新的胰腺分泌功能（BT—PABA）试验方法介绍

中心实验室：董解菊　肖瑞熙　李玉林
第二附属医院
内　　科：于世远　刘佑江　胡扬腾

胰腺分泌功能检查多系创伤性检查，操作复杂，结果判断差异亦大，常需数项检查综合分析方可获得较满意的结果，1972年Imondi[1]首先应用口服合成的N-苯甲酰-L-酪氨酰-对氨基苯甲酸（N-Benzoyl-L-tyrosyl-Paminobenzoic acid，简称BT-PABA）于胰腺分泌功能试验，BT-PABA经胰糜蛋白酶水解生成N-苯甲酰-L-酪氨酰与对氨基苯甲酸（PABA），后者经小肠吸收，肝内乙酰化，由肾排出。故测定尿中PABA排泄量可反映胰腺的分泌功能。参照有关资料[2][3]我们用重庆医药工业研究所合成的BT-PABA（暂名胰功肽），自1979年对实验进行了摸索和改进建立了尿中PABA测定方法，结果较满意，现介绍如下。

一、试验原理

PABA测定参照Smith改良Bratton-marshall法[2]PABA在酸性介质中经重氮化后与N-（甲-萘基）乙二胺产生偶联反应，生成红色的偶氮染料，与标准液比较，即可求得尿中PABA含量。

二、试剂

1．0.1%$NaNo_2$：先配成1%$NaNo_2$冰箱贮存，用时稀释10倍。

2．0.5%氨基磺酸胺。

3．3%及15%三氯醋酸。

4．1.2N盐酸及4 N盐酸。

5．显色剂：取双盐酸N-（1-萘基）乙二胺100mg溶于100ml 95%乙醇（分析片）溶液置棕色瓶中，冰箱保存，如出现沉淀需重新配制。

6．PABA标准贮存液：（1 ml=200μg）精确称取PABA200mg，溶于少量蒸馏水中，然后稀释至1000ml。

7．PABA标准应用液：（1 ml=5 μg）精确吸取上述标准贮存液2.5ml，置100ml容量瓶中，用1.2N盐酸液稀释至刻度。

三、操作方法

1．标本留取和水解：

（1）BT-PABA胶囊：精确称取BT-PABA500mg，（含PABA170mg）装入胶囊备用。

（2）嘱患者早晨服药前排尿，服药前三天停用磺胺，芳香族及噻嗪类药物，留少量标本作对照。口服BT-PABA500mg，饮水约250ml，收集服药后6小时尿液，混匀，记录总量，留取10ml待检。

（3）准确吸取对照和待检尿液各0.5ml，置入有10ml刻度试管内，加15%三氯醋酸2 ml，混匀，如有沉淀则过滤或离心再加4 N盐酸0.5ml，混匀，置沸水浴中水解15分钟，冷后蒸馏水补足10ml。

2．PABA总量的测定：

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

取（15×100mm）试管四支，按表进行操作，混匀10分钟后用550nm*以空白管校正光密度到零点，读取各管光密度。

表1 PABA 总 量 测 定 操 作 步 骤

	标准管（S）	测定管（u）	测定空白管（uB）	空白管（B）
PABA标准应用液（1ml=5μg）	1.0ml	—	—	—
水解后标本（6小时）	—	1.0ml	—	—
水解后标本（服药前）	—	—	1.0ml	—
3%三氯醋酸（或1.2N盐酸）	1.5ml	1.5ml	1.5ml	2.5ml
0.1%亚硝酸钠	0.25ml	0.25ml	0.25ml	0.25ml
	混匀放3—5分钟			
0.5%氨基磺酸胺	0.25ml	0.25ml	0.25ml	0.25ml
	混匀放2分钟			
显色剂：	1.5ml	1.5ml	1.5ml	1.5ml

四、计算

$$6\text{小时尿内PABA排出总量 (mg)} = \frac{\text{测定管光密度(u)} - \text{测定空白管光密度(uB)}}{\text{标准管光密度(S)}} \times 0.005\text{mg} \times \frac{40}{1} \times \text{尿量} = \frac{u-uB}{S} \times 0.2 \times \text{尿量}$$

$$6\text{小时尿内PABA排出率 (\%)} = \frac{6\text{小时尿内PABA排出总量 (mg)}}{170\text{ (mg)}} \times 100\%$$

五、结果与讨论

1．吸收光谱曲线：

取PABA标准液4微克显色后从480nm—620nm，每间隔20nm读取光密度一次作吸收曲线，最大吸收峰在550nm处。如图1。

2．线性关系：

取PABA标准液2微克—16微克按常法操作，显色后结果在2微克—14微克范围内显示线性关系良好，足够供临床使用的需要。见图2。

3．重复性：

我们用同一份尿标本连续进行3次观察（尿标本于4℃冰箱放置24小时）每次做3—4份测定，共得10个数据，经统计学处理，CV为0.72%。

4．呈色稳定性：

用一份尿标本呈色后，分别在不同时间内比色，呈色在11小时仍然稳定。

5．关于试剂配制问题：

（1）我们觉得爱格脱（Eckert）氏法系用蒸馏水溶解显色剂，存在着呈色混浊和迅速褪色的现象。用乙醇配制显色剂与甲醇相同均有呈色稳定的优点，因此我们改用乙醇配制。

（2）$NaNo_2$配浓10倍，放置冰箱，临用时稀释可延长使用时间。

* 本文所用均系721型分光光度计

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

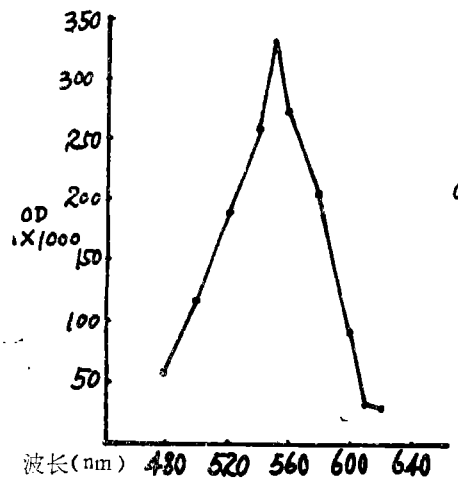


图1 吸收光谱曲线

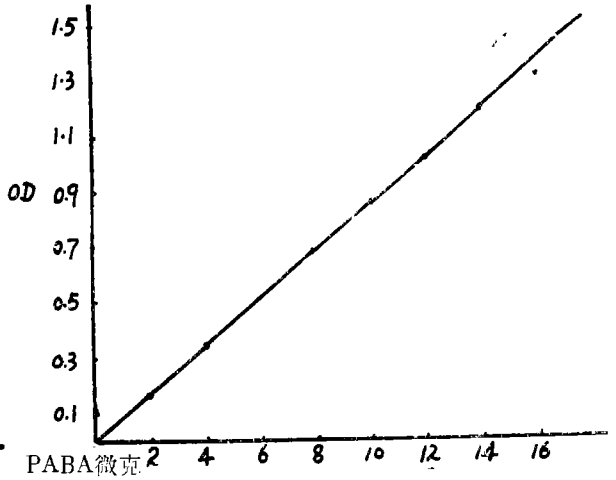


图2 线性关系

〈3〉本法采用三氯醋酸是为了除去尿中蛋白，同时在呈色时使标本酸化，维持pH在1—2，如尿中无蛋白，可用1.2N盐酸代替，除空白略有颜色外，与三氯醋酸对照结果相符。

6. pH值对呈色的影响：

同一标准液取四份，显色之前将pH分别调至1—2、4.5±、7±、9.5±，其光密度分别为0.36、0.135、0.003、0.0015，所以酸化使pH在1—2时再呈色甚为重要。（按本文操作方法即可达到此要求）。

7. 正常值：

用本法测定了30例健康人（本院工作人员）正常值为61.27±7.821%，范围45—77%，与国外报道基本一致[3][4]，重庆市国产胰功肽临床试用协作组测定108例健康人正常值为63.52±10.53%。

小　　结

本文报告了一个口服BT-PABA后，测定尿中PABA排出率作为非创伤性胰腺分泌功能检查的方法，此法操作简便，呈色稳定，重复性及线性关系良好，易于临床推广使用。

参 考 文 献

1. Imondi AR, et al. Gut 13:726—731, 1972
2. Smith HW, et al. J Clin Invest. 24:388—404 1945
3. 蔡宏道：实用临床检验学。上海宏文书局，636，1955年重版
4. Arvanitakis C, et al. Lancet 1:663—666, 1976
5. Gyr K, et al. Gut 17:27—32, 1976

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net