

不同 EDTA 盐抗凝血对恶性肿瘤患者网织红细胞参数的影响

郑翠玲,姜萍,杜莹,程焱,齐军,韩晓红
(中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院肿瘤研究所,北京 100021)

摘要: [目的] 探讨不同 EDTA 盐抗凝血对恶性肿瘤患者网织红细胞(RET)参数的影响。[方法] 实验采用配对研究,分别使用含 EDTA-K2 和 EDTA-K3 抗凝剂的真空采血管采集 80 例肿瘤患者全血标本进行 RET 参数,包括网织红细胞(RET#),网织红细胞千分比(RET%),低荧光强度网织红细胞比率(LFR),中荧光强度网织红细胞比率(MFR),高荧光强度网织红细胞比率(HFR)和网织红细胞未成熟分数(IRF)的测定。采用配对 *t* 检验分析配对 EDTA 抗凝血中 RET 参数值的差异。[结果] EDTA-K2 抗凝血的 RET 参数(RET#=0.0805±0.0305,RET%=19.2±7.7,LFR=91.8±6.3,MFR=7.8±5.2,HFR=2.2±4.1,IRF=10.0±8.6)高于 EDTA-K3 抗凝血的 RET 参数(RET#=0.0628±0.0275,RET%=15.4±6.9,LFR=89.9±8.4,MFR=6.7±3.9,HFR=1.7±2.9,IRF=7.8±5.5),且差异具有统计学意义(*P*均<0.05)。EDTA-K2 和 EDTA-K3 抗凝血的 RET 参数在不同癌种患者之间比较差异无统计学意义(*P*>0.05)。[结论] 不同 EDTA 盐抗凝血对恶性肿瘤患者 RET 参数的检测结果存在一定影响。

关键词: EDTA 盐;肿瘤;网织红细胞参数

中图分类号:R730.23

文献标识码:A

文章编号:1004-0242(2014)11-0961-04

doi:10.11735/j.issn.1004-0242.2014.11.A019

Effects of Different EDTA Salts as Anticoagulants on Reticulocyte Parameters of Blood in Patients with Malignancy

ZHENG Cui-ling, JIANG Ping, DU Ying, et al.

(Cancer Institute/Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100021, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the effects of anticoagulated blood of different EDTA salts on reticulocyte (RET) parameters in patients with malignant tumor. [Methods] Comparative experiments were carried out, 80 whole blood samples were collected with different anticoagulants (EDTA-K2 and EDTA-K3, respectively) from patients with malignant tumors, and RET parameters including reticulocytes (RET#), the percentage of reticulocyte (RET%), low fluorescent reticulocyte ratio (LFR), medium fluorescent reticulocyte ratio (MFR), high fluorescent reticulocyte ratio (HFR), and the immature reticulocyte (IRF) were measured. Paired *t*-test was used to analyze the differences of RET parameters value between paired EDTA-anticoagulated blood. [Results] RET parameters of EDTA-K2 anticoagulated blood (RET#=0.0805±0.0305, RET%=19.2±7.7, LFR=91.8±6.3, MFR=7.8±5.2, HFR=2.2±4.1, IRF=10.0±8.6) were higher than those of EDTA-K3 anticoagulated blood (RET#=0.0628±0.0275, RET%=15.4±6.9, LFR=89.9±8.4, MFR=6.7±3.9, HFR=1.7±2.9, IRF=7.8±5.5) (*P* all<0.05). There were no statistical differences between EDTA-K2 anticoagulated blood from patients with different malignant tumors (*P*>0.05). Similarly, there were no statistical differences between EDTA-K3 anticoagulated blood samples obtained from patients with different malignant tumors (*P*>0.05). [Conclusions] Anticoagulated blood of different EDTA salts would have some influence on the detection results of RET parameters in patients with malignant tumors.

Key words: EDTA salts; tumor; reticulocyte parameters

血细胞分析仪对乙二胺四乙酸(EDTA)盐抗凝

的静脉血进行网织红细胞(RET)各项参数的检测在临床上得到了广泛的应用。EDTA 盐是国际血液学标准化委员会(ICSH)1993 年建议用作血液分析的

收稿日期:2014-07-30;修回日期:2014-09-19
基金项目:国家自然科学基金资助项目(81201357)
通讯作者:韩晓红, E-mail: xiaohonghan@hotmail.com

抗凝剂。目前,在血细胞分析仪上进行自动计数检测时,国内所采用的 EDTA 盐有 EDTA-K2 和 EDTA-K3 两种。然而,两种 EDTA 盐抗凝血在进行 RET 各项参数的检测时是否存在差异,国内尚无这方面的文献报道。本研究采用 SYSMEX 公司 XE-2100 全自动血细胞分析仪对 80 例恶性肿瘤患者的 EDTA-K2 和 EDTA-K3 抗凝的外周血的 RET 参数进行了检测和比较分析,现将结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

研究对象为 2012 年 8 月至 2012 年 11 月在中国医学科学院肿瘤医院就诊的经病理学确诊 80 例恶性肿瘤患者,其中男性 36 例,女性 44 例,年龄 30~90 岁,平均年龄 54.37 ± 12.07 岁。80 例肿瘤患者中,肺癌 22 例,乳腺癌 12 例,肠癌 10 例,卵巢癌 9 例,宫颈癌 7 例,肝癌 5 例,甲状腺癌 4 例,胰腺癌 4 例,喉癌 2 例,食管癌 2 例,膀胱癌 1 例,胃癌 1 例,肾癌 1 例。

1.2 仪器与试剂

SYSMEX 公司 XE-2100 全自动血细胞分析仪,以及配套试剂和全血细胞质控品,检测均在质量控制范围内。

1.3 检测方法

肿瘤患者空腹抽血,分别加入到含 EDTA-K2 和 EDTA-K3 抗凝剂试管各 2ml 送检,4h 内完成 RET 参数的检测,观察参数包括网织红细胞(RET#),网织红细胞百分比(RET%),低荧光强度网织红细胞比率(LFR),中荧光强度网织红细胞比率(MFR),高荧光强度网织红细胞比率(HFR)和网织红细胞未成熟分数(IRF)。

1.4 统计学处理

数据分析采用 SPSS17.0 统计学软件,计量资料数据以平均值 $\pm$ 标准差表示,两

组间均数比较采用配对 t 检验,双侧检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两种 EDTA 盐抗凝的网织红细胞参数比较

外周血各项网织红细胞参数,包括 RET#、RET%、LFR、MFR、HFR 和 IRF 的数据均为正态分布。比较各项网织红细胞参数在 EDTA-K2 抗凝血与 EDTA-K3 抗凝血中的结果,RET#、RET%、LFR、MFR、HFR 和 IRF 在两种抗凝血之间的差异均具有统计学意义(t 值分别为 3.193、7.994、2.592、3.901、3.238、2.543; P 均 < 0.05) (Table 1),并且 EDTA-K2 抗凝血的网织红细胞参数均高于 EDTA-K3 抗凝血。

此外,不同恶性肿瘤患者之间的网织红细胞参数的检测结果变异较大,比如 RET# 在 EDTA-K2 抗凝血中最大值为 0.1537,最小值为 0.0093,极差为 0.1444。在所有网织红细胞参数中,变异最大参数为 HFR。HFR 在 EDTA-K2 抗凝血中的最大值为 14,最小值为 0,极差为 14;在 EDTA-K3 抗凝血中的最大值为 20.9,最小值为 0,极差为 20.9。

2.2 不同肿瘤的网织红细胞参数比较

去除例数太少的膀胱癌、胃癌、肾癌,不同恶性肿瘤网织红细胞参数之间进行比较发现 EDTA-K2 抗凝血 (Table 2) 和 EDTA-K3 抗凝血 (Table 3) 的结

Table 1 Comparison of reticulocyte parameters of blood samples with different EDTA salts

Anticoagulants	RET#	RET%	LFR	MFR	HFR	IRF
EDTA-K2	0.0805 $\pm$ 0.0305	19.2 $\pm$ 7.7	91.8 $\pm$ 6.3	7.8 $\pm$ 5.2	2.2 $\pm$ 4.1	10 $\pm$ 8.6
EDTA-K3	0.0628 $\pm$ 0.0275	15.4 $\pm$ 6.9	89.9 $\pm$ 8.4	6.7 $\pm$ 3.9	1.7 $\pm$ 2.9	7.8 $\pm$ 5.5
t	3.193	7.994	2.592	3.901	3.238	2.543
P	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05

Table 2 Comparison of reticulocyte parameters of EDTA-K2 in patients with different malignant tumors

Tumor	RET#	RET%	LFR	MFR	HFR	IRF
Ovarian cancer	0.0757 $\pm$ 0.0296	18.9 $\pm$ 8.2	91.6 $\pm$ 4.9	6.8 $\pm$ 2.9	1.7 $\pm$ 2.2	7.9 $\pm$ 4.9
Breast cancer	0.0779 $\pm$ 0.0212	18.2 $\pm$ 8.1	92.7 $\pm$ 3.1	6.5 $\pm$ 2.6	1.8 $\pm$ 1.6	12.1 $\pm$ 10.8
Colorectal cancer	0.0849 $\pm$ 0.0238	20.0 $\pm$ 5.1	90.2 $\pm$ 3.5	7.8 $\pm$ 2.8	2.5 $\pm$ 1.8	9.6 $\pm$ 4.9
Cervical cancer	0.0791 $\pm$ 0.0311	18.8 $\pm$ 10.7	89.7 $\pm$ 5.3	8.4 $\pm$ 5.7	3.4 $\pm$ 4.3	12.5 $\pm$ 8.3
Liver cancer	0.0742 $\pm$ 0.0455	18.5 $\pm$ 11.5	92.5 $\pm$ 3.4	7.2 $\pm$ 3.1	1.3 $\pm$ 0.9	10.6 $\pm$ 6.7
Thyroid cancer	0.0836 $\pm$ 0.0133	18.0 $\pm$ 4.8	91.5 $\pm$ 2.8	7.9 $\pm$ 0.6	2.5 $\pm$ 1.8	10.3 $\pm$ 7.8
Pancreatic cancer	0.0855 $\pm$ 0.0280	20.5 $\pm$ 9.9	89.2 $\pm$ 6.6	8.1 $\pm$ 4.4	2.6 $\pm$ 2.6	10.7 $\pm$ 7.6
Lung cancer	0.0849 $\pm$ 0.0342	19.6 $\pm$ 8.6	92.3 $\pm$ 7.5	7.9 $\pm$ 4.2	1.7 $\pm$ 3.4	8.0 $\pm$ 6.5

Table 3 Comparison of reticulocyte parameters of EDTA-K3 in patients with different malignant tumors

Tumor	RET#	RET% _o	LFR	MFR	HFR	IRF
Ovarian cancer	0.0568±0.2820	15.3±8.4	92.1±4.8	5.3±2.9	1.2±2.5	6.5±4.8
Breast cancer	0.0618±0.0160	13.3±3.8	87.1±5.8	6.5±2.6	1.8±1.6	7.3±3.0
Colorectal cancer	0.0680±0.0220	16.4±5.2	90.3±4.9	8.5±2.8	1.5±1.8	9.7±3.5
Cervical cancer	0.0640±0.0290	18.0±9.8	82.5±5.4	10.8±5.7	3.1±2.3	11.7±10.3
Liver cancer	0.0500±0.0350	12.5±9.3	94.4±6.7	4.3±3.1	1.4±1.4	5.6±7.4
Thyroid cancer	0.0607±0.0286	13.0±5.1	93.7±5.7	5.0±2.3	1.2±1.8	5.5±1.7
Pancreatic cancer	0.0895±0.0126	20.6±2.1	84.1±10.3	8.1±4.4	2.6±2.4	10.8±6.6
Lung cancer	0.0615±0.0330	15.3±8.1	92.0±6.6	5.8±4.2	1.7±3.4	7.6±7.5

果差异无统计学意义($P>0.05$)。

各项参数在不同肿瘤间的结果还是有所不同的。RET# 和 RET%_o在胰腺癌中最高,MFR、HFR 和 IRF 在宫颈癌中最高,LFR 在肝癌中最高。

3 讨论

1993 年 ICSH 提出把 EDTA 盐作为血细胞分析的最佳抗凝剂^[1],EDTA 盐在临床上被广泛使用。近年来,全自动血球分析仪对 RET 参数的检测已经越来越被医生所重视,成为临床常规的检验项目。RET 是晚幼红细胞脱核后发育为成熟红细胞(RBC)过程中细胞质内含有残留 RNA 的红细胞。随着全自动血细胞仪技术的快速发展,这类仪器采用荧光染色和激光测量的原理不仅能计算网织红细胞的数量,还能将其分为 HFR、MFR 和 LFR 三类,并计算 IRF^[2]。越接近成熟的网织红细胞 RNA 含量越低,荧光强度越弱。HFR 中 RNA 的含量最高,是最不成熟的网织红细胞,IRF=(HFR+MFR/HFR+MFR+LFR)×100%。网织红细胞是监测骨髓造血功能的重要指标。在肿瘤放化疗过程中,骨髓造血功能受抑制,网织红细胞参数的变化水平要先于 WBC 和 PLT 等指标的变化,当 RET 绝对数下降到 $0.01 \times 10^3/L$ 以下时,MFR 和 HFR 也逐步降至最低水平,网红分类几乎全部由 LFR 组成^[3,4]。在骨髓造血功能恢复时,红系增生是粒系多核细胞恢复的早期敏感指标,其变化顺序基本是 MFR+HFR、多核细胞、RET#;IRF 最早,其后 RET 升高,最后分叶核粒细胞升高^[5]。因此,网织红细胞参数可以较敏感评价恶性肿瘤患者放化疗前后骨髓的造血情况,且不受感染和输血的影响^[6],对于指导临床适时的调整治疗方案,避免造成严重的骨

髓抑制具有重要意义。

EDTA-K2 和 EDTA-K3 抗凝血均被不少医院应用于全自动血细胞分析仪上进行网织红细胞的检测。我们前期研究发现抗凝剂是 ELISA 检测肿瘤患者热休克蛋白 90α 的影响因素之一^[7]。本研究通过对 80 例恶性肿瘤患者的 EDTA-K2 和 EDTA-K3 抗凝血的 RET 参数进行测定,研究发现 EDTA-K2 抗凝血的 RET 各参数的检测值均高于 EDTA-K3 抗凝血的 RET 各参数的数值,且差异具有统计学意义($P<0.05$)。这可能与以下两个因素有关:①不同 EDTA 盐与钙离子的螯合能力的差异;②不同 EDTA 盐抗凝的血标本的渗透压差异。我们的结果还发现 RET 的各项参数在 EDTA-K2 抗凝血中的检测值高于其在 EDTA-K3 抗凝血中的检测值。这可能是由于 EDTA-K2 与钙离子螯合的能力强于 EDTA-K3,从而导致 EDTA-K2 抗凝血中 RET 各项参数的检测值较 EDTA-K3 抗凝血中高。至于不同 EDTA 盐的螯合能力影响 RET 各参数结果的机制何在尚有待于进一步的研究。此外,由于 EDTA-K3 分子比 EDTA-K2 分子多一个钾离子,导致 EDTA-K3 抗凝血标本中的渗透压较 EDTA-K2 有所升高,致使抗凝血红细胞停留在一个高渗环境中,细胞内水分子与细胞外溶质相互交换,红细胞内渗透压随之升高,使 RET 溶血造成计数减低^[8]。有资料显示网织红细胞抗渗透性还没有成熟红细胞抗渗透性好。在由网织红细胞到成熟红细胞的转化过程中,细胞的抗渗透能力是逐渐增强的^[9]。另外,本研究结果显示,相同种类的 EDTA 抗凝剂在不同恶性肿瘤患者抗凝血中 RET 参数的结果虽然存在差异,但差异无统计学意义($P>0.05$)。当然,这个结果尚需要更大的样本量、更严格的配对条件(如采血的时间点)来进行证实。

根据以上的研究结果,笔者认为当同一种肿瘤患者多次进行 RET 参数检测时,最好能够采用相同的 EDTA 抗凝剂来采集抗凝血样本,这样才能更好地保证检测结果具有可比性,从而更好地评估肿瘤患者治疗过程前中后骨髓的造血功能情况。

参考文献:

- [1] Cohen AM, Cyncowitz Z, Mittelman M, et al. The incidence of pseudothrombocytopenia in automatic blood analyzers [J]. Haematologia, 2000, 30(2): 117-121.
- [2] Zhou Y. Comparison of reticulocyte counting between SYSMEX XT-4000i blood cell analyzer and the manual method [J]. China Health Care & Nutrition, 2012, 22(10): 4169. [周莹. SYSMEX XT-4000i 血细胞分析仪计数网织红细胞与手工法的比较[J]. 中国保健营养, 2012, 22(10): 4169.]
- [3] Chen RF, Huang LF, Zeng HS, et al. Reticulocyte parameters before and after chemotherapy for malignant tumor [J]. International Medicine and Health Guidance News, 2014, 20(8): 1145-1147. [陈瑞芬, 黄丽芳, 曾厚生, 等. 网织红细胞参数在恶性肿瘤化疗前后的变化及临床意义[J]. 国际医药卫生导报, 2014, 20(8): 1145-1147.]
- [4] Zhou YD, Li XP. Clinical significance of reticulocyte parameters in chemotherapy for malignant tumor [J]. Chinese Journal of Hemorheology, 2012, 22(4): 681-690. [周亚东, 李晓平. 网织红细胞未成熟指数在恶性肿瘤化疗中的临床意义[J]. 中国血液流变学杂志, 2012, 22(4): 681-690.]
- [5] Zuo YW. Change and clinical significance of reticulocyte parameters in non-small cell lung cancer before and after chemotherapy [J]. Journal of Tianjin Medical University, 2012, 18(4): 469-471. [左娅薇. 网织红细胞参数在非小细胞肺癌化疗前后的变化及临床意义[J]. 天津医科大学学报, 2012, 18(4): 469-471.]
- [6] Zhao H, Li DJ, Lin J. The clinical significance of immature reticulocyte fraction during radiotherapy and chemotherapy in patients with tumor [J]. Journal of Luzhou Medical College, 2010, 33(2): 163-165. [赵华, 李代渝, 林江. 网织红细胞未成熟分数在肿瘤放疗化疗中的临床意义[J]. 泸州医学院学报, 2010, 33(2): 163-165.]
- [7] Song YY, Han XH, Zheng CL, et al. Analysis of affecting factors in the detection of tumor patients heat shock protein 90 α using ELISA [J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2013, 36(12): 1100-1103. [宋媛媛, 韩晓红, 郑翠玲, 等. ELISA 检测肿瘤患者热休克蛋白 90 α 的影响因素分析 [J]. 中华检验医学杂志, 2013, 36 (12): 1100-1103.]
- [8] Shi YC, Jin XJ, Wang F. Why hemolysis of reticulocytes caused by EDTA-K2 led to the failure of manual counting [J]. Journal of Modern Laboratory Medical, 2011, 26(6): 20. [施迎春, 金小军, 王锋. EDTA-K2 使网织红细胞溶血造成手工计数失败原因 [J]. 现代检验医学杂志, 2011, 26(6): 20.]
- [9] Xie LD, Yang HJ, Sun DG, et al. On the biophysics characteristics of reticulocytes [J]. Journal of Biomedical Engineering, 2006, 23(2): 392-395. [谢利德, 杨海杰, 孙大公, 等. 网织红细胞膜生物物理特性的研究[J]. 生物医学工程学杂志, 2006, 23(2): 392-395.]