DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.10.018

成方法,常用的是先制备糖肽合成构建单位,即先将目标糖连接到固相合成原料—N-保护氨基酸(如Asn、Ser、Thr等)上,变成糖基化氨基酸,然后用固相合成方法合成糖肽。该方法主要由于用于肽N-糖基化和O-糖基化研究。由于糖基化还可能以S-及α-和ε-氨基糖基化形式存在,本研究就是一种除N-糖基化和O-糖基化以外的一种糖基化方法,即使目标糖开环结构上的醛基或羰基与Pre-S(2)肽上的α-和ε-氨基共价结合,并用还原剂把不稳定的C=N键还原为较为稳定的C-N键,提高了糖肽在溶剂或空气中稳定性,这为研究Pre-S(2)糖肽免疫学活性提供了一种新手段。本实验用吡啶-硼烷复合物还原的糖基化Pre-S(2)合成肽的糖基较稳定,而未还原的糖基化Pre-S(2)合成肽糖基稳定性差。

此方法是用化学方法将糖共价连接在Pre-S(2)合成肽上的含α-和ε-氨基的氨基酸残基上,即具体连接在肽N端M1的α-氨基和K16的ε-氨基上,此二氨基酸残基位于或接近Pre-S(2)上公认的一个CTL表位,氨基酸残基1~15。用此方法可研究该表位糖基化对其免疫学活性的影响,特别是对诱导特异性CTL的影响(研究结果另文报告)。

糖基化的Pre-S(2)合成肽用反相HPLC方法纯化,从HPLC色谱图中,可见由于糖基化后极性改变,糖基化Pre-S(2)合成肽与未糖基化Pre-S(2)合成肽在反相HPLC上可明显区分开来,保留时间为2.853 min的峰为未接上糖的Pre-S(2)合成肽,而保留时间为3.993 min的峰为糖基化Pre-S(2)合成肽,糖基化后极性改变,使保留时间延长,且明显看出该峰为一包容峰,其中可能包含3种糖基化肽,即α-和ε-氨基均被糖基化和仅α-或ε-氨基二者之一被糖基化Pre-S(2)合成肽。

分离得到的糖基化肽后,利用糖基化产物在碱性条件下与NBT结合成蓝色复合物这一特性,以DMF作标准对照,分光光度计检测530 nm吸收度,结果表明15 d以后,糖基化反应基本呈平衡状态。

从比色检测结果和收益率结果来看,显示此方法具较稳定,可以达到肽直接糖基化目的。但此方法也有一些局限性,最主要的是糖基化的均一性欠佳,这一点可从HPLC色谱图中,每个糖基化反应均生成包含3种糖基化肽的包容峰表现出来。另外还有费时较长的缺点。

参考文献:

[1] Wounderlich G, Bruss V. Characterization of early hepatitis B virus surface protein oligomers[J]. Arch Virol, 1996, 141(7): 1 191—1 205.

[2] Ivo S. Glycation of albumin: Rection with glucose, fructose, galactose, ribose or glyceraldehyde measured using four methods [J]. J Biochem Biophy Methods, 1994, 28(2): 115—121.

[3] Lu X, Mehta A, Dwek R, *et al*. Evidence that N-linked glycosylation is necessary for hepatitis B virus secretion[J]. Virology, 1995, 213(2): 660—665.

[4] Schmitt S, Glebd D, Alving K, *et al*. Analysis of the Pre-S(2) N- and O-linked Glycans of the M surface protein from human hepatitis B virus[J]. J Biol Chem, 1999, 274(17): 11 945—11 957.

(编辑 汪勤俭)

经验与短篇

文章编号:1000-5404(2000)09-0968-01

小儿外伤性脑梗塞26例报告

Report of 26 cases of pediatric traumatic brain infarction

王德明 (四川省广安市人民医院脑外科,广安 638000)

小儿外伤性脑梗塞在临床较为少见。我院从1995~1999年收治小儿外伤性脑梗塞26例,经非手术治疗,疗效满意,现就其治疗结果,结合文献报告如下。

1 临床资料

26例患儿,男17例,女9例。年龄11个月至13岁,平均5.6岁。致伤原因:车祸伤15例,坠跌伤9例,打击伤2例,均为闭合性颅脑损伤。

(下转971页)

作者简介:王德明(1958—),男,四川省广安市人,主治医师,发表论文5篇。电话:(0826)2224476

收稿日期:2000-06-10;修回日期:2000-09-08

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

极性强的DMSO 极性溶剂溶样, 可能制约了 Delta Pak C_{18}填料的优势, 对其柱效产生一定的影响。在本实验展示 Delta Pak C_{18}填料在 3 种柱水平收率都保持在相当恒定范围的同时, 又为其低载量深感遗憾, 这几乎限制了其在 P44 制备工艺的应用。能否找到一种高载量的反相填料将成为解决 P44 制备工艺的关键。总之, 本实验提示将 Delta Pak C_{18}填料在 P44 的应用定位于分析及实验室小量的制备的确是一种不错的选择。

参考文献:

[1] Young P M, Wheat T E. Alternative mobile phases for enhanced chromatographic selectivity and increased sensitivity in peptide separations[J]. Pept Res, 1990, 3(6): 287—292.

[2] Zeng W, Regamey P O, Rose K, Wang Y, *et al*. Use of Fmoc-N-(2-hydroxy-4-methoxybenzyl) amino acids in peptide synthesis [J]. J Pept Res, 1997, 49(3): 273—279.

[3] TBarbosa J, Sanz Nebot V, Toro I. Solvatochromic parameter values and pH in acetonitrile water mixtures. Optimization of mobile phase for the separation of peptides by high-performance liquid chromatography[J]. J Chromatogr A, 1996, 725(2): 249—260.

[4] Knight M, Strickler M P, Stone M J, *et al*. Scale-up methodology for the preparative purification of peptide M[J]. J Chromatogr, 1988, 459: 361—367.

(编辑　汪勤俭)

(上接 968 页)

主要症状及体征: 伤后神志清醒 14 例, 意识障碍 12 例, 其中意识障碍 30 min 者 7 例, 30 min 至 1 h 者 5 例, 中间有清醒期 2 例。多数病例伤后 2~48 h 才出现相应梗塞体征, 3~5 d 最典型, 其中偏瘫 9 例, 单瘫 3 例, 偏身感觉障碍 2 例, 语言障碍 3 例, 抽搐 2 例, 头痛及躁动不安 7 例。

辅助检查: 本组病例均在伤后 24~72 h 行头颅 CT 检查, 23 例明显的显示脑梗塞灶, 其单侧基底区 19 例中右侧 13 例, 左侧 6 例, 双侧基底节区 3 例, 枕叶 1 例。梗塞灶呈圆形或椭圆形, 边界多较清楚, 直径< 5 mm 1 例; 5~10 mm 13 例; 10~20 mm 9 例, 全为腔隙性梗塞。另 3 例未见梗塞, 伤后 5~7 d 再次行 CT 检查均见梗塞病灶。

治疗方法及结果: 本组病例均采用非手术治疗方法。用 20% 甘露醇降颅内压(用量按每次每公斤体重 0.5~1 g/kg, 2~3 次/d 静滴); 用地塞米松 5~10 mg 分 2 次静滴, 预防和治疗脑水肿。使用能量合剂(三磷酸腺苷、辅酶 A、细胞色素 C)、脑复康、美络宁等药, 促进神经功能的恢复。

随访期 6~24 个月, 全组 26 例均获随访, 无死亡。伤后出现偏瘫、偏侧感觉障碍、语言障碍, 先后完全恢复。癫痫症状消失, 未再服用抗癫痫药物, 其中 10 例病人 14 个月内复查头颅 CT, 基底节区可见残留陈旧性梗塞病灶, 但较治疗前明显缩小。

2　讨论

小儿外伤性脑梗塞在临床较少见, 多数学者认为本病属颅脑外伤的并发症, 并逐渐被人们所认识, 其发病机制还不十分清楚, 推测可能与以下几个方面有关: (1)小儿颈部肌肉支持和保护作用差, 外伤时头颅过伸损伤颈内动脉形成微小血栓, 栓子脱落造成脑梗塞[1]。(2)基底节为终末血管供血, 血供相对差, 侧枝循环少, 供血的脉络膜动脉深穿支从主干动脉分支时多呈直角, 再加小儿的脑血管发育不完善, 外界暴力作用于头部时颅底与脑组织, 表面脑组织与深部组织产生相对运动, 易造成供血动脉扭曲、牵拉、移位等, 引起血管内膜或分支处的损伤, 致血浆内皮素增强, 强烈的缩血管物质使血小板聚集增多, TXA_2 释放, 脑血管痉挛, 狭窄, 继发脑血栓形成, 引起脑梗塞。本组多例基底节区发生脑梗也说明与该处解剖因素密切。(3)小儿颅脑损伤后, 由于脑水肿和脑血管痉挛, 脑循环发生障碍和脑血流的改变, 脑局部缺血可产生腔隙梗塞, 并多为伤后 3~7 d 达高峰, 本组患儿症状明显期与此期符合, 也说明脑外伤后腔隙梗塞与伤后循环障碍互为因果[1,2]。

小儿外伤性脑梗塞早期诊断较困难, 常常被颅脑损伤的症状所掩盖, 临床中应警惕。本病通常在伤后 2~48 h 发病, 有时延迟到 3~7 d。由于症状迟缓, 在伤后有一中间好转状态, 通常误诊为急性硬膜外血肿, 其主要区别在于脑梗塞的病人有明显的偏瘫, 而意识状态相对较好。我院所收治的 26 例小儿外伤性脑梗塞, 主要为腔隙性脑梗塞, 早期临床症状往往不明显。根据我们收治 26 例的体会, 作者认为对于: (1)小儿有头部较轻的外伤史, 尤其头颅过伸旋转受伤者; (2)亚急性起病, 症状体征多在 3~5 d 较典型, 一般不伴严重的意识障碍; (3)头部损伤不重, 伤后出现相对较迟的肢体运动障碍, 如偏瘫、单瘫, 少数的感觉改变者, 意识障碍往往与体征不成正比, 瘫痪重于意识改变; (4)头颅 CT 片上排除了颅内小血肿, 脑挫伤, 而在基底节区可见孤立的(15 mm 大小的低密度区, 且无占位效应及脑疝征, 应考虑小儿外伤性脑梗塞的诊断。对于 CT 片阴性表现者, 可多次复查头部 CT 或 MRI 检查, 有利于本病的诊断。本组有 3 例早期 CT 扫描未发现明显病灶, 伤后 5~7 d 采用 0.5 cm 基底节薄层扫描病灶显示清楚, 发现基底节区有一 5~10 mm 大小腔隙性梗塞灶。

在治疗上, 应早期使用脱水药和肾上腺皮质激素, 降低颅内压, 消除脑水肿; 应用脑细胞代谢药物, 促进神经功能恢复。注意水盐电解质酸碱平衡, 维持正常的颅内压, 保护好脑的灌注。对于有昏迷者, 应用胞二磷胆碱药苏醒, 对于并有外伤性蛛网膜下腔出血的病人, 应早期使用钙离子拮抗剂, 如尼莫地平或尼莫通, 缓解血管痉挛。本组 26 例经综合治疗, 效果满意。

关键词: 脑外伤; 脑梗塞; 小儿
中图法分类号: R743.33　　文献标识码: B

参考文献:

[1] 樊金陵, 郭建军. 外伤后基底节区腔隙梗塞 21 例临床分析[J]. 中华神经外科杂志, 1993, 9(5): 200.

[2] 刘泉开, 陈　恒. 小儿外伤性腔隙梗塞 17 例报告[J]. 中华神经外科杂志, 1995, 11(6): 354—355.

(编辑　谢义霞)

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