DOI:10.16016/j.1000-5404.1996.02.049

KC的上述生理特点,及时地解除毒素等因素对KC的损害,防止KC过度受损而发生功能衰竭。

关键词 胆道感染;大鼠KC;面积;长径;形状因子

中图法分类号 R575.7

参考文献

1 孙文兵,韩本立,张全周等.老年急性重症胆管炎的救治.中国急救医学,1992;12(2):23

2 Praaning-Van Dalen DP,Knook DL.Quantitative determination of in vivo endocytosis by rat liver Kupffer and endothelial cells facilitated by an improvde isolation method.FEBS lett,1982;141(2):229

3 戴建武,董 群,苏雅娴等.巨噬细胞膜变形性与细胞骨架微丝关系的研究.北京医科大学学报,1992;24(2):119

(收稿:1995-09-08;修回:1995-12-24)

(编辑 沈锡庚、王 红)

流体冲击致大鼠脑损伤后组织血管密度的变化

The changes of angioarchitecture area density following fluid percussive brain injury in the rats

王 禾 鲁晓滨 廖维宏 吴宝明 刘 彦 肖 剑 杨诗球 李向东 (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

创伤后脑损伤在平、战时均较为常见,脑外伤时局部血脑屏障(BBB)破坏,毛细血管通透性增加,导致血管源性脑水肿,研究其发生发展机理具有十分重要的意义。流体冲击致脑损伤模型具有定量准确,可精确测量,作用力单纯,重复性好等特点,近年来在国内外已广泛应用于实验性脑创伤机理方面的研究[1]。二胺基联苯胺(3'3-Diaminobenzidine,DAB)酶组化染色法可清晰地呈现中枢神经系统内的微血管,具有灵敏度高,反应稳定,结果可靠,简便易行等优点[2]。

本实验利用本室自行研制的流体冲击装置致大鼠脑中等度损伤,通过二胺基联苯胺(DAB)酶组化染色法,结合计算机图像分析技术,测量实验动物脑组织损伤后不同时相血管密度的变化,探讨颅脑创伤性损伤后微血管系统的变化特点。

1 材料与方法

1.1 模型制备

Wistar大鼠,雄性,体重180~280 g,戊巴比妥钠(40 mg/kg,ip)麻醉,常规消毒,暴露颅骨,双氧水处理颅骨表面后,于前囟至人字缝联线中点左旁开3 mm处钻一直径为2.7 mm的圆孔至软脑膜,大鼠置江湾Ⅰ型立体固定仪上固定头部,用牙托粉将流体冲击接头固定于圆孔上,注生理盐水于流体冲击装置中并排出气泡,于恒定角度使摆锤下落,经活塞中生理盐水将压力传导至冲击接头处脑组织致机械性颅脑损伤。通过压力传感-计算机检测系统同时检测压力波形,并计算波幅、波宽。

1.2 DAB染色

42只大鼠随机分为伤前、伤后即刻、1、2、4、8、24 h组,每组6只。于各时相点断头放血,迅速取出脑组织,固定于10%福尔马林液(以0.1 mol/L PBS调整pH值至7.6)中2~4 d。冰冻切片机于创伤部位冠状面切片,片厚30 μm,切片收集于孵育槽内,用PBS液洗2次,每次5 min。置切片于新鲜配制的DAB液(0.1 mol/L TBS 300 ml,pH7.6,DAB 150 mg)中,在恒温37℃下预浸30 min,然后在DAB液里再加入1.5%H_2O_2 120 ml,充分混合,切片入此液孵育20 min。PBS洗3次,捞片贴于洁净的载玻片上。用0.5%的中性红复染2 min,常规脱水、透明、封片。

1.3 图像分析

Olympus BH生物显微镜观察DAB片脑组织微血管构象(10倍),每片分别于左、右脑对称皮层区、海马区和丘脑区固定选择6个视野,摄取图像,输入MAS-1自动图像分析仪,定量测量视野单位面积内被测血管所占面积(angioarchitecture area density,AAD,以%表示)。取6个视野平均值为每片结果。

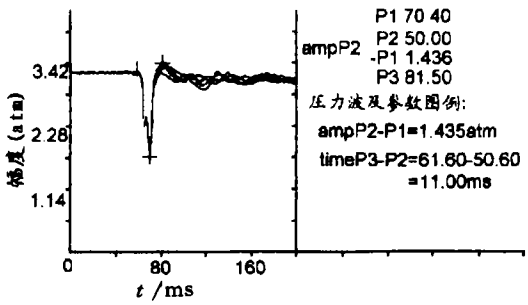
1.4 统计分析

数据以平均值±标准差表示。均值间差异行t检验统计分析,以$P<0.05$,$P<0.01$为显著水平。

2 结果

检测流体冲击压力波形发现,压力波基本为一单峰波,波形单纯,未见明显振荡,波峰值为1.48±0.05 atm,波宽21.37±1.00 ms,致损伤作用较为单纯,具有较好的重复性(附图)。

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



附图 流体冲击压力波检测(四次压力波重叠显示)

伤后即刻,大鼠脑组织 AAD 明显升高,由伤前的0.01535%升高至0.02699%,与伤前比较差异显著($P<0.01$);伤后1、2 h,AAD 下降,与伤前比差异不显著;至伤后4 h,AAD 第2次升高,与伤前比较差异显著($P<0.05$);伤后8、24 h,AAD 又降至0.017266%和0.01734%,与伤前比较差异无显著性。

3 讨论

流体冲击致大鼠颅脑机械性损伤模型,其致伤强度可被计算机精确测量,并具有较好的稳定性,与闭合性颅脑损伤近似等特点,国外于70年代就已广泛应用,但在国内起步较晚。本室自行研制的流体冲击装置及压力传感-计算机检测系统与国外同类装置相比,具有以下特点:(1)冲击接头可互换以适应不同种类的实验动物和致伤水平的需要;(2)活塞与冲击头之间用一高强度软管联接,更便于操作,并可调整冲击方向和部位。本实验结果表明,致伤力基本上为一单峰压力波,作用时间(波宽)和作用强度(波幅)均较为恒定,可以认为该模型具有较好的重复性。

DAB 酶组化染色法的原理是根据血细胞中的内源性过氧化物酶(endogenous peroxidase)作用于底物(过氧化氢)释放出原子氧使 DAB 产生有色沉淀,而使血细胞呈色,从而间接显示微血管构像。本实验利用计算机图像分析技术,将单位面积内的血管平均密度(AAD)定量化,可间接反映组织内微血管管径的变化情况。本实验中,伤后即刻 AAD 显著升高,可能与创伤本身的机械性刺激导致实验动物动脉压应激性升高造成微血管被动性扩张有关。本实验还观察到,创伤后大鼠出现明显的呼吸抑制,其是否与实验动物颅内压瞬间快速升高导致暂时性的中枢抑制,使颅内微血管紧张度下降有关,尚需进一步研究。伤后1、2 h AAD 降至伤前水平,与伤前比较差异无显著性。至伤后4 h,AAD 再次出现显著升高。显然,创伤后实验动物脑组织发生了一系列的病理生化改变,各种毒性物质如毒性氨基酸、膜脂质降解产物(白三烯、TXA_2等)、游离钙、自由基等大量产生,导致微血管内皮细胞破坏,血管紧张度下降,而致微血管内容物外渗,血栓形成,血流缓慢,表现为微血管平均密度破坏性地增高[3]。伤后8 h AAD 降至伤前水平,至伤后24 h 无明显改变。提示伤后4 h 左右为颅脑损伤后继发性的病理变化高峰期,在此期间脑组织内微血管系统出现明显改变。

关键词 流体冲击;颅脑损伤;血管平均密度

中图法分类号 R651.1

参考文献

1 Shima K, Markarou A. Evaluation of brainstem dysfunction following severe fluid-percusion head injury to the cat. J Neurosurg, 1991;74(2):270

2 王元身,张启东,刘玉军等. 应用内源性过氧化物酶-联苯胺细胞化学法显示中枢神经系统内微血管方法的研究. 首都医学院学报,1992;13(1):27

3 Dewitt DS, Kong DL, Lyeth BG *et al*. Experimental traumatic brain injury elevates brain prostaglandin E_2 and thromboxane B_2 levels in rats. j Neurotrauma, 1988;5(4):303

(收稿:1995-05-10;修回:1996-03-06)

(编辑 张大春)

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