DOI: 10.16016/j.1000-5404.1998.06.036

10^3 u)同样具有自身磷酸化能力,能激活受体内在TPK催化外源性底物磷酸化。因此采用本实验方法纯化骨骼肌胰岛素受体具有其它组织胰岛素受体的结构和特性,并且能够排除质膜上其它蛋白质对胰岛素结合行为和磷酸化分析的干扰,能较好的满足胰岛素受体功能的研究以及糖尿病、创伤等病理条件下骨骼肌胰岛素受体信号缺陷的研究。

关键词 受体,胰岛素;酪氨酸蛋白激酶

中图法分类号 Q51

参考文献

1 Charles F, Raphael A, David B. Phosphorylation of insulin receptors solubiliced from rat skeletal muscle. Diabetes, 1994, 33(5): 704

2 Zhang S M, Li J X, Wei Y, *et al*. A simplified method for the preparation of WGA-Sepharose 4B and its use in the purification of MN blood group antigens. Biomedical chromatography, 1989, 3(3): 10

3 Masanori L, Masashi K. Effect of piolitazone on insulin receptor of skeletal muscles from high-fat-fed rats. Metabolism, 1993, 42(8): 1017

4 张 波,许霖水,吴喜贵.烧伤后胰岛素受体信号传导缺陷机理的研究.第三军医大学学报, 1997, 19(1): 4

(收稿: 1997-11-10;修回: 1998-03-24)

(编辑 刘 鹏)

高效液相色谱法测定人尿乳果糖及甘露醇

Determination of lactulose and mannitol in urine by HPLC

潘 峰* 王一健 孙 玮 李才安 (第三军医大学基础医学部中心实验室)重庆, 400038

提 要 目的: 建立一项快速、灵敏测定人尿乳果糖(L)及甘露醇(M)的实验方法。方法: 烧伤病人口服给药: 乳果糖 10 g,甘露醇 5 g,高效液相色谱示差(HPLC-RI)检测法测定各时段 L、M 的排出量。结果: L、M 的线性范围为 4~500 mg/L,平均回收率为 96.39%~98.37%,精密度(*CV*%)为 2.68~3.74,最低检测限 0.05 mg/L。结论: L/M 的值增大,可示肠通透性增高。

双糖试验[1]的方法有多种: 薄层色谱法是一种耗时、半定量的方法[2];气-液色谱法,需要复杂的柱前衍生[3];液相色谱法,省时、稳定性好、可靠性高,仪器较普及,易于推广[4,5]。本实验采用高效液相色谱示差(HPLC-RI)检测法测定烧伤病人尿中乳果糖、甘露醇的含量,对烧伤病人肠通透性变化的评价,探索出一种有效、可靠、灵敏、快捷的实验方法。

1 材料和方法

1.1 仪器

美国 Waters 公司高效液相色谱仪(810系列),配备 510 泵, U_{6K}进样器, 410示差检测器。

1.2 试剂

乳果糖、甘露醇均为 Sigma 公司产品,乙腈为色谱纯,实验用水为超纯水。

1.3 色谱条件

色谱柱, Beckman Ultrasil NH_2柱, 10 μm(4.6 mm×250 mm)。流动相: 乙腈-水(72∶28, v/v),流速 1 ml/min,柱温 32℃,示差检测器内加热温度定为 37℃,灵敏度设定值的 32,时间常数为 1.0。

1.4 标准液的配制

精确制备 1 g/L的乳果糖、甘露醇标准储备液,用时再均量稀释。

1.5 尿样收集

烧伤病人伤后 1、4、8、14 d天早晨,排尿后口服给药: 乳果糖 10g、甘露醇 5g,连续 6 h收集尿液,并计总量,混匀,各时段取 1 ml,加 0.2 mg 硫柳汞作防腐剂, -20℃保存,待测。

2 结果

2.1 标准曲线

取正常尿液,与样品同样处理,加入标准储备液,配成浓度为: 4、10、25、50、100、200、500 mg/L,每种浓度进样 3次,峰面积 R与相应的浓度 C进行线性回归,其回归方程为: $C_{乳}$= 7.73×10^{-5}· R+ 1.066, r= 0.9993, $C_{甘}$= 8.42×10^{-5}· R+ 0.624, r= 0.9996。统计结果表明: 乳果糖和甘露醇在 4~500 mg/L的范围内,有良好的线性关系。色谱图见图 1。

* 潘 峰 男, 34岁,实验师

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

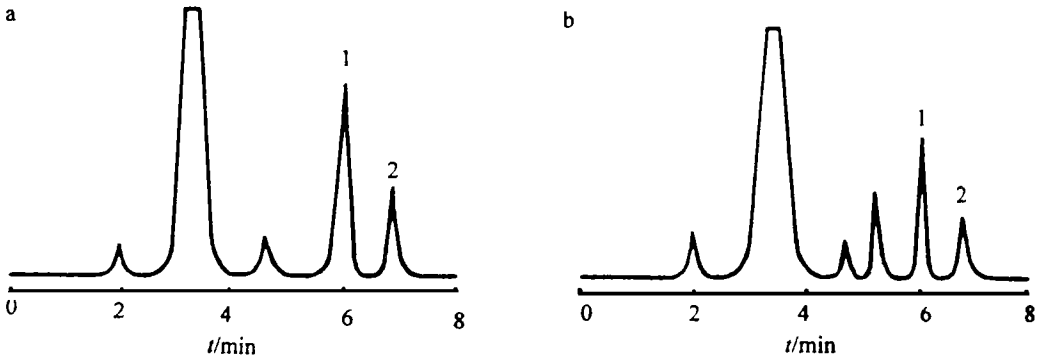


图 1　乳果糖和甘露醇色谱图

a:标准溶液　b:样品　1:甘露醇　2.乳果糖

2.2　乳果糖、甘露醇的回收率

取 6份已测定的样品,分别加入一定量的标准,测得结果见表 1

表 1　乳果糖、甘糖醇的回收率试验

加入量(μg)	乳果糖		甘露醇	
	测得量(μg)	回收率(%)	测得量(μg)	回收率(%)
5	4.93	98.60	4.96	99.2
10	9.57	95.70	10.52	105.2
25	22.16	88.64	23.41	93.64
50	50.95	101.90	48.13	96.26
100	95.87	95.87	98.08	98.08
200	193.28	97.64	195.77	97.88
平均		96.39		98.37

2.3　乳果糖、甘露醇的精密度

取一份样本、日内及日间 6次进样,测得结果见表 2

表 2　乳果糖、甘露醇日内及日间精密度(n= 6)

	测得值	CV% 日内	测得值	CV% 日间
乳果糖	114.12± 4.27	3.74	112.52± 3.95	3.51
甘露醇	30.98± 0.830	2.68	30.24± 0.987	3.26

2.4　最低检测限

根据信噪比 S/N≥ 2,测得乳果糖、甘露醇在尿中最低检测浓度为 0.05 mg/L。

2.5　样本测定

对 5份自愿健康受试者的尿样测定值结果为: L/M 均值为 0.0216　对 45份烧伤病人的尿样检测结果为: L/M 的均值是 0.2791　与文献[3]报道一致。结果显示:烧伤病人尿样的 L/M 值高于正常人,说明患者肠粘膜屏障受损,通透性增高。

3　讨论

3.1　流动相 pH值、有机溶剂的比例及温度对乳果糖、甘露醇色谱行为的影响

调节流动相的 pH值,对乳果糖、甘露醇的洗脱时间、峰形影响很小。有机溶剂的比例增加,能使乳果糖、甘露醇的洗脱时间提前,但不影响出峰顺序。温度对分析影响很大,是因为示差检测器对温度变化非常灵敏。示差检测器分析池的温度比柱温调高 5℃,就能保证柱温与分析池温度一致,从而确保检测结果的准确性,重复性。在文色谱条件下,乳果糖、甘露醇能完全达到基线分离,每样分析的全过程只需 8分 30秒。

3.2　乳果糖、甘露醇的体内代谢

乳果糖、甘露醇具有亲水、亲脂性,在肠道属被动吸收。在正常情况下,不易被肠道吸收,代谢不活泼,在尿中含量很少,等量排出,无毒性,不易被机体免疫系统所识别[6]。在病理情况下,肠粘膜受损,细胞间的紧密连接处破坏、间隙扩大,通透性增加,通过细胞旁通道吸收的乳果糖(L),易于穿过,吸收量明显增加,穿过小肠上皮细胞水溶性微孔吸收的甘露醇(M),其吸收量变化甚微,L与 M的比值增大。L/M比值,可排除胃排空时间,心输出量,肾排出量及尿液收集等误差对检测结果的影响。L/M比值能真实地反映肠粘膜屏障通透性变化情况。

3.3　实验意义

高效液相色谱示差检测法能快速、准确、灵敏地检测人尿中乳果糖、甘露醇的含量。L/M比值能反映肠粘膜通透性的改变。对病人安全、可靠、无毒副作用,在临床可推广应用。

关键词　HPLC;乳果糖;甘露醇

中图法分类号　R975.3

参考文献

1　Augustin O M, Boza J J, Romera J M. A rapid gas-liquid chromatography method for the determination of lactulose and manitol in urine: clinical application in studies of intestinal permeability. Clinical Biochemistry, 1995, 28(4): 401

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

2 Menzies I S, Mount J N, Wheeler M J. Quantitative estimation of clinically important monosaccharides in plasma by rapid thin layer chromatography. Ann Clin Biochem, 1978, 15(1): 65
3 Shippee R L, Johnson A A. Simultaneous determination of lactulose and mannitol in urine of burn patients by gas-liquid chromatography. Clin Chem, 1992, 38(3): 343
4 Kynaston J A, Fleming S C, Laker M F, *et al*. Simultaneous quantification of mannitol, 3-0-methyl glucose, and lactulose in urine by HPLC with pulsed electrochemical detection, for use in studies of intestinal permeability. Clin Chem, 1993, 39(3): 453
5 Miki K, Butter R, Moore D. Rapid and simultaneous quantification of rhamnose, mannitol, and lactulose in urine by HPLC for estimating intestinal permeability in pediatric practice. Clin Chem, 1996, 42(1): 71
6 Willems D, Cadranel S, Jacobs W. Measuremeat of urinary sugars by HPLC in the estimation of intestinal permeability: evaluation in pediatric clinical practice. Clin Chem, 1993, 39(5): 888

(收稿: 1998-04-14;修回: 1998-07-14)
(编辑 仇玉福)

基于 Windows界面的医用红外热图像信息处理软件的设计

Program design of a system for medical infrared thermogram image processing for Windows

颜 杰* 易东 尹全焕 宁竹之** (第三军医大学预防系卫生统计学教研室) 重庆, 400038

提 要 目的: 开发处理医用红外热图像的 Windows软件系统。方法: 用 Microsoft的 Visual C++ 2.0和 MFC基本类库编程。结果: 编制的程序系统采用视窗风格,鼠标,具有温度测量、状态分析、统计处理、信息记录、格式转换等功能。结论: 与原 DOS系统相比,该系统功能更强、操作更简便,具有较高的临床和科研使用价值。

医用红外热像仪系统结合红外热成像和计算机技术,通过测量生物体红外辐射,能够快速灵敏、非接触、非损伤性地提供生物体的整体温度分布信息,是一种公认的实用医学技术。原有的热图软件为 DOS程序,功能和操作都受限制,不能充分利用热图摄取的有用信息,降低了热图实际应用价值。为此,我们采用先进的图像处理技术和医学统计方法,设计开发了 For Windows的医用红外热图信息处理系统。

1 图像和方法

1.1 图像的采集

系统处理对象是红外热像仪摄下的热图文件,帧象素容量为 256×256×8bits,色彩为 256级伪彩色。图像文件的位图数据为颜色值(0~255),实际反映的是相应温度信息。

1.2 方法

系统为使用 Visual C++ 和 MFC编制的 Windows应用程序。硬件环境为 80386以上的微机;软件环境为 Windows 3.1以上及 Visual C++ 2.0。

2 系统功能和实现方法

设计时依照 Windows程序风格,采用菜单选择和工具条快捷按纽,并动态提示有关信息,全部信息汉化。主要实现:

2.1 图像的显示

系统设计为同时支持 BMP格式和原热图格式两种操作。为直观展示热图,设计建立一个标准的 Windows滚动视窗显示图像,并显示颜色条,标明温度上下限值,以直观反映颜色和温度对应关系。设计可同时建立多个视窗。系统还设计了窗口新开、平铺和重叠功能,便于使用者进行图像间的相互比较。

2.2 格式的转换

为便于热图的传输应用,设计格式转换功能。转换后的热图可用 Windows的其他图像软件查看,摆脱必须使用热图软件查看的限制,极大方便了热图的交流推广。还可利用这些软件特殊处理画面,增强了热图的可使用性。

2.3 信息的记录

为了记录对图像的分析信息,设计了标记功能,分文字和图形两种。其中,文字标记主要供使用者记录有关病情分析及处理意见等文字性信息,允许作任意多个;图形标记则解决记录病变或特定部位以作进一步分析的问题。

标记设计为随图存储,可删除和修改。

2.4 温度的测量和统计

为准确测定图像上的温度值,设计了温度测量功能。由鼠

* 颜 杰,女, 28岁,助教,硕士
** 劳动卫生学教研室

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