

不同抗凝管对同型半胱氨酸测定结果的影响

何瑾, 姚勤, 王露婕, 张峻

(昆明医科大学第一附属医院临床药学科, 云南昆明 650032)

[摘要] **目的** 研究不同抗凝管采血对血浆总同型半胱氨酸 (tHcy) 的影响. **方法** 选取 6 名健康者, 空腹采集静脉全血样本, 分别用 EDTA-2K 管, 枸橼酸钠管和肝素锂管采血, 不同条件下保存, 用 HPLC 法定量测定 tHcy 的浓度, 用 SPSS 软件分析处理数据. **结果** 3 种抗凝管采血后, 即刻分离血浆后 4℃ 放置 2 h、4 h、7 h 以及 -20℃ 放置 1 d、3 d、5 d, 不同抗凝管血浆 tHcy 浓度差异无统计学意义; 此外, 3 种抗凝管采血后, 全血 4℃ 放置 2 h、4 h、7 h 后分离血浆测定血浆 tHcy 浓度, 不同抗凝管差异无统计学意义. **结论** EDTA-2K 管, 枸橼酸钠管和肝素锂管采血对测定的血浆 tHcy 浓度没有明显差异.

[关键词] 同型半胱氨酸; 高效液相色谱法; 稳定性

[中图分类号] R965 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095-610X (2013) 11-0018-03

Influence of Different Anticoagulant Tube on Measurement Results of Homocysteine

HE Jin, YAO Qin, WANG Lu-jie, ZHANG Jun

(Dept. of Clinical Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650032, China)

[Abstract] **Objective** To study the influence of different anticoagulant tube of blood for blood plasma total homocysteine (tHcy). **Methods** Six healthy subjects were selected, then the fasting venous blood samples were collected with EDTA-2k tube, pipe and lithium heparin sodium citrate blood, respectively. The blood samples were kept under different conditions. The concentrations of tHcy were determined by quantitative HPLC method and the data were analyzed using SPSS17.0 software. **Results** Under the conditions of 4℃ placed for 2 h, 4 h, 7 h, and -20℃ placed for 1 d, 3 d, 5 d after separating plasma, the concentrations of plasma tHcy in different anticoagulant tubes were no statistical difference. In addition, after placing the whole blood at 4℃ for 2 h, 4 h, 7 h, the concentrations of plasma tHcy of separated plasma in different anticoagulant tubes were no statistical differences. **Conclusion** There are no significant differences in determination of the concentration of plasma tHcy when using EDTA-2k tube, pipe and lithium heparin sodium citrate sampling blood.

[Key words] Homocysteine; High-performance liquid chromatography; Stability

越来越多的研究证实, 高同型半胱氨酸血症 (Hcy) 是多种心脑血管疾病的一个独立危险因素^[1]. 目前普遍认为健康人体中 tHcy 血浆浓度正常范围为 5~15 μmol/L, 多种疾病发生时, 血浆总同型半胱氨酸 (tHcy) 浓度也出现不同程度的升高, 如肺血栓栓塞症、肺动脉高压、肾脏疾病、糖尿病

等^[2-3], 所以 tHcy 的监测尤为重要. 然而, 目前国内有关同型半胱氨酸的检测方法研究比较多, 但是对于用不同采血管采集标本, 检测结果是否有影响, 报道的比较少^[4], 本研究对 3 种不同类型的采血管采集标本并检测 tHcy 比较其差异, 具体报告如下.

[基金项目] 云南省教育厅科学研究基金资助项目 (2010Y171)

[作者简介] 何瑾 (1980~), 女, 云南宣威市人, 医学硕士, 讲师, 主要从事临床药理学工作.

[通讯作者] 张峻. E-mail: zhangjunyang@126.com

1 材料与方法

1.1 样本来源

选取 6 名 (男女各 3 人) 健康者, 年龄 23 ~ 30 岁, 清晨空腹采集静脉血于 EDTA-2K 抗凝管, 枸橼酸钠抗凝管, 肝素锂抗凝管各 2 个管中, 每个管采集 3 mL 血。

1.2 仪器和试剂

600E 高效液相色谱仪 (美国 Waters)、0412-1 型低速离心机、9527-16 型子弹头离心机、GE-NIUS3 型自动涡旋混合器、CHN868pH 计 (梅特勒斯-托利多仪器 (上海) 有限公司)、AL104-LC 型电子天平 (梅特勒斯-托利多仪器 (上海) 有限公司)、HH-6 型数显恒温水浴锅、MTH-2800D 型氮吹仪。EDTA-2K 抗凝管, 枸橼酸钠抗凝管, 肝素

锂抗凝管均由美国 BD 公司生产。

1.3 检测方法

样品经还原、蛋白沉淀以及衍生等预处理后, 采用反相高效液相色谱荧光检测法测定血浆 tHcy 的浓度。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 软件, 用重复测量的方差分析的统计学方法对数据进行分析。检验水准为 $P=0.05$ 。

2 结果

2.1 3 种抗凝管 4℃ 血浆放置后 tHcy 比较

即刻分离血浆后, 3 种抗凝管放置 4℃ 冰箱保存 2 h、4 h、7 h 测定 tHcy, 采用重复测量的方差分析处理数据, 结果显示任意两种抗凝管间 tHcy 差异无统计学意义 ($P>0.05$), 见表 1。

表 1 3 种抗凝管 4℃ 血浆放置后 tHcy 比较 [$(\bar{x} \pm s)$, $\mu\text{mol/L}$]

Tab. 1 The concentrations of plasma tHcy in three anticoagulant tubes after placed at 4 °C [$(\bar{x} \pm s)$, $\mu\text{mol/L}$]

即刻分离血浆后 4℃ 放置时间	采血管		
	EDTA-2K	枸橼酸钠管	肝素锂管
即刻值	11.20 ± 4.39	9.00 ± 3.62	12.00 ± 4.56
2 h	11.23 ± 4.40	9.04 ± 3.55	11.96 ± 4.58
4 h	11.25 ± 4.50	9.23 ± 3.69	12.11 ± 4.63
7 h	11.72 ± 4.41	9.48 ± 3.70	12.50 ± 4.63

2.2 3 种抗凝管全血 4℃ 放置后血浆 tHcy 比较

3 种抗凝管采血后置于 4℃ 冰箱保存, 2 h、4 h、7 h 分离血浆测定 tHcy, 采用重复测量的方差分析方法, 结果显示任意两种抗凝管间 tHcy 差异无统计学意义 ($P>0.05$), 见表 2。

2.3 3 种抗凝管 -20℃ 血浆放置后 tHcy 比较

即刻分离血浆后, 3 种抗凝管放置 -20℃ 冰箱保存 1 d、3 d、5 d 测定 tHcy, 采用重复测量的方差分析方法, 结果显示任意 2 种抗凝管间 tHcy 差

异无统计学意义 ($P>0.05$), 见表 3。

3 讨论

Hcy 是人体必需氨基酸“蛋氨酸”的中间代谢产物, 在体内主要以还原型, 胱氨酸 (氧化型), 高半胱氨酸-高半胱氨酸及高半胱氨酸-胱氨酸二硫化物混合氧化型等形式存在, 在血浆中约 70% 与清蛋白结合成为结合型 Hcy, 通常所指的是

表 2 3 种抗凝管全血 4℃ 放置后血浆 tHcy 比较 [$(\bar{x} \pm s)$, $\mu\text{mol/L}$]

Tab. 2 The concentrations of plasma tHcy in three anticoagulant tubes after the whole blood placed at 4 °C [$(\bar{x} \pm s)$, $\mu\text{mol/L}$]

全血 4℃ 放置后分离血浆时间	采血管		
	EDTA-2K	枸橼酸钠管	肝素锂管
即刻值	11.20 ± 4.39	9.00 ± 3.62	12.00 ± 4.56
2 h	11.73 ± 4.58	9.24 ± 3.72	12.50 ± 4.85
4 h	11.95 ± 4.67	9.31 ± 3.69	12.68 ± 4.86
7 h	12.95 ± 4.82	9.97 ± 4.00	13.72 ± 5.53

表 3 3 种抗凝管 -20℃血浆放置后 tHcy 比较 $[(\bar{x} \pm s), \mu\text{mol/L}]$ Tab. 3 The concentrations of plasma tHcy in three anticoagulant tubes after placed at -20 °C $[(\bar{x} \pm s), \mu\text{mol/L}]$

即刻分离血浆后 -20℃放置时间	采血管		
	EDTA-2K	枸橼酸钠管	肝素锂管
1 d	11.67 ± 4.36	9.39 ± 3.53	12.40 ± 4.45
3 d	12.10 ± 4.96	9.41 ± 3.72	12.76 ± 5.02
5 d	12.08 ± 4.83	9.54 ± 3.58	12.48 ± 4.33

总的 Hcy 浓度 (tHcy) [5].

血浆 tHcy 浓度检测的可靠性, 需要考虑适合的采集方法, 合理的保存条件及时间以及适当的检测系统[6], 并且样品的收集、分离、保存不当可使测得的血浆 tHcy 浓度的不准确, 导致错误的结论, 干扰临床的诊断[7]. 本研究结果表明, 无论是在血浆还是全血中, 在 4 °C 保存条件下, 用 EDTA-2K 管、枸橼酸钠管或者肝素锂管 3 种抗凝管中任意一种抗凝管收集血样, 对测定的血浆 tHcy 浓度没有明显影响. 但考虑目前血浆 tHcy 浓度参考范围是用 EDTA-2K 管测定得到的, 故建议临床上最好还是采用 EDTA-2K 管来采血测定.

[参考文献]

[1] CLARKE R, STANSBIE D. Assessment of homocysteine as

a cardiovascular risk factor in clinical practice [J]. *Ann Clin Biochem*, 2001, 38(6):624 - 632.

[2] 朴春花. 同型半胱氨酸测定的临床意义[J]. *医学理论与实践*, 2009, 22(11):1 307 - 1 311.

[3] 鞠洪艳. 同型半胱氨酸的临床研究进展[J]. *中国医疗前沿*, 2010, 5(20):25 - 26.

[4] WILLEMS H P, BOS G M, GERRITS W B, et al. Acidic citrate stabilizes blood samples for assay of total homocysteine [J]. *Clin Chem*, 1998, 44(2):342 - 345.

[5] 史亚红, 徐翠杰. 同型半胱氨酸检测在临床上的应用 [J]. *检验医学与临床*, 2012, 9(1):58 - 60.

[6] NATALIA L D. Effects of anticoagulant and time of plasma separation on measurement of homocysteine [J]. *Clin Chem*, 2002, 48(4):665 - 667.

[7] 张淑芬, 牟福成. 标本保存不当造成“危急值”报告分析[J]. *中国中医药现代远程教育*, 2010, 8(22):156.

(2013 - 10 - 14 收稿)