DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.05.038

[2] 张士杰, 王淑青. 降实验性动物高血脂与肝脂的药物研究近况[J]. 中草药, 1990, 21(8): 39—40.
[3] 蒋永培, 王胜春, 杨春娥, 等. 五灵丸对实验性肝硬变大鼠的作用[J]. 第四军医大学学报, 1993, 14(3): 189—191.
[4] 赵克然, 扬毅军, 曹道俊 主编. 氧自由基与临床[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1999. 569—572.
[5] 刘 成, 胡义扬, 汪润平, 等. 丹酚酸A抗过氧化鼠肝损伤的作用[J]. 世界华人消化杂志, 1999, 7(7): 570—572.
[6] 叶维法, 钟振义. 临床肝胆病学[M]. 第2版. 天津: 科学技术出版社, 1998. 190—191.
[7] Gasso M, Rubiom, varela G, Cabre M, *et al*. Effects of Sadenosy lmethionme on lipid peroxidation and liver filrogesisin carbon tetrachloride-induced cirrhosis[J]. Hepatolgy, 1996, 25(2): 200—205.
[8] Lieber Cs. Role of oxidative stress and antioxidant therapy in alcoholic and nonalcoholic liver disease[J]. Adv Pharmacol, 1997, 38(6): 601—628.
[9] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1991. 460—461.

(编辑 张大春)

个案与短篇

文章编号: 1000-5404(2001)05-0570-01

模拟4 000 m高原梭曼中毒大鼠脑游离脂肪酸的变化

Changes of free fatty acids in brains of rats with soman intoxication at a simulated 4 000 m high altitude

王仕丽, 魏相德, 董兆君 (第三军医大学预防医学系毒理学教研室, 重庆 400038)

正常脑组织游离脂肪酸(Free fatty acids, FAA)含量很少, 当脑循环障碍时FFA蓄积[1]。脑组织游离脂肪酸蓄积被认为是引起病理改变的重要因素之一。本实验探讨模拟4 000 m高原梭曼中毒脑组织FFA和含水量之间的关系, 为临床治疗提供实验依据。

1 器材和动物

Wistar大鼠96只, 雌雄不拘, 体重(160±31.6) g。梭曼纯度96.4%, 给药途径: 皮下注射。动物随机分为: ①正常对照组(12只); ②低剂量梭曼中毒(A组, 0.8 LD_{50}= 72 g/kg)(42只); ③高剂量梭曼中毒(B组, 1.09 LD_{50}= 98 g/kg)(42只)共3组。3组动物分别在减压舱内减压至模拟4 000 m高度, 维持6 h后取12只动物为正常对照组, 活杀断头取脑, 弃血污, 沿正中切线分为两半, 一侧脑组织称其湿重和烘干称其干重, 求得脑组织含水量。另一侧脑组织用双蒸水制成10%匀浆, 以一次提取法在4010型光度计波长440 nm处测D_{440}值, 计算μmol/g组织, 同时以DTNB法测乙酰胆碱脂酶(Acetyl cholinesterase, AChE)活性。中毒A、B两组动物在减压6 h后中毒, 于中毒后15、30、60、120 min取脑, 其余步骤同上。

统计学处理: 采用t检验。

2 结果

2.1 AChE活性改变

模拟4 000 m高原梭曼中毒大鼠脑AChE活性抑制明显。A组中毒15 min, 酶活性下降至正常50%以下, 30 min酶活性仅为正常值的40%, 尔后一直维持在低水平。120 min时仍未见酶活性明显恢复。B组AChE活性与A组相似, 在中毒后15 min下降至30%, 较A组抑制明显($P<0.05$)。30 min仍持续在最低水平。以后逐渐缓慢回升, 120 min时为正常酶活性的43%。

2.2 脑含水量变化

梭曼中毒动物15 min后脑组织含水量逐渐增加, 60 min达峰值, 明显高于正常值($P<0.01$), 但直至120 min仍显著高于对照水平($P<0.05$)。B组, 起初脑含水量增加并不显著, 至60 min和120 min时维持在明显高于正常水平($P<0.01$)未见恢复, 见表1。

2.3 FFA变化

A、B两组大鼠脑组织FFA浓度15 min明显高于正常值($P<0.05$), 特别是B组更为明显($P<0.01$)。60 min时, A组呈现FFA浓度再次升高($P<0.05$), B组FFA浓度虽有增加但与正常值比较差异不明显($P>0.05$), 见表2。

表1 模拟4000 m高原梭曼中毒大鼠脑含水量的改变(ω_B/g·g^{-1}, $\bar{x}\pm s$)

	0	15 min	30 min	60 min	120 min
对照组	0.75±0.04				
中毒A组		0.79±0.03	0.79±0.02*	0.82±0.04**	0.81±0.05**
中毒B组		0.77±0.03	0.77±0.05	0.81±0.03**	0.82±0.04**

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ 与对照组比较

表2 模拟4 000 m高原梭曼中毒大鼠FFA浓度变化(ω_B/μg·g^{-1}, $\bar{x}\pm s$)

	0	15 min	30 min	60 min	120 min
对照组	0.037±015				
中毒A组		0.098±0.046*	0.057±0.009	0.105±0.042*	0.075±0.012
中毒B组		0.274±0.068**	0.058±0.013	0.065±0.006	0.075±0.007

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ 与对照组比较

3 讨论

梭曼不仅对AChE抑制作用很强, 而且中毒酶极易老化[2]。

(下转572页)

作者简介: 王仕丽(1962—), 女, 四川省绵阳市人, 实验师, 主要从事神经性毒剂的急性毒性方面的研究。电话: (023)68752356
收稿日期: 2000-11-08; 修回日期: 2001-02-17

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.2.2 杂质分析 采用薄层色谱法(硅胶 G 板,冰醋酸∶正丁醇∶水= 2∶2∶1,茚三酮显色),结果为单一斑点。

2.2.3 氨基酸组分分析 采用氨基酸分析仪,结果为丙氨酸∶谷氨酰胺为 1∶1.01,见图 1。

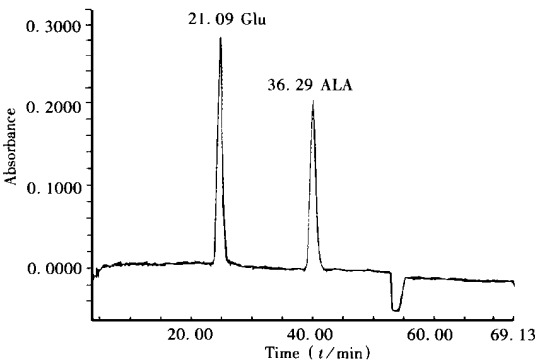


图 1 L-丙氨酰-L-谷氨酰胺氨基酸组分分析图

Fig 1 Chromatogram of amino acids of L-alanyl-L-glutamine dipeptide

2.2.4 纯度测定 采用高效液相分析仪,结果为 98.94%。

2.2.5 质谱分析(m/z) 218(M+1),130(Gln+1, base peak),与 $C_8H_{15}N_3O_4$ 相符。

2.2.6 元素分析 实测值(理论值)为 N 19.52(19.35)、H 7.15(6.91)、O 29.52(29.49)、C 43.82(44.24)。

3 讨论

L-谷氨酰胺是机体内含有两个氮原子的特殊氨基酸。这一化学结构的特殊性决定了其具有独特的性质,近年来的研究表明,L-谷氨酰胺是一种条件必需氨基酸,在蛋白质、核酸合成中具有重要作用,是肠粘膜上皮细胞、肾小管上皮细胞和免疫活性细胞等代谢活跃细胞的能量来源,被认为是机体的氮源运载工具,在体内各组织间转运氮源,发挥清除氨等有毒物质等重要功能。临床研究表明,使用 L-谷氨酰胺对严重分解代谢疾病(如烧伤/外伤/大手术、急慢性感染、骨髓移植和多器官功能障碍综合症)、肠道功能不全(如肠炎、短肠综合症和放化疗所致粘膜损害)、免疫缺陷综合症(如艾滋病、危重病或骨髓移植后伴发的免疫功能低下)等疾病具有良好的治疗效果[1~3]。但由于 L-谷氨酰胺溶解度小,在水溶液中不稳定,临床上还未有含 L-谷氨酰胺的胃肠外营养制剂广泛使用。我们通过改进报道的化学合成法,将 L-谷氨酰胺制备为双肽,中间体及粗品的合成和精品的制备均易控制,产物收率较高,该法简便、快速,可望开发为临床安全、稳定、有效的 L-谷氨酰胺双肽制剂。

(致谢:本研究所用分析方法承蒙本校高原军事医学系中心实验室、一坪油化分析实验室、西南师范大学化学系实验室等单位大力支持,特表感谢。)

参考文献:

[1] Powell-Tuck J. Total parenteral nutrition with glutamine dipeptide shortened hospital stays and improved immune status and nitrogen economy after major abdominal surgery[J]. Gut, 1999, 44(2): 155.

[2] 白满喜, 蒋朱明, 刘跃武, 等. 谷氨酰胺双肽保护肠粘膜屏障[J]. 中华外科杂志, 1996, 34(6): 370—373.

[3] Kohler H, Ruggeberg J, Langer K, *et al*. Glycyl-glutamine improves *in vitro* lymphocyte proliferation in AIDS patients[J]. Eur J Med Res, 2000, 5(6): 263—267.

[4] Klassen P, Mazariegos M, Solomons N W, *et al*. The pharmacokinetic responses of humans to 20 g of alanyl-glutamine dipeptide differ with the dosing protocol but not with gastric acidity or in patients with acute Dengue fever[J]. J Nutr, 2000, 130(2): 177—182.

[5] Stehle P, Kuhne B, Kubin W, *et al*. Synthesis and characterization of tyrosine-and glutamine-containing peptides[J]. J Appl Biochem, 1982, 4: 280—286.

(编辑 陈聪连)

(上接 570 页)

它易透过血脑屏障进入中枢,本实验中毒 15 min 后即出现酶活性明显抑制($P<0.01$),120 min 未见恢复。当中毒剂量增大,酶活性抑制亦加重,提示梭曼通过抑制中枢 AChE 活性干扰中枢功能,中枢为梭曼毒理作用的主要靶器官之一。本研究结果初步证明,梭曼对 AChE 抑制过程与脑含水量变化并无直接关系。Flynn 等[3]认为,梭曼能增加脑磷脂酰胆碱水解,同时伴有 FFA 增加,严重影响中枢能量代谢,引起血脑屏障通透性和膜离子梯度改变,使水进入细胞内。因此,有人认为 FFA 可诱发组织水肿[4]。正常情况下,中枢 FFA 含量很少,但在缺氧、损伤、肿瘤周围组织发生水肿的同时,FFA 浓度也往往明显高于正常。这可能是组织结合脂肪酸遭到破坏而释出的结果。本实验两种中毒剂量梭曼中毒时,15 min 后 FFA 均明显高于正常值,以后出现波动变化,60 min 时又呈现高于正常值水平($P<0.05$)。脑组织含水量呈现中毒后逐渐增加且超出正常水平($P<0.05$),FFA 浓度改变对脑组织水肿至少有诱发推动作用。似乎并不显示其之间呈正比关系,究竟脑组织水肿与 FFA 浓度之间有何关系仍有待进一步研究。

关键词:高原;梭曼;游离脂肪酸

中图法分类号:R339.54;R914.4 文献标识码:B

参考文献:

[1] Banks W A. Physiology and pathology of the blood-brain barrier: implications for microbial pathogenesis, drug delivery and neurodegenerative disorders[J]. J Neurovirol, 1999, 5(6): 538—555.

[2] Sinton C M, Fitch T E, Petty F, *et al*. Stressful manipulations that elevate corticosterone reduce blood-brain barrier permeability to pyridostigmine in the rat[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2000, 165(1): 99—105.

[3] Flynn C J, Wecker L. Concomitant increases in the levels of choline and free fatty acids in rat brain: evidence supporting the seizure-induced hydrolysis of phosphatidylcholine[J]. J Neurochem, 1987, 48(4): 1 178—1 184.

[4] Katayama Y, Kawamata T, Maeda T, *et al*. Free fatty acid liberation and cellular swelling during cerebral ischemia: the role of excitatory amino acids [J]. Acta Neurochir Suppl Wien, 1994, 60: 242—245.

(编辑 王 红)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net