
黄明珠负责病理诊断及文稿修订；
田雪松负责实验设计、监督指导、文章修改及提供基金资助。

[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]

- 成前, 李月, 王伟进, 等. 中国老年人口健康状况及其家庭照料需求预测[J]. 人口学刊, 2024, 46(5):73-89. DOI: 10.16405/j.cnki.1004-129X.2024.05.005.
CHENG Q, LI Y, WANG W J, et al. The prediction of health status and family care needs of the elderly people in China[J]. Popul J, 2024, 46(5):73-89. DOI: 10.16405/j.cnki.1004-129X.2024.05.005.
- 王余萍, 袁源智. 青光眼视神经损害机制[J]. 中国临床医学, 2016, 23(5):667-671. DOI: 10.12025/j.issn.1008-6358.2016.20160290.
WANG Y P, YUAN Y Z. Mechanisms of glaucomatous optic neuropathy[J]. Chin J Clin Med, 2016, 23(5):667-671. DOI: 10.12025/j.issn.1008-6358.2016.20160290.
- 蔡永民. 白内障发病机制及治疗进展研究[J]. 医学理论与实践, 2020, 33(15):2450-2452. DOI: 10.19381/j.issn.1001-7585.2020.15.012.
CAI Y M. Research on pathogenesis and therapeutic advances of cataract[J]. J Med Theory Pract, 2020, 33(15):2450-2452. DOI: 10.19381/j.issn.1001-7585.2020.15.012.
- 葛军, 朱思泉. 中医药治疗老年性黄斑变性的研究进展[J]. 中医临床研究, 2023, 15(21):74-78. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7860.2023.21.014.
GE J, ZHU S Q. A review on the TCM treatment of age-related macular degeneration[J]. Clin J Chin Med, 2023, 15(21):74-78. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7860.2023.21.014.
- 裴希. 螺内酯与缬沙坦对氧诱导小鼠视网膜病变新生血管抑制作用及机制的初步探讨[D]. 广州: 南方医科大学, 2014.
PEI X. A Preliminary Study on the Inhibitory effects and mechanisms of spironolactone and valsartan on oxygen-induced retinopathy neovascularization in mice[D]. Guangzhou: Southern Medical University, 2014.
- 孙河龙, 李耀洋, 李丹, 等. 组织固定液与固定方法选择的探讨[J]. 甘肃医药, 2019, 38(12):1061-1064, 1069. DOI: 10.15975/j.cnki.gsy.2019.12.002.
SUN H L, LI Y Y, LI D, et al. Selection of tissue fixation fluid and fixation method[J]. Gansu Med J, 2019, 38(12):1061-1064, 1069. DOI: 10.15975/j.cnki.gsy.2019.12.002.
- SCHAFFER K A, EIGHMY J, FIKES J D, et al. Use of severity grades to characterize histopathologic changes[J]. Toxicol Pathol, 2018, 46(3):256-265. DOI: 10.1177/0192623318761348.
- 李晶晶, 朱鸿, 施彩虹. 三种方法对大鼠视网膜固定效果的比较研究[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2011, 31(8):1105-1107. DOI: 10.3969/j.issn.1674-8115.2011.08.013.
LI J J, ZHU H, SHI C H. Outcomes of rat retina fixation with

- three different methods[J]. J Shanghai Jiaotong Univ Med Sci, 2011, 31(8):1105-1107. DOI: 10.3969/j.issn.1674-8115.2011.08.013.
- [9] 王松涛, 肖虹蕾, 王敏, 等. 四种不同固定液固定小鼠视网膜效果的比较研究[J]. 眼科新进展, 2016, 36(8):709-712. DOI: 10.13389/j.cnki.rao.2016.0188.
WANG S T, XIAO H L, WANG M, et al. Comparative study of mouse retinal fixation outcomes with four different fixation solutions[J]. Recent Adv Ophthalmol, 2016, 36(8): 709-712. DOI: 10.13389/j.cnki.rao.2016.0188.
- [10] 张遐, 鞠躬, 董光皎. 甲醛和戊二醛应用于神经系统免疫组织化学组织固定的特性分析[J]. 神经解剖学杂志, 1990, 6(2):249-256.
ZHANG X, JU G, DONG G J. Analysis of the properties of formaldehyde and glutaraldehyde for tissue fixation in neural system immunohistochemistry [J]. Chin J Neuroanat, 1990, 6(2):249-256.
- [11] 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.
- [12] 张文忻, 李永平, 林健贤, 等. 冰醋酸固定液对视网膜组织固定效果的探讨[J]. 眼科学报, 2006, 22(2):112-114. DOI: 10.3969/j.issn.1000-4432.2006.02.012.
ZHANG W X, LI Y P, LIN J X, et al. The investigation of FFA fixative solution for retina[J]. Eye Sci, 2006, 22(2):112-114. DOI: 10.3969/j.issn.1000-4432.2006.02.012.
- [13] 赵宝忠, 刘俊华, 高俊琴, 等. 乙醇类固定剂对组织细胞处理性能的实验评价[J]. 临床与实验病理学杂志, 2012, 28(2):223-225. DOI: 10.3969/j.issn.1001-7399.2012.02.033.
ZHAO B Z, LIU J H, GAO J Q, et al. Experimental evaluation of ethanol-based fixatives for the processing of tissues and cells [J]. Chin J Clin Exp Pathol, 2012, 28(2):223-225. DOI: 10.3969/j.issn.1001-7399.2012.02.033.
- [14] TOKUDA K, BARON B, KURAMITSU Y, et al. Optimization of fixative solution for retinal morphology: a comparison with Davidson's fixative and other fixation solutions[J]. Jpn J Ophthalmol, 2018, 62(4): 481-490. DOI: 10.1007/s10384-018-0592-7.
- [15] 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.
- [16] BAK S Y, LEE S W, CHOI C H, et al. Assessment of the influence of acetic acid residue on type I collagen during isolation and characterization[J]. Materials, 2018, 11(12): 2518. DOI: 10.3390/ma11122518.
- [17] 郭志鲲. 蛋白质变性作用研究动向[J]. 生物化学与生物物理进展, 1974, 1(4):16-22, 49. DOI: CNKI:SUN:SHSW.0.1974-04-006.
GUO Z K. Advances in the study of protein denaturation[J]. Prog Biochem Biophys, 1974, 1(4):16-22, 49. DOI: CNKI:SUN:SHSW.0.1974-04-006.
- [18] POSOKHOV Y O, KYRYCHENKO A. Effect of acetone accumulation on structure and dynamics of lipid membranes studied by molecular dynamics simulations[J]. Comput Biol Chem, 2013, 46: 23-31. DOI: 10.1016/j.compbiolchem. 2013.04.005.
- [19] AL-GHOUL K J, COSTELLO M J. Fiber cell morphology and cytoplasmic texture in cataractous and normal human lens nuclei[J]. Curr Eye Res, 1996, 15(5):533-542. DOI: 10.3109/02713689609000764.
- [20] 常晓杰, 徐颖超, 刘畅. 不同实验方法检测常用有机溶剂对细菌活性的影响及其安全使用限量[J]. 微生物学通报, 2016, 43(7): 1635-1645. DOI: 10.13344/j.microbiol.china.150595.
CHANG X J, XU Y C, LIU C. Effects of common solvent concentrations on bacterial activities[J]. Microbiol China, 2016, 43(7):1635-1645. DOI: 10.13344/j.microbiol.china.150595.
- [21] 黄熙泰, 于自然, 李翠凤. 现代生物化学[M]. 3版. 北京: 化学工业出版社, 2012.
HUANG X T, YU Z R, LI C F. Modern Biochemistry[M]. 3rd. Beijing: Chemical Industry Press, 2012.
- [22] ZAZERI G, POVINELLI A P R, PAVAN N M, et al. Solvent-induced lag phase during the formation of lysozyme amyloid fibrils triggered by sodium dodecyl sulfate: biophysical experimental and in silico study of solvent effects[J]. Molecules, 2023, 28(19): 6891. DOI: 10.3390/molecules 28196891.
- [23] SUN N, SHIBATA B, HESS J F, et al. An alternative means of retaining ocular structure and improving immunoreactivity for light microscopy studies[J]. Mol Vis, 2015, 21:428-442.
- [24] 秦川. 实验动物比较组织学彩色图谱[M]. 北京: 科学出版社, 2017: 234-241, 247.
Qin C. Color atlas of comparative histology of laboratory animals[M]. Beijing: Science Press, 2017: 234-241, 247.

(收稿日期: 2025-02-27 修回日期: 2025-10-18)

(本文编辑: 周培)

[引用本文]

唐小杭, 谷颖敏, 吕阳阳, 等. 一种自研固定液用于制备大鼠眼球切片的组织学染色效果评价[J]. 实验动物与比较医学, 2026, 46(2): 261-270. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2025.083.

TANG X H, GU Y M, LÜ Y Y, et al. Evaluation of the histological staining performance of rat eyeball sections prepared using a self-developed fixative[J]. Lab Anim Comp Med, 2026, 46(2): 261-270. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2025.083.