

心肺复苏后大鼠脑线粒体通透性转换孔开放对线粒体呼吸功能的影响

马宇洁 杨兴易 林兆奋 缪明永 张雷 宁波

【摘要】 目的 研究大鼠心肺复苏(CPR)后神经细胞线粒体通透性转换孔(MPTP)开放对线粒体呼吸功能的影响,并探讨其可能机制。方法 建立窒息加冰 KCl 致大鼠心搏骤停(CA)/CPR 动物模型,在自主循环恢复(ROSC)后 3、6、12、24、48 和 72 h 断头处死大鼠制备大鼠皮质内线粒体匀浆。采用分光光度法测定线粒体 MPTP 的开放程度,用 Clark 氧电极法分析线粒体呼吸功能,并电镜下观察线粒体超微结构。结果 CA/CPR 后大鼠神经细胞线粒体功能明显受损,线粒体呼吸 III 态(R3)速率下降;ROSC 后神经细胞 MPTP 持续处于开放状态,开放程度并不是瞬间增至最大,而是具有时间依赖性。具体表现为:ROSC 后 6 h 内神经细胞 MPTP 开放程度保持低水平,6 h 以后开始迅速大量开放,12 h 开放程度达到最大,24 h 开放程度略有缩小,表明线粒体开始收缩,至 48 h 开放程度再次加大,72 h 又明显缩小,但未达到正常水平(P 均 <0.05)。虽然线粒体 R3 速率下降,但线粒体呼吸 IV 态(R4)速率升高,呼吸控制率(RCR)和磷/氧(P/O)比值明显下降;随着 ROSC 时间延长,RCR 和 P/O 比值持续在低水平状态($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。透射电镜下观察细胞有明显损伤。相关分析表明,MPTP 开放与 RCR 呈明显正相关($r=0.025, P<0.05$)。结论 CPR 后 MPTP 开放是加重神经细胞能量代谢障碍的主要原因,在 ROSC 后早期即 12 h 以内如能及时应用抑制 MPTP 开放的策略,可能会使神经细胞的线粒体功能朝着良性方向发展,为神经功能的恢复赢得机会。

【关键词】 大鼠; 心肺复苏; 线粒体; 线粒体通透性转换孔; 线粒体呼吸功能

Effect of opening of neuronal mitochondrial permeability transition pore on respiratory function after cardiopulmonary resuscitation in rats MA Yu-jie*, YANG Xing-yi, LIN Zhao-fen, MIAO Ming-yong, ZHANG Lei, NING Bo. * Intensive Care Unit, General Air Force Hospital, PLA, Beijing 100036, China Corresponding author; LIN Zhao-fen (Email: LZFB@online.sh.cn)

【Abstract】 **Objective** To investigate the effect of opening of neuronal mitochondrial permeability transition pore (MPTP) on respiratory function after cardiopulmonary resuscitation (CPR) in rats and its possible mechanism. **Methods** Cardiac arrest (CA)/CPR rat model was reproduced by asphyxiation and ice-cold KCl followed resuscitation and restoration of spontaneous circulation (ROSC). The rats were sacrificed by decapitation at 3, 6, 12, 24, 48 and 72 hours. Isolation of brain cortex neuronal mitochondria was processed. MPTP opening degree was examined by spectrophotometer. Clark oxygen electrode was used to measure mitochondrial respiratory function; the mitochondrial ultra structure was examined with transmission electron microscope (TEM). **Results** Mitochondrial respiratory function was severely injured after CA/CPR. Mitochondrial respiratory state III (R3) was decreased. Neural cell MPTP opened persistently after ROSC. The opening degree of MPTP did not reach the peak instantly, and its change depended on time. It remained at a low level within 6 hours after ROSC, then rapidly opened, reaching the maximal degree at 12 hours, but it became smaller at 24 hours. At 48 hours the degree of opening became larger again, but shrank once more at 72 hours. However, it did not reach the normal level (all $P<0.05$). Although R3 was decreased, mitochondrial respiratory state IV (R4) was increased, meanwhile the respiratory control rate (RCR) and P/O ratio descended markedly. They maintained at low levels along with the elapse of time ($P<0.05$ or $P<0.01$). TEM revealed obvious injury to neurons. Correlation analysis showed that the MPTP opening degree and RCR was obviously positively correlated ($r=0.025, P<0.05$). **Conclusion** The opening of MPTP is the main cause of aggravation of energy metabolism disturbance of neural cells after CPR. To take measures to inhibit the opening of MPTP within 12 hours after ROSC may promote improvement of neuronal mitochondrial function, and it might help win the chances for neural function to recover.

【Key words】 rat; cardiopulmonary resuscitation; mitochondria; mitochondrial permeability transition pore; mitochondrial respiratory function

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30500173)

作者单位:100036 北京,空军总医院重症监护科(马宇洁,宁波);200003 上海,第二军医大学附属长征医院急救科(杨兴易,林兆奋,张雷);200044 上海,第二军医大学基础部生物化学与分子生物学教研室(缪明永)

通信作者:林兆奋,教授,博士生导师,Email:LZFB@online.sh.cn

作者简介:马宇洁(1976-),女(汉族),河北省人,医学博士,主治医师,Email:yujma@126.com.

神经细胞损伤是影响心肺复苏(CPR)后患者存活率的最重要因素之一,而 CPR 后患者的最终治疗目标是使神经功能完全恢复并最终出院^[1]。线粒体通透性转换孔(MPTP)的开放是神经细胞缺血/再灌注后由可逆性损伤转变为不可逆损伤的关键因素,抑制 MPTP 的开放已成为保护神经功能的新策略^[2]。保持线粒体自身稳定和生物能量转换的正常进行在神经细胞显得尤为重要,它们几乎完全依赖线粒体产生 ATP,线粒体的呼吸功能正常与否常代表线粒体的功能,呼吸控制率(RCR)是表达线粒体功能最敏感的指标^[3]。本研究旨在探讨心搏骤停(CA)/CPR 后神经细胞能量代谢障碍中 MPTP 开放发挥的作用, MPTP 开放的时间变化及对线粒体呼吸功能的影响,为临床 CPR 后脑损伤以 MPTP 为治疗靶位提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 动物分组及模型制备:健康成年雄性 SD 大鼠 56 只,由第二军医大学实验动物中心提供。按随机数字表法分为假手术组及自主循环恢复(ROSC)后 3、6、12、24、48、72 h 组,每组 8 只。假手术组仅进行股动、静脉及气管插管,不进行 CA/CPR。采用窒息加冰 KCl 停跳液制备大鼠 CA 模型,停跳 5 min 后开始 CPR,所有实验参数设计和记录均参照复苏实验研究的 Utstein 模式^[4]。

1.2 检测指标及方法:各组在相应时间点断头处死动物,采集标本待检。

1.2.1 脑线粒体的分离:将称重后的脑组织迅速放入玻璃匀浆器中,采用差速离心法分离线粒体^[5]。按 8 ml/g 脑组织加分离介质匀浆 8~10 次,使神经细胞破坏,将匀浆倒入离心管中,采用 Lowry 方法测定线粒体蛋白浓度,整个过程在 4℃冰浴中进行。

1.2.2 神经细胞线粒体通透性转换(MPT)的测定:参照文献^[6]方法改良,用分光光度法测定反应体系的吸光度(A)值,即可获得线粒体渗透转换能力变化,间接反映 MPT 的能力。新鲜制备未经冻融 4℃冰浴保存的线粒体悬液(1.5 g/L),加入测定介质[205 mmol/L 蔗糖,10 mmol/L 三羟甲基氨基甲烷-3-N-吗啡啉丙磺酸(Tris-MOPS),1 mmol/L 三羟甲基氨基甲烷-磷酸盐(Tris-Pi)]中,25℃孵育 2 min,混匀后紫外分光光度仪上测定波长 540 nm 处 A 值,测定过程保持 25℃恒温。

1.2.3 线粒体呼吸 III 态(R3)、IV 态(R4)、RCR、磷/氧(P/O)比值测定:采用 Clark 氧电极法原理。取 1 mg 线粒体加入 2.5 ml 反应体系中,反应介质为

225 mmol/L 甘露醇,75 mmol/L 蔗糖,10 mmol/L KCl,20 mmol/L 三羟甲基氨基甲烷-盐酸盐(Tris-HCl),3 mmol/L 磷酸钠,0.1 mmol/L 乙二胺四乙酸(EDTA),pH 7.4,温度 30℃。孵育 1 min 后加入底物 20 μl[烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)链为 5 mmol/L 谷氨酸+5 mmol/L 苹果酸;黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)链为 5 mmol/L 琥珀酸],再加入 10 μl 二磷酸腺苷(ADP,42 mmol/L),测得的氧消耗率为 R3。ADP 完全磷酸化后,此时测得的氧消耗率为 R4。

$$RCR = R3/R4$$

$$P/O \text{ 比值} = ADP \text{ 量}/R3 \text{ 耗氧量}$$

1.2.4 脑皮质电镜检查:各组随机选取 1 只大鼠,处死取脑,常规进行电镜标本制备,超薄切片,铀-铅双染,透射电镜下观察。

1.3 统计学处理:采用 SPSS 11.5 统计软件分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验,多组样本均数间比较采用方差分析(Oneway ANOVA)、LSD t 检验,不同指标间相关性分析采用 Spearman 等级相关检验,P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组大鼠 CA/CPR 基本参数比较(表 1):各组大鼠体重、CA 时间(T_{CA})、ROSC 时间(T_{ROSC})比较差异无统计学意义(P 均>0.05),有可比性。

表 1 各组大鼠体重及复苏参数比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	体重(g)	T _{CA} (s)	T _{ROSC} (s)
假手术组	8	302±5		
ROSC 3 h 组	8	292±26	137.3±10.2	64.4±9.3
ROSC 6 h 组	8	301±11	141.8±12.5	68.2±10.7
ROSC 12 h 组	8	297±15	132.4±6.4	61.4±7.8
ROSC 24 h 组	8	296±27	137.4±10.0	62.9±7.3
ROSC 48 h 组	8	305±16	138.6±12.7	62.3±11.2
ROSC 72 h 组	8	296±19	136.5±12.9	67.4±9.2

注:空白代表无此项

2.2 各组大鼠神经细胞 MPTP 开放的比较(表 2):ROSC 各时间组神经细胞 MPTP A 值均低于假手术组;ROSC 3 h 和 6 h A 值下降极其缓慢,12、24、48 和 72 h 下降速度加快,12 h 降至最低,随时间延长,A 值缓慢升高,至 48 h 再次下降,出现一个小的波谷,以后逐渐上升,72 h 达到高峰,但仍显著低于假手术组(P 均<0.05)。

2.3 各组大鼠线粒体呼吸功能比较(表 2):ROSC 各时间组神经细胞线粒体呼吸功能均较假手术组下

表 2 各组大鼠神经细胞 MPTP 开放和线粒体呼吸功能比较(±s)

组别	动物数	MPTP(A 值)	R3(nmol·min ⁻¹ ·mg ⁻¹)	R4(nmol·min ⁻¹ ·mg ⁻¹)	RCR	P/O 比值
假手术组	8	0.49±0.06	101.92±18.49	41.67±6.84	2.36±0.08	1.48±0.05
ROSC 3 h 组	8	0.47±0.08	85.94±7.82 ^b	49.11±6.43 ^b	1.81±0.09 ^b	1.49±0.11 ^b
ROSC 6 h 组	8	0.48±0.09	71.92±8.83 ^b	50.19±5.28 ^b	1.75±0.11 ^b	1.43±0.17 ^b
ROSC 12 h 组	8	0.22±0.06 ^a	82.73±6.13 ^a	44.20±6.59 ^a	2.13±0.49	1.46±0.12 ^a
ROSC 24 h 组	8	0.33±0.05 ^a	73.96±9.73 ^a	39.44±4.15	2.03±0.03	1.36±0.04 ^a
ROSC 48 h 组	8	0.30±0.05 ^a	83.67±6.47 ^b	41.60±4.82	2.11±0.17 ^a	1.43±0.14 ^b
ROSC 72 h 组	8	0.38±0.03 ^a	82.19±8.26 ^a	46.35±7.65 ^a	1.91±0.16 ^b	1.52±0.19 ^a

注:与假手术组比较,^a*P*<0.05,^b*P*<0.01

降,表现为线粒体 R3 和 RCR 显著降低(*P*<0.05 或 *P*<0.01),以 ROSC 后 6 h 最低,至 72 h 逐渐上升,并于 12 h 和 48 h 有一小波峰,但仍显著低于假手术组。R4 于 ROSC 后开始上升,至 24 h 又降至最低点,此后继续上升,至 72 h 仍显著高于假手术组。虽然 R3 于 ROSC 后 6 h 开始升高,但 R4 于 24 h 后也开始上升,表明 R3 的无效耗氧增加,因而 P/O 比值仍低于假手术组(*P*<0.05 或 *P*<0.01)。

2.4 各组大鼠 ROSC 后不同时间神经细胞 MPTP 开放与 RCR 的相关性分析:MPTP 开放程度与 RCR 呈明显正相关(*r*=0.025,*P*<0.05)。

2.5 脑皮质电镜标本检查(彩色插页图 1~6):假手术组颞叶皮质区神经元超微结构基本正常,为圆形或椭圆形核,位于中央,核膜完整,染色质分布均匀,胞质内有丰富的粗面内质网和高尔基体,线粒体呈椭圆形,嵴排列规整;而 ROSC 后部分细胞出现线粒体嵴断裂、核染色质边集化、胞质空泡化、内质网扩张、血管内皮细胞肿胀与周围组织连接疏松等表现,说明神经细胞有坏死,有的仅剩下细胞核。

3 讨论

线粒体在中枢神经系统(CNS)损伤后神经细胞存活或死亡过程中起关键作用,因为它调控着能量代谢和凋亡通路^[7]。随着对线粒体研究的不断深入,“线粒体医学”作为生物医学研究的全新领域应运而生,主要指以线粒体为靶位的药物治疗,调节线粒体功能,选择性保护、修复或去除受损细胞,从而达到治疗目的^[8]。目前研究认为 MPT 的形成是细胞凋亡或坏死的共同通路,位于线粒体内膜 MPTP 的开放将导致 MPT 的形成^[9-10]。

关于 MPT 在单个器官或器官局部缺血/再灌注中的作用已在众多文献中被阐述,但其中 MPTP 的作用及对线粒体呼吸功能的影响尚未见研究报道。本研究结果表明:ROSC 后神经细胞 MPTP 持续处于开放状态,开放程度并不是瞬间增至最大,而是一个渐变的过程。有研究表明,与肝线粒体比较,分

离的正常脑 MPTP 不容易被 Ca²⁺ 诱导^[11],但当神经细胞线粒体被部分去极化后,MPTP 被激活,且能被环孢素 A 所阻断^[12]。少量的 Ca²⁺ 负载能为神经细胞线粒体所缓冲,被线粒体隔离的 Ca²⁺ 能通过 MPTP 释放^[13]。另外,不同脑区域能量代谢障碍的线粒体对通透性转换的敏感性也是不同的,海马区线粒体对 Ca²⁺ 诱导的通透性转换更敏感,而小脑区域的线粒体则不敏感,而海马区也是缺血和低血糖后最容易受损的脑区域之一。由于神经细胞的高代谢率,自由基很容易在神经细胞线粒体内产生,因此在病理情况下,MPTP 会持续存在。

ROSC 后神经细胞线粒体出现钙超载,自由基产生骤增,出现再灌注损伤,从而诱导 MPTP 的开放。本实验显示,ROSC 后神经细胞 MPTP 开放较早,但直至 12 h 开放到最大,这可能提示 MPTP 在早期神经细胞坏死中已开始发挥作用,如果此刻能应用有效抑制 MPTP 开放的药物,必将避免神经细胞进一步坏死。而对线粒体呼吸功能的检测也提示,ROSC 后大鼠脑线粒体以琥珀酸为底物的 R4 显著升高,6 h 即已达到高峰,同时 RCR 降至最低点。RCR 下降说明 ADP 对呼吸链电子传递速率的控制程度降低,反映氧化磷酸化过程在一定程度上脱耦联;而 R4 升高可能与线粒体内外 Ca²⁺ 循环加速、ATP/ADP 转运载体受抑而导致 R4 耗氧显著升高有关。这说明大鼠发生 CA 经 CPR ROSC 后呼吸功能在较短时间内迅速被破坏,而且程度较严重,经历了 ROSC 后 6 h 脑水肿最严重的阶段后,细胞功能开始恢复,而此刻 MPTP 逐渐开放,释放超载的 Ca²⁺、细胞色素 C 等诱导细胞的凋亡。

同时我们也发现,在缺血后线粒体 FAD 呼吸链 R3 明显下降,这是由于缺血时氧的缺乏,电子无法传递给其最终受体氧分子,造成 R3 效能降低;R4 增高依赖于内膜通透性,内膜通透性增高,R4 可明显增高。R4 的增加代表线粒体自身耗氧增加,膜通透性升高,此时氧的消耗是用于维持膜两侧质子浓

度梯度差,而不是为电子接受体氧分子所消耗,因此 ATP 产生并不会增加。说明再灌注期虽然氧的供应恢复,但线粒体功能在多种损伤因素如自由基病理、细胞内酸中毒、钙稳态破坏和游离脂肪酸等攻击下没有得到恢复有关。

综上所述,研究表明,细胞能量代谢障碍先于 MPTP 的开放,但 MPTP 的开放会加剧能量代谢障碍,表现为线粒体 R3 值在 ROSC 后 24 h 再次下降,如果在 ROSC 后早期及时应用抑制 MPTP 开放的药物,可形成正循环,使神经细胞功能朝着良性方向发展,为神经功能的恢复赢得机会。

参考文献

[1] 沈洪,王士雯. 2003;中国心肺复苏的关注问题[J]. 中国危重病急救医学,2003,15(5):262-264.

[2] Kristal BS,Stavrovskaya IG,Narayanan MV,et al. The mitochondrial permeability transition as a target for neuroprotection[J]. *Bioenerg Biomembr*,2004,36(4):309-312.

[3] Ebmeyer U,Katz LM. Brain energetics of cardiopulmonary cerebral resuscitation[J]. *Curr Opin Crit Care*,2001,7(3):189-194.

[4] Idris AH,Becker LB,Ornato JR,et al. Utstein-style guidelines for uniform reporting of laboratory CPR research[J]. *Resuscitation*,1996,33(1):69-84.

[5] 林兆奇,缪明水,王学敏,等. 一氧化氮合酶抑制剂对鼠脑缺血再灌注后线粒体呼吸功能的保护作用[J]. *中华神经科杂志*,1998,31(2):109-111.

[6] Kristal BS,Brown AM. Apoptogenic ganglioside GD3 directly

induces the mitochondrial permeability transition[J]. *J Biol Chem*,1999,274(33):23169-23175.

[7] d'Avila JC,Santiago AP,Amancio RT,et al. Sepsis induces brain mitochondrial dysfunction[J]. *Crit Care Med*,2008,36(6):1925-1932.

[8] Weissig V. Mitochondrial-targeted drug and DNA delivery[J]. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*,2003,20(1):1-62.

[9] Kim JS,He L,Lemasters JJ. Mitochondrial permeability transition;a common pathway to necrosis and apoptosis[J]. *Biochem Biophys Res Commun*,2003,304(3):463-470.

[10] Clarke SJ,McStay GP,Halestrap AP. Sanglifehrin A acts as a potent inhibitor of the mitochondrial permeability transition and reperfusion injury of the heart by binding to cyclophilin-D at a different site from cyclosporin A[J]. *J Biol Chem*,2002,277(38):34793-34799.

[11] Berman SB,Watkins SC,Hastings TG. Quantitative biochemical and ultrastructural comparison of mitochondrial permeability transition in isolated brain and liver mitochondria:evidence for reduced sensitivity of brain mitochondria[J]. *Exp Neurol*,2000,164(2):415-425.

[12] Brustovetsky N,Dubinsky JM. Limitations of cyclosporin A inhibition of the permeability transition in CNS mitochondria[J]. *J Neurosci*,2000,20(22):8229-8237.

[13] Murchison D,Griffith WH. Mitochondria buffer non-toxic calcium loads and release calcium through the mitochondrial permeability transition pore and sodium/calcium exchanger in rat basal forebrain neurons[J]. *Brain Res*,2000,854(1-2):139-151.

(收稿日期:2008-08-13 修回日期:2008-10-21) (本文编辑:李银平)

• 科研新闻速递 •

小分子选择素抑制剂在大脑半球缺血和可控失血性休克中的应用

美国科学家研究了小分子选择素抑制剂(TBC-1269)对大脑半球缺血(GCI)和可控失血性休克(CHS)的影响。实验用 48 只雄性 SD 大鼠,体重 275~300 g,随机分为 3 组,每组 16 只。第 1 组为对照组+生理盐水组,第 2 组为 GCI/CHS+生理盐水组,第 3 组为 GCI+CHS+TBC-1269 组。双侧颈动脉夹闭 20 min,失血使平均动脉压(MAP)降至 50 mm Hg(1 mm Hg=0.133 kPa)制备 GCI/CHS 动物模型,松夹后用生理盐水复苏使 MAP 升至 80 mm Hg。第 1 组、第 2 组复苏治疗采用生理盐水,第 3 组采用 TBC-1269(25 mg/kg)。以脑组织髓过氧化物酶(MPO)、缺血神经元数量、7 d 生存率作为评价指标。结果显示,与对照组比较 TBC-1269 治疗组脑组织 MPO 减少,但差异无统计学意义;缺血神经元数量明显减少;7 d 生存率由 40% 提高到 80%(有统计学意义)。研究人员认为,TBC-1269 能减少缺血神经元数量,提高 7 d 生存率,对 GCI 和 CHS 大鼠具有一定保护作用。

白慧颖,编译自《J Trauma》,2008,65(3):678-784;胡森,审校

Bcl-2 基因家族调节脓毒症引起的树突状细胞和巨噬细胞凋亡

美国研究人员研究了小鼠脓毒症模型树突状细胞(DC)和巨噬细胞(MΦ)的变化。他们采用野生型、基因敲除、转基因小鼠用以评估 Bcl-2 基因家族对脾 DC 和 MΦ 的影响。筛选 B 基因敲除(Bim)小鼠和过度表达 Bcl-2 基因家族小鼠的造血干细胞,采用 Vav 启动子技术使所有造血干细胞过度表达 Bcl-2 基因家族(Vav-Bcl-2)小鼠;采用主要组织相容性复合物(MHC) I 类抗原细胞过度表达 Bcl-2 基因家族(H-2K-Bcl-2)小鼠制造过度表达 Bcl-2 基因家族小鼠模型,分别测定了假手术对照或盲肠结扎对照小鼠的 DC 和 MΦ。结果显示,分化成熟的 MΦ 与分化不成熟的 MΦ 对凋亡基因的敏感性不同。在野生型小鼠模型中,脓毒症可诱导(64±7)%的 DC 和(77±3)%的 MΦ 发生凋亡(n=7,P<0.05)。脓毒症小鼠未见到成熟的 MΦ。Vav-Bcl-2、H-2K-Bcl-2 及 Bim 小鼠无特殊细胞增生。研究人员认为,脓毒症诱导 DC、MΦ 凋亡是导致脓毒症免疫抑制的重要机制。

白慧颖,编译自《Shock》,2008-10-06(电子版);胡森,审校

心肺复苏后大鼠脑线粒体通透性转换孔开放对线粒体呼吸功能的影响

(正文见645页)



图1 电镜下观察假手术组皮质区神经细胞超微结构基本正常,染色质分布均匀,胞质内有丰富的粗面内质网和高尔基体,线粒体呈椭圆形,嵴排列规整(铀-铅双染,×8 000)

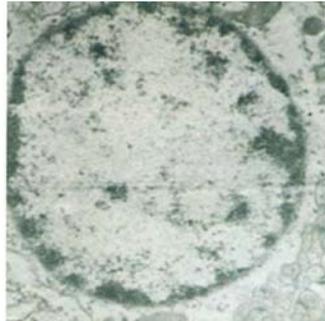


图2 电镜下观察ROSC 3 h组神经细胞部分核染色质边集化,胞质空泡化,基质变淡(铀-铅双染,×8 000)

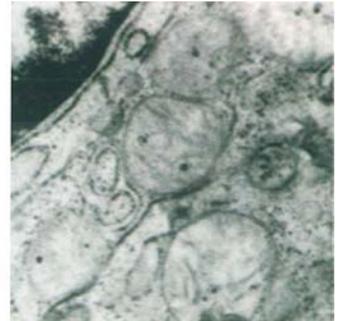


图3 电镜下观察ROSC 6 h组神经细胞线粒体出现肿胀,嵴排列不规整,部分出现断裂,内质网扩张等表现(铀-铅双染,×20 000)

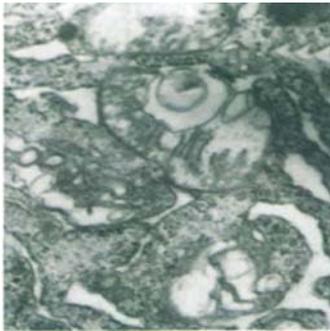


图4 电镜下观察ROSC 24 h组神经细胞线粒体肿胀加剧,嵴排列不规整,部分出现空泡化(铀-铅双染,×20 000)



图5 电镜下观察ROSC 48 h组神经细胞出现核浓缩,染色质凝聚成半月形与胞质分离,基质稀薄,线粒体嵴排列紊乱(铀-铅双染,×20 000)

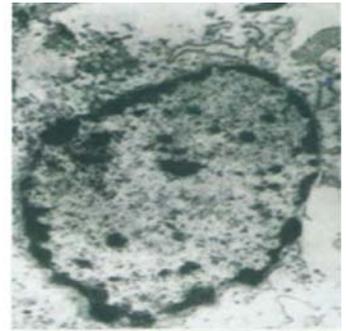
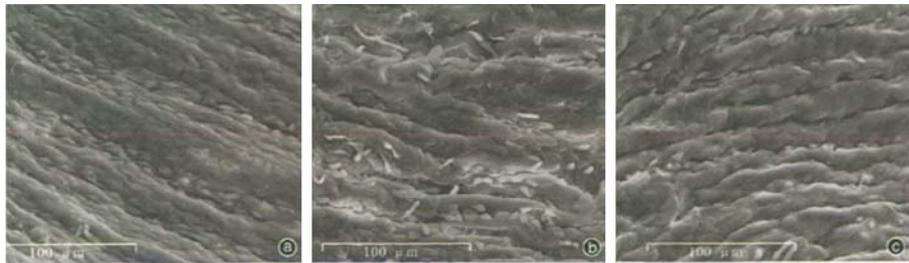


图6 电镜下观察ROSC 72 h组神经细胞内出现裸核,与胞质分离(铀-铅双染,×8 000)

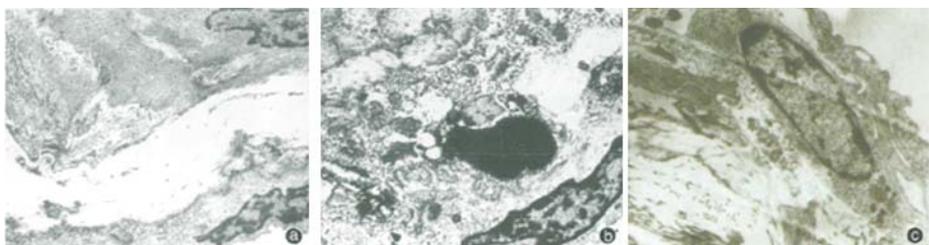
体外反搏对高胆固醇血症猪颈动脉内膜形态和功能的影响

(正文见663页)



Ⓐ:正常饲养组; Ⓑ:高脂饲养组; Ⓒ:EECP组

图1 扫描电镜下观察各组动物颈动脉内膜的形态(醋酸双氧铀,×500)



Ⓐ:正常饲养组; Ⓑ:高脂饲养组; Ⓒ:EECP组

图2 透射电镜下观察各组动物颈动脉内膜的形态(醋酸双氧铀,×1 000)