

感染 COVID-19 与献血者血浆纤维连接蛋白和凝血功能的关系研究*

赵广超¹ 陈媛媛¹ 齐清¹ 陈采¹ 毛平平¹ 王淑君¹ 袁君¹ 栾建凤¹

[摘要] 目的:探讨感染新型冠状病毒疾病(COVID-19)与献血者的血浆纤维连接蛋白(pFN)和凝血功能的关系。方法:选取2022年12月1日—2023年1月31日在血液中心捐献血液的献血者82例为研究对象,根据是否感染COVID-19及感染康复分为未感染组(35例)和感染康复组(47例)。留取标本检测pFN、血常规、凝血因子Ⅷ(FⅧ)、凝血功能[凝血酶原时间(PT)、凝血酶时间(TT)、活化部分凝血酶时间(APTT)、纤维蛋白原(Fib)及D-二聚体(D-Dimer,D-D)]。采用独立样本 t 检验,比较2组pFN和凝血功能的变化。结果:未感染组及感染康复组的pFN分别为 (282.90 ± 156.00) mg/L和 (197.80 ± 96.95) mg/L,2组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。2组的小板计数、PT、TT、APTT、Fib、D-D值均在正常范围内,差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论:轻症感染COVID-19康复患者pFN消耗增加,主要参与机体免疫炎症反应,对凝血功能的影响较小,血液符合《全血及成分血质量要求(GB 18469—2012)》的标准。

[关键词] COVID-19;献血者;纤维连接蛋白;凝血功能

DOI:10.13201/j.issn.1004-2806.2024.04.001

[中图分类号] R392.7,R373.1 **[文献标志码]** A

Study on the relationship between COVID-19 infection and plasma fibronectin and coagulation function in blood donors

ZHAO Guangchao CHEN Yuanyuan QI Qing CHEN Cai MAO Pingping
WANG Shujun YUAN Jun LUAN Jianfeng

(Department of Blood Transfusion Medicine, Jinling Hospital, Medical School of Nanjing University, Nanjing, 210002, China)

Corresponding author: LUAN Jianfeng, E-mail: luanjf1003@126.com

Abstract Objective: To investigate the relationship between plasma fibronectin(pFN) and coagulation function in blood donors infected with COVID-19. **Methods:** A total of 82 blood donors who donated blood at the blood center from December 1, 2022 to January 31, 2023 were selected as the study subjects. They were divided into two groups: the non-infected group(35 cases) and the infected-recovered group(47 cases) according to whether they were infected with COVID-19 and whether they had recovered. Samples were collected to test pFN, blood routine, coagulation factor Ⅷ(FⅧ) and coagulation function which included prothrombin time(PT), thrombin time(TT), activated partial thromboplastin time(APTT), fibrinogen(Fib), and D-Dimer(D-D). The independent sample t -test was used to compare the changes in pFN and coagulation function between the two groups. **Results:** The pFN of the non-infected group and the infected-recovered group were (282.9 ± 156.00) mg/L and (197.80 ± 96.95) mg/L, respectively. There was a significant difference between the two groups($P < 0.05$). The platelet count, PT, TT, APTT, Fib and D-D values of both groups were within the normal range, and the difference was not statistically significant($P > 0.05$). **Conclusion:** For mild COVID-19 patients who had recovered, pFN consumption may increase, mainly participating in the body's immune inflammatory response, with little effect on coagulation function, whose blood can meet the standard of *Quality Requirements for Whole Blood and Blood Components*(GB 18469—2012).

Key words COVID-19; blood donors; fibronectin; coagulation function

*基金项目:江苏省卫生健康委员会重大科研项目(No:ZDA2020024)

¹东部战区总医院输血医学科(南京,210002)

通信作者:栾建凤,E-mail:luanjf1003@126.com

纤维连接蛋白(fibronectin, FN)是细胞外基质的重要成分,为一种具有多种功能的糖蛋白大分子,其广泛参与细胞迁移、黏附、增殖、止血及组织修复等过程^[1],有可溶性和不溶性两种形式,功能类似但不完全相同,两者可互相转换,保持一种动态平衡^[2]。在创伤初期的凝血过程, FN 通过与血浆转谷酰胺酶与纤维蛋白交联起来发挥作用^[3]。此外, FN 还可激活巨噬细胞系统,促进巨噬细胞的吞噬,有抗炎作用,在机体的感染反应中起着至关重要的作用^[4]。血浆纤维连接蛋白(plasma fibronectin, pFN)也可促进血小板聚集^[5-7],导致血栓形成。在《献血者健康检查要求(GB 18467-2011)》中要求有上呼吸道感染的献血者病愈 1 周后方可献血。既往研究发现,严重肺部感染后,患者全身的多个器官和系统都可能受到影响^[8]。其中,值得重视的病理特征之一是凝血功能的异常^[9],主要表现为纤维蛋白原(Fib)以及 D-二聚体(D-Dimer, D-D)显著上升等^[10]。感染引起凝血病的潜在机制仍然未知,但有人认为它是一种弥散性血管内凝血^[3],并且认为它是器官损伤和死亡率的预测因子^[11]。有研究认为在轻度感染或已从感染中恢复的患者中,炎症标志物、D-D 水平和凝血功能可能是正常的^[12]。鉴于机体感染后可能出现的变化和 FN 的生理作用,本中心对感染康复献血者和未感染献血者中的 pFN 及凝血参数进行检测,初步探讨轻度感染对献血者 pFN 及凝血功能的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2022 年 12 月 1 日—2023 年 1 月 31 日在我院血液中心捐献血液的献血者标本进行研究,共 82 例,均为男性。根据是否感染 2019 冠状病毒疾病(COVID-19)及感染康复分为未感染组和感染康复组。

纳入标准:①所有献血者均符合《献血者健康检查要求(GB 18467-2011)》的标准;②所有献血者依据《血站新冠病毒感染防控工作指引(第二版)》的标准进行征询;③未感染组献血者无 COVID-19 感染症状,且核酸或抗原检测结果为阴性;④感染组所有献血者符合《血站新冠病毒感染防控工作指引(第二版)》的标准,近 1 个月内出现感染症状,且距离最后一次阳性结果 > 7 d;⑤使用 2019 新型冠状病毒(2019-nCoV) IgG 进行定性检测, 2019-nCoV IgG 抗体 ≥ 160 即为 COVID-19 感染康复者恢复期血浆;⑥献血者知情同意。

排除标准:①献血者不符合《献血者健康检查要求(GB 18467-2011)》;②近 6 个月内曾被诊断新型冠状病毒感染重型或危重型;③感染新型冠状病毒

毒(重型和危重型除外),且距离最后一次阳性结果不足 7 d;④14 d 内接受过新型冠状病毒疫苗接种;⑤献血者感染日期不确定,资料不完整或不愿意纳入本研究。

未感染组 35 例,年龄 19~44 岁,中位年龄为 22 岁;感染康复组 47 例,年龄 19~53 岁,中位年龄为 23 岁,其中 20 例 2019-nCoV IgG 抗体 ≥ 160。本研究符合《赫尔辛基宣言》,我院伦理委员会审核批准通过。

1.2 仪器与试剂

全血采集使用带旁路系统的一次性使用滤除白细胞型血袋[费森尤斯卡比(广州)医疗用品有限公司];2019-nCoV IgG 抗体滴度使用磁微粒化学发光测定[安图磁微粒全自动化学发光分析仪(A2000PLUS)];血液常规参数使用 sysmex XE-5000 自动化血液学分析仪及配套试剂测量;pFN 检测使用 Hitachi 7600 生化分析仪及配套试剂(北京利德曼生化股份有限公司);凝血功能[凝血酶原时间(PT)、凝血酶时间(TT)、活化部分凝血酶时间(APTT)、Fib 及 D-D]检测使用 sysmex CS-5100 凝血分析仪及配套试剂(Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH,批号:565150、562675、568032、00520);凝血因子 VIII(F VIII)检测采用 sysmex CA-50 (Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH,批号:560841)。

1.3 标本留样及检测

按照《血站技术操作规程(2019 版)》带旁路系统的采血袋进行操作,献血穿刺完成后,血液先流入留样袋中 15~20 mL,再流入全血储存袋中。工作人员立即从留样袋中留取标本并做好标记。留取的血液标本用于检测血液常规参数、pFN、PT、TT、APTT、Fib、D-D、F VIII 及 2019-nCoV IgG 抗体滴度。根据献血者体检及血液标本检测结果,感染康复组留取 IgG 抗体 ≥ 160 的献血标本 20 例, IgG 抗体 < 160 的献血标本 27 例,未感染组留取 35 例。

1.4 统计学方法

使用 GraphPad Prism 9.3 进行统计分析,计量资料以 $\bar{X} \pm s$ 表示,总体比较采用独立样本 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组血常规比较

未感染组及感染康复组部分血液常规参数比较,差异均无统计学意义。见表 1。

2.2 2 组 pFN 比较

未感染组及 IgG 抗体滴度 ≥ 160 感染康复组 pFN 值分别为 (282.90 ± 156.10) mg/L 和 (197.80 ± 96.95) mg/L,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 1。

表 1 未感染组及感染康复组部分血液常规参数对比分析

项目	未感染组(n=35)	感染康复组(n=47)	P
血小板计数/($\times 10^9/L$)	248.10 \pm 47.15	252.50 \pm 45.92	0.764
血小板比容/%	0.26 \pm 0.05	0.27 \pm 0.04	0.640
平均血小板体积/fL	10.01 \pm 2.49	10.84 \pm 1.04	0.130
血小板分布宽度/%	16.01 \pm 0.68	16.21 \pm 0.26	0.189

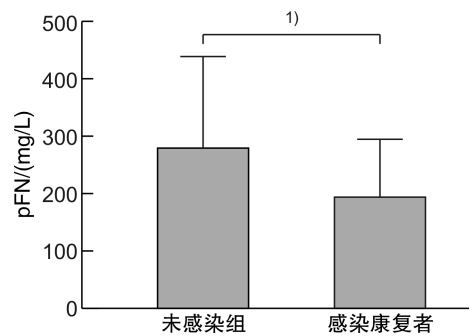
2.3 2组凝血功能比较

未感染组及感染康复组的 PT、TT、APTT 值分别为(11.29 \pm 0.55) s、(16.85 \pm 0.50) s、(28.11 \pm 1.65) s 和(11.32 \pm 0.53) s、(16.96 \pm 0.47) s、(28.33 \pm 1.92) s, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。2组的 Fib 值分别为(2.14 \pm 0.27) g/L 和(2.18 \pm 0.36) g/L; 2组的 D-D 值分别为(0.14 \pm 0.11) μ g/L 和(0.13 \pm 0.09) μ g/L, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见图 2。

2.4 2组 Fib 和 FⅧ比较

比较未感染组和 IgG 抗体 ≥ 160 的感染康复组献血者血浆中 Fib 及 FⅧ。未感染组及 IgG 抗体 ≥ 160 的感染康复组 Fib 值分别为(2.14 \pm 0.27) g/L、(2.16 \pm 0.35) g/L; FⅧ值分别为

(0.96 \pm 0.42) IU/mL、(0.88 \pm 0.41) IU/mL, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见图 3。



与未感染组比较,¹⁾ $P < 0.05$ 。

图 1 未感染组及 IgG 抗体滴度 ≥ 160 感染康复组的 pFN

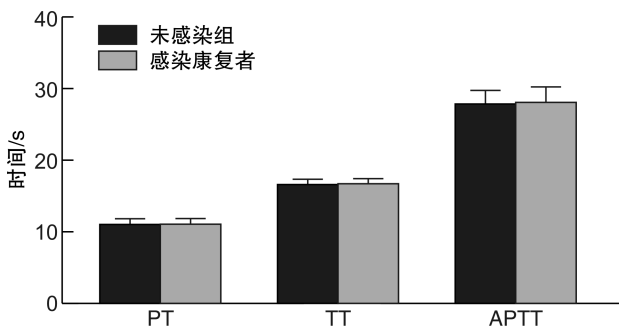


图 2 未感染组及感染康复组的凝血功能比较

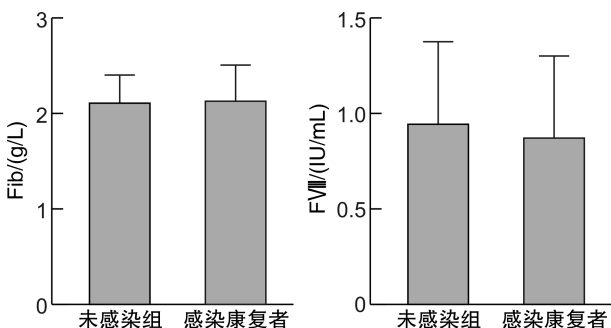
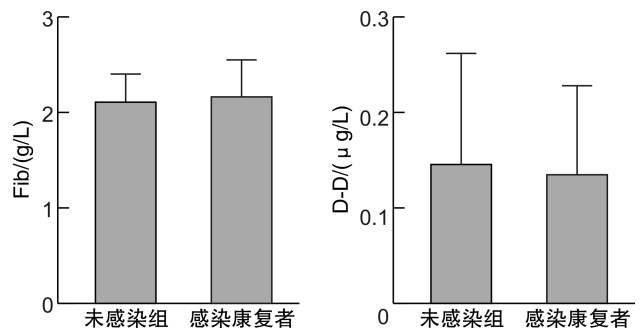


图 3 未感染组及 IgG 抗体 ≥ 160 感染康复组的 Fib 和 FⅧ

3 讨论

只有健康献血者捐献出的血液才能保证输血安全,因此血站工作人员应该关注献血者的各项血液指标,既往对感染康复献血者血液凝血功能及

pFN 的关注较少。本研究对比分析了未感染和感染康复献血者的血液常规参数、pFN、凝血功能和 FⅧ等的变化,结果显示 2 组各血液参数均在正常参考值范围内。其中,血小板计数、血小板比容、平均血小板体积、血小板分布宽度感染康复组均较未感染组升高,但差异均无统计学意义,Chiew 等^[13]的研究显示了相同的结果,他认为大多数轻症患者血小板计数水平正常,少数患者血小板增多^[13]。

由图 1 可见献血人群中感染康复组 pFN 值较未感染组低,且差异有统计学意义,说明 pFN 在炎症感染献血者血液中的作用值得我们关注。有人认为 FN 是一种潜在的生物标志物^[14],当机体出现炎症反应时 pFN 消耗增加^[15]。本研究显示感染康复组 pFN 值较低,且与未感染组相比,差异有统计学意义,说明 FN 在感染过程中消耗增加,与上述

研究结果一致。研究认为 FN 通过增强网状内皮系统和促进单核巨噬系统活性,降低肿瘤坏死因子- α 表达等,参与机体免疫炎症反应^[16],因此, FN 可以检测感染的严重程度^[17]。FN 除参与炎症反应,还参与凝血过程。在创伤初期的凝血过程, FN 与纤维蛋白交联,迅速沉积在受损的血管壁,成为止血的第一关键因素^[18]。此过程中会消耗上述 2 种物质,而《全血及成分血质量要求(GB 18469—2012)》中对血浆及冷沉淀中凝血因子值做出明确规定,献血者血浆中的凝血因子水平关系到血液质量。因此,本研究中我们观察了献血者血浆中的 Fib,感染康复组与未感染组 Fib 值之间差异无统计学意义,在未感染组与 IgG 抗体滴度 ≥ 160 感染康复组的 Fib 显示了相同的结果。Fib 是由肝细胞合成的凝血因子^[19],在感染康复献血者血液中的 Fib 无明显消耗,这与既往轻症患者的研究结果一致,表明 pFN 值降低主要是参与了机体免疫炎症反应,而非参与献血者凝血反应。另外, D-D 水平可以反映体内凝血和纤溶过程的变化^[20],本研究中 D-D、PT、TT、APTT 结果均在正常范围内,这与 Chiew 等^[13]的研究结果一致,表明献血者在轻症感染后机体凝血功能正常。还有研究发现,重症感染患者炎症因子释放增多^[21],而 IL-6 具有促进凝血因子如 F VIII、X III 等表达的作用^[22-23],但我们观察到感染康复组与未感染组 F VIII 水平的差异无统计学意义,且 F VIII ≥ 0.7 IU/mL,说明凝血因子在轻症感染者血液中无明显生成增多。上述研究表明,从凝血四项、D-D、F VIII 和血小板计数等方面进行评估,感染康复者凝血功能与未感染者比较差异无统计学意义。

综上所述,献血者轻度炎症感染后 pFN 虽消耗增多,但结果仍在正常范围内;凝血因子消耗不明显, pFN 降低主要原因为参与机体免疫炎症反应,对凝血功能无影响;轻度感染康复献血者血液符合《全血及成分血质量要求(GB 18469—2012)》的标准,血浆可以为患者补充凝血因子等物质,制备冷沉淀等血液成分。轻症感染康复者捐献的血液与未感染者捐献的血液在上述研究方面具有同样的安全性。鉴于 pFN 在炎症感染时发挥的调理性作用,败血症凝血功能障碍患者可输入 FN 含量高的血液成分,如冷沉淀^[24]等,以促进机体康复。但本研究还存在不足,样本量较小,还需进一步研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 王斌,吴学军,张世阳,等. 纤连蛋白(FN)国内研究开发及临床应用新进展[J]. 基础医学与临床, 2012, 32(8):964-967.
 [2] 郑雪萍,陈元仲. 纤维连接蛋白治疗败血症的研究进展[J]. 医学综述, 2009, 15(10):1445-1448.
 [3] 肖赫,李雅嘉,王华,等. 纤维连接蛋白在糖尿病足溃

疡中的研究进展[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(21): 5474-5476.

- [4] Lemańska-Perek A, Krzyżanowska-Goła b D, Kobylińska K, et al. Explainable Artificial Intelligence Helps in Understanding the Effect of Fibronectin on Survival of Sepsis[J]. Cells, 2022, 11(15):2433.
 [5] 罗晓欣,周曼丽,冯宇,等. 纤维连接蛋白对动脉粥样硬化影响的研究进展[J]. 中华高血压杂志, 2022, 30(2):127-132.
 [6] 田雨娟,张昱,陈芳,等. 两种抗纤溶治疗方案对体外循环心脏手术患者围术期血浆纤维连接蛋白水平的影响[J]. 中国循环杂志, 2020, 35(4):384-389.
 [7] Matuskova J, Chauhan AK, Cambien B, et al. Decreased plasma fibronectin leads to delayed thrombus growth in injured arterioles[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2006, 26(6):1391-1396.
 [8] 吴娇,王沛纯,刘璇. 新型冠状病毒肺炎患者中的凝血功能异常及其可能机制和治疗策略[J]. 上海中医药大学学报, 2022, 36(6):90-100.
 [9] Russell L, Weihe S, Madsen EK, et al. Thromboembolic and bleeding events in ICU patients with COVID-19: A nationwide, observational study [J]. Acta Anaesthesiol Scand, 2023, 67(1):76-85.
 [10] Altay N, Karahan M, Atlas A. The Effectiveness of Platelet and D-Dimer Levels in Predicting Prognosis in Intensive Care Patients Diagnosed With COVID-19 [J]. Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 2022, 493-498.
 [11] Özden Ö, Laflı A, Tunay D. The Relationship Between COVID-19 Related Coagulopathy with Organ Damage and Prognosis[J]. JoCASS, 2022, 5(3):342-350.
 [12] 杨紫薇,徐菲菲,吕云华,等. 单核巨噬细胞在新冠肺炎病毒感染中的作用[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2022, (9):848-852.
 [13] Chiew YR, Kong Y. Encephalopathy as the Only Manifestation in Simultaneous Arterial Infarct and Cerebral Venous Sinus Thrombosis in Recent COVID-19 Infection [J]. Am J Case Rep, 2022, 23:e938571.
 [14] Lemańska-Perek A, Krzyżanowska-Goła b D, Dragan B, et al. Fibronectin as a Marker of Disease Severity in Critically Ill COVID-19 Patients[J]. Cells, 2022, 11(9):1566.
 [15] 钱宗薇,董志方. 糖尿病各种合并症的 PFN 测定及其意义[J]. 中国医科大学学报, 1990, (6):460-462.
 [16] Rotundo RF, Curtis TM, Shah MD, et al. TNF-alpha disruption of lung endothelial integrity: reduced integrin mediated adhesion to fibronectin[J]. Am J Physiol Lung C, 2002, 282(2):316-329.
 [17] Yuan X, Wu Y, Lin J, et al. Plasma fibronectin can affect the cytokine profile and monocytes/macrophages function in addition to predicting the prognosis of advanced sepsis[J]. FASEB J, 2022, 36(3):e22179.

(下转第 235 页)

- [16] 杨亚崇,帅世超,朱喜春,等. 富血小板血浆治疗膝关节骨性关节炎的研究进展[J]. 中国输血杂志, 2023, 36(1):90-93.
- [17] 宋黎,陆茂,唐懿,等. 点阵 CO₂ 激光联合富血小板血浆治疗萎缩性痤疮瘢痕的系统评价[J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(35):5734-5740.
- [18] 朱新华,张二佳,付梦瑶. 强脉冲光联合富血小板血浆注射治疗玫瑰痤疮疗效观察[J]. 中国美容医学, 2023, 32(10):102-105.
- [19] Dionysiou D, Demiri E, Foroglou P, et al. The effectiveness of intralesional injection of platelet-rich plasma in accelerating the healing of chronic ulcers: an experimental and clinical study[J]. *Int Wound J*, 2013, 10(4):397-406.
- [20] Cervelli V, Scioli MG, Gentile P, et al. Platelet-rich plasma greatly potentiates insulin-induced adipogenic differentiation of human adipose-derived stem cells through a serine/threonine kinase Akt-dependent mechanism and promotes clinical fat graft maintenance [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2012, 1(3):206-220.
- [21] 马秉正,赵而海,左振柏,等. 基于 Luminex 技术对比分析激活后的脐血和成人富血小板血浆研究[J]. 中国输血杂志, 2023, 36(1):11-15.
- [22] 刘建香,吕孟兴,屈柯暄,等. 自体富血小板血浆治愈儿童难治性骨髓炎合并骨折 1 例[J]. 中国输血杂志, 2023, 36(8):673-675.
- [23] 刘琴,沈先涛,胡红兵,等. 自体富血小板血浆治疗儿童病理性骨折疗效观察[J]. 临床输血与检验, 2023, 25(3):354-357.
- [24] 刘炎,何颖雨,刘磊,等. 富血小板血浆的抑菌作用及其机制的研究进展[J]. 临床血液学杂志, 2023, 36(6):452-456.
(收稿日期:2023-08-28 修回日期:2024-01-31)

(上接第 230 页)

- [18] Lemańska-Perek A, Krzyżanowska-Gołąb D, Pupek M, et al. Analysis of Soluble Molecular Fibronectin-Fibrin Complexes and EDA-Fibronectin Concentration in Plasma of Patients with Atherosclerosis [J]. *Inflammation*, 2016, 39(3):1059-1068.
- [19] 林梓豪,黄平. 重症肺炎患者 FDP、D-D、FIB 与炎症指标、病情程度的关系及其短期预后预测价值[J]. 中国急救复苏与灾害医学杂志, 2022, 17(9):1182-1189.
- [20] 颜楠,刁艳君,韩峰,等. 凝血相关检测常见干扰因素分析与探讨[J]. 临床血液学杂志, 2023, 36(10):693-696.
- [21] 石浩,张海博,魏海梁,等. 中医药防治 COVID-19 细胞因子风暴的研究进展[J]. 辽宁中医杂志, 2022, 49(12):216-226.
- [22] Stirling D, Hannant WA, Ludlam CA. Transcriptional activation of the factor gene in liver cell lines by interleukin-6 [J]. *Thromb Haemost*, 1998, 79(1):74-78.
- [23] Watanabe H, Mokuda S, Tokunaga T, et al. Expression of factor XIII originating from synovial fibroblasts and macrophages induced by interleukin-6 signaling [J]. *Inflamm Regen*, 2023, 43(1):2.
- [24] 徐树良,吴慧民,孙启俊. ELISA 检测冷沉淀中纤维连接蛋白含量初探[J]. 中国输血杂志, 2005, 18(1):30-31.
(收稿日期:2023-08-28 修回日期:2024-02-26)