维普资讯 http://www.cqvip.com

245-247

第24卷 第3期 重庆医科大学学报 Vol.24 No.3
1999 ACTA UNIVERSITATIS SCIENTIAE MEDICINAE CHONGQING 1999

糖尿病大白鼠组织山梨醇的代谢研究

R587.102

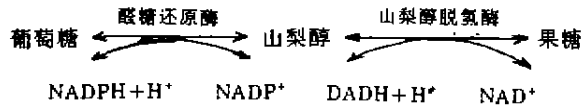
基础医学院生化教研室 曾昭淳* 蒋晓秋

提 要 本文测定了糖尿病大白鼠心肌、肌肉、肝脏等组织和血浆的葡萄糖、山梨醇的含量,以及心肌、肌肉:肝脏组织的醛糖还原酶和山梨醇脱氢酶的活性。结果发现:心肌、肌肉、血浆的葡萄糖和山梨醇含量以及心肌、肌肉的醛糖还原酶活性升高($P<0.01$)。心肌、肌肉的山梨醇脱氢酶活性糖尿病组大白鼠较正常对照组降低($P<0.01$)。肝组织的葡萄糖、山梨醇的含量和醛糖还原酶、山梨醇脱氢酶的活性在两组动物没有明显的变化($P>0.05$)。根据上述结果推测,心肌、肌肉等细胞内的山梨醇部分分流到血液,运输至肝脏,再进一步的代谢。

关键词 糖尿病; 山梨醇; 醛糖还原酶; 山梨醇脱氢酶
中图分类号 R587.1

大白鼠

葡萄糖在体内的代谢过程中,在醛糖还原酶的作用下可以生成山梨醇,山梨醇再经山梨醇脱氢酶的催化生成果糖,被称为多元醇途径。



在正常情况下这一代谢过程在整个葡萄糖代谢所占的比例较小,但在糖尿病患者体内血糖调节机制失控,血糖水平升高、葡萄糖透过细胞膜进入细胞增加。细胞内升高的葡萄糖浓度,可以激活醛糖还原酶的活性、导致细胞内山梨醇生成增加、含量上升。细胞内积蓄了高浓度的山梨醇可以引起细胞内$NAD^+/NADH$比例的升高[1],还原型谷胱甘肽[2]、NADPH[2]的浓度下降,甘油二脂增加,甘油二脂的增加可激活蛋白激酶C。此外山梨醇代谢的中间产物果糖-3-磷酸能引起的蛋白质快速非酶糖化[3]。这些可能是引起糖尿病肾病变、心肌病变和脑血管病变的因素。为了了解山梨醇和整个多元醇通路在血糖升高时的变化,我们制作了糖尿病大白鼠的动物模型,测定了其肝、肌肉和心肌等组织的醛糖还原酶和山梨醇脱氢酶的活性,对糖尿病动物组织的多元醇代谢进行了探讨。

1 材料与方法

1.1 **动物模型** 雄性Wistar大白鼠,体重180~220g,分成二组。实验组按65mg/kg体重腹腔注射用0.1mmole/L pH 4.0柠檬酸缓冲液溶解,20g/L STZ的除菌溶液。对照组腹腔注射0.1mmole/L pH4.0柠檬酸缓冲液。72小时后,血糖值大于17mmole/L的作为糖尿病大鼠。血糖测定用血糖检测纸进行。

1.2 **组织匀浆的制备** 按1ml/kg体重给大白鼠腹腔注射10%的水合氯醛,从心脏抽取血液后,肝素抗凝,离心,取血浆备用,大白鼠用100mmol/L pH7.4,4℃ Tris缓冲液灌流,取心、肝、肌肉,按1:3(W/V)用上述缓冲液制成匀浆,4℃ 4000rpm离心10分钟,取上清液4℃ 100000g离心60分钟。弃沉淀,上清液对10mmol/L pH 7.4、4℃Tris缓冲液透析过夜,用于测定。

1.3 **组织葡萄糖、山梨醇浓度的测定** 心、肝、肌组织按上述方法制成匀浆。取匀浆0.5ml,100°C加热5分钟,3000rpm离心5分钟,弃沉淀,取上清液备用。组织葡萄糖、山梨醇浓度的测定按宝灵曼公司提供的技术资料进行[4]。

1.4 **醛糖还原酶活性的测定**[5] 反应液的总体积为3ml,100mmol/L甘油醛溶液(甘油醛溶解于100mmol/L pH7.4 Tris缓冲液)1.00ml;3.0mmole/L NADPH溶液0.10ml;蒸馏水1.85ml;组织匀浆0.05ml。用岛津265紫外-可见分光光度计在340nm波长连续测定、记录仪记录反应液光吸收值的下降。计算NADPH减少的量,以μmol/min为一个活性单位。以活性单位/mg组织蛋白质为比活性单位。

1.5 **山梨醇脱氢酶活性的测定**[4] 反应液总体积为3.0ml。30mmol/L的山梨醇溶液(溶于pH7.4,100mmol/LTris缓冲液)1.00ml;3.0mmol/L NAD^+0.1ml;蒸馏水1.80ml;组织匀浆0.1ml。测定NADH增加的量,方法与醛糖还原酶测定方法相同。

1.6 **组织匀浆蛋白质含量的测定** 以牛血清白蛋白为标准,用Lowry法[6]进行。

* 男,1949-09出生,副教授

维普资讯 http://www.cqvip.com

2 结果

测得组织葡萄糖、山梨醇的含量如下:

表1 心、肝、肌肉组织的葡萄糖的含量(μmol/g)列于下表

	心	肝	肌肉	血浆(μmol/ml)
实验组	6.5±0.6	4.0±2.7	5.5±0.9	19.8±1.9
对照组	3.2±0.3	4.2±0.8	2.8±0.4	10.4±1.6

(n=6)

表2 心、肝、肌肉组织的心山梨醇含量(nmol/g)列于下表

	心	肝	肌肉	血浆(nmol/ml)
实验组	108.8±26.2	90.0±21.1	70.5±29.1	98.7±25.2
对照组	20.5± 6.0	100.8±18.2	39.3±15.4	25.4±14.3

(n=6)

糖尿病组大白鼠心肌、肌肉,以及血浆中的葡萄糖、山梨醇含量明显上升,有非常显著的差异($P<0.01$)肝组织的葡萄糖、山梨醇含量在两组动物没有明显的差异($P>0.05$)。

测得心、肝、肌肉组织的醛糖还原酶活性如下:

表3 心、肝、肌肉组织的醛糖还原酶的活性(单位/mg蛋白质)

	心	肝	肌
实验组(n=6)	13.5±2.7	18.6±3.1	20.8±3.7
对照组(n=6)	6.8±2.2	16.3±2.5	7.9±2.6

和对照组相比,实验组大白鼠的心、肌组织的醛糖还原酶活性均有明显地增高,有十分显著地差异($P<0.01$)。实验组动物肝组织醛糖还原酶活性有升高,但没有显著差异($P>0.05$)。

测得心、肝、肾组织的山梨醇脱氢酶活性如下:

表4 心、肝、肌肉组织的山梨醇脱氢酶的活性(单位/mg蛋白质)

	心	肝	肌
实验组(n=6)	0.8±0.4	16.8±4.2	0.5±0.3
对照组(n=6)	1.8±0.3	14.5±3.9	1.5±0.6

和对照组相比,实验组大白鼠的心、肌肉组织的山梨醇脱氢酶明显地降低,有显著的差异,$P<0.01$。肝组织的山梨醇脱氢酶活性虽然增高,但没有显著性差异,$P>0.05$。

3 讨论

在正常的肝组织有醛糖还原酶和山梨醇脱氢酶的活性。据报导[8],醛糖还原酶在正常人血液的红细胞中,活性较低。但在糖尿病时,由于红细胞中的葡萄糖含量升高,刺激醛糖还原酶,其活性升高、心肌,骨骼肌醛糖还原酶的活性的报导甚少。血清存在山梨醇脱氢酶的活性,在肝细胞中毒时血清山梨醇脱氢酶的活性最先升高,通常被用做肝脏受损的早期指标。Hoshi A[9]等在糖尿病的大白鼠,测得肝山梨醇脱氢酶的活性为13.0±3.9U/mg蛋白质;骨骼肌山梨醇脱氢酶活性为0.6±0.3U/mg蛋白质、与测定的结果相一致。测定的心、肌肉组织中醛糖还原酶的活性是糖尿病组高于正常对照组,心肌、肌肉组织的山梨醇脱氢酶的活性明显的降低,有非常显著的差异;这样心、肌肉组织中的山梨醇生成大大地超过降解,造成这些组织内山梨醇含量的增高,造成山梨醇在细胞内的蓄积。在肝脏,糖尿病组和对照组大白鼠醛糖还原酶的活性相比没有明显变化,山梨醇脱氢酶的活性也没有明显差异,实验组大白鼠肝脏的山梨醇的含量没有明显的上升。说明在糖尿病的状态下,肝脏的山梨醇脱氢酶的活性与醛糖还原酶的活性仍然保持着相对的平衡。在实验组大白鼠,心肌、肌肉内的山梨醇虽然升高,但没有无限制的升高。可以推测在这些组织中山梨醇处于一种高水平的动态平衡。除了经山梨醇脱氢酶催化山梨醇生成果糖而外,可能还有另外的途径分流一定量的葡萄糖。在高浓度的葡萄糖情况下,细胞膜会受到损伤,造成对蛋白质的通透性增加[10]。因此、作为小分子物质的山梨醇也可能从细胞中漏出、进入血液。从我们的实验结果看、糖尿病组大白鼠的血液山梨醇浓度比对照组有显著的升高,提示有一部分山梨醇进入了血液。推测这些山梨醇是从组织进入血液,然后从血液山梨醇被运输到肝脏,在肝脏组织内在被进一步代谢。在糖尿病时,肝脏的多元醇途径或许对缓解心肌、肌肉等细胞的山梨醇蓄积起着一定的作用。

维普资讯 http://www.cqvip.com

参 考 文 献

1.Cerrella A., Diabetes Medicine 1997; Suppl.3:S45
2.King GL., et al. Endocrin,Metab.Clin.North Amer. 1996: 25(2) 255
3.Hamada Y., et al. Biochem.Biophys. Res. Common. 1996; 228(2)539
4.宝灵曼公司技术资料 Method of Biochemical Analysis and Food Analysis Germany 1986; p44
5.Srivastava S.K. et al. Biochem.biophysica.Acta 1986; 870:302
6.Vaca G. et al. J.Clin.Pathol.1983; 36:697
7.Lowry O.H.,et al.J.Biol.Chem.1951; 193:265
8.刘长山,等. 中国糖尿病杂志 1996; 4(4) 198
9.Hoshi A., et al. Biochem.J 1996; 316:119
10.Yamashita, et al. Metabolism 1995; 44(6)739

(收稿日期 1999－03－30)

247-249 (9)

儿童哮喘外周血内皮素和肿瘤坏死因子的水平变化及其临床意义

R725.622.5

儿科学院呼吸科 陈坤华* 雷培芸 赵晓东 戴继宏 黄 英 熊大惠

提 要 探讨哮喘患儿急性发作期,缓解期外周血ET、TNF－a水平变化,并分析其相关性。本实验选择47例哮喘患儿,32名正常儿童作为对照组,分别在哮喘急性发作期和缓解期采静脉血,用放射免疫法检测ET、TNF－a水平。结果发现发作期哮喘患儿血浆ET明显高于正常儿童(分别为91.26±21.606,54.42±18.602ng/L,$P<0.0005$),缓解期降至正常水平 (64.50±20.159ng/L,$P>0.05$) 重症组高于轻中症组建 (分别为108.27±19.5[C]08,79.32±20.61ng/L,$P<0.005$),发作期哮喘患儿血清TNF－a水平亦明显高于正常儿童(分别为1.877±0.39,1.176±0.39ng/L,$P<0.005$)缓解期降至正常水平(1.183±0.335ng/L,$P>0.05$)重症组高于轻中症组(分别为2.18±0.44,1.65±0.35ng/L,$P<0.0005$)ET和TNF－a水平呈显著正相关。提示ET和TNF－a在哮喘发病机制中有其重要作用。对哮喘的病情判断及预后有一定指导意义。

关键词 哮喘; 内皮素; 肿瘤坏死因子
中图分类号 R725.6; R730.231

哮喘的病理基础是慢性气道变态反应性炎症哮喘已为人们所公认。血管内皮素(ET)和肿瘤坏死因子(TNF－a)作为重要的致炎因子可导致强烈的气道收缩和局部炎症,参与哮喘的发病过程。我们检测了47例哮喘患儿的外周血ET和TNF－a水平,研究其在哮喘气道炎症中的作用和临床意义,为哮喘防治提供依据。

1 对象和方法

1.1 对象 47例住院哮喘患儿为观察对象,均符合1992年南京会议诊断标准,男27例、女20例,年龄7月～11岁,平均年龄4.06±2.436岁($\bar{x}\pm s$),均为急性发作期,根据症状分为轻中型30例,重型17例;其中13例由呼吸道合胞病毒(RSV)感染诱发,追问病史发现47例患儿中曾患毛细支气管炎者有19例,发生率40.42%。对照组32例,男19例、女13例,年龄7月～11岁,平均年龄4.03±2.799岁($\bar{x}\pm s$,二组年龄t检验=0.034,$P>0.05$,既往无哮喘家族史,无慢性呼吸道疾病史。

1.2 方法 患儿在入院后即刻采静脉血标本经治疗症状控制后(缓解期)重复查第二份血标本。

1.2.1 血浆内皮素检测 采血标本乙二胺四乙酸二钠(10%EDTA－N)抗凝,并加抑肽酶,4℃,3000r/min离心,分离血浆于－20℃储存待测,采用放射免疫分析法,试剂盒为北京东亚免疫技术研究所提供。

1.2.2 血清肿瘤坏死因子－a检测 采血标本离心后,分

* 女,1935－09出生,教授