DOI: 10.16016/j.1000-5404.1997.05.032

细胞分离后种植在培养板内。即刻观察,细胞呈单个分散在培养板底,绝大部分细胞呈圆形或椭圆形,部分细胞胞体周围有多数短突起,似毛刷样,高倍镜下偶可见生长锥(Growth cone),个别细胞有2~3倍于胞体直径的突起。约3 h后,细胞贴壁,胞体周围逐渐有突起长出,早期突起的长度较为一致,生长锥明显。至24 h,轴突生长较快,长度超过树突数倍。至3 d时,由于树突的生长,长度增加,交织成网,区分轴突较困难;胞体直径增大。至7 d时,树突分枝,树突棘明显,树突增粗,轴树突交织成网,胞体直径进一步增大。7 d以后,胞体形态变化不明显,树突增粗,树突分枝增多,偶有细胞聚集成团。21 d以后,细胞逐渐开始变性裂解。30 d以后大部分细胞死亡。

2.2 培养细胞密度变化

对2批培养细胞观察了生长密度变化。细胞种植后,随培养时间延长,细胞密度下降。至第7天,细胞密度仅为第1天的40%左右。此后,有一相对稳定的时期,第14天与第7天相比,细胞密度大致相同。此后,细胞密度又开始进一步下降。

2.3 培养细胞的鉴定

取培养第7天、第14天的细胞,以抗NF抗体作免疫细胞化学染色,观察到培养细胞中NF免疫阳性细胞比率分别为92.5%和93.8%。

3 讨论

我们建立了新生大鼠皮质-基底节神经细胞原代分散培养的方法。观察培养细胞发现,神经细胞生长及形态发育符合正常规律变化[4]。培养细胞呈单个分散状态,很少见到细胞聚集成团。种植后7 d内,细胞数目逐日减少。种植后7~14 d,培养细胞处于稳定存活期,细胞密度无明显变化,形态发育已成熟[4]。以抗NF抗体对培养第7天和第14天的细胞行免疫细胞化学染色,结果表明存活细胞92%以上为神经细胞。

采用本方法,鼠龄易掌握,程序较简单,存活细胞中神经细胞比率大,培养细胞呈分散状态生长,适于细胞形态学观察和电生理学研究。作各种处理因素的观察时,宜选择培养7~14 d期间的细胞。

关键词 新生鼠;皮质;基底节;神经细胞;原代培养
中图法分类号 Q954.6-332

参考文献

1 Lucius R, Mentlein R. Development of a culture system for pure rat neurons: advantages of a sandwich technique. Anat Anz, 1995, 177(5): 447
2 Martin F C, Wiley C A. A serum-free, pyruvate-free medium that supports neonatal neural/glial cultures. J Neurosci Res, 1995, 41(2): 246
3 Levi-Montalcini R, Aloe L. Silver impregnation method for insect brain, ganglia, dissociated nerve cells in vitro and for the amphibian nervous system. In: Shabar A, ed. A dissection and tissue culture manual of the nervous system. New York: Liss AR. Inc, 1989. 280~282
4 Banker G A, Cowan W M. Rat hippocampal neurons in dispersed cell culture. Brain Research. 1977, 126(2): 397

(收稿: 1996-08-01;修回: 1997-05-27)
(编辑 汪勤俭)

吸入一氧化氮改善犬烟雾吸入性损伤的氧合功能*

Improved oxygenation function of inhalation injury in dogs by inhaling nitric oxide

齐顺贞** 杨宗城 傅琼芳 何保斌 刘志远 黎鳌 (第三军医大学附属西南医院烧伤研究所)重庆,400038

提 要 目的:评价吸入一氧化氮(NO)在犬烟雾吸入性损伤氧合功能改善的效果。方法:烟雾吸入伤后,17只犬随机分为2组,对照组(n=8)单纯吸氧(FIO_2, 0.45),治疗组(n=9)吸氧(FIO_2, 0.45)+0.0045%(45×10^{-6})NO,连续监测12 h血气及动脉血乳酸变化。数据行多个样本均数间方差分析。结果:吸入NO治疗组PaO_2、动静脉氧含量差($Ca-\bar{v}O_2$)、50% SaO2时血氧分压($P_{50}O_2$)和呼吸指数(RCI)均有不同程度升高($P<0.05$~0.01),而肺泡动脉氧梯度($AaDO_2$)和动脉血乳酸则明显下降($P<0.05$~0.01)。结论:吸入NO能明显改善吸入性损伤氧合功能,有可能成为吸入性损伤和其它急性肺损伤治疗新的有效方法。

* 全军"九五"攻关项目
** 齐顺贞,男,41岁,副主任医师,现在白求恩国际和平医院烧伤整形科 石家庄,050082

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

吸入一氧化氮(NO)疗法始自 1991年,当 Frostell 和 Pepke-Zaba在同年证明吸入 NO对抑制缺氧性肺血管收缩有作用后[1,2],国外许多研究单位相继用于 ARDS、新生儿持续性肺动脉高压(PPHN)、心肺移植和心脏手术前后等多种心脏疾病,均已获得良好效果。迄今为止,在国内尚未见到吸入 NO应用在吸入性损伤治疗中的报告,为评价吸入 NO在吸入性损伤改善肺氧合功能的效果,我们观察了吸入 0.0045%的 NO在犬烟雾吸入性损伤早期对肺氧合功能的影响。

1 材料与方法

1.1 动物准备

四川健康雄性杂种犬 17只,年龄 2~3岁,体重 10~13 kg,实验前在动物室驯养观察 1~2周,并用菲拉松 1.0 mg/kg,3/d,灭虫灵 2.5 g顿服进行驱虫。实验环境温度(20±5)℃。

1.2 实验分组

将动物随机分为 2组。

1.2.1 对照组(n = 8)　致伤后单纯吸氧(FIO_2, 0.45),0.45的 FIO_2是纯氧经氮气稀释而成,并用 AVL-990型血气分析仪(瑞士)监测浓度。

1.2.2 治疗组(n = 9)　致伤后吸氧(FIO_2, 0.45)+0.0045%的 NO,NO浓度是由 0.042%的 NO、纯氧和纯氮按比例即刻混合而成,并用 IG型紫外分析仪(西德)监测其浓度。

1.3 实验程序

1.3.1 麻醉与插管　麻醉前禁食 12 h,首次静脉注射 3%戊巴比妥钠 30 mg/kg,插 9F气管导管,麻醉的维持视情追加首量的 1/3、1/4、1/5……。7F三腔 Swan-Ganz漂浮导管经右侧股静脉置入肺动脉,用于静脉血标本的采集。5F股动脉导管经右侧股动脉插入腹主动脉,用于动脉血标本的采集。

1.3.2 致伤方法与治疗　参照朱佩芳等[3]研制的烟雾吸入性损伤模型,每组动物均造成重度烟雾吸入性损伤。治疗于伤后 1 h开始,用上海 SC-3型呼吸机采用定容机械通气,一直持续到实验终点。在通气治疗前,首先一次静脉注射琥珀胆碱 1.5 mg/kg,使呼吸肌麻痹,治疗开始后,静脉持续静滴 1 mg%琥珀胆碱 30滴/h。在治疗期间,潮气量 13 ml/kg,呼吸频率 12/min,呼吸比例 1∶1.5并通过惠普 CO_2传感器(HP14361A)调整呼吸频率,使呼吸末 CO_2分压维持在 3.99 kPa左右。

1.4 指标测定及方法

1.4.1 血气分析　备 2 ml肝素抗凝注射器 2具,按时相点于肺动脉和股动脉分别抽取血标本 1.0 ml,在血气分析仪测定有关数据。并计算以下相应指标,肺泡动脉氧梯度($AaDO_2$)=$PAO_2 - PaO_2$,动静脉氧含量差($Ca\text{-}vO_2$)=$CaO_2 - CvO_2$,50%SaO_2时血氧分压($P_{50}O_2$)=50%×PaO_2/SaO_2×k,呼吸指数(Respiratory control index, RCI)=PaO_2/FIO_2。

1.4.2 动脉血浆乳酸测定　采用酶偶联终点比色法,抽血后立即 3000 r/min离心 10 min待测,利用 LDH催化 LA,NAD^+转变成 NADH,INT与 NADH呈色,在生化分析仪(Beckman-700)500 nm比色。

1.5 统计分析

本研究所有数据均在微机上行多个样本均数间的方差分析,结果用 $\bar{x}\pm s$表示。

2 结果

2.1 吸入 NO对氧合功能的影响

吸入 NO治疗组 PaO_2、$Ca\text{-}vO_2$、$P_{50}O_2$和 RCI较对照组均有不同程度升高(P < 0.05~0.01),见表 1;而 $AaDO_2$则明显下降(P < 0.05~0.01)。

表 1　吸入 NO在吸入性损伤氧合功能的变化

	组别	伤前	伤后时间(t/h)				
			0.5	2	5	8	12
PaO_2(kPa)	对照组	12.68±0.94	10.74±0.86	29.22±0.93	24.24±0.87	17.83±0.86	10.31±1.03
	治疗组	12.79±0.88	10.47±0.92	31.56±1.05**	26.19±0.99**	19.61±0.83*	12.46±1.07*
$AaDO_2$(kPa)	对照组	2.92±0.21	3.95±0.36	4.58±0.43	4.4±0.49	4.70±0.49	4.88±0.45
	治疗组	3.04±0.22	4.17±0.44	3.66±0.40*	3.7±0.39**	3.82±0.35**	3.90±0.33**
$Ca\text{-}vO_2$(ml%)	对照组	1.76±0.21	4.76±0.37	3.62±0.29	2.53±0.27	2.34±0.24	1.94±0.21
	治疗组	1.7±0.19	4.66±0.41	3.93±0.31*	3.63±0.31**	3.10±0.25*	2.72±0.32**
$P_{50}O_2$(kPa)	对照组	3.95±0.32	4.32±0.36	4.02±0.37	3.85±0.33	3.85±0.36	3.92±0.31
	治疗组	3.85±0.31	4.26±0.33	4.24±0.35	4.07±0.32	4.27±0.34*	4.26±0.35*
RCI△	对照组	60.66±5.49	50.9±4.78	64.64±5.14	53.74±4.13	39.62±3.89	22.96±3.01
	治疗组	60.6±5.66	50.09±4.97	69.97±5.46*	58.2±4.72*	43.69±4.03*	27.75±3.15**

*: P < 0.05, **: P < 0.01与对照组比较;△ RCI数据用 kPa换算　1 kPa= 7.51 mmHg

2.2 吸入 NO对动脉血浆乳酸的影响

伤后乳酸水平比伤前升高近 1倍,于治疗开始后逐渐下降,自 5 h治疗组较对照组明显降低(P < 0.05~0.01),见表 2

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

表 2 吸入 NO在吸入性损伤动脉血浆乳酸的变化 (mmol /L)

组别	伤前	伤后时间 (t /h)				
		0.5	2	5	8	12
对照组	4.52± 0.45	7.94± 0.56	6.86± 0.46	5.71± 0.39	4.78± 0.41	3.96± 0.37
治疗组	4.6± 0.43	8.0± 0.63	6.76± 0.51	5.32± 0.36*	4.26± 0.38**	3.59± 0.34*

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$ 与对照组比较

3 讨论

中度以上吸入性损病人常伴有不同程度的氧合功能障碍,尤其是重度吸入性损伤,其通气灌注比例失衡、肺内分流,使氧合障碍更加明显[4],目前尚无理想的改善肺氧合功能的药物,既往所用血管扩张药,无选择地扩张肺血管,使低氧区肺血管得到扩张,反而增加肺内分流,降低氧分压。而 NO的吸入却无上述弊端,NO具有双重选择性,相对于体循环只选择扩张肺血管,相对于非通气区肺血管只选择扩张通气区血管,使得 NO能纠正通气灌注失衡,减少肺内分流,明显改善肺氧合功能[5,6]。

本实验显示,在吸入 0.0045% NO后, PaO_2、$CavO_2$、$P_{50}O_2$和 RCI均有不同程度升高,而 $AaDO_2$和动脉血浆乳酸水平则明显下降,表明氧合功能明显改善,也有类似报道[5~7],表明吸入 NO优于其它血管扩张剂。而 $P_{50}O_2$变化幅度较小,在某些时相点未达统计学意义,这可能与我们选择了相对较高的 NO浓度以利观察降低肺动脉压为主,使用较大剂量很可能使 NO向贫氧肺区扩散相应增加,反而不能取得最佳氧合改善效果[6,7]。另有研究发现,极小剂量的 NO 0.0006~0.0025万 (60~250 ppb)吸入即可改善氧合,但肺动脉压并不明显降低[8],说明 NO对氧合作用的改善,并不一定伴有肺动脉压的下降。

吸入性损伤病人,不但氧合功能障碍,还有不同程度的肺动脉压升高,吸入一定浓度的 NO既可降低肺动脉压,又可改善肺的氧合功能,值得进一步研究,期望吸入 NO疗法能成为吸入性损伤和其它急性肺损伤治疗新的有效的方法。

关键词 一氧化碳;灼伤,吸入性;氧合功能;乳酸

中图法分类号 R644

参考文献

1 Frostell C, Fratacci M D, Wain J C *et al*. Inhaled nitric oxide, a selective pulmonary vasodilator reversing hypoxic pulmonary vasoconstriction. Circulation, 1991, 8(63): 2038

2 Pepke-Zaba J, Higenbottam T W, Dinh-Xuan A T *et al*. Inhaled nitric oxide as a cause of selective pulmonary vasodilatation in pulmonary hypertension. Lancet, 1991, 338(8776): 1173

3 朱佩芳,黎 鳌,陈发明等.重度烟雾吸入性损伤 (狗)模型的制作.创伤杂志, 1987, 3(1): 7

4 黎 鳌,杨宗城主编.吸入性损伤.北京:人民军医出版社, 1993. 180~183

5 Rossaint R, Falke K J, Lopez F *et al*. Inhaled nitric oxide in adult respiratory distress syndrome. N Engl J Med, 1993, 328(6): 399

6 Ruybasset L, Stewart T, Rouby J J *et al*. Inhaled nitric oxide reverse the increase pulmonary vascular resistance induced by permissive hypercapnic in patients with acute respiratory distress syndrome. Anesthesiology, 1994, 80(4): 1254

7 Ogura H, Cioffi W G, Jordan B S *et al*. The effect of inhaled nitric oxide on smoke inhalation injury in an ovine model. J of Trauma, 1994, 37(2): 294

8 Gerlach H, Pappert D, Lebandowski K *et al*. Long-term inhalation with evaluated low dose of nitric oxied for selective improvement of oxygenation in patients with adult respiratory distress syndrome. Intensive Care Med, 1993, 19(8): 443

(收稿: 1996-05-14;修回: 1997-05-18)

(编辑 王红、沈锡庚)

脾脏在疟原虫感染中作用的研究

The role of spleen in malarial infection

陈维佩* 张天飞 益建疆 叶明福 (第三军医大学基础医学部应用解剖及手术学教研室) 重庆, 400038

提 要 目的:探讨不同术式保留脾脏对抗疟原虫感染的影响。方法:昆明株小鼠 40只,随机分为正常

* 陈维佩,男, 64岁,教授

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