DOI:10.16016/j.1000-5404.1989.01.017

讨 论

房颤对血流动力学的不利影响常随病员心脏病性质、有无心力衰竭、心室速率快慢、房颤持续时间及服药状态而异，长期房颤患者由于心室作功效率降低，冠状动脉血流量减少，心肌缺血缺氧，易于发生心力衰竭，部分房颤病员可无自觉症状，这可能是通过外周循环神经调节机制使实测HR接近或达到最大CO时之最佳HR。但病员代偿调节有一定限度，若房颤长期存在或复合其它因素，势必加重血流动力学障碍。本文实测HR比最佳HR高20.14%，而实测SV和CO则比导数演算最佳SV，最大CO分别低35%，8.9%。显然，如能进一步积极治疗，将房颤病人HR控制达最佳状态，这样既可提高SV和CO，又能减少心肌耗氧量，增强泵效应。这对缓解房颤对血流动力学的不利影响具有一定的实际意义。

参 考 文 献

1. Chung EK. Principles of Cardiac Arrhythmias. Williams & Wilkins Inc Baltimore 1977:152～175
2. Kubicek NG, et al. Development and evaluation of an impedance cardiac output system. Aerospace Med 1966; 37:1208
3. Tavel ME, et al. Left ventricular ejection in atrial fibrillation. Circulation 1972; 46:744

(收稿：1987.10.16；修回：1988.8.17)

氨基酸分析仪快速测定尿中3-甲基组氨酸含量

周成贵 孙 玮 崔应瑞 董燕麟* （中心实验室）
陈东升 杨家驹 （卫防系 军队卫生学教研室）

目前尿中3-methylhistidine (3-MH)含量的测定方法，主要是采用高效液相色谱法和化学比色法测定[1][4]。但以上两种方法在不同程度上仍存在某些缺陷，前者虽然分析时间短，但分析效果差，且柱前衍生操作繁杂。后者对样品预处理要求较高，测定易受外界条件影响，结果不够稳定。本文采用氨基酸分析仪在原程序的基础上加以改进，使分析时间由过去的210min缩短到56min。且分析结果的回收率、重复性、分离度均达到了较高的精度。比较国外报告的用其它方法所得的结果，有良好的相关性。同时大大地缩短了分析时间，节省了大量试剂。为大批量、准确地测定尿中3-MH含量提供了有效的分析测定方法。

* 生化教研室

材 料 和 方 法

一、仪器

采用贝克曼 (Beckman) 公司生产的121MB型氨基酸分析仪，按照单锂柱生理体液方法进行分析。脱色柱 Sep-pak C_{18} 柱（日本Waters公司生产）。

二、试剂

茚三酮试剂，pH3.75缓冲液，pH4.35缓冲液，甲醇试剂，标准混合氨基酸，标准3-MH。

三、样品收集与处理

Wistar大鼠（150～180g）饲养于代谢笼，连续收集5天尿液于加有0.1%石碳酸液1ml置三角瓶中，然后将尿量稀释至200ml。取50ml以3000r/min离心10min，取10ml上清液，室温下通入氮气10min，加等体积12N HCl溶液。密封后置110℃烤箱中水解20h，将水解后的样品倒入蒸发皿中，置沸水浴上蒸干。加重蒸馏水1ml，重复2次，最后

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

用1ml pH2.20 锂盐缓冲液冲洗蒸发皿2次，以3500r/min离心 15min，再经Sep-pak C_{18}柱脱色样品后上机分析。

四、程序改进方法

我们将原程序的第5步从27分减至26分。第6步从62分减至0.1分，第7步从75分减至0.1分。第10步由4分缩短到0.1分，全部分析均采用pH3.7[5]的锂盐缓冲液洗脱。

五、分析条件及结果计算

1. 柱高度 200mm，缓冲液流速 10ml/h，茚三酮流速5ml/h，柱温67℃，波长570nm。

2. 以126数据处理机打印出的标准积分面积为准，计算出未知样品的浓度。

$$\text{样品浓度(nmol/ml)} \frac{\text{样品面积}\times\text{标准浓度}}{\text{标准面积}}$$

×稀释倍数÷尿量（ml），计算出尿中3-MH含量。

结果和讨论

图1、2、3、4，分别表示标准Ⅰ、Ⅱ和样品在原程序和短程序分析的氨基酸图谱，从图1中可以看出，原程序3-MH在215 min出峰，图2、3、4采用短程序只需要56min即可出峰。由于改进以后的程序只需要pH3.75的缓冲液作为洗脱剂，使酸性、中性氨基酸快速洗脱下来。主要原因是由于氨基酸分子结构上的氨基减少，所带正电荷少，在高pH缓冲液条件下，正电荷进一步减少，与树脂结合不牢固，而碱性氨基酸相对氨基数目较多，与树脂结合相对要紧一些，故酸性、中性氨基酸提前被洗脱下来[3][4]。

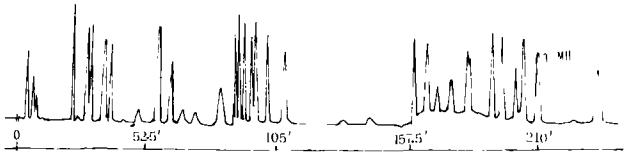


图1 标准Ⅰ原程序分析混合氨基酸标准图谱

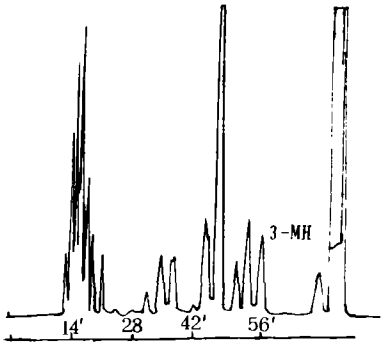


图2 标准Ⅱ短程序分析混合氨基酸图谱

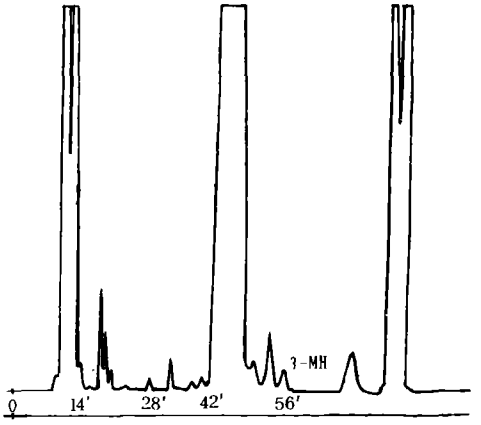


图3 短程序分析样品氨基酸图谱

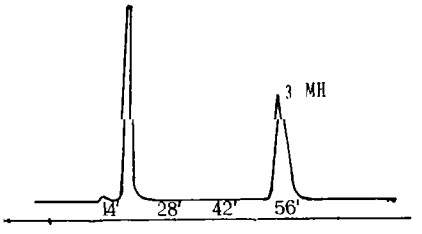


图4： 短程序分析单个3-MH图谱

表1示：根据标准（Ⅰ、Ⅱ）所计算的样品在用原程序和短程序分析3-MH时的含量、回收率、重复性（以变异系数表示）平均值。结果表明，短程序对3-MH测定影响

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

表1 两种控制程序测定结果和分离效果参数（$\bar{X}\pm SD$ n = 6）

项目	原程序		短程序	
	标准Ⅰ	标准Ⅱ	标准Ⅰ	标准Ⅱ
含量(μmol/5天)	5.40±0.27	5.71±0.11	5.43±0.22	5.12±0.19
回收率（%）	97.5±2.20	98.2±3.70	95.4±2.40	97.7±4.00
变异系数（%）	1.92±0.55	1.75±0.31	2.32±0.33	2.10±0.47
分离度	0.91±0.09	0.89±0.05	0.86±0.12	0.87±0.20

$P>0.05$

较小，多次测定的变异系数均在3%以内，回收率在95%以上，和原程序测定的结果非常接近（$P>0.05$）。短程序对3-MH的分离度稍低于原程序，这可能是由于省去了原程序前两个缓冲液的关系，使氨基酸在通过离子交换柱时连续吸着和解吸的原因所引起。但对分析结果并无明显影响，标准Ⅱ是由40种氨基酸组成的混合型氨基酸标准，专项进口，价格昂贵。我们采用自配的单个3-MH标准，分析结果显示，用此种标准分析所得的结果是准确可靠的。

Omsted，等[5]使用pH4.20和pH6.05的柠檬酸缓冲液作为流动相，据报道3-MH在42min被洗脱出来。但柱平衡时间较长，完成一个周期需90min，我们比较了pH3.75和4.35分离3-MH的效果（表2示）。结果表明pH4.35的缓冲液虽然能缩短3-MH的出峰时间，但分离度有所降低。变异系数有上升的趋势。所以采用pH3.75的缓冲液作为尿中3-MH的洗脱剂较pH4.20—4.35的缓冲液洗脱效果要好。

表2 不同pH值对短程序分析的影响（$\bar{X}\pm SD$ n = 6）

项目	pH3.75	pH4.35
分离时间(min)	56.0±2.5	57.8±1.80
分离度	0.87±0.20	0.85±0.13
回收率	97.7±4.00	96.5±3.3
变异系数	2.10±0.47	2.74±0.53

随着氨基酸分析技术的广泛应用[6]及方法学的不断改进，我们改进和建立了5-MH的分析程序，既能够大大缩短分析时间，又节省了大量试剂，且具有较高的稳定性和重现性。开展这方面的工作，将有益提高3-MH的有效分析方法和为提高对蛋白质代谢和蛋白质营养方面的研究水平。

参考文献

1. Qureshi GA, et al. Determination of histidine and 3-methylhistidine in physiological fluids by HPLC. J Chrom 1984; 297:83
2. Radha E and Bessman SP. A rapid colorimetric mothod for 3-methlhistidine in Urine. Anal Biochem 1982; 121:170
3. 周立东，等。《大型精密仪器专业学习班讲义—氨基酸分析仪器和方法》。广东省科委条件处印。1983
4. 沈仁权，等。基础生物化学。上海科学出版社，1980
5. Omsted PT, et al. Effect of dietary protein on urinary excretion of 3-methylhistidine in rat. J Nutr 1978; 108:1877
6. 周成贵，等。氨基酸分析技术在结缔组织疾病研究中的应用。1987；(9)；4:401

（收稿：1987.12.15；修回：1988.9.17）

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