论 著

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.001046

不同贮存条件对肾素和醛固酮浓度测定的影响

李溪月，Richa Goswami，胡金波，王 越，宋 颖，何文雯，杨淑敏，程庆丰，甄乾娜，李启富
（重庆医科大学附属第一医院内分泌科，重庆 400016）

【摘 要】**目的**：探讨不同贮存条件对血浆肾素浓度（plasma renin concentration，PRC）和醛固酮浓度（plasma aldosterone concentration，PAC）测定的影响。**方法**：取 43 名受试者血浆，各分为 11 份，其中 1 份立即测定 PRC、PAC（基线值），另 10 份分别置室温 3 h、6 h、24 h；4 ℃ 3 h、6 h、24 h；-20 ℃ 24 h、1 个月、3 个月；-80 ℃ 3 个月测量 PRC 及 PAC。依据基线 PRC 或 PAC 三分位进行分组，即低、中、高浓度组，进行亚组分析。**结果**：室温放置样本 24 h 期间，PRC 随放置时间延长呈明显下降趋势（F=24.300，P=0.000），亚组分析显示中、高浓度组 PRC 自 6 h 起差异有统计学意义（P<0.05）。4 ℃放置 24 h 期间，PRC 随放置时间延长呈显著上升趋势（F=33.600，P=0.000），亚组分析显示低、中浓度组 PRC 在 3 h 差异有统计学意义（P<0.05），高浓度组 PRC 在 24 h 差异有统计学意义（P=0.042）。-20 ℃、-80 ℃放置 3 个月期间，PRC 无明显变化。样本置室温 24 h、4 ℃ 24 h、-20 ℃ 3 个月、-80 ℃ 3 个月期间，PAC 均无明显变化。**结论**：血浆室温放置 PRC 随时间逐渐降低，而 4 ℃放置 PRC 随时间逐渐升高，-20 ℃、-80 ℃贮存对 PRC 测定无明显影响，且 3 个月内不受贮存时间影响。标本贮存温度 3 个月内对 PAC 测定无明显影响。

【关键词】原发性醛固酮增多症；醛固酮；肾素浓度
【中图分类号】R586.9 【文献标志码】A 【收稿日期】2016-04-28

Influence of storage conditions on the plasma renin concentration and plasma aldosterone concentration

Li Xiyue, Richa Goswami, Hu Jinbo, Wang Yue, Song Ying, He Wenwen, Yang Shumin, Cheng Qingfeng, Zhen Qianna, Li Qifu
(*Department of Endocrinology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University*)

【Abstract】***Objective***: To investigate the influence of storage conditions on the plasma renin concentration (PRC) and plasma aldosterone concentration (PAC). ***Methods***: Plasma samples from 43 subjects were divided respectively into 11 aliquots, of which one was instantly used for measurements (baseline) and the rest samples were used for PRC and PAC measurements after storage at room temperature for 3, 6, 24 hours; 4 ℃ for 3, 6, 24 hours; -20 ℃ for 24 hours, 1 month, 3 months; -80 ℃ for 3 months. According to baseline PRC and PAC tertile, subjects were stratified into low, middle and high subgroups for analyses. ***Results***: At room temperature, PRC had a significant downtrend during 24 hours (F=24.300, P=0.000), and further tertile analysis showed the middle and the upper PRC groups had a significant decrease after 6 hours (P<0.05). At 4 ℃, PRC had a significant uptrend during 24 hours (F=33.600, P=0.000). Further tertile analysis showed the low and the middle groups had significant increase after 3 hours storage (P<0.05), and the high group had a significant increase at 24 hours (P=0.042). No significant change of PRC was found after storage at -20 ℃ and -80 ℃ for 3 months. No significant change was observed in PAC, when the samples were stored at room temperature for 24 hours, 4 ℃ for 24 hours, -20 ℃ for 3 months and -80 ℃ for 3 months. ***Conclusion***: PRC will decrease at room temperature but increase at 4 ℃. The storage temperature did not affect PAC in a short time (<24 hours).

【Key words】primary aldosteronism; plasma aldosterone concentration; plasma renin concentration

近年研究表明，原发性醛固酮增多症（简称原醛症）在高血压患者中的发生率为 5%~10%，而在顽固型高血压患者中可达 20%[1-2]。相比于原发性高血压，原醛症患者心脏、脑、肾脏等靶器官损害更为严重，因此早期诊断、合理治疗对改善原醛症患者预后至关重要[3]。

原醛症的诊断流程分筛查、确诊、分型 3 个步骤。其中筛查作为诊断流程的第一步，具有十分重

作者介绍：李溪月，Email：dearlittleseven@outlook.com，研究方向：内分泌代谢及肾上腺疾病的研究和治疗。
通信作者：李启富，Email：liqifu@yeah.net。
基金项目：国家自然科学基金资助项目（编号：81370954）；国家临床重点专科建设资助项目（编号：财社[2011]170 号）。
优先出版：http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20161116.1613.008.html (2016-11-16)

要的临床意义。血浆醛固酮浓度(plasma aldosterone concentration,PAC)与肾素(活性或浓度)比值(plasma aldosterone renin ratio,ARR)是目前筛查原醛症的主要指标。相对于传统的放射免疫法测定肾素活性(plasma renin activity,PRA),采用全自动化学发光法测定血浆肾素浓度(plasma renin concentration,PRC)具有快速、重复性好、易标准化、操作简单等优点,目前已在国外得到认可,并有取代肾素活性的趋势[4-7]。但化学发光法测定血浆醛固酮和肾素浓度在国内开展并不广泛,不少样本需送到大型医疗机构或第三方检测中心。样本的贮存温度、时间等因素是否影响血浆 PAC 和 PRC 的检测结果,国内尚无相关报道。本研究拟通过对放置不同时间、不同温度的血浆样本 PRC 和 PAC 进行测定,探讨样本贮存条件对 PAC 和 PRC 的影响,确定样本最佳存放条件。

1 对象和方法

1.1 对象

选取我院体检中心 20 名健康志愿者和 23 名原发性高血压患者。本研究得到重庆医科大学伦理委员会的批准,所有调查均取得受试对象的知情同意。高血压纳入标准:①新诊断高血压:在未使用降压药情况下,非同日 3 次测量血压,收缩压≥140 mmHg 和(或)舒张压≥90 mmHg;②既往高血压:目前正在使用降压药物,血压可低于 140/90 mmHg。排除标准:年龄≤18 岁;体质指数(body mass index,BMI)≤18.0 kg/m² 或≥35.0 kg/m²;肝、肾功能不全;有严重器质性心脏疾病者;Ⅲ级及以上心功能不全;妊娠、哺乳期妇女;正在服用雌激素者或口服避孕药。

1.2 方法

所有研究对象均空腹,于早晨 8 点立位采集肘静脉血12 mL,置于 EDTA 抗凝管中,立即离心 5 min(3 500 r/min)取血浆,均分为 11 份,其中 1 份立即测定 PAC 和 PRC 作为基线值,另外 10 份中取 3 份存放于室温、3 份存放于 4 ℃冰箱、3 份存放于-20 ℃冰箱及 1 份存放于-80 ℃冰箱,上述操作于 30 min 内完成。分别测定室温和 4 ℃条件下,样品放置 3 h、6 h、24 h 及-20 ℃条件下放置 24 h、1 个月、3 个月,-80 ℃条件下放置 3 个月的血浆 PRC 和 PAC,进行比较分析。再依据基线 PRC 和 PAC 数据进行三分位分组,了解各组 PRC 和 PAC 在不同温度条件下随时间的变化趋势。

PRC 和 PAC 均采用 Liasion 全自动化学发光仪测定(试剂盒由意大利 Diasorin 公司提供)。PRC 的分析灵敏度为 0.13~0.53 μIU/mL,批内和批间差异分别为 1.2%~3.7%、2.9%~12.8%。PAC 的分析灵敏度为 2.2 ng/dL,批内和批间差异分别为 2.4%~4.8%、4.4%~6.7%。为确保测定方法的准确性,需要比较的样本在同一天、同一批次进行,且每次测量前均严格室内质控（美国伯乐产品 Lyphochek® Hypertension Markers Control)。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 13.0 统计软件进行分析,计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)描述。由于本研究拟探讨样本贮存温度对PAC 和 PRC 的影响,结果显示高血压患者和正常人两组间 PRC和 PAC差异无统计学意义,因此对两组数据进行合并分析。采用重复测量数据方差分析对不同贮存温度、不同贮存时间的 PRC 和 PAC 进行比较,两两比较采用配对 t 检验。检验水准 α=0.05。

2 结 果

2.1 一般情况比较

共纳入 43 名受试者,其中高血压患者共 23 名,健康志愿者 20 名。高血压患者组与健康人群组在年龄、BMI、收缩压、舒张压的差异有统计学意义。健康志愿者与高血压人群比较,PRC 和 PAC 差异无统计学意义。受试者一般资料见表1。

2.2 放置温度、时间对 PRC 和 PAC 结果的影响

2.2.1 总体分析 不同样本放置温度和时间对 PRC 和 PAC 结果的影响见表 2。室温下存放 24 h,PRC 整体呈下降趋势(F=24.300,P=0.000),6 h 时差异有统计学意义(t=3.530,P=0.001),下降幅度为 6%,24 h 时下降幅度为 12%;室温下存放 24 h,PAC 变化无统计学意义。4 ℃冰箱下存放 24 h,PRC整体呈上升趋势(F=33.600,P=0.000),6 h 时差异出现统计学意义(t=-1.030,P=0.000),上升幅度为 8%,24 h 时上升幅度为15%;期间 PAC 变化无统计学意义。在-20 ℃、-80 ℃条件下存放 3 个月,PRC 和 PAC 变化均无统计学意义。

表 1 受试者的一般临床资料

Tab.1 Characters of subjects in our study

组别	例数	性别(男/女)	年龄(岁)	BMI(kg/m²)	收缩压(mmHg)	舒张压(mmHg)	PAC(pg/mL)	PRC(μIU/mL)
高血压患者	23	7/13	50.52±17.69	25.97±4.81	154.61±16.38	89.70±12.79	12.85±11.09	24.64±27.03
健康人群	20	11/12	39.30±12.74[a]	22.84±3.53[b]	117.30±13.58[c]	72.75±11.84[d]	8.61±5.80	33.52±23.84

注:与高血压患者组比较,a:t=-2.420,P=0.020;b:t=-2.400,P=0.021;c:t=-8.060,P=0.000;d:t=-4.490,P=0.000

表 2 PRC 和 PAC 在不同存放条件下的变化情况

Tab.2 Changes of PRC and PAC in varied conservation conditions

指标	基线	室温			4 ℃			-20 ℃		
		3 h	6 h	24 h	3 h	6 h	24 h	24 h	1个月	3个月
PAC(pg/mL)	10.43±8.94	10.81±6.33	11.37±8.57	10.51±8.04	12.24±9.30	11.56±8.62	10.93±8.34	10.26±8.38	10.06±7.73	10.39±8.23
PRC(μIU/mL)	28.68±25.42	28.63±25.06	27.07±23.98[a]	25.27±22.78[b]	29.34±25.31	31.10±25.76[c]	33.06±26.40[d]	27.46±23.77	27.76±24.90	28.07±25.26

注：与基线肾素浓度比较，a：t=3.530，P=0.001；b：t=5.110，P=0.000；c：t=−1.030，P=0.001；d：t=−5.450，P=0.000

2.2.2 PRC 亚组分析 依据基线 PRC 数据进行三分位分组，即低浓度组（0~10.9 μIU/mL）、中浓度组（11.0~31.7 μIU/mL）、高浓度组（31.8~89 μIU/mL），了解各组 PRC 在不同温度条件下随时间的变化趋势。室温放置 24 h，PRC 结果如图 1所示。各组 PRC 随时间延长均有下降趋势，低浓度组 PRC 变化无统计学差异，中浓度 PRC 在 6 h 时有统计学意义的变化（t=3.600，P=0.003），高浓度 PRC 也在 6 h 即有统计学差异（t=2.530，P=0.025）。

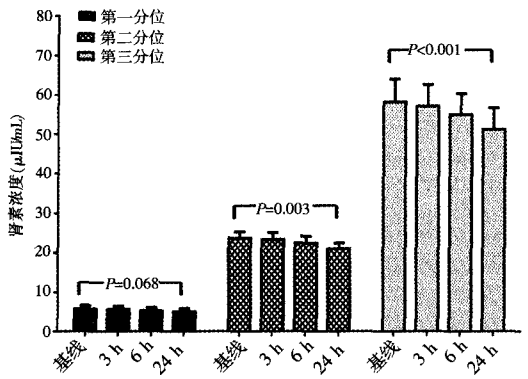


图 1 血浆肾素浓度在室温 24 h 内的变化情况

Fig.1 Changes of PRC in room temperature for 24 hours

4 ℃放置 24 h 期间，PRC 结果如图 2 所示。各亚组 PRC 随时间延长均有明显上升趋势，低浓度组 PRC 在 3 h 即出现有统计学意义的上升（t=−2.380，P=0.032），中等浓度组 PRC 在 3 h 差异也有统计学意义（t=−3.830，P=0.002），高浓度组 PRC 在 24 h 差异有统计学意义（t=−2.280，P=0.042）。

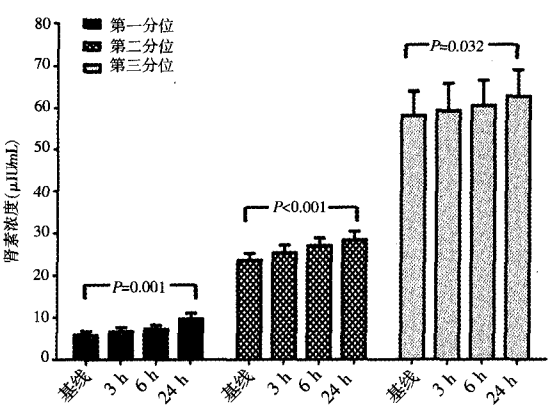


图 2 血浆肾素浓度在 4 ℃条件 24 h 内的变化情况

Fig.2 Changes of PRC in 4 ℃ for 24 hours

−20 ℃、−80 ℃条件放置 3 个月内，各浓度 PRC 亚组随时间延长变化无统计学差异。

2.2.3 PAC 亚组分析 依据基线数据将 PAC 按三分位进行分组，即低浓度组（0~6.53 pg/mL）、中浓度组（6.54~10.26 pg/mL）、高浓度组（10.27~29.4 pg/mL），了解各亚组 PAC 在不同温度条件下的变化趋势。室温放置 24 h、4 ℃放置 24 h、−20 ℃放置 3 个月、−80 ℃放置 3 个月，各亚组 PAC 随时间延长变化无统计学差异。

3 讨 论

原发性醛固酮增生症是指由于肾上腺皮质病变，导致醛固酮分泌增多，同时肾素血管紧张素系统受到抑制，以高血压伴或不伴低血钾为主要临床表现的综合征。因高醛固酮水平为其主要特征之一，且已有研究表明醛固酮可通过促进心肌肥厚、血管内皮纤维素样坏死及血管平滑肌和内皮细胞中 PAI-1 表达增加导致显著非血压依耐性的心血管毒性[8]，故原发性醛固酮增多症筛查的普及非常重要。指南推荐以血浆醛固酮与血浆肾素比值作为筛查的首选方法[2]。目前国内大多数实验室采用 PRA 来反应血浆中活性肾素水平。但 PRA 易受标本孵育时间、缓冲液 pH 及血浆稀释倍数影响，导致不同实验室和不同产品之间缺乏重复性和一致性，同时由于样本前处理过程复杂，存在大量手工操作，不利于筛查标准的统一及推广。而利用全自动化学发光技术直接测定 PRC 可有效避免上述问题，且多项研究表明 PRC 和 PRA 高度相关[9-10]且具有较高的灵敏度和特异度[4-7]。未来 PRC 极有可能取代 PAC 作为原发性醛固酮增多症的筛查指标，而标本的贮存与送检是监测实施和推广的关键环节。

本研究采用全自动化学发光法测定同一样本在不同贮存条件下的 PAC 和 PRC 水平，结果表明，室温条件下样本 PRC 总体呈下降趋势。其中，中、高浓度 PRC 放置 6 h 后即出现明显下降；当样本放置于 4 ℃条件下，PRC 总体呈现上升趋势，其中低、中

浓度组放置 3 h 后即出现显著上升，而高浓度组在 24 h 出现明显上升。将样本放置于-20 ℃及-80 ℃条件 3 个月内，样本 PRC 结果均较稳定，未随放置时间延长而出现明显变化。上述结果提示，用于PRC 测定的血浆样本不宜 4 ℃贮存，可室温放置但宜在 6 h 内完成检测，若需较长时间保存宜将样本存放于-20 ℃或-80 ℃。

与 PRC 不同，24 h 内血浆 PAC 测定受温度的影响不明显。因此，用于 PAC 测定的血浆样本可室温或 4 ℃保存，24 h 内对检测结果无明显影响，但若需较长时间保存也宜将样本存放于-20 ℃或-80 ℃。样本贮存温度和时间对高血压患者和健康人群血浆 PAC 和 PRC 结果影响无明显差异。

室温条件下，血浆 PRC 的下降可能与在室温条件下肾素的变性、氧化和构象的改变有关。在 Gruson[11]进行的一项纳入 20 名高血压患者的研究中，结果显示室温条件下存放 6 h，血浆 PRC 呈下降趋势，并于 6 h 出现统计学差异，而在-20 ℃条件放置 2 周 PRC 无明显变化，与本研究结果相符。Locsei 等通过对 26 名志愿者不同样本处理条件及存放条件下的 PRC 分析得出，室温条件放置 2 h 时 PRC 即有显著变化，而在-20 ℃条件下贮存 7 周 PRC 仍较稳定[12]。与之相比，本研究室温条件下更晚出现显著下降，可能与人种不同、室温温度值不同有关。已有多项研究表明，4 ℃条件下血浆 PRC 的上升主要为前肾素原冷激活为肾素所致[13]。

临床上，血浆醛固酮和肾素的测定主要用于高血压的病因诊断。因此，本研究除纳入健康志愿者外还纳入高血压患者，未纳入原发性醛固酮增多症患者。不同贮存条件下 PRC 变化程度是否会影响原发性醛固酮增多症的筛查效率，尚需进一步研究。

综上所述，为了确保血浆 PAC 和 PRC 结果的准确性，对用于测定 PRC 的标本不宜存放于 4 ℃；可室温放置，但宜在 6 h 内完成检测；对用于测定 PAC 的标本，短期内(24 h)贮存对温度无特殊要求；若需较长时间储存标本，建议存放于-20 ℃或-80 ℃。

参 考 文 献

[1] Calhoun DA, Nishizaka MK, Zaman MA, et al. Hyperaldosteronism among black and white subjects with resistant hypertension[J]. Hypertension, 2002, 40(6): 892-896.

[2] Funder JW, Carey RM, Fardella C, et al. Case detection, diagnosis, and treatment of patients with primary aldosteronism: an endocrine society clinical practice guideline[J]. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 2008, 93(9): 3266-3281.

[3] Sukor N, Kogovsek C, Gordon RD, et al. Improved quality of life, blood pressure, and biochemical status following laparoscopic adrenalectomy for unilateral primary aldosteronism[J]. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 2010, 95(3): 1360-1364.

[4] Balas M, Zosin I, Maser-Gluth C, et al. Indicators of mineralocorticoid excess in the evaluation of primary aldosteronism[J]. Hypertension Research, 2010, 33(8): 850-856.

[5] Perschel FH, Schemer R, Seiler L, et al. Rapid screening test for primary hyperaldosteronism: ratio of plasma aldosterone to renin concentration determined by fully automated chemiluminescence immunoassays[J]. Clin Chem, 2004, 50(9): 1650-1655.

[6] Tzanela M, Effraimidis G, Vassiliadi D, et al. The aldosterone to renin ratio in the evaluation of patients with incidentally detected adrenal masses[J]. Endocrine, 2007, 32(2): 136-142.

[7] Willenberg HS, Kolentini C, Quinkler M, et al. The serum sodium to urinary sodium to (serum potassium) 2 to urinary potassium (SUSPPUP) ratio in patients with primary aldosteronism[J]. European Journal of Clinical Investigation, 2009, 39(1): 43-50.

[8] Stier CT, Chander PN, Rocha R. Aldosterone as a mediator in cardiovascular injury[J]. Cardiol Rev, 2002, 10(2): 97-107.

[9] Juutilainen A, Savolainen K, Romppanen J, et al. Combination of LC-MS/MS aldosterone and automated direct renin in screening for primary aldosteronism[J]. Clinica Chimica Acta, 2014, 433(7): 209-215.

[10] Morganti A, European study group for the validation of DiaSorin LIAISON Direct Renin Assay. A comparative study on inter and intralaboratory reproducibility of renin measurement with a conventional enzymatic method and a new chemiluminescent assay of immunoreactive renin[J]. J Hypertens, 2010, 28(6): 1307-1312.

[11] Gruson D, Maisin D, Lison P, et al. Two-site automated chemiluminescent assay for measurement of immunoreactive renin[J]. Biomarkers, 2011, 16(7): 605-609.

[12] Locsei Z, Racz K, Patocs A, et al. Influence of sampling and storage conditions on plasma renin activity and plasma renin concentration [J]. Clinica Chimica Acta, 2009, 402(1-2): 203-205.

[13] Sealey JE, Moon C, Laragh JH, et al. Plasma prorenin: cryoactivation and relationship to renin substrate in normal subjects[J]. The American Journal of Medicine, 1976, 61(5): 731-738.

（责任编辑：唐秋姗）