

• 临床研究 •

同型半胱氨酸及 D-二聚体与复发性流产的关系

王小杰,任红玲
(河南省驻马店市中医院检验科 463000)

摘要:目的 评估同型半胱氨酸(HCY)及 D-二聚体(D-D)与复发性流产(RSA)的关系,探讨检测 HCY、D-D 这 2 项指标在 RSA 中的意义。方法 收集 2013 年 3 月至 2015 年 5 月河南省驻马店市中医院门诊及住院患者 130 例, RSA 组 85 例, 对照组 45 例, 分别进行 HCY、D-D 检测, 分析数据。结果 RSA 组 HCY 阳性者占 49.4%(42/85), 与对照组[6.67%(3/45)]比较, 差异有统计学意义($P<0.05$), RSA 组 D-D 阳性者占 41.1%(35/85), 与对照组[4.45%(2/45)]比较, 差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 HCY、D-D 的检测对于临床诊断和治疗 RSA 有着重要的临床应用价值。

关键词:同型半胱氨酸; D-二聚体; 复发性流产
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.14.045 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2016)14-2007-02

复发性流产(RSA)指同一性伴侣连续发生 3 次或 3 次以上的自然流产,其发病率为 1%~2%,大多为早期流产,少数为晚期流产,其常见原因多为胚胎染色体异常,解剖因素,免疫功能异常,内分泌异常,感染等^[1],但近年来,随着研究不断地深入及大量的研究资料表明,高水平的同型半胱氨酸(HCY)、D-二聚体(D-D)不仅是心血管疾病独立的危险因素,而且与妊娠异常如:神经管缺陷、胎盘早剥、早期妊娠流产等疾病有关。本文通过联合检测并分析 HCY、D-D 两项指标,对于 RSA 的病因确定及相应治疗有较大的临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 RSA 组均来源于 2013 年 3 月至 2015 年 5 月河南省驻马店市中医院门诊及住院 RSA 患者 85 例。年龄 22~40 岁,自然流产次数≥2 次,经妇科检查排除生殖器畸形及其他病变,对照组为正常孕妇 45 例,年龄 22~38 岁,无自然流产史死胎或死产史。

1.2 标本的采集与处理 治疗前抽取患者不抗凝全血(干燥管、不加任何抗凝剂)3~5 mL 立即离心分离血清置于冰箱,用于 HCY 检测。治疗前抽取患者静脉血 2 mL,置于含有 1/10 体积 0.109 mol/L 枸橼酸钠抗凝液的试管中,3 000 r/min 离心 10 min,收集上层液(血浆),用于 D-D 检测。

1.3 方法

1.3.1 HCY 检测 HCY 采用酶循环法测定,仪器为 BECKMAN COULTER Au5800 全自动生化分析仪,试剂由浙江宁波美康有限公司提供,检测原理:游离的 HCY 在 HCY-甲基转移酶催化下与 S-腺苷甲硫氨酸(SAM)反应生成甲硫氨酸和 S-腺苷同型半胱氨酸(SAH),SAH 被 SAH-水解酶水解形成腺苷和 HCY,生成的 HCY 进入 HCY-甲基转移酶催化的转化反应,形成循环反应,其反应导致检测信号明显放大,形成的腺苷立即脱氢转化为次黄苷和氨,氨进一步在谷氨酸脱氢酶催化下和还原型辅酶 I (NADH)反应,将 NADH 转变为辅酶 I (NAD)。通过检测 NADH 减少造成的吸光度下降量与 HCY 的浓度呈比例,求得 HCY 浓度,HCY>30 μmol/L 判为阳性。

1.3.2 D-D 检测 D-D 采用免疫比浊法测定,仪器为 Sysmex CA7000 凝血分析仪,试剂由上海太阳生物技术有限公司提供,检测原理:样本中的 D-D 与抗人 D-D 单克隆抗体胶乳颗粒发生抗原抗体反应,产生凝集导致浊度增大,通过检测浊度的变化量,求得样本中 D-D 浓度,D-D>0.5 mg/L 判为阳性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS18.0 软件进行统计学处理,率的比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

RSA 组 HCY 阳性者占 49.4%(42/85),对照组中 HCY 阳性者占 6.67%(3/45),差异有统计学意义($P<0.05$);RSA 组中,D-D 阳性者占 41.14%,对照组中 D-D 阳性者占 4.45%,差异也有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 HCY 和 D-D 检测结果[n(%)]			
组别	n	HCY 阳性率	D-D 阳性率
RSA 组	85	42(49.4)*	35(41.17)*
对照组	45	3(6.67)	2(4.45)

注:与对照组比较,* $P<0.05$ 。

3 讨论

RSA 是妇产科常见妊娠并发症之一,也属于不育症的范畴,该疾病的患者往往经历多次的妊娠和多次流产,严重的危害了患者的身心健康,给病人的身体和精神带来极大的痛苦。大部分 RSA 是由于染色体异常或其他已明确的医学因素,如子宫畸形、内分泌异常、自身免疫疾病、感染等,还有一些未能发现其他导致流产的病因,称为原因不明 RSA,以妊娠早期流产居多。

HCY 是一种人体内的含硫氨基酸,为蛋氨酸和半胱氨酸代谢过程中的中间产物。作为维持机体正常运行的代谢物,它在机体内的正常浓度一般维持在 5~15 μmol/L。相关研究资料显示:在正常妊娠过程中,血液中 HCY 浓度呈下降趋势,在孕 8~12 周呈明显下降,在孕 20~28 周,下降到最低浓度^[2]。妊娠期出现高浓度的 HCY 对胚胎有直接的毒性作用,可能引起死胎或流产。HCY 引起流产的可能机制主要是 HCY 通过多途径损伤血管,它可以引起内皮细胞损伤,合并高血压时更易受损同时刺激血管平滑肌细胞生长,二者导致的损伤阻塞血流通路;HCY 还破坏正常凝血机制,激活多种凝血因子,促进凝血,增加血栓的形成,而引起的胎盘血栓,会导致胎盘供血不足,营养不良,最终引起死胎或流产^[3]。

D-D 是凝血酶及因子Ⅻ作用下的交联纤维蛋白经纤溶酶降解作用后的一种特异性降解终末产物,是目前反映体内高凝状态和继发纤溶亢进的敏感指标之一,也是体内血栓形成的重要指标之一^[4]。体内处于高凝状态时,继发性纤溶活性增高,表现为 D-D 浓度增高,对诊断妊娠期血栓具有重要的意义。正常妊娠,随着怀孕月份的增加,孕妇体内的 D-D 浓度会有不同程度的增高。妊娠中晚期,体内凝血成分和抗凝及纤维蛋白

溶解活性出现明显改变,机体处于一定程度的高凝状态。一方面,这是机体的一种生理性保护,特别是血凝纤溶处于动态平衡时,有利于分娩时胎盘剥离的止血及子宫内膜的再生和修复,防止生产时过量出血;另一方面,凝血与纤溶的改变,激活纤溶系统使 D-D 浓度升高。但 D-D 和纤维蛋白原浓度出现明显的增高,会增加妊娠期胎盘血栓形成的风险。胎盘血栓可以引起胎盘灌注不足,血流紊乱,使胎儿供血不足,最终导致孕妇流产或死胎发生^[5]。

本文结果显示,RSA 患者血清 HCY 和 D-D 浓度明显高于对照组($P<0.05$),说明两者存在一定相关性,提示高水平血清 HCY、D-D 浓度与原因不明的 RSA 密切相关。

参考文献

[1] 李力,乔杰.实用生殖医学[M].北京:人民卫生出版社,• 临床研究 •

2012:265-278.
[2] 任爱国,杨旭辉,李竹.同型半胱氨酸代谢与习惯性流产关系的研究进展[J].中国生育健康杂志,2005,16(6):374-377.
[3] 张宛华,何淑贞.HCY 与复发性流产的关系研究[J].当代医学,2014,2(4):50-51.
[4] 丁振若,于文彬.现代检验医学[M].北京:人民军医出版社,2007:163-164.
[5] 谭燕,陆琳琳,伍达锋,等.早期复发性流产患者 D-二聚体及抗凝血酶Ⅲ活性的检测分析[J].齐齐哈尔医学院学报,2015,36(21):3136-3137.

(收稿日期:2016-01-15 修回日期:2016-03-21)

棘白菌素对念珠菌体外药敏试验产生“矛盾现象”的分析

曾 吉¹,金 策¹,黄舟莹²,李 辰²,王瑞琦²

(1.湖北省武汉市普爱医院检验科 430033;2.华中科技大学同济医学院医学检验系,武汉 430031)

摘 要:目的 观察棘白菌素对念珠菌的“矛盾现象”。方法 体外药敏试验中,采用微量稀释法分别观察卡泊芬净和米卡芬净对 180 株念珠菌的最低抑菌浓度(MIC)和“矛盾现象”。结果 卡泊芬净对白色念珠菌、热带念珠菌、近平滑念珠菌和光滑念珠菌均产生“矛盾现象”,发生率分别为 66.0%、77.5%、55.0%和 35.0%,各菌矛盾现象的起点/终点中位数浓度分别为 8/32、16/32、8/32、4/16 $\mu\text{g/mL}$;米卡芬净只对白色念珠菌和热带念珠菌产生“矛盾现象”,发生率分别为 45%和 67.5%,各菌矛盾现象的起点/终点中位数浓度分别为 4/16、8/32 $\mu\text{g/mL}$ 。结论 “矛盾现象”的产生存在念珠菌种间差异性和棘白菌素类药物特异性。卡泊芬净出现“矛盾现象”的发生率高于米卡芬净。各菌株对卡泊芬净、米卡芬净产生“矛盾现象”的发生率与 MIC 的高低无明显相关性。

关键词:念珠菌; 卡泊芬净; 米卡芬净; 矛盾现象

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.14.046 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2016)14-2008-02

棘白菌素是一类新型的抗真菌药物,能非竞争性抑制真菌细胞壁 β -1,3-D-葡聚糖合成酶,造成真菌细胞壁中 β -葡聚糖减少,引起细胞结构破坏,有较高的特异性,能迅速杀灭真菌^[1]。因为哺乳类动物的细胞中不存在 β -1,3-D-葡聚糖合成酶,故该类化合物对人体正常细胞影响不大。作为一种新型抗真菌药物,棘白菌素类抗真菌药已在临床逐步推广应用^[2]。目前国内外均有试验发现进行体外药敏试验棘白菌素作用于念珠菌属会出现低浓度时抑制、高浓度时出现菌落生长的“矛盾现象”^[3]。目前此现象和临床关系尚未明确。已有研究通过对不同念珠菌种对卡泊芬净、米卡芬净体外药敏试验出现“矛盾现象”的动态观察,念珠菌属对卡泊芬净、米卡芬净的体外药敏试验有可能出现“矛盾现象”,并具有一定的对应关系^[4]。本研究通过微量稀释法验证了“矛盾现象”的存在,并初步探讨了“矛盾效应”的发生率。

1 材料与方法

1.1 材料 菌株:收集武汉地区从临床患者分离的念珠菌共 180 株,包括白色念珠菌 100 株、热带念珠菌 40 株、近平滑念珠菌 20 株、光滑念珠菌 20 株。使用近平滑念珠菌 ATCC22019 作为质控菌株。

1.2 仪器与试剂 卡泊芬净(美国 Merck 公司),米卡芬净(日本 Fujisawa 公司)。RPMI1640(干粉装,Sigma),MOPS 缓冲液(干粉装,Sangon)。

1.3 方法

1.3.1 真菌接种液制备 各受试念珠菌株先在沙氏培养基上转种 2 次,再经 24 h 培养后,选择直径大于 1 mm 的菌落 5 个,将其用 0.85% 的无菌盐水制成悬液。用牛鲍计数板计数孢子,调整含菌量,使集落形成单位(CFU)为 $(1\sim5)\times10^6/\text{mL}$,待用。

1.3.2 最低抑菌浓度(MIC)和“矛盾效应”的测量 参考 CLSI M27-A3 文件推荐的微量液基稀释法的规范^[5],本研究依据实际情况作出修改,药物浓度梯度设计为 0.03~64.00 $\mu\text{g/mL}$,共 12 组浓度梯度。往已稀释好的含有不同药液的微孔中加入待测菌液,使真菌接种液最终 CFU 调至 $(0.5\sim2.5)\times10^3/\text{mL}$ 。最终 96 孔板每孔体积为 200 μL ,35 $^{\circ}\text{C}$ 培养 48 h。

1.3.3 结果判定 48 h 后肉眼观察结果,肉眼判读 MIC 和“矛盾效应”的起始浓度和终止浓度。在高于 MIC 2 倍稀释浓度以上出现菌落生长的情况判定为“矛盾现象”。

2 结 果

卡泊芬净和米卡芬净白色念珠菌、热带念珠菌和光滑念珠菌的 MIC₉₀ 都比较低,没有发现耐药株,对近平滑念珠菌的 MIC 较高,MIC₅₀、MIC₉₀ 分别为 1.00、2.00 $\mu\text{g/mL}$ 。卡泊芬净对这 4 种念珠菌均有“矛盾现象”出现,米卡芬净只对白色念珠菌和热带念珠菌有“矛盾现象”出现。卡泊芬净对念珠菌“矛盾现象”起点浓度中位数较米卡芬净高,见表 1。