文章编号:1000-5404(2005)12-1213-03

论著

必需脂肪酸对大鼠脑组织中 EPA、DHA 含量的影响及意义

张 侃[1],曾 琳[2],龙在云[2],刘 媛[2],伍亚民[2],陶翠兰[2],何凤慈[2] ([1]重庆医科大学附属儿童医院儿保科,重庆 400014;[2]第三军医大学大坪医院野战外科研究所第三研究室,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室,重庆 400042)

提 要:目的 探讨在大鼠脑发育期补充必需脂肪酸(essential fatty acid, EFA)对脑组织中二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA)、二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)含量的影响。**方法** 断乳大鼠(1 月)30 只,雌雄不拘,分为正常组、EFA 缺乏组和补充鱼油组,分别饲以不同饲料喂养 3 个月,取出新鲜的脑组织,采用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)测定 EPA、DHA 含量的变化。**结果** 与正常组相比,EFA 缺乏组的 EPA、DHA 含量均显著降低($P<0.05$),补充鱼油组明显升高($P<0.05$)。**结论** 发育期 EFA 缺乏会导致脑组织中 EPA、DHA 含量明显降低,相反在发育期补充必要的 EFA 会使 EPA、DHA 明显升高,有利于脑组织的生长与发育。

关键词:必需脂肪酸;二十碳五烯酸;二十二碳六烯酸;高效液相色谱
中图法分类号:R322.81; R339.3; R977.6 **文献标识码**:A

Effects and significance of essential fatty acids on contents of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in rat brain tissues

ZHANG Kan[1], ZENG Lin[2], LONG Zai-yun[2], LIU Yuan[2], WU Ya-min[2], TAO Cui-lan[2], HE Feng-ci[2] ([1]Department of Child Care, Children's Hospital, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400014, [2]State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Department 3, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of essential fatty acids(EFA)on the contents of eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) in the brain tissues of rats. **Methods** A total of 30 neonatal rats, 1 month old, were randomly divided into normal, EFA deficiency and fish oil supplement groups and given different feeding stuff for 3 months respectively. The contents of EPA and DHA in brain tissues were determined by high performance liquid chromatography (HPLC). **Results** As compared with normal group, the contents of EPA and DHA in EFA deficient group were significantly decreased($P<0.05$), but increased significantly in fish oil supplementation group. **Conclusion** Deficiency of EFA at developmental period can decrease the content of EPA and DHA. In reverse, supplement of EFA during the development can increase the EPA and DHA content and are beneficial to the growth and development of brain tissue.

Key words: essential fatty acids; eicosapentaenoic acid; docosahexaenoic acid; high performance liquid chromatography

研究表明,膳食中 n-3 脂肪酸在人体内具有广泛的生物活性,近几年必需脂肪酸(essential fatty acid, EFA)已被列为膳食中的必需营养素,脑组织磷酸中含有较高水平的多聚不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid, PUFA),据报道,在妊娠期和婴儿期脑发育过程中长链 n-3 PUFA 的快速蓄积表明 n-3 脂肪酸对脑正常发育和功能是必需的[1],如果缺乏 n-3 PUFA 会不同程度地影响海马等脑区的神经生长因子水平[2]。n-3 PUFA 主要包括 EPA 和 DHA,特别是 DHA 的健脑作用及抗衰老作用尤其被重视[3,4]。检测大鼠脑发育期间补充 EFA 后 EPA 和 DHA 含量的变化,对脑发育期间给予合理的膳食和营养保健提供一定的理论依据具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 饲料配制

普通饲料:大鼠商品颗粒饲料;EFA 缺乏颗粒饲料:无脂肪配料,增加蛋白质、糖,能量与普通饲料相似;EFA 缺乏补充脂肪酸饲料:在 EFA 缺乏饲料基础上,减少糖和蛋白质含量,加用鱼油(占总体积 5%),能量与普通饲料相似。

作者简介:张 侃(1958-),女,重庆市人,硕士,副教授,主要从事儿童保健与营养学方面的研究。电话:(023)68757433

收稿日期:2004-10-18;修回日期:2005-04-28

1.1.1 普通饲料配方 玉米34%，鱼粉16%，麸皮13%，面粉16%，豆饼14.5%，鸡蛋2%，骨粉3%，奶粉1%，盐0.5%，饲料中含粗蛋白23.455%，粗脂肪5.071%，消化能3 335 kcal/kg。

1.1.2 EFA缺乏饲料的配方 玉米18%，鱼粉4%，麸皮12%，面粉33%，豆粕26%，骨粉1%，脱脂奶粉5.5%，盐0.5%，饲料中含粗蛋白22.967%，粗脂肪2.798%，消化能3 115 kcal/kg。

1.1.3 EFA缺乏补充脂肪酸饲料的配方 在第2种配方的基础上加入鱼油，鱼油按总重量的5%加入，能量与普通饲料相似。（注明：鱼粉购于山东荣城鱼粉厂、豆粕购于天津豆粕厂、其它原料均购于本地）。

1.2 动物分组和喂养

Wistar断乳新生鼠（由第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心提供），共30只，雌雄不拘，分为3组喂养，每组10只，Ⅰ组饲以普通饲料；Ⅱ组饲以EFA缺乏饲料；Ⅲ组饲以EFA缺乏补充脂肪酸饲料；每天定时定量喂养，饲养3个月后，体质量250～300 g。大鼠的喂养与管理严格按照中国动物饲养与管理办法和重庆市动物保护协会规则的要求进行。

1.3 试剂与仪器

EPA、DHA标准品（Sigma公司）。三乙胺、ω-溴苯乙酮、甲醇、丙酮等均为分析纯试剂。

1.4 色谱条件

色谱柱：μ-Bondpark C18不锈钢柱（填料粒度=10 μm）30 cm×4 mm；柱温为室温；流动相：甲醇∶水为88∶12；流速：1.2 ml/min；UV检测波长254 nm。

1.5 标准样品的制备

准确吸取0.5 ml的EPA（1 g/L）标准溶液及0.5 ml的DHA（0.9 g/L）标准溶液混匀，然后用高纯氮气吹干，加入1滴酚酞指示剂，用0.1 mol/L KOH-乙醇溶液中和至终点，并再次用氮气吹干，此样品待酯化。

1.6 样品的制备

将喂养3个月的各组大鼠断头，迅速取出大脑组织，打碎制成样品，称取样品5 g，加3 ml混合溶剂（氯仿∶甲醇=1∶2），搅拌2 min，加氯仿5 ml搅拌30 s。再加蒸馏水5 ml搅拌30 s，抽滤，用少量氯仿洗涤残渣。所得滤液静止分层，分离，除溶剂，得油层，加入4 ml 0.5 mol/L KOH-乙醇溶液，充氮气后在60 ℃水浴中加热30 min，冷却后加入1滴酚酞指示剂，用盐酸-乙醇溶液中和至终点，离心分离取上清液0.5 ml，用氮气吹干，此样品待酯化。

1.7 酯化

标准品和样品经上述处理后，加0.2 ml三乙胺的丙酮溶液（10 g/L）及0.4 ml ω-溴苯乙酮溶液（10 g/L），充入氮气，60 ℃水浴加热15 min，冷却后定容。所得的酯化物直接用于高效液相色谱分析。

1.8 病理观察

通过甲苯胺蓝尼染色和Homes银染，光镜下观察其海马、皮层的结构变化（$n=5$）。

1.9 统计学方法

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用双因素方差分析，组间比较采用 t 检验。

2 结果

2.1 EPA、DHA含量变化

正常脑组织EPA、DHA含量分别为（105.05±16.44）、（12.61±2.39）μg/g，与正常组相比，EFA缺乏组的EPA、DHA含量均显著降低（$P<0.05$），补充鱼油组明显升高（$P<0.05$）。具体结果见表1。

表1 各组脑组织DHA、EPA含量（μg/g，$n=5$，$\bar{x} \pm s$）

Tab 1 DHA and EPA contents in the brain tissues of different groups（μg/g，$n=5$，$\bar{x} \pm s$）

Group	The content of DHA and EPA	
	DHA	EPA
Normal	105.05±16.44	12.61±2.39
EFA deficiency	80.63±14.77*	9.10±1.47*
Oil supplement	137.27±28.13*	15.69±1.83*

*：$P<0.05$，*vs* normal

2.2 神经病理学观察

通过病理染色观察不同组大鼠大脑皮层和海马的整体细胞构筑。结果本实验观察到：正常组大脑皮层和海马的整体细胞构筑基本发育正常；EFA缺乏组大脑皮层锥体细胞数目明显减少、排列不规则、稀疏、轴突纤维短、细胞体积也较小；补充鱼油组大脑皮层和海马的整体细胞结构清晰、发育良好。

3 讨论

必需脂肪酸是所有组织的结构成分，是细胞膜合成的必要成分，尤其是大脑、视网膜及其他神经组织含有丰富的长链不饱和脂肪酸。出生前后正是哺乳动物突触结构形成及树突分枝的关键期，此期脑内的相对丰富的长链不饱和脂肪酸与二者的快速形成相适应。研究表明，EFA缺乏会不同程度地影响如海马等脑区的神经生长因子水平[5]，如果发育期补充DHA可增加海马突触数目[6]，突触体质膜中DHA含量增高，可引起生物膜物理化学特性如流动性、通透性、膜酶及膜转运功能的改变[7]。

本实验观察到，EFA缺乏组的EPA、DHA含量均显著低于正常组，而补充鱼油组的EPA、DHA含量均显著高于正常组。同时，从我们相关实验观察到，低EFA饲养大鼠对外界反应迟钝、条件反应式学习记忆功能降低，同时从形态学观察到大脑皮层锥体细胞数目明显减少、排列不规则、稀疏、轴突纤维短、细胞体积也较小、海马细胞层数较少、体积也较小；补充鱼油造成相对高含量的EFA饲养大鼠，不仅纠正大鼠行为异常，大鼠反应敏捷、主动回避反应好，而且其脑组织结构、生长发育状态还较正常饲养喂养大鼠好。说明

EFA 缺乏将延迟甚至损害脑皮质、海马等结构的发育，导致脑学习记忆功能减退[8]。其机制与兴奋毒性损害有关。但最根本的原因是外界摄入 EFA 不足，本研究给出了直接的证据。因此，在脑发育期间适当补充 EFA 是十分必要的。

参考文献：

[1] Wainwright P E, Xing H C, Mutsaers L, *et al*. Arachidonic acid offsets the effects on mouse brain and behavior of a diet with a low (n-6): (n-3) ratio and very high levels of docosahexaenoic acid[J]. J Nutr, 1997, 127(1): 184 - 193.

[2] Ikemoto A, Nitta A, Furukawa S, *et al*. Dietary n-3 fatty acid deficiency decreases nerve growth factor content in rat hippocampus[J]. Neurosci Lett, 2000, 285(2): 99 - 102.

[3] 王建中，朱瑞龙，倪静珍，等. 鱼油对蛋鸡和雏鸡脑脂肪酸组成的影响[J]. 中国医药工业杂志，1993，24(10)：462 - 245.

[4] Anderson G J, Connor W E, Corliss J D. Docosahexaenoic acid is the preferred dietary n-3 fatty acid for the development of the brain and retina[J]. Pediatr Res, 1990, 27(1): 89 - 97.

[5] Youdim K A, Martin A, Joseph J A. Essential fatty acids and the brain: possible health implications[J]. Int J Dev Neurosci, 2000, 18(4-5): 383 - 399.

[6] 李红娟，刘德华. 发育期补充 DHA 对大鼠学习记忆的影响[J]. 中国公共卫生，2001，17(2)：124 - 125.

[7] 张　侃，曾　琳，龙在云，等. 必需脂肪酸对大鼠脑组织中 EAA 含量的影响[J]. 第三军医大学学报，2005，27(1)：53 - 55.

[8] 张　侃，何凤慈，曾　琳，等. 必需脂肪酸对新生大鼠脑发育与学习记忆功能的影响[J]. 中国临床康复，2004，8(4)：624 - 625.

（编辑　陈聪连）

文章编号：1000-5404(2005)12-1215-01

个案与短篇

脑动脉瘤栓塞时弹簧圈脱入载瘤动脉的预防及处理

Prevention and management of coil protrusion into the parent artery in the cerebral aneurysm embolization

刘启锋，陈　志，朱　刚　（第三军医大学西南医院神经外科，重庆 400038）

目前在临床上对广泛应用的足以电熔断可脱弹簧圈（Guglielmi detachable coil，GDC）栓塞颅内动脉瘤，它虽然具有很多优点，但也有并发症。其中弹簧圈脱入载瘤动脉是导致永久性残疾比较严重的操作性并发症。下面结合我们 1999 年 2 月至 2004 年 8 月进行 GDC 栓塞治疗的 105 例临床资料，对此并发症的预防及处理进行探讨。现将有关资料总结如下。

1　临床资料

本组 105 例，男 58 例，女 47 例，年龄 31 - 81 岁，平均 56 岁，动脉瘤 113 个，8 例有 2 个动脉瘤。共发生弹簧圈脱入载瘤动脉 5 例，发生率为 4.7%，其中 3 例为大脑中动脉瘤，1 例为大脑后动脉瘤，1 例为大脑前动脉瘤。见表 1

表 1　5 例弹簧圈脱入载瘤动脉具体情况

病例	载瘤动脉	动脉瘤长径 (mm)	动脉瘤宽径 (mm)	动脉瘤颈宽 (mm)	弹簧圈脱入状况	处理方法
1	左侧后交通动脉	5.5	4.4	3.8	第 1 枚脱出 2 圈	保守
2	右侧前交通动脉	6.3	4.0	3.9	最后 1 枚脱出 1 圈	保守
3	右侧大脑中动脉	8.5	5.3	4.5	第 1 枚完全脱出	取出
4	左侧大脑中动脉	5.6	5.2	3.6	最后 1 枚脱出 2 圈	保守
5	左侧大脑中动脉	8.6	4.2	5.0	最后 1 枚脱出 1 圈	保守

作者简介：刘启锋（1972 - ），男，山东省泰安市人，硕士研究生，主治医师，主要从事显微神经外科及神经介入方面的研究，发表论文 6 篇，现在济南军区 88 医院神经外科。电话：(0538)6216176

收稿日期：2004-09-20；修回日期：2005-03-05

2　方法与结果

5 例患者均采用全麻或基础麻醉。根据动脉瘤的部位、大小、血管的扭曲程度，选用不同的微导丝和微导管，用 GDC 作为栓塞材料。其中 2 例分别造成 ACA 和 MCA 分支闭塞，术中造影见大脑前 A_2 远端不显影，大脑中 M_2 远端不显影，由于 GDC 仅少部分脱出，且动脉瘤栓塞良好，立即给予尿激酶治疗，术后经抗凝、扩容、及扩血管等治疗后，患者出院时 1 例遗有偏瘫和认知障碍，另外 1 例瘫痪明显好转，但遗留有轻度运动性失语。另外 2 例放置弹簧圈完毕后，少许部分弹簧圈突入载瘤动脉，造影血管通畅，不随血流的冲击而活动，突出部分与载瘤动脉附壁充分，比较牢固，未做调整处理，术后抗凝和长期口服阿司匹林，患者无症状。1 例弹簧圈脱出后闭塞 MCA，用法国 BALT 公司生产的 LASSOO 抓取器取出，患者无临床症状。所有患者均进行随访，1 年后复查 DSA 检查未见 GDC 弹簧圈移位，动脉瘤栓塞良好，临床症状均不同程度的好转。

3　讨论

GDC 脱入载瘤动脉（parent artery，PA）是非常危险的并发症，多在最后 1 个 GDC 熔断后发生，本组 5 例中有 3 例是在放置最后 1 枚 GDC 时发生脱出现象，通常足位于瘤颈处的已盘成团状的 GDC 部分突出或完全脱入载瘤动脉，所以在操作应特别注意。分析造成此并发症有两方面的原因：①本组 5 例患者

（下转 1219 页）