维普资讯 http://www.cqvip.com

15-17

实验性糖尿病大鼠膈肌微量元素与脂质过氧化观察

R587.1
R446.19

临床学院内分泌科 沈兴平* 舒昌达 何 军

提 要 本研究采用原子吸收光谱法，测定糖尿病4周大鼠膈肌组织中铜(Cu)、锰(Mn)、锌(Zn)、铁(Fe)的含量，并同时测定超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA)含量。结果显示糖尿病膈肌Cu(6.92±0.62μg/g dry weight)、Zn(41.81±3.36μg/g dry weight)含量明显低于对照组(12.85±3.34μg/g dry weight，62.92±3.55μg/g dry weight)($P<0.001$)，Fe(90.56±5.27μg/g dry weight)明显高于对照组(46.11±3.51μg/g dry weight)($P<0.001$)，而Mn与对照组无明显差别(1.49±0.20μg/g dry weightvs 1.42±0.21μg/g dry weight，$P>0.05$)。糖尿病膈肌组织SOD(11.65±2.78U/100mg)明显低于对照组(29.40±2.73U/100mg)($P<0.001$)，MDA(47.75±6.66nmol/100mg)明显高于对照组(21.93±3.27nmol/100mg)($P<0.001$)。糖尿病膈肌组织Zn含量与其SOD呈正相关($r=0.70$，$P<0.05$)，与MDA呈负相关($r=-0.78$，$P<0.01$)。提示糖尿病4周膈肌组织存在Cu、Zn、Fe的变化及氧化应激增加，Zn在糖尿病膈肌组织脂质过氧化过程中具有重要意义。

关键词 微量元素；膈肌；糖尿病 脂质过氧化
中图分类号 R587.1 R446.1

微量元素对细胞分裂、胚胎发育、生长繁殖、免疫机能、损伤修复等具有重要意义[1]。脂质氧化在疾病的组织损伤中占有重要地位。近年来研究表明糖尿病与微量元素和脂质过氧化有着密切的关系。本文拟通过对四氧嘧啶诱导的糖尿病大鼠膈肌组织铜(Cu)、锰(Mn)、锌(Zn)、铁(Fe)、超氧化物歧化酶(SOD)及与脂质过氧化有关的丙二醛(MDA)的测定，了解糖尿病膈肌组织微量元素和脂质过氧化的变化，探讨糖尿病对膈肌的影响。

1 材料和方法

1.1 动物模型建立和取材

成年雄性Wistar大鼠20只，体重150～220g之间，由重庆医科大学实验动物中心提供。随机分实验组10只，对照组10只。四氧嘧啶(200mg/kg)予实验组大鼠一次性腹腔内注射，对照组大鼠同时注射等量生理盐水。注射药物后第三天晚8时禁食，次晨测空腹血糖(邻甲苯胺法)，血糖大于14.00mmol/L，为糖尿病模型建立。两组大鼠均自由饮水、进食。在糖尿病大鼠模型成立4周时，测空腹血糖大于14.00mmol/L。迅速股动脉放血处死大鼠，剪开胸腔，速取左、右侧膈肌，放入培养皿中，称重待测。

1.2 测定方法

1.2.1 微量元素测定

左侧膈肌经去离子水漂洗三次，80°C烘干。烘干的样品分别放入乳钵中粉碎，精密称取0.10g，炭化后加入消化液(HNO_3:$HCLO_4$=5:1)6ml，于电热板上缓慢加热消化至干，沉淀为白色(如出现黄色可继续加少量消化液进一步消化)，样品冷却后，转至25ml容量瓶中，双蒸水稀释至25ml。用岩曼原子吸收分光光度计(日立180－80型)，采用乙炔火焰法。燃气为乙炔气，助燃气为空气，应用标准对照法，计算微量元素的含量。

1.2.2 膈肌组织SOD、MDA测定

右侧膈肌用预冷的生理盐水洗净残血，吸干水份，称取膈肌组织，剪碎置于玻璃匀浆器中研磨5分钟，加入1.15%氯化钾溶液(样品:1.15%KCL=1:9)制成匀浆，采用硫代巴比妥酸法测定MDA，匀浆液经6000g，离心30分钟，取上清液用邻苯三酚自氧化法测SOD。

1.3 统计学处理

实验数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示，采用t检验对组间均数进行比较。

2 结果

2.1 微量元素及SOD，MDA变化

糖尿病4周大鼠膈肌Cu，Zn含量均明显低于对照组($P<0.001$)，Fe含量明显高于对照组($P<0.001$)。糖尿病膈肌Mn含量与对照组无差别($P>0.05$)。糖尿病膈肌SOD明显低于对照组($P<0.001$)，

* 男，1963－01出生，博士生

维普资讯 http://www.cqvip.com

MDA明显高于对照组($P<0.001$)。(见表1，表2)

表1 糖尿病和正常大鼠膈肌组织微量元素含量的比较($\bar{x}\pm s$)

($\mu g/g$ dry weight)

	Cu	Mn	Zn	Fe
对照组($n=10$)	12.85±3.34	1.42±0.21	62.92±3.55	46.11±3.51
糖尿病组($n=10$)	6.92±0.62	1.49±0.20	41.81±3.36	90.56±5.27
P值	$P<0.001$	$P>0.05$	$P<0.001$	$P<0.001$

表2 糖尿病和正常大鼠膈肌组织SOD、MDA含量比较($\bar{x}\pm s$)

	SOD(U/100mg)	MDA(nmol/100mg)
对照组(n=10)	29.40±2.73	21.93±3.27
糖尿病组(n=10)	11.65±2.78	47.75±6.66
P值	$P<0.001$	$P<0.001$

2.2 相关分析

糖尿病4周大鼠膈肌组织SOD与其Cu、Mn、Fe含量无相关性($r=-0.30$, $P>0.05$; $r=-0.06$, $P>0.05$; $r=-0.49$, $P>0.05$)，但与Zn呈正相关($r=0.70$, $P<0.05$)。糖尿病大鼠膈肌组织MDA与Cu、Mn、Fe含量无相关性($r=0.22$, $P>0.05$; $r=0.18$, $P>0.05$; $r=0.16$, $P>0.05$)而与Zn呈负相关($r=-0.78$, $P<0.01$)。

3 讨论

本研究表明，糖尿病4周大鼠膈肌Cu含量明显降低，可能与糖尿病膈肌对Cu的耗竭有关[2]。Mn与Cu均为化学性质相似的过渡金属元素，糖尿病膈肌组织Mn含量与正常膈肌无明显差别，这与糖尿病患者全血Mn含量测定结果一致，推测与糖尿病状态下并非经常出现Mn的缺乏有关[3]，具体机制尚需进一步研究。Zn是机体生长发育、组织修复等所必需的微量元素，我们发现糖尿病膈肌组织Zn含量明显低于正常组，可能与1型糖尿病时胸腺素下降有关，而胸腺素被认为是Zn生物活性的标志[4]。作为动物组织中含量最丰富的微量元素之一的Fe，主要存在于骨骼肌的铁蛋白、含铁血黄素和肌球蛋白中，糖尿病4周大鼠膈肌Fe含量明显升高，这可能与糖尿病常伴有血色素沉着症有关[5]，具体机制尚不清楚。由于本组糖尿病动物存在慢性未控制的高糖血症，可引起上述微量元素含量改变，而这些微量元素又可直接影响葡萄糖的自稳态，参与糖尿病并发症的发生，导致糖尿病膈肌功能的变化。

在正常生理状态下，体内氧自由基不断产生，同时由于体内存在一系列自由基清除系统(酶及非酶物质)，使自由基的产生与清除之间保持动态平衡，其中SOD起着重要作用。MDA是自由基引发的脂质过氧化反应的一种产物，与组织过氧化损伤有关。大量实验研究表明，糖尿病及其并发症的发生与自由基代谢和自由基诱导的脂质过氧化反应有着密切关系。本实验结果表明糖尿病4周大鼠膈肌组织SOD明显降低，MDA明显升高，这说明糖尿病时膈肌存在自由基清除障碍，使氧化/抗氧化平衡失调，导致氧化应激的增加[6]，自由基蓄积于体内，引起连锁反应，膈肌组织脂质过氧化反应加强，其产物MDA增加，从而引起糖尿病膈肌组织不同程度的损害。

已证实微量元素与脂质过氧化关系密切。本实验结果表明，糖尿病4周大鼠膈肌Zn含量与SOD呈正相关($P<0.05$)，与MDA呈负相关($P<0.01$)，推测由于Cu、Zn－SOD是O_2^-主要清除剂，而Zn是该酶的金属辅助因子，Zn含量减少时，酶活性下降，O_2^-清除障碍，使MDA增加，诱发膈肌组织脂质过氧化反应。该酶另一金属辅助因子Cu对酶本身活性影响很小[7]，故糖尿病膈肌组织Cu含量变化与SOD和MDA无明显相关性。此外，糖尿病大鼠膈肌Fe与SOD和MDA无相关性，可能与Fe在抗氧化酶中发挥作用的部位不同有关，也可能与糖尿病病程早期有关，具体机制尚待进一步研究。

参考文献

1.Newberne PM,et al.Nutr Cancer 1983;5:107
2.Sjogren A,et al.Nutr Res 1986;6:147
3.Walter RM,et al.Diabetes Care 1991;14:1050
4.Mocchegiani E,et al.Diabetes 1989;38:932
5.Redmon JB,et al.Mayo Clin Proc 1994;69:90
6.Giugliano D,et al.Diabetes Care 1996:19:257
7.张文清，等.解放军预放医学杂志 1993;11:225

(收稿日期 1997－06－03)

维普资讯 http://www.cqvip.com

The changes of copper,manganese,zinc,iron,SOD and MDA in diaphragm muscles of the diabetic rats

Shen Xinping, et al
Department of Endocrinology,College of Clinincal Medicine

Using the spectrum absorption method,we have determined the contents of the copper,manganese,zinc and iron in the alloxan－induced diabetic rat diaphragm muscles,and detected their activities of superoxide dismutase (SOD) and contents of malondiadehyde(MDA). The results indicated that the copper and zinc were lower and the iron was higher in diabetic rat diaphragm muscles than in control group,but in manganese,there were no significant defferences between control and diabetic group.The activities of SOD decreased significantly and the contents of MDA increased significantly in diaphragm of diabetic rats as compared with the control group.In addition,there was positive correlation between zinc and SOD,and negative correlation between zinc and MDA in diaphragm of the diabetic rats.The results suggest that the changes of the contents of Cu,Zn,Fe and the increase of oxidative stress in diaphragm may be related to the early diabetes.The zinc plays an importment role in lipid peroxidation of diabetic diaphragm.

KEY WORDS Micro Element; Diaphragm; Diabetes Mellitus

17-19

(6)

PCR检测胃粘膜幽门螺杆菌与其它三种方法比较

R573.04
R378.99
~~R446.5~~

临床学院内科 王丕龙* 余剑平 张玉洪
基础医学院 杨致邦
深圳宝安市人民医院 董临江

提 要 本文建立了聚合酶链反应(polymerase chain reaction,PCR)检测胃粘膜幽门螺杆菌(Helicobacter pylori,Hp)的方法，并与临床常用的快速脲素酶试验、涂片镜检、细菌培养3种方法进行比较。从100例十二脂肠溃疡患者的164份胃粘膜标本中，Hp的检出率分别是:PCR63%、快速脲素酶试验62%、涂片镜检59%、细菌培养55%。4种方法检出结果无显著性差异($P>0.05$)。若以细胞培养结果为标准，PCR法的敏感性和特异性分别为95.7%和97.2%。

关键词 聚合酶链反应; 幽门螺杆菌
中图分类号 R446.5

胃粘膜

聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)检测胃粘膜幽门螺杆菌(Helicobacter pylori,Hp)的高度敏感性和特异性已被肯定[1-2-3]。本文建立了PCR检测胃粘膜Hp的方法，应用于临床诊断，并与常用的快速脲素酶试验、涂片镜检、细菌培养3种方法的检测结果进行比较，以探讨临床诊断的应用价值。

1 材料和方法

1.1 病例

经胃镜诊断的活动期十二脂肠溃疡患者100例，其中

* 男，1945－8.20出生，教授