

DOI: <https://doi.org/10.17816/1026-3543-2021-159-1-29-32>

Фиксация цинк-формалином как адекватная замена ценкер-формола при гистохимическом выявлении островковых клеток поджелудочной железы

В.Н. Манских

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Цель. Установить возможность использования фиксации цинк-формалином вместо ценкер-формола для избирательного выявления всех основных типов клеток островков Лангерганса поджелудочной железы (А, В, D) с помощью окраски классическими гистохимическими методами, направленными на выявление этих клеток.

Материал и методы. Образцы поджелудочной железы голого землекопа (*Heterocephalus glaber*, Rüppell, 1842) были зафиксированы в течение суток в цинк-формалиновом фиксаторе следующего состава: 37% формальдегид – 300 мл, хлорид цинка – 50 г, ледяная уксусная кислота – 1,9 мл, дистиллированная вода – 2 л. После фиксации следовала стандартная процедура заливки в парафин и окраски азаном Гейденгайна и комбинацией азана и паральдегид-фуксина Гомори по рутинным протоколам.

Результаты. Обнаружено, что отчётливую дифференциальную окраску всех 3 мажорных типов островковых клеток можно получить, если зафиксировать образцы поджелудочной железы в течение суток в цинк-формалиновом фиксаторе. При этом, как и после фиксации ценкер-формолом (но не формалином или жидкостью Буэна), отчётливо выявляются не только А и В, но и D-клетки. Сопоставление с иммуногистохимическими данными картины распределения различных клеток в островке голого землекопа, выявленной гистохимическими окрасками показало их полное совпадение.

Выводы. Цинк-формалин может быть использован как более удобный и безопасный фиксатор для выявления клеток островков Лангерганса (в том числе и D-клеток) с помощью окрасок азаном Гейденгайна и паральдегид-фуксином по Гомори вместо содержащего соль ртути ценкер-формола.

Ключевые слова: цинк-формалин; D-клетки поджелудочной железы; гистохимические методы.

Как цитировать:

Манских В.Н. Фиксация цинк-формалином как адекватная замена ценкер-формола при гистохимическом выявлении островковых клеток поджелудочной железы. Морфология. 2021. Т. 159, №1, С. 29–32. DOI: <https://doi.org/10.17816/1026-3543-2021-159-1-29-32>

DOI: <https://doi.org/10.17816/1026-3543-2021-159-1-29-32>

Fixation with zinc-formalin as an adequate substitution of Zenker-formol for the histochemical staining of the pancreatic islet cells

Vasily N. Manskikh

M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

AIM: The work aimed to determine the possibility of using zinc-formalin fixation instead of Zenker-formol to identify selectively all the main types of cells (A, B, D) of the pancreatic Langerhans islets by staining using classical histochemical methods.

MATERIALS AND METHODS: Pancreatic samples of the naked mole rat (*Heterocephalus glaber*, Rüppell, 1842) were fixed for 24 hours in zinc-formalin fixative containing 300 ml of 37% formaldehyde, 50 g of zinc chloride, 1.9 ml of glacial acetic acid, and 2 L of distilled water. After fixation, the standard procedures for paraffin embedding and staining with Heidenhain's azan and a combination of azan and Gomori's paraldehyde-fuchsin were performed according to routine protocols.

RESULTS: It was revealed that a distinctive differential staining of all three major types of islet cells can be obtained if pancreatic samples are fixed in a zinc-formalin fixative for 24 hours. At the same time, as after fixation with Zenker-formol (but not with formalin solution or Bouin fixative), not only A and B, but also D-cells are clearly identified. Comparison of the immunohistochemical data on the distribution pattern of various cells in the pancreatic islet in a naked mole rat with that detected by histochemical stains showed their complete coincidence.

CONCLUSIONS: Zinc-formalin can be used as a more convenient and safer fixative for detecting Langerhans islet cells (including D cells) by staining with Heidenhain's azan and Gomori's paraldehyde-fuchsin instead of mercury salt-containing Zenker-formol.

Keywords: zinc-formalin; pancreatic D-cells; histochemical methods.

To cite this article:

Manskikh VN. Fixation with zinc-formalin as an adequate substitution of zenker-formol for the histochemical staining of the pancreatic islet cells. *Morphology*. 2021;159(1):29–32. DOI: <https://doi.org/10.17816/1026-3543-2021-159-1-29-32>

Received: 11.04.2021

Accepted: 17.12.2021

Published: 04.03.2022

Для выявления разных типов клеток поджелудочной железы до сих пор остаются вполне валидными гистохимические методы (окраска азаном Гейденгайна, хромовым гематоксилином-флюксином и паральдегид-фуксином по Гомори) наряду с электронно-микроскопическими и иммуногистохимическими способами [1–3]. При этом первые имеют некоторые явные преимущества: они многократно дешевле, отличаются экономией времени и, в сравнении с иммуногистохимией, могут быть использованы даже для работы с теми видами животных, для клеток которых нет коммерческих антител.

Для гистохимического окрашивания А- и В-клеток обычно рекомендуют фиксацию образцов смесью Буэна [2]. Эта смесь, однако, не оптимальна, если в дальнейшем потребуется иммуногистохимическое исследование. Кроме того, ещё в 1931 г. W. Bloom обнаружил, что в поджелудочной железе человека и некоторых животных (морских свинок) можно выявить ещё один тип клеток (впоследствии названный D-клетками), если материал зафиксировать центер-формолом по Максимуму и окрасить азаном [4]. Эти клетки совершенно не окрашиваются, если материал зафиксирован другими смесями (Карнуа, Буэна, фосфатно-солевым раствором формалином) [3]. Однако

сегодня центер-формол можно отнести к довольно редко используемым фиксаторам, поскольку он содержит в своём составе очень токсичную соль ртути (сулему), приобретение, хранение и утилизация которой сопряжены со значительными трудностями. Кроме того, он не очень удобен, так как требует дополнительной процедуры удаления из препаратов ртутных осадков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Автором настоящей заметки при исследовании микроскопической анатомии нового лабораторного грызуна, голого землекопа (*Heterocephalus glaber*, Rüppell, 1842), было впервые обнаружено, что отчётливую дифференциальную окраску всех трёх мажорных типов островковых клеток можно получить, если зафиксировать образцы поджелудочной железы в течение суток в цинк-формалиновом фиксаторе следующего состава: 37% формальдегид – 300 мл, хлорид цинка (марки ХЧ) – 50 г, ледяная уксусная кислота – 1,9 мл, дистиллированная вода – 2 л [5].

После заливки в парафин по рутинной процедуре и применении стандартной окраски азаном удалось выявить все 3 типа островковых клеток (рис. а): окрашенные

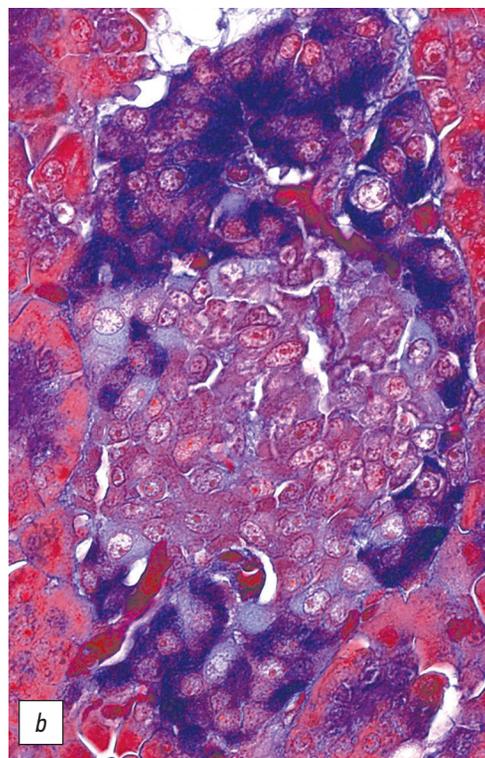
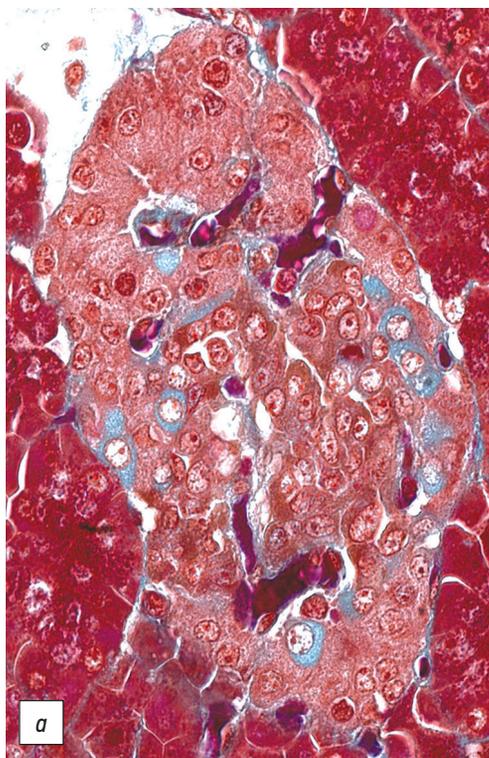


Рис. Островок поджелудочной железы голого землекопа (*Heterocephalus glaber*): *a* – окраска азаном (со световым зелёным в смеси Маллори), цитоплазма А-клеток – красно-коричневая, В-клеток – розовая, D-клеток – нежно-зелёная; *b* – окраска азаном в комбинации с паральдегид-фуксином по Гомори, цитоплазма А-клеток – тёмно-красная, В-клеток – тёмно-фиолетовая, D-клеток – серо-голубая. В обоих случаях ядра окрашены азокармином в красный цвет. Ок. $\times 10$, об. $\times 100$

Fig. Pancreatic islet of a naked mole rat (*Heterocephalus glaber*): *a* – azan staining (with light green in Mallory's mixture), cytoplasm of A-cells is red-brown, that of B-cells is pink, that of D-cells is pale green; *b* – staining with azan in combination with Gomori's paraldehde-fuchsin, the cytoplasm of A-cells is dark red, that of B-cells is dark purple, that of D-cells is gray-blue. In both cases, the nuclei are stained red with azocarmine. Ocular $\times 10$, lens $\times 100$

в кирпично-красный цвет А-клетки (центр островка), буровато-розовые В-клетки (периферия островка) и светло-зелёные (или голубые, в зависимости от того, добавлен ли в смесь Маллори световой зелёный или анилиновый синий) D-клетки (на границе зон А- и В-клеток). Окраску удалось легко скombинировать с паральдегид-фуксином по Гомори, что дало ещё более контрастное окрашивание В-клеток, приобретших тёмно-фиолетовый цвет (рис. b). Сопоставление с иммуногистохимическими данными [6] картины распределения различных клеток в островке, выявленной гистохимическими окрасками, показало их полное совпадение.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, фиксация цинк-формалином позволяет выявлять с помощью классических гистохимических методов все 3 основных типа клеток островков Лангерганса (в том числе и D-клетки). Этот фиксатор хорошо (лучше, чем фосфатно-солевой раствор формалина) сохраняет структуру ткани и не только подходит, но даже рекомендован для фиксации

с иммуногистохимическими целями (если последнее будет необходимо) [5]. Он не содержит солей ртути и потому работа с ним не сопряжена с соответствующими трудностями и опасностями.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ / ADDITIONAL INFO

Источник финансирования. Автор заявляет об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Автор подтверждает соответствие своего авторства международным критериям ICMJE и одобрил финальную версию перед публикацией.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Competing interests. The author declare that he have no competing interests.

Author contribution. The author confirms the compliance of his authorship, according to international ICMJE criteria and approved the final version to be published.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Никонова Л.Г. Преобразования а-клеток панкреатических островков после физических нагрузок при нарушении толерантности к глюкозе // Морфология. 2016. Т. 150, № 5. С. 68–70.
2. Торопцев И.В., Ещенко В.А. Экспериментальный дитизоновый диабет. Томск: Издательство Томского университета, 1975.
3. Baskin D.G. A historical perspective on the identification of cell types in pancreatic islets of Langerhans by staining and histochemical techniques // J. Histochem. Cytochem. 2015. Vol. 63. P. 543–558. doi: 10.1369/0022155415589119

4. Bloom W. New type of granular cell in islets of Langerhans of man // Anat. Rec. 1931. Vol. 49. P. 363–371.
5. Коржевский Д.Э., Гиляров А.В. Основы гистологической техники. Санкт-Петербург: СпецЛит, 2010.
6. Kramer B., Buffenstein R. The pancreas of the naked mole-rat (*Heterocephalus glaber*): an ultrastructural and immunocytochemical study of the endocrine component of thermoneutral and cold acclimated animals // Gen. Comp. Endocrinol. 2004. Vol. 139. P. 206–214. doi: 10.1016/j.ygcen.2004.09.006

REFERENCES

1. Nikonova LG. Changes of pancreatic islet a cells after physical loads in glucose tolerance impairment. *Morfologija*. 2016;150(5): 68–70. (In Russ).
2. Toroptsev IV, Eschenko VA. Experimental ditisonian diabetes. Tomsk: Tomsk University Press, 1975. (In Russ).
3. Baskin DG. A historical perspective on the identification of cell types in pancreatic islets of Langerhans by staining and histochemical techniques. *J. Histochem. Cytochem*. 2015;63:543–558. doi: 10.1369/0022155415589119

4. Bloom W. New type of granular cell in islets of Langerhans of man. *Anat. Rec*. 1931;49:363–371.
5. Korzhevskii DE, Giliarov AV. Basic histological techniques. SpecLit Press, 2010. (In Russ).
6. Kramer B, Buffenstein R. The pancreas of the naked mole-rat (*Heterocephalus glaber*): an ultrastructural and immunocytochemical study of the endocrine component of thermoneutral and cold acclimated animals. *Gen. Comp. Endocrinol*. 2004;139:206–214. doi: 10.1016/j.ygcen.2004.09.006

ОБ АВТОРЕ

Манских Василий Николаевич;

адрес: 119991, Москва, Ленинские горы, д.1, стр.73;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6404-8105>;

eLibrary SPIN: AuthorID: 584731;

e-mail: manskikh@mail.ru

AUTHOR INFO

Manskikh Vasilij Nikolaevich;

Adress: Leninskie Gory, 1, bld. 73, 119991, Moscow, Russian Federation;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6404-8105>;

eLibrary SPIN: author ID: 584731;

e-mail: manskikh@mail.ru