

生物样品中组胺含量测定方法的研究进展

吴娟利,王兆品,包爱民 综述

(浙江大学医学院神经生物学系、卫生部医学神经生物学重点实验室、
浙江省神经生物学重点实验室,浙江 杭州 310058)

[摘要] 神经元性组胺参与了多种生理功能以及神经精神疾病发病机制。测定生物样品中组胺含量具有重要的临床意义。文中将就测定组胺方法的相关研究进展作一综述,并重点讨论最常用和较为成熟的组胺测定方法,即高效液相色谱法研究方面进展。

[关键词] 组胺; 色谱法,高压液相; 高效液相色谱法; 脑脊髓液

[中图分类号] R 446.14 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1008-9292(2012)06-0681-08

Progress in determination of histamine levels in biological samples

WU Juan-li, WANG Zhao-pin, BAO Ai-min (*Department of Neurobiology, Key Laboratory of Medical Neurobiology of Ministry of Health of China, Zhejiang Province Key Laboratory of Neurobiology, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310058, China*)

[Abstract] Neuronal histamine is crucially involved in a number of physiological functions as well as in neuropsychiatric diseases. Determination of histamine in biological samples is thus of importance in the clinical studies. The aim of this review is to summarize the progress or effort made in this field, with focus on the high-performance liquid chromatography.

[Key words] Histamine; Chromatography, high pressure liquid; High-performance liquid chromatography; Cerebrospinal fluid

[J Zhejiang Univ (Medical Sci), 2012,41(6):681-688.]

神经元性组胺仅仅由位于下丘脑后部的结节乳头核产生,并向几乎所有脑区投射。组胺主要介导觉醒—睡眠节律、认知和记忆、自主运动、应激反应等功能调节^[1-3]。在多种神经系统疾病,例如多发性硬化症^[4]、阿尔茨海默病^[5]、热惊厥^[6]、发作性睡眠^[7-8]、睡眠过度^[9]等,都发现有脑内组胺含量改变。因此,测定脑内组胺含量对于研究上述生理机制和神经精神疾病发病机制具有重要意义。脑脊液内组胺浓度是公认的中枢组胺活性的重要指标^[5],而高效液相色谱法(high-performance liquid chromatography,

HPLC)是近年来最常采用的测定组胺水平的方法。脑脊液中组胺含量很低,脑脊液采样过程

收稿日期:2011-12-09 修回日期:2012-02-07

基金项目:浙江省科技厅计划项目(2009C34020);国家自然科学基金项目(30970928)。

作者简介:吴娟利(1976-),女,博士研究生,专业:神经生物学。

通讯作者:包爱民(1965-),女,理学博士,教授,博士生导师,从事神经精神疾病的神经生物学发病机制的研究;E-mail:baoaimin@zju.edu.cn

中存在着许多干扰因素影响 HPLC 测定,因此,目前尚未建立起稳定可靠而简单易行的脑脊液组胺测定方法。作者将就相关研究进展作一综述,对可能采取的改进措施进行介绍和讨论,旨在为改进脑脊液内组胺测定方法提供参考依据。

1 组胺测定方法回顾

测定生物样品例如血液、尿液、脑组织中组胺含量的方法主要包括放射性酶法(radioenzymatic assay, REA)、放射性免疫法(radioimmunoassay, RIA)、酶免疫法(enzymeimmunoassay, EIA)、气相色谱法(gas chromatography, GC)、毛细管电泳法(capillary electrophoresis, CE)、毛细管电泳色谱法(capillary electrochromatography, CEC)和 HPLC 法等^[10-11]。其中 REA、RIA 和 EIA 基于抗原-抗体特异性反应,关键技术是建立组胺的单克隆或者多克隆抗体。因为组胺是小分子半抗原,只具备抗原性而不具备免疫原性,因此将组胺修饰为免疫原^[10]而生产高特异性的组胺抗体比较困难。应用这些方法测定组胺含量存在着操作步骤繁琐、交叉反应等难题^[11-14]。GC 法测定组胺时容易遭受样品中其它基质成分的干扰、样品残留的影响^[15],以及 GC 偶联质谱仪仪器昂贵,对操作人员专业技能要求高等不利因素^[14]。CEC 法综合了 HPLC 的高选择性和 CE 法的高效性,但是检测灵敏度较低、迁移时间不够精确,鲜有应用该方法分析生物样品中组胺含量的报道^[10-11]。

2 HPLC 法测定生物样品中组胺含量

HPLC 采用高压输出的液体为流动相,以小粒径填料为固定相,同时在柱后连有高灵敏度的检测器,从而实现对试样的连续分析。该方法和高灵敏度检测器耦合时具有良好的测定特异性和灵敏性^[16]。1985 年, Yamatodani 等人^[17]建立了测定小鼠脑组织和人血浆中组胺含量的 HPLC 方法。该方法主要包括阳离子交换柱、邻苯二甲醛(o-phthalaldehyde, OPA)柱后衍生、荧光检测等系统,最低检测限为 0.5 pmol/ml,日内和日间差均小于 3%。同时,该

方法显示了和 REA 方法测定结果的良好相关性(相关系数 0.951)。随后,不同研究组对这种 HPLC 方法从不同方面加以改进,包括检测器、分离柱、衍生剂、流动相等,以期建立稳定可靠、快速经济的组胺测定方法,介绍如下(并见表 1)。

2.1 检测器 HPLC 的三大关键部件是输液泵、色谱柱和检测器。检测器将从色谱柱流出的物质组分转化为可供检测的信号,它决定着系统的灵敏度和精密度。HPLC 检测器有很多种类,例如紫外—可见光检测器(ultraviolet-visible detector, UV)、荧光检测器(fluorescence detection, FLD)、电化学检测器(electrochemical detector, ECD)、化学发光检测器(chemiluminescence detection, CLD)、质谱仪(mass spectrometry, MS)等^[11]。这些检测器相互之间并不通用,不同的检测器对测试系统的试剂体系也有不同要求,在建立 HPLC 方法时要优先选择合适的检测器。

因为组胺在紫外—可见光范围内缺乏强烈的吸收带,因此 HPLC-UV 法测定组胺时的灵敏度较低^[10-11]。HPLC-CLD 也同样由于灵敏度的局限性而难以被应用于测定生物样品中的组胺含量^[14]。Jensen 等人^[18]曾用 HPLC-ECD 检测大鼠腹膜内肥大细胞中的组胺,结果显示该法有较好的灵敏度,检测限低于 2 pmol/ml。然而, HPLC-ECD 法要求在检测前进行复杂的样品处理,例如提取、洗脱和纯化,而检测过程又容易受到样品内杂质、流动相中溶解的氧气以及温度变化等因素影响^[11],因此在一定程度上限制了该方法的应用。HPLC-FLD 法是目前最常用的检测组胺的方法,对于痕量分析和复杂样品基质的检测都较为理想。但是,组胺是弱荧光物质,因此采用 FLD 检测时,要对组胺进行衍生化处理而提高检测灵敏度。HPLC-MS 法则在近年逐渐被应用于检测生物样品例如人脑脊液、小鼠毛发中的组胺含量^[5, 19-23]。该检测器在鉴定分析物成分方面具有较高特异性,因为它除了记录分析物保留时间,还对分析物的结构信息进行描述,因此解决了区分具有相似理化性质的胺类物质的难题^[21]。但是,目前 HPLC-MS 设备还非常昂贵,没有被广泛应用。

表 1 检测生物样品中组胺的高效液相色谱法条件

Table 1 The conditions of HPLC methods for the determination of histamine levels in biological samples

分离柱	检测及衍生条件	流动相及添加剂	样品	检测限	参考文献
微径柱(C ₁₈ silica gel)	FLD (柱前 PSE/K ₂ CO ₃ /乙腈)100℃,90 min	75% 乙腈/水,0.05 ml/min	鼠脑组织	0.3 fmol/20 μl (0.015 pmol/ml)	[2]
HILIC Core – Shell HPLC column(UPLC)	ESI-MS/MS	流动相 A: 0. 2% 甲酸/20 mmol/L 甲酸铵 流动相 B: 100% 乙腈,0.45 ml/min	鼠脑脊液	– –	[5]
阳离子交换柱 (TSK gel SP-2SW)	FLD (柱后 OPA) 45℃, pH12.5	0.25 mol/L KH ₂ PO ₄ , 0.6 ml/min	人脑脊液	– –	[6]
反向分离柱(SC-50DS)	FLD(柱后 OPA)42℃,2.5 mol/L NaOH / 2 mol/L H ₃ PO ₄	0.16 mol/L KH ₂ PO ₄ /5% 甲醇/0.8 mmol/L SOS,0.3 ml/min	人脑脊液	10 pg/ml (0.09 pmol/ml)	[7]
阳离子交换柱 (TSK gel SP-2SW)	FLD (柱后 OPA) 45℃, pH12, 2 mol/L NaOH/10% H ₂ SO ₄	0.125 mol/L KH ₂ PO ₄ , 0.6 ml/min	人脑脊液	10 pg/ml (0.09 pmol/ml)	[8]
阳离子交换柱 (TSK gel SP-2SW)	FLD (柱后 OPA) 45℃, pH12.5	0.25 mol/L KH ₂ PO ₄ , 0.3 ml/min	鼠脑脊液	– –	[9]
离子对反向分离柱 (50DS-H)	FLD(柱后 OPA)50℃,2.5 mol/L NaOH / 4 mol/L H ₃ PO ₄	0.16 mol/L KH ₂ PO ₄ /0.1 mmol/L SOS,0.6 ml/min	鼠脑组织	0.5 pg/100 μl (0.045 pmol/ml)	[12]
反向细径柱(Mightysil RP-18)	FLD (柱后 OPA) 25℃, THF	0.05 mol/L 醋酸盐缓冲液/0.01 mol/L SOS/乙腈,1.0 ml/min	血浆	5 fmol/20 μl (0.25 pmol/ml)	[13]
反向 Wakosil II 5C ₁₈ –100	FLD (柱前 PSE/K ₂ CO ₃) 100℃,90 min	乙腈/水/TEA,0.2 ml/min	人尿液	0.5 fmol/30 μl (0.017 pmol/ml)	[14]
阳离子交换柱 (TSK gel SP-2SW)	FLD (柱后 OPA) 45℃, pH12.5	0.25 mol/L KH ₂ PO ₄ , 0.6 ml/min	人血浆和鼠脑组织	0.05 pmol/100 μl (0.5 pmol/ml)	[17]
反向 Bioanalytical Systems Phase- II ODS column	ECD(柱前 OPA/ME)0.4 mol/L H ₃ PO ₃ / 1 mol/L NaOH/THF	0.1 mol/L 磷酸钠缓冲液/0.4% TEA/16% 甲醇/14% 乙腈/1.0 mmol/L Na ₂ EDTA, 0.6 ml/min	鼠腹膜肥大细胞	<0.1 pmol/50 μl (2 pmol/ml)	[18]
反向 Cosmosil 5C ₁₈ PAQ	ESI-MS/MS	甲醇/0.005% TFA, 0.2 ml/min	人嗜碱性细胞	0.3 ng/ml (2.7 pmol/ml)	[19]
ACQUITY UPLC BEH C ₁₈	ESI-TOF-MS(柱前 DBD-F)60℃,45 min,0.1 mol/L 硼砂/乙腈	流动相 A: 20 mmol/L HCOONH ₄ 流动相 B: 乙腈,0.4 ml/min	鼠毛发	<1 pmol/25 μl (40 pmol/ml)	[20,22]
Acquity UPLC BEH C ₁₈	ESI-MS/MS(柱前 4-BBS) 45℃,10 min,0.1 mol/L TEA/乙腈	流动相 A: 乙腈/水/甲酸(0.1%)流动相 B:乙腈/甲酸(0.1%),0.6 ml/min	人脑脊液	0.0125 pmol/ml	[21]
Acquity UPLC BEH C ₁₈	ESI-MS/MS(柱前 4-BBS) 25℃,60 min,乙腈	乙腈/水/甲酸(0.1%)	人脑脊液	0.01 pmol/ml	[23]
反向 CAPCELL PAK MG C ₁₈	FLD(柱后 OPA/2-ME)5 mol/L NaOH	甲醇/0.16 mol/L KH ₂ PO ₄ /200 mg/L SOS, 0.4 ml/min	鼠脑组织	8 pg/50 μl (1.44 pmol/ml)	[24]
阳离子交换柱 (TSK gel SP-2SW)	FLD (柱后 OPA) 45℃, pH12.5	0.25 mol/L KH ₂ PO ₄ , 0.6 ml/min	人脑组织	7 pmol/g	[25]
C ₁₈ Ultrasphere column	FLD(柱前 OPA/甲醇)1 mol/L NaOH (4 min)/3 mol/L HCl(20 min)	50 mmol/L 醋酸盐缓冲液/甲醇/乙腈/8 mmol/L 1-萘烷磺酸钠,1 ml/min	人血液	18 pmol/ml	[27]

– – :文献中未给出.

2.2 分离柱、保护柱以及柱子的特性 通过 HPLC 从生物样品中分离出组胺或者组胺衍生物是组胺检测中的重要步骤。分离的质量与色谱柱的填料类型、颗粒大小、pH 范围、分离柱内径和长度、柱子承受压力等特性有着很大关联。此外,在样品分离前进行适当的样品净化处理,例如固相萃取(Solid-phase extraction, SPE)对组胺的分离也很关键。

Miyamoto 等人^[24]用 SPE 法对鼠脑组织进行净化处理。他们采用一种阳离子交换色谱柱除去酸化的脑组织提取物中其它胺类物质。但是,该方法对于组胺的回收率仅为 $(82.8 \pm 3.4)\%$, 操作步骤也较繁琐。Koyama 等人^[19]采用固相微萃取法对人嗜碱性细胞系进行净化处理,操作时间短,所需样品量少,有机溶剂消耗少,重现性也较好。该方法对于组胺的回收率达到 $(89.5 \sim 102.8)\%$, 适合处理含有复杂基质的样品以及痕量组胺的测定。

Yamatodani 等人^[17]介绍了在 HPLC-FLC 系统采用柱后 OPA 衍生阳离子交换剂法检测生物样品,例如人血浆和雄鼠脑组织中组胺含量。他们所采用的分步洗脱和最佳的柱后衍生条件能够避免繁琐的柱前样品处理和/或衍生程序。该方法与 REA 法之间有着良好的相关性^[17], 随后被广泛应用于例如人脑脊液^[6,8-9]、人脑组织^[25]、鼠脑组织^[26]等样品中组胺含量测定。Itoh 等人^[12]则对该方法进一步加以改进,采用离子对—HPLC 来代替阳离子交换—HPLC, 使得组胺测定灵敏度提高了 2~3 倍,并同时能够测定样品中包含(R)α-甲基组胺时的组胺含量(阳离子交换剂—色谱法则无法将组胺和(R)α-甲基组胺分离)。

在 HPLC 离子交换柱反应系统,当洗脱液中盐离子浓度较高时柱子会很快失活。为了解决该问题, Kuruma 等人^[13]采用一种反向细径柱(2.0 mm)代替离子交换柱,使得血浆中组胺检测灵敏度提高将近 4 倍。2003 年, Yoshitake 等人^[2]采用一种更细柱径的微径柱(1.0 mm), 对鼠脑微透析液中组胺进行检测也获得较理想结果。

近年来,超高效液相色谱仪(ultra performance liquid chromatography, UPLC)被逐

渐应用于生物样品中组胺含量的测定^[5,20-23]。UPLC 借助了 HPLC 原理,通过使用小粒径填料、超高压输液泵和高速检测器而全面提高分离效能。

2.3 衍生方法 组胺分子含有两个氨基基团,即-NH₂和-NH。组胺作为原始态的胺是弱荧光物质,因此采用荧光检测器检测组胺时需要对组胺进行荧光衍生。根据分离和衍生时间顺序,衍生包括柱前、柱上及柱后衍生法。柱上和柱后衍生法更容易实现测试自动化,但是会导致衍生产物峰型变宽^[10,15]而造成柱效降低。柱前衍生法需要在分析前对组胺或其衍生产物进行提取纯化^[12,24],因而较为耗时。常用的荧光衍生试剂有 OPA、丹酰氯、荧光胺、4-(1-芘)丁酸-N-羟基琥珀酰亚胺酯(4-(1-pyrene) butyric acid N-hydroxysuccinimide ester, PSE)等。丹酰氯所形成的衍生产物较为稳定,但是衍生反应较慢,即使在加热条件下,这种衍生反应也需要 15 min 以上。荧光胺介导的衍生反应则只需要几分钟,但是荧光胺的衍生产物不稳定。OPA 与组胺的衍生反应在 2-巯基乙醇(2-mercaptoethanol, ME)存在的反应体系里,室温下 30 s 内即可完成^[15],因此是目前最常用的荧光衍生试剂。

OPA 对一级氨基基团(-NH₂)具有选择性,但是对组胺没有特异性。用 OPA 进行衍生时容易受到内源性单胺类物质的干扰,因此测试前的样品处理过程比较繁琐、耗时^[14]。此外,组胺与 OPA 的衍生物的稳定性取决于 OPA 的浓度、pH 值、反应温度以及反应时间等^[27]。高浓度的 OPA 可以导致 HPLC 测定色谱基线不稳,柱效迅速降低^[16],因此需要将 OPA 浓度控制在一定范围内。碱性条件有利于组胺与 OPA 衍生反应的进行,但是衍生产物却不稳定,反应结束后应及时采用磷酸^[2,7,12]、硫酸^[8]或盐酸^[27]进行酸化以终止反应。研究发现,组胺在 25℃、碱性条件下衍生 4 min 后用酸终止反应可以产生较多的衍生物,超过 4 min 后衍生产物持续减少,37℃时则衍生物的形成和分解速率都增加。因此,在分析大量样品时,选择 25℃条件下衍生反应 4 min 后用酸终止反应的策略较为理想^[27]。

PSE 是茚类试剂,和通常的单体茚类衍生物在 370 ~ 420 nm 波长激发下产生荧光不同,PSE 可以和一级和二级氨基基团反应,形成具有激发态的聚合分子,在 450 ~ 540 nm 波长激发下产生荧光^[2,14,28]。相对于 OPA,该衍生剂对组胺具有较好的特异性,且衍生产物较为稳定。但是,该衍生剂所介导的衍生反应比较缓慢,在 100℃ 条件下加热 90 min 进行。该方法已经被用于测定人尿液^[14]、大鼠脑^[2]等生物样品中组胺含量。迄今为止尚缺乏用于测定脑脊液组胺水平的研究。

值得注意的是,4-溴苯基磺酰氯(4-bromobenzenesulfonyl chloride, 4-BBS)作为不同于上述荧光衍生剂的一种新型衍生剂,在组胺衍生化时仅能与一级氨基基团反应,而不与咪唑核上的二级氨基基团反应,从而避免形成稳定性低、重现性差的多重衍生产物。该化学衍生反应简单、快速、特异性好。Basseti 等人^[23]和 Croyal 等人^[21]近年来分别以 4-BBS 为衍生剂,采用 UPLC-MS/MS 测定人脑脊液内组胺含量,取得了较理想的结果。目前由于该套仪器设备较为昂贵,限制了它的广泛应用。

2.4 流动相的添加剂 在 HPLC 中,流动相中除了有机相外,还需要适量的添加剂,例如缓冲液、辛烷磺酸钠(sodium octane sulfonate, SOS)、三乙胺(triethylamine, TEA)、醋酸、四氢呋喃(tetrahydrofuran, THF)、三氟乙酸(trifluoroacetic, TFA)等,以调节流动相的酸碱性,消除重叠峰、拖尾峰、肩峰等。磷酸盐缓冲液具有较好的分离度,但是连续长期使用容易滋生微生物,造成色谱柱堵塞。醋酸盐缓冲体系在分离度方面略逊于前者,但是对分离效果无显著影响,并适于较长时间连续使用。SOS 是一种离子对剂,所带电荷与组胺和(R)α-甲基组胺相反,所以能相互结合形成疏水性离子对,在反向 HPLC 中非极性固定相中增加分配保留时间,增大容量因子,实现不同组分间的分离^[7,12]。TEA 能够防止组胺峰与试剂峰的重叠^[14,21]。THF 作为一种质子惰性溶剂或者非极性溶剂,加入到 OPA/ME 中可以稳定组胺衍生产物^[13,18]。

3 脑脊液中组胺含量的测定

有关 HPLC 测定脑脊液中组胺含量的研究目前还比较少,这和脑脊液内组胺含量很低,样本收集中存在多种干扰因素有关。研究者面临着建立通用、可靠、便捷而经济的测定方案的挑战。

Kiviranta 等人^[6]采用了 Yamatodani 等人^[17]的较为经典的组胺测定法,测定热惊厥儿童脑脊液中组胺含量,发现不伴有惊厥发作的发热儿童的脑脊液组胺浓度(0.69 ± 0.16) pmol/ml 明显高于热惊厥儿童(0.36 ± 0.07) pmol/ml。Nishino 等人^[8]测得正常对照人群的脑脊液组胺水平为(2.71 ± 0.45) pmol/ml。该方法检测限为 0.09 pmol/ml。Kanbayashi 等^[7]在该方案的基础上采用反向分离柱代替阳离子交换柱,并在流动相中添加 SOS 和甲醇,检测到正常人脑脊液中组胺浓度为(3.01 ± 0.20) pmol/ml,研究检测限为 0.09 pmol/ml。

Croyal 等人^[21]于 2011 年采用 UPLC-MS/MS 法,测定发作性嗜睡病患者脑脊液中组胺含量。该方法以 4-BBS 为衍生剂进行柱前衍生,之后进行反向液相色谱分离,并采用质谱仪检测。他们测得实验组和对对照组人群的脑脊液组胺浓度分别为(0.39 ± 0.06) pmol/ml 和(0.40 ± 0.07) pmol/ml,检测限为 0.0125 pmol/ml,因此是一种简单、快速、高灵敏度和高选择性的人脑脊液中组胺定量方法。Basseti 等人^[23]也采用该方法对人脑脊液中组胺水平进行测定,有发作性睡病症状和无发作性睡病症状的白天过度嗜睡(excessive daytime sleepiness)患者组胺水平分别为(0.31 ± 0.24) pmol/ml 和(0.22 ± 0.09) pmol/ml。

脑脊液收集过程中的各项条件也显著影响脑脊液中组胺含量的测定。脑脊液的采集方式有腰椎穿刺法、脑池穿刺法等,前者相对简单、安全,普遍应用于临床。Prell 等人^[29]报道腰椎穿刺法的脑脊液组胺含量能够反映脑内组胺的代谢变化,可能更具有临床意义。腰椎穿刺前一晚到穿刺手术期间个体需要有良好的休息并禁食^[30-31]。

Nishino 等人^[8]的研究结果表明,脑脊液的

收集时间对组胺含量没有显著影响。9:00 – 13:00 收集的脑脊液中组胺含量为 (2.59 ± 0.44) pmol/ml, 13:00 – 15:00 收集的脑脊液中组胺含量为 (2.97 ± 0.66) pmol/ml, 两者之间没有统计学差异。临床收集脑脊液大多都选择在上午进行^[30-32]。脑脊液样品的反复冻融会严重影响组胺含量。Nishino 等人^[8]发现, 经过一次冻融的脑脊液样品中组胺含量减少大约 6.9%, 而两次冻融后减少 44.4%。因此, 在脑脊液收集过程中应立即进行分装低温保存, 低温包括 -80°C ^[5, 7-9, 21, 23] 和 -70°C ^[6, 30, 30], 直到测试前才取出解冻。目前尚缺乏关于样品保存温度对于脑脊液内组胺含量影响的文献报道。脑脊液中某些蛋白成分或者血液污染也会影响组胺含量。实践中一般应用 60% 高氯酸除蛋白^[8, 17]。被血液污染的脑脊液中组胺含量明显升高^[7-9]。因此, 对于所收集的脑脊液样品除了需要在视觉上排除被血液污染, 还需要进行白细胞和红细胞计数。只有白细胞数量少于 $5 \times 10^6/\text{L}$ ^[6, 31] 和红细胞数量少于 $5 \times 10^8/\text{L}$ ^[31] 的脑脊液样品方可用于组胺含量测定。

4 结 语

测定脑脊液中组胺含量, 对于研究组胺参与与神经精神系统的生理和病理过程具有重要临床意义。由于脑脊液中组胺含量很低以及脑脊液样本收集过程存在诸多影响组胺测定的因素等原因, 目前尚未建立起可靠、便捷、经济适用的脑脊液组胺测定方法。常用的 HPLC 测定方法在分离柱的特点、衍生剂、检测器等方面都存在很大的改进空间, 而建立标准的脑脊液样本采集方法也是提高脑脊液组胺测定效果的关键因素。UPLC-MS/MS 测定组胺方法由于价格昂贵目前还未能得到广泛应用, 但是我们相信, 该方法可能会成为测定脑脊液中组胺含量的标准方法之一。

References:

- [1] BROWN R E, STEVENS D R, HAAS H L. The physiology of brain histamine [J]. **Prog Neurobiol**, 2001, 63(6): 637-672.
- [2] YOSHITAKE T, YAMAGUCHI M, NOHTA H, et al. Determination of histamine in microdialysis samples from rat brain by microbore column liquid chromatography following intramolecular excimer-forming derivatization with pyrene-labeling reagent [J]. **J Neurosci Meth**, 2003, 127(1): 11-17.
- [3] ITO C. The role of brain histamine in acute and chronic stresses [J]. **Biomed Pharmacother**, 2000, 54(5): 263-267.
- [4] JADIDI-NIARAGH F, MIRSHAFIEY A. Histamine and histamine receptors in pathogenesis and treatment of multiple sclerosis [J]. **Neuropharmacology**, 2010, 59(3): 180-189.
- [5] ZHANG Y, TINGLEY F D, TSENG E, et al. Development and validation of a sample stabilization strategy and a UPLC-MS/MS method for the simultaneous quantitation of acetylcholine (ACh), histamine (HA), and its metabolites in rat cerebrospinal fluid (CSF) [J]. **J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci**, 2011, 879(22): 2023-2033.
- [6] KIVIRANTA T, TUOMISTO L, AIRAKSINEN E M, et al. Histamine in Cerebrospinal-Fluid of Children with Febrile Convulsions [J]. **Epilepsia**, 1995, 36(3): 276-280.
- [7] KANBAYASHI T, KODAMA T, KONDO H, et al. CSF histamine contents in narcolepsy, idiopathic hypersomnia and obstructive sleep apnea syndrome [J]. **Sleep**, 2009, 32(2): 181-187.
- [8] NISHINO S, SAKURAI E, NEVSIMALOVA S, et al. Decreased CSF Histamine in Narcolepsy With and Without Low CSF Hypocretin-1 in Comparison to Healthy Controls [J]. **Sleep**, 2009, 32(2): 175-180.
- [9] SOYA A, SONG Y H, KODAMA T, et al. CSF histamine levels in rats reflect the central histamine neurotransmission [J]. **Neurosci Lett**, 2008, 430(3): 224-229.
- [10] OGURI S, YONEYA Y. Assay and biological relevance of endogenous histamine and its metabolites: application of microseparation techniques [J]. **J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci**, 2002, 781(1-2): 165-179.
- [11] TOYO'OKA T. Separation assay of histamine and its metabolites in biological specimens [J]. **Biomed Chromatogr**, 2008, 22(9): 919-930.

- [12] ITOH Y, OISHI R, ADACHI N, et al. A Highly Sensitive Assay for Histamine Using Ion-Pair Hplc Coupled with Postcolumn Fluorescent Derivatization - Its Application to Biological Specimens [J]. **J Neurochem**, 1992, 58(3): 884-889.
- [13] KURUMA K, SAKANO T. Highly sensitive determination of histamine by narrow-bore high-performance liquid chromatography using postcolumn fluorescence detection [J]. **Anal Sci**, 1999, 15(5): 489-492.
- [14] YOSHITAKE T, ICHINOSE F, YOSHIDA H, et al. A sensitive and selective determination method of histamine by HPLC with intramolecular excimer-forming derivatization and fluorescence detection [J]. **Biomed Chromatogr**, 2003, 17(8): 509-516.
- [15] PENG J F, FANG K T, XIE D H, et al. Development of an automated on-line pre-column derivatization procedure for sensitive determination of histamine in food with high-performance liquid chromatography-fluorescence detection [J]. **J Chromatogr A**, 2008, 1209(1-2): 70-75.
- [16] KIM N H, PARK Y, JEONG E S, et al. A liquid chromatographic method for the determination of histamine in immunoglobulin preparation using solid phase extraction and pre-column derivatization [J]. **Arch Pharm Res**, 2007, 30(10): 1350-1357.
- [17] YAMATODANI A, FUKUDA H, WADA H, et al. High-performance liquid chromatographic determination of plasma and brain histamine without previous purification of biological samples: cation-exchange chromatography coupled with post-column derivatization fluorometry [J]. **J Chromatogr**, 1985, 344: 115-123.
- [18] JENSEN T B, MARLEY P D. Development of an assay for histamine using automated high-performance liquid chromatography with electrochemical detection [J]. **J Chromatogr B Biomed Appl**, 1995, 670(2): 199-207.
- [19] KOYAMA J, TAKEUCHI A, TODE C, et al. Development of an LC-ESI-MS/MS method for the determination of histamine: application to the quantitative measurement of histamine degranulation by KU812 cells [J]. **J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci**, 2009, 877(3): 207-212.
- [20] KAWANISHI H, TOYO'OKA T, ITO K, et al. Hair analysis of histamine and several metabolites in C3H/HeNcrj mice by ultra performance liquid chromatography with electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry (UPLC-ESI-TOF-MS): influence of hair cycle and age [J]. **Clin Chim Acta**, 2007, 378(1-2): 122-127.
- [21] CROYAL M, DAUVILLIERS Y, LABEEUW O, et al. Histamine and tele-methylhistamine quantification in cerebrospinal fluid from narcoleptic subjects by liquid chromatography tandem mass spectrometry with precolumn derivatization [J]. **Anal Biochem**, 2011, 409(1): 28-36.
- [22] KAWANISHI H, TOYO'OKA T, ITO K, et al. Rapid determination of histamine and its metabolites in mice hair by ultra-performance liquid chromatography with time-of-flight mass spectrometry [J]. **J Chromatogr A**, 2006, 1132(1-2): 148-156.
- [23] BASSETTI C L, BAUMANN C R, DAUVILLIERS Y, et al. Cerebrospinal fluid histamine levels are decreased in patients with narcolepsy and excessive daytime sleepiness of other origin [J]. **J Sleep Res**, 2010, 19(4): 620-623.
- [24] MIYAMOTO Y, YOSHIMOTO R, YUMOTO M, et al. Simultaneous fluorometric measurement of histamine and tele-methylhistamine levels in rodent brain by high-performance liquid chromatography [J]. **Anal Biochem**, 2004, 334(1): 89-96.
- [25] RINNE J O, ANICHTCHIK O V, ERIKSSON K S, et al. Increased brain histamine levels in Parkinson's disease but not in multiple system atrophy [J]. **J Neurochem**, 2002, 81(5): 954-960.
- [26] XU A, SAKURAI E, KURAMASU A, et al. Roles of hypothalamic subgroup histamine and orexin neurons on behavioral responses to sleep deprivation induced by the treadmill method in adolescent rats [J]. **J Pharmacol Sci**, 2010, 114(4): 444-453.
- [27] PREVIATI M, RASPADORI A, BERTOLASO L, et al. Determination of histamine in the whole blood of colon cancer patients [J]. **J Chromatogr B**

Analyt Technol Biomed Life Sci,2002,780(2): 331-339.

[28] YOSHIDA H, ICHINOSE F, YOSHITAKE T, et al. Simultaneous determination of histamine and histidine by liquid chromatography following intramolecular excimer-forming fluorescence derivatization with pyrene-labeling reagent [J]. **Anal Sci**,2004,20(3):557-559.

[29] PRELL G D, KHANDELWAL J K, BURNS R S, et al. Histamine metabolites in cerebrospinal fluid of the rhesus monkey (Macaca mulatta): cisternal-lumbar concentration gradients [J]. **J Neurochem**,1988,50(4):1194-1199.

[30] MANN J J, MALONE K M. Cerebrospinal fluid amines and higher-lethality suicide attempts in depressed inpatients [J]. **Biol Psychiat**,1997,41(2):162-171.

[31] BLENNOW K, WALLIN A, GOTTFRIES C G, et al. Concentration gradients for monoamine metabolites in lumbar cerebrospinal fluid [J]. **J Neural Transm Park Dis Dement Sect**,1993,5(1):5-15.

[32] MOTAWAJ M, PEOC'H K, CALLEBERT J, et al. CSF levels of the histamine metabolite telemethylhistamine are only slightly decreased in Alzheimer's disease [J]. **J Alzheimers Dis**, 2010,22(3):861-871.

[责任编辑 张荣连]

=====

(上接第 680 页)

[7] PAN Zhao-yong, LIU Wei, ZHANG Yong-fa (潘兆永, 刘伟, 张永法). Two cases of brucellosis in children with the first symptom of hyperpyretic convulsion [J]. **Chinese Pediatric Emergency Medicine(中国小儿急救医学)**,2006,13(1):77. (in Chinese)

[8] WANG Jing, WANG Wei-ping, LI Bao-guang, et al (王晶, 王维平, 李宝广, 等). One case of brucellosis with features of cerebral infarction [J]. **Journal of Brain and Nervous Diseases(脑与神经疾病杂志)**,2010,18(5):394. (in Chinese)

[9] ZHANG Min-sheng, ZHANG Rong-sheng (张敏生, 张荣胜). One case of brucellosis misdiagnosed as cervical lymph node tuberculosis [J]. **Chinese Journal of Infectious Diseases(中华传染病杂志)**,1998,16(1):16. (in Chinese)

[10] SU Gui-hua, DONG Fen, LIU Jiao (苏桂华, 董芬, 刘姣). One case of brucellosis misdiagnosed as drug hepatitis [J]. **Clinical Misdiagnosis and Mitherapy(临床误诊误治)**,2005,18(12):871. (in Chinese)

[11] LIN Tao, LIN Ai-jun (林涛, 林爱俊). One case of brucellosis misdiagnosed as biliary ascariasis [J]. **Chinese Journal of Infectious Diseases(中华传染病杂志)**,2003,21(3):191. (in Chinese)

[12] LIU Zhi-zhen, LI Cheng-bai, JIANG Wei-li (刘志桢, 李成柏, 蒋伟立). One case of brucellosis misdiagnosed as lymphoma [J]. **Jilin Medical Journal(吉林医学)**,2008,29(7):615. (in Chinese)

[13] HUANG Zhao-wei, YANG Bin, WANG Ling (黄朝伟, 杨斌, 王玲). One case of brucellosis misdiagnosed as rheumatic heart disease [J]. **Chinese Journal of Misdiagnostics(中国误诊学杂志)**,2006,6(24):4785. (in Chinese)

[责任编辑 张荣连]