

A: SOD 表达变化; B: MDA 表达变化

图1 白藜芦醇对 OGD 损伤 H9C2 细胞中 SOD、MDA 的表达影响

2.2 白藜芦醇对 OGD 损伤 H9C2 细胞活性的影响

白藜芦醇处理 OGD 损伤的 H9C2 细胞后, 利用 CCK-8 检测细胞活性; 结果显示, 经白藜芦醇治疗后, 细胞活性明显高于 OGD 损伤组, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见图 2。

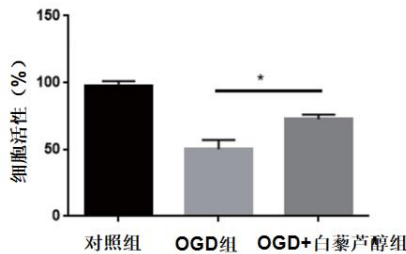


图2 CCK-8 检测白藜芦醇对 OGD 损伤 H9C2 细胞活性的影响

2.3 免疫荧光检测白藜芦醇对 OGD 损伤 H9C2 细胞中 GPX4 蛋白表达影响

OGD 损伤 H9C2 细胞后, 经白藜芦醇处理后, 免疫荧光检测铁死亡相关蛋白 GPX4 的变化, DAPI 染色细胞核, Merge 作为叠加图; 结果显示白藜芦醇能够显著提高 GPX4 的表达, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见图 3。

2.4 Westernblot 检测白藜芦醇对 OGD 损伤 H9C2 细胞中 GPX4、FTH1 蛋白表达影响

为了进一步验证白藜芦醇对 OGD 损伤 H9C2 细胞后铁死亡相关蛋白的情况, 利用 Westernblot 检测了 GPX4、FTH1 蛋白的变化; 结果显示, 白藜芦醇上调了 GPX4、FTH1 蛋白的变化, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见图 4。

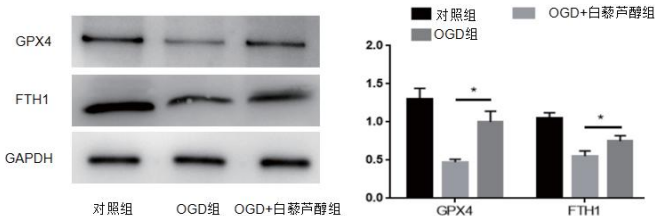


图4 Westernblot 检测铁死亡相关蛋白的变化

3 讨论

心肌 I/R 损伤的发病机制十分复杂, 目前研究发现过氧化物过度生成、细胞内钙离子过量、生理代谢紊乱、线粒体功能障碍等多个生物学过程和信号通路参与该病的进展<sup>[5]</sup>, 这些机制之间存在着许多联系, 而铁死亡同样在心肌 I/R 损伤中发挥重要作用。铁死亡的特异性抑制剂铁蛋白-1

(ferritin-1, Fer-1), 可以通过调节 TLR4/TRIF/IFN- $\alpha$  信号通路显著减少心肌细胞死亡, 改善缺血再灌注损伤; 而抑制铁死亡对心肌 I/R 诱导的大鼠和 OGD 条件下的 H9C2 细胞有保护作用<sup>[6]</sup>。这些都说明铁死亡可能参与了心肌缺血再灌注损伤。铁死亡是一个由多种分子调控的生物学过程, 主要引起线粒体萎缩、破碎甚至消失; 从生物化学角度看, 细胞内谷胱甘肽耗尽, 抑制 GPX4 的活性, 导致脂质过氧化物不能被 GPX4 催化还原, 最终引起脂质过氧化物增加以及铁离子超载, 造成细胞发生铁死亡。在本研究中, OGD 条件下的 H9C2 细胞, 活性率水平和铁含量明显增加, GPX4、FTH1 水平显著降低, 提示发生铁死亡, 这与先前的研究结果一致。

白藜芦醇是一种非黄酮类多酚类物质, 具有良好的生物学活性。白藜芦醇的生物学机制尚不完全清楚, 但人们已经认识到白藜芦醇具有较强的抗氧化作用<sup>[7]</sup>。心肌细胞在正常情况下主要通过糖的有氧分解获得能量, 在体外进行氧糖剥夺可以近似模拟心肌缺血的环境; 白藜芦醇可以减轻大鼠心肌缺血再灌注中损伤, 并通过激活 VEGF- $\beta$  / 抗氧化信号通路保护心肌细胞; 另外, 白藜芦醇还可以通过抑制 c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 信号通路以及氧化应激反应来降低血管紧张素 II 诱导的心肌肥厚。在本研究中, 笔者发现白藜芦醇可以有效降低心肌细胞中的氧化应激水平, 增强 SOD 的表达, 降低 MDA 的产生; 此外, 还发现白藜芦醇还能上调 GPX4、FTH1 的表达, 表明白藜芦醇可通过抑制铁死亡改善心肌 I/R 损伤。

综上所述, 本研究证实了在 OGD 诱导的 H9C2 细胞中, 白藜芦醇能够抑制心肌细胞的氧化应激反应, 改善铁死亡, 从而提高细胞活性。本研究确定了白藜芦醇对 OGD 过程中心肌细胞损伤的保护作用, 为防治心肌 I/R 损伤提供了新的视角, 同时为研究心肌 I/R 损伤的机制和潜在靶点提供了新的理论依据。

[参考文献]

- (1) Pastor RF, Restani P, Di Lorenzo C, et al. Resveratrol, human health and winemaking perspectives. Crit Rev Food Sci Nutr (J). 2019, 59(8): 1237-1255.
- (2) He Y, Fu Y, Xi M, et al. Zn<sup>2+</sup> and mPTP mediate resveratrol-induced myocardial protection from endoplasmic reticulum stress (J). Metallomics, 2020, 12(2): 290-300.
- (3) Chen C, Zou LX, Lin QY, et al. Resveratrol as a new inhibitor of immunoproteasome prevents PTEN degradation and attenuates cardiac hypertrophy after pressure overload (J). Redox Biol, 2019, 20(1): 390-401.
- (4) 王汝朋, 刘延国, 李广平. 白藜芦醇与心血管疾病研究进展 (J). 中华老年医学杂志, 2018, 37(6): 709-714.
- (5) He Z, Ma C, Yu T, et al. Activation mechanisms and multifaceted effects of mast cells in ischemia reperfusion injury (J). Exp Cell Res, 2019, 376(2): 227-235.
- (6) 钟桂玲, 李文祥, 王贺, 等. 普罗布考经 Nrf2/Gpx4 途径抑制铁死亡保护 H9C2 心肌细胞 (J). 广西医科大学学报, 2021, 38(3): 462-467.
- (7) 牛培勤, 郭传勇. 白藜芦醇药理作用的研究进展 (J). 医药导报, 2006, 25(6): 155-157.

〔文章编号〕 1007-0893(2021)14-0022-03

DOI: 10.16458/j.cnki.1007-0893.2021.14.008

# 周期性验证自动审核规则对于血液分析的效能及适宜性研究

洪华胜 普晋国 陈浩

(梅州市中医医院, 广东 梅州 514013)

〔摘要〕 **目的:** 探讨周期性验证自动审核规则对于血液分析的效能及适宜性。**方法:** 选取2019年12月至2020年12月梅州市中医医院检验科血常规标本50000份, 分析自动审核通过率和拦截率, 计算并比较周期性验证和二期验证的诊断效能。计算触及差值检验(delta check)规则的标本的假阴性率、假阳性率、真阴性率、真阳性率, 并与二期验证比较。以显微镜镜检结果为金标准, 对触及的1000项次自动审核规则分析假阳性及真阳性。**结果:** 周期性验证组的诊断效能均优于二期验证组, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ), delta check周期性验证组诊断效能均优于二期验证组, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论:** 建立高质量、专业化的自动审核规则及其设置数据参考, 可优化工作流程、减少差错率及均衡员工技术差异, 进一步提高检验质量。

〔关键词〕 血液分析; 周期性验证; 自动审核规则

〔中图分类号〕 R 446.11 〔文献标识码〕 B

目前我国检验室结果分析主要依靠人工审核, 但是血液结果分析中, 血细胞数量多, 形态学异常情况复杂, 因此人工审核准确性较低<sup>[1]</sup>。血液自动审核的相关文献报道较少。近年来随着我国医学实验室自动化程度不断提高, 实验室开始建立和应用检验结果的自动审核<sup>[2]</sup>。为建立适合本院实验室的血液细胞分析自动审核规则, 对相关数据进行统计学分析, 研究血液细胞分析自动审核规则并得出规则设置的相关数据参考, 本研究探讨了周期性验证自动审核规则对于血液分析的效能及适宜性, 结果报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2019年12月至2020年12月本院检验科血常规标本50000份, 其中门诊标本20000份, 住院标本20000份, 体检标本10000份。所有血常规样本均在采血后30 min~4 h内上机进行全血细胞计数和白细胞分类检测, 得到血液分析仪器检测数据。50000份标本中7 d内有历史结果的44168份标本用于差值检验(delta check)规则验证。采血后4 h内进行全血细胞计数和白细胞分类检测样本。在50000份标本中随机选取不通过的300份样本和通过的300份样本、触及1000项次自动审核规则的300份样本, 用于分析真阳性、假阳性率, 分析自动审核规则的假阳性率、假阴性率、真阴性率及通过正确率。

### 1.2 主要仪器与试剂

全自动血液体液分析流水线可分为全自动试管分类管理系统(DxH1601)、全自动血液体液分析仪(DxH800 Coulter)、全自动推片染片机(DxH SMS)。均由贝克曼库尔特商贸(中国)有限公司提供。血液分析仪通过了至少6个月1次的校准及性能验证。所有试剂批号均通过试剂批号更换验证。

### 1.3 方法

人工镜检, 对于自动审核建立的样本制备涂片染色后, 按照《白细胞分类计数参考方法》<sup>[3]</sup>进行血涂片镜检; 镜检阳性标准参考相关文献<sup>[4]</sup>。

血液分析自动审核流程, 确定适用范围和要求; 血液分析自动审核; 创建主团队; 确认实验室部门类型; 确认误差算法; 创建自动核算法(干扰性因素, 检验前标本因素, 逻辑算法因素); 确定自动审核工具, 应用规则及代码创立流程及程序算法; 对算法进行测试、验证及文件化(一期验证: 又称模拟验证, 即模拟涉及自动审核规则的仪器检测结果和其他数据元素以确认规则逻辑, 如期望、运算准确无误; 二期验证: 应用大量前期病人标本进行重新检测, 以确定自动审核规则运行良好; 系统变化时验证: 发生检验流程、患者群体、检测系统、软件改变等对自动审核系统造成影响的动作时的重新验证过程; 周期性验证: 根据适用法规或实验室政策规定的定期验证过程); 结束(即开始应用)。

〔收稿日期〕 2021-04-12

〔基金项目〕 梅州市科技计划项目资助课题(2019B052)

〔作者简介〕 洪华胜, 男, 主管检验师, 主要研究方向是临床血液检验方面。