维普资讯 http://www.cqvip.com

重庆医科大学学报 1993年第18卷第4期

肝性昏迷大白鼠组织锌含量及^{65}锌保留的测定

生化教研室 曾昭淳 王征泰

提 要 本文测定了四氯化碳所致肝昏迷大白鼠组织的锌含量及^{65}Zn在其体内的保留，结果为肝昏迷大白鼠脑、肝组织锌含量显著下降（$P<0.05$）心、肾组织无显著变化，^{65}Zn的保留与对照一致。本文对上述结果与肝性昏迷的发病之间的关系进行了讨论

关键词 肝昏迷；锌含量；^{65}Zn保留
中国分类号 R332

锌是哺乳动物体内广泛存在的一种必需的微量元素，有广泛而复杂的生理功能。锌与质膜的功能有密切的关系[1]：锌可以影响膜对离子的透过性，对膜的兴奋性有极大的影响；动物眼睛脉络膜是体内含锌浓度最高的组织[2]；锌离子起着"粘合剂"的作用，把视网膜固定在脉络膜上维持视网膜的稳定性；锌离子与质膜上磷脂的磷的基团相结合成紧密的复合物，影响质膜的流动性和稳定性[3]；锌能保护质膜免于毒物或过氧化物的损害。锌是数十种酶的组成成分或为它们的活性所必需。这些酶包括羧基肽酶、碳酸酐酶、碱性磷酸酶、乳酸脱氢酶、DNA聚合酶等等。它们参与体内的糖、脂、蛋白质、核酸的代谢，在物质代谢中起着重要的作用。肝脏是物质代谢上一个非常重要的器官。在乙醇所致肝硬化病人的血浆锌含量上升，尿锌排出量增加，而肝组织锌的含量下降[4]。锌在维持中枢神经系统的正常功能方面，也有十分重要的作用。实验证明锌缺乏能引起动物胎儿大脑的发育异常及动物行为变化，而动物行为变化可能是锌影响了脑中儿茶酚胺代谢的结果[5]。一九八四年Basali[6]等人报导用D-氨基半乳糖致肝损害、诱发肝性脑病[HE]的大白鼠脑组织和肝组织的锌含量显著下降，血清锌含量显著上升。锌与HE的关系是一个值得研究的问题。为此本文报告用ClC_4造成大白鼠肝损害出现昏迷时某些组织的锌含量及^{65}锌的保留，作为进一步研究的基础材料并对锌与GABA递质系统在肝性昏迷时的关系作为初步探讨。

材料和方法

^{65}锌丝，购自北京中国科学院原子能研究所、比活性5mci/67mg。将Zn丝加入2M盐酸9.75ml中反应，反应完毕加重蒸水至10ml则每毫升溶液中含锌6.7毫克，活性为500uci。其它试剂均为国产分析纯试剂。

雄性昆明大白鼠体重240—270克，饲养两天，（动物及饲料均由重庆医科大学实验动物中心提供）自由进食、饮水。将动物分成两组，按5uci/100g体重腹腔注射^{65}锌24小时后，实验组按0.2ml/100g体重腹腔注射ClC_4，对照组注射生理盐水。注射后48-72小时，动物出现昏迷时，断头杀死动物、取心、肝、肾、脑组织各1g左右（肝组织取自右叶）洗净血液，在r-计数器上计数。对照组动物作相应的处理。

组织锌含量的测定：1.消化：计数后的组织加入1.5ml消化液（硫酸：高氯酸：硝酸24:24:1 V/V）在165±5℃消化至无色透

维普资讯 http://www.cqvip.com

明。2.显色：向消化后的溶液加入重蒸水2ml，用0.1%的对硝基酚乙醇溶液做指示剂，用5M，0.5M的氨水和0.5M的盐酸反复调节溶液的pH至5.8，然后依次加入2%的硫脲水溶液0.5ml，15%乙酰丙酮溶液0.5ml，1%的氟化铵溶液0.3ml、pH5.8的乙酸缓冲液2.0ml，显色剂0.05%二甲基酚橙水溶液1.0毫升，重蒸水加至10毫升，混匀。3.测定：用岛津UV-200分光光度计在572nm和650nm测光密度值，以相同处理的氯化锌溶液做标准，用△E=E572−E650的值计算组织的锌含量。

结果：

心、脑、肝、肾的^{65}锌计数结果列于表1。

表1　　肝性昏迷大白鼠的心、肝、脑、肾^{65}锌计数

	心	脑	肝	肾
实验组(n=10)	10136±1629	3111±831	20504±6065	18044±4317
对照组(n=10)	9503±1624	3140±842	24811±8924	17967±8902

单位　计数/min/g组织湿重

心、脑、肝、肾的^{65}锌计数值经统计学处理，未发现实验组与对照组之间有显著的差异。就各组织的计数值看，肝组织^{65}锌保留最多，然后依次为肾、心、脑组织。

组织锌含量的测定。用我们的分光光度法测锌的标准曲线如图：

在0—15μg范围内△E与锌含量成线性关系。

各组织锌含量列于表2。

四种组织的锌含量中，实验组动物的肝、脑组织锌含量下降，有非常显著的差异($P<0.05$)心、肾组织的锌含量无显著变化($P>0.05$)。

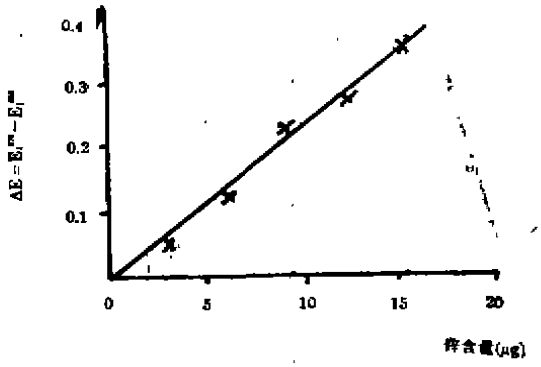


图 1　含锌标准曲线

讨论：

表 2　　肝昏迷大白鼠组织锌的含量（单位：μg锌/g组织湿重）

	脑	肝	心	肾
实验组(n=8)	8.6±0.6*	10.3±0.8*	11.4±1.9	11.8±1.2
对照组(n=8)	11.4±1.0	13.3±1.5	11.5±2.6	11.5±1.7

*$P<0.05$

诱发肝昏迷的动物模型曾用过D-氨基半乳糖。从D-氨基半乳糖腹腔注射后动物各组织的形态变化看，仅肝组织受到损害[7]，因而对肝组织作用是特异的。我们用ClC_4诱发HE的动物模型。ClC_4对肝脏有毒性作用，但不如氨基半乳糖特异。但本文的结果与Bazali等人的结果十分相似，即肝、脑组织的锌含量都明显下降。本文还报导了E大白鼠心、肾组织的锌含量，与对照组相比没有明显变化，表明在我们的实验条件下，脑的锌含量下降不是由于动物机体对ClC_4毒性的一般反应，而是与ClC_4损害肝脏后导致的昏迷有关，是继发性的。我们用不同试剂制作的肝性昏迷的动物模型重复出了Barali等

维普资讯 http://www.cqvip.com

人的实验结果，也降低了D-氨基半乳糖作用于肝时也直接作用于脑，引起脑性变化的可能性，可以推测脑锌含量下降不是由于实验动物血中锌浓度变化所致，似乎与^{65}锌的保留也没有明显的关系。

锌与GABA递质传递有密切的关系，GABA是脑中的一种主要抑制性递质。在中枢神经系统GABA受体是由Bengodiagepine受体，GABA受体，氯离子通道组成的复合物[8]。最近报导锌在GABA受体复合物上有一非竞争性结合位点[9]，且锌对GABA与受体的结合有抑制作用。文献报告在D-氨基半乳糖制作的动物模型中，脑中GABA的含量显著升高[10]，GABA受体复合物位点总数不变，但GABA与受体的解离常数变小，即亲合力增加[11]。HE动物GABA递质系统的变化，提示这些动物对GABA介导的中枢神经系统的抑制敏感性增强，可能是诱发昏迷的原因之一。我们测定的结果之一是肝昏迷动物脑锌含量下降，可能降低了对GABA与受体相互作用的抑制，与GABA递质作用增强的假说颇为一致。

关于肝脏损害后如何波及到脑，从而引起脑组织一系列的变化，有待于进一步的研究。根据已有的实验结果推测，动物HE时，肝脑组织之间可能存在一联接物。过去认为组胺是属这类物质，但由于直接把它们导入脑内不能引起实验动物昏迷而不支持它们有联接物的作用。毒物致肝严重损坏时肝锌含量下降，但^{65}锌保留不变，血锌浓度上升时，脑锌含量下降不可能是通过肝引起锌代谢的变化所引起。似乎不支持Zn作为联接物。推测肝脏受损时，有肝脏释出其它因子或对某些物质分解能力降低的可能。这些因子通过血液循环到脑、引起脑锌浓度的下降，导致对GABA与受体结合抑制下降，GABA与受体的结合增加，GABA信号传递增加，导致肝损害后昏迷的出现，是什么因子作为脑肝之间的联接物可进一步研究。

参考文献

[1] CharapilM, at al. Biochem. Pharacol, 1971; 21:1097

[2] 和希格、生命化学 1990; 10(4):26

[3] William J, et al. Life Science 1981; 28:1425

[4] Karve Weismann, in "Trace Elements in Health and disease" 1984, 221, edited by Harry Bostrom & Nils Ljungstedt, Skandia international symposia

[5] Golub M, S, Keen, et al. in "the Neurobiology of Trace Element" Volume 1, 1983, 141

[6] Mario Barali et al, Brain Research 1983; 258:170

[7] 范维珂，骆云鹏. 重庆医科大学学报 1979 增刊:10

[8] Willy Haefely: in "Pharmacolgy of Benzodiazepines" 1982; 175, edited by Earl Usdin et al. The Greaham Press

[9] 曾昭淳，王征泰. 重医医科大学学报 1984 增刊 27

[10] 杨 惠，王征泰. 重医医科大学学报 1992; 17(1):1

[11] Pascal Legendre & Gary L. Westbrook, Molecular Pharmacology 1991; 39:267

(收稿日期 1993-04-12)

(下转325页)