

中国科协首届青年学术年会卫星会议
辽宁省首届青年学术年会

论 文 集

医科分册

辽宁省首届青年学术年会执行委员会编

东北工学院出版社

1992年·沈阳

(辽)新登第 8 号

本册文集编校人员名单

责任编辑 章 丽 裘孝琦 孙宪民 吴卫红 李建华 陈维纲 任志贤 刘元健

责任校对 刘元健 任志贤 章 丽 裘孝琦 吴卫红

装帧设计 刘元健

描 图 章 丽

中国科协首届青年学术年会卫星会议
辽宁省首届青年学术年会
论 文 集

医科分册

辽宁省首届青年学术年会执行委员会编

东北工学院出版社出版发行

(沈阳市·南湖)

中国科学院沈阳分院印刷厂印刷

开本:787×1092 毫米 1/16 印张:23.5 字数:571 千字

1992 年 12 月第 1 版

1992 年 12 月第 1 次印刷

印数:1~400 册

ISBN 7-81006-504-1/Z·122 定价:72 元

目次

脂质过氧化在动脉粥样硬化病变形成中作用的探讨	唐中华等(1)
骨形成蛋白质与骨基质明胶复合修复骨缺损实验研究及临床观察	秦书俭等(4)
人皂甙对原代培养大鼠胚胎下丘脑神经元的影响	包峰等(7)
PCR-SSCP 分析法检测基因突变及应用	张学等(10)
抗杯状细胞粘液特异性单抗和对肿瘤的表达分布及临床意义	杨广育等(13)
我国四地区旋毛虫分类地位的探讨	安春丽等(18)
水(粮)中有机物致大骨节病作用及其机制的研究	冯兰飞等(22)
呼吸性粉尘浓度与总粉尘浓度关系的研究	刘茁等(25)
急性肺过度充气对吸气肌功能的影响	姜天喜(28)
胰岛素依赖型糖尿病 HLA 相关抗原对胰岛功能和疾病病情的影响	单志艳等(32)
静脉预注川芎嗪对单肺通气的影响	郭艳辉等(36)
偏心圆视眼固视状态与视力关系的研究	雷虹等(39)
关于假声受限或消失机制的探讨	何平(42)
生米卡链霉菌丙酰化酶基因定位	崔丽薇等(46)
TCM-BRM _{A-1} 对辐射导致免疫功能紊乱的调节作用的实验研究	姜欣等(48)
人参地上部分活性成分的研究	赵余庆(52)
超声引导下针吸细胞学检查对腹部肿瘤的诊断价值	刘凤琴(55)
TIPSS 治疗肝硬化门脉高压症的初步报告——附 5 例分析	徐克等(57)
正常白细胞与白血病白细胞中 PKC 的大分子抑制剂的活性比较	杨巍等(60)
乙胺嘧啶对体外增殖乳鼠心室肌细胞搏动频率和动作电位的实验研究	刘毅等(63)
NaClO ₂ 致甲低功大鼠肝核 T ₁ 受体特性的研究	肖建英等(68)
亚硒酸钠对心脏电生理特性的影响	张一红等(72)
丹参液对缺氧培养小鼠胎心的影响	葛娴(75)
应用聚合酶链式反应快速检测嗜肺军团杆菌	林洪丽等(78)
不同前体来源的人淋巴细胞经 IL-2 及抗肿瘤 iRNA 激活后	
抗肿瘤活性的体外研究	舒红等(81)
人肺癌中 P ⁵³ 基因点突变的 PCR-SSCP 分析	潘杰等(85)
应用组织原位杂交方法在肾小球肾炎患者肾活检组织中	
检测 HBV-DNA 的研究	侯晓刚等(88)
粘液细胞在气管上皮损伤后的修复作用——抗 Brdu 单克隆抗体的应用	王恩华等(91)
胃癌组织肿瘤浸润淋巴细胞 Neo ^R 基因导入的研究	陆世龙等(94)
猫肠系膜后神经节内盲肠、横结肠、乙状结肠、子宫、	
膀胱交感节后神经元的局部定位	佟晓杰(97)
新型抗人胃肠癌单抗 CMU15 的研制及对胃癌胃粘膜	
不典型增生的免疫组化分布研究	刘晓东等(100)
与大肠粘膜上皮及大肠癌细胞高尔基体区反应的单克隆抗体 CMU10	刘晓东等(104)

人肝刺激因子对 CCl ₄ 损伤大鼠离体肝细胞内钙和钾离子稳态的影响	邵 青等(106)
异搏停对小鼠肝癌腹水瘤细胞系 PI-PLC 活性的影响	姚晓丹等(111)
癫痫活动中海马内外细胞信息传递通路	王 静等(115)
尿激酶原 cDNA 在疫苗病毒中的表达	朱千政等(118)
猫后索核—丘脑—皮质通路在丘脑水平的突触联系	张孟良等(121)
家兔蓝斑和臂旁核神经元向前脑和小脑的分支投射 ——荧光双标记法结合荧光组化法	李 岩等(125)
单段函数残差辨识与体内药物累计法结合研究 中药复方制剂的生物利用度	王晓波等(129)
川芎嗪对离体大鼠肺动脉作用及机理的探讨	魏敏杰等(135)
不同煅制温度对自然铜无机元素含量的影响	袁长季等(138)
碳纤维葡萄糖氧化酶微电极的研制	魏东兵等(141)
肝细胞癌的 PCNA 阳性细胞与 BrDU—抗 BrDU 法的比较	李铁丽等(144)
平衡膳食对缺锌儿童锌恢复与锌吸收率的影响	周 波等(148)
紫外辐射致免疫抑制的剂量—效应关系的实验研究	田 英等(151)
乙肝基因疫苗免疫后抗-HBs 下降规律及推测加强免疫时间的探讨	李淑秋等(155)
多元统计方法在附设性医学科科研机构科研能力分类中的应用	谢 红等(158)
同时变化的钙、铁对大鼠锌生物利用率的影响	陈冬梅等(163)
铅对小鼠睾丸毒性作用的实验研究	姜厚波等(166)
乙肝牛痘基因重组疫苗与哺乳动物细胞基因疫苗免疫效果观察	李淑秋等(169)
应用中空纤维滤柱及抗原捕捉 PCR 法从水中检出 HAV RNA	吴少惠等(172)
微机管理儿童平衡膳食与营养状态追踪观察	康艳丽等(174)
氟丁二烯致大鼠肝损害机理和检测指标的研究	张 睿等(178)
血清 TSA 和 CRE 联合检测在肺癌防治中的价值	金亚平等(181)
电焊工神经行为功能变化的初步探讨	罗东升(185)
疏甲丙脯酸对慢性阻塞性肺疾病继发肺动脉高压的血液动力学作用	王 实等(188)
原发性肾病综合征患者纤溶状态的探讨	孙雪峰等(192)
汉防己甲素降低慢阻肺继发性肺动脉高压的临床观察	康 健等(196)
被动性 Heymann 肾炎模型的制备及其发病机制的研究	李子龙等(199)
尼群地平对血小板功能抑制的研究	李 杰等(203)
长期尼群地平降压治疗对左心室功能和心肌肥厚的影响	张振刚等(206)
颅内动脉瘤的发生机制研究	聂志余等(209)
先天性上消化道梗阻患儿术前、后胃食管测压研究	袁正伟等(212)
同种异体骨基质明胶与自体红骨髓复合植入物修复 家兔骨缺损的实验研究	屠冠军等(216)
涤纶人造血管移植于犬腹主动脉后不同时期的组织形态学研究	魏春果等(219)
P53 抑癌基因在涎腺恶性肿瘤及癌旁组织中的表达	李莘薇等(222)
低雌激素性原发闭经和卵巢早衰患者骨代谢状况的研究	姚吉龙等(225)
声带麻痹和环杓关节运动障碍的粘膜波动调查	闫美苑等(229)
川芎嗪对心肌保护的临床研究	许锦花等(232)

检测唾液中变形链球菌的新方法	曲君丽等(235)
银屑病患者 PMN 对 PAF 的聚集反应及 PAF 拮抗剂对其作用	刘宝军等(238)
线性滴定 A 均匀设计法测定有机碱盐酸盐类药物含量	齐美玲等(242)
高效液相色谱法测定安宫黄体酮及其“有关物质”含量	于治国等(245)
中药复方清热解毒静脉注射液的研究	顾凯新等(249)
检测排卵的新方法——唾液中 NAG 酶的规律性变化研究	范 放等(252)
386 例孔源性视网膜脱离的眼内液动态情况分析	李 弘(255)
孔源性视网膜脱离时玻璃体对眼内液动态的影响	李 弘(260)
视网膜下液中环磷酸腺苷水平与孔源性视网膜脱离眼内液动态	李 弘(263)
改良金津玉液海泉穴针刺法治疗癔病性失音 88 例报告	傅 孜等(266)
肝病脾气虚症微量元素测定及其临床意义探讨	李若鸿(268)
彩色多普勒血流显像对下肢动脉硬化闭塞症诊断的研究	陈丽光等(270)
应用血管内支架治疗下腔静脉闭塞的初步研究	徐 克等(274)
早期脑梗塞的 CT 诊断	王成纲(277)
冠心病患者运动时左室容量及压力—容量比值变化的研究	刘忠林等(280)
应用聚合酶链反应检测结核分支杆菌	郭津津等(284)
妊娠妇女阴道菌群的研究	王长智等(287)
新生儿硬肿症能量代谢的变化及其临床意义	曲云霞等(291)
甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶支力学测定法	张一兵等(295)
体外甲状腺素及其衍生物对大鼠大脑皮质和肝肾中 T ₃ 5'脱碘酶活性调节的研究	于鸿儒(295)
大鼠束旁核与黑质 I 型神经元联系途径的分析	卢智泉等(296)
支气管肺炎患儿与菌群失调关系分析	肖纯凌等(296)
治瘫灵对大鼠脑内血肿的影响观察	冯兰飞等(297)
药物治疗状态下癫痫病人血浆中儿茶酚胺水平与癫痫发病的初步探讨	孙秀菊等(297)
用地高辛标记核酸探针检测巨细胞包涵体患儿尿中巨细胞病毒 DNA	史金阳等(298)
滤泡源性甲状腺癌性类固醇激素受体的临床病理研究	王翠芳等(298)
人喉癌裸鼠移植瘤模型的建立及其生物学特性研究 ——生长特性和形态学观察	修英涛等(299)
人肺腺癌细胞系 AGZY-83a 经双丁酰环磷酸腺苷诱导分化后表面糖基变化	邱雪杉等(299)
实验性脑死亡脑外器官的微观超微结构变化的动态观察	杜建芳等(300)
表皮生长因子受体基因在人胃癌组织中扩增的研究	郑河明等(300)
正常人及胃癌患者胃蛋白酶原 C 基因多态性研究	袁 媛等(301)
我校科研工作动物实验研究状况分析	高舒平等(301)
血型前体 T 抗原在胃癌、肺癌中表达及酶化学检测的生物早诊方法研究	杨广育等(302)
猫后索核内后根初级传入终末与丘脑投射神经元间的突触联系	王 滨(302)
疫苗病毒修饰的肿瘤细胞膜成分抗肿瘤免疫保护效应	王大庆等(303)
大鼠再生肝抗四氯化碳损伤机制的初探	宫德正等(303)
猫三叉神经尾侧脊核-丘脑-皮质通路在丘脑水平的突触联系	隋鸿锦等(304)
硒对阵发性睡眠性血红蛋白尿病人红细胞膜保护作用的研究	刘 波等(304)

瘤内注射 LAK 细胞对 Ca761 乳腺癌的治疗作用	施广霞等(305)
大鼠下丘脑室旁核微量注射 U50488H 对肾水钠钾排出的影响	狄安程等(305)
肠球菌生态制剂对人血清胆固醇水平作用的初步探讨	傅晓丽等(306)
超微量测定血清铁及总铁结合力的方法学研究	
——偏振塞曼无火焰原子吸收分光光度法	于桂秋等(306)
胎儿胃胆碱能神经元的定位定量研究——光、电镜酶组织化学观察	彭虹等(307)
猫肠管肌间神经丛胆碱能神经元的定位定量研究	
——光、电镜酶组织化学观察	赵慧敏等(307)
高压氧对小鼠脾 T 淋巴细胞亚群的影响及其与肾上腺的关系	田伟等(308)
^{131}I -CMU _n 在人胃癌细胞系 MGC80-3 裸鼠移植瘤模型中的导向研究	刘宝东等(308)
天然白细胞介素-2 的研制及其应用	梁伟等(309)
肺癌凝集素受体的免疫组化研究及定量分析	马凤毛等(309)
猫脊髓—丘脑中央外侧核—皮质通路在丘脑水平的突触联系	孙长滨等(310)
采用免疫磁体分离人骨髓巨核细胞	马东初等(310)
ATP 生物发光法预测白血病药敏的实验研究	方军捷等(311)
胚胎期特性在器官移植中的推广应用	朱国志等(311)
去肾神经对家兔肾脏生后发育的影响	邹伟等(312)
单段函数残差辨识与叠加理论结合预测多剂量给药后的血药浓度	王晓波等(312)
隐匿性甲状腺癌的临床病理学研究——病理组织学特征及其早期诊断	万义增等(313)
腹水染色体检查在细胞学诊断上的应用	冯晓贺(313)
肝癌特异性蛋白 SHCSP 检测 149 例观察	王昕(314)
消除德国小蠊对溴氰菊酯抗药性的研究	谢俭波等(314)
大肠癌与膳食营养素、血清、体脂脂肪酸组成的病例对照研究	陈露秋等(315)
人群中高血压的发生存在时间与自身急性心梗发作间期关系探讨	时景璞等(315)
乳腺癌预后因素多变量分析	于石成等(316)
急性心肌梗塞急性期预后多因素分析——非条件 Logistic 模型	周宝林等(316)
重组酵母乙型肝炎疫苗的四年免疫原性及抗体持久性	
影响因素的 Logistic 回归的研究	井立臣等(317)
华枝睾吸虫病肝脏病理组织学和组织化学的实验观察	曹雅明(317)
胆石症病人体脂脂肪酸组成与胆石胆固醇含量的关系	马旋等(318)
COPD 普查人群中血清 α_1 -AT 检测分析	李富君等(318)
接触放射线人员尿白蛋白、 β_2 微球蛋白、免疫球蛋白 G、	
糖蛋白联合检测的临床价值	赵万欣等(319)
致病性弧菌毒力因子的研究	王晓春等(319)
环境慢性镉危害早期判断标准的研究	
——沈阳张士灌区妇女的慢性镉危害	崔仲明等(320)
403 名职业献血员 HCV、HBV 感染状况研究	卢冰等(320)
锦州九个地区 3903 名饮食和公共场所等从业人员营养状况调查	廉国等(321)
镉污染区居民尿镉与尿 β_2 -微球蛋白相关性研究	梁晶等(321)
辽宁省首次发现米克戴德军团病	郭军巧等(322)

乡镇油毡生产企业环境污染对人群健康影响的经济损失分析.....	赵东哲(322)
辽宁省 151 株鼠伤寒沙门氏菌的耐药谱及噬菌体分型研究.....	姚文清等(323)
北方旅客列车德国小蠊对四种杀虫剂的抗药性测定.....	李 凡(323)
一次由冻干血浆引起的丙型肝炎暴发的调查.....	韩 悦等(324)
辽宁吸虫蚶科 4 新种.....	孙悦欣(324)
辽宁省部份地区不同职业、经济状况与营养和健康关系调查报告	单 森等(325)
辽宁省结核病流行趋势分析及 2000 年疫情预测	苏 娅等(325)
生物心理社会学模式与建立厂矿企业心理卫生保健网.....	王少敏等(326)
中专医学生心理卫生问题的研究.....	侯淑春(326)
411 例脑血栓预测相关因素评价	靳 楠等(327)
急性心肌梗塞时体镁的动态观察.....	江 珊(327)
超声心动图评价新生儿窒息的左心功能.....	穆亚平等(328)
支气管肺泡灌洗液细菌定量培养对下呼吸道感染的诊断价值.....	王镇山等(328)
线粒体脑肌病 Kerns-sayre 症候群——附 9 例报告	许 晶(329)
椎—基底动脉 TIA 的 BAEP 转颈试验研究	鲍海平等(329)
CBCV _{P16} 方案治疗小细胞肺癌近期疗效观察	李晓玲(330)
新生猪胰岛样细胞团的大量生成和异种移植.....	刘纪宁等(330)
经肋床手术治疗肝脓肿.....	李立权(331)
工字式机械调整骨折复位外固定器的研制与临床应用.....	李 俭等(331)
外伤性动脉瘤的诊断与治疗——附 21 例报告	张国君等(332)
术前胃镜下癌灶周注入微颗粒活性炭在胃癌淋巴结清除术中的意义.....	戚晓东等(332)
应用气囊导管和胆道镜扩张胆管狭窄并取石——附 22 例报告	吴硕东等(333)
β -榄香烯治疗颅内恶性肿瘤的临床研究	徐英辉等(333)
抑制胰腺外分泌治疗急性出血坏死性胰腺炎的实验研究.....	任双义等(334)
148 例肺癌首发临床表现分析	曹中良等(334)
高压氧治疗颅脑损伤.....	何 波(335)
影响乳腺癌五年生存率的逻辑回归分析.....	英子伟等(335)
CT 在胃癌量诊断方面的应用	韩少良等(336)
颈椎助力托的研制与临床应用.....	田江宜(336)
常温下选择性肝门阻断肝切除——附 23 例报告	付维利(337)
脑出血并发肺炎护理的改进措施.....	叶海花等(337)
血钙定量与尿钙定性关系比较.....	王艳玉等(338)
胎儿窘迫红细胞内超氧化物歧化酶及脂溶性荧光色素的改变.....	施 萍等(338)
皮肤外科综合疗法治疗中晚期酒渣鼻的临床研究.....	李铁男等(339)
影响光固化质量的因素.....	林治家等(339)
应用电视录像频闪放大喉镜对声带白斑的动态观察.....	何 平(340)
几种血管扩张药物对豚鼠耳蜗血流的影响.....	付 敏等(340)
喉癌与 ABO 血型的关系——195 例喉癌的血型分析	郭 旭等(341)
应用 Nd:YAG 激光治疗鼻科疾病	侯玉凡等(341)
溃疡膏外敷治疗腺癌的临床应用研究.....	孔志凤等(342)

几种牙面处理剂对玻璃离子体粘固剂与牙本质粘结性能的影响.....	仇丽鸿(342)
龋病患者血清中抗变形链球菌特异性抗体的测定.....	张陆庄等(343)
口腔扁平苔藓病损中郎格罕细胞、T淋巴细胞、 角质形成细胞的免疫组化研究.....	彭春岩等(343)
高氟区牙釉质钙含量和显微硬度的研究.....	贾兴亚等(344)
Le Fort I型截骨后鼻形态的变化.....	华泽权等(344)
中西医结合治疗难治性房早的临床观察.....	陶贵周(345)
配制葡萄糖液后立即测定旋光度必须加氨试液.....	王小平(345)
高效液相色谱法测定口服葡萄糖酸锌在兔体内的血锌浓度 及药代动力学研究.....	赵春杰等(346)
雷少逸医案浅谈.....	张 群(346)
胎儿胸腺穴位埋藏治疗慢性肝炎 10 例疗效观察.....	金 翹等(347)
台议《难经》中的医学辩证法思想.....	刘 盈(347)
浅谈西药中用.....	姜寅光(348)
中药外敷治疗脓疱疮 60 例报告.....	卜静波等(348)
抗消化性溃疡新药——消溃宁双层片的处方研制及临床应用.....	王 颖(349)
^{123}I -IMP、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HM-PAO 和 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ECD 脑血流灌注断层显像的对比分析.....	李亚明等(349)
脑瘤经导管化疗结合温热灌注方法的探索及临床应用.....	董 志(350)
采用电子束全身照射技术进行蕈样霉菌病治疗的研究.....	任 青等(350)
经颅多普勒超声在椎—基底动脉供血不足中的应用——附 200 例分析.....	李军玲(351)
输精管造影临床应用.....	张弘彬(351)
浅谈相对重伤论的应用与意义.....	王家昱(352)
女扎术后并发症病人心理卫生问题的研究.....	侯淑兰(352)

脂质过氧化在动脉粥样硬化病变形成中作用的探讨

唐中华

(锦州医学院病理教研室)

陈铁镇

(中国医科大学实验病理研究室)

摘要 本文研究了内皮细胞脂质过氧化损伤对实验性动脉粥样硬化病变形成的影响。结果表明,脂质过氧化能引起动脉内皮细胞损伤,其性质属于非剥脱性损伤;高脂血症加动脉内皮细胞损伤组,饲高胆固醇饲料 8~10 周,颈动脉形成纤维斑块,而对照组未形成明显动脉粥样硬化病变,说明内皮细胞脂质过氧化损伤促进和加速动脉粥样硬化病变形成,提示内皮细胞脂质过氧化损伤在动脉粥样硬化发病机理中起重要作用。

关键词 脂质过氧化;内皮细胞;动脉粥样硬化

脂质过氧化是细胞损伤的一种特殊形式,是许多因素致病的起点,脂质过氧化与动脉粥样硬化关系的研究刚刚开始。脂质过氧化在动脉粥样硬化发病学中的作用还不明确,为此我们较系统地观察了脂质过氧化对动脉内皮细胞超微结构的影响,并结合高脂血症观察了内皮细胞脂质过氧化损伤对实验性动脉粥样硬化病变形成的影响。

1 材料和方法

选用健康雄性新兰白兔 34 只,体重 2.0~2.5kg。

1.1 颈动脉内皮细胞损伤实验

采用改进隔离颈动脉段局部内皮细胞损伤方法,以浓度为 5×10^{-3} mol/L 的脂质过氧化引发剂联胺作用于颈动脉 3~5min,以生理盐水作为对照。将所有实验动物按不同时间随机分为 7 组处死动物。以戊二醛—多聚甲醛固定液生理压原位灌流固定。取损伤段颈动脉进行光镜标本制备及观察。TEM 样品经 EPON812 定位包埋、超薄切片、醋酸双氧铀—柠檬酸铅双重染色,透射电镜观察。SEN 样品经 CO_2 临界点干燥、真空镀膜、扫描电镜观察。

1.2 高脂血症加内皮细胞损伤实验

每只动物每天定量喂饲:1g 胆固醇,共喂 8~10 周,以复制高脂血症模型,定期静脉采血,用酶法测定血脂含量,结果血清总胆固醇含量一周后即开始升高。在喂饲胆固醇 1 周和 2 周后两次用上述隔离颈动脉段方法和相同深度联胺损伤左颈动脉,以生理盐水作用于对侧颈动脉作为对照。喂胆固醇 8 周和 10 周后分两组处死动物。在处死动物前 60min 射 5%伊文思蓝,生理压原位灌流固定 2h。根据伊文思蓝染色情况,定位取颈动脉进行大体检查和组织学观察,并进行透射和扫描电镜标本制备及观察。

2 结果

2.1 颈动脉内皮细胞损伤

对照组生理盐水作用于颈动脉内皮细胞 5 分钟,2h~72h 后观察均未见明显损伤。实验组

$5 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ 联胺作用后 2~12h, 肉眼观察颈动脉内膜被伊文思蓝染色, 说明动脉内膜通透性增加, 扫描电镜观察内皮细胞收缩, 核部膨出, 呈纺锤状。见有质膜泡形成。TEN 观察: 内皮细胞膜弯曲变形突出形成质膜泡, 与 SEN 所见相对应。24~72h, 硝酸银染色 SEN 观察: 嗜银线增宽, 粗细不均, 内皮细胞轮廓仍完整可见。内膜面特别是有质膜泡形成的内皮细胞附近, 有较多单核/巨噬细胞附着并伸出伪足。TEN 观察见单核/巨噬细胞进入动脉内膜。1 周至 2 周, 半薄切片观察见动脉内膜局灶性增厚。Pollak 染色显示增生的细胞为平滑肌细胞。各不同时间观察均未见内皮细胞片状脱落及内皮下层的暴露。

2.2 高脂血症加颈动脉内皮细胞损伤

对照组即单纯高脂血症组颈动脉未见明显改变。实验组即高脂血症加内皮细胞脂质过氧化损伤组颈动脉内膜粗糙不平, 有浅黄色或灰白色卵圆形或条状斑点散在分布。在上述病变及其周围伊文思蓝染色阳性, 说明该部位通透性增高。组织学观察对照组颈动脉内膜较薄, 仅由一层单层内皮细胞及少量结缔组织构成, 内弹性膜完整, 未见脂质沉积和平滑肌细胞增生。实验组颈动脉内膜局灶性增厚。大致有如下三种病变: (1) 脂点, 以含脂质的泡沫细胞为主; (2) 纤维斑块, 主要由增生的平滑肌细胞和泡沫细胞共同构成, 伴纤维组织增生和基质物质增多; (3) 纤维斑块, 以平滑肌细胞为主, 几乎没有泡沫细胞。三种病变以后二种为主。SEN 观察: 斑块部位内皮细胞排列不整齐, 有些内皮细胞局部破裂缺损并可见单核/巨噬细胞粘附, 甚至暴露出内皮细胞下的泡沫细胞。TEN 观察: 单核/巨噬细胞通过两内皮细胞间穿入或穿出动脉内膜。斑块内有大量脂质沉积。

3 讨 论

脂质过氧化是细胞损伤的重要机制。近年来的资料表明, 脂质过氧化与动脉粥样硬化密切相关^[1], 我们的研究已经证实脂质过氧化对体外培养人血管内皮细胞有损伤作用^[2]。本实验结果表明, 脂质过氧化对体内动脉内皮细胞有损伤作用, 并且内皮细胞对脂质过氧化较敏感。在脂质过氧化作用下, 动脉内皮细胞质膜泡形成。质膜泡形成是内皮细胞脂质过氧化损伤的重要变化, 是损伤的早期表现。

近年来认为, 内皮细胞损伤的概念不仅包括细胞的坏死和脱落, 也包括轻微的形态变化和功能的异常, 这种损伤称之为内皮细胞的非剥脱性损伤^[3,4]。本实验在内皮细胞损伤后 2h 到 2 周用多种方法观察显示, 除内皮细胞超微结构损伤外, 内膜仍保持其完整性而无内皮细胞片状坏死脱落及内皮下层的暴露, 表明其内皮细胞损伤属于非剥脱性损伤。

本实验以高脂血症与内皮细胞脂质过氧化损伤相结合研究脂质过氧化与动脉粥样硬化的关系。结果, 单纯高脂血症 8~10 周, 家兔颈动脉不形成明显的动脉粥样硬化病变, 而结合内皮细胞脂质过氧化损伤后颈动脉形成明显的动脉粥样硬化病变。该结果提示, 内皮细胞过氧化损伤与高脂血症有相加或协同作用, 促进和加重动脉粥样硬化病变形成过程。其机理可以从以下几方面去理解。(1) 脂质过氧化损伤内皮细胞, 损伤的内皮细胞及粘附并穿入内膜的单核/巨噬细胞释放血小板源性生长因子(PDGF), 同时增生的平滑肌细胞也释放内源性 PDGF^[5]。(2) 内皮细胞虽属非剥脱性损伤, 但是, 内膜通透性增高, 过多的 LDL 进入动脉壁并在其中沉积, 其中的载脂蛋白 B 也具有刺激平滑肌细胞增生的作用。(3) 脂质过氧化抑制内皮细胞 PGL₂ 的合成^[6], 增加血小板易感性, 增加血小板形成 PDGF, 并增加内皮细胞和平滑肌细胞对 LDL 的摄取, 从而加速动脉粥样硬化的发生。提示脂质过氧化在动脉粥样硬化发病机理中起重要作用。

参考文献

1. Stringer MD, et al. Lipid peroxides and atherosclerosis. Br Med J 1989;298:281
2. 陈铁镇,等. 脂质过氧化对培养人内皮细胞的损伤作用. 中华病理学杂志 1989;18:15
3. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis an update. N Engl J Med 1986;314:488
4. Reidy MA, et al. A nondenuding injury to aortic endothelium. Lab Invest 1983;48:25
5. Ross R, et al. The biology of platelet derived growth factor. Cell 1986;46:155
6. Mayer B, et al. Possible inhibitor function of endogenous 15hydroperoxyeicosatetraenoic acid on prostacyclin formation in bovine aortic endothelial cells. Biochim Biophys Acta 1986;875:641

作者简介 唐中华, 1959年7月出生, 1983年7月锦州医学院医疗专业毕业, 获学士学位; 1986年7月白求恩医科大学病理学专业研究生毕业, 获硕士学位, 导师傅太顺教授; 1986年7月中国医科大学病理学专业博士研究生毕业, 获博士学位, 导师陈铁镇教授。现在锦州医学院, 从事心血管疾病的防治研究和病理学教学工作。发表论文8篇, 曾参加陈铁镇教授承担的“七五”国家科技攻关课题研究工作, 该课题获1991年卫生部重大科技进步二等奖。

骨形成蛋白质与骨基质明胶复合 修复骨缺损实验研究及临床观察

秦书俭 赵宝冬 周桂芬

尚德志

(锦州医学院解剖教研室骨研究室)

(锦州医学院附属医院口腔医院外科)

摘要 根据诱导成骨理论,由动物鲜骨提取无排斥反应,诱导成骨作用强的骨形成蛋白质,与骨基质明胶复合修复 26 只家兔桡骨缺损。通过 X 线和组织学方法检查结果表明,术后第 4 周,植骨区的纤维性骨痂中有成骨细胞形成;第八周植骨区大片新骨形成;12 周植骨区基本为新生骨填充;16 周骨缺损修复过程基本完成。利用该复合材料治疗 8 例上颌骨骨缺损患者,疗效满意,3 个月缺损区骨小梁形成,6 个月修复基本完成。

关键词 骨形成蛋白质;骨缺损

目前,临床骨科多采用自体骨修复骨缺损。由于自体骨来源有限,难以满足大面积骨缺损的需要。另外,切取自体骨,病人需承受新的创伤和痛苦,甚至引起并发症,所以常不易被病人所接受。鉴于上述原因,开发研究一种即无排斥反应,又能促进骨缺损修复的新型植骨材料,取代或弥补自体骨源不足是临床骨科的迫切要求。

骨形成蛋白是骨基质中的一种小分子酸性多肽类物质,具有跨种诱导成骨作用。因此进一步探讨该蛋白质的成骨作用和临床应用,具有重大的理论意义和实用价值。

1 研究方法

1.1 植骨材料的制备方法

1.1.1 骨形成蛋白质(BMP)的制备

将新鲜羊骨截去两断端,清除骨膜后将骨干击碎成颗粒状。反复水洗后,对骨颗粒进行脱钙,脱脂和脱抗原处理^[1],然后按以下步骤处理。①用 6mol/L 尿素/0.5mol/L CaCl_2 作为第一次提取液,其中加少量蛋白抑制剂。经过 48h 的提取,将提取液先后进行透析和离心处理,收集沉淀得到 BMP 的粗提物(PC)。②用 4mol/L 盐酸胍溶解 PC 24h,滤出提取液残渣,得到盐酸胍不溶部分(P_1)。③用蒸馏水充分透析盐酸胍提取液,离主后沉淀物为盐酸胍可溶部分蛋白(P_1)。将上述几种 BMP 制品经冷冻干燥,置于低温冰箱内储存备用。

1.1.2 骨基质明胶(BMG)的制备

切取家兔髓骨或肋骨,除去骨膜;切割成小块。反复水洗后,按着 Urist 方法制备成兔 BMG,冻干备用。

1.1.3 人工骨

选用羟基磷灰石粒料(HA),由北京航空研究所研制。

1.1.4 BMP BMG 及 BMP HA 的复合

用 4mol/L 盐酸胍把 BMP 粉末溶解后将 BMG 和 HA 分加别浸至 BMP 溶液中 40min (4°C)。再把二种复合物移入蒸馏水中反复透析,冻干后环氧乙烷灭菌备用。

1.2 修复桡骨缺损实验

使用体重在 2000g~2500g 家兔 26 只,雌雄不限。在无菌、麻醉条件下暴露动物双侧桡骨,在桡骨中段造成 1~2cm 完全性断离。用 BMP/BMG 材料填充左侧桡骨缺损区,BMP/HA 或明胶海绵(空白组)填充右侧缺损区,因有完整尺骨的支撑,植骨部位未作固定。术后分别于 4、8、12 和 16 周取材。X 线摄影后,将植骨部位经石蜡包埋,制备 8 μ m 切片,H—F 染色;光镜观察。

2 观察结果

2.1 X 线观察结果

术后 4 周,BMP/BMG 组骨缺损区出现骨痂阴影,集中于骨缺损的中央部。第 8 周,骨痂阴影密度明显增高。第 12 周,骨缺损透光区消失,骨密度高于正常骨质。第 16 周,髓腔内密度减低,髓腔再通。

BMP/HA 植入组,从第 4 周至 16 周,骨缺损区仍有 HA 颗粒阴影。第 12 周,骨痂阴影增加。

空白组,到第 16 周,骨缺损区略有缩短,缺损中部仍为均匀的透光区,未出现骨痂阴影。

2.2 组织学观察结果

植入 BMP/BMG 组,第 4 周整个骨缺损区由纤维性骨痂和其中的 BMG 组成,前者主要由成纤维细胞,间充质细胞及丰富的新毛细血管所组成。在 BMG 周围,未见有小淋巴细胞浸润现象。光学显微镜下,BMG 呈均质淡粉色,其中未有骨细胞的痕迹,主要由胶原纤维构成。BMG 明显被吸收,面积缩小,由纤维性骨痂分隔成许多残片。在 BMG 残片的周围,纤维性骨痂开始向骨痂过渡,表现为成纤维细胞体变大,集聚;纤维骨痂中细胞成分增加,纤维成分减少;成骨细胞成边,常分布于 BMG 周边。

第 8 周,BMG 基本被吸收,仅见到少量的 BMG 残片。在纤维性骨痂中,形成许多新生的骨小梁。小梁之间,仍可见到 BMG 被吸收后的间隙。新生骨小梁呈条状,其中细胞排列不整,周边有许多成骨细胞排列。

第 12 周,骨缺损区纤维性骨痂消失,完全由新生骨组织填充,新生骨组织成团排列。中央部的骨细胞退化,周边骨细胞成骨活跃。第 16 周,髓腔中的新生骨组织团逐渐退化、消失,完全由周边的骨髓组织取代,从而显示了骨髓再通的过程。

BMP/HA 填充组,第 4 周,骨缺损区主要由纤维性骨痂和 HA 颗粒构成。其中未发现成骨细胞和新生的骨组织,也未有小淋巴细胞和炎症细胞浸润。第 8 周,HA 的吸收不明显,呈完整的条块状,周边裂隙较大。周围的成纤维细胞开始变形、聚集成团。在纤维性骨痂中有少量的成骨细胞出现。第 12 周至第 16 周,HA 仍未被吸收,呈斑块状分布,其中裂隙较多,周围的纤维骨痂中可以见到许多成骨细胞团和新生的骨岛,成骨细胞分布于新生骨岛的周边。第 16 周,缺损区纤维骨痂仍存,未见骨髓再通。

空白组,第 4~16 周,骨缺损内为纤维组织填充,其中未见成骨细胞和新生骨细胞,在缺损两端骨床侧可以见到少量的新生骨。

3 临床资料

自 1990 年 7 月以来,我院口腔科将 BMP/BMG 复合材料应用于临床,修复颌骨的良性肿瘤和瘤样病变切除术后新遗留的洞性骨缺损 8 例,其中颌骨囊肿 6 例,牙瘤 2 例,年龄在 10~

62岁之间。骨缺损直径均约在3CM³以上。术中将携带BMP的BMG紧密填充骨缺损腔内,敷少量明胶海绵后缝合创口。术后,患者颌面部未出现渗出和明显的软组织肿胀。术后7日拆线,创口均I期愈合。随访6个月,X线结果显示,植骨一个月骨缺损区可以见到模糊的骨痂阴影;3个月,植骨区骨密度普遍增高,见到骨小梁形成;术后6个月,植骨区的密度已接近正常的骨组织密度。

4 讨 论

4.1 BMP可以诱导形态上和分化上已趋于稳定的间质类细胞分化成软骨细胞和骨细胞。如果此类间质细胞不与BMP接触,则仍保持原有特征,仅能产生纤维性组织。一般认为,BMP诱导的靶细胞是一种未分化的但具有潜能的血管周围间充质细胞,尤其骨髓中的基质细胞对BMP更为敏感^[1]。实验表明,植入BMP第四周,植入物周围的骨髓组织很快演变成纤维性组织包绕植入骨,从而形成以间质细胞,成纤维细胞和丰富毛细血管为主的纤维性骨痂。以后,随着BMG的不断吸收和BMP的释放,其周围间充质细胞和成纤维细胞不断扩大,纤维性骨痂逐渐减少,直至完全消失,此时整个缺损区完全由新生骨填充。到第12周,新生骨组织明显开始进行改建活动,一般由每个骨岛的中部开始退化,新生骨由骨岛的周边不断形成,直至第16周,髓腔内的新骨基本退化,再次,由骨髓组织填充。

4.2 颌骨的良性肿瘤为口腔科的常见病之一,若术后骨缺损较小,一般不需进行植骨,但是对于直径为2cm颌骨洞性缺损,尤其在术中连牙齿一并拔除者,为了以后修复牙齿的需要及功能的恢复,需进行植骨,采用自体骨来修复此类缺损,常不易为患者所接受。利用人工骨填充骨缺损植入物不易被机体吸收,且缺乏诱导成骨作用,植入材料通常作为异物长期存在于颌骨之内。BMP BMG复合材料具有易于吸收,无排斥反应和诱导成骨的特点,因此植入骨缺损后可以在较短的时间内诱导自身组织修复缺损,而且不残留任何异物于骨缺损区内。

参考文献

1. Urist MT, et al. Solubilized and insolubilized bone morphogenetic protein. Proc Nat Acad Sci USA 1979; 76:1828
2. Mizutani H. The nature of bone morphogenetic protein fractions derived from bovine bone matrix gelatin. Clin Orthop 1982;171:213
3. 郑启新,等.骨形态生成蛋白的研究现状.中华实验外科杂志 1989;6(1):46

作者简介 秦书俭,男,1953年4月16日出生。1986年毕业于西安医科大学,获硕士学位。应聘来锦州医学院解剖教研室讲师以来,以第一作者署名发表国家级论文4篇,省级论文7篇;第二作者署名发表国家级论文5篇。获省91年度青年优秀论文二等奖1篇。参加全国性学术会议两次,地区性学术会议2次,大会交流论文4篇。主持省重点课题1项,其它课题3项,教学研究1项。其中3项研究获省级科研成果,并获学院教学成果二等奖1项。编写专业书籍两本(任副主编)。

人参皂甙对原代培养大鼠胚胎下丘脑神经元的影响

包 峰 何维为 吕永利 李永明

(中国医科大学脑研究所神经解剖研究室)

摘要 实验用扫描电镜,组织化学,免疫组化技术观察了人参皂甙对体外培养神经元的影响。结果表明,人参皂甙具有促进神经元突起生长,增加蛋白质合成,增强酶活性及加速神经元成熟的作用,为阐释人参皂甙抗衰老的作用机制提供科学资料。

关键词 人参皂甙;原代培养;大鼠胚胎;下丘脑;神经元

人参对神经内分泌系统具有广泛的影响^[1,2]。我们的研究证实,人参对整体老龄大鼠下丘脑神经元具有抗衰老作用。本实验应用原代体外培养神经元技术,观察人参皂甙对离体大鼠胚胎下丘脑神经元的正效应作用,为进一步揭示人参抗衰老的作用机制提供可靠的形态学证据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选用健康成年雌雄 Wistar 大鼠,交配后,于次日检查雌鼠阴道生理盐水冲洗液,以发现精子为妊娠日,取 17~18 天大鼠胚胎作实验。

1.2 培养液

以 RPMI 1640 为培养基液,加入小牛血清及青、链霉素,小牛血清浓度为 20%,青、链霉素终浓度为 100u/ml,以 NaHCO_3 调 pH 值为 7.2。人参皂甙配制:将 200 μg 人参皂甙加入 100ml 生理盐水中,在 15 磅压力锅中消毒 15min。

1.3 培养方法

无菌操作取大鼠胚胎,在显微解剖镜下取下丘脑部分,剔除脑膜及血管后,在 0.125%~0.25% 的胰蛋白酶中消化 20min,其间反复用吸管轻轻吹打,使细胞充分分离,用含 20% 小牛血清的培养液中止胰蛋白酶作用,并将下丘脑神经细胞稀释成每毫升含 $4 \times 10^5 \sim 10 \times 10^5$ 个神经细胞,而后将 1ml 细胞接种在直径为 35mm 的培养皿中,对照组加入 4ml 培养液及 0.1ml 生理盐水,给药组加入 4ml 培养液及 0.1ml 含人参皂甙的生理盐水,培养皿中预先放入小盖玻片,在盖玻片及皿中底壁上涂有一层鼠尾胶(按 Borstein 法配制)^[3]。目的是增强细胞的贴壁能力,细胞培养于 CO_2 培养箱中,温度 37℃, CO_2 浓度为 5%,10h 后换培养液 1 次,以后每 3 天换液 1 次,1 周后培养液中加入阿糖胞苷。

1.4 形态观察

在培养的不同时间内,定期在倒置显微镜下观察细胞形态变化,同时进行显微摄影,并定期进行各种组化,免疫组化染色及制作扫描电镜标本。

1.5 染色方法

1.5.1 尼氏染色 将培养皿中培养液倾去,用温 Hank's 液洗 2 次,于 10% 中性福尔马林中固定 2h,0.1% 甲苯胺兰染 2h,洗 3 次后,于 75% 酒精分化 2min 后,脱水透明,封片。

1.5.2 组化染色 Hank's 液洗后于 5% DMSO 中 30min,洗 3 次后于 AchE,SDH 孵育液^[4]

中孵育。脱水封片同尼氏染色。

1.5.3 免疫组化染色 Hank's 液洗后于 4%多聚甲醛固定 2h,5% DMSO 30min,洗后按 A. B. C. 试剂盒说明进行免疫组化染色,第 1 抗体 NSE(1:1000)及 A、B、C 试剂盒均由上海华美生物工程公司提供。

1.5.4 扫描电镜标本制作 Hank's 液洗后于 2.5%戊二醛固定 2h,洗 3 次后于 1%锇酸固定 2h,逐级酒精脱水,干冰干燥,在 JSM T300 型扫描电镜内喷金,观片,拍照。

2 实验结果

2.1 细胞形态及发育情况

2.1.1 光镜下观察 细胞培养 4h,对照组大部分细胞贴壁,细胞为圆形直径 6~7 μ m,周围有明显光晕。给药组,细胞直径较对照组大,7~8 μ m。其它情况与对照组同,12h,对照组细胞多为椭圆形,部分细胞可见有小的单极突起,给药组可见有双极突起,24h 部分细胞发育为较明显的双极神经元,突起延长,胞体增大。给药组,细胞突起较对照组长,3 天时,胞突增粗、增多,大多数细胞为双极神经元,部分为 3 极神经元,两组比较,给药组 3 极神经元多于对照组。1 周时,细胞突起互相连接成网,可见多极神经元,给药组细胞突起也互相连接成网,但较对照组致密。4 周时,神经元数开始减少,但仍可见较大的多极神经元,给药组存活细胞数多于对照组。

2.1.2 电镜观察 将培养 3 天、1 周、2 周的神经元制作扫描电镜标本,选有细胞部分拍照,各组随机选 90 张照片,共查 600 个神经元,计数神经元突起极数,结果见表 1。

表 1 给药组与对照组神经元突起比较

分 组	2 极	3 极	4 极	5 极	6~7 极	细胞总数	突起总数
3 天	对照组	81	18	1		100	220
	给药组	58	38	4		100	246*
1 周	对照组	40	51	9		100	269
	给药组	25	47	24	4	100	307*
2 周	对照组	21	37	31	10	100	344
	给药组	10	26	36	20	100	390*

* 给药组与对照组比较 $P < 0.01$

由表 1 可见,给药组神经元突起明显多于对照组。

2.2 组织化学及免疫组化特征

2.2.1 尼氏小体 细胞培养 12h,细胞内可见少量尼氏小体,以后尼氏小体逐渐增多,给药组与对照组比较,给药组尼氏小体多于同期对照组。

2.2.2 琥珀酸脱氢酶(SDH) 12h 细胞内可见少量 SDH 反应颗粒,以后逐渐增多,对照组呈浅蓝色,给药组 SDH 酶反应颗粒比对照组多,细胞呈深蓝色。按每个时间组随机选两组阳性细胞各 30 个,在彩色显微图象分析仪上进行酶定量分析,结果见表 2。

由表 2 可见,给药组 SDH 明显多于对照组。

2.2.3 乙酰胆碱脂酶(AchE) 细胞培养 12h,给药组与对照组均为阴性,24h,大部分细胞 AchE 阴性,但少数细胞内有少量 AchE 阳性颗粒,3 天后 AchE 阳性颗粒增多,按上法测定 AchE 含量,结果见表 3。

由表 3 可见,给药组 AchE 酶活性明显强于对照组。

2.2.4 免疫组化 采用免疫组化技术观察神经元成熟情况,神经元特异稀醇酶(NSE)在第 3 天开始呈阳性反应,给药组 NES 阳性神经元数多于对照组。