

DOI: 10.3969/j.issn.1671-9638.2017.10.003

· 论 著 ·

## 直接抗人球蛋白试验阳性在慢性重型乙型肝炎患者贫血中的临床意义

覃婉元<sup>1</sup>, 梅 城<sup>1</sup>, 彭 芳<sup>1</sup>, 王 娟<sup>1</sup>, 周晓英<sup>2</sup>, 周蓉蓉<sup>1</sup>, 范学工<sup>1</sup>, 李 宁<sup>1</sup>

(1 中南大学湘雅医院, 湖南 长沙 410008; 2 中国人民解放军空军航空医学研究所附属医院, 北京 100089)

**[摘要]** **目的** 探讨直接抗人球蛋白试验(DAT)阳性在慢性重型乙型肝炎患者贫血中的临床意义。**方法** 对 30 例健康人、30 例慢性乙型肝炎(慢乙肝)患者和 50 例慢性重型乙型肝炎(慢重肝)患者红细胞相关参数及 DAT 进行检测,并对影响 DAT 阳性的临床相关因素进行分析。**结果** 慢重肝患者红细胞计数、血红蛋白(Hb)浓度以及红细胞压积(HCT)均低于慢乙肝患者和健康组( $P < 0.05$ ),而慢重肝患者红细胞体积分布宽度(RDW)高于慢乙肝和健康组( $P < 0.05$ );慢重肝患者、慢乙肝患者和健康组 DAT 阳性率分别为 62.82%、13.33%和 0。DAT 阳性的慢重肝患者红细胞计数、Hb 浓度和 HCT 均低于相应 DAT 阴性患者(均  $P < 0.05$ ),RDW 却高于 DAT 阴性慢重肝患者( $P = 0.001$ );慢重肝患者红细胞毛细血管分离后,衰老红细胞的 DAT 阳性强度高于年轻红细胞 DAT 阳性强度( $P < 0.001$ );在慢重肝患者中,DAT 的阳性和阴性的患者在性别、年龄、丙氨酸氨基转移酶、总胆红素、补体 C3、C-反应蛋白及是否并发糖尿病方面存在差异(均  $P \leq 0.05$ )。**结论** 慢重肝患者贫血的产生可能与衰老红细胞吸附抗体所致的免疫性溶血有关。

**[关键词]** 乙型肝炎;慢性乙型肝炎;慢性重型乙型肝炎;直接抗人球蛋白试验;红细胞相关参数;贫血

**[中图分类号]** R512.6<sup>+</sup>2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2017)10-0904-05

## Clinical significance of direct antiglobulin testing in anemia in patients with severe chronic hepatitis B

QIN Wan-yuan<sup>1</sup>, MEI Cheng<sup>1</sup>, PENG Fang<sup>1</sup>, WANG Juan<sup>1</sup>, ZHOU Xiao-ying<sup>2</sup>, ZHOU Rong-rong<sup>1</sup>, FAN Xue-gong<sup>1</sup>, LI Ning<sup>1</sup> (1 Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China; 2 Affiliated Hospital of Aerospace Medicine Institute of Air Force of PLA, Beijing 100089, China)

**[Abstract]** **Objective** To evaluate clinical significance of direct antiglobulin testing(DAT) in anemia in patients with severe chronic hepatitis B(CHB). **Methods** Red blood cell(RBC)-related parameters detection and DAT were performed among 30 healthy persons, 30 CHB patients, and 50 severe CHB patients, clinical factors related to positive DAT were analyzed. **Results** RBC count, hemoglobin (Hb) concentration, and hematocrit(HCT) level in severe CHB patients were all lower than CHB patients and healthy group( $P < 0.05$ ), RBC distribution width(RDW) in severe CHB patients were all higher than CHB patients and healthy group( $P < 0.05$ );the positive rate of DAT in patients with severe CHB, CHB, and healthy group were 62.82%, 13.33% and 0 respectively. RBC count, Hb concentration, and HCT level in severe CHB patients with positive DAT were all lower than severe CHB patients with negative DAT (all  $P < 0.05$ ), while RDW was higher than the latter ( $P = 0.001$ ); after RBC was separated through capillary, positive intensity of DAT of aged RBCs was higher than young RBCs in severe CHB patients ( $P < 0.001$ );among severe CHB patients, DAT-positive and -negative patients differed in gender, age, alanine aminotransferase, total bilirubin, complement C3, C-reactive protein, and complication of diabetes(all  $P \leq 0.05$ ). **Conclusion** Anemia in severe CHB patients may be related to immune hemolysis of aged RBCs induced by antibody adsorption.

[收稿日期] 2016-12-22

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81670538)

[作者简介] 覃婉元(1989-),女(壮族),河南省郑州市人,硕士研究生,主要从事临床检验诊断学研究。

[通信作者] 李宁 E-mail:nxli1970@126.com

[Key words] hepatitis B; chronic hepatitis B; severe chronic hepatitis B; direct antiglobulin testing; red blood cell-related parameter; anemia

[Chin J Infect Control, 2017, 16(10): 904-908]

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是一个全球性的卫生问题,全世界慢性感染者约有 3.5 亿人,每年约 100 万人死于 HBV 感染所致的肝衰竭、肝硬化和原发性肝细胞癌。我国是 HBV 高感染区,约 1 亿人感染 HBV,每年有近 30 万人死于各类末期肝病<sup>[1]</sup>。HBV 可导致机体自身免疫功能紊乱,产生多种自身抗体和补体,这些抗体和补体被红细胞膜吸附后可导致红细胞致敏,从而被巨噬细胞识别并吞噬破坏<sup>[2-3]</sup>。病毒性肝炎患者尤其是慢性重型乙型肝炎患者常出现贫血,加重了病情,但具体原因尚不清楚<sup>[4]</sup>。直接抗人球蛋白试验(direct antiglobulin testing, DAT)是检查被检红细胞是否已被不完全抗体或补体所致敏方法,常用于自身免疫性疾病等的诊断。在病毒性疾病中,如在人类免疫缺陷病毒(HIV)感染者中,DAT 被认为是反映轻度贫血的重要指标<sup>[5]</sup>。在本研究中,我们分析了慢性重型乙型肝炎(以下简称慢重肝)患者红细胞参数,并探讨了慢重肝患者贫血的产生与红细胞膜吸附抗体的关系。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 选择中南大学湘雅医院感染病科 2015 年 10 月—2016 年 5 月的门诊及住院患者,包括 30 例慢性乙型肝炎患者(慢乙肝组)和 78 例慢性重型乙型肝炎患者(慢重肝组),乙型肝炎患者按 2000 年 9 月修订的《病毒性肝炎防治方案》<sup>[6]</sup>中的诊断标准进行诊断。排除标准:(1)药物、酒精及其他中毒因素所致的肝炎、自身免疫性肝炎、重度脂肪肝、其他嗜肝病毒重叠感染;(2)存在其他脏器严重受损;(3)曾接受过干扰素治疗;(4)合并再生障碍性贫血。(5)采集标本前患者曾输注过血制品。40 例健康对照为本院健康体检者(健康组)。健康组、慢乙肝组、慢重肝组在年龄、性别方面无统计学差异,资料具有可比性。

1.2 主要试剂和仪器 BIO-RAD 微柱凝胶抗人球蛋白检测卡(批号 50531.07.13 含 IgG + C3d 抗人球蛋白试剂),BIO-RAD 微柱凝胶抗体分型卡(批号:50830.76.03 含 IgG/C3d/C3c/IgA/IgM)。抗球蛋白反应卡专用离心机(达亚美公司),全自动血

细胞计数仪及全套试剂(美国 Backman 公司),毛细血管血液离心机 TG12M(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司)。

### 1.3 方法

1.3.1 外周血细胞参数分析 采用全自动血细胞计数仪,取静脉血 1 mL 加入 EDTA-K2 抗凝剂试管中,混匀后 2 h 内置仪器中进行自动计数,得相应数据。

1.3.2 直接抗人球试验 采集患者 EDTA-K2 抗凝血 2 mL,3 400 rpm 离心 3 min 分离血浆与血清,将红细胞用生理盐水洗涤 3 次,并用低离子介质配成 0.8% 的红细胞悬液。将 0.8% 的红细胞悬液 50  $\mu$ L 加入到微柱凝胶抗人球蛋白检测卡中,微柱凝胶反应卡专用离心机 1 030 rpm 离心 10 min,观察结果。红细胞因抗原抗体反应而发生凝聚或凝集时,它们不能通过微柱管反应腔内的凝胶介质,而留在凝胶的上端或中上部,提示直接抗人球蛋白实验阳性。

1.3.3 分离衰老和年轻红细胞 连接毛细管及吸耳球,吸取 20  $\mu$ L 左右红细胞,用专用离心机将新老红细胞分离(10 000 rpm, 10 min),然后进行 DAT 试验。

1.4 统计学分析 应用 SPSS 17.0 软件包进行数据分析。计数资料采用卡方检验或 Fisher 精确概率法;计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  或中位数(四分位间距)表示;组间比较采用方差分析或秩和检验;多个样本均数间的多重比较,采用 LSD-*t* 检验。 $P \leq 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 乙型肝炎患者红细胞参数的检测 健康组、慢乙肝组、慢重肝组患者红细胞(RBC)计数、血红蛋白浓度(Hb)、红细胞比积(HCT)、红细胞体积(RDW)比较,差异均有统计学意义(均  $P < 0.001$ )。组间比较:慢重肝患者 RBC 计数、Hb 及 HCT 均低于健康组、慢乙肝患者(均  $P < 0.05$ );而 RDW 高于健康组及慢乙肝患者(均  $P < 0.05$ );三组红细胞参数平均红细胞体积(MCV)、平均血红蛋白含量(MCH)、平均血红蛋白浓度(MCHC)比较,差异均无统计学意义(均  $P > 0.05$ )。见表 1。

**表 1** 乙型肝炎患者红细胞参数测定结果( $\bar{x} \pm s$ )

**Table 1** Detection result of RBC parameters in patients with hepatitis B( $\bar{x} \pm s$ )

分组	例数	RBC( $\times 10^{12}/L$ )	Hb(g/L)	HCT	MCV(fL)	MCH(pg)	MCHC(g/L)	RDW
慢乙肝组	30	4.29 ± 0.60	133.20 ± 16.31	38.13 ± 6.40	92.89 ± 4.84	31.22 ± 1.57	340.19 ± 10.99	14.07 ± 4.16
慢重肝组	50	3.90 ± 0.80*#	115.46 ± 16.84*#	33.56 ± 5.23*#	91.93 ± 9.44	31.69 ± 3.29	340.89 ± 13.66	18.01 ± 3.33*#
健康组	30	4.97 ± 0.52	149.87 ± 13.40	41.67 ± 3.52	90.32 ± 5.84	30.23 ± 2.39	338.75 ± 15.46	13.59 ± 4.82
F		22.835	47.267	45.445	1.084	1.836	2.547	42.913
P		<0.001	<0.001	<0.001	0.342	0.164	0.083	<0.001

\* :与健康组相比,  $P < 0.05$ ; # :与慢乙肝组相比,  $P < 0.05$

2.2 乙型肝炎患者 DAT 检测结果 慢重肝组患者 DAT 阳性率为 62.82%, 高于慢乙肝组患者和健康组 ( $P < 0.001$ ); 而慢乙肝组和健康组比较差异无统计学意义 ( $P = 0.112$ )。通过微注凝胶卡氏法进行抗体补体分型, 发现乙型肝炎 DAT 阳性患者红细胞吸附的抗体均为 IgG 型。见表 2。

2.3 慢重肝 DAT 阳性患者与 DAT 阴性患者红细胞参数比较 DAT 阳性的慢重肝患者 RBC 计数、Hb 浓度和 HCT 均低于相应 DAT 阴性患者 (均  $P < 0.05$ ), RDW 却高于 DAT 阴性慢重肝患者 ( $P <$

0.05)。红细胞参数 MCV、MCH、MCHC 在 DAT 阴性组和阳性组两组间比较, 差异无统计学意义 (均  $P > 0.05$ )。见表 3。

**表 2** 乙型肝炎患者 DAT 检测结果

**Table 2** Detection result of DAT in patients with hepatitis B

分组	例数	DAT 阳性数	DAT 阳性率(%)	抗体/补体分型
慢重肝组	78	49	62.82#	IgG
慢乙肝组	30	4	13.33*	IgG
健康组	30	0	0.00	-

\* :与健康组相比,  $P = 0.112$ ; # :与慢乙肝组及健康组相比,  $P < 0.001$

**表 3** 慢重肝 DAT 阳性患者与 DAT 阴性患者红细胞参数比较( $\bar{x} \pm s$ )

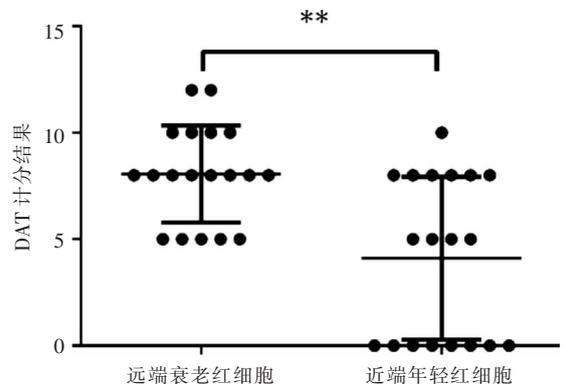
**Table 3** Comparison of RBC parameters between DAT-positive and DAT-negative severe CHB patients ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	RBC( $\times 10^{12}/L$ )	Hb(g/L)	HCT	MCV(fL)	MCH(pg)	MCHC(g/L)	RDW
DAT 阴性患者	29	4.03 ± 0.79	120.13 ± 15.25	34.88 ± 5.15	94.57 ± 5.91	32.37 ± 2.54	340.14 ± 10.41	16.70 ± 2.86
DAT 阳性患者	49	3.61 ± 0.73	112.35 ± 16.61	31.86 ± 4.99	92.01 ± 9.84	31.51 ± 3.63	342.73 ± 15.63	19.39 ± 3.89
t		-2.071	-2.324	-2.554	-1.270	-1.121	0.768	3.502
P		0.023	0.042	0.013	0.208	0.266	0.445	0.001

2.4 新老红细胞 DAT 阳性强度的比较 对 19 例 DAT 阳性的慢重肝患者红细胞进行毛细管分离 (10 000 rpm, 10 min), 分别对分离后的远端的衰老红细胞和近端的年轻红细胞进行 DAT 检测。阳性强度判读为阴性、1+、2+、3+、4+, 分别计分为 0、5、8、10、12 分<sup>[7]</sup>, 对计分结果统计分析, 远端的衰老红细胞 DAT 阳性强度高于近端的年轻红细胞 ( $P < 0.001$ )。见图 1。

2.5 慢重肝患者 DAT 阳性临床相关因素分析 慢重肝患者 DAT 阳性率与其它参数的关系如表 4 所示, DAT 阳性率与患者年龄、性别、总胆红素 (TBIL)、丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、C-反应蛋白 (CRP) 及补体 C3 值相关 (均  $P \leq 0.05$ ), 提示 DAT 阳性与肝损伤程度相关, DAT 阳性的患者平均年龄大于阴性患者 ( $47.04 \pm 14.57$  vs  $40.51 \pm 11.33$ ), 男性阳性率高于女性 ( $P = 0.021$ )。DAT 的阳性率与慢重肝患者 PCT、白细胞计数、补体 C4 及 IgG、

IgA、IgM 等参数无关, HBV 病毒载量在阳性患者和阴性患者之间也无统计学差异 (均  $P > 0.05$ )。此外, 合并糖尿病的患者 DAT 阳性率亦高于未合并糖尿病患者 ( $P = 0.022$ )。见表 4。



**图 1** 衰老红细胞和年轻红细胞 DAT 比较

**Figure 1** Comparison of DAT between aged RBCs and young RBCs

表 4 慢重肝患者 DAT 阳性临床相关因素分析

Table 4 Clinical-related factors of DAT-positive in severe CHB patients

因素	例数	DAT 阳性患者 (n = 49)	DAT 阴性患者 (n = 29)	$\chi^2/t/Z$	P
性别				4.898	0.021
男	65	45	20		
女	13	4	9		
血型				0.261	0.521
O 型	28	18	10		
非 O 型	50	31	19		
合并糖尿病史				5.208	0.022
是	8	8	0		
否	70	41	29		
年龄(岁)	78	47.04 ± 14.57	40.51 ± 11.33	2.191	0.031
WBC(×10 <sup>9</sup> /L)	78	7.46 ± 3.41	8.33 ± 4.10	-1.049	0.297
IgA(mg/L)	25	3 607.33 ± 1644.09	3 442.86 ± 1727.91	0.215	0.832
IgM(mg/L)	25	1686.13 ± 919.16	1420.13 ± 874.25	0.641	0.528
清蛋白(g/L)	78	31.30 ± 4.96	32.90 ± 5.10	-0.603	0.548
TBIL(μmol/L)	78	391.76 ± 164.41	321.07 ± 116.23	8.711	0.004
ALT(U/L)	78	804.90(347.8 - 1572.50)	513.60(273.50 - 1088.00)	-2.446	0.014
AST(U/L)	78	206.80(106.75 - 394.10)	190.50(112.00 - 729.50)	-0.470	0.638
补体 C3(mg/L)	25	457.50(382.60 - 678.80)	369.60(168.20 - 567.00)	-2.024	0.043
补体 C4(mg/L)	25	126.40(96.80 - 161.80)	90.50(60.00 - 192.00)	0.966	0.352
CRP(g/L)	16	14.10(7.75 - 17.38)	67.92(22.93 - 220.90)	-1.958	0.050
PCT(ng/mL)	75	0.72(0.59 - 1.58)	0.78(0.44 - 1.26)	-0.687	0.492
HBV-DNA(×10 <sup>3</sup> IU/L)	78	8.12(0.98 - 1130.00)	64.70(2.60 - 821.00)	-0.712	0.476

WBC: 白细胞计数; IgA: 免疫球蛋白 A; IgM: 免疫球蛋白 M; AST: 天门冬氨酸氨基转移酶; PCT: 降钙素原; HBV-DNA: 乙型肝炎病毒 DNA

### 3 讨论

红细胞是人体血液中数量最多的细胞,具有运输、携氧、调节机体内环境稳定等功能,这依赖于膜蛋白与 Hb 的作用<sup>[8-9]</sup>。红细胞膜的改变与人类疾病密切相关,红细胞膜蛋白的缺损可导致贫血,如椭圆形红细胞增多症或球形红细胞增多症等<sup>[10]</sup>。

本文研究表明,慢重肝患者出现轻中度贫血。原因包括多个方面,一方面随着病患肝细胞大量坏死,肝贮备铁、叶酸、维生素 B<sub>12</sub> 的功能急剧下降,导致摄取和合成造血物质的能力降低<sup>[11]</sup>;另一方面,在慢重肝患者肝细胞大量坏死,释放大量的肿瘤坏死因子(TNF)和多种细胞因子(IL-1、IL-6),内毒素增多,可能直接干扰骨髓的造血能力,从而导致异常红细胞的生成<sup>[12]</sup>。同时,这些物质又可直接作用于外周血中成熟的红细胞,改变红细胞膜结构,使红细胞表面抗原性发生改变,或发生异形性变化,发生内源性溶血<sup>[13]</sup>。此外,HBV 可导致机体自身免疫功能紊乱,产生多种自身抗体和补体,这些抗体和补体被红细胞膜吸附,使红细胞致敏并被巨噬细胞识别并破坏,出现免疫性溶血<sup>[2-3]</sup>。研究<sup>[12, 14]</sup>表明,

RDW 是慢重肝患者 3 个月病死率的独立预测因素,炎性反应通过削弱铁代谢、抑制促红细胞生成素的生成和缩短 RBC 的寿命来使 RDW 增高。RDW 增高可反映一种潜在的炎性反应状态,导致临床预后不良的同时损害了 RBC 的成熟而引起贫血。

DAT 是检查红细胞是否被不完全抗体或补体致敏,常用于自身免疫性疾病的诊断,如新生儿溶血病、自身免疫性溶血性贫血。DAT 试验阳性在某些疾病如 HIV 感染患者中被认为是反映贫血的一个实验指标<sup>[15]</sup>。有关病毒性肝炎患者贫血与 DAT 相关性的研究仅见于零星的报道。本研究结果显示,随着乙型肝炎患者病情的加重,DAT 阳性率逐渐上升,慢重肝患者阳性率高达 62.82%,并且 DAT 阳性患者贫血程度高于 DAT 阴性患者,这些结果表明,DAT 是慢重肝贫血的一个实验指标,并在一定程度上可反映乙型肝炎患者病情的严重程度。进一步毛细管离心分离慢重肝远端衰老红细胞和近端年轻红细胞,发现远端衰老红细胞 DAT 阳性强度强于近端年轻红细胞,提示 DAT 阳性可能是红细胞衰老的标志,同时也说明致敏的远端红细胞吸附的抗体更多,更容易被吞噬细胞吞噬破坏。

DAT 阳性患者平均年龄大于阴性的患者,男性

DAT 阳性率高于女性,这可能与疾病的人群分布有关,慢性乙型肝炎多发生于青壮年男性,具体原因有待进一步研究。二甲双胍是糖尿病患者最常用的口服降血糖药物,有文献<sup>[16-17]</sup>报道二甲双胍会造成红细胞溶血,本研究结果显示慢重肝合并糖尿病患者 DAT 阳性率增高,提示红细胞吸附抗体与患者溶血发生可能有关。

总之,本文的结果显示在不同的疾病阶段,红细胞参数可随肝病病情变化、肝脏损害的程度而改变,红细胞参数可在一定程度上反映乙型肝炎患者的免疫状况。通过检测红细胞吸附的不完全抗体,提示慢重肝患者贫血的产生可能与红细胞抗体的存在有关,这对阐明慢重肝患者贫血机制有重要的提示意义。乙型肝炎,尤其是慢重肝患者应注意自身免疫性溶血性贫血的可能,采取相应的治疗措施。

#### [参 考 文 献]

- [1] Xu WS, Qiu XM, Ou QS, et al. Red blood cell distribution width levels correlate with liver fibrosis and inflammation: a noninvasive serum marker panel to predict the severity of fibrosis and inflammation in patients with hepatitis B[J]. *Medicine*, 2015, 94(10): e612.
- [2] Xibing G, Xiaojuan Y, Zhonghua L, et al. Alteration in cellular immunity after chronic hepatitis B deteriorated into severe hepatitis and its significance[J]. *Hepat Mon*, 2011, 11(10): 810 - 815.
- [3] Gonzalez-Casas R, Jones EA, Moreno-Otero R. Spectrum of anemia associated with chronic liver disease[J]. *World J Gastroenterol*, 2009, 15(37): 4653 - 4658.
- [4] Karvellas CJ, Cardoso FS, Gottfried M, et al. HBV-associated acute liver failure after immunosuppression and risk of death [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2017, 15(1): 113 - 122.
- [5] Lai M, d'Onofrio G, Visconti E, et al. Aetiological factors related to a positive direct antiglobulin test result in human immunodeficiency virus-infected patients[J]. *Vox Sang*, 2006, 90(4): 325 - 330.
- [6] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会. 病毒性肝

炎防治方案[J]. *中华肝脏病杂志*, 2000, 8(6): 324 - 329.

- [7] Fayek MH, Saad AA, Eissa DG, et al. Role of gel test and flow cytometry in diagnosis of Coombs' negative autoimmune haemolytic anaemia[J]. *Int J Lab Hematol*, 2012, 34(3): 311 - 319.
- [8] Revin VV, Gromova NV, Revina ES, et al. Role of membrane lipids in the regulation of erythrocytic oxygen-transport function in cardiovascular diseases [J]. *Biomed Res Int*, 2016, 2016: 3429604.
- [9] Mohandas N, Gallagher PG. Red cell membrane: past, present, and future[J]. *Blood*, 2008, 112(10): 3939 - 3948.
- [10] Pesciotta EN, Sriswasdi S, Tang HY, et al. A label-free proteome analysis strategy for identifying quantitative changes in erythrocyte membranes induced by red cell disorders[J]. *J Proteomics*, 2012, 76: 194 - 202.
- [11] Tefferi A. Anemia in adults: a contemporary approach to diagnosis[J]. *Mayo Clin Proc*, 2003, 78(10): 1274 - 1280.
- [12] Lou Y, Wang M, Mao W. Clinical usefulness of measuring red blood cell distribution width in patients with hepatitis B[J]. *PLoS One*, 2012, 7(5): 141 - 150.
- [13] Higgins JM, Mahadevan L. Physiological and pathological population dynamics of circulating human red blood cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(47): 20587 - 20592.
- [14] Ye Z, Smith C, Kullo IJ. Usefulness of red cell distribution width to predict mortality in patients with peripheral artery disease[J]. *Am J Cardiol*, 2011, 107(8): 1241 - 1245.
- [15] Lai M, Visconti E, D'Onofrio G, et al. Lower hemoglobin levels in human immunodeficiency virus-infected patients with a positive direct antiglobulin test (DAT): relationship with DAT strength and clinical stages[J]. *Transfusion*, 2006, 46(7): 1237 - 1243.
- [16] Packer CD, Hornick TR, Augustine SA. Fatal hemolytic anemia associated with metformin: a case report[J]. *J Med Case Rep*, 2008, 2: 300.
- [17] Adeshara K, Tupe R. Antiglycation and cell protective actions of metformin and glipizide in erythrocytes and monocytes[J]. *Mol Biol Rep*, 2016, 43(3): 195 - 205.

(本文编辑:周鹏程、陈玉华)