

外源性 CNT 对³H-甘油在哈白兔体内的示踪动力学研究

刘永峰, 咎林森, 刘登科, 刘 扬

(西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨凌 712100)

【摘 要】 【目的】研究甘油在动物体内的分布及代谢规律。【方法】以哈白兔为试验动物,利用同位素示踪法研究了³H-标记的甘油(³H-Glycerol)在动物体内的分布、转运与代谢规律,建立了其示踪动力学模型。【结果】皮下注射³H-Glycerol 95 h 后,其主要分布于肾脏、肠及脂肪中,且表现为:肾>肠>脂肪>肝脏>脑>膀胱>胃>肌肉>心脏>生殖器>肺脏>脾脏。【结论】甘油在哈白兔体内的代谢具有其独特的示踪动力学方程,外源性 CNT 对甘油在哈白兔血液中的代谢及在组织和器官中的分布均有明显影响。

【关键词】 ³H-甘油;哈白兔;示踪动力学;环核苷酸

【中图分类号】 S124+.2; Q591.5

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2008)01-0066-07

Research on the trace kinetics of ³H-Glycerol in Haerbin white rabbits by exogenous CNT

LIU Yong-feng, ZAN Lin-sen, LIU Deng-ke, LIU Yang

(College of Animal Science and Technology, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】 The research is to study the distribution features and metabolic law of Glycerol. 【Method】 The distribution features, transfer features and metabolic law of ³H-Glycerol have been studied with Haerbin white rabbits as test animal by using trace kinetics and radioimmunoassay and other techniques. 【Result】 The result of trace kinetics indicated that ³H-Glycerol was accumulated mainly in kidney, intestine and fat after the hypodermic with the ³H-Glycerol for 95 h. The distribution of ³H-Glycerol in tissues of the beef rabbit in descendent order was: kidney>intestine>fat>liver>brain>bladder>stomach>muscle>heart>genitalia>lung>spleen. 【Conclusion】 Which showed that metabolic of Glycerol took on the particular trace kinetics equation and that exogenous CNT all had obvious influence on Glycerol's metabolic activities in the blood and its distribution in tissue or apparatus in Haerbin White Rabbits.

Key words: ³H-Glycerol; Haerbin white rabbits; trace kinetics; CNT

环核苷酸(Cyclic Nucleotides, CNT)是一类广泛存在于生物体内的没有特异性的低分子物质,对生命活动或物质代谢具有非常重要的调节作用,包括环腺苷酸(Cyclic Adenosine Monophosphate; 3', 5'-Cyclic AMP; cAMP)和环鸟苷酸(Cyclic

Guanosine Monophosphate; 3', 5'-Cyclic GMP; cGMP)等。自 1957 年和 1963 年发现并分离出 cAMP 和 cGMP 及 1968 年提出第二信使学说(Second Messenger)以来,世界各国的研究人员对 CNT 作了大量研究,结果表明, CNT 在很多领域中起着

* 【收稿日期】 2006-11-23

【基金项目】 霍英东教育基金资助项目

【作者简介】 刘永峰(1981—),男,陕西户县人,在读硕士,主要从事动物遗传育种与繁殖研究。E-mail: yongfeng200@yahoo.com.cn

【通讯作者】 咎林森(1963—),男,陕西扶风人,教授,博士生导师,主要从事动物生殖生理调控研究。E-mail: zanls@yahoo.com.cn

重要的作用,其调节和控制着细胞的生长和繁殖,与多种生理生化活动和代谢有关^[1-3]。放射性标记物与化学形式相同的内源性物质,在体内有相同的代谢规律,可以揭示体内物质的吸收、分布、转化、代谢和排出的动态变化规律,进而达到揭示机体生理、生化和药理动态特征。目前,国内外尚无运用同位素放射方法研究 CNT 对甘油在动物体内代谢规律影响的报道,因此,本试验采用同位素示踪技术,运用房室分析经典理论方法,研究了³H 标记甘油(^[2-³H]Glycerol)在兔体内的分布及代谢规律,以期探讨甘油在动物体内的生物转化过程,为控制动物脂肪代谢提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物及饲养

从陕西杨凌五泉镇一兔场选购 24 只体重相近((1 500±200) g)的 2~3 月龄健康哈白兔作为试验动物,随机分成 4 组,每组 6 只,编号登记,分别饲养在 4 个笼舍内。试验期间,自由采食与饮水,每天除按饲养标准喂给专用配合饲料外,每次采血完后加喂胡萝卜和白菜。

1.2 试验试剂及配制

1.2.1 cAMP 与 cGMP 美国 Sigma 公司产品。

1.2.2 ³H-Glycerol 美国通用公司医疗集团生命科学部门(GE Healthcare Bioscience)产品,其放射性比活度为 18.5~37 GBq/mmol,放射性浓度为 37 MBq/mL,总强度为 37 MBq,液态,于-20℃条件下贮存。

1.2.3 闪烁液 包括闪烁剂、溶剂和乳化剂 3 种。其中闪烁剂有 2,5-二苯基恶唑(PPO)(A. R)和 1,4-双-(5-苯基-2-恶唑基)-苯(POPOP)(A. R),均为中国上海化学试剂公司产品;溶剂为甲苯(A. R),西安化学试剂厂产品;乳化剂为 TritonX-100(A. R),美国 Sigma 公司产品。

1.2.4 ³H-Glycerol 腹腔注射液的配制 准确量取 25 mL 葡萄糖盐水溶液(其中含葡萄糖 50 mg/L, NaCl 9 mg/L)置于试管中,准确吸取 1 mL ³H-Glycerol 加入该试管中,摇匀,即配成 1.48 MBq/mL 的³H-Glycerol 腹腔注射液。

1.2.5 CNT 腹腔注射液的配制^[4] 准确称取 16 mg 的 cGMP 和 cAMP 及 8 mg 的 cGMP 和 cAMP,分别溶于 25 mL 9 mg/L 的生理盐水中,配制成 0.64 mg/mL 的 cGMP、0.64 mg/mL 的 cAMP 及 0.32 mg/mL cGMP+0.32 mg/mL cAMP 的混合

注射液。

1.3 主要试验仪器

XH-6020 四探头全自动 γ 免疫计数器,西安国营二六二厂产品;YB. DX23D 电动吸引器,上海医疗设备厂产品;XH-6925 液体闪烁计数器,西安国营二六二厂产品。

1.4 试验处理

试验共分 4 组,其中对照组皮下注射 1 mL 9 mg/L 生理盐水和 1 mL 含 1.48 MBq/mL 的³H-Glycerol 腹腔注射液;cGMP 处理组皮下注射 1 mL 0.64 mg/mL cGMP 腹腔注射液和 1 mL 含 1.48 MBq/mL 的³H-Glycerol 腹腔注射液;cAMP 处理组皮下注射 1 mL 0.64 mg/mL cAMP 腹腔注射液和 1 mL 含 1.48 MBq/mL 的³H-Glycerol 腹腔注射液;cGMP+cAMP 混合处理组皮下注射 1 mL 0.32 mg/mL cGMP+0.32 mg/mL cAMP 的混合腹腔注射液和 1 mL 含 1.48 MBq/mL 的³H-Glycerol 腹腔注射液。

1.5 试验步骤及方法

1.5.1 试验步骤 (1)试验处理结束后,每组取 3 只兔分别于注射后 1,3,6,10,15,21,28,36,45,55,65,75,85 和 95 h 耳缘静脉或心脏采血 2 mL,慢慢注射于 EDTA 处理过的离心管中,上下颠倒 1 次,离心,制备血浆,编号,-78℃保存备用。

(2)在步骤(1)结束后,立即处死各组另外 3 只兔,解剖,分别固定部位取样,其脏器主要有心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏、脑、胃、肠、肌肉(左右大腿)、脂肪(脏器周围)、膀胱、生殖器等,各组织随机取样,迅速冷冻,编号,-78℃保存备用。

1.5.2 研究方法 (1)兔血液³H-Glycerol 的测定。解冻血浆样品,每个样品取 1 mL 放入离心管,然后再向离心管内加入 0.6 mg/mL 的高氯酸(HClO₄) 300 μ L,0.3 mg/mL 的过氧化氢(H₂O₂) 600 μ L,异丙醇 1 滴,加盖,置于 70~80℃的恒温箱中消化 3~4 h。取消化后的样品 900 μ L 移入本底值相同的闪烁杯内,再加 10 mL 闪烁液,振摇至澄清,使达均相,置避光暗处适应 8~10 h,以减少因化学发光而引起的计数误差,再用液闪仪进行测定,记录数据以备分析。

(2)兔组织³H-Glycerol 的测定。解冻组织样品,每个样品取 10 mg 放入离心管,捣碎,然后再向离心管内加入 0.6 mg/mL 的高氯酸(HClO₄) 300 μ L,0.3 mg/mL 的过氧化氢(H₂O₂) 600 μ L,异丙醇 1 滴,加盖,置于 70~80℃的恒温箱中消化 3~4 h。取消化后的样品 900 μ L 移入本底值相同的闪烁

杯内,再加 10 mL 闪烁液,振摇至澄清,使达均相,置避光暗处适应 8~10 h,以减少因化学发光而引起的计数误差,再用液闪仪进行测定,记录数据以备分析。

(3)示踪动力学模型构建。根据示踪动力学的理论和方法,采用二室模型构建³H-Glycerol 示踪动力学模型,并将根据构建模型计算的血药浓度理论值与实际值进行比较,用 *F* 检验,以确定拟合的准确程度和构建模型的可靠程度。

(4)数据处理。试验所得数据用 SPSS12.0 软件

处理,包括运用非线性回归方法分析,Marquardt 法分析构建数学模型,计算动力学参数并进行拟合度检验^[4-5],对其他试验结果进行方差分析和多重比较。

2 结果与分析

2.1 兔³H-Glycerol 血样的测定

兔腹腔注射³H-Glycerol 后,血液放射性变化结果见表 1。

表 1 兔 ³ H-Glycerol 血样放射性的测定结果(<i>n</i> =3)				
Table 1 Result of radioactivity mensuration of ³ H-Glycerol blood sample(<i>n</i> =3)				
Bq/mL				
注射时间/h Injected time	对照组 Control group	cGMP 组 cGMP group	cAMP 组 cAMP group	cGMP+cAMP 组 cGMP+cAMP group
1	12.98±1.33	9.82±0.63	13.82±1.08	5.95±0.56**
3	16.50±1.35	13.02±1.26	16.67±1.28	10.92±0.81**
6	18.12±1.60	16.50±1.60	19.80±1.38	8.45±0.93**
10	15.42±1.12	13.02±1.36*	17.15±1.63	8.25±0.59**
15	12.52±0.76	7.43±0.34*	13.92±1.53	7.10±1.09**
21	10.02±1.39	10.88±0.96	18.08±1.47**	6.85±0.79*
28	9.20±0.66	8.52±0.78	13.28±1.32*	5.13±0.38*
36	10.02±0.70	9.92±0.73	24.72±1.48**	5.72±0.51**
45	9.15±0.48	11.80±0.79	13.28±1.54*	5.47±0.57*
55	9.00±0.69	9.73±0.78	15.68±1.57**	7.78±0.76
65	9.42±0.40	10.30±0.27	12.72±1.36*	5.67±0.48*
75	9.65±1.39	9.12±0.58	12.05±1.20*	4.77±0.27**
85	9.47±1.09	7.83±0.54	11.02±1.14	4.58±0.30**
95	8.58±0.36	7.88±0.29	9.80±1.07	4.02±0.37**

注:同一行中,*表示处理组与对照组比较差异显著(*P*<0.05),**表示差异极显著(*P*<0.01)。表 3 同。
Note: * in the same line indicates obvious difference compared with control group * (*P*<0.05), ** (*P*<0.01). The table 3 is the same.

由表 1 可知,cGMP 组与对照组相比,除注射后 10~15 h 外,其余时间³H-Glycerol 血样放射性与对照差异均不显著(*P*>0.05),说明 cGMP 对甘油在体内代谢的影响不大;cAMP 组与对照组比较,注射后 21~75 h ³H-Glycerol 血样放射性差异均达显著(*P*<0.05)或极显著水平(*P*<0.01),而且整个组的放射性强度均大于对照组,说明 cAMP 在注射后 21~75 h 对甘油在体内的代谢影响较大,³H-Glycerol 含量均高于对照组;cGMP+cAMP 组与对照组相比,除注射后 55 h 之外,其余时间³H-Glycerol 血样放射性与对照差异均达显著(*P*<0.05)或极显著水平(*P*<0.01),而且整个组的放射性强度均小于对照组,可见 cGMP+cAMP 混合组对甘油在体内的代谢影响明显,³H-Glycerol 均显著低于对照组。

2.2 ³H-Glycerol 血液动力学模型

用 Marquardt 法对对照组进行房室分析,并对药物代谢的二室模型 $\hat{Y}_{(t)} = Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t} - (A + B)e^{-kz}$ 进行多次修改后得到以下模型:

$$\hat{Y}_{(t)} = Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t} - Ae^{-\gamma t} - Be^{-\delta t} + C.$$

式中: $\hat{Y}_{(t)}$ 为预测值(Bq/mL),*A*为中央室初始浓度(Bq/mL),*B*为周边室初始浓度(Bq/mL),*C*为浓度常数(Bq/mL),*k*为吸收速率系数, α 为分布速率常数, β 为消除速率常数, γ 为中央室吸收速率常数, δ 为周边室吸收速率常数,*t*为注射时间(h)。

经过计算机分析迭代、*F* 检验表明,拟合结果符合该改良的二室模型。对照组最佳方程为: $\hat{Y}_{(t)} = 47\,500.100\,81e^{-0.101\,002\,694t} + 178.200\,188\,5e^{-0.072\,195\,884t} - 47\,500.100\,81e^{-0.100\,728\,077t} - 178.200\,188\,5e^{-0.170\,750\,988t} + 8.923\,484\,752$,决定系数 *R*²=0.987 6,根据此方程得到的预测值与实测值相近(*P*>0.05)(图 1),经方差分析,二者无统计学差异,而且在 30 h 以前,³H-Glycerol 曲线拟合效果比较理想,说明此模型是描述³H-Glycerol 30 h 代谢的最佳方程。该方程的 7 个动力学参数之间的相关关系见表 2。

另外 3 个处理组的曲线分别见图 2、图 3 和图 4。经过计算机分析迭代,cGMP 组方程为:

$\hat{Y}_{(t)}=3\,487\,998.211e^{-0.100\,008\,346t}+1\,196.138\,0e^{-0.074\,257\,678t}-3\,487\,998.211e^{-0.099\,987\,73t}-1\,196.138\,0e^{-0.138\,834\,905t}-6.889\,946\,5$, 决定系数 $R^2=0.717\,3$;

cAMP 组方程为:

$\hat{Y}_{(t)}=1\,151\,334.704e^{-0.099\,999\,727t}+82.732\,0e^{-0.043\,981\,697t}$

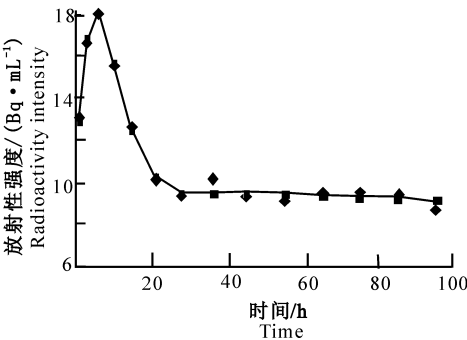


图 1 对照组的³H-Glycerol 动力学曲线

◆, 实测值; —, 预测值

Fig. 1 Dynamical graph of ³H-Glycerol in control

◆, Practical value; —, Predictive value

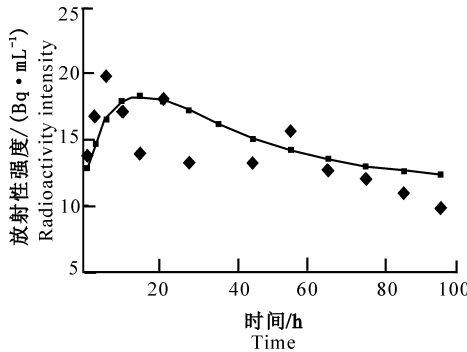


图 3 cAMP 组的³H-Glycerol 动力学曲线

◆, 实测值; —, 预测值

Fig. 3 Dynamical graph of ³H-Glycerol in cAMP

◆, Practical value; —, Predictive value

$-1\,151\,334.704e^{-0.010\,000\,034\,9t}-82.732\,0e^{-0.050\,899\,182t}-11.663\,216\,82$, 决定系数 $R^2=0.306\,4$ 。

cGMP+cAMP 组方程为:

$\hat{Y}_{(t)}=1\,533\,260.807e^{-0.099\,999\,942t}+19.296\,1e^{-0.032\,746\,638t}-1\,533\,260.807e^{-0.099\,998\,375t}-19.296\,1e^{-0.429\,715\,906t}-2.927\,682\,1$, 决定系数 $R^2=0.751\,1$ 。

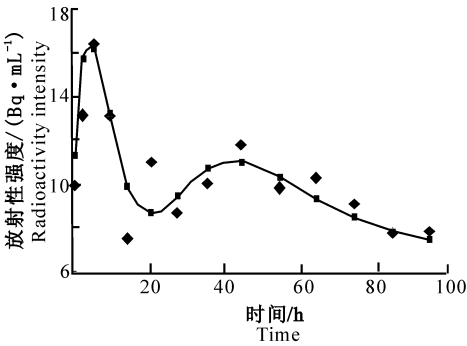


图 2 cGMP 组的³H-Glycerol 动力学曲线

◆, 实测值; —, 预测值

Fig. 2 Dynamical graph of ³H-Glycerol in cGMP

◆, Practical value; —, Predictive value

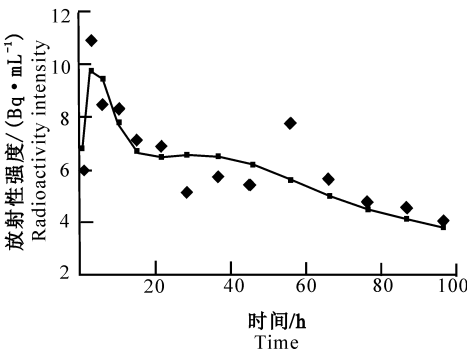


图 4 cGMP+cAMP 组的³H-Glycerol 动力学曲线

◆, 实测值; —, 预测值

Fig. 4 Dynamical graph of ³H-Glycerol in cGMP+cAMP

◆, Practical value; —, Predictive value

表 2 兔³H-Glycerol 动力学参数的相关关系分析

Table 2 Correlation of dynamical parameter of ³H-Glycerol

参数 Parameter	A	α	B	β	γ	δ	C
A	1.000 0	−0.998 3	0.503 4	0.432 2	0.998 5	−0.555 4	−0.168 2
α	−0.998 3	1.000 0	−0.452 7	−0.378 7	−0.993 6	0.507 0	0.116 5
B	0.503 4	−0.452 7	1.000 0	0.991 0	0.549 2	−0.997 1	−0.798 5
β	0.432 2	−0.378 7	0.991 0	1.000 0	−0.979 3	−0.979 3	−0.858 4
γ	0.998 5	−0.993 6	0.549 2	0.480 9	1.000 0	−0.598 9	−0.216 2
δ	−0.555 4	0.507 0	−0.997 1	−0.979 3	−0.598 9	1.000 0	0.768 6
C	−0.168 2	0.116 5	−0.798 5	−0.858 4	−0.216 2	0.768 6	1.000 0

由对照组动力学方程和参数的相关关系可知,³H-Glycerol 在动物体内的分布速率常数(α)为 0.101 0 h^{−1},分布半衰期($T_{1/2}\alpha$)为 6.862 7 h;消除

速率常数(β)为 0.072 2 h^{−1},消除半衰期($T_{1/2}\beta$)为 9.600 9 h;在中央室的吸收速率常数(γ)为 0.100 7 h^{−1},吸收的半衰期($T_{1/2}\gamma$)为 6.881 4 h;在周边室的

吸收速率常数(δ)为 $0.170\ 8\ \text{h}^{-1}$, 吸收的半衰期($T_{1/2}\delta$)为 $4.059\ 4\ \text{h}$, 于(T_{max}) $5.470\ 4\ \text{h}$ 达到峰浓度(Y_{max}) $17.860\ 2\ \text{Bq/mL}$, 曲线下面积(AUC)为 $988.586\ 4\ (\text{Bq} \cdot \text{h})/\text{mL}$ 。而且中央室初始 ^3H -Glycerol 浓度(A)、分布速率常数(α)及中央室吸收速率常数(γ)三者之间的相关程度分别为 $-0.998\ 3, 0.998\ 5$ 及 $-0.993\ 6$, 接近于完全相关。同样, 周边室初始 ^3H -Glycerol 浓度(B)、消除速率常数(β)及周边室吸收速率常数(δ)三者之间的相关

程度分别为 $0.991\ 0, -0.997\ 1$ 及 $-0.979\ 3$, 也接近于完全相关。另外, 3 个处理组的预测值与实测值相差较大($P<0.01$), 拟合曲线均不能代表外源性甘油在体内的代谢情况, 也说明加入 CNT 对甘油的代谢会产生明显的影响。

2.3 ^3H -Glycerol 组织样的测定

兔腹腔注射 ^3H -Glycerol 95 h 后, 根据 12 个器官和组织中 ^3H -Glycerol 的分布情况^[6], 计算放射性变化, 结果见表 3。

表 3 兔 ^3H -Glycerol 组织样的测定结果($n=3$)

Table 3 Result of mensuration of ^3H -Glycerol in tissue sample($n=3$)

Bq/mg

组织器官 Tissue & apparatus	对照组 Control group	cGMP 组 cGMP group	cAMP 组 cAMP group	cGMP+cAMP 组 cGMP+cAMP group
心脏 Heart	355±66.17	385±40.55	348±66.17	463±19.02
肝脏 Liver	622±69.37	703±27.52	315±69.37*	518±21.22
脾脏 Spleen	205±78.47	440±37.13*	532±78.47**	565±59.27**
肺脏 Lung	253±82.53	472±57.17*	503±82.53*	592±38.40**
肾脏 Kidney	838±84.65	903±66.87	718±84.65*	930±84.03
脑 Brain	560±61.45	580±50.17	272±61.45*	478±22.57
胃 Stomach	460±55.57	202±27.12*	278±55.57*	482±33.67
肠 Intestine	780±41.75	902±48.28*	625±41.75*	345±53.03**
肌肉 Muscle	408±46.22	430±52.75	302±46.22	442±53.03
脂肪 Fat	678±46.92	677±31.68	655±46.92	762±53.22
膀胱 Bladder	523±80.98	493±45.02	310±80.98*	480±41.25
生殖器 Genitalia	352±70.88	338±21.93	297±70.88	615±41.25*

由表 3 可知, 外源性甘油在转运过程中除一部分随代谢排出体外, 其余多数参与了甘油三脂、胆固醇、酮体等的合成而沉积于肾脏、肠、脂肪、肝脏、脑等组织或器官中。对照组中 ^3H -Glycerol 在各个组织或器官的分布趋势为: 肾>肠>脂肪>肝脏>脑>膀胱>胃>肌肉>心脏>生殖器>肺脏>脾脏。同时, 肝脏、肺脏、脾脏、肾、脑、胃、肠器官中, 皮下注射 CNT 后均有显著($P<0.05$)或者极显著($P<0.01$)变化, 致使 ^3H -Glycerol 在 cGMP 组各个组织或器官中的分布趋势为: 肾>肠>肝脏>脂肪>脑>膀胱>肺脏>脾脏>肌肉>心脏>生殖器>胃; 在 cAMP 组的分布趋势为: 肾>脂肪>肠>脾脏>肺脏>心脏>肝脏>膀胱>肌肉>生殖器>胃>脑; 在 cGMP+cAMP 组的分布趋势为: 肾>脂肪>生殖器>肺脏>脾脏>肝脏>胃>膀胱>脑>心脏>肌肉>肠。

3 讨 论

3.1 示踪剂的选择与示踪剂量的确定

同位素示踪法主要是借助放射性同位素衰变时放出的射线直接或间接地测量被示踪物的行动轨迹, 目前常用的放射性同位素有 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{32}P 、

^{35}S 、 ^{125}I 和 ^{131}I 等^[4]。 ^3H 半衰期长, 对农业生物试验可不作校正, 且只能放射出 β 射线, 测量方便, 灵敏度高, 可靠稳定, 安全性好, 也是许多有机和无机物必含的元素。咎林森等^[7]用放射性比活度为 $784.4\ \text{MBq/mg}$ 、放射性浓度为 $6.17\ \text{MBq/mL}$ 的 ^3H -cAMP 和放射性相同的 ^3H -cGMP 溶液作为示踪剂, 成功研究了 CNT 在豚鼠体内的转运与代谢规律。周雪瑞等^[8]用放射性比活度为 $1\ 110\ \text{GBq/mmol}$ 、放射性浓度为 $37\ \text{MBq/mL}$ 的 ^3H -GABA (γ -氨基丁酸), 对小鼠不同脑区摄取外源性 ^3H -GABA 进行了研究, 探讨了乙醇与 GABA 之间的关系, 结果发现乙醇对小脑、中脑、间脑和大脑皮层脑片摄取 ^3H -GABA 有明显的抑制效应($P<0.01$)。Шевиенко В Г^[9]用 ^3H 、 ^{14}C 双标记法测定了产蛋母鸡输卵管中蛋白质的合成动态, 一次性腹腔注射剂量为 $6.67\ \text{MBq/g}$ 的 ^{14}C -亮氨酸和剂量为 $29.10\ \text{MBq/g}$ 的 ^3H -亮氨酸, $4.5\ \text{h}$ 时, 输卵管蛋白分泌部的蛋白质比活度 ^{14}C -氨基酸为 $(140.16\pm9.60)\ \text{MBq/g}$, ^3H -氨基酸为 $(800.40\pm49.80)\ \text{MBq/g}$ 。翟永功^[10]用 ^3H 分别标记 cAMP 和 cGMP 后, 均以 $5.55\ \text{MBq/只}$ 的剂量腹腔注射小白鼠, 成功研究了 CNT 的示踪动力学问题。根据前人大量的试验结果和本次试验的预

试验,确定以 1.48 MBq/mL 剂量的[²⁻³H]Glycerol 进行处理,结果确未造成机体辐射损伤(国家放射性卫生标准为等效年用量<185 GBq)^[11],说明本试验是在正常生理状态下进行的。

3.2 环核苷酸(CNT)对³H-Glycerol 血样及组织样测定结果的影响

cAMP 能够引起机体内许多激素含量发生变化,促进脂肪分解,促使甘油三酯分解为甘油和脂肪酸,使血液及血流较多器官中的甘油三酯等脂类持续发生分解,而引入的外源性³H-Glycerol 也就不参与合成甘油三酯等脂类物质,从而导致³H-Glycerol 的浓度较高。cGMP 的作用与 cAMP 的作用恰恰相反,cGMP 作用力度较小,对甘油代谢影响较弱,但是与 cAMP 混合使用时效果明显。甘油只有在甘油激酶存在和有能量供应时才可能分解为一磷酸甘油,再分解生成磷酸二羟丙酮和 3-磷酸甘油醛,此后即可进入糖酵解生成丙酮酸,进而生成乙酰辅酶 A,进入三羧酸循环或逆糖酵解途径而进行糖异生,生成葡萄糖乃至糖原。脂肪组织及细胞中无甘油激酶,不能利用甘油,脂解所得甘油需经血液入肝后才可能分解。一般来说,在脑组织中药物浓度较低,这是由于血脑屏障所致,但是有些脂溶性药物(如甘油)可以透过血脑屏障进入脑脊液,以增加其在脑组织内部的含量。

以上原因导致兔血液中外源性³H-Glycerol 呈现出一定的变化趋势,但是通过皮下注射 CNT,该变化趋势也会发生相应改变。单独注射 cGMP 对兔血液中³H-Glycerol 的变化趋势无明显影响($P>0.05$),对³H-Glycerol 含量只有轻微的降低趋势;单独注射 cAMP 对其会产生显著影响($P<0.05$),可使³H-Glycerol 含量有所增加,但 cAMP 与 cGMP 以 1:1 的比例注射时,却使³H-Glycerol 含量明显减小($P<0.05$)。另外,外源性的³H-Glycerol 多存在于肾脏、脂肪、肠、肝脏、大脑等组织或器官中,注射 CNT 后一些组织或器官内的³H-Glycerol 含量出现了明显变化($P<0.05$)。

咎林森等^[7]用³H-cAMP 及³H-cGMP 溶液对体重相近的成年健康豚鼠进行试验,结果表明,cAMP 主要存在于肾脏、脂肪、膀胱、大脑等组织或器官中,cGMP 则主要在肾脏、睾丸、脂肪等组织或器官中分布。杨在清等^[12]用体重和健康状况相近的 8 月龄混系和丹系长白猪进行试验,结果表明,脂肪沉积的品系差异与肝、脂肪组织及血中的 cAMP 水平有关,cAMP 对脂肪沉积的调控具有明显的品系差异。

另有大量研究表明,儿茶酚胺、胰高血糖素、促肾上腺皮质激素、生长激素、血管紧张素、组织胺、黄体生成素、抗利尿素和甲状旁腺激素等能使 cAMP 增加,促进甘油三酯水解;而胰岛素则使 cAMP 浓度降低,促进甘油三酯的合成^[13]。CNT 作为大多数含氮激素、生长因子以及细胞因子的第二信使,可通过影响细胞内的酶活性或者其他活动,实现激素、生长因子以及细胞因子对细胞生命活动的调节作用,脂肪代谢以及脂肪细胞分化与增殖亦受此影响^[14]。这些研究都与本试验结果相一致。

3.3 ³H-Glycero 血液动力学模型的构建

本研究所用的动力学模型,对一般的二室模型(中央室和周边室) $\hat{Y}_{(t)} = Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t} - (A+B)e^{-k t}$ 进行了改良,经过分析建立的模型为: $\hat{Y}_{(t)} = Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t} - Ae^{-\gamma t} - Be^{-\delta t} + C$ 。本试验的给药方式为腹部皮下注射,中央室和周边室对本药物都有吸收,且吸收的速率明显不同,故将吸收相分解。根据甘油的代谢实际,甘油在体内分解有部位限制,且分解较慢,以致于有一定量的甘油分布在血液中,造成了每个时间段都有固定的量存在,因此给该方程中加了 1 个固定的常数(C)。本研究拟合的最佳动力学方程为: $\hat{Y}_{(t)} = 47\ 500.100\ 81e^{-0.101\ 002\ 694t} + 178.200\ 188\ 5e^{-0.072\ 195\ 884t} - 47\ 500.100\ 81e^{-0.100\ 728\ 077t} - 178.200\ 188\ 5e^{-0.170\ 750\ 988t} + 8.923\ 484\ 752$ 。可以发现³H-Glycerol 通过皮下注射后,其同时进入中央室和周边室,并在 5.470 4 h 时达到最高点 17.860 2 Bq/mL,其中中央室占了 99.62%。随着³H-Glycerol 在中央室的消除与周边室的可逆性运转达到平衡状态,进而从血液迅速向各组织转运,直到 30 h 左右时又处于平衡状态,以后通过组织慢慢消除。由于³H-Glycerol 积累在各个组织及血液的血脂中,在一般的饲养环境下又很难被机体分解,形成了³H-Glycerol 以一定浓度持续存在。但注入了 CNT 的兔,会使机体内的激素和酶系发生变化,因此不会有正常饲养状态(对照组)下的代谢规律。

[参考文献]

- [1] Saeki K, You A. Distinct involvement of cAMP-response element dependent transcriptions in functional and morphological maturation during retinoid-mediated human myeloid differentiation[J]. Journal of Leukocyte Biology, 2003, 5: 673-681.
- [2] Hardman J G. Regulation of cyclic GMP metabolism hormones and cell regulation in dumont[M]. Amsterdam Elsevier: North-Nall and Bimedical Press, 1980: 257-271.

- [3] Martin W, Hans H, Eberhard H, et al. The role of growth hormone/insulin-like growth factors in adipocyte differentiation[J]. *Metabolism*, 1995, 44: 45-49.
- [4] 咎林森. CNT 在动物体内代谢规律及基因表达调控的研究[D]. 陕西杨凌: 西北农业大学, 1997.
- Zan L S. Reserch on the metabolic law and gene expression, adjust and control CNT[D]. Yangling, Shaanxi: Northwest Agricultural University, 1997. (in Chinese)
- [5] 周静芋, 宋世德, 袁志发, 等. 用麦夸法进行室分析曲线拟合[J]. 西北农业大学学报, 1996, 24(1): 75-78.
- Zhou J Y, Song S D, Yuan Z F, et al. Fitting curve for compartmental analysis by Marquardt's algorithm[J]. *Acta Aniversity Agriculture Boreall-Occidentalis*, 1996, 24(1): 75-78. (in Chinese)
- [6] Zhong C G, Carvalho F P, Chen S H, et al. Studies on the accumulation, distribution, and degradation of ^{14}C -DDT in marine *Tulapis* sp. [J]. *Acta Sci Nat Univ Sunyatseni*, 1997, 36: 52-57.
- [7] 咎林森, 邱 怀, 袁志发. 环核苷酸(CNT)在豚鼠体内代谢规律的研究[J]. 畜牧兽医学报, 2000, 31(2): 124-130.
- Zan L S, Qiu H, Yuan Z F. Research on the metabolic law of CNT in quinea pigs[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2000, 24(2): 124-130. (in Chinese)
- [8] 周雪瑞, 秦晓东, 朱剑琴. 乙醇对小鼠不同脑区切片摄取 ^3H - γ -氨基丁酸的影响[J]. 徐州医学院学报, 1999, 19(3): 176-179.
- Zhou X R, Qin X D, Zhu J Q. The effect of ethanol on the uptake of ^3H -GABA of different brain area slices of mice[J]. *Acta academiae medicinae Xuzhou*, 1999, 19(3): 176-179. (in Chinese)
- [9] Шевиенко В Г. ^{14}C 、 ^3H 双标记法测定产蛋母鸡输卵管中蛋白质的合成动态[J]. 核农学通报, 1987, 8(4): 27-29.
- Шевиенко В Г. The synthetice dynamic measureing in fallopian tube of egg-hen with ^{14}C 、 ^3H bi-labelling method[J]. *Nuclear Agricultural Science Bulletin*, 1987, 8(4): 27-29. (in Chinese)
- [10] 翟永功. 基因调节物——环核苷酸在小鼠体内的示踪动力学研究[D]. 陕西杨凌: 西北农业大学, 1992.
- Zhai Y G. Gene regulatory substance—Research on the trace kinetics of cyclic nucleotides in mouse[D]. Yangling, Shaanxi: Northwest Agricultural University, 1992. (in Chinese)
- [11] 陈毓荃. 生物化学研究技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995.
- Chen Y Q. Biochemistry research technology[M]. Beijing: Chinese Agriculture Press, 1995. (in Chinese)
- [12] 杨在清, 马志科, 孙 超, 等. 猪脂肪沉积的品质差异及其 cAMP 的调控作用[J]. 畜牧兽医学报, 1996, 27(6): 489-494.
- Yang Z Q, Ma Z K, Sun C, et al. The fat deposition and its cyclic AMP regulation of different langrace strains[J]. *Acta Veterinariaet Zootechnica Sinica*, 1996, 27(6): 489-494. (in Chinese)
- [13] 张世荣, 魏铁拳, 幸兴球, 等. 胰岛素介体的功能——调节细胞的 cAMP 和脂肪合成及糖尿病的影响[J]. 中国科学: B 辑, 1987, 17(3): 265-269.
- Zhang S R, Wei T Q, Xing X Q, et al. Function of insulin amboceptor—Effect between cAMP of adjusting cell and fat synthesizing and glycauresis[J]. *Science in China, Ser. B*, 1987, 17(3): 265-269. (in Chinese)
- [14] Dodson M V, Vierck J L, Hossner K L, et al. The development and utility of a defined muscle and fat co-culture system[J]. *Tissue and cell Research*, 1997, 29(5): 517-524.