

深静脉血栓形成患者血浆部分抗凝物质的检测及其临床意义

黄彬¹, 陈茶², 钟武平¹

(1. 中山医科大学附属第一医院检验医学部, 广东 广州 510080; 2. 广东省中医院检验科, 广东 广州 510120)

摘要:【目的】研究深静脉血栓形成(DVT)患者血浆蛋白 C(PC)、蛋白 S(PS)活性水平、活化蛋白 C 抵抗(APCR)和狼疮样抗凝物(LA)阳性率, 进一步探讨它们与静脉血栓形成间的关系。【方法】用凝固法在 Sysmex CA 1500、CA 6000 全自动凝血仪上检测 38 例 DVT 患者和 40 名正常对照的血浆 PC、PS 活性、活化蛋白 C 反应性和 LA。【结果】治疗前 DVT 组 PC、PS 活性分别为(70±23)%、(76±25)%, 与对照组相比差异均有极显著性意义($P < 0.01$), 治疗后 DVT 组 PC、PS 活性分别为(96±15)%、(98±20)%, 与对照组相比差异均无显著性意义($P > 0.05$)。DVT 组 APCR 阳性率为 21%, 明显高于对照组 2.5% ($P < 0.05$), DVT 组 LA 阳性率为 2.6%, 与对照组相比差异无显著性意义($P > 0.05$)。【结论】DVT 患者血浆 PC、PS 活性呈消耗性降低, 经治疗可逐渐恢复正常。LA 与 DVT 患者血栓形成无关, APCR 是 DVT 患者血栓形成的高危因素。

关键词: 静脉血栓形成; 蛋白质 C; 蛋白质 S; 蛋白 C 抑制物; 狼疮凝固抑制物

中图分类号: R543.6 文献标识码: A 文章编号: 1000-257X(2002)02-0134-03

Detection of Plasma Anticoagulants in Patients with Deep Venous Thrombosis and Its Clinical Significance

HUANG Bin¹, CHEN Cha², ZHONG Wu-ping¹. (1. Department of Clinical Laboratory, First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou 510080, China; 2. Guangdong Traditional Medicine Hospital, Guangzhou 510120, China)

Abstract 【Objective】To study the activity of plasma protein C (PC), protein S (PS) and the occurrence of activated protein C resistance (APCR), lupus-like anticoagulants (LA) in patients with deep venous thrombosis (DVT), and investigate the relationship between them and venous thrombosis. 【Methods】Clotting assays on Sysmex CA 1500 and CA 6000 autoanalyzer were used to detect the activity of plasma PC, PS and the occurrence of APCR, LA in 38 patients with DVT and 40 normal controls (NC). 【Results】The activity of plasma PC, PS in pre-therapy DVT were (70±23)%, (76±25)%, respectively. There were significant differences in the activities of PC, PS between the pre-therapy DVT group and the NC group ($P < 0.01$). The activity of plasma PC, PS in the post-therapy DVT group were (96±15)%, (98±20)%, respectively. There were no significant differences in the activities of PC, PS between the post-therapy DVT group and the NC group ($P > 0.05$). The positive rate of APCR in the DVT group (21.1%) was significantly higher than that in the NC group (2.5%) ($P < 0.05$). There was no significant difference in the positive rate of LA between the DVT group (2.6%) and the NC group (0%) ($P > 0.05$). 【Conclusion】The activity of plasma PC, PS in patients with DVT decrease consumptively, but return to normal after treatment. There is no relationship between LA and thrombosis in DVT. APCR seems to be the main risk factor for the development of thrombosis in patients with DVT.

Key words: venous thrombosis; protein C; protein S; protein C inhibitor; lupus coagulation inhibitor

近年来的研究表明, 血栓栓塞性疾病除了获得性危险因素(外科手术、骨折、动脉粥样硬化、炎症、高脂血症等)以外, 还有重要的抗凝缺陷, 如蛋白 C (protein C, PC)、蛋白 S (protein S, PS) 或抗凝血酶 II 缺乏等^[1, 2]。PC、PS 都是依赖维生素 K 在肝脏合成的血浆蛋白, 是体内 PC 抗凝系统的重要组成部分, 先天性或获得性 PC、PS 量或质的缺陷都将导致机体抗凝功能的减退或丧失, 与静脉血栓的形成密切相关^[3]。近年来的研究发现活化蛋白 C 抵

抗(activated protein C resistance, APCR)和狼疮样抗凝物(lupus-like anticoagulants, LA)也与静脉血栓形成有关, 是血栓形成的高危因素^[4, 5]。本文检测了 38 例深静脉血栓形成(deep venous thrombosis, DVT)患者血浆 PC、PS 活性和 APCR、LA 阳性率, 研究它们与静脉血栓形成间的关系。

1 材料和方法

1.1 研究对象

收稿日期: 2001-09-05

作者简介: 黄彬(1971-), 女, 四川乐山市人, 硕士, 主管技师。

DVT组:38例,均为我院2000年1月至2000年9月间住院患者,男21例,女17例,年龄25~71岁,平均年龄48岁,均经静脉造影确诊。分别抽取DVT患者治疗前和治疗后的静脉血进行检测。

正常对照组:40名,男20名,女20名,为我院健康体检者,年龄24~68岁,平均年龄44岁。

1.2 仪器

Sysmex CA 1500、CA 6000全自动血凝仪,由日本Sysmex医用电子株式会社提供。

1.3 试剂

由Biopool公司提供,PC、PS、APCR、LA试剂盒批号分别为40133、40345、50510和40153。

1.4 标本采集和处理

取静脉血1.8 mL、0.109 mol/L枸橼酸钠1:9抗凝,在上海手术器械厂生产的80-2型离心机上 $2500 \times g$ 离心20 min,收集乏血小板血浆置于 -80°C 冻存,临用前 37°C 、30 min解冻。

1.5 方法

1.5.1 PC、PS活性检测 按PC、PS试剂盒说明书在Sysmex CA 1500全自动血凝仪上检测。

1.5.2 APCR检测 在Sysmex CA 1500全自动

血凝仪上检测一次常规的APTT时间,然后将一定量的纯化APC加入反应体系中,再测一次APTT时间,两次时间之比用APC敏感比值(APC-SR)表示。具体操作按APCR试剂盒说明书进行,若APC-SR小于正常对照均值3 s,则为APCR阳性。

1.5.3 LA检测 采用稀释鲁塞尔蝮蛇毒时间(DRVVT)法,按试剂盒说明书在Sysmex CA 6000全自动血凝仪上检测。

1.6 统计学处理

采用方差分析、 q 检验和 χ^2 检验。

2 结果

治疗前DVT组PC、PS活性均显著低于对照组($q=5.23$, $q=4.67$, 均 $P<0.01$)和治疗后DVT组($q=3.87$, $q=3.43$, 均 $P<0.05$),治疗后DVT组PC、PS活性与对照组相比差异无显著性意义($q=2.15$, $q=1.87$, 均 $P>0.05$)。DVT组APCR阳性率明显高于对照组($\chi^2=4.88$, $P<0.05$)。DVT组LA阳性率与正常对照组相比差异无显著性意义($P>0.05$),见表1。

表1 DVT患者和正常对照血浆PC、PS活性和APCR、LA检测结果

Table 1 The results of plasma PC, PS activity and APCR, LA positive rate in patients with DVT and normal controls

Group	<i>n</i>	The activity of PC(%)	The activity of PS(%)	The positive rate of APCR(%)	The positive rate of LA(%)
Normal control	40	102±18	104±23	2.5(1/40)	0(0/40)
Pre therapy DVT	38	70±23 ^{2),3)}	76±25 ^{2),3)}	21.1(8/38) ¹⁾	2.6(1/38)
Post-therapy DVT	38	97±15	98±20		

1) Compared with normal control $P<0.05$; 2) compared with normal control $P<0.01$; 3) compared with post-therapy DVT group, $P<0.05$

3 讨论

PC和PS都是依赖维生素K在肝脏合成的血浆蛋白,PC在凝血酶调节蛋白(TM)/凝血酶复合物的作用下可转变成有抗凝活性的活化蛋白C(activated protein C, APC),通过灭活Va、VIIa而发挥抗凝作用。PS是APC抗凝的重要辅因子,PC、PS分子缺陷(包括先天性和获得性)均能削弱体内凝血-抗凝的生理平衡,使凝血亢进,易于形成血栓^[2,3]。本文的结果表明,治疗前DVT患者血浆PC、PS活性均低于正常,差异有极显著性意义($P<0.01$),治疗后PC、PS活性上升,与正常对照组相比差异无显著性意义($P>0.05$),提示治疗前

DVT患者大部分属于获得性PC、PS减少,其原因在血栓形成过程中,PC被凝血酶激活形成APC,APC在PS的辅助作用下通过灭活Va、VIIa而发挥抗凝作用,使PC、PS活性呈消耗性降低,而经治疗恢复期PC、PS活性逐渐上升至正常。

本文的病例中有2例PC、PS活性在治疗前和治疗后都很低,只有正常对照的20%~30%,可能这两例病人的PC、PS活性减少属于先天性减少。研究表明遗传性PC缺陷占血栓性疾病原因的2%~5%,遗传性PS缺陷不仅易产生静脉血栓,与动脉血栓的形成也有关^[6]。为明确患者PC、PS降低究竟是先天性还是获得性原因所致,可结合患者家族史、治疗前治疗后PC、PS水平进行综合判断,必

要时检测有关基因。

APCR 是近年来发现的发生率较高的一种遗传性血栓风险因素, APCR 在体外实验表现为对 APC 活性的抵抗, APCR 可使患者终身伴有高的血栓风险, 是迄今人们发现的血栓最高危因素^[4,7]。80%的 APCR 患者是其 FV 基因第 1691 位核苷酸发生 G→A 点突变(即 Leiden 突变)引起的遗传性 APCR, 另一部分 APCR 患者为无 FV 基因突变的获得性 APCR, 获得性 APCR 也是血栓形成的高危因素^[8]。本文检测了 38 例 DVT 患者的 APCR, 发现 8 例 APCR 阳性, 阳性率为 21.1%, 与对照组相比差异有显著性意义($P < 0.05$), 提示 APCR 是引起 DVT 患者形成血栓的原因之一。现有许多资料表明中国是 FV Leiden 突变低发区, 除个别 FV Leiden 杂合子基因型外, 至今尚未见 FV Leiden 突变引起血栓的报道^[9], 因此考虑 DVT 患者中存在的 APCR 现象为获得性 APCR, 可能是由各种获得性原因(如机体存在抗磷脂抗体、F VIII 因子缺陷、PS 功能异常、口服避孕药等)导致的对 APC 活性的抵抗, 具体是由何种原因导致的获得性 APCR 还需深入研究。

抗磷脂抗体(antiphospholipid antibodies, APA)是一大类针对各种带负电荷磷脂的自身抗体或同种抗体, 主要包括 LA 和抗心磷脂抗体, 现已证实与血栓形成密切相关^[5]。APA 通过其识别的抗原不同, 与各种磷脂-蛋白复合物结合, 干扰各种依赖磷脂的凝血和抗凝因子发挥作用。APC 表达抗凝活性时需要磷脂尤其是磷脂酰乙醇胺参与, APA 通过与 APC 竞争反应膜中的磷脂, 或干扰依赖磷脂酰乙醇胺的 APC 活性, 或抑制激活 PC 必不可少的凝血酶调节蛋白影响 APC 活性, 从而选择性抑制 PC 途径。APA 对 PC 途径的抑制, 可能是获得性 APCR 的产生原因之一。近年国外研究显示, 在 FV Leiden 突变低发区 APA 与 APCR 有一定相关性^[10]。本文检测了 38 例 DVT 患者的 LA, 仅发现 1 例阳性, 与对照组相比差异无显著性意义($P >$

0.05), 提示 LA 不是 DVT 患者血栓形成的原因, 而抗心磷脂抗体是否与 DVT 患者血栓形成有关、是否通过选择性抑制 PC 途径引起 DVT 患者的获得性 APCR 尚需进一步研究。

因此, 本文的结果提示 DVT 患者血浆 PC、PS 活性降低主要属于获得性降低, 经治疗 PC、PS 活性可逐渐恢复正常, APCR 是 DVT 患者血栓形成的高危因素。

参考文献:

- [1] 洪文德, 吴玉山, 安业浩, 等. 抗凝血酶 III 测定的临床应用 [J]. 中山医科大学学报, 1986, 7(4): 49.
- [2] Shen L, Dahlback B. Factor V and protein S as synergistic cofactors to activated protein C in degradation of factor VIIIa [J]. J Biol Chem, 1994, 269(29): 18735.
- [3] Koppelman S J, Vant Veer C, Sixma JJ, et al. Synergistic inhibition of the intrinsic factor X activation by protein S and C4b-binding protein [J]. Blood, 1995, 86(7): 2653.
- [4] Bertina RM, Koeleman P B, Koster T, et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C [J]. Nature, 1994, 369(6475): 64.
- [5] Hombach D A, von Oort E, Donders R C J M, et al. Lupus anticoagulant is the strongest risk factor for both venous and arterial thrombosis in patients with systemic lupus erythematosus [J]. Thromb Haemost, 1996, 76(6): 916.
- [6] Dahlback B. Inherited thrombophilia: resistance to activated protein C as a pathogenic factor of venous thromboembolism [J]. Blood, 1995, 85(3): 607.
- [7] Dahlback B, Carlsson M, Svensson P J. Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: predication of a cofactor to activated protein C [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1993, 90(3): 1004.
- [8] Rosen S B, Sturk A. Activated protein C resistance - a major risk factor for the thrombosis [J]. Eur J Clin Chem Biochem, 1997, 35(7): 501.
- [9] 吴竟生, 顾建民, Morrissey J H, 等. 一例 FV Leiden 基因突变所致的抗活化的蛋白 C 现象 [J]. 中华血液学杂志, 1997, 18(9): 453.
- [10] Piette J C. Toward improved criteria for the antiphospholipid syndrome [J]. Lupus, 1998, 7(Suppl 2): 149.

(编辑 张恩健)

重 要 启 事

鉴于中山大学和中山医科大学已于去年 10 月 26 日合并组建新的中山大学, 关于本刊刊名、封面等项目, 本部已于去年 11 月报请上级主管部门, 以作相应的更新。因此, 待到正式批文下达后, 才启用新刊名、封面等项事宜。