DOI:10.16016/j.1000-5404.1998.04.034

胞化学、Slot blot 等技术在小儿 ALL 和淋巴瘤细胞中 MDR1 基因的表达，认为 RT-PCR 和 ISH 在敏感性和特异性相近，并优于 Slot blot 和免疫细胞化学(ICC)。Helen 比较了多种检测 MDR1 的方法，Driscoll 用 ISH 和 PCR 技术检测了 MDR 细胞的基因表达，Dietel 用 PCR 的各种技术形式(包括原位 PCR)讨论了 PCR 在病理诊断中的价值，均一致认为 PCR 和原位杂交技术具有最高的阳性表达和协调一致性。我们的体会是 SAG-ISH 方法简单实用，杂交信号定位准确，一般的实验室即可开展，并避免了同位素的放射性污染问题，具有较广泛的应用前景。

由于原位杂交检测 MDR1 的报道不多，目前国内外尚无统一的原位杂交检测 MDR1 阳性的标准。杜氏[4]建议以阳性检出率大于 15% 为标准，并提出细胞阴性、弱阳性、阳性、强阳性的反应强度分级。我们的体会是阳性信号的强度与检测技术(如显影的时间、浓度、温度等)关系密切，尚须统一显影条件、杂交液体积、洗液的浓度、时间等多种因素，并进一步扩大病例数量进行研究为宜。

总之，SAG-ISH 不失为一种检测白血病细胞 MDR1 的好方法，MDR1 的检出在化疗中的作用应充分重视。

关键词 药物耐受性；白血病；原位杂交；链亲和素-胶体金

中图法分类号 R733.7

参考文献

1 齐君原，武永吉. 用 RT-PCR 法检测急性白血病患者 MDR1 基因表达. 临床血液学杂志，1996；9(3)：110

2 孙桂香，李惠芳，王观武等. 多药耐药基因在白血病细胞中的表达. 中华血液学杂志，1994；15(2)：61

3 Lin S F, Huang S M, Chen T P *et al*. MDR1 gene expression in acute myeloid leukemia: clinical correlation. J Formos Med Assoc, 1995; 94(3): 111

4 杜跃斌，艾辉胜，王桂林等. 链亲和素－胶体金原位杂交检测白血病多药耐药基因表达. 实验血液学杂志，1996；4(3)：299

5 Brophy N A, Marie J P, Rojas V A *et al*. Mdrl gene expression in childhood acute lymphoblastic leukemias and lymphomas: a critical evaluation by four techniques. Leukemia, 1994; 8(2): 327

(收稿：1997-04-29；修回：1998-03-05)

(编辑 刘 鹏)

对离子通道电活动记录中噪声变化的初步探讨

Preliminary study on the changes of background-noise in single ionic channel recording electrical activity

叶本兰* 舒崇湘** 程天民** 萧家思 (第三军医大学基础医学部生理学教研室) 重庆，400038

提 要 **目的**：研究放烧复合伤后血清成分对培养心肌细胞 L-型钙离子通道活动作用中膜片电活动背景噪声的变化，并初步探讨离子通道电活动记录中噪声的变化。**方法**：膜片钳离子通道 Cell-attached 记录法。**结果**：伤后血清低分子成分作用于心肌细胞，除使通道开放增加外，还使膜片噪声增加，阻断钙通道后，伤后血清成分仍可使膜片噪声增加，该作用有浓度依赖性与可逆性。**结论**：膜片电活动背景噪声与膜的生物物理学特性有关，膜片噪声的变化可能在一定程度上反应膜的功能状态的改变。

在记录离子通道活动时，一般要求尽量减小背景噪声，实验中噪声增加被认为是膜片与微管电极之间形成的高阻封接松脱等系统性误差增加[1]，但我们在实验中发现并非完全如此。在对放烧复合伤后血清低分子物质影响培养心肌细胞 L-型钙离子通道活动的研究过程中发现放烧复合伤血清低分子成分在影响通道活动的同时背景噪声也有变化[2]，因此，本研究进一步观察不同浓度的放烧复合伤低分子成分对膜片噪声

* 叶本兰，女，34岁，讲师，博士

** 预防医学系防原医学教研室，全军复合伤研究所

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

的影响，以期对离子通道电活动中膜噪声的变化有所新的认识，为进一步了解单通道电活动中背景噪声的变化及其意义提供实验依据。

1 材料与方法

心肌细胞培养采用出生后20 h～48 h的Wistar大白鼠乳鼠。血清成份的分离采用体重170 g～240 g的Wistar健康雄性大白鼠，在$^{60}Co\gamma$线6 Gy全身1次照射后（照射量率为0.2719～0.2756 Gy/min）30 min内复合用3%凝固汽油燃烧造成背部30%Ⅲ度烧伤（经病理切片证实），伤后6 h取血清，分离出血清低分子成分[<(8～10)×10^3 u]冷冻干燥备用。

膜片钳实验装置：微电极拉制器（PP-83，日本成茂）、微电极抛光仪（MF-83，日本成茂）、膜片钳放大器（CEZ-2200，日本光电）、倒置显微镜（Olympus，日本）、微电极操纵器（SM-21，日本成茂）、计算机（IBM-486，美国）、数/模转换器（Digidata1200，美国），Pclamp 6.0软件（美国Axon）、激光打印机（HP-Ⅲ，美国）。

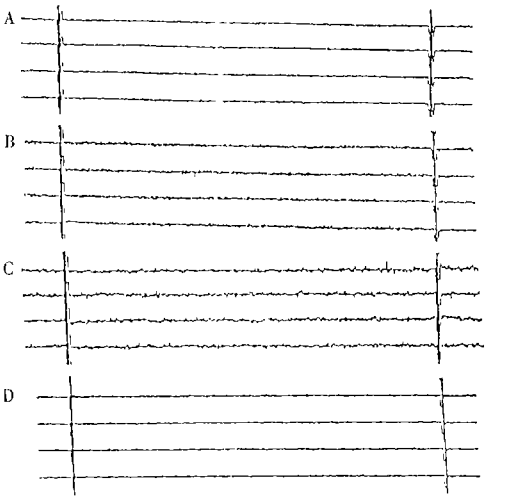
通道记录用溶液包括：①细胞浸浴液（mmol/L）：KCl 140、EGTA 10、HEPES 10、Glucose 10、pH 7.4；②电极充灌液（mmol/L）：$BaCl_2$ 110、HEPES 10、CholineCl 30、TTX 0.003、pH 7.4；③盐桥液：$BaCl_2$ 110mmol/L、琼脂 1g/L、pH7.4。

玻璃微管电极的制备，按文献[3]方法进行。将外径1.6 mm的软质玻璃微吸管（Drummon Scientific Co. USA）在微电极控制器上经2次拉制成锥度约20°、尖端开口直径1 μm的微管电极，再经微电极抛光仪上进行热抛光。电极充灌液经直经0.2 μm的微孔滤膜滤过后，从微管电极尾端正压充灌，用手指将电极尖端的气泡轻轻弹出，充灌后的微管电极阻值为2 MΩ～5 MΩ。然后在电极尖端涂布（N,N-Dimethyltrimethylsilylamine，Fluka Chemie，Switherland）以降低微管电极进入浸浴液后产生的分布电容，减少实验记录中的系统噪声，提高信噪比。

膜片电活动的记录方法同前[2]，采用培养2 d～5 d的大白鼠乳鼠心肌细胞，以Cell-attached方式与微管电极在室温下（20℃～22℃）形成高阻封接，在－50 mV保持电位上给予300 ms、＋60 mV的阶跃命令，由Pclamp 6.0计算机软件中Clampex程序进行同步刺激与采样记录，用Verapamil阻断钙通道电流后观察不同浓度放烧复合伤血清低分子成分对膜片电活动的影响。

2 结果

在刺激同步记录到内向性的Ba^{2+}电流活动，该电流活动可被维拉帕米阻断。用Verapamil 125 μg/ml将Ba^{2+}流完全阻断后，向浴液中加入放烧复合伤血清低分子成分10、20、50 μl（分别相当于20、60、100 μl复合伤血清中的所含低分子成分的量），虽然L-型Ca^{2+}通道不再开放，记录不到Ba^{2+}电流，但其噪声随复合伤血清低分子作用量的增加而增大，见附图A、B、C。更换浴液去除伤后血清低分子作用后噪声水平下降，反复更换浴液后，噪声水平可恢复正常，见附图D。



附图 钙通道被阻断后放烧复合伤血清低分子成分对膜片噪声的影响

3 讨论

我们以前的研究表明，放烧复合伤血清成分使心肌细胞L-型钙通道开放加强，从而增加钙离子内流，而细胞内钙离子浓度异常增加可导致心肌细胞一系列功能障碍[2,4]，但是，放烧复合伤血清成分在影响钙离子通道活动的同时及钙通道被阻断时，还可使膜片电活动的背景噪声增加，且该作用有剂量依赖性与可逆性，因此提示：噪声可能不应仅仅被看作是无意义的干扰信号，背景噪声的变化是否可在一定程度上反映膜的功能状态。对于这一点，国内外资料均未进行讨论，一般只要求尽量减少噪声，提高信噪比，着眼于对通道活动的研究[3]。

一般来说，噪声是由实验系统所产生，记录到的噪声包括电极本身的噪声、微电极放大器内部的噪声和电极与膜片形成封接产生的封接噪声[1]。后者又包括封接阻抗的热噪声与封接后的容性噪声，即膜电容产生的噪声。实验中，在形成Cell-attached膜片的浴液中加入维拉帕米后，再加入不同浓度的放烧复合伤血清低分子成份，虽然膜片的钙离子通道活动被阻断，但仍可使膜片的噪声发生改变，而且随着血清低分子作用浓度的加大，噪声明显增加，此外，更换浴液以去除血清低分子物质后，噪声可降低，反复更换浴液冲洗后，噪声可恢复到原来的对照水平，表明伤后血清低分子作用使噪声增加，并非由于封接形成松脱所致，而且，在实验过程中并未改变实验系统与被钳膜片，表明

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

噪声加大是膜片电容变化引起的容性噪声变化，即该条件下噪声的变化反映的是膜电容的变化。结合我们以前的实验结果[5]：烧伤血浆提取物可改变豚鼠心肌线粒体单位膜流动性，可以认为：复合伤血清低分子成分对膜片噪声的影响，是改变了膜的生物物理性状的结果。结合伤后血清成分对通道活动影响[2]与对膜片噪声影响两方面，可以推测：放烧复合伤血清低分子成分作用于心肌细胞，不仅改变其L-型钙通道的活动，而且影响膜的物理特性及其功能状态，这两方面共同导致细胞的功能变化，这在伤后心功能状态变化中可能起重要作用。

本研究首次对离子通道活动中膜片噪声进行了初步探讨，为进一步认识单通道电活动中背景噪声的变化提供一些实验依据。但对膜片电活动噪声变化与膜蛋白及膜脂质运动之间的关系有待于深入研究，对于其变化的意义尚需进一步探讨。

关键词 离子通道；噪声

中图法分类号 R329.25

参考文献

1 Hamill O P, Marty A, Neher E *et al*. Improved patch-clamp techniques for high resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. Pfluger Archiv, 1981; 391:85

2 叶本兰，程天民，萧家思. 放射损伤、烧伤与放烧复合伤血清成份心肌细胞钙离子通道活动的影响. 中国应用生理学杂志，1997;13(3):231

3 Sakmann B, Neher E. Patch clamp techniques for studying ionic channels in excitable membranes. Ann Rev Physiol, 1984;46:455

4 熊 业，程天民，陈宗荣. 外源性钙对放烧复合伤早期心肌线粒体呼吸功能的影响. 第三军医大学学报，1997;19(2):93

5 叶本兰，萧家思. 烧伤血浆中分子物质对豚鼠心肌线粒体膜流动性的影响. 中国应用生理学杂志，1992;8(4):369

（收稿：1996-09-24；修回：1997-11-13）

（编辑 王 红）

非手术治疗闭合性脾损伤45例临床报告

Clinical report on the nonoperative treatment of 45 cases of closed splenic injury

蔡志民* 马宏敏 （第三军医大学附属西南医院普通外科）重庆，400038

提 要 **目的**：观察非手术治疗闭合性脾损伤的临床意义。**方法**：脾损伤患者263例中，45例经严格选择标准和及时地救治措施选择非手术治疗。**结果**：35例成功，10例中转手术，全部痊愈出院。**结论**：确保血流动力学的稳定，预防感染，卧床休息，防止再出血是非手术治疗脾损伤的关键。

我院自1976年2月至1990年2月，共收治脾损伤263例，采用全脾切除83例，采用保脾技术保留脾脏180例，在保脾组中，脾修补脾部分切除和脾动脉结扎及脾切除自体移植等共135例。非手术治疗脾脏损伤45例，成功35例，10例中转手术，现将非手术治疗闭合性脾损伤的方法报道如下。

1 临床资料

本组病例，男30例，女15例，男女之比2:1，年龄10～60岁。车祸伤25例（其中伴有肋骨骨折、骨盆骨折，轻度脑外伤，四肢软组织伤15例），坠落伤5例，打击伤15例。B超、CT检查，显示脾包膜下出血17例，脾下极及脾背膜裂伤伴有脾周围少量积血13例，脾裂伤（1～2级）合并有肝包膜下血肿，肝包膜裂伤8例，脾裂伤伴腹膜后血肿轻度脑外伤7例。

非手术治疗脾损伤选择标准：①脾损伤后经监测血流动力学稳定。②无其他需要手术处理的腹部脏器损伤，特别是胃肠道穿孔和泌尿系损伤。③CT、B超显示脾脏损伤属1～2级。④非手术治疗脾损伤必须在有监护条件较好的医疗单位进行。

2 救治方法与措施

脾破裂一经确诊，立即建立快速有效的输液通道，补充平衡液、血液，迅速扩充血容量，纠正休克和血容量不足，绝对卧

* 蔡志民，男，51岁，主任医师，教授

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