DOI:10.16016/j.1000-5404.1996.02.038

3 Kim MS. O_2 free radicals: cause of ischemic reperfusion injury to cardiac Na^+-K^+-ATPase. Am J Physiol, 1987; 252 (2): H252

4 Chan Du. Zinc-induced metallothionein synthesis could protect from gentamicin nephrotoxicity in suspended proximal tubules of rats. Renal Failure, 1994; 16(1): 61

5 李 林,形善田,周金黄. 绞股蓝总皂甙对离体大鼠肝脂质过氧化及膜流动性损伤的保护作用. 中国药理学通报, 1991; 7: 341

6 何娅妮,廖立生. AWS 对庆大霉素大鼠肾皮质亚细胞器膜损伤的保护作用. 四川医学, 1993; 14: 50

(收稿:1995-04-24;修回:1996-03-06)

(编辑 冯崇英)

CB-HRP 电镜示踪技术在大鼠胚胎脊髓移植实验研究中的应用

Application of neuroanatomical tracing technique of electron microscopic CB-HRP histochemistry in experimental studies on transplantation of embryonic spinal cord tissue in rats

赵 刚* 廖维宏 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所第三研究室) 重庆, 630042

近年来,Jakeman 和 Reier[1]经采用麦芽凝集素结合辣根过氧化酶(WGA-HRP)、胶体金等神经示踪技术,在光镜下,观察到胚胎脊髓移植物与宿主脊髓之间可以建立良好的神经纤维联系,并推测移植物在重建宿主损伤脊髓的节间神经环路联系方面起重要作用。然而移植物与宿主之间其超微结构如何,能否建立神经突触联系,有关研究甚少。本研究将梁凤仪、万选才等学者[2]介绍的霍乱原 B 亚单位结合辣根过氧化物酶(Choleragen subunit B conjugated horseradish peroxidase, CB-HRP)神经组织化学电镜技术用于大鼠胚胎脊髓移植实验研究,取得了满意的结果,报告如下:

1 材料与方法

1.1 脊髓损伤模型与移植程序

健康 Wistar 大鼠,体重180～250 g,作为脊髓移植受体鼠。无菌条件下,咬除 T_{13}-L_1 椎板,暴露脊髓腰膨大部位[3],在腰膨大中段(L_1脊髓节段)横断左侧半脊髓,用显微手术刀损毁部分切断的脊髓组织,然后将其吸出,制成直径2～3 mm 的半切洞腔后备用。剖腹取出妊娠14 d 孕鼠完整的胚胎,在手术显微镜下,将胚胎脊髓与周围组织分离开来,用注射器将胚胎脊髓吸入尖端口径1 mm 玻璃管内,留少许吸至管口,再轻轻注入受体鼠脊髓洞腔内,显微镜下用8个零的无创缝合线,缝合切开的硬脊膜。

1.2 CB-HRP 的组织化学光、电镜检查

移植术后30～85 d,随机选取15只受体鼠,用梁凤仪、万选才所介绍的四甲基联苯胺(TMB)-钼酸铵(AHM)程序[2],分别进行 CB-HRP 组织化学光、电镜检查。其中5只受体鼠进行电镜检查,CB-HRP 由中国医学科学院基础所提供。

于宿主脊髓残端或坐骨神经干内注射0.3%CB-HRP,8～10 μl,将其引入受体鼠脊髓及移植物内。存活48 h,2.5%戊二醛及2%多聚甲醛混合固定液经左心插管灌注固定,移植部位取材,连续冰冻切片,厚40 μm,入新配制的含0.005%TMB 及0.25%AHM 的0.1 MPB(pH6.2)溶液中,预浸20 min,0.3%双氧水呈色,至 HRP 呈墨绿色,反应达最佳效果,然后用 pH6.2 PB 换洗2次。

光镜检查切片,贴片于铬明矾处理过的载玻片上,阴干后,系列酒精脱水,二甲苯透明后 DPX 封片。

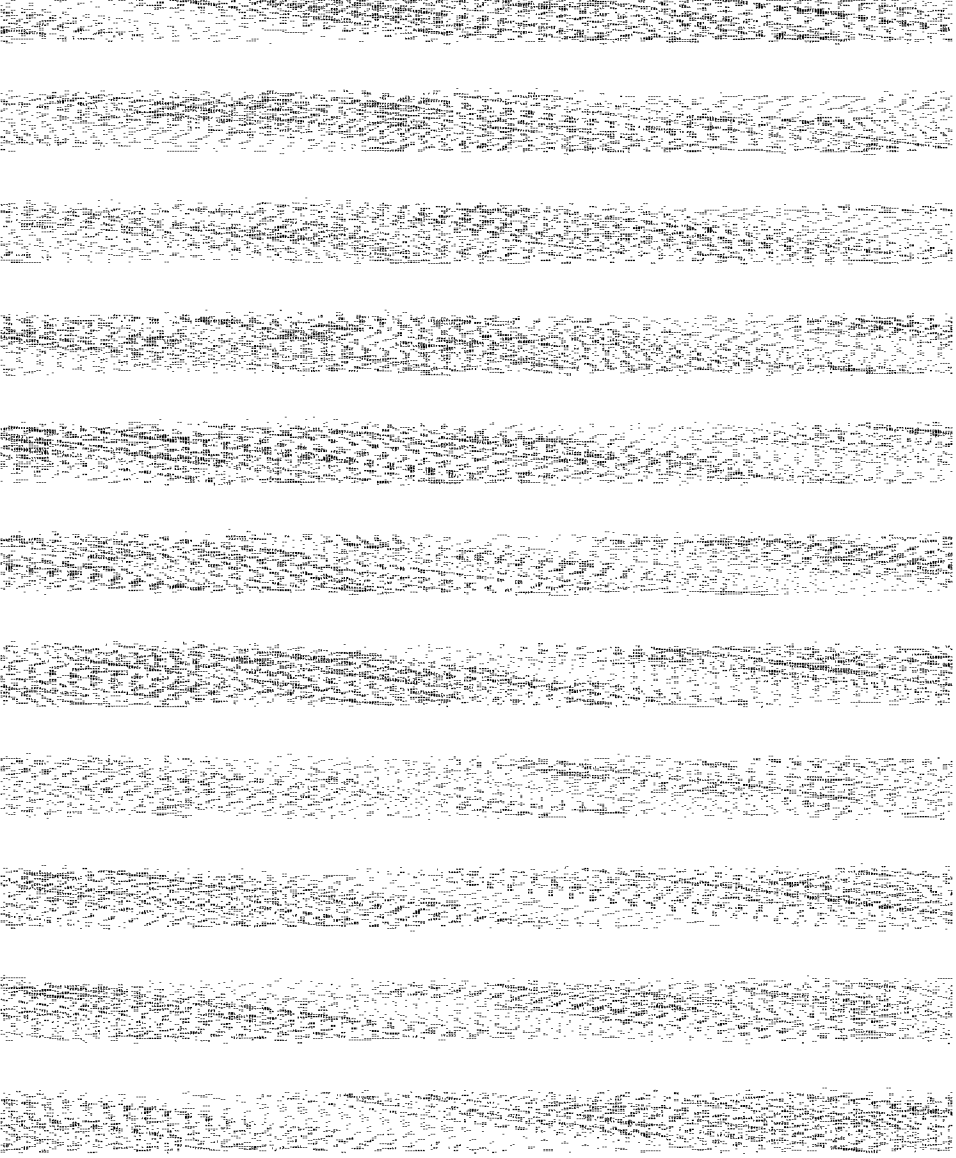
电镜检查切片入1%锇酸 PB 液(pH6.2)45℃锇化1 h,系列丙酮脱水,环氧树脂618包埋,包埋后切片挑于硅化载玻片上,以另一片压平,入烤箱聚合、硬化。光镜下选取移植物部位,修成1 mm×1 mm×1 mm 小块,用502粘于制备好的包埋块尖端。超薄切片后,铜、铀双染,JEM-1000SX 透射电镜观察。

2 结果

移植30 d,光镜下见胚胎脊髓移植物部分存活。移植45 d,光镜下可见移植物轮廓,但电镜下未发现 CB-HRP 标记结构。移植50 d,光镜下见移植物充满脊髓洞腔,虽为锇化后切片,移植物与宿主仍清晰可辨(图1)。电镜下观察到 CB-HRP 标记树突,此树突与多个非标轴突终末形成多对轴-树终末结构,此结构可能是突触发育或宿触重建中的前体结构,上述结构中非标轴突终末均含球形及椭圆形小泡,分布于与树突相接触的膜附

* 研究生,现在济南军区总医院骨创伤科 济南市, 250031

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



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

能性宿触连接提供了物质基础。在移植术后50 d观察到上述现象，可能与植物物在宿主脊髓内发育相对迟缓，宿触发育或宿触重建也相对迟缓有关。移植术后85 d，移植物内可以观察到标记胞体与非标轴突形成与正常宿主无明显差别的突触连接。作者推测，移植物有与宿主脊髓建立起功能性宿触联系的潜能，可能起神经传导"中继站"的作用，当然，有关研究还有待深入。

关键词 脊髓移植；胚胎脊髓组织；脊髓损伤与修复；辣根过氧化物酶；电子显微镜

中图法分类号 R651.2－3

参考文献

1 Jakeman LB, Rejer PJ. Axonal projections between fetal spinal cord transplants and the adult rat spinal cord: A neuroanatomical tracing of local interactions. J Comp Neurol, 1991;307:311

2 Liang F, Wan XST. Improvement of the tetramethyl benzidine reaction with ammonium molybdate as a stabilizer for light and electron microscopic ligand-HRP neurohistochemistry, immunocytochemisry and double-labelling. J Neurosci Methods, 1989;28:155

3 Sieradzan K, Vrbova G. Replacement of missing motoneurons by embryonic grafts in the rat spinal cord. Neurosci, 1989;31:115

4 Reier PJ, Anderson DK, Thompson FJ *et al*. Neurol tissue transplantation and CNS trauma anatomical and functional repair of the injured spinal cord. J Neurotrauma, 1992;9:S223

5 赵 刚，廖维宏. 胚胎中枢神经组织移植与脊髓重建. 国外医学：创伤与外科基本问题分册，1995;16(3):160

6 万选才. 大鼠运动神经元的白质树突(用CB-HRP及CT-HRP)的研究. 中国科学. B辑，1985;9:834

7 Olucha F, Martinez-Gracia F, Lopez-Garcia C. A new stabilizing agent for the tetramethyl benzidine (TMB) reaction product in the histochemical detection of horseradish peroxidase. J Neurol Methods, 1985;13:131

(收稿：1995-08-14；修回：1996-03-26)

(编辑 仇玉福)

耳蜗型梅尼埃病

Cochlear Meniere's disease

姬长友 何凌汉 (第三军医大学附属大坪医院耳鼻咽喉科) 重庆，630042

耳蜗型梅尼埃病(Cochlear Meniere's disease, CMD)或称耳蜗型积水(Cochlear hydrops, CH)，指只有波动性低频感音性聋，耳闷等耳蜗症状，甘油试验可呈阳性并可能伴有耳鸣，但缺乏眩晕的病人。文献早有报道[1,2]。虽在命名、发病率及病因等方面存在意见分歧，但这样具有一定临床特征的耳蜗型聋的存在是不容置疑的。1989年1月至1991年3月，我科眩晕门诊共诊治13例。本文结合此13例病人对CMD的临床表现、发病数及病因等方面进行讨论。

1 诊断标准及临床资料

1.1 CMD的诊断标准

1.1.1 低频感音性(上坡型纯音听力图，500 Hz阈值与中高频中最低阈相差≥15 dB)有波动者，或甘油试验阳性者。

1.1.2 未发现其他致聋因素。

1.1.3 可能伴有耳鸣和/或耳闷。

1.2 一般资料

男性5人，女性8人，发病时年龄24～61岁，平均37岁。一侧耳发病者11例，两耳同时发病者2例。伴耳鸣者10例，耳闷者5例，其中1例同时有耳鸣及耳闷。7例病人进行了前庭功能检查，变位性眼震3例，管轻瘫2例，自发性眼震1例。

2 检查结果

单耳符合CMD者9例，双耳符合CMD者4例。12例作了甘油试验，阳性8例，阴性4例，阴性结果病例中1例检查时听力已波动至正常水平。随访1年以上的7例病人中，出现眩晕者4例，发病与眩晕出现相隔时间最长者5年，最短者1年。(典型听力见图1，2)

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