

文章编号: 1674-5566(2010)01-0024-04

星斑川鲽血浆与血清生化指标的比较分析

丁立云^{1,2}, 张利民², 王际英², 柳旭东³, 段培昌^{1,2}

(1 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

2 山东省海洋水产研究所, 山东 烟台 264006;

3 山东升索渔用饲料研究中心, 山东 烟台 265500)

摘要:通过采集星斑川鲽 (*Platichthys stellatus*) 血浆和血清样品, 检测并比较其 7 项生化指标的异同。结果显示: 谷草转氨酶 (AST)、谷丙转氨酶 (ALT)、碱性磷酸酶 (ALP)、甘油三脂 (TG) 及总蛋白 (TP) 含量无显著性差异 ($P > 0.05$), 而二者总胆固醇 (T-CHO) 和血糖 (GLU) 含量差异显著 ($P < 0.05$)。相关性分析结果表明, 7 项生化指标检测血清与血浆间存在高度相关性 ($0.938 < r < 1.000$)。即在该种鱼类上述指标的检测中, 用血浆代替血清样品具有一定的可行性; 其次比较了不同规格星斑川鲽血浆中 7 项生化指标检测结果的异同。结果显示: 小规格星斑川鲽 (92 ± 5) g 血浆中 AST 和 GLU 值极显著地高于大规格星斑川鲽 (410 ± 31) g ($P < 0.01$), ALT 值也显著地高于大规格星斑川鲽 ($P < 0.05$), 而 TG 含量则显著低于大规格星斑川鲽 ($P < 0.05$), 血浆 ALP、T-CHO 及 TP 含量不受试验鱼规格大小的影响 ($P > 0.05$), 表明星斑川鲽部分血液指标受个体大小的影响, 因此在对星斑川鲽的血液学诊断及营养水平对其血液学指标影响的考察中, 应充分考虑鱼体大小的影响。

关键词:星斑川鲽; 血浆; 血清; 不同规格; 比较实验

中图分类号: S 917 **文献标识码:** A

Comparative analysis of biochemical indices in plasma and serum of *Platichthys stellatus*

DING Liyun^{1,2}, ZHANG Limin², WANG Jiyang², LIU Xudong³, DUAN Peichang^{1,2}

(1. College of Fisheries and Life, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Marine Fisheries Research Institute of Shandong Province, Yantai 264006, China;

3. Shengsuo Fishery Culture Feed Research Centre of Shandong Province, Yantai 265500, China)

Abstract: Plasma and serum were collected from starry flounder for biochemical indices determination. Paired t-test analysis showed that no significant differences were found in aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), triacylglycerol (TG) and total protein (TP) content ($P > 0.05$) between plasma and serum in starry flounder while the values of total cholesterol (T-CHO) and glucose (GLU) were significantly higher in plasma ($P < 0.05$). Seven assay indices were all well correlated ($0.938 < r < 1.000$) between these two samples which suggested the feasibility for heparin plasma to replace serum in some routine biochemical indices evaluation. Comparative study of plasma biochemical indices in

收稿日期: 2009-06-11

基金项目: 国家重点行业公益项目 (nyhyzx07-046); 国家科技部农转资金项目 (03EFN213700155)

作者简介: 丁立云 (1981-), 男, 硕士研究生, 专业方向为水产动物营养与饲料。E-mail: dlingliyun2008@163.com

通讯作者: 张利民, E-mail: ytzlm@139.com

starry flounder with different sizes showed that a part of blood indices was affected by fish individual size, AST, GLU and ALT were all inversely correlated with fish size, whereas the value of TG was significantly lower in fish with smaller size ($P < 0.05$); and no change occurred in ALP, CHO and TP contents in plasma of all fish.

Key words: *Platichthys stellatus*; heparin plasma; blood serum; different sizes; comparative experiment

鱼类血液学指标是鱼类基础理论研究的重要内容,对鱼类养殖、鱼病防治等具有重要意义^[1]。对于鱼类血液学的研究,国内外学者做了不少工作。但是在研究鱼类血液常用生化指标如血糖、血脂和转氨酶时,国内外采用血清或血浆的方法均有报道。采用血清标本,血清析出时间慢,且常法制备的血清中常留有纤维蛋白凝丝,易造成样品针堵塞,使得全自动生化分析仪的高效性、高精密度受到限制^[2]。血浆标本与传统血清标本检测结果之间有无差异,国内外报道说法不一^[3-5]。而且在水产动物中,还未见这方面的报道。目前,有关星斑川鲷(*Platichthys stellatus*)的研究报道主要集中在分类、生活习性、养殖条件及工厂化养殖技术等方面^[6-8],尚未见不同规格星斑川鲷血液指标比较分析的相关研究。因此,本实验通过肝素钠抗凝血浆与血清检测鱼类血液中的7项生化指标,探讨星斑川鲷血浆与血清常用生化指标的异同。同时还比较分析了两种规格[体重分别为(410±31)g和(92±5)g]星斑川鲷的部分血浆生化指标,以期丰富星斑川鲷生物学资料,鱼类疾病的血液学诊断提供参考。

1 材料与方法

1.1 样品来源

选取16尾饲喂同一商品饲料的星斑川鲷,平均体重为(410±31)g,饥饿24h后,每条鱼取尾静脉血5mL,分别各加2.5mL于一次性塑料采血管和肝素抗凝管中。肝素抗凝管需颠倒混匀10次,以便充分抗凝。2h后所有样品于4℃,以4000 r/min的速率离心10min,分离出血浆和血清备用,研究星斑川鲷血液生化指标检测中血浆替代血清的可行性;另取16尾平均体重为(92±5)g的星斑川鲷幼鱼,饥饿24h后,取尾静脉血3mL,迅速注入肝素抗凝管中,2h后样品于4℃,以4000 r/min的速率离心10min,分

离出血浆备用,与上一批鱼进行比较,研究不同规格星斑川鲷血浆生化指标的异同。

1.2 指标的测定

1.2.1 标准品、质控品和试剂

标准品、质控品、谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)、碱性磷酸酶(ALP)及血糖(GLU)测定试剂盒由北京利德曼生化技术有限公司提供,总胆固醇(T-CHO)和甘油三脂(TG)试剂盒由北京北化康泰临床试剂有限公司提供,总蛋白(TP)试剂盒由南京建成生物工程研究所提供。

1.2.2 测定方法

血清和血浆组标本同时置于日立7020全自动生化分析仪上进行检测。反应温度均为37℃,检测原理为比色法测其吸光度,根据检测物浓度与吸光度呈正比的关系即可由所测吸光度计算检测物浓度。血清和血浆总蛋白采用紫外可见分光光度计以考马斯亮蓝染色法测定。

1.3 统计学分析

所有试验数据均以平均值±标准差表示,并采用SPSS 11.0软件进行统计分析。试验数据分别采用配对t检验和t检验进行差异显著性检验。

2 结果

2.1 肝素抗凝血浆组与血清组7项常用生化指标检测结果

表1结果显示,所有项目检测结果中血清与血浆具有高度相关性($0.938 < r < 1.000$),AST、ALT、ALP、TG和TP无显著性差异($P > 0.05$);T-CHO和GLU具有显著性差异($P < 0.05$)。

2.2 不同规格星斑川鲷血浆中7项常用生化指标检测结果

表2结果显示,不同规格星斑川鲷的部分血液生化指标存在差异。所测的这7项指标中,两组鱼的血液之间ALT和TG具有显著性差异

($P < 0.05$); AST 和 GLU 呈极显著性差异 ($P > 0.05$)。
($P < 0.01$); ALP、T-CHO 和 TP 之间差异不显著

表 1 星斑川鲷肝素抗凝血浆组与血清组 7 项常用生化指标检测结果的比较

Tab. 1 Comparison of seven biochemical indices between starry flounder heparinized plasma and serum

项目	血清	血浆	相关系数 r	方法
AST(U/L)	33.30±16.71	34.27±18.35	0.991	速率法
ALT(U/L)	19.40±7.67	18.85±7.61	0.938	速率法
ALP(U/L)	17.42±4.83	17.02±5.72	0.987	速率法
T-CHO(mm ol/L)	10.28±1.07 ^a	9.93±0.88 ^b	0.997	酶法
TG(mm ol/L)	1.38±0.49	1.35±0.45	1.000	酶法
GLU(mm ol/L)	2.23±0.22 ^a	2.14±0.20 ^b	0.973	己糖激酶终点法
TP(g/L)	25.23±2.94	25.90±4.85	0.951	考马斯亮蓝染色法

注:数据差异显著性采用配对 t 检验。

表 2 不同规格的星斑川鲷血浆生化指标的比较

Tab. 2 Comparison of the biochemical indices in plasma between different sizes of starry flounder

项目	星斑川鲷 [(92±5) g]	星斑川鲷 [(410±31) g]	t 检验
AST(U/L)	95.87±5.37	33.30±16.71	$P < 0.01$
ALT(U/L)	34.63±2.72	19.40±7.67	$P < 0.05$
ALP(U/L)	16.23±3.18	17.42±4.83	$P > 0.05$
T-CHO(mm ol/L)	10.57±0.33	10.28±1.07	$P > 0.05$
TG(mm ol/L)	0.53±0.04	1.38±0.49	$P < 0.05$
GLU(mm ol/L)	5.17±0.38	2.23±0.22	$P < 0.01$
TP(g/L)	27.20±0.26	25.23±2.94	$P > 0.05$

注:检测方法同表 1。

3 讨论

3.1 星斑川鲷肝素抗凝血浆与血清生化指标检测结果的比较

血液由液体成分血浆和有形成分血细胞两部分组成,离开血管的全血经抗凝处理后,通过离心沉淀,所获得的不含细胞成分的淡黄色液体,即血浆;而血清是血凝后析出的淡黄色液体,较之血浆少了某些凝血因子和纤维蛋白原。肝素是一种含有硫酸基团的黏多糖,与抗凝血酶Ⅲ(ATⅢ)结合,促进其对凝血因子Ⅻ、Ⅺ、Ⅸ、Ⅹ和凝血酶活性的抑制,抑制血小板聚集从而抗凝血液^[9]。通过检测,我们发现 7 项生化检验结果经统计学处理,5 项血清与血浆结果无显著性差异 ($P > 0.05$), T-CHO、GLU 结果虽然有显著性差异 ($0.01 < P < 0.05$),但通过实验结果可以看到,结果相差不是很大,只是差异有显著性,无临床实际意义^[5]。经过相关性分析,所有项目检测结果中血清与血浆具有高度相关性,其中 r 值最大

为 1,最小为 0.938。有报道称,在临床医学生化检测中,由于纤维蛋白原的影响,血浆中 TP 比血清高^[3],但在本实验中血浆 TP 只稍高于血清,并无显著性差异,具体原因有待进一步研究。通过本实验发现,在鱼类常用的这 7 项生化指标中,血清和血浆之间是可以在一起进行比较的,用血浆代替血清进行检测也是可行的。

有报道指出,用血浆代替血清作常规临床生化分析,样品可以尽快分离,减少样品放置所造成的误差,结果将更为真实^[10]。但并不是所有的检测项目都可以用血浆代替血清来检测,一方面有抗凝剂的影响,另一方面血清凝固过程中可能对血细胞产生挤压,使细胞内的物质释放出来,导致血清与血浆之间微量元素的不一。这还需要进一步研究。

3.2 不同规格的星斑川鲷血浆生化指标检测结果的比较

两组星斑川鲷血浆中 AST、ALT、TG、GLU 的差别都较大,说明鱼类血液学指标因个体大小而

异。ALP、T-CHO、TP在两组星斑川鲈血浆中无显著性差异,说明这些指标保持着较好的一贯性,并未随星斑川鲈个体的变化产生较大的差异。转氨酶有多种,其中以谷草转氨酶(AST)和谷丙转氨酶(ALT)的活力最强。正常情况下,细胞内的谷丙和谷草转氨酶由于细胞膜的屏障作用,不易逸出,只有在组织细胞,尤其肝脏和肾脏细胞的不断更新、破坏中才能少量释入血液^[11],因此这两种酶可作为诊断肝肾病变的重要参考指标^[12-13]。在本实验中小规格星斑川鲈血浆中AST和ALT值明显高于大规格星斑川鲈,这可能是由于小规格星斑川鲈生长快使得细胞更新速度快于大规格星斑川鲈,另一方面说明大规格星斑川鲈肝脏和肾脏等器官的功能更强。

血脂水平可以反映全身脂类代谢状况,研究表明鱼类血脂水平随饲料脂肪含量增加而递增^[14],在本实验中,投喂相同脂肪含量饲料的小规格星斑川鲈与大规格星斑川鲈相比较,血浆中CHO含量无显著性差异,而大规格星斑川鲈血浆中的TG含量明显高于小规格星斑川鲈,表明在同样条件下,小规格星斑川鲈可能有更好的脂肪代谢功能。许多学者认为投饵可使血糖立即升高,但停饵(饥饿)后血糖却不一定很快下降。许多研究结果表明,血糖含量较低主要是由于营养不良。祝国芹等^[15]报道,在罗非鱼配合饲料中添加蚯蚓提取液会引起罗非鱼摄食踊跃,而且血糖值要远远高于不添加蚯蚓提取液组。本实验中,小规格星斑川鲈血糖含量为 (5.17 ± 0.38) mmol/L明显高于大规格星斑川鲈血糖水平 (2.23 ± 0.22) mmol/L小规格星斑川鲈摄食活性要明显地强于大规格星斑川鲈,这可能是导致小规格星斑川鲈血糖高的一个重要原因。

感谢山东海洋水产研究所马晶晶博士对本文作出修改并提出宝贵意见!

参考文献:

- [1] 周玉,郭文场,杨振国,等.鱼类血液学指标的研究进展[J].上海水产大学学报,2001,(2):163-165.
- [2] 杨永红,李利,安仕刚.不同方法制备的血清(浆)对常规生化检测的影响[J].检验医学与临床,2007,4(7):582-584.
- [3] 阴斌霞,黄芳,高宁,等.肝素锂抗凝血浆与血清样品28项生化检验项目的可比性分析[J].实用医技杂志,2006,13(18):3167-3169.
- [4] Miles R R, Roberts R F, Putnam A R, et al. Comparison of serum and heparinized plasma samples for measurement of chemistry analytes[J]. Clin Chem, 2004, 50(9): 1704-1706.
- [5] 马勇.肝素抗凝血浆与血清在急诊生化检测中结果的比较[J].中国误诊学杂志,2008,8(18):4331-4332.
- [6] 王广军.星斑川鲈的生物学特性与养殖前景分析[J].水产科技,2006(2):35-36.
- [7] 王波,王宗灵,孙丕喜,等.星斑川鲈的养殖条件及发展前景[J].渔业现代化,2006,(5):16-18.
- [8] 刘振华,王肇颖,马峰,等.星斑川鲈工厂化健康养殖技术研究[J].科学养鱼,2007,(7):22-24.
- [9] 叶应妩,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].3版.南京:东南大学出版社,2006:122-123.
- [10] Ladenson JH, Tsai L M, Michael J M, et al. Heparinized plasma for eighteen common chemistry tests: is serum the appropriate specimen[J]. Am J Clin Pathol 1974, 62: 545-552.
- [11] 康格菲.临床生物化学[M].北京:人民卫生出版社,1989.
- [12] Maita M, Shimitsu K, Ikeda Y. Health assessment by the clinogram of hemochemical constituents in cultured yellow-tail[J]. Bull Jpn Soc Sci Fish, 1984, 51: 205-211.
- [13] Racicot JG, Gaudet M, Lery C. Blood and liver enzymes in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich) with emphasis on their diagnostic use: study of CC₄ toxicity and a case of *Aeromonas* infection[J]. J Fish Biol 1975, 7: 825-835.
- [14] Regost C, Arzel J, Cardinal M. Dietary lipid level hepatic lipogenesis and flesh quality in turbot (*Psetta maxima*) [J]. Aquaculture 2001, 193: 291.
- [15] 祝国芹,吴垠.罗非鱼血液指标同营养关系的研究[J].水产科学,1989,8(1):4-7.