

A HAZAI GYÁRTMÁNYÚ ^{125}I -6-KETO-PROSZTAGLANDIN $\text{F}_{1\alpha}$ RIA KÉSZLET KLINIKAI VIZSGÁLATA

Gyertyánfy Géza¹, Földes János¹, Tóth Géza²

¹A Semmelweis Orvostudományi Egyetem I. Belklinikája, Budapest, Korányi S.u.
2/a, 1083

²A Magyar Tudományos Akadémia Izotópintézete, Budapest, Pf. 77, 1525

/Érkezett 1984. junius 4-én/

Napjainkban a biológia és az orvostudomány különös figyelemmel fordul a prosztaglandinok kutatása felé, mivel ezen vegyületek biológiai, illetve fiziológiai hatása egyre több folyamatban válik ismertté. Meghatározásuk egyaránt történhet vérből¹ /szérumból vagy plazmából/ és vizeletből. Kimutatásukra több kémiai eljárás, valamint radioimmunoassay ismeretes. Vizsgálatukat nehezíti kis mennyiségek, gyors lebontódásuk; így általában metabolitjaik kimutatása révén következtethetünk képződésükre. Rutinszerű kimutatásukat azonban többnyire megnehezíti azon körülmény, hogy vizsgálat előtt a prosztaglandinok nagy részét a vérből extrahálni, majd koncentrálni, illetve sokszor még kromatográfiás uton tisztítani is szükséges². Közvetlen meghatározásra még leginkább a vizeletből van lehetőség.

A prosztaglandin-család egyik legjobban vizsgált tagja a prosztaciklin/prosztaglandin I_2 , PGI_2 , amely a vérerekben képződik, jelentős értágító és trombocita-aggregációt gátló hatása van³. A többi prosztanoidokkal szemben nem inaktiválódik a tüdőben⁴, hanem döntően 6-keto-prosztaglandin- $\text{F}_{1\alpha}$ -vá /továbbiakban 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ / hidrolizálódik⁵, illetve enzimatikus uton biológiailag inaktiv anyagokká metabolizálódik a vesében és a májban⁶. Mivel a prosztaciklin kémiaileg instabilis, képződésére a 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ kimutatása utján következtethetünk.

Vizsgálataink első lépéseként tisztázni óhajtottuk azt, hogy a 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ kimutatására az MTA Izotópintézetében előállított készlet mennyiben alkalmaz klinikai vizsgálatokra. A vizeletben üritett 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ mennyiségét vizsgáltuk, annak tudatában, hogy az így üritett 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ -nak csak kb. 15%-a származik a keringésből¹, a többi a vesében képződött prosztaciklin terméke⁷. Vizsgálatainkkal tisztázni óhajtottuk azt, hogy az adott módszert alkalmazva egészséges egyén vizeletében mennyi a 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ -tartalom, és az mennyiben felel meg az irodalmi adatoknak.

VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

Az MTA Izotópintézete által kidolgozott és forgalomba hozott, RK-16 kódszámu RIA készletet használtuk. Feladatunk a készlet minőségi ellenőrzése és vele a vizeletben levő 6-keto-PGF_{1α} - amely a prosztaciklin stabilis metabolitja - meghatározása volt.

A készlet az alábbi reagenseket tartalmazza:

- liofilizált antiszerum /nyultól/,
- ¹²⁵I-dal jelzett 6-keto-PGF_{1α},
- foszfátpuffer-koncentrátum,
- liofilizált 6-keto-PGF_{1α} standard,
- dextránnal kezelt csontszénszuszpenzió.

A vizsgálat menetét az 1. táblázat szemlélteti.

1. táblázat

Az immunoassay menete

Ход иммуноанализа

Immunoassay protocol

Reagens	Cső				
	Standard	Minta	B ₀	NSB	Totál
Puffer	200	200	300	300	400
Standard	100	-	-	-	-
Minta	-	100	-	-	-
Nyomjelző	100	100	100	100	100
Antiszérum	100	100	100	-	-
Csontszénszuszpenzió	300	300	300	300	-
Vertelexeljük, másnap reggelig +4°C-on inkubáljuk					
Vertelexeljük, +4°C-on 15-20 percig centrifugáljuk					

Mérés után kiszámítjuk a B/B₀ százalékokat. A standardkoncentrációra vonatkozó B/B₀ százalékot a koncentráció függvényében szemilogaritmikus papiron ábrázolva felvesszük a mérőgörbét. A B/B₀ ismeretében az ismeretlen koncentráció a mérőgörbéről leolvasható.

Mivel a keresztreakciók ellenőrzését és az optimális ellenanyag-koncentráció beállítását az Izotópintézet elvégezte, vizsgálataink az alábbi szempontokra vonatkoztak:

1. a mérőgörbe statisztikai adatainak meghatározása és értelmezése, az NSB vizsgálata;

2. a módszer megbizhatóságának tanulmányozása inter- és intraassay-variációs koefficiens segítségével;
3. a visszanyerés vizsgálata;
4. a vizeletben levő 6-keto-PGF_{1α} mennyiségi meghatározása.

ERedmények

1. Husz készletet feldolgozva, a standard görbék mérési eredményeit a 2. táblázat szemlélteti. Az 1. ábrán egy mérőgörbét láthatunk.

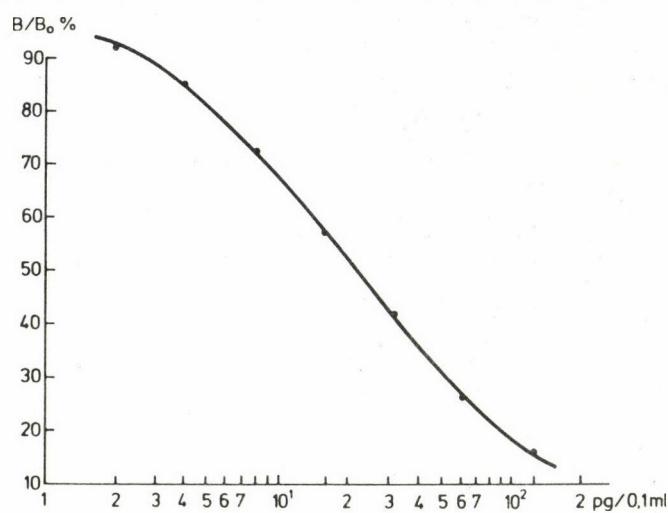
2. táblázat

6-keto-PGF_{1α}-mérőgörbék adatai

Данные по измерительным кривым 6-кето-ПГФ_{1α}

6-keto-PGF_{1α} measurement curves data

Koncentráció pg/0,1 ml	Átlagos kötődési %	SD	VK
500	5,04	0,556	11,007
250	9,39	1,007	10,728
125	17,55	20,59	11,736
62,5	28,74	2,348	8,169
31,25	44,97	2,589	5,757
16	62,09	4,304	6,932
8	78,62	3,960	5,036
4	89,43	2,476	2,768
2	94,61	2,779	2,937
0	31,72	3,755	11,840



1. ábra

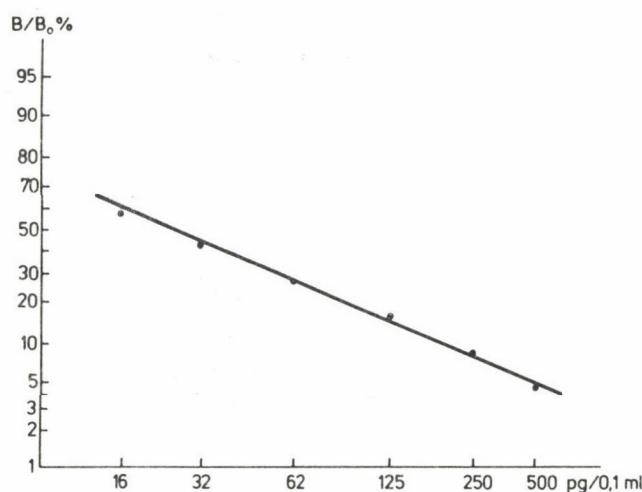
A 6-keto-PGF_{1α} standard görbéje

Измерительная стандартная кривая 6-кето-ПГФ_{1α}

Standard curve of 6-keto-PGF_{1α}

Látható, hogy a nulla koncentráció kötési százaléka átlagosan 31,72% volt, 11,84% variációs koefficiens mellett. Az egyes koncentrációkhöz tartozó kötési százalékok 5,04 és 94,61% között mozogtak, mik variációs koefficienseik 2,768 és 11,736 között voltak.

Ezután elvégeztük a logit-log egyenesen történő



2. ábra
Logit-log egyenes
Логит-лог прямая
Logit-log straight line

átlagosan 0,22% volt, de a 0,50% értéket csak egyetlen esetben lépte tul, akkor is csak 0,58% volt. Ha viszont a nulla koncentrációhoz viszonyítottuk, az NSB értéke 0,07 és 1,67% között volt, átlagosan 0,68%, de 1,5%-nál nagyobb értéket itt is csak egy esetben kaptunk, amely 1,67% volt.

ábrázolást, és a rá vonatkozó statisztikai számítást is. E számítás eredménye a 3. táblázatban, egy logit-log egyenes pedig a 2. ábrán látható.

A logit-log egyenes statisztikai adatai jó korrelációt és variációs koeficientet adnak. Külön ki kell emelni a logit-log egyenes nagy, mintegy 68°-os mere-dekségét.

Az NSB mértékét vizsgálva azt tapasztaltuk, hogy a totálaktivitásra számítva 0,02 és 0,58% között mozgott,

3. táblázat
A logit-log egyenes adatai
данные прямой логит-лог
Data of logit-log line

	Tartomány	Átlag
VK	1,637 - 6,985	3,274
r	0,9307 - 0,9990	0,9890
Iránytangens	- 2,252 és - 2,836 között	- 2,4761
szög /180° - α /	66,06 - 70,58	67,93
Érzékenység pg/0,1 ml	0,596 - 5,472	1,929

2. A módszer megbizhatóságát intraassay-variációs koeficienssel ellenőrizve, a kapott eredményeket a 4. táblázat szemlélteti.

3-100 pg/0,1 ml koncentrációhatárok között 50 méréssorozatot végezve, azok átlagos intraassay-variációs koeficiense 8,5% volt. Részlete-

sebben tekintve 3-20 pg/0,1 ml koncentrációhatárok között az átlagos variációs koefficiens 9,38% volt, míg 20 és 50 pg/0,1 ml koncentrációtartományban 9,64%. Az 50 pg/0,1 ml értéknél nagyobb koncentrációk átlagos variációs koefficiense 3,95% volt.

4. táblázat

Intraassay-eredmények

Данные интраизмерений

Intraassay data

Koncentrációhatárok	Átlagos VK	Átlagos SD
3-100 pg/0,1 ml n = 50	8,50	2,15
3-20 pg/0,1 ml n = 24	9,379	1,230
20-50 pg/0,1 ml n = 17	9,636	3,238
50-100 pg/0,1 ml n = 9	3,952	2,521

A hét alkalommal végzett interassay-vizsgálat eredménye az 5. táblázatban látható. Az interassay-variációs koefficiens 1,37 és 26,17% között változott, átlagosan 12,7% értékkel.

5. táblázat

Az interassay-eredmények

Данные интеризмерений

Interassay data

Sor-szám	n	Átlag pg/0,1 ml	SD	VK
1	3	5,65	0,843	14,92
2	4	7,72	0,574	7,43
3	3	14,55	0,200	1,37
4	5	17,15	2,232	13,02
5	4	23,82	4,838	20,27
6	5	25,09	6,566	26,17
7	5	51,63	2,954	5,72
Átlag		2,60		12,70

3. Fenti vizsgálatokat visszanyerési méréssel is kiegészítettük. E célra olyan vizeletmintákat használtunk, amelyek 6-keto PGF_{1α}-tartalma a kimutathatóság, 2 pg/0,1 ml alatt volt. Ezekből a készletben levő standard hozzáadása után 100, 50 és 10 pg/0,1 ml koncentrációjú oldatot készítetünk, és meghatároztuk 6-keto-PGF_{1α}-tartalmukat. Ezen meghatározások eredményét a 6. táblázat mutatja.

6. táblázat

A visszanyerési vizsgálat eredménye

Данные возвращения

Recovery data

Hozzáadott mennyiség	n	Átlag pg/0,1 ml	SD	VK
100 pg/0,1 ml	6	76,20	8,21	10,77
50 pg/0,1 ml	5	43,60	6,251	14,336
10 pg/0,1 ml	6	13,80	2,139	15,50

100 pg helyett átlagosan 76,2 pg-ot 10,77% interassay-variációs koefficiens mellett tudtunk kimutatni; 50 pg helyett a visszanyert mennyiség átlagosan 13,8 pg volt, az interassay-variációs koefficiens pedig 14,34%. A bemért 10 pg helyett átlagosan 13,8 pg volt kimutatható, 15,5% variációs koefficienssel.

4. Ezután elvégeztük kontroll egyének vizeletében levő 6-keto-PGF_{1α} meghatározását. A betegeket reggel nyolc órakor kivizeltettük, majd a kellő diurézis biztosítására két deciliter csapvizet adtunk. Ezt követően a betegek négy óra hosszat feküdték, és az ezalatt gyüjtött vizelet 6-keto-PGF_{1α}-tartalmát határoztuk meg. A vizelet mennyiségeinek ismeretében kiszámítottuk az összes üritett 6-keto-PGF_{1α} mennyiségét.

A kilenc kontroll egyénre vonatkozó eredményeket a 7. táblázat szemlélteti. Láthatjuk, hogy a négyórás vizeletürítés két szélső értéke 36,5 és 70 mg, átlagosan 50,226 mg volt, a variációs koefficiens 18,95%.

7. táblázat

Kontroll egyének 6-keto-PGF_{1α}-ürítése

Выделение 6-кето-ПГФ_{1α} контрольных пациентов

6-keto-PGF_{1α} clearance of control patients

Tartomány n/g/4 óra	36,585 - 70,217
Átlag /ng/	50,226
SD	9,518
Konfidenciahatárok	42,896 - 57,556

MEGBESZÉLÉS

A 6-keto-PGF_{1α} a PGI₂ metabolitja; 15%-a a keringésből származik^{1,8}, a többi az intrarenális prosztaciklin-szintézisre utal^{7,9}. Bár a vizeletben a 6-keto-PGF_{1α} mellett a PGI₂ egyéb metabolitjai is /pl. a 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α}/ kimutathatók¹⁰, a gyakorlatban csak az üritett 6-keto-PGF_{1α}-t határozzák meg, és ennek a mennyiségeből következtetnek a PGI₂ képződésére és metabolizmusára.

A testnedvek prostanoid-tartalmának radioimmunoassay módszerrel történő meghatározását bonyolulttá teszik a kivonásukra és tisztításukra ajánlott extrakciós és kromatográfiás eljárások², amelyek a vizsgálatot nehezítik, ugyanakkor a hiba lehetőségét is növelik. A prostanoidok, illetve metabolitjaik közvetlen kimutatására, úgy látszik, csak a vizeletben van lehetőség. Mitchell és munkatársai¹¹ megállapították, hogy a 6-keto-PGF_{1α} extrakció közben nagyfokú bomlást szenved, így közvetlen módszerrel való meghatározása nemcsak lehetséges, hanem ajánlatos is. A vizelet 6-keto-PGF_{1α}-tartalmát ennek alapján RIA módszerrel, megelőző extrakció és kromatografálás nélkül határoztuk meg.

Az általunk alkalmazott RIA módszer alkalmassnak látszik a 6-keto-PGF_{1α} meghatározására. Erre utalnak a kicsiny nem specifikus kötés és a mérőgörbe adatai. A módszer megbízhatóságát alátámasztják az intra- és interassay-variációs koefficiens értékei. Ezek megfelelnek Nadler és munkatársai vizsgálati eredményeinek¹². Mivel vizsgálataink végezésekor nem végeztünk extrakciót, illetve kromatografálást, különös gondot fordítottunk a visszanyerésre, amely az esetek többségében 76-87% között volt. Ilyen irányú vizsgálati eredményeink is megfelelnek McDonald és munkatársai¹³, valamint Ciobbatoni és munkatársai¹⁴ adatainak. Az emlitett szerzők 60-70%-os visszanyerést észleltek, noha ők a RIA-meghatározás előtt extrakciót végeztek.

A továbbiakban kontrollként szereplő egyéneknek a négy óra alatt üritett vizeletében meghatároztuk a 6-keto-PGF_{1α}-tartalmat, melynek átlaga 50 nanogrammnak bizonyult. Ciobbatoni és munkatársa¹⁴i a négy óra alatt üritett vizeletben 16-20 ng, Nadler és munkatársai¹² átlagosan 45 ng 6-keto-PGF_{1α}-t tudtak kimutatni.

Vizsgálati eredményeink alig nagyobbak az előbbi szerzők által megadott értékeknél, noha ők extrakciót és kromatográfiát is alkalmaztak a 6-keto-PGF_{1α} és a 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} elválasztására. A vizsgálati értékek között kis különbséget valószínűleg az adja, hogy a közvetlen meghatározással a 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α}-t is kimutattuk. Megelőző adatok ugyanis arra utalnak, hogy a 6-keto-PGF_{1α} kimutatására szolgáló RIA eljárás kb. 30% keresztreakciót ad a 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α}-val. Vizsgálati eredményeinket összegezve, megállapíthatjuk, hogy az általunk alkalmazott RIA eljárás a vizeletminta előzetes extrakciója nélkül is alkalmas az üritett 6-keto-PGF_{1α}-tartalom meghatározására.

IRODALOM

1. Zipser, R.D. et al.: Am. J. Physiol. 242 E /1982/ 171
2. Green, K. et al.: Advances in Prostaglandin and Thromboxane Research /Ed. J.C. Fröhlich 5 /1978/ 15
3. Lewis, P.J. et al.: Brit. Med. Bull. 39 /1983/ 281
4. Dusting, J. et al.: Brit. J. Pharmacol. 64 /1978/ 315
5. Cho, M.J. et al. Prostaglandins 15 /1978/ 943
6. Sun, F.F. et al.: Prostacyclins /Ed.: Vance, J.R., Berström, S./, Raven Press, 1979, 119.o.
7. Eröhlich, J.C. et al.: J. Chim. Invest. 55 /1975/ 763
8. Rosenkranz, B. et al.: J. Biol. Chem. 255 /1980/ 1094
9. Sraer, J. et al.: Prostaglandins 23 /1982/ 855
10. Rosenkranz, B. et al.: Kidney International 19 /1955/ 755
11. Mitchell, M.D. et al.: Prostaglandins and Medicine 6 /1981/ 437
12. Nadler, J. et al.: J.Clin. Endocr. 56 /1983/ 1260
13. McDonald, J. et al.: Brit. Med. J. 287 /1983/ 727
14. Ciobattoni, G. et al.: New Engl. J.Med. 310 /1984/ 279

*

Megállapítottuk a mérőgörbe statisztikai jellemző adatait; intra- és interassay-vizsgálattal kimutattuk a módszer megbízhatóságát. Meghatároztuk kontroll egyének vizeletében jelenlévő 6-keto-PGF_{1α} mennyiséget, amely az irodalomban található értékekkel egyezik. A RIA-készlettel előzetes extrahálás és kromatográfálás nélkül is meghatározható a vizelet 6-keto-PGF_{1α}-tartalma.

КЛИНИЧЕСКОЕ ИСПЫТАНИЕ РАДИОИММУНОЛОГИЧЕСКОГО НАБОРА 6-КЕТО-ПРОСТАГЛАНДИНА F_{1α} ВЕНГЕРСКОГО ПРОИЗВОДСТВА

Дьерьянфи, Г., Фольдеш, Я., Тот, Г.

Были определены статистические характеристики измерительной кривой; с помощью интер- и интраизмерений была исследована надежность метода и определена концентрация 6-кето-простагландина F_{1α} в мочевине. Набор пригоден для определения содержания 6-кето-простагландина F_{1α} в мочевине контрольных пациентов.

THE CLINICAL TESTING OF THE HUNGARIAN MADE ¹²⁵I-6-KETO-PROSTAGLANDIN F_{1α} RADIOIMMUNOASSAY KIT

Gyertyánfy, G., Földes, J., Tóth, G.

The statistical characteristics of the calibration curve were established; the reliability of the method was studied by means of inter- and intraassay variation coefficients and the 6-keto-PGF_{1α} content in urine of control patients was determined. The RK-16 kit seems to be applicable for the determination of 6-keto-PGF_{1α} in urine.

HIREK

A Magyar Szabványügyi Hivatal kiadásában megjelent az

ATOMTECHNIKA, GYAKORLATI SUGÁRVÉDELEM
című szabványgyűjtemény.

Ebben a kézikönyvben a szakterület azon magyar állami országos szabványai találhatók, amelyek az atomtechnikával és gyakorlati sugárvédelemmel kapcsolatos szakkifejezéseket, jelöléseket, jeleket, biztonsági technikával sugárzás elleni védelemmel, vizsgálati és mérési módszerekkel, radioaktiv készítmények, radioaktiv anyagok csomagolásával és szállításával, védelemtéhnikával, radioaktiv hulladékok kezelésével, dozimetriával kapcsolatos előírásokat tartalmaznak.

A szabványgyűjtemény ára 550 Ft.

Megrendelhető a következő címen:

MAGYAR SZABVÁNYÜGYI HIVATAL
Kiadói és Tájékoztatási Igazgatóság
Budapest, Pf 162. 1431

*

A Neumann János Számítógéptudományi Társaság Csongrád megyei Szervezete és Orvosbiológiai Szakosztálya ez év december 3-5. között rendezи meg Szegeden a

12. SZÁMITÁSTECHNIKAI ÉS KIBERNETIKAI MÓDSZEREK ALKALMAZASA AZ ORVOSTUDOMÁNYBAN ÉS A BIOLÓGIÁBAN

című kolokviumot, a Szegedi Orvostudományi Egyetem Számítástechnikai Központja szervezésében.

A már több mint egy évtizede rendszeresen megtartott rendezvény célja fórumot biztosítani a számítástechnika egészségügyi alkalmazásaival és a biomatematikai kutatásokkal foglalkozó hazai szakembereknek új eredményeik bemutatására és tapasztalataik kicsérélésére. A kolokviumot ezuttal először hirdették meg nemzetközi részvétellel; hivatalos nyelve magyar és angol. Az angol nyelvű előadásokhoz a rendezőség szinkrontolmácsolást biztosít.

Nagyfokú aktualitása miatt a kolokviumon kiemelt témaaként szerepel a mikroprocesszorok, mikroszámítógépek egészségügyben való alkalmazása.

További témakörök:

- egészségügyi informatika és adatfeldolgozás,
- adatelemző és biometriai módszerek,
- biológiai jelek feldolgozása,
- biológiai rendszerek matematikai modellezése és számítógépes szimulációja,
- számítógéppel segített orvosi diagnosztika, stb.

A kolokviumra jelentkezési lap és további információ a kolokvium szervezőbizottságától kérhető a következő címen:

Dr. Győri István, SZOTE Számítástechnikai Központ,
6720 Szeged, Pécsi u. 4/a., telefon: 62/11-084.