

大鼠血、肝匀浆及亚细胞组分生化参数值的报告

叶建新 李秋娟 宋淑云 马秀兰

(大连医科大学 大连 116027)

摘要 本文报道正常成年大鼠血、肝匀浆及亚细胞组分(线粒体和微粒体)的部分生化参数值,包括血液中谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性,红细胞超氧化物歧化酶(SOD)活性,血清铜兰蛋白(Ceruloplasmin)及丙二醛(MDA)含量;肝匀浆中丙二醛,还原型谷胱甘肽(GSH)、氧化型谷胱甘肽(GSSG)含量及脂肪酸的百分构成;线粒体中Ca-Mg-ATP酶活性,微粒体中细胞色素P₄₅₀含量及线粒体和微粒体膜脂流动性的测定。

关键词 大鼠血 肝匀浆 亚细胞组分 谷胱甘肽过氧化物酶 膜脂流动性超氧化物歧化酶等 生化参数

大鼠是我国目前使用最广泛的实验动物,其血、肝匀浆及细胞组分的生化参数对于实验动物学、药效学及卫生毒理学的研究提供了一定的科学依据,而且有些参数国内外尚未见报道,现将我们从1988-1990年间所测得大鼠部分生化参数值报告如下。

1 材料和方法

1.1 实验动物与标本收集 动物:实验动物系本校实验动物中心提供的健康Sprague-Dawley

收稿日期:1994-11-14,修回日期:1995-04-05

大鼠, 体重 214 - 215g, 每组 6 - 10 只; 标准收集: 断头处死动物, 收集血样, 剖腹取肝脏并称重, 分别制备血清、肝匀浆及亚细胞组分; 肝匀浆及亚细胞组分的制备: 称取一定量肝, 用冰冷的 0.15mol/L KCl 至 0.1Mol/L Tris-HCl 缓冲液 (pH7.4), 制备 14% 匀浆, 采用差速离心, 取得线粒体部分; 用钙沉淀法制备微粒体^[1]。

1.2 检测项目及方法 (1) 全血谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性测定, 用 DTNB 直接法^[2]; (2) 红细胞超氧化物歧化酶 (SOD) 活性测定, 用邻苯三酚自氧化法^[3]; (3) 血清铜兰蛋白 (Ceruloplasmin) 含量测定, 用氧化对苯二胺法^[4]; (4) 血清、肝匀浆及线粒体和微粒体膜脂质过氧化物二醛 (MDA) 含量的测定, 用硫代巴比妥酸反应法^[5-7]; (5) 肝匀浆中还原型谷胱甘肽 (GSH) 和氧化型谷胱甘肽 (GSSG) 含量的

测定, 用荧光法^[8]; (6) 肝匀浆脂肪酸构成的分析, 经氯仿-甲醇-盐酸混合液 (2:1:0.02) 提取肝匀浆脂质^[9], 然后用甲醇-氢氧化钾室温甲酯化, 气相色谱法分析脂肪酸组成; (7) 线粒体中 Ca-Mg-ATP 酶活性的测定, 用孔雀绿比色法^[10]; (8) 微粒体中细胞色素 P₄₅₀ 含量的测定, 用 CO 差光谱法^[11]; (9) 线粒体和微粒体膜脂流动性的测定, 以荧光探针 1.6-二苯基-1.3.5 已三烯 (DPH) 标记线粒体和微粒体膜脂区, 应用荧光偏振技术测定偏振荧光分量, 计算荧光偏振度 (P), 膜脂微粒度 ($\bar{\eta}$)^[12-16]。

2 结果与讨论

各项检测数值, 经统计学处理求出平均值 (\bar{X}) 和标准差 (SD) 及正常值范围 ($\bar{X} \pm 1.96SD$), 其结果 (见表 1-3)。

表 1 健康成年 SD 大鼠血 4 项参数值

测定项目 (单位)	动物数 (只)	性别	$\bar{X} \pm SD$ (变动范围)	$\bar{X} \pm SD$ (国内外文献的数值)
GSH-Px (nmol/min. mg. Hb)	6	♂	32.73 ± 2.13 (28.47 - 36.99)	20.82 ± 3.28 ^[13] 41 ± 3 ^[14]
SOD (u/g Hb)	6	♂	2201 ± 479 (1243 - 3159)	1120 ± 76 ^[14] 2055 ± 98 ^[15]
Ceruloplasmin (ng/dl)	6	♂	28.88 ± 6.98 (14.92 - 42.84)	575 ± 178 ^[16]
MDA (nmol/L)	10	♂	6.04 ± 1.7 2.64 - 9.44)	3.67 ± 0.63 ^[13] 2.95 (0.51) ^[17]

表 2 健康成年 SD 大鼠肝匀浆 4 项参数值

测定项目 (单位)	动物数 (只)	性别	$\bar{X} \pm SD$ (变动范围)	$\bar{X} \pm SD$ (国内外文献的数值)
MDA (nmol/mg 蛋白)	6	♂	14.5 ± 1.1 (12.3 - 16.7)	1.94 ± 0.3 ^[18]
GSH (μg/100g 体重, 肝中)	9	♂	9486 ± 703 (8080 - 10892)	115.2 ± 13.2 ^[18]
GSSG (μg/100g 体重, 肝中)	9	♂	1485 ± 205 (1075 - 1895)	
脂肪酸 (%)	6	♂		
C16:0			29.3	
C18:0			16.7	
C16:1			23.4	
C18:2			19.4	
C22:6			12.7	

表3 健康成年SD大鼠肝脏亚细胞组分4项参数值

测定项目 (单位)	动物数 (只)	性别	线粒体 $\bar{X} \pm SD$ (变动范围)	微粒体 $\bar{X} \pm SD$ (变动范围)	$\bar{X} \pm SD$ (国内外文献的数值)
MPO (nmol/mg 蛋白)	5	♀	14.5 ± 9.0 (0 - 32.5)	21.0 ± 1.0 (19.0 - 23.0)	5.82 ± 0.73 ^[19]
γ-Mg-ATP 酶 (u/mg 蛋白)	8	♂	3546 ± 550 (2446 - 4646)	0.164 ± 0.01	3.56 μmol/L ^[20]
荧光偏振度(P)	6	♂	0.144 ± 0.184 (0.144 - 0.184)	0.133 ± 0.201 (0.133 - 0.201)	
磷脂微粘度($\bar{\eta}$) (Pa·s)	6	♂	1.110 ± 0.114 (0.882 - 1.338)	1.152 ± 0.18 (0.792 - 1.512)	

从表1至表3所列出的参数值,对于实验动物学、药效学及卫生毒理学的科学研究具有一定的实用价值。但正常实验动物的各项检测数据虽然有其一定的稳定数值,不过只是相对而言。影响各项检测值的因素较多,常因动物品种、年龄、性别及营养状况、实验条件、操作技术以至所用的测定单位等不同,其数据则随之变化,因而差异可能很大。本文只得将部分国内外文献中所能取得的有关数据列在自己所测数据之后,以供对照。又因这些都是新的指标,统一方法目前尚未建立,本文采纳了国内外最常用的方法,项目既多,方法又较复杂,例数也很有限,误差在所难免,于是,所报道的参数值仅供参考。

致谢 本文经张富勤教授审阅,谨此致谢。

参 考 文 献

- 1 肖功华. 钙沉淀剂制备微粒体. 国外医学(卫生学分册), 1981, 8(5): 273.
- 2 夏来明, 朱莲珍. 血和组织中谷胱甘肽过氧化物酶活力的测定方法: DTNB 直接法. 卫生研究, 1987, 16(4): 29.
- 3 丁克祥, 钟水先, 姚树人. 微量指血 SOD 快速测定方法的研究. 老年学杂志, 1987, 7(2): 42.
- 4 湖南医科大学附属医院检验科. 血清铜兰蛋白测定方法. 临床生化检验, 1981, 278 - 279.
- 5 马旋, 仲来福. 血脂与血清过氧化脂质产物间的调查研究. 大连医学院学报, 1989, 11: 40.
- 6 周得, 方允中. 人血清和动物组织中脂类过氧化值变化与衰老的关系. 解放军医学杂志, 1985, 10: 417.
- 7 Buege, J. A. and S. D. Aust. Microsomal lipid peroxidation. In: Feicher S, Packer L, eds. Methods in enzymology. New York: Academic Press, 1987. 52: 302 - 310.
- 8 Hissin, P. J. and R. Hill. Anal. Biochem., 1976, 74: 214.
- 9 Landon, E. J., P. K. J. Jaiswal and R. J. Naukari, et al. Effects of calcium channel blocking agents on membrane microviscosity and calcium in the liver of the carbon tetrachloride treated rat. Biochem. pharmacol., 1984, 33: 3553.
- 10 徐友涵. 一种简便、灵敏的 ATPase 活性测定方法. 生物化学与生物物理进展, 1986, (4): 64.
- 11 Shinitzky, Y. M. and Y. Bareholz. Fluidity parameters of lipid regions determined by fluorescence polarization. Biochem. Biophys. Acta, 1987, 515: 369.
- 12 Omura, T. and R. Sato. The carbon monoxide bonding pigment of liver microsome. I. Evidence for its hemoprotein nature. J. Biol. Chem., 1964, 239: 2370.
- 13 苏雅, 马明月, 李宏军. 硒对镉所致大鼠脂质过氧化作用的影响. 卫生毒理学杂志, 1995, 9(3): 180.
- 14 McIntosh, M. K. and A. H. Goldfarb. Vitamin E alters hepatic antioxidant enzymes in rats treated with dehydroepiandrosterone (DHEA)^{1, 2}. J. Nutr., 1993, 123: 216 - 224.
- 15 丁克祥. SOD 应用研究集. 北京: 原子能出版社, 1991. 163.
- 16 陈国生, 呼荣珍, 李玉虎等. 三氧化二钴亚慢性吸入毒性研究. 卫生毒理学杂志, 1990, 4(1): 27.
- 17 顾依平, 郭绪益, 沈伽弟等. 吸入双光气对大鼠肺灌洗液和血浆指标影响的研究. 卫生毒理学杂志, 1994, 8(1): 28.
- 18 赖玉榕, 周炯亮. 锌和硒对 CCl₄ 肝损害保护作用的实验研究. 卫生毒理学杂志, 1995, 9(2): 80 - 83.
- 19 李林, 周金黄, 邢善田等. 胸腺因子 D 对老年大鼠肝微粒体、线粒体钙离子转运的影响. 中国药理学与毒理学杂志, 1992, 6(3): 224.
- 20 唐伟峰, 黄安辉, 王翔朴. 肝细胞内镉的吸收及其对钙稳态之影响. 卫生毒理学杂志, 1992, 6(2): 132.