

视网膜组织脂质过氧化反应产物的测定

——硫代巴比妥酸荧光法

李爱群 李 燕 莫 简

(中国人民解放军第四军医大学, 西安)

提 要

作者研究了家兔视网膜组织脂质过氧化反应产物的硫代巴比妥酸 (TBA) 荧光测定法; 测定了正常家兔视网膜组织的 TBA 值; 并对视网膜铁锈症与脂质过氧化的关系进行了讨论。正常家兔视网膜组织的 TBA 值为: $0.092 \pm 0.02 \text{ nmol MDA/mg}$ 。实验结果表明, 视网膜铁锈症可使视网膜组织中脂质过氧化产物显著增高。

对血液和肝组织中脂质过氧化反应产物的测定方法已有不少报道, 但尚未见到对视网膜组织中脂质过氧化产物的荧光测定法, 故我们参考用于肝组织中的 TBA 比色法^[1-3], 建立了家兔视网膜组织脂质过氧化反应产物的荧光测定法。

水使总体积为 2.5 毫升, 再加正丁醇-吡啶溶液 [15:1(V/V)] 3.5 毫升, 摇二分钟, 4000rpm 离心 10 分钟。取上清液, 加 1 滴无水乙醇。采用日立 MPF-4 型荧光分光光度计, 以 515nm 为激发光, 测定 553nm 处的荧光强度。

$$\text{视网膜组织 TBA 值} = 0.5 \times \frac{f}{F}$$

一、方法步骤

脂质过氧化物降解产物中的丙二醛与硫代巴比妥酸反应, 缩合成红色化合物, 此产物可用荧光法测定, 其最大吸收光谱与发射光谱分别为 532nm 与 553nm。

操作步骤如下: 取家兔(体重 2.0—3.0Kg)的视网膜组织(在冰盒内剥离), 加冷生理盐水研磨二分钟, 制成 10% 匀浆液, 然后取此匀浆液 0.02 毫升, 加 8.1% SDS (Sodium dodecyl sulphate) 0.1 毫升。摇匀, 加 20% 醋酸缓冲液 (pH3.5) 0.75 毫升、0.8% TBA 水溶液 0.75 毫升、重蒸馏水 0.38 毫升, 摇匀后置 95℃ 恒温水浴中加热 1 小时。然后, 以流水冷却至室温, 加

$$\times \frac{10}{0.02} \times \frac{1}{1000}$$

$$= 0.25 \times \frac{f}{F} \text{ nmol MDA/mg 湿组织}$$

F: 标准物质 [1, 1, 3, '3-四乙氧基丙烷 (MDA) 0.5nmol] 的荧光强度。

f: 样品物质的荧光强度。

二、结果与讨论

1. 实验结果表明, 丙二醛含量在 1.0nmol 范围内(或当组织匀浆量在 50 微升内), 其含量与 TBA 反应产物的荧光强度呈直线关系。

2. 样品的 TBA 荧光产物经荧光扫描, 其

[3] 范慕贞, 《生理科学》, 6, 41, 1986.
[4] Heby, O.: *Differentiation*, 14, 1, 1981.
[5] Pegg, A. E. et al.: *Am. J. Physiology*, 243, C212, 1982.
[6] Jurij, R. et al.: *Cancer Res.*, 44, 3226, 1984.
[7] O'Brien, T. G.: *Cancer Res.*, 36, 2644, 1976.

[8] 李士谔等: 《中国医学科学院学报》, 4, 142, 1982.
[9] Lowry, O. H. et al.: *J. Biol. Chem.*, 193, 265, 1951.
[10] Russell, D. H. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 60, 1420, 1968.

【本文于 1987 年 3 月 16 日收到】

激发光、发射光的峰位波长与标准物完全相同，且与文献报道^[4]一致。证明该方法测得的物质，的确为视网膜组织的脂质过氧化产物。

3. SDS 可使膜内脂质过氧化物游离到膜表面，从而易与 TBA 试剂反应^[5]。SDS 溶解度受温度影响，实验适宜温度为 18—25℃，实验温度过低时会因光散射造成结果偏高。

4. 对同一样品进行九次平行实验，平均偏差 0.037，将一定量标准溶液加至样品溶液中进行测定，回收率为 95—115%。

表 实验组与对照组 TBA 值比较

时间(天)	实验组 $\bar{X} \pm S$	对照组 $\bar{X} \pm S$	例数(只)
1	0.1126 $\pm$ 0.0303	0.0915 $\pm$ 0.0368	10
3	0.1119 $\pm$ 0.0381	0.0842 $\pm$ 0.0157	3
7	0.1500 $\pm$ 0.0898	0.1311 $\pm$ 0.0915	4
28	0.2306 $\pm$ 0.2126	0.1056 $\pm$ 0.0212	4

5. 正常家兔视网膜组织的 TBA 值为 0.092 $\pm$ 0.02nmol MDA/mg 湿组织。我们对 21 只家兔视网膜作了自身对照实验，随机将一只眼作对照，将另一只眼在玻璃体中央置入铁异

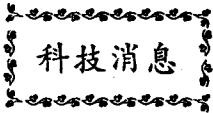
物(低碳钢弹片，含铁量 98.31%)，一定时间后取视网膜组织，按上述操作步骤测荧光强度。其结果是造成视网膜铁锈症的脂质过氧化反应增强。虽然视网膜铁锈症的产生机制尚不完全清楚，但实验结果表明，视网膜铁锈症可能涉及脂质过氧化反应。见表

异物植入后 24 小时，TBA 值开始升高，28 天时实验组 TBA 值增长到对照组的二倍左右。对 24 小时实验组与对照组 TBA 比值进行 t 检验，实验组 TBA 值比对照组 TBA 值明显提高 ($P < 0.05$)。

参 考 文 献

[1] 平光·忠久等：《日眼会志》，79(10)，124，1975。
[2] 平光 忠久·加藤 勝·森岡 清史：《日眼会志》，87(12)，36，1983。
[3] 八木国夫：《临床检查》，23(2)，115，1979。
[4] 大石诚子：《最新医学》，33(4)，660，1978。
[5] 余田和明，饭尾利弘，太幡利一：《薬学雑誌》，100(5)，553，1980。

[本文于 1987 年 3 月 20 日收到]



科技消息

《视觉计算理论》即将出版

视觉是一个古老的研究课题，但由麻省理工学院已故 D. Marr 教授创立的视觉计算理论，却是在七十年代后期才开始出现，并在八十年代初期就大放光彩的一个先进理论。他的遗著 Vision 一书被誉为自 Helmholtz 于 1910 年发表《生理光学》以来该学科最重要的著作。该书的中译本《视觉计算理论》年内将由科学出版社出版。内容包括：总导言，视觉研究的基本原理和方法，图像的表象，从图像恢复表面，可见表面的直接表象，用于识别的形状表象，提要，为视觉计算方法辩护，术语解释。为了帮助读者了解并掌握本书

的特点和最新的进展，中译本还收集了其他作者写的几篇论文作为附录附于书后。它们是：Marr 的视觉计算理论，计算视觉和正则化理论，神经生理学家该向何处去？麻省理工学院脑和认知科学系教学大纲。本书的读者对象主要是从事生物物理学、生理学、心理学、计算机视觉、人工智能等专业工作的科技人员，高等院校有关教师、研究生和高年级学生。我们相信，《视觉计算理论》的出版将有力地推进并提高我国在上述各研究领域内的工作水平。