DOI: 10.16016/j.1000-5404.1997.04.034

效果。我们的手术后远期结果表明残脾无肿大,脾亢消失,并有很好的吞噬功能和免疫作用[3,4]。据汪谦等[5]研究证实脾脏本身可促进肝硬化的形成。同时在肝硬化形成过程中脾脏参与了多个环节的免疫调控。脾切除可减轻肝硬化程度。本实验观察到脾次全切除对一些胃肠道激素分泌有影响。表现为脾次全切除术后血浆胃泌素和胰高糖素水平较术前均显著降低。而血浆生长激素和胃动素水平与术前相比无显著变化。已有研究表明,胃泌素和胰高糖素能明显地促进肝硬化时门脉高压力状态,并持续维持门静脉高压。而且他们和脾脏一起参与了肝硬化的形成和发展。因此脾次全切除术后血浆胃泌素和胰高糖素水平降低,一方面可降低门脉压,减轻和延缓肝硬化的形成和发展;另一方面对防止肝硬化患者由于高胃泌素所致的溃疡病有重要作用。目前有关脾次全切除术后血浆胃泌素和胰高糖素水平降低的机理尚不清楚,还有待进一步研究与探讨。

关键词 胃肠激素;肝硬化;脾肿大;脾次全切除术
中图法分类号 656.61

参考文献

1 贾 林.肝硬化患者高胃泌素血症的机制初探.中华内科杂志,1995,34(2):135
2 Nishioka K, Wagle J R, Rodrigher T *et al*. Studies of human granulocyte phagocytosis stimulation by tuftsin. J Surg Res, 1994, 56(1): 94
3 马宏敏.良性病脾保留脾功能的临床探讨.肝胆胰脾外科临床,1994,(2):1
4 李晓阳,马宏敏,蔡志民.脾次全切除治疗肝硬化充血性脾肿大伴脾亢保留脾功能的临床研究.腹部外科杂志,1991,4(4):153
5 汪 谦,夏穗生,姜汉英等.脾脏在大鼠肝硬化形成过程中免疫调控机制的探讨.中华医学杂志,1995,75(10):594

(收稿:1996-09-02;修回:1997-01-09)
(编辑 冷怀明)

大鼠学习、记忆过程中突触体胞浆游离 Ca^{2+} 的变化

Changes of intrasynaptosomal cytosolic free Ca^{2+} level in the course of learning and memory in rats

熊 鹰* 张长城 隋建峰 (第三军医大学基础医学部生理学教研室)重庆,630038

提 要 目的:研究大鼠主动回避反应(AAR)训练后,海马,额叶皮层突触体胞浆游离 $[Ca^{2+}]_i$ 的变化。方法:采用 Fura-2/AM荧光探针测定突触体胞浆游离 $[Ca^{2+}]_i$ 与行为训练相结合的方法。结果:大鼠主动回避反应习得后,静息状态下突触体胞浆游离 $[Ca^{2+}]_i$ 与对照给相比无变化;在去极化(KCl、Glu刺激下)时,突触体胞浆游离 $[Ca^{2+}]_i$ 显著增高,这一变化主要由突触体外 Ca^{2+} 内流易化所致;而主动回避反应消退后,Ca^{2+} 的动态变化也消失,表明 Ca^{2+} 的上述变化可能与学习记忆过程特异相关。结论:大鼠脑内突触体胞浆游离 $[Ca^{2+}]_i$ 的变化与学习、记忆活动密切相关。

已证实,Ca^{2+} 在海兔、果蝇等无脊椎动物的学习记忆中起重要作用;Ca^{2+} 是哺乳动物长时程增强(LTP)和长时程抑制(LTD)形成必不可少的因素;钙拮抗剂如尼莫地平(Nim)等明显改善记忆障碍[1]。但是,学习记忆过程中脑内突触体 Ca^{2+} 浓度究竟如何变化,以及 Ca^{2+} 瞬变(Transient)所包含的信息怎样编码特定的学习、记忆模式,目前尚不清楚。本实验以 Fura-2荧光探针测 Ca^{2+} 技术,研究正常大鼠主动回避反应习得后,海马、额叶皮层突触体胞浆游离 $[Ca^{2+}]$ 的动态变化。

1 材料和方法

1.1 动物

Wistar大鼠,体重 200± 32 g,雌雄兼用,自由饮水和进食。

1.2 药品

Fura-2/AM,中国医学科学院药物研究所产品,分子量1001,以 DMSO(Sigma产品)溶解配成0.5 mmol/L,分装(10 μl/管)后置-20℃保存备用;谷氨酸(Glutamate, Glu)、氯化钾(KCl),国产分析纯;Hepes(N-2羟乙基哌嗪-N′-2′乙烷磺酸),进口分装(上海生化试剂商店);人工脑脊液(ACSF)的组

* 熊 鹰 男,31岁,讲师,博士研究生

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

成(mmol/L): NaCl, 125; KCl, 5; NaH_2PO_4, 1.2; $MgCl_2$, 1.2; $NaHCO_3$, 5; glucose, 6; Hepes, 25; $CaCl_2$, 0.1或 1.0; pH值用 NaOH调至 7.4。其余试剂均为国产分析纯。

1.3　主动回避反应(Active avoidance response, AAR)训练

训练方法见文献[2],以灯光为条件刺激,电击为非条件刺激,每天训练 20次,以正确反应率连续 3 d达到 80%以上为 AAR习得标准。AAR消退测试:只给予条件刺激,检测大鼠达标后一定时间内 AAR的保持情况。穿梭箱由单板机控制,训练结果自动记录。"假条件反射"(Pseudoconditioning)组,动物分别接受同样强度的灯光和电刺激,但两种刺激之间没有配对。

1.4　突触体制备,荧光测定及 $[Ca^{2+}]_i$的计算

见文献[3]

1.5　统计学分析

实验数据均以双样本 t检验进行统计学处理,结果用均值±标准差表示。

2　结果

2.1　主动回避反应(AAR)习得后突触体胞浆游离 Ca^{2+} (SCF[Ca^{2+}]i)的变化

大鼠 AAR习得达标后,分离额叶皮层和海马突触体,悬浮在人工脑脊液(ACSF)中,首先测定静息状态下 SCF[Ca^{2+}]i,然后检测 Ca^{2+}内流激动剂 KCl、Glu、NMDA作用下 AAR习得组 SCF[Ca^{2+}]i的变化。结果显示:

2.1.1　在 ACSF分别含 $CaCl_2$ 1, 0.1, 0 mmol/L条件下,AAR组静息 SCF[Ca^{2+}]i分别为 351.1±63.1(n = 8)、235.3±33.2(n = 7)、176.5±19.3 nmol/L(n = 6),假性条件反射组(对照组)为 339.7±52.2(n = 9)、239.6±38.5(n = 6)、168.7±16.1 nmol/L(n = 5),两者相比无明显差别(P > 0.05)。

2.1.2　在 ACSF(含 $CaCl_2$ 1 mmol/L,以下未指明时,均同此)中,分别加入 KCl 5、10、20、30、40、50 mmol/L(终浓度),AAR组(n = 9) SCF[Ca^{2+}]i均升高,但 AAR组升高值显著超过对照组(P < 0.01)的升高值;同时,还观察到 SCF[Ca^{2+}]i随 KCl浓度的递增而逐渐升高,当 KCl为 30 mmol/L时,SCF[Ca^{2+}]i达到最大值,再增加 KCl浓度,[Ca^{2+}]i也不再上升。

2.1.3　在 ACSF中分别加入 NMDA(0.1 mmol/L)和 Glu(10 μmol/L),结果 AAR组(n = 8)和对照组(n = 7) SCF[Ca^{2+}]i均升高,但以 AAR组增高更为显著(P < 0.05)。

2.1.4　在含 1 mmol/L EGTA的 ACSF中(使胞外 Ca^{2+}为 0),分别加入 Glu(10 μmol/L)或 KCl(30 mmol/L),AAR组(n = 10)和对照组(n = 9) SCF[Ca^{2+}]i都升高,但两者之间无明显差异(P > 0.05),提示 AAR习得后从胞内钙池释放的[Ca^{2+}]i量没有变化。

2.2　AAR消退后 SCF[Ca^{2+}]i的变化

大鼠 AAR消退后(AAR低于 20%),分离额叶皮层、海马突触体,测定[Ca^{2+}]i,并与上述 AAR习得达标后 SCF[Ca^{2+}]i比较。由可见,大鼠 AAR习得(n = 8)和消退组(n = 7)静息 SCF[Ca^{2+}]i(ACSF含 $CaCl_2$ 1 mmol/L)之间无显著差别(P > 0.05); 30 mmol/L KCl刺激下,两组[Ca^{2+}]i均升高,但 AAR消退组大鼠[Ca^{2+}]i升高值明显低于 AAR习得组(P < 0.05)。

3　讨论

Alkon采用单个细胞 Ca^{2+}成像技术研究低等海洋生物蛞蝓(Hermissenda)的学习机理,发现 GABA注入光感受器神经末梢(PRC)后,在已建立条件反射的动物 Ca^{2+}信号明显延长,表明毛细胞和 PRC配对形成的条件反射导致 PRC发生长久的 Ca^{2+}信号改变[4]。这一结果显示无脊椎动物记忆形成后,Ca^{2+}代谢通路的某些环节发生适应性的改变,与我们从大鼠获得的结果有类似之处。

细胞内游离[Ca^{2+}]i的变化是胞外 Ca^{2+}跨膜转运以及胞内钙池摄取、释放 Ca^{2+}的结果。目前认为神经细胞 Ca^{2+}内流有以下四条途径[5]:电压依赖性钙通道(VOCs)、受体活化钙通道(ROCs)、第二信使活化钙通道(SMOCs)、漏流钙通道。胞内钙池释放 Ca^{2+}有两条通道:Ryanodine敏感的钙释放通道(RyR)和 IP_3受体通道。升高细胞外 K^+浓度使细胞膜去极化,一方面导致 VOCs和 SMOCs开放,另一方面也可能使胞内 RyR和 IP_3受体通道开放,两者共同作用,使细胞内[Ca^{2+}]i升高。本实验发现,胞外[Ca^{2+}]o为 0~0.1 mmol/L, KCl均能升高 SCF[Ca^{2+}]i,说明 KCl既促进胞外 Ca^{2+}内流,又促进胞内钙池 Ca^{2+}释放,但以前者的作用为主。因为,ACSF中 Ca^{2+}为零时,KCl使胞内 Ca^{2+}升高值明显低于含 Ca^{2+}组。

大鼠 AAR习得后,在 KCl去极化作用下 SCF[Ca^{2+}]i升高,主要是由于它作用于 VOCs和 SMOCs,致使胞外 Ca^{2+}内流增多的缘故,由此推测,AAR习得后,VOCs和 SMOCs可能发生了某种形式的可塑性变化,因而,细胞兴奋时,使 Ca^{2+}内流发生易化,从而加速信息的传导过程。由本实验还看到,AAR消退后,KCl对 SCF[Ca^{2+}]i升高的易化效应也消失,表明 VOCs和 SMOCs可塑性变化与学习、记忆过程特异相关,伴随着记忆的形成、消退而发生相应的变化。

AAR习得后,在去极化条件下突触体 Ca^{2+}内流易化,而静息时 SCF[Ca^{2+}]i却没有变化,这与 Ca^{2+}外运系统和钙池摄 Ca^{2+}能力的适应性改变有关。在 AAR习得大鼠海马、额叶皮层突触体,去极化引起的 SCF[Ca^{2+}]i显著升高,在复极化时,由于 Ca^{2+}外运和钙池摄 Ca^{2+}能力增强,从而使胞浆[Ca^{2+}]i恢复正常

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

静息水平;而钙池摄 Ca^{2+} 增多,在去极化时又可能释放更多的 Ca^{2+},引起 $[Ca^{2+}]i$增高。已知,胞内外 Ca^{2+} 巨大浓度差是 Ca^{2+} 发挥生理作用的基础,因此,静息时,细胞内 $[Ca^{2+}]i$维持低水平状态对于信息传导非常重要。细胞兴奋时胞内 $[Ca^{2+}]i$发生不同的改变,通过影响相应的钙结合蛋白和蛋白激酶,在引起细胞瞬时反应的同时,也可激活第三信使引起基因表达和神经元蛋白质合成的变化,后者导致与学习、记忆有关的过程发生改变[6]。

关键词 突触体;钙离子;学习;记忆

中图法分类号 R338.64

参考文献

1 熊 鹰,张长城.钙拮抗剂与学习记忆.四川生理科学进展,1995,17:62

2 熊 鹰,张长城.精氨加压素的促记忆效应及其与中脑导水管周围灰质的关系.中国药理学报,1994,15(2):152

3 熊 鹰,隋建峰,张长城.Fura-2荧光探针测定突触体胞浆游离 Ca^{2+}.第三军医大学学报,1995,17(4):345

4 Usherwood PNR. "Memories are made of this". TINS, 1993;16(11):427

5 Tsien RW, Tsien RY. Calcium channels, stores and oscillations. Annu Rev Cell Biol, 1990, 6:715

6 Miller RJ. Calcium signalling in neurons. TINS, 1988, 11(1):415

(收稿:1996-11-29;修回:1997-03-15)

(编辑 冷怀明)

HBV、HCV不同感染类型肝癌患者的临床与病理分析

Clinical and pathological analysis of hepatocellular carcinoma patients with different HBV、HCV infectious types

汪荣泉* 周子成 杨建民 (第三军医大学附属西南医院消化内科)重庆,630038

提 要 目的:揭示原发性肝癌患者的 HBV、HCV感染与其癌发生之间的联系。方法:HBV、HCV的感染采用 HBsAg的多抗,HCV核心抗原、NS3和 NS4抗原的单抗及免疫组织化学诊断。结果:46例肝癌患者 HBV、HCV双重感染14例,单独 HBV感染20例,单独 HCV感染6例,无 HBV和 HCV感染6例。不同 HBV、HCV感染状况的肝癌患者的主要症状和体征、实验室检查、癌细胞分化程度和小肝癌的发现率差异无显著性。而 HBV和 HCV均阳性组患者的癌旁肝硬化的阳性率为100%,较单独 HCV阳性组差异有显著性($P<0.05$)。结论:肝癌患者有其自身固有的肿瘤临床行为,而与 HBV和/或 HCV感染的关系并不明显,HBV和 HCV的重叠感染能使肝癌病进展到肝硬化阶段的可能性增加。

我国西南地区原发性肝癌(PHC)的发生多与 HBV、HCV的感染有关。对于这方面的血清学、分子流行病学已有较多报道。本文从 HBV、HCV的免疫病理诊断入手,对 HBV、HCV不同感染类型 PHC患者的临床表现、生化检验和病理改变作了初步对比分析,现将结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 病例选择

46例 PHC均为我院1994年经手术切除治疗的患者,其中38例切除标本含癌旁肝组织。1例正常肝组织来自肝内胆管结石患者半肝切除标本。所有标本均经10%福尔马林固定,石蜡包埋,5μm连续切片。46例中,男41例,女5例,年龄23~64岁,平均47.3岁。PHC分级参照 Edmondson标准。癌旁肝组织是否存在肝硬化以术中所见和/或病理诊断为准。

1.2 主要试剂

HCV核心抗原的单克隆抗体由本院传染科李梦东教授提供;HCV NS3抗原、NS4抗原的单克隆抗体由北京医科大学肝病研究所陶其敏教授惠赠;HBsAg的多克隆抗体、SP试剂盒和 DAB显色试剂盒购自福州迈新公司。

1.3 染色方法

参照免疫组化 SABC法常规进行;并设立空白、替代和正

* 汪荣泉,男,29岁,住院医师,博士研究生

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