

· 思路与方法学 ·

血栓素B₂[¹²⁵I]放射免疫分析及其应用

解放军总医院基础所生化研究室 杨梅芳 汪 钟* 黄如松* 马三元 董小军

血栓素A₂(TXA₂)和前列环素(PGI₂)为两种作用截然相反的活性物质,在生理状态下两者维持动态平衡,当平衡破坏时可能导致血小板聚集、血栓形成、血管痉挛等病理改变,这常常是临床血栓证发生发展的重要原因。

体内这两种物质极不稳定, TXA₂可迅速降解为血栓素B₂(TXB₂), PGI₂则分解为6-酮-前列腺素F_{1α}(6-keto-PGF_{1α})。通过放射免疫分析(RIA)测定TXB₂和6-keto-PGF_{1α}含量可以反映其前身物质TXA₂与PGI₂的体内水平。本文建立了用¹²⁵I标记TXB₂RIA,并进行了初步应用。

实验结果表明: TXB₂抗血清特异性高,与PGF_{2α}、PGE_{1α}、PGE₁、PGA₁、6-keto-PGF_{1α}、PGB₁、13,14,2H,15-keto-PGF_{1α}等7种前列腺素的交叉反应均<0.42%,用此TXB₂抗血清做10条标准曲线,测定范围为2.50~160pg/管,0pg管结合率为34.8±1.4%(M±SD),抗血清亲和常数为2.44×10¹⁰L/mol,冷回收率为94.7±7.0%~106±13.1%,批内变异6.4%,批间变异11.8%。上述各放射免疫测定指标均达到RIA要求。同时采用国产¹²⁵I和英国Amersham公司生产的¹²⁵I标记TXB₂,所测得的比活性、结合率、非特异结合均相近似。

用本法测定了17例正常人血浆TXB₂含量,其值

为143.5±8.8pg/ml,14例正常人尿液TXB₂含量为229.9±14.4pg/min,8例冠心病患者血浆TXB₂值为245.4±38.0pg/ml,11例心肌梗塞患者尿液TXB₂值为472.4±72.4pg/min,上述样品同时还用³H-TXB₂RIA进行测定,二者相关良好。此外,还测定了口服阿斯匹林(0.3g,2次/日,共3日)前和后的正常人血浆和尿液(剂量减半)TXB₂含量,其值分别为256.8±21.1和179.5±12.2pg/ml,229.0±14.4和163.0±23.6pg/min,与文献报告结果相符。

此外,我们还应用 [¹²⁵I]-TXB₂、 [¹²⁵I]-6-keto-PGF_{1α} RIA观察了大鼠口服脑益嗪(200mg/kg)和静脉注射毛冬青甲素(25mg/kg)后血小板生成TXB₂及主动脉环生成6-keto-PGF_{1α}含量的影响。结果表明:脑益嗪对大鼠血小板生成TXB₂和主动脉环生成6-keto-PGF_{1α}的水平与生理盐水对照组相比无明显差异。毛冬青甲素组大鼠血小板生成TXB₂水平明显低于生理盐水对照组,其值分别为0.37±0.03ng/10⁹血小板及2.68±0.36ng/10⁹血小板,而对主动脉环生成6-keto-PGF_{1α}含量虽有轻微的抑制作用(毛冬青甲素组6-keto-PGF_{1α}值为5.84±1.29ng/mg/3min,生理盐水对照组为7.90±0.98ng/mg/3min),但两组之间相比无明显差异。因此,毛冬青甲素是环加氧酶抑制剂,还是TXA₂合成酶抑制剂,尚待进一步研究。

6-酮-前列腺素F_{1α}[¹²⁵I]放射免疫分析及初步应用

解放军总医院基础所生化研究室 汪 钟* 李振甲 朱国强* 安 岩* 胡艳华*

建立用 [¹²⁵I] 6-酮-前列腺素F_{1α}(6-keto-PGF_{1α})放射免疫分析法对研究血栓证及活血化瘀药物与前列腺素的关系具有重要的意义。我们用 [¹²⁵I] 标记6-keto-PGF_{1α}、制备6-keto-PGF_{1α}抗血清,建立了 [¹²⁵I] 6-keto-PGF_{1α}放射免疫分析法,并用这种方法进行了人体及动物实验,结果表明6-keto-PGF_{1α}抗血清亲和常数为1.48×10¹⁰L/mol,0pg管结合率为35.0±6.69%,与PGA、PGB、PGD、PGF_{1α}、15-keto-PGF_{1α}、PGF_{2α}及TXB₂的交叉反应均<0.5%。样品测定的最小检测值为10.0pg/管,批内变异系数为

8.1%,批间变异系数为8.9%,回收率为101±12.2~110±26.8%。用此方法测得17名正常人血浆6-keto-PGF_{1α}平均值为204.6±12.2pg/ml,27名正常男性尿液6-keto-PGF_{1α}平均值为319.6±25.4pg/ml,14名正常人服用阿斯匹林,每日2次,每次0.3g,共3天,服药前后血浆6-keto-PGF_{1α}含量的平均值分别为218.9±20.1和134.6±6.1pg/ml。另14名正常男性服阿斯匹林,每日1次,每次0.3g,共3天,服药前和后留取尿样,其6-keto-PGF_{1α}平均值分别为275.4±42.2和159.8±25.2pg/ml。动物实验结果表明:正常家兔血浆6-keto-PGF_{1α}含量为375.0±159.2pg/ml,而高胆固醇血症家兔含量为286±46.8

*中国医学科学院基础医学研究所药理室