

内源性 地高辛样免疫活性物质的考察

李开鑫 于 阔 李 文 郑赞元 林月华 俞 丹

(厦门市第一医院, 厦门 361003)

摘 要 采用不同两种放射免疫试剂盒测定正常人和孕妇脐带血清中 DLIS。发现由于试剂盒的不同及不同血清, 其测定值存在一定差异。同时考察了北京北方同位素试剂盒在采用二次放免法时对血清中 DLIS 干扰的消除程度。

关键词 放射免疫测定 DLIS 二次放免法

地高辛(Digoxin)是临床上广泛用于充血性心力衰竭和室上性心动过速的强心甙药物之一。其治疗剂量接近中毒量, 正常治疗范围 $0.8-2\text{ng/ml}^{[1]}$ 。目前, 常用 RIA, FPIA, EMIA 等方法测定其血药浓度, 但由于体内存在内源性 Digoxin 样免疫活性物质(Endogenous Digoxin-Like Immuno-reaction Substance, DLIS), 和 Digoxin 抗体有交叉反应, 妨碍 Digoxin 的准确测定。近年来, 国外对 DLIS 的研究较多^{(2)~(4)}, 并建立许多消除 DLIS 干扰方法。而国内报道尚处少见。由于人

种和试剂盒的不同, 我们就此方面做一个初步探讨。

实验材料和仪器

血源正常人血清来自本院正常体检合格者(由检验科提供)。孕妇脐带血清来自本院正常顺产孕妇脐带血(由妇产科提供)

试剂盒: (1)北京北方免疫试剂研究所提供; 产品号 RK-8608。(2)天津德普生物和医学产品有限公司提供; 产品号 TKDI1。

仪器: FJ-2011微机放免测量仪(西安国营二六二

实验方法与结果

1 比较不同试剂盒, 不同血清所测 DLIS 值。

1.1 收集正常健康体检者血清和正常顺产孕妇脐带血清, 收藏于 $\sim 20^{\circ}\text{C}$ 冰箱

1.2 分别根据放免试剂盒的方法说明测定以上两种不同血清中 DLIS 值、详见表 1

1.3 比较各组之间的结果, 详见表 2

2 二次放免法⁽⁵⁾⁽⁶⁾测定不同浓度的 DLIS 血清

2.1 收集15例血清, 其 DLIS 浓度在 $0-0.9\text{ng/ml}$

2.2 均衡放免分析法(A法): 按北京北方免疫试剂盒方法说明操作(温高条件为 37°C , 30 min)

2.3 非均衡放免分析法(B法): 将抗体和抗原(含

	例数	$\bar{x}(\text{ng/ml})$	S	$\bar{x} \pm 1.96S_x$
1. 脐带血清 (北方试剂盒)	27	0.67	0.268	0.67 ± 0.101
2. 正常人血清 (北方试剂盒)	21	0.55	0.197	0.55 ± 0.084
3. 脐带血清 (德普试剂盒)	22	0.05	0.069	0.05 ± 0.029
4. 正常人血清 (德普试剂盒)	28	0.04	0.069	0.04 ± 0.025

DLIS 血清 50 μl)混合, 37°C 温高18 h后, 加标记, 固相二抗进一步温育30 min, 以下操作同A法。

2.4 比较A法与B法所测定的值, 做回归曲线。结果详见表 3。

表2 各组值之间的两两比较

比 较	$\bar{x}_A - \bar{x}_B$	组 次	$S\bar{x}_A - \bar{x}_B$	$Q_c = \frac{\bar{x}_A - \bar{x}_B}{S\bar{x}_A - \bar{x}_B}$	Q 值界限		结 果
					$p = 0.05$	$p = 0.01$	
1—4	0.63	4	0.0334	18.86	3.74	4.60	☆☆
1—3	0.62	3	0.0353	17.57	3.40	4.28	☆☆
1—2	0.12	2	0.3574	3.357	2.83	3.76	☆
2—4	0.51	3	0.03546	14.38	3.40	4.28	☆☆
2—3	0.50	2	0.03748	13.38	2.83	3.76	☆☆
3—4	0.01	2	0.03500	0.29	2.83	3.76	

☆☆ $P < 0.01$ ☆ $P < 0.05$

表3 A法与B法所测定DLIS值比较

样品数 (ng/ml)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
A 法	0	0.18	0.26	0.31	0.37	0.47	0.40	0.54	0.60	0.66	0.70	0.78	0.75	0.85	0.90
B 法	0	0.12	0.33	0.19	0.37	0.40	0.23	0.52	0.60	0.49	0.64	0.58	0.66	0.76	0.78

讨 论

1 采用北京北方地高辛放射免疫测定盒测定不含地高辛的正常人血清和孕妇脐带血清, 其测定值分别为 $0.55 \pm 0.084\text{ng/ml}$ ($n = 21$), $0.67 \pm 0.101\text{ng/ml}$ ($n = 27$)天津德普试剂盒的 DLIS 测定值为 $0.04 \pm 0.025\text{mg/ml}$ ($n = 28$), $0.05 \pm 0.029\text{ng/ml}$ ($n = 22$)。可见, 不同 Digoxin 试剂盒对 DLIS 敏

感性不同。对于北方同位素试剂盒, 其孕妇脐带血清中 DLIS 值大于正常人血清中 DLIS 值。对于德普试剂盒, 两种血清中 DLIS 测定值无显著性差异, 以上一系列数据表明, 进口天津德普试剂在对 DLIS 交叉反应程度上优于国产北京北方试剂盒。

2 国外的 Pudeck⁽⁵⁾、国内的孙增先⁽⁶⁾等人报道过运用二次放免法消除 DLIS 的干扰, 他们研究表明 B 法能使 DLIS 交叉反应减少 20—60% 我们所

得出减少13.8%。各组测定的结果差距如此大,主要是由于试剂盒的不同,反应条件的差别,Pudek和孙增先等人所测定的DLIS是用葡聚糖树脂分离,浓缩提纯的。该法操作较复杂,我们直接测定血清中DLIS值,方法简单,而且测定条件更接近临床测定地高辛的方法。

3 由于放射免疫测定法是一种竞争性反应法。而DLIS的竞争性略低于Digoxin,因此单独DILS存在与和Digoxin同时存在对放免测定值影响就有可能存在不同,所以我们认为将来有必要进一步探讨在地高辛存在下DLIS值的影响。

参 考 文 献

- 1 陈刚主编. 治疗药物监测. 第一版. 北京: 人民军医出版社, 1985, 316—324.
- 2 Gldeon Koron MD, Dan Farine MD, David Maresicy MD et al Significance of the Endogenous digoxin-like substance in infants and mothers. Clin Pharmacol, 1984, 12, 759—764

- 3 Roland Valdes, Jr and Steven W. Graves Protein Binding of Endogenous Digoxin-immunoactive factor in Human serum and its variation with clinical condition. J Clin Endocrinol Metab, 1985, 60, 1135—1143.
- 4 Janine Denis Cook, Thomas R Koch, Michael S, Cook et al. Inaccuracies in Digoxin Measurement Clin Biochem. 1988, 21, 353—357.
- 5 Morris R. Pudek, David W. Seccombe, Beryl E. Jacobson et al. Effect of Assay Conditions On Cross Reactivity of Digoxin-like Immunoreactive Substances with Radioimmunoassay. Kit. Clin Chem, 1985 11, 1806—1810
- 6 孙增先. 二次放免分析法消除内源性 地高辛样免疫活性物对地高辛血浓度测定干扰. 中国医院药学杂志, 1993 13(9), 390