

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.06.021

溶血和脂血对血浆中抗凝血蛋白及纤溶系统的影响

李 蕾, 王培昌[△]

(首都医科大学宣武医院检验科, 北京 100053)

摘要:目的 探讨标本溶血和脂血对血浆中抗凝血蛋白和纤溶系统的影响。方法 用真空采血管抽取 50 例住院患者空腹静脉血各两管, 无黄疸、脂血、溶血, 即刻以 3 000 r/min 离心 10 min, 立即测定抗凝血酶Ⅲ(ATⅢ)、蛋白 C(PC)、蛋白 S(PS)、D-二聚体(D-Dimer)、纤维蛋白降解产物(FDP)水平, 作为对照组。然后每管分装 3 份, 同时制备不同水平溶血和脂血标本, 分别测定上述抗凝和纤溶指标, 与对照组结果进行比较。结果 不同程度溶血标本与对照组相比, 轻、中度溶血患者 5 种指标水平差异无统计学意义($P>0.05$); 重度溶血组 ATⅢ活性显著升高($P<0.05$), PC 活性显著降低($P<0.05$), 而 PS 活性、D-Dimer、FDP 水平差异无统计学意义($P>0.05$)。不同程度脂血标本与对照组相比, 轻、中度脂血患者 5 种指标水平差异无统计学意义($P>0.05$); 重度脂血组 ATⅢ活性显著降低($P<0.05$), PC 和 PS 活性、D-Dimer、FDP 水平显著升高($P<0.05$)。结论 为保证抗凝血蛋白活性和纤溶系统水平, 应严格控制分析前质量控制。

关键词:抗凝血酶Ⅲ; 蛋白 C; 蛋白 S; D-二聚体; 纤维蛋白降解产物

中图分类号:R446.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)06-0790-03

The effect of hemolysis and lipemia on anticoagulation protein activity and fibrinolytic system in plasma

LI Lei, WANG Peichang[△]

(Department of Clinical Laboratory, Capital Medical University

Xuanwu Hospital, Beijing 100053, China)

Abstract: Objective To investigate the influence of hemolysis and lipemia on anticoagulation protein activity and fibrinolytic system in plasma. **Methods** Blood from 50 inpatients by vacutainer were collected, without jaundice, lipemia and hemolysis. And the blood was centrifuged at 3 000 r/min for 10 minutes, which were selected as control group. Antithrombin Ⅲ (AT Ⅲ), protein C (PC), protein S (PS), D-Dimer, fibrin degradation product (FDP) level were detected. Then the left plasma were divided into three grades (mild, moderate and severe hemolysis) based on the level of hemoglobin, the concentrations of AT Ⅲ, PC, PS, D-Dimer, FDP were detected three times. The another left plasma were divided into three levels (mild, moderate and severe lipemia) based on the level of triglycerides, and the levels of AT Ⅲ, PC, PS, D-Dimer and FDP after adding the fat emulsion were determined. The results were statistically analyzed. **Results** There were statistically significances of AT Ⅲ and PC between control group and severe hemolytic group ($P<0.05$). There were no significances for PS, D-Dimer, FDP between control group and mild, moderate hemolytic group ($P>0.05$). There were statistically significances for AT Ⅲ, PC, PS, D-Dimer and FDP between control group and severe lipemia group ($P<0.05$). But there was no significance of the indicators between mild and moderate lipemia group ($P>0.05$). AT Ⅲ of severe lipemia had decreased significantly, while PC, PS, D-Dimer and FDP had increased significantly ($P<0.05$). **Conclusion** In order to guarantee the activity of anticoagulant protein and the level of fibrinolysis system, quality control before analysis should be strictly controlled.

Key words: antithrombin Ⅲ; protein C; protein S; D-Dimer; fibrinogen degradation product

检验前标本质量是影响血液相关指标检测结果准确性的关键因素。常规采血约有 3% 发生溶血, 多数来自急诊或重症监护室, 占不合格标本数量的 70%, 其原因在于错误操作或程序不当^[1]。脂肪乳剂在临床上作为胃肠外营养的使用日益增加, 导致临床工作中经常会遇到不同程度的脂血标本。此外高血脂患者增加以及急诊未空腹采血均可能致脂血标本。

目前溶血和脂血对常规凝血检测结果的影响已有较多报道^[2-4], 但对抗凝和纤溶检测结果影响的报道较少。因此, 本研究初步探讨不同程度溶血和脂血对抗凝及纤溶系统的影响, 旨在提高分析前标本质量控制, 保证检测结果准确可靠。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院 2018 年 4—6 月 50 例住

院患者。患者清晨空腹,按标准自肘静脉采集两管凝血标本,无溶血、黄疸、脂血。其中男 25 例,女 25 例;年龄 32~75 岁。

1.2 仪器与试剂 (1)STA-R EVOLUTION 全自动凝血分析仪。相关试剂:抗凝血酶Ⅲ(ATⅢ)、蛋白 C(PC)、蛋白 S(PS)、D-二聚体(D-Dimer)、纤维蛋白降解产物(FDP)、稀释液、CaCl₂、特殊清洗液(法国 DIAGNOSTICA STAGO 公司提供,批号分别为 253257、253854、253855、253314、252643、253297、253298、253266)。两个水平质控品(法国 DIAGNOSTICA STAGO 公司),仪器测定标本前均已通过质控(凝血质控批号:252095;系统质控批号:252678;D-Dimer 质控批号:252885;FDP 质控批号:252399)。(2)Sysmex XE2100 全血细胞分析仪。相关试剂:Sysmex 公司原装配套试剂及全血质控品(QC-81610810;QC-81610811)。(3)Hitachi7600 生化分析仪。相关试剂:三酰甘油试剂盒(中生北控生物科技有限公司,批号:181001)及两个水平质控品(Roche 公司,LEVEL1,批号为 16040101;LEVEL2,批号为 16038603)。

1.3 方法 入选标本采集后及时离心,3 000 r/min 离心 10 min,分离乏血小板血浆,立即测定 ATⅢ、PC、PS 抗凝活性及 D-Dimer、FDP 纤溶水平,以上数据作为对照组。检测完毕后,分别将两管凝血标本的上层血浆轻轻吸取等分于 3 个 EP 管内,用于制备溶血和脂血标本。(1)溶血标本的制备:将离心后的标本下层红细胞置于-20℃冷冻 30 min,取出融化,反复 3 次,3 000 r/min 离心 10 min,分别加上层溶血体积 20、40、60 μL 于 3 个 EP 管内混匀,制备成不同浓度的溶血标本,用 Sysmex XE2100 测其血红蛋白水平,然后用微量法在 STA-R 全自动凝血分析仪上测

定上述指标。(2)脂血标本的制备:分别将 5、10、15 μL 的脂肪乳加入 3 个 EP 管内混匀,制备成不同水平脂血,用 Hitachi7600 生化分析仪测定三酰甘油水平,然后用微量法在 STA-R 全自动凝血分析仪上测定上述指标。

1.4 统计学处理 采用 SPSS16.0 软件对本次研究所得数据进行分析。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 不同程度的溶血对抗凝蛋白活性和纤溶系统检测结果的影响 轻、中、重度溶血患者的血红蛋白水平分别为(1.65 ± 1.04)、(4.23 ± 1.15)、(7.94 ± 2.35)g/L。ATⅢ活性随血浆中血红蛋白水平的升高逐渐升高,而 PC、PS、D-Dimer、FDP 水平随血红蛋白水平的升高逐渐降低。其中与对照组相比,轻、中度溶血患者 PS、D-Dimer、FDP、ATⅢ、PC 水平差异无统计学意义($P > 0.05$);重度溶血组 ATⅢ活性显著升高($P < 0.05$),PC 活性显著降低($P < 0.05$),而 PS 活性、D-Dimer、FDP 水平与对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 不同程度的脂血对抗凝蛋白活性和纤溶系统检测结果的影响 对照组,以及轻、中、重度脂血患者的三酰甘油水平分别为(1.45 ± 0.72)、(3.65 ± 1.21)、(5.02 ± 2.64)、(8.43 ± 3.14)mmol/L。ATⅢ活性随血浆中三酰甘油水平的升高逐渐降低,而 PC、PS、D-Dimer、FDP 水平随三酰甘油水平升高逐渐升高。其中与对照组相比,轻、中度脂血患者 5 种指标水平差异无统计学意义($P > 0.05$);重度脂血组 ATⅢ活性显著降低($P < 0.05$),PC 和 PS 活性、D-Dimer、FDP 水平显著升高($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 溶血标本对抗凝蛋白和纤溶检测结果的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	ATⅢ(μg/mL)	PC(%)	PS(%)	D-Dimer(μg/L)	FDP(mg/L)
对照组	50	103.30 ± 20.69	100.10 ± 22.76	84.70 ± 27.76	2.95 ± 2.86	8.37 ± 4.70
轻度溶血组	50	104.50 ± 18.31	96.40 ± 23.29	80.20 ± 27.35	2.72 ± 2.83	7.46 ± 4.46
中度溶血组	50	116.30 ± 19.93	91.80 ± 23.09	75.10 ± 27.18	2.54 ± 2.67	7.42 ± 3.98
重度溶血组	50	127.20 ± 18.09*	82.40 ± 24.46*	69.10 ± 27.49	2.46 ± 2.54	7.03 ± 3.90

注:与对照组相比,* $P < 0.05$

表 2 脂血标本对抗凝蛋白和纤溶检测结果的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	ATⅢ(μg/mL)	PC(%)	PS(%)	D-Dimer(μg/L)	FDP(mg/L)
对照组	50	103.30 ± 20.69	100.10 ± 22.76	84.70 ± 27.76	2.95 ± 2.86	8.37 ± 4.70
轻度脂血组	50	98.60 ± 22.23	107.20 ± 22.90	89.50 ± 28.85	3.27 ± 2.85	9.12 ± 5.03
中度脂血组	50	89.20 ± 19.97	113.50 ± 22.35	95.10 ± 26.94	4.48 ± 2.88	11.13 ± 4.83
重度脂血组	50	82.20 ± 17.44*	120.90 ± 23.61*	108.20 ± 22.67*	5.97 ± 4.04*	13.53 ± 5.47*

注:与对照组相比,* $P < 0.05$

3 讨 论

ATⅢ和PC抗凝系统是体内平衡凝血过程、防止血栓形成的重要抗凝物质。ATⅢ负责血浆中约75%的抗凝作用^[5],而PC是除ATⅢ外机体的另一种重要的抗凝因子,占血液抗凝活力的20%~30%。抗凝蛋白的先天性或获得性缺陷使机体处于高凝状态并易发生血栓栓塞性疾病。抗凝蛋白活性检测是诊断抗凝蛋白缺乏最常用的手段,对血栓性疾病的病因诊断及预防具有重要意义。

D-Dimer是交联纤维蛋白的特异性降解产物,其生成增高反映了凝血和纤溶系统的双重激活,可作为体内血栓形成的重要指标之一^[6],也是目前鉴别原发性和继发性纤溶及监测溶栓治疗等方面颇有价值的重要指标。FDP是纤溶酶作用于纤维蛋白(原)后产生的分子大小、结构不同的降解产物,其生成水平升高表明机体纤溶活性亢进,对于诊断与治疗纤溶系统疾病及溶栓治疗监测有着重要意义^[7]。

鉴于以上抗凝和纤溶指标在临床中的重要作用,且本实验室接收标本量大,涉及病种多样,因此要严格控制分析前质量,尤其是溶血和脂血。本研究结果表明,轻、中度溶血和脂血对抗凝及纤溶系统的影响较小,而重度溶血对ATⅢ及PC活性均有显著影响($P<0.05$),对纤溶系统影响较小。重度脂血对抗凝和纤溶系统的检测结果均有显著影响($P<0.05$)。溶血和脂血对上述检验指标影响的原因可能为:(1)STA-R EVOLUTION全自动凝血分析仪具有磁珠凝固法、发色底物法、免疫比浊法3种不同的检测系统,ATⅢ和PC活性测定采用发色底物法检测,PS活性采用磁珠凝固法检测,D-Dimer和FDP采用免疫比浊法检测,因此不同检测方法对溶血和脂血的抗干扰能力有所差异^[8-10]。(2)标本溶血使血浆生物学活性发生了改变,导致血浆内的纤维蛋白原被激活转化为纤维蛋白;同时由于红细胞内离子(Na^+ 、少量 Ca^{2+} 、 K^+ 、 Fe^{2+} 等)和酶或蛋白质释放入血浆,导致检测血凝剂的 CaCl_2 、 BaSO_4 发生理化性质变化^[11],使血浆中凝血-抗凝系统和纤溶系统均发生变化。(3)脂血会导致吸光强度改变,进而透射光和散射光的强度也发生改变;并且脂血对血浆内血凝因子包裹使血凝试剂不能与血浆凝血因子充分反应,只能检测大部脂肪的吸光度^[12]。

综上所述,实验室应加强对分析前影响因素的控

制,严格按照标准操作规程进行标本的采集,避免由于临床抽血不当引起的溶血现象;对于高脂血症、临床应用脂肪乳的患者建议禁食12h,重复测量;而急性胰腺炎和肝癌患者可以采用高速离心法消除脂血,以提高检测结果的准确性和可靠性。

参考文献

- [1] 李健,侯军华. 标本因素与凝血功能试验质量保证[J]. 中华检验医学杂志,2013,36(3):286-288.
- [2] 陈亚,余娟春. 检验前标本质量对凝血检测结果的影响分析[J]. 检验医学与临床,2017,14(18):2760-2761.
- [3] 郑志友,徐玉兵,杨柳生. 溶血和脂血标本对凝血指标检测的影响因素探讨[J]. 临床输血与检验,2013,15(1):25-28.
- [4] 张丽仙. 溶血标本对活化部分凝血活酶时间测定的影响[J]. 检验医学与临床,2010,7(3):256-257.
- [5] JOHNSON D J, LI W, ADAMS T E, et al. Antithrombin-S195A factor Xa-heparin structure reveals the allosteric mechanism of antithrombin activation[J]. EMBO J, 2006, 25(9):2029-2037.
- [6] DI NISIO M, SQUIZZATO A, RUTJES A W, et al. Diagnostic accuracy of D-dimer test for exclusion of venous thromboembolism: a systematic review [J]. J Thromb Haemost, 2007, 5(2):296-304.
- [7] MORESCO R N, JUNIOR R H, CLÁUDIO ROSA VARGAS L, et al. Association between plasma levels of D-dimer and fibrinogen/fibrin degradation products (FDP) for exclusion of thromboembolic disorders [J]. J Thromb Thrombolysis, 2006, 21(2):199-202.
- [8] 马升俊. 免疫比浊法检测血浆D-二聚体的性能评价[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(5):602-604.
- [9] 郝建华,吕斌斌,高旭红,等. Stago Compact型血液凝固分析仪的抗干扰功能[J]. 国际检验医学杂志,2002,23(3):185-186.
- [10] 陈晓晴,林莉,苏士海,等. Stago-Compact型全自动凝血分析仪抗干扰能力探讨[J]. 实用医学杂志,2007,23(1):115-116.
- [11] 王莉,李耀军. 临产孕妇凝血功能检测的临床意义[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(4):1581.
- [12] 王秋菊,肖辉建,吴双,等. 探讨重度脂血高速离心后对凝血四项的影响[J]. 血栓与止血学,2014,20(6):336-338.

(收稿日期:2018-08-20 修回日期:2018-12-08)