视疗效好,基本治愈率 52.4%,屈光参差和斜视性弱视疗效差。屈光不正性弱视由于配戴了适合的眼镜,使外界景物在视网膜上清晰结像,再加上 CAM疗法适当的视性刺激,使得治愈疗程大大缩短。而屈光参差性弱视,屈光参差虽经屈光矫正,视力仍差。双眼竞争机制的结果,使得视力较差眼的像被脑皮层中枢主动抑制,造成成像模糊。不清晰的成像,使得屈光度高的弱视眼仍不能获得足够的刺激。斜视性弱视由于眼位不正,故作用不大。屈光状态为不同性质散光,其疗效差异显著,尤其近视性散光疗效极差,但因病例少,有待进一步观察。与其它治疗方法相比,本法对轻度弱视、中心注视、屈光度为中、轻度和年龄小者疗效好。小龄组基本治愈率 47.1%,大龄组基本治愈率为 15%。两组间差异显著。为避免误差,对两个年龄组做了可比性分析,均无显著差异。提示同等条件下对比,小龄组疗效更好。小龄组疗效好,可能由于患儿正处于视觉发育敏感期的可塑性阶段,在 CAM疗法的刺激作用下,可对外膝体轴突与视皮层神经元树突形成的突触产生一系列的分子生物学的变化,而有效地修饰突触,使突触稳定下来,迅速达到治愈。而大龄组患儿由于视觉敏感期已趋于成熟或已成熟,则在这一过程中产生的变化较小,所需时间较长。本疗法对某些类型弱视不失为一个好方法,方便实用,疗效可靠可选择适应证进行治疗。

关键词 弱视/治疗;视刺激
中图法分类号 R777.44

参考文献

1 郭静秋.弱视的治疗原则及注意事项.中华眼科杂志, 1996; 32(4): 316
2 Campbell F W, Hess R F, Waton P G *et al*. Preliminary results of a physiologically based treatment of amblyopia. Br J Ophthalmol, 1978; 62(6): 748
3 中华医学会眼科学会全国儿童弱视斜视防治学组.诊断标准.中华眼科杂志, 1990; 26(2): 127

(收稿: 1996-11-20;修回: 1997-03-21)
(编辑 张大春)

HPLC紫外检测法测定血中丙酮

High-performance liquid chromatographic analysis of acetone in blood using UV detection

张惠静* 任建敏 张世德 牟绍洪 李 文 (第三军医大学检验系分析化学教研室)重庆, 630038

提 要 目的: 建立高效液相色谱法(HPLC)分离分析血中丙酮。方法: 血样经乙腈除蛋白, 2,4-二硝基苯肼(DNPH)衍生,采用反相 C_{18}柱为固定相,乙腈-水(55:45)为流动相, 365 nm为检测波长,直接分离、测定血酮。结果: 方法平均回收率为 99.4%,月内、日间变异系数分别为 4.9%和 6.4%, 2倍信噪比下,最低检出浓度为 0.045 mmol/L。结论: 血中丙酮经 HPLC直接分离测定,不存在干扰,所建方法快速、灵敏、准确。

酮体(乙酰乙酸、β-羟基丁酸、丙酮)是肝脏的正常中间代谢产物,是重症糖尿病、高脂低糖膳食、酗酒、妊娠、甲状腺中毒症等的重要检查。近年来,对于酮体中丙酮的代谢又重新引起了人们的重视[1,2]。因此,在临床诊断过程中,需要建立一种快速、灵敏而不存在干扰的方法来检测它。

过去对丙酮的测定常采用化学法、酶法和气相色谱法(GC)等分析方法。方法复杂,分析时间长,选择性较低,不适合常规检测[1-3]。近年来随着高效液相色谱法(HPLC)的广泛应用,国外已有用 HPLC分析丙酮的文献报道,而国内尚未见报道。本研究在参考国外文献的基础上,结合本室实际,建立了反相 HPLC分离分析丙酮的方法。所建方法灵敏、快速、选择性高,克服了以往分析方法的不足。

* 张惠静,女, 33岁,讲师,硕士

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

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

美国 BECKMAN黄金系列高效液相色谱仪,配 167紫外检测器, 210A进样阀, AST386微处理机, EPSON LX-800打印机。

丙酮、2.4-二硝基苯肼(DNPH)、盐酸、乙腈、氢氧化钠等试剂均为分析纯。

1.2 溶液配制

1.2.1 DNPH衍生液(0.0126 mol/L)　称取 0.1250 g DNPH,溶于 50 ml盐酸-水(40∶60 V/V)溶液中,水浴 60℃, 20 min。

1.2.2 丙酮-DNPH衍生物溶液　将 10%丙酮溶液与 DNPH衍生液(75∶25 V/V)混合,其结晶物通过离心(2000 r/min, 15 min)分离,过滤,用去离子水冲洗两次,并用乙醇重结晶[1]。结晶物溶于乙腈中,进入色谱柱,以确定丙酮-DNPH衍生物的保留时间。

1.3 样本收集与处理

取糖尿病人和正常人全血 1.5 ml,肝素抗凝,立即以 1500 r/min于 4℃离心 5 min,收集血浆分析或贮于 -20℃。

1.4 衍生

取 200μl血浆于 1.5 ml离心试管中,加入 200μl乙腈,盖紧盖子后,混旋 1 min, 1500 r/min离心 5 min。取 200μl上清液转移至另一试管,加入 40μl DNPH衍生液,混旋 5 min,用 6 mol/L NaOH中和至 pH3.0, 20μl溶液即可进入色谱柱。

1.5 色谱条件

色谱柱: 10μ 4.6 mm×25 cm ODS柱;流动相:乙腈:水=55∶45(V/V);流速: 1.0 ml/min;检测波长: 365 nm。

2 结果

2.1 色谱分离图

分别对正常人血浆和糖尿病人血浆进行色谱分离,结果发现:通过本实验室合成的丙酮-DNPH衍生物的乙腈溶液可确定其保留时间为(11.78±0.15) min。血样中丙酮的分离测定无明显的杂质干扰。

2.2 工作曲线

取丙酮标准液分别加入到正常人血浆中,其最终浓度分别为 0.1103、0.2206、0.4412、0.8824、1.7648、3.5296 mmol/L。经衍生后在选定的色谱条件下测定峰面积,以标准液峰面积减空白液峰面积对浓度作回归方程计算。回归方程为:

$$Y = 0.1684X + 0.0485 \qquad r = 0.9971$$

2.3 重现性和回收率

取血浆样品,衍生处理后,一天内进样 10次,以确定日内变异;上述处理后的样品,保存于 -20℃,测定时 4℃解冻,每天测定一次,连续测定 5 d,以确定日间变异,结果见表 1。

表 1 重现性实验

	日内 (n= 10)		日间 (n= 5)	
	$\bar{x}\pm s$ (mmol·L^{-1})	RSD(%)	$\bar{x}\pm s$ (mmol·L^{-1})	RSD(%)
样 1	0.4164±0.018	4.3	0.4087±0.023	5.6
样 2	0.2013±0.011	5.5	0.1968±0.014	7.1
平均		4.9		6.4

于正常人血浆中加入已知量的丙酮,衍生处理后,测定回收率,结果见表 2。

表 2 回收率实验

标准浓度 (mmol·L^{-1})	实测值 (mmol·L^{-1})	回收率 (%)
0.1103	0.1128	102.3
0.4412	0.4297	97.4
1.7648	1.7401	98.6
平均		99.4

2.4 最低检出浓度

在二倍信噪比下,血浆的最低检出浓度为 0.045 mmol/L。

2.5 样品测定

采用本法分别对正常人(n= 10)和Ⅰ型糖尿病人(n= 10)的血浆样品进行分析,正常人的丙酮浓度范围为(0.045~0.1320) mmol/L,平均值为 0.0856 mmol/L;病人组的浓度范围为(0.0612~0.4076) mmol/L,平均值为 0.1318 mmol/L,其中,一例为酮症酸中毒者血样,其丙酮值为 0.4076 mmol/L,高出其它病人平均值 4倍左右。上述丙酮范围与 Jones等[2]采用气相色谱法测定的范围无明显差异。

3 讨论

本研究利用氧化酶法同时对同组正常人和病人的血糖浓度进行了测定,其平均值分别为 4.16 mmol/L和 11.85 mmol/L。显然,随着血糖的升高,血中丙酮也有升高。因此,本研究所建立的 HPLC测定血酮的方法对于临床诊断Ⅰ型糖尿病具有一定的指导意义。

丙酮是一种不稳定的物质(b.p.: 56.2℃),本研究对于收集的血样,采用乙腈除蛋白, DNPH衍生,然后直接进样分析,避免了丙酮的挥发,省去了溶剂提取步骤,使样品的处理简便、迅速,利于临床常规检测。同时,选用 HPLC分离测定,共存的羟基丙酮,乙酰乙酸以及血浆中其它杂质与丙酮相分离,消除了干扰,使测定结果更加准确。

关键词　高效液相色谱法;血浆;丙酮

中图法分类号　R446

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

参考文献

1 Brega A, Villa P, Quadrini G *et al*. High-performance liquid chromatographic determination of acetone in blood. Journal of chromatography, 1991; 553(1~2): 249

2 Jones A W, Sagarday A, Ericsson E *et al*. Concentrations of acetone in venous blood samples from drunk drives, type-I diabetic outpatients and healthy blood donors. Journal of Analytical Toxicology, 1993; 17(3): 182

3 Victor C, Gavino, Vinet B, David F *et al*. Determination of the concentration and specific activity of acetone in biological fluids. Analytical Biochemistry, 1986; 152(2): 256

4 Gerald A. C, Debasis B, Nilanjana M *et al*. High-performance liguid chromatographic method for the simultaneous detection of malonaldehyde, acetaldehyde, formaldehyde, acetone and propionaldehyde to monitor the oxidative stress in heart. Journal of Chromatography A, 1994; 661(1~2): 181

5 李文静,俞茂华,朱禧星等.酶荧光法测定血中β羟基丁酸与乙酰乙酸.上海医科大学学报, 1990; 17(5): 341

(收稿: 1996-10-25;修回: 1997-02-21)

(编辑 张大春)

经颅多普勒超声对创伤性脑损伤急性期血流动力学变化的评价*

Assessment on early stage changes of cerebral hemodynamics following traumatic brain injury using transcranial doppler

黄其林** 张可成 刘立杰*** (第三军医大学附属新桥医院神经外科) 重庆, 630037

提 要 目的:探讨脑损伤急性期血流动力学变化与损伤程度的关系,并对 TCD仪检测的脑血流动力学改变作出评价。方法:应用 TCD仪检测脑损伤后猫大脑中动脉收缩峰血流速度(Vs),舒张期末血流速度(Vd)及平均血流速度(Vm)变化,计算搏动指数(PI)、阻力系数(PI)和收缩峰/舒张期末血流速度比值(S/D)。结果:脑损伤早期 Vs Vd增快,6 h后达高峰,此后 Vs Vd逐渐减慢,重度脑损伤组伤后 24 h Vd甚至消失为 0,呈间断血流波形 PI RI及 S/D值进行性升高,24 h后,其变化值显著高于伤前($P < 0.05$)。结论:脑损伤早期血流动力学即有明显变化,TCD仪能较好地反映脑血流动力学变化,根据 TCD检查结果可以对脑损伤后脑血流学变化作出判断。

本研究报告应用经颅多普勒(TCD)超声仪检测不同程度创伤性脑损伤后急性期猫大脑中动脉(MCA)的频谱形态、血流速度、管壁弹性及血管阻力等的变化,探讨脑损伤急性期血流动力学变化与脑损伤程度的关系,并对 TCD仪检测的脑血流动力学改变作出评价。

1 材料与方法

1.1 动物及分组

健康杂种猫 33只,体重 2.5 kg~3.2 kg,雌雄不拘,随机分成中度脑损伤组(打击力量 1250 g/cm)、重度脑损伤组(打击力量 2000 g/cm)和对照组,每组 11只动物。

1.2 脑损伤模型制作

采用动物保定剂(为肌松、镇静药,0.2 ml/kg体重)肌注麻醉后,常规气管切开插管,自主呼吸,右股动、静脉插管,动脉接二道生理记录仪监测血压,并采血作血气分析,静脉输液,维持血压(16.00±1.33) kPa,血气: P_{O_2}: (12.00±0.67) kPa, P_{CO_2}: (4.67±0.67) kPa 将动物固定在立体定位架上,右顶部钻孔开颅,骨孔直径 10 mm,保持硬脑膜完整;改良 Feeney's法,用落体造成右顶部不同程度局限性脑挫裂伤(打击力量分别为 1250 g/cm和 2000g/cm),牙科水泥封闭骨孔,缝合头皮。对照组除不致伤外,余与创伤组同。

1.3 MCA血流动力学检测

采用 TCD仪(美国 MEDASONICS公司产品)检测 MCA血流动力学。将 TCD仪探头置于猫颧弓上方、耳廓前缘的颞

* 全军"八五"攻关项目

** 黄其林,男,36岁,主治医师,博士

*** 新桥医院神经内科

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