· 临床检验研究论著 ·

冷沉淀融化后不同放置时间 FⅧ和 vWF 水平的变化及意义

高志峰，胡丽华△

（华中科技大学同济医学院附属协和医院输血科，湖北武汉 430022）

摘　要：目的　探讨冷沉淀融化后 24 h 内不同时间段因子Ⅷ(FⅧ)和血管性血友病因子(vWF)水平的变化，为保证冷沉淀疗效及合理使用冷沉淀提供理论依据。**方法**　武汉血液中心提供的 40 份冷沉淀于融化后 0、6、12、24 h 4 个时点，用 CA-1500 全自动血凝分析仪分别检测 PT、TT、APTT、纤维蛋白原(FIB)四个凝血指标和 FⅧ的水平；采用 ELISA 法检测 vWF 抗原水平；对数据进行对比分析。**结果**　冷沉淀融化后 24 h 内 PT、TT、FIB 水平无明显变化($P>0.05$)；而 0、6、12、24 h 不同时间点的 APTT，FⅧ和 vWF 抗原水平差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论**　冷沉淀融化后随着放置时间的延长，APTT 明显延长，FⅧ和 vWF 水平明显降低。为保证冷沉淀的输注疗效，应尽可能在融化后立即输注。

关键词：因子Ⅷ；　von Willebrand 因子；　冷沉淀

DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2013.16.015　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1673-4130(2013)16-2097-02

The changes of FⅧ and vWF antigen content in warmed cryoprecipitate at different time

Gao Zhifeng, Hu Lihua△

(*Department of Blood Transfusion, Union Hospital Affiliated to Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei* 430022, *China*)

Abstract: Objective　To explore the changes of FⅧ and vWF antigen in warmed cryoprecipitate within 24 h and provide theory basis for clinical transfusion. **Methods**　40 warmed samples of cryoprecipitate were tested for PT, TT, APTT, FIB, FⅧ at 0, 6, 12, 24 h, respectively by SYSMEX CA-1500. ELISA was used to detect vWF for each sample. Then the test results were analysed and compared statistically. **Results**　PT, TT and FIB level did not change obviously within 24 h after samples being warmed($P>0.05$), but APTT, FⅧ and vWF content changed obviously at different time($P<0.05$). **Conclusion**　FⅧ and vWF content decrease after cryoprecipitate being warmed. Cryoprecipitate should be transfused immediately after being warmed in order to assure the quality of transfusion.

Key words: factor Ⅷ；　von Willebrand Factor；　cryoprecipitate

冷沉淀是由新鲜冰冻血浆制备而成的成分血，是新鲜冰冻血浆在 4 ℃环境下融化后得到的残余白色沉淀物。其主要成分是凝血因子Ⅷ(FⅧ)、纤维蛋白原、纤维结合蛋白、血管性血友病因子(vWF)等，特别是 FⅧ是体内纤溶系统的重要成分，而 vWF 在止血和血栓形成过程中起着重要作用。临床常出现因为冷沉淀中凝血因子的不稳定性[1]以及各种原因导致冷沉淀融化后不能及时输注而影响冷沉淀的疗效。为了准确了解冷沉淀中 FⅧ和 vWF 抗原水平与冷沉淀融化后放置时间的关系，提高冷沉淀输注的疗效，笔者采集了 2011 年武汉血液中心提供的 40 份冷沉淀，进行了 PT、TT、APTT、纤维蛋白原(FIB)四个凝血指标的检测及 FⅧ、vWF 抗原水平的测定，现报道如下。

1　材料与方法

1.1　样本来源　2011 年武汉血液中心提供的冷沉淀 40 份，每份 30 mL，全部来自无偿献血者。其中 O 型冷沉淀 12 份，A 型冷沉淀 12 份，B 型冷沉淀 12 份，AB 型冷沉淀 4 份。冷沉淀均由武汉血液中心用新鲜冰冻血浆制备而成，所有冷沉淀在有效期内使用。

1.2　仪器与试剂　CA-1500 全自动血凝分析仪由 SYSMEX 公司生产；试剂由 DADE BEHRINGG 公司提供；ELISA 诊断试剂盒由上海太阳生物技术有限公司提供，采用日本 BIOIAD MODEL680 型酶标仪。所有试剂均在有效期内使用。

1.3　方法　40 份冷沉淀在 37 ℃水浴中快速融化，每份冷沉淀完全融化后，立即取样分为 0、6、12、24 h 四组，做好标记。其中 6、12、24 h 三组样本封闭后置 4 ℃冰箱保存。用 CA-1500 全自动血凝分析仪测定 0 h 组冷沉淀样本中 PT、TT、APTT 及 FIB 和 FⅧ水平，用 ELISA 法检测 0 h 组冷沉淀样本 vWF 抗原水平。在 6、12、24 h 时间点以同样方法分别检测相应冷沉淀组样本中 PT、TT、APTT、FIB、FⅧ及 vWF 抗原水平。所有检测均严格按照操作说明进行。

1.4　统计学处理　采用 SPSS11.5 统计软件进行数据分析，计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示，对检测结果进行成对资料 t 检验，$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　　果

2.1　不同放置时间凝血指标的变化　冷沉淀融化后随着放置时间的延长，PT、TT、FIB 水平无明显变化($P>0.05$)，而 APTT 明显延长($P<0.05$)，见表 1。

表 1　冷沉淀融化后不同放置时间凝血指标的变化($\bar{x}\pm s$)

时间	PT(s)	TT(s)	APTT(s)	FIB(mg/L)
0 h	14.53±0.23	17.47±2.28	40.05±3.21	224.75±52.46
6 h	14.71±0.49	16.98±2.91	45.21±3.75*	235.21±54.20
12 h	14.97±0.41	18.14±3.24	48.08±4.28*	229.18±39.45
24 h	15.11±0.30	17.91±3.52	49.62±5.04*	234.34±57.59

*：$P<0.05$，与 0 h 比较。

作者简介：高志峰，男，讲师，主要从事临床输血与检验研究。　△　通讯作者，E-mail：xhhlh@126.com。

2.2 冷沉淀融化后不同放置时间 FⅧ和 vWF 抗原水平的变化　见表 2，冷沉淀融化后随着放置时间的延长，FⅧ和 vWF 抗原水平均明显降低（$P<0.05$）。

表 2　冷沉淀融化后不同放置时间 FⅧ含量和 vWF 抗原的变化（$\bar{x}\pm s$）

时间	FⅧ（IU/袋）	vWF 抗原（%）
0 h	94.48±8.25	81.08±7.87
6 h	63.64±5.48*	62.75±4.52*
12 h	55.59±6.12*	57.44±4.49*
24 h	43.22±3.58*	37.05±2.54*

*：$P<0.05$，与 0 h 比较。

3 讨　论

本实验表明，冷沉淀融化后随着放置时间的延长，PT、TT、FIB 无明显改变；而随着放置时间的延长，APTT 明显延长，FⅧ和 vWF 抗原水平亦降低。经过 12 h 后，FⅧ水平为 0 h 时的 58.84%，24 h 后为 0h 时的 45.75%，与文献[2]报道基本一致。目前，国内对冷沉淀中的 vWF 研究较少，本实验显示经过 12 h 后，vWF 抗原为 0 h 时的 70.84%，24 h 后为 45.70%。vWF 抗原半衰期在 12～24 h 之间，有待进一步的研究证实。PT 和 APTT 分别是外源性凝血因子（Ⅱ、Ⅶ、Ⅹ、Ⅰ、Ⅴ）凝血功能紊乱和内源性凝血因子（Ⅷ、Ⅸ、Ⅺ）活性异常的筛选试验，本实验结果表明 FⅧ含量的降低导致 APTT 的延长。

成分输血广泛的应用于临床，冷沉淀作为临床常用的成分血液制品，具有止、凝血和促进创伤组织修复的功能。冷沉淀制备完成至临床应用的过程应尽量保护其中含有的凝血因子和 vWF 不受破坏。这对于确保冷沉淀的临床输血疗效，防止无效输注有着极其重要的意义。冷沉淀中含有浓集的 FIB、FⅧ和纤维连接蛋白，以及其他多种凝血因子。冷沉淀适量输入患者体内后可补充患者血循环中 FⅧ等凝血因子含量，缩短凝血时间，纠正凝血因子缺乏而导致的凝血异常，有效控制手术中的大出血，尤其是对预防和治疗血友病患者的外科手术出血有显著效果[3]。冷沉淀可用于治疗儿童和成人甲型血友病，补充纤维蛋白原，治疗血管性血友病、凝血因子缺乏症等。冷沉淀还用于促进创伤、烧伤伤口愈合，防止伤口感染，阻止弥散性血管内凝血发展，以及恶性肿瘤切除手术和腹腔镜手术，以减少出血、促进愈合和防止粘连[4]。体内 vWF 水平异常与缺血性疾病密切相关[5]，临床上输注冷沉淀是补充 vWF 的常见手段，冷沉淀中 vWF 应得到最大程度的保存[6]。冷沉淀是血管性血友病替代治疗的最理想的品血液制品。

本研究表明，冷沉淀在 37 ℃水浴快速融化后，应尽快给患者输注或局部应用，否则随着放置时间的延长可导致 FⅧ和 vWF 水平降低，影响冷沉淀的输注疗效。冷沉淀如果在融化后有纤维蛋白析出或因为各种原因不能及时输注，则当废弃。这对于进一步规范临床合理使用冷沉淀，充分发挥其治疗效果具有重要意义。

参考文献

[1] 杨江存，李芒会，于青，等. 新鲜冰冻血浆融化后不同放置时间凝血因子的变化[J]. 中国输血杂志，2005，18(3)：211-212.

[2] 张远鹏，罗红林，王丽. 凝血因子Ⅷ在 FFP 制备过程中受时间和温度的影响[J]. 江苏大学学报：医学版，2001，11(1)：82.

[3] Mathews V, Srivastava A, Nair SC, et al. Haemostasis with cryoprecipitate in patients undergoing surgery for severe von Willebrand disease[J]. Natl Med J India, 2000, 13(4): 188-190.

[4] 陈长荣，洪素云，陈苹，等. 2 种方法制备冷沉淀的质量分析[J]. 中国输血杂志，2008，21(12)：928-929.

[5] Klukowska A, Windyga J, Batorova A. Clinical efficacy of a novel VWF-containing FVIII concentrate, Wilate(?), in the prophylaxis and treatment of bleeding episodes in previously treated haemophilia A patients[J]. Thromb Res, 2011, 127(3): 247-253.

[6] Bowyer AE, Shepherd F, Kitchen S, et al. A rapid, automated VWF ristocetin cofactor activity assay improves reliability in the diagnosis of Von Willebrand disease[J]. Thromb Res, 2011, 127(4): 341-344.

（收稿日期：2013-03-18）

（上接第 2096 页）

[2] Wang CJ, Zhou ZG, Wang L, et al. Clinicopathological significance of microRNA-31, -143 and -145 expression in colorectal Cancer [J]. Dis Markers, 2009, 26(1): 27-34.

[3] Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14[J]. Cell, 1993, 75(5): 843-854.

[4] Stark A, Brennecke J, Bushati N, et al. Animal MicroRNAs confer robustness to gene expression and have a significant impact on 3′ UTR evolution[J]. Cell, 2005, 123(6): 1133-1146.

[5] Kurashige J, Kamohara H, Watanabe M, et al. MicroRNA-200b regulates cell proliferation, invasion, and migration by directly targeting ZEB2 in gastric carcinoma[M]. Ann Surg Oncol, 2012, 19 (Suppl 3): S656-S664.

[6] Tryndyak VP, Ross SA, Beland FA, et al. Down-regulation of the microRNAs miR-34a, miR-127, and miR-200b in rat liver during hepatocarcinogenesis induced by a methyl-deficient diet[J]. Mol Carcinog, 2009, 48(6): 479-487.

[7] Hu X, Macdonald DM, Huettner PC, et al. A miR-200 microRNA cluster as prognostic marker in advanced ovarian Cancer[J]. Gynecol Oncol, 2009, 114(3): 457-464.

[8] Gregory PA, Bert AG, Paterson EL, et al. The miR-200 family and miR-205 regulate epithelial to mesenchymal transition by targeting ZEB1 and SIP1[J]. Nat Cell Biol, 2008, 10(5): 593-601.

[9] Wszolek MF, Rieger-Christ KM, Kenney PA, et al. A MicroRNA expression profile defining the invasive bladder tumor phenotype [J]. Urol Oncol, 2011, 29(6): 794-801.

[10] Al-Ahwal MS, Shafik YH, Al-Ahwal HM. First National survival data for colorectal Cancer among Saudis between 1994 and 2004: what's next[J]. BMC Public Health, 2013, 13(1): 73.

[11] Kurashige J, Kamohara H, Watanabe M, et al. MicroRNA-200b regulates cell proliferation, invasion, and migration by directly targeting ZEB2 in gastric carcinoma[M]. Ann Surg Oncol, 2012, 19(Suppl 3): S656-S664.

[12] Christoffersen NR, Silahtaroglu A, Orom UA, et al. miR-200b mediates post-transcriptional repression of ZFHX1B[J]. RNA, 2007, 13(8): 1172-1178.

（收稿日期：2013-04-03）