维普资讯 http://www.cqvip.com

Combined use of propofol and small dose of ketamine for induced abortion

Liu Danyan, et al
Department of anesthesiology, college of clinical medicine

Fifty females(ASA1－2)scheduled for termination of pregnancy were randomized into 2 equal groups. Group 1 was infused intravenously with propofol 1mg/kg and ketamine0.2mg/kg and Group 2 with propofol 2～2.5mg/kg alone. In both, additional dose of 20～30mg propofol was given if necessery. Blood pressure, heart rate and SpO_2 were monitored continuously before and after the administration of anesthetics. The duration of anesthetion, the time of regaining consciousness and the total amount of propofol were recorded. This study show that small dose of ketamine can enhance the action of propofol. Addition of ketamine does not cause circulatory and respiratory inhibition and there is no influence on the quality of anesthesia. The patients become conscious at usual time. It is concluded that both propofol alone and combined use of propofol and ketamine are effective and safe in anesthesia for induced abortion, but the latter seems better

KEY WORDS Propfol; Ketamine; Abortion

178-179 肝实质细胞、纯化、Percoll液、 22

简化Percoll密度梯度离心法快速纯化肝实质细胞*

临床生化教研室 徐 勇** 涂植光 康格非

中图分类号 R329-33

我们采用胶原酶原位灌流法分离了大鼠肝细胞，经摸索用35%(V/V)缓冲的Percoll液对获得的肝细胞悬液进行密度梯度离心，在低速离心的条件下(1000～1200r/min)即可快速、大量地获得活率、纯度都极高的单个肝实质细胞，而且同一次试验中所用Percoll液可反复使用，细胞产量完全可满足实验要求，极适合一般实验室开展。

1 材料与方法

1.1 **试剂** Ⅳ型胶原酶、William's E(WE)培养基均购自Sigma，Percoll购自Pharmacia，其余试剂均为国产分析纯。

1.2 **方法**

1.2.1 分离液配制 取90ml Percoll原液，加入10ml10×PBS混匀，制成缓冲的Percoll液，再用1×PBS调整Percoll浓度为35%(V/V)，其密度约为1.08～1.09g/ml，渗量浓度为315 mOsm/kg H_2O。

1.2.2 肝细胞分离 按我们已报导的方法[1]，用胶原酶原位灌流法分离肝细胞，将得到的细胞悬液用单层纱布过滤后在37℃水浴振动孵育15min；取出放冰水中5min后，用100目筛网过滤，用WE培养基调整细胞密度为3～5×10^6个/ml。

1.2.3 肝细胞纯化 取制备好的分离液，按5:3的比例加入上述细胞悬液(分离液5份，细胞悬液3份)。细胞悬液用吸管吸取后小心铺垫在分离液表面，然后1000～1200r/min离心10min，此时可分为四层：最上层清亮为WE培养基；第二层为死细胞，细胞碎片和大部分肝血窦内皮细胞；第三层为分离液；最下层的沉淀为富含活细胞的肝实质细胞层。小心取弃第一、二层，回收分离液层可用于再一次纯化。沉淀的

* 四川省卫生厅科研基金资助(960082)
** 男，1969－09出生，博士生

维普资讯 http://www.cqvip.com

肝细胞用适当体积培养基重悬可立即用于试验(如肝细胞原代培养或胞内Ca^{2+}测定等)。

2 结果

每次分离、纯化后均用台盼兰排斥试验检测细胞活率、纯度并计算细胞产量。

表 Percoll密度梯度离心后肝细胞的特征

动物(号)	纯化后产量(个/只大鼠)	活率(%)	纯度(%)
1	4.52×10^8	96.3	90
2	1.44×10^8	96	87.6
3	4.95×10^8	95.4	91.2
4	3.76×10^8	98.3	93.2
5	3.93×10^8	98	88.6
6	2.55×10^8	93.2	87.2

纯化前后细胞状态见图1，图2。由图可见纯化前死细胞及内皮细胞很多、纯化后基本上为活细胞，内皮细胞大大减少。

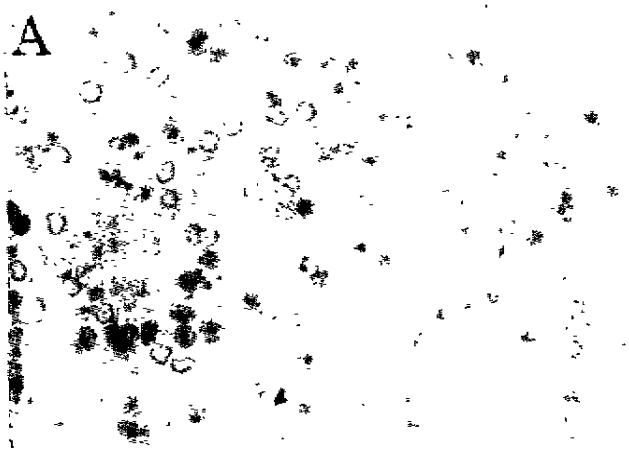


图1 纯化前肝脏细胞(1:1稀释)

3 讨论

Seglen等人[2]提出的胶原酶原位灌流法是肝细胞分离技术的一次跨跃，此法分离的肝细胞产量高，机械损伤小，细胞活率高；但灌流装置要求高，操作复杂。而根据我们的经验，由于国内仪器条件限制，在灌流过程中很难保证灌流液pH、O_2/CO_2分压及渗透压恒定在最佳状态；同时，不同公司不同批号的胶原酶中所含非特异性蛋白水解酶高低

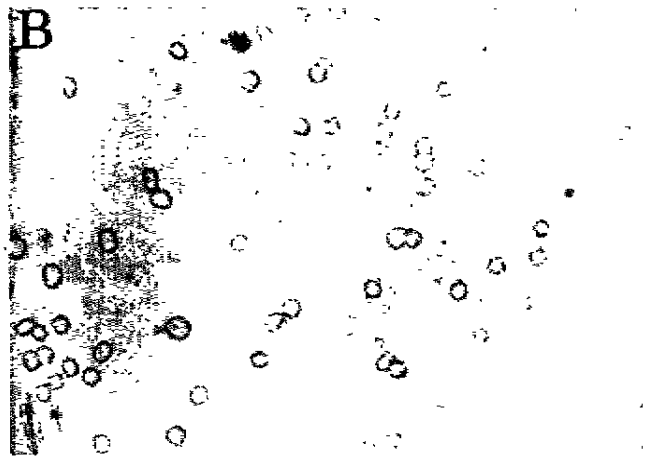


图2 纯化后肝细胞(1:2稀释)

不一，可对细胞造成不同程度的损害；此外操作过程中稍有不慎，如气泡混入、灌流不畅等，也可明显降低细胞活率，所以一般刚通过酶灌流法分离的肝细胞活率只有60%～80%。传统的差速离心纯化法耗时长，细胞损失大，而且不能很好地去除内皮细胞，同时我们也发现，刚分离下来的肝细胞难以耐受过多、过长时间的离心重悬处理。Percoll离心介质的出现为肝细胞纯化提供了方便，但现有的报导中要求预先将Percoll进行超速离心以获得预制梯度，或将Percoll与细胞一起超速离心进行自成梯度离心，条件要求高而费时、且回收麻烦，产量不高，在实际应用中很不实用。我们经过摸索认为，35%(V/V)的缓冲Percoll在1000～1200r/min离心条件下即可很好地用于肝细胞纯化，费时少，得率高，且回收的Percoll可再次用于纯化，效果很好，节省了费用。如果实验中确实需要高纯度肝细胞，也可采用超速离心法(纯度、活率可达100%)。纯化后的肝细胞也可用PBS或培养基洗2－3次以除去残余Percoll，但实际上Percoll的存在并不影响肝细胞的性能、状态[3]，故可直接用于一般的实验或培养。

参考文献

1.徐 勇，等.重庆医科大学学报 1997;22(4):305
2.Seglen P.O. In'Methods in CellBiology, Academic Press 1976;13:2
3.Pertoft H. et al. Exp Cell Res 1977;110:449

(收稿日期 1998－03－30)