DOI: 10.16016/j.1000-5404.1999.05.030

经验交流

自发性高血压大鼠中枢胰岛素的作用

Studies on the rale of insulin in brain in spontaneous hypertension in rat

李 民* 杨成明 刘光耀 王旭开 曾春雨 王红勇 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所心血管内科) 重庆,400042

提 要 目的:研究中枢胰岛素在高血压发病中是否起作用。方法:用放射免疫法测定10只自发性高血压大鼠、Wistar大鼠大脑皮层、下丘脑、延髓胰岛素含量,进行比较分析。结果:自发性高血压大鼠脑胰岛素含量明显高于 Wistar大鼠。结论:中枢胰岛素在高血压发病中起重要作用。

胰岛素历来被认为是一种外周激素,直到70年代末人们才开始关注它存在于中枢。1978年 Havrankova等[1]用放免法在大鼠脑提取液中检测到胰岛素,10余年来,对中枢胰岛素的来源、脑区分布及各脑区的含量、作用等进行了探讨。但中枢胰岛素与高血压的关系未引起重视。本研究用放射免疫分析法测定了自发性高血压大鼠各脑区胰岛素含量。

1 材料与方法

1.1 样品制备

取10只九周龄,雄性 Wistar大鼠(军事医学科学院动物中心提供),10只九周龄,雄性 SHR大鼠(中国协和医科大学阜外医院动物中心提供,动物批准文号01-1086),禁食12 h,用乌拉坦(1 g/kg)腹腔麻醉,立即断头取出全脑,置冰盘上小心切取大脑皮层、下丘脑、延髓(各约120 mg),分析天平称重后,置玻璃匀浆器中用冰冷的0.02 mol/L HCl-75%乙醇1 ml匀浆,4℃放置过夜,0.02 mol/L $NaHCO_3$ 1 ml中和后置-70℃冰箱待测[1,2]。

1.2 放射免疫测定

应用免疫活性胰岛素检测药盒(中国原子能科学研究院)测定。

脑组织匀浆胰岛素的换算:

$$\text{胰岛素含量(ng)/湿重脑(g)} = \frac{1}{1\text{ml}\times\text{重量(g)}}\times\text{读数值 U/L}$$

1.3 统计学处理

应用第四军医大学 SPLM统计处理软件,方差齐,用 t 检验;方差不齐,应用非参数统计、秩和检验。结果以 $\bar{x}\pm s_{\bar{x}}$ 表示。

2 结果见表1

表1 各脑区胰岛素含量(ω_B/ng g^{-1}, $\bar{x}\pm s_{\bar{x}}$)

部位	例数	Wistar鼠	SHR鼠
下丘脑	10	6.37±1.20	18.24±3.00*
延髓	10	1.67±0.76	11.44±1.57*
大脑皮层	10	1.34±0.38	4.43±0.80*

*: $P<0.01$ 与 Wistar鼠比较

3 讨论

中枢胰岛素的定量,由于关系到对中枢胰岛素的来源、作用等的认识,故常引起争议。Havrankova最早报道为平均每克脑组织为3~90 ng[1],后又修改为8~9 ng;但 Baskin用同法测到的含量为0.3 ng[2]; Yalow得到的结果为1~2 ng[3];王琼得到的结果为0.92 ng[4]。中枢胰岛素的来源有两种途径,一是从外周进入中枢[5],一是中枢自身产生。我们测得 Wistar鼠每克脑组织含量为1~7.6 ng, SHR鼠为3.6~21.2 ng SHR鼠各脑区胰岛素含量明显高于 Wistar,差异非常显著($P<0.01$)。

1991年 Nishimura脑室内注射胰岛素使心率、血压下降,中枢胰岛素可能参与血压的调节。SHR鼠中枢胰岛素显著增高,说明高血压病时,中枢胰岛素代偿性分泌增加,其机制不明。

SHR鼠存在胰岛素抵抗,但是指外周胰岛素抵抗;而未论及中枢胰岛素抵抗。SHR鼠中枢胰岛素明显增高,说明中枢存在胰岛素抵抗,其机制有待进一步研究。

关键词 胰岛素;中枢胰岛素;放射免疫分析法
中图法分类号 R977.15; R544.1

* 李 民,男,35岁,主治医师,硕士

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

参考文献

1 Havrankova J, Schmechel D, Roth J, *et al*. Identification of insulin in rat brain. Proc Natl Acad Sci USA, 1978, 75(11): 5737

2 Baskin D G, Porte D Jr, Guest K, *et al*. Regional concentrations of insulin in the rat brain. Endocrinology, 1983, 112(3): 898

3 Yalow R S, Eng J. Insulin in the central nervous system. Adv Metab Disord, 1983, 10(8): 341

4 王 琼,陆钟琦.中枢胰岛素的存在、分布及与饮食的关系.中国医学科学院学报, 1994, 16(6): 434

5 Duffy K R, Pardridge W M. Blood-brain barrier transcytosis in developing rabbits. Brain Research, 1987, 420(1): 32

(收稿: 1998-10-30;修回: 1999-03-18)

(编辑 刘 鹏)

高效液相色谱法测定人血浆中紫杉醇浓度

Determination of Taxol in human plasma by HPLC

董 慧* 赵春景 马文秀 代 青 (第三军医大学附属西南医院药剂科)重庆, 400038

肖文华 胡绍毅 (第三军医大学附属西南医院肿瘤科)重庆, 400038

提 要 目的:建立人血浆中紫杉醇的高效液相色谱测定法。方法:血浆中紫杉醇用醋酸乙酯提取后在C_{18}柱上以甲醇-水(65:35, v/v)为流动相,检测波长 227 nm,以峰面积外标法定量。结果:该法萃取回收率为 94.58%,方法回收率为 99.19%;日内、日间 RSD均小于 4% (n = 5),应用本法测定了两例癌症患者静脉输注紫杉醇的经时血药浓度符合二室开放模型。结论:本法操作简便,灵敏度高,专属性强。

紫杉醇(Taxol)是一种具有抗肿瘤活性的天然产物,其化学结构新颖,作用机制独特,它在癌细胞分裂时能与细胞微管蛋白结合,促使细胞中微管稳定和聚合,使细胞有丝分裂受到阻断,从而抑制肿瘤生长,是近年来受到广泛重视的一类新型抗肿瘤药物[1,2]。为了研究紫杉醇在人体内的代谢过程,我们建立了简便灵敏的 HPLC-UV检测法,能定量地分析血浆中紫杉醇的含量。

1 材料与方法

1.1 药品与试药

紫杉醇注射液(商品名:紫素,北京协和药厂,批号:960625);紫杉醇对照品(纯度 > 99%,由四川省凉山洲生物研究所提供);甲醇为色谱纯,醋酸乙酯为分析试剂;超纯水(由 Millipore超纯水器制备)。

1.2 仪器与色谱条件

Waters 810液相色谱仪,包括 510泵,484可变波长紫外检测器, Baseline 810计算机控制及处理系统;μ-Bondapak C_{18}柱(3.9× 150 mm, 10μm);流动相为甲醇-水(65:35, v/v);流速为 1 ml/min;柱温为 30℃± 1℃;检测波长为 227 nm;灵敏度 0.002 AUFS。

1.3 对照品溶液的制备

贮备液:精密称取紫杉醇对照品适量,用甲醇配成浓度为 200 mg/L和 20 mg/L的对照品贮备液,置 4℃保存,两周内稳定。

工作液:临用时精密吸取贮备液,用甲醇稀释成浓度为 0.2~ 30 mg/L的工作液备用。

1.4 血浆样品处理

取 1 ml待测血浆,加醋酸乙酯 4 ml在旋涡混合器上混匀 3 min, 1000× g离心 15 min,分离醋酸乙酯层,同法重复萃取一次,合并醋酸乙酯,于 40℃恒温水浴中,用氮气流吹干,残留物以流动相 200μl溶解,取 20μl进样。

2 结果

2.1 方法学研究

2.1.1 色谱行为 图 1中 a、b、c分别为空白血浆,空白血浆加紫杉醇及患者血浆样品的 HPLC色谱图,血浆中内源性物质对紫杉醇测定无干扰。

2.1.2 血浆标准曲线 取 0.9 ml空白血浆 7份,精确加入紫杉醇工作液各 100μl,配成 0.02、0.05、0.1、0.5、1.0、2.0、3.0 mg/L的标准浓度,按 1.4项方法处理、测定。以峰面积对浓度进行回归,回归方程为: C = 167406.6965X - 5695.9522, r = 0.9998,最低有效检测浓度为 0.01 mg/L。

2.1.3 回收率实验 萃取回收率:于空白血浆中加入不同量的紫杉醇对照品工作液,配成浓度为 0.05 mg/L和 3.0 mg/L的溶液,经预处理后测定,并与相应量的未经处理的标准品对照测定,按峰面积比计算得平均萃取回收率为 94.58%, RSD为 1.15%。

方法回收率:于空白血浆中加入一定量的紫杉醇对照品工作液,分别配成高、中、低 3个不同浓度的样品,经预处理后测

* 董 慧,女,62岁,主任药师

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