DOI:10.16016/j.1000-5404.1993.04.021

技术与方法

冲击波对培养细胞致伤方法的改进

张映雪 （第三军医大学大坪医院眼科）630042
王正国 李晓炎 冷华光 杨志焕 （第三军医大学野战外科研究所）630042

冲击波通过何种途径致组织细胞损伤尚不很清楚。Suneson[1,2]等采用离体培养神经节细胞、主动脉内皮细胞和肿瘤细胞进行冲击损伤实验，证实冲击波可导致此三种细胞损伤，且神经节细胞损伤程度与在活体条件下致伤程度无显著差异[3~5]。本研究建立了冲击波直接致伤细胞模型，以探讨冲击波对培养兔角膜内皮细胞的直接损伤作用。

1 材料和方法

对准激光瞄准器，使其发出的激光束穿过枪膛和钢筒上两个相对应孔而投射至沙袋。用医用胶布封闭此两孔，筒中加入37℃水至筒一半处，将外套塑料膜其中充满培养液的细胞培养皿徐徐放入水中，再加水至孔上缘（低压组）或至孔一半处（高压组），固定筒盖。子弹穿过水中，形成持续短暂时间的压力波即冲击波，冲击波通过水传播作用于细胞，与细胞同高度的压力传感器记录压力波，经过调制器（AMP），显示于存储示波器（DSS-5440），并用记录仪（3086X-Y）记录波形曲线。细胞冲击波损伤实验模型见图1。

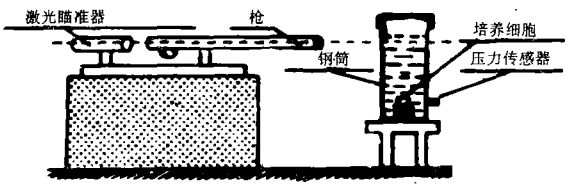


图1 细胞冲击损伤实验模型

①钢筒：长480mm、外径100mm、厚3mm，两相对应孔直径25mm，细胞至孔中部距离262mm，细胞至孔上缘距离275mm ②低压组：53式滑膛枪，0.25g弹药的子弹，4.736mm钢球。 ③高压组：56式军用步枪，7.62mm子弹。

2 实验结果

2.1 实验钢筒内冲击波波形和参数

本实验冲击波低压组和高压组形成的冲击波波形曲线相似（图2），波形呈尖峰，可有数个波峰，以第一次峰和第二次峰为主，以后的波峰很小，可忽略不计。冲击波参数包括峰值和持续时间，其可调范围为：峰值500～4000kPa，持续时间0～2ms。

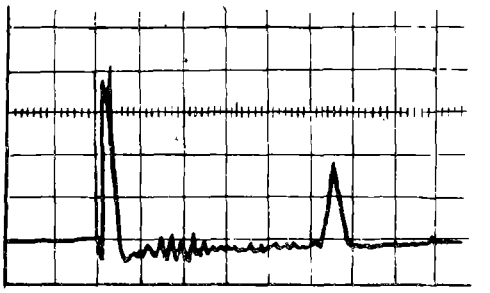


图2 冲击波压力—时间曲线

竖格：1格＝1伏≈926.7kPa 横格：1格＝1ms

2.2 细胞损伤程度

细胞冲击损伤，主要表现为细胞脱落、变性、坏死。损伤较轻时，部分细胞不规则脱落，细胞间镶嵌连接分离，部分细胞胞浆线粒体嵴排列紊乱，粗面内质网囊胞状扩张，Na/k ATP酶活性下降，伤后21 d，90%细胞基本恢复正常。损伤较重时，细胞成团脱落，部分细胞核常染色质和异染色质均减少，线粒体嵴数目减少或消失，粗面内质网扩张明显，部分脱颗粒，Na/k ATP酶活性显著下降，伤后21 d，只有50%～60%细胞基本恢复正常。随着冲击波压力峰值增加，细胞损伤程度加重，细胞恢复程度减弱（附表）。

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

附表 细胞损伤和冲击波参数关系的比较

分组	峰值 (kPa)	持续时间 (ms)	脱落细胞 (%)	恢复细胞 (%)
低压组	938～1024	0.70～0.75	20	90
高压组	2814～3000	0.45～0.51	35～40	50～60

3 讨论

本研究采用培养细胞进行冲击损伤实验，避免了活体动物细胞、组织和血供复杂的相互作用，以及血液循环障碍所产生的营养代谢紊乱等继发因素的影响，尤其是排除了继发作用引起的损伤超过原发损伤改变的可能性。同时，培养细胞还提供了以简单方式研究短时冲击波对细胞直接损伤作用的条件，从而消除了由于动物组织密度不同形成的难以预测的反射与干涉压力波的影响。因此，采用本模型可以在单纯的条件下，研究冲击波对细胞的直接损伤作用。

我们在建立的钢筒中进行细胞冲击损伤实验，测得的压力值稳定，变化范围小，从观察结果看，本模型稳定性及重复性均达到实验要求，结果分析可靠。用此实验模型研究了冲击波对原代培养兔角膜内皮细胞的损伤作用，结果表明，角膜内皮细胞受损程度随着冲击波压力峰值增加而加重，而细胞恢复程度减弱。

关键词 爆炸伤/病理学；细胞，培养的

参考文献

1. Suneson A, Hansson HA, Lycke E, et al. Pressure wave injuries to rat dorsal root ganglion cells in culture caused by high-energy missiles. J Trauma, 1989; 29: 10～18
2. Suneson A, Hansson HA, Kjellstrom BT, et al. Studies on effects on cell cultures of pressure waves generated by high energy missile impact. J Trauma, 1990; 6(2)Supplement: 124～131
3. Suneson A, Hansson HA, Seeman T. Peripheral high-energy missile hits cause pressure changes and damage to the nervous system. Experimental studies on pigs. J Trauma, 1987; 27: 782～789
4. Suneson A, Hansson HA, Seeman T. Pressure wave injuries to the nervous system caused by high-energy missile extremity impact. Part I. Local and distant effects on the peripheral nervous system. A light and electron microscopic study on pigs. J Trauma, 1990; 30: 281～294
5. Suneson A, Hansson HA, Seeman T. Pressure wave injuries to the nervous system caused by high-energy missile extremity impact. Part II. Distant effects on the central nervous system. A light and electron microscopic study on pigs. J Trauma, 1990; 30: 295～306

(收稿：1992-11-20；修回：1993-04-13)

大鼠淋巴结 T 淋巴细胞亚群的免疫电镜标记

李爱莲 (第三军医大学基础部病理教研室) 630038

T 淋巴细胞是细胞免疫的主体，了解 T 细胞亚群的变化在病理研究中具有重要意义。光镜下检测 T 细胞亚群的方法较多，但在超微结构水平标记观察的报道较少，尤其是淋巴组织的细胞。本文参照有关文献[1～4]，用胶体金技术对大鼠淋巴结 T 淋巴细胞及其亚群进行了免疫电镜检测，取得良好效果，报告如下：

1 材料与方法

1.1 动物为健康雄性 Wistar 大鼠，体重 180～220g。大鼠断头活杀，取肠系膜淋巴结，分离周围结缔组织。将淋巴结置无菌生理盐水内剪碎，用注射器和4号针头滤器过滤，制成淋巴结细胞悬液。

1.2 抗大鼠 T 细胞亚群的单克隆抗体 MRC OX-

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