DOI:10.16016/j.1000-5404.1988.06.015

讨 论

采用一般形态学观察，不能区别放甲硅环妇女与对照组妇女子宫内膜有无形态学差异。而显微镜测量方法却显示放甲硅环妇女子宫内膜腺上皮高度降低、腺体数量减少、管腔直径减小，表明放甲硅环妇女子宫内膜受甲地孕酮抑制，与Jahannissan等[2]的结果相符。放环妇女排卵期内膜腺体管径与其增生晚期的比较有显著差异，可能是由于排卵期内膜腺体进一步弯曲和扩大的结果。

我们认为对子宫内膜的显微镜测量方法能进行定位、定性和定量分析，明显降低主观差异[3][4]。在临床科研、计划生育及生殖生理的研究中及对一些特殊妇科疾病的诊断中，此方法更为可靠、准确。

参 考 文 献

1. Noyes RW, et al. Dating the endometrial biopsy. Fertil Steril 1950; 1:3
2. Jahannissan E, et al. Endometrial morphology and peripheral steroid levels in women with and without intermenstrual bleeding during contraception with the 300 microgram Norethi-sterone (NET) minipill. Contraception 1982; 25:13
3. Jahannissan E, et al. Morphometric analysis of the human endometrium in relation to peripheral hormone levels. Fertil Steril 1982; 38:564
4. 朱莲第、唐敏一。正常增殖期子宫内膜形态学定量观察。中华妇产科杂志 1986; 21:302

(收稿：1987.12.21；修回：1988.7.1)

血浆和肺组织中5-羟色胺、5-羟吲哚醋酸荧光分光光度法的改进

尤忠义 唐成功（西南医院 烧伤研究所）

本文5-羟色胺和5-羟吲哚醋酸荧光测定法，是根据前人经验结合本室的条件加以改进[1][2][3]，改进后样品用量少，步骤简化，同时能测血浆和组织，方法稳定，重复性好，现将方法介绍如下：

材 料

一、试剂

1. 标准溶液：5-羟色胺及5-羟吲哚醋酸均用0.1N HCl配成400μg/ml母液。贮20℃冰箱，可保存4个月。应用时稀释为0.4μg/ml。

2. 酸性正丁醇：1000ml正丁醇中加少许NaCl饱和后再加入0.85ml HCl充分摇匀。

3. 正庚烷

4. 0.5mol pH7.0磷酸盐缓冲液

5. 硼酸缓冲液（pH10）

6. 0.02%$NaIO_4$

7. 0.5%半胱氨酸

8. 10%邻苯二甲醛

9. NaCl

二、仪器

1. 日立MPF-A型荧光分光光度计。

2. 低温高速离心机（日立20PR-52D型）。

3. 液体快速混合器。

4. 电水浴锅100℃。

方 法

（1）血样品处理：取全血1ml肝素抗凝，在3000×g 4℃离心20min，取血浆，按下述处理。

（2）提取：用5ml具塞离心管按表1操作。

（3）分离：用5ml具塞离心管按表2操作。

（4）荧光比色：用1×10cm试管按表3操作。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表1

试 剂ml	5-羟色胺			5-羟吲哚醋酸		
	血样	组样	内标	血样	组样	内标
血浆	0.2			0.2		
标准			0.2			0.2
组织(g)		0.2 磨匀浆			0.2 磨匀浆	
酸性正丁醇	2	2			2	2
0.5%半胱氨酸	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
硼酸缓冲液 0.1N HCl	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
NaCl (g)	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3

快速振荡15s，离心3000×g，4℃ 25min

充分混匀，立即放沸水浴锅中5min，取出后立即放入冰水中冷却，然后用荧光分光光度计测定：激发光波长355mμ，狭缝（5），发出光波长470mμ，狭缝（5）。测定上述各管萤光强度。

表2

试 剂ml	5-羟色胺			5-羟吲哚醋酸		
	血样	组样	内标	血样	组样	内标
上清液	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
正庚烷	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
0.1N HCl	1	1	1			
磷酸缓冲液				1	1	1

快速振荡15s后静置5min分层

表3

试 剂ml	5-羟色胺					5-羟吲哚醋酸				
	血样	组样	内标	内空	组空	血样	组样	内标	内空	组空
水相	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
11N HCl	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
				30'后加	30'后加				30'后加	30'后加
0.5%半胱氨酸	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
				30'后加	30'后加				30'后加	30'后加
0.2% OPT	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
	30'后加	30'后加	30'后加			30'后加	30'后加	30'后加		
0.02% $NaIO_4$	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1

（5）计算公式：

$$\frac{\text{样品荧光读数}-\text{组空荧光读数}}{\text{内标荧光读数}-\text{内空荧光读数}}\times\text{标准浓度含量}\times 5=\mu g/ml\ (g)$$

结果与讨论

根据本法用四川杂种狗34只，测定结果，血浆5-HT为0.12±0.07μg/ml，5-HIAA为0.35±0.16μg/ml，肺组织5-HT为0.17±0.09μg/g，5-HIAA为0.28±0.07μg/g。

我们测定样品时的内标准固定浓度为0.4μg/ml，肺组织为6μg/ml，统计20次结果，其变异系数(CV)分别为血浆5-HT6.37%，5-HIAA4.95%，肺组织5-HT2.42%，5-HIAA2.38%；其浓度与荧光强度关系成直线正比。回收率5-HT平均83.91%，5-HIAA平均82.73%，说明本法重复性稳定性好。

参考文献

1. Curzon G and Green AR. Rapid method for the determination of 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxyindoleacetic and in small regions of rat brain. Br J Pharmac 1970; 39:653
2. Miller FP, et al Comparatire effects of D-chloroamphetamine and P-chloro-N-methylamphetamine on rat brain dorepinephrine, serotonine and 5-hydroxyindole-3-acetic acid, Biochemical Pharmacology 1970;19:435
3. 中医研究院针灸研究所生化组。脑组织中5-羟色胺，5-羟吲哚醋酸，去甲肾上腺素和多巴胺的同时提取和荧光分光光度测定法。中医药研究参考 1975；20(9)：38

(收稿：1987.12.3；修回：1988.9.15)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net