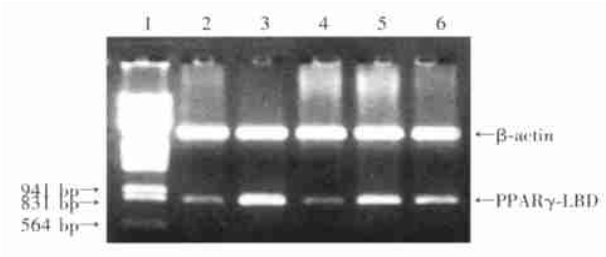
DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.09.035
第25卷第9期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 9
2003年5月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE May. 2003

脂糖凝胶电泳。由于β-actin和PPARγ-LBD PCR片段大小相近(800 bp左右),因此,电泳时DNA标准和PPARγ-LBD片段按正常电泳40 min,再上样β-actin PCR产物,相同条件电泳40 min,紫外灯下观察电泳结果,见图2。



1:λDNA/*Eco*RⅠ+*Hind*Ⅲ双切;2~6:为正常、肝癌、肝硬化、胆道淤集肝组织以及脂肪组织RNA的β-actin和PPARγ-LBD基因的RT-PCR产物

图2 不同组织RNA的RT-PCR电泳结果

3 讨论

RNA作为分子生物学的主要研究对象之一,它极易受到RNase的水解,在提取冻存组织RNA时为了避免内源性和外源性RNase对RNA的降解,本研究在提取RNA的过程主要进行了以下一些改进:①为了避免解冻时内源性组织RNase释放造成RNA的降解,取得组织后立即在冰上把需要的组织切成1~2 g左右小块,迅冻存于-70 ℃以下,这样每次提取RNA时就不必对组织块解冻分割。②为了避免把组织块解冻切成小块才能用匀浆器来破碎细胞,我们把冻存的组织块直接置于含有少量液氮的碾钵中碾成细细的粉末,然后加入Tripure试剂,涡旋器上高速振荡,便可达到破碎细胞释放出RNA的目的;这样提取RNA的组织总是处于低温或Tripure试剂的保护之中。③提取得到RNA沉淀以后,应特别小心防止外源性RNase污染,因为此时已无Tripure试剂中RNase抑制剂的保护,因此用75%的乙醇洗完后,再用无水乙醇洗1次,可以大大缩短RNA沉淀晾干的时间,可避免RNA在空气中暴露时间过长而增加外源RNase对RNA的降解。

分离纯化的RNA质量如何、是否被降解通常采用甲醛变性琼脂糖凝胶电泳方法来鉴定,以及进一步的RT-PCR来分析RNA作为逆转录模板的完整性。在提取的真核细胞总RNA中核糖体RNA(rRNA)占总RNA的90%以上,它们主要由28 S、18 S、5.8 S(5 S)组成,这3类rRNA的摩尔浓度大致相等,但他们的分子质量相差较大,在紫外灯下的亮度依次为28 S>18 S>5.8 S(5 S)。在电泳后能观察到28 S、18 S、5.8 S(5 S),特别是28 S清晰的带型,通常认为所提取的RNA未被降解,可以用提取的RNA进行后续实验。进一步RT-PCR分析RNA模板的完整性时我们以β-actin作为标准参照,检测不同组织或同种组织不同疾病时某一基因的mRNADH丰度,以此便可确定RNA模板性的优劣。实验结果表明,用此方法分离纯化的冻存组织RNA质量稳定可靠。

关键词:RNA;RT-PCR;Tripure试剂
中图法分类号:R394-33 文献标识码:B

参考文献:

[1] F奥斯伯,R E金斯顿,J G塞得曼,等.精编分子生物学实验指南[M].颜子颖,王海林译.北京:科学出版社,2001.123-126.
[2] 卢圣栋,马清钧,刘德培,等.现代分子生物学实验技术[M].第2版.北京:中国协和医科大学出版社,1999.139-144.
[3] J萨姆布鲁克,E弗里奇,T曼尼蒂斯.分子克隆实验指南[M].第2版.北京:科学出版社,1992.366-369.
[4] 曹廷兵,叶治家,巩 燕,等.一种快速鉴定RNA质量的方法[J].第三军医大学学报,2002,24(8):992-993.

(编辑 郭建秀)

文章编号:1000-5404(2003)09-0823-02

技术方法

术中颅脑B超辅助下的显微手术

Intraoperative ultrasound-guided microneurosurgical operation

吴 南,冯 华,王宪荣,朱 刚,高伯元 (第三军医大学附属西南医院神经外科,重庆 400038)

提 要:目的 总结术中颅脑B超在显微神经外科手术中的初步应用经验。方法 开颅后在硬脑膜外或硬脑膜下,使用ALOKA型B超,结合术前的影像学资料,进行病变定位,选择手术路径后,在显微镜下切除病变,并用B超判断切除程度。结果 30例病变中,29例定位准确。其中25例全切除,4例次全切除,术后2例症状加重,其余病人神经功能保留良好。讨论 术中颅脑B超可以实时显示病变的部位与轮廓,有助于病变的切除和减少手术副损伤。

作者简介:吴 南(1971-),男,河南省新乡县人,硕士,主治医师,讲师,主要从事功能神经外科方面的研究,发表论文7篇。电话:(023)68754000-73071
收稿日期:2002-03-21;修回日期:2002-05-28

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

能否准确定位是神经外科手术的难点，它直接影响到手术方案的选择与手术副损伤的大小，而颅脑B超在术中可以实时显示病变的轮廓。我科自2001年6月以来，在日本ALOKA型B超辅助下行显微手术30例，取得良好的手术效果，积累了一些经验，现结合临床资料报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本组30例中，男18例，女12例，年龄6~71岁，平均37.8岁。病程半月至3年。临床表现：头痛15例，肢体无力10例，肢体抽搐8例，视力下降4例，失语、面瘫、幻嗅各1例。病变部位：颞叶9例，额叶8例，顶枕叶8例，胼胝体2例，基底核、丘脑、小脑各1例。病变直径0.7~5.7 cm。其中27例病变位于皮层下。病理性质：胶质瘤14例，转移瘤6例，脓肿3例，淋巴瘤2例，血肿2例，脑膜瘤1例，顶叶内蛛网膜囊肿1例，寄生虫1例。

1.2 术中B超

使用日本ALOKA公司的SD-900颅脑术中扇形凸阵探头（型号UST-91045），探头9 mm×22 mm，发射频率5 MHz，它具有接触面小，显示面大的特点，并可做术中测量。

1.3 手术过程

开颅后在硬脑膜外或硬脑膜下，以B超扫描定位，显示病变的位置、轮廓，以及与正常脑室等结构的关系。定位后在手术显微镜（德国Leica公司，型号OHS-1）下切除病变。对于功能区病变，在B超辅助下选用潜行入路，减少神经功能损伤。在病变切除后再次行B超检查，了解病变切除程度。

2 结果

30例病变中，除1例病变因位置较深、体积较小显示困难外（皮层下深度超过6 cm，直径0.7 cm），其余29例病变显示清晰，定位准确。B超对于皮层下囊性或边界清楚的病变，具有明显的定位优势。30例病变中，25例全切，4例次全切除，其中7例功能区病变（运动区、语言区），在B超辅助下选用潜行入路，术后27例患者恢复良好，2例出现神经功能缺损加重，未出现死亡。

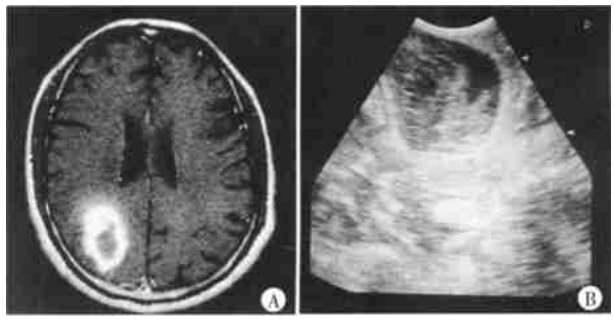
颅内病变的B超影像具有以下特点：

2.1 囊性病变

表现为无回声区或低回声区，回声区是否均匀取决于病变的性质。脓肿囊壁表现为界限清晰的厚薄不均的强回声；寄生虫囊壁菲薄，无回声区内可见点状强回声；蛛网膜囊肿囊壁界限清楚，回声均匀；脑内血肿呈占位性强回声团块，边界清晰，中心液化、边缘机化，呈囊样改变；转移癌囊变者多可在囊壁发现强回声的肿瘤结节，见图1。

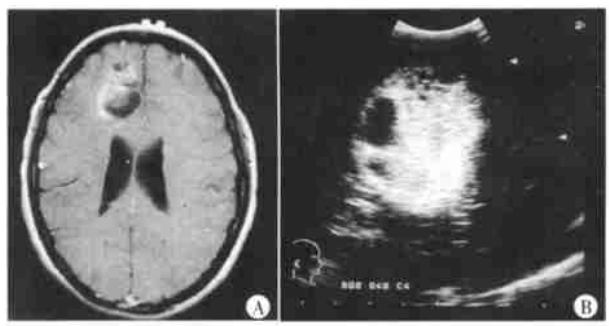
2.2 实质病变

表现为圆形、类圆形或不规则形强回声团块。胶质瘤边界欠清晰，呈增强或稍增强回声区，内部回声不均匀；转移瘤边界清晰，呈内部回声不均匀的强回声；脑膜瘤边界清晰，有包膜回声，呈密集细点状均匀强回声；淋巴瘤边界不清，呈等回声或弱回声，见图2。



A：MRI影像；B：B超影像

图1 右枕叶脑内血肿的影像



A：MRI影像；B：B超影像

图2 左额叶胶质瘤的影像

3 讨论

神经外科显微手术提高手术质量、减少副损伤的基础是准确定位。传统手术时，病变的定位主要取决于术者对影像资料的理解，开颅后对于皮层下病变的定位，主要依靠：观察局部脑沟是否变浅、脑回是否膨隆，触摸了解有无硬、软或囊性感，必要时以脑针穿刺了解有无阻力或落空感。所有这些间接征象，无法对病变整体轮廓的作出认识，缺乏客观性。而术中颅脑B超可以显示颅内病变的形态，使准确定位成为可能[1]。近年来B超图像质量不断改进，通过与CT、MRI清晰解剖结构的对比，对颅脑B超认识的进一步提高，B超在颅脑的使用才真正发展起来[2,3]。

我们使用ALOKA公司的颅脑术中扇形凸阵探头，探头9 mm×22 mm，发射频率5 MHz，开颅后使用，增加了超声波的透射率，图像质量良好。30例病变中，29例病变显示清晰，定位准确，减少了手术的副损伤。对于皮层造瘘口的选择标准：非功能区病变，选用最近距离，最小切口为原则；对于功能区病变，在B超引导下潜行入路，最大限度的保留了功能，又切除了病变，

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

取得了良好的手术效果。在切除病变后，再次行 B 超检查，可了解病变的切除程度，判断有无残留，提高了手术全切率。从我们有限的经验来看：颅脑术中 B 超定位准确，尤其对于皮层下囊性和边界清楚的病变，而且价格便宜，操作方便。对于囟门未闭合的婴儿和有减压窗的患者，还可直接行 B 超检查，了解颅内状况。

由于 B 超的图像质量受多种因素影响（如血流、空气、仪器等），它对空间和对比的判断，远远不如 CT、MRI 的影像，而且随着声波的逐渐衰减，远处病变结构显示困难。由于 B 超显示的是断面影像，临床医生只有熟练掌握非标准面断层解剖，才能增强对超声影像的认识。Strowitzki 等[4] 报道：使用 5 MHz 超声行肿瘤活检时，探头与靶点之间距离超过 5 cm，活检成功率降低。我们的一例病变也因位置较深、体积较小（皮层下深度超过 6 cm，直径 0.7 cm）定位困难。解决这个问题的方法就是超声与影像导航技术的结合[5,6]。

总之，通过术中颅脑 B 超的定位，可以提高显微手术切除颅内病变的成功率，减少手术损伤。

关键词：术中超声；显微神经外科手术
中图法分类号：R445.1；R651.11　　文献标识码：B

参考文献：

[1] 贾译清. 临床超声鉴别诊断学[M]. 南京：江苏科学技术出版社，1996. 17－45.
[2] LeRoux P D, Winter T C, Berger M S. A comparison between preoperative magnetic resonance and intraoperative ultrasound tumor volumes and margins [J]. J Clin Ultrasound, 1994, 22(1): 29－36.
[3] Woydt M, Krone A, Becker G. Correlation of intraoperative ultrasound with histopathological findings after tumour resection in supratentorial gliomas: A method to improve gross total tumour resection[J]. Acta Neurochir, 1996, 138(5): 1391－1398.
[4] Strowitzki M, Moringlane J R, Steudel W. Ultrasound-based navigation during intracranial burr hole procedures: exerience in a series of 100 cases [J]. Surg Neurol, 2000, 54(2): 134－144.
[5] Gronningsaeter A, Kleven A, Ommedal S. SonoWand, an ultrasound-based neuronavigation system[J]. Neurosurgery, 2000, 47(6): 1373－1379.
[6] Hata N, Dohi T, Iseki H. Development of a frameless and armless stereotactic neuronavigation system with ultrasonographic registration[J]. Neurosurgery, 1997, 41(3): 608－613.

（编辑　陈聪连）

文章编号：1000-5404(2003)09-0825-02

技术方法

白念珠菌芽管法药敏试验新方法

A new method for drug-sensitive test based on *C. albicans* germ

唐书谦，廖　军，钟白玉，叶庆佾　　（第三军医大学附属西南医院皮肤科，重庆 400038）

提　要：目的　通过药物对白念珠菌芽管抑制试验方法，建立一个对白念珠菌快速药敏试验的新方法。方法　在白念珠菌血清芽管试验方法的基础上，将一定浓度的药物与血清混合，再接种一定菌量的菌液，置 37 ℃温箱孵育 2～3 h（不超过 3 h）观察白念芽管生长情况，最终评估该药对白念芽管的抑制程度。结果　共用 5 种药物，其中黄连、姜黄、桂皮 3 种为常用中药，均对白念菌芽管有较明显的抑制作用。另 2 种为常用广谱抗真菌药物伊曲康唑（ECZ）和二性霉素 B。实验证明黄连抑制芽管的最低抑菌浓度（Minimal inhibitory concentration, MIC）为 125 μg/ml；姜黄抑制芽管的 MIC 为 62.5 μg/ml；桂皮抑制芽管的 MIC 为 500 μg/ml；二性霉素 B 抑制芽管的 MIC 为 5 μg/ml；ECZ 2 mg/ml 仍有芽管生长，其生长程度、数量与对照组比较无明显差异（$P>0.05$），其原因有待进一步探讨。结论　本实验方法作为对白念珠菌药敏试验的一个新方法探讨，虽然所试药物的抑菌作用 MIC 浓度与以往的报道相似，但该药敏试验方法简单、快速，并有利于临床即时粗筛白念珠菌抗菌药物，更有利于推广应用。

白念珠菌血清芽管试验法，是目前实验室鉴定白念珠菌的金标准方法之一，方法简单、快速，一般医院均能推广应用。本实验在白念珠菌血清芽管试验方法的基础上，将一定浓度的药物与血清混合，再接种一定菌量的菌液，置 37 ℃温箱孵育 2～3 h（不超过期 3 h）观察白念芽管生长情况，最终评估该药对白念芽管的抑制程度。本研究通过药物对白念珠菌芽管抑制试验的方法，拟建立一个对白念珠菌快速药敏试验的新方法。现将观察方法和实验结果报告如下。

1　方法与步骤

1.1　血清准备

正常人血清，来源于本院输血科（血库）。

作者简介：唐书谦（1939－），男，四川省大竹县人，主任技师，主要从事真菌学及免疫病理方面的研究。电话：（023）68754491

收稿日期：2002-01-20；修回日期：2002-07-06

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net