

• 临床检验研究论著 •

创伤患者可溶性 P 选择素与血管性血友病因子的水平变化

潘莹莹¹, 陈莹莹², 张碧玉¹, 唐 宁^{1△}

(1. 华中科技大学同济医学院附属同济医院检验科, 湖北武汉 430030; 2. 襄阳中医院检验科, 湖北襄阳 441000)

摘要:目的 探讨创伤患者血浆可溶性 P 选择素(sPsel)和血管性血友病因子(vWF)的入院后水平变化情况, 及其与凝血指标水平、凝血障碍和预后的关系。方法 前瞻性地选取该院 ICU 病房 82 例严重创伤患者, 入院时及入院后第 1 周内每日检测患者血浆中 sPsel、vWF 抗原、蛋白 C、凝血因子Ⅲ活性及常规凝血指标, 并记录患者入院 30 d 病死率。结果 有凝血障碍创伤患者的入院时 sPsel 和 vWF 水平均低于无凝血障碍的患者($P<0.05$), 且与各凝血指标(蛋白 C 和Ⅲ因子)水平均显著相关($P<0.05$)。死亡患者 vWF 水平在入院后前 3 天显著低于生存患者($P<0.05$), 而在入院后第 7 天显著高于生存患者($P<0.05$); 未发现生存患者与死亡患者间入院后 1 周内 sPsel 水平有明显不同。结论 在 ICU 严重创伤患者中, 入院时低水平的 sPsel 和 vWF 水平与凝血障碍相关, vWF 水平在入院后第 7 天显著升高与患者 30 d 病死率增高相关。

关键词:重症监护病房; 可溶性 P 选择素; 血管性血友病因子

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.14.008

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)14-1833-03

Change of soluble P-selectin and von Willebrand factor levels in traumatic patients

Pan Yingying¹, Chen Yingying², Zhang Biyu¹, Tang Ning^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430030, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Xiangyang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xiangyang, Hubei 441000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the change of soluble P-selectin (sPsel) and von Willebrand factor (vWF) levels after admission in traumatic patients and their relation with the coagulation indexes levels, coagulation disorders and prognosis. **Methods** 82 cases of severe trauma in ICU of Affiliated Tongji Hospital were prospectively selected and detected plasma sPsel, VWF antigen, protein C, activity of coagulation factor Ⅲ and routine coagulation indexes on admission and on every day within the first week after admission. The 30 d fatality rate was recorded. **Results** The sPsel and vWF levels on admission in the patients with coagulation disorders were lower than those in the patients without coagulation disorders ($P<0.05$) and significantly correlated with the coagulation indexes (protein C and coagulation factor Ⅲ) levels ($P<0.05$). The vWF level within 3 d after admission in the death patients was significantly lower than that in the survival patients, but which on 7 d after admission in the death patients was significantly higher than that in the survival patients ($P<0.05$); no significant difference in sPsel level within 1 week after admission were found between the survival patients and the death patients. **Conclusion** Among severe traumatic patients in ICU, the low levels of sPsel and VWF on admission are associated with the coagulation disorders, the significant rise of vWF level on 7 d after admission is associated with the increase of the 30 d fatality rate.

Key words: intensive care unit; soluble P-selectin; von Willebrand factor

对于一个创伤患者, 若没有因为失血立即死亡, 出血与休克会增加多器官功能衰竭的风险和后期病死率。凝血障碍作为创伤患者死亡的独立预测因素已受到重点关注。目前认为创伤所致凝血障碍(TIC)的主要机制是休克和组织损伤引起广泛的内皮损伤和活化蛋白 C(PC)激活, 从而导致系统性凝血抑制^[1]。血管内皮多糖-蛋白质复合物降解会诱导凝血酶生成、PC 活化和纤溶亢进^[2]。与此同时, TIC 与休克和低体温症的合并效应理论上会破坏血小板激活和黏附途径, 从而干扰血小板功能^[3]。但迄今为止, 血小板活性与血管内皮损伤/功能失调在 TIC 中扮演的角色仍未完全了解, 明确其机制也可能有助于为 TIC 提供新的治疗靶点^[4]。有研究证实可溶性 P 选择素(sPsel)和血管性血友病因子(vWF)可分别作为血小板活化和血管内皮损伤/功能失调的血浆标志物^[5-6]。测定创伤患者 sPsel 和 vWF 水平有助于研究血小板活化和血管内皮损

伤/功能失调在创伤及 TIC 中的作用机制。因此, 本研究的目的了解创伤患者血浆中 sPsel 和 vWF 水平变化情况, 及其与凝血指标水平、凝血障碍的发生和预后之间的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 纳入 2012 年 5 月到 9 月间入院, 预计在 ICU 停留时间超过 48 h 的创伤患者到本研究, 排除标准包括年龄低于 18 岁、孕妇以及正在接受抗凝和抗血小板治疗。根据近期发表的一项超过 5 000 个病例的流行病学研究^[7], 本研究将 TIC 定义为入院后 24 h 内凝血酶原比值(PTR) >1.2 。

1.2 标本采集与处理 患者入院时及入院后 1 周内每天采集 0.109 mol/L 枸橼酸钠抗凝全血 1~2 管, 2 000 g 离心 10 min 取上层乏血小板血浆待测, 血样当日未能立即检测的于-80℃保存不超过 1 个月。入院 24 h 内对患者进行 ISS 评分。

1.3 仪器与试剂 sPsel 检测采用 ELISA 法, 试剂盒购自

(R&D 公司,美国);vWF 抗原,凝血因子Ⅶ(FⅦ),PC 和凝血常规指标(凝血酶原时间,活化部分凝血活酶时间,纤维蛋白原)检测采用法国 STAGO 公司的 STA-R 全自动血凝仪及其配套试剂。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件进行统计学处理。Kolmogorov-Smirnov 检验用于检验数据是否呈正态分布,凝血障碍组和非凝血障碍组、生存组和死亡组间呈正态分布的数据采用 *t* 检验,其结果表示为 $\bar{x} \pm s$;非正态分布数据采用 Mann-Whitney *U* 检验,其结果表示为中位数士四分位数。定性指标采用卡方检验,其结果表示为数字和百分比。评估 sPsel/vWF 水平与其他指标的相关性采用 Pearson's 相关系数或 Spearsman's 相关系数。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 患者一般资料比较 共计 82 例患者被纳入到研究中,54 例男性,28 例女性,平均年龄 45.3 岁。所有患者均未给予抗凝血酶、重组活化人 PC 和重组Ⅶ治疗。30 d 病死率为 20.7% (*n* = 17),根据入院后 24 h 内 PTR 结果将患者分为凝血障碍组和非凝血障碍组,患者一般资料、临床资料及血浆各项检测指标结果见表 1(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)。

2.2 入院时 sPsel 与 vWF 水平 入院时 sPsel/vWF 水平与 PC,FⅦ均显著相关,如图 1~4。

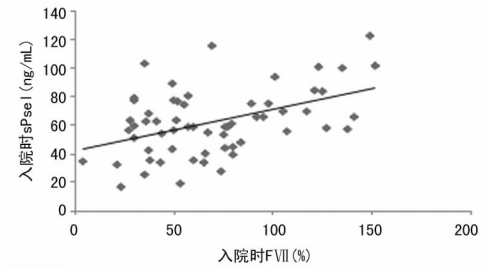


图 1 入院时 sPsel 水平与 FⅦ的相关性

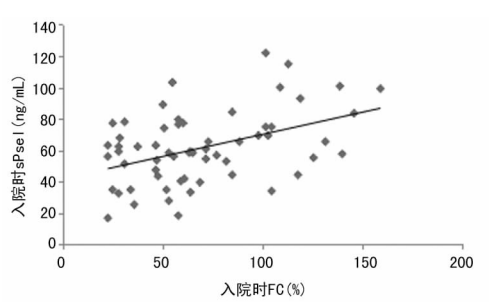


图 2 入院时 sPsel 水平与 PC 的相关性

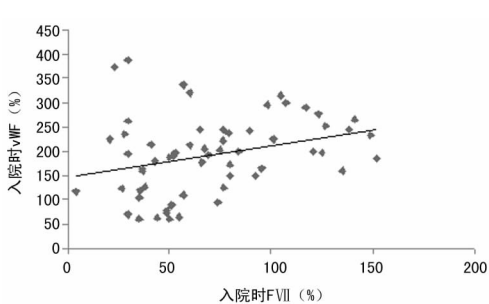


图 3 入院时 vWF 水平与 FⅦ的相关性

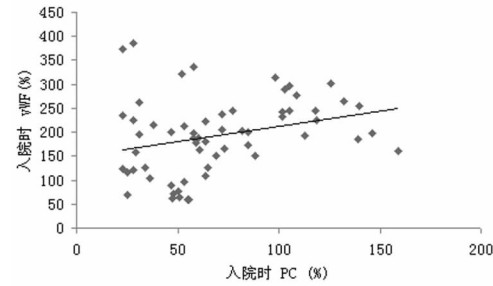


图 4 入院时 vWF 水平与 PC 的相关性

2.3 入院后 sPsel 与 vWF 水平 根据患者预后分组,两组患者在入院后第 1 周内 sPsel 和 vWF 水平变化情况见图 5、6,患者在入院后第 1 周内 sPsel 和 vWF 水平普遍高于正常上限,入院时 sPsel 和 vWF 水平高于正常上限的患者比例分别为 63.2% (52/86)和 85.4%(70/86)。生存组和死亡组相比,每 1 天的 sPsel 水平均没有显著不同,见图 5;死亡组 vWF 水平在前 3 天显著低于生存组,但在第 7 天 vWF 水平显著高过生存组(*P* < 0.05),见图 6。

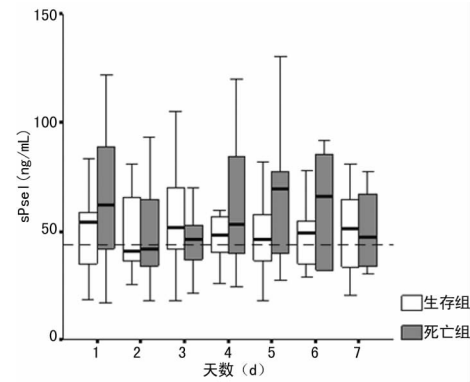


图 5 患者入院后 sPsel 水平变化

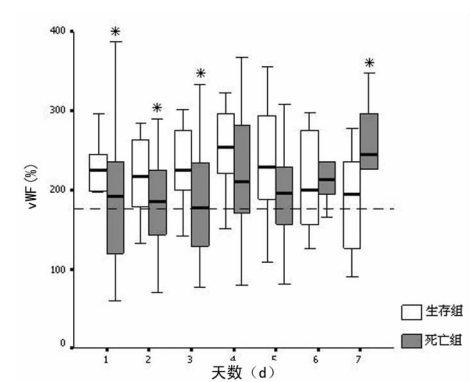


图 6 患者入院后 vWF 水平变化

3 讨 论

vWF 由血管内皮细胞和巨噬细胞合成,血浆中 vWF 水平升高提示血管内皮细胞激活/损伤^[8]。P 选择素是存在于血小板中的黏附分子,一旦激活后表达于血小板表面,也表达于动脉粥样硬化斑块形成后的内皮细胞中,然而,血浆中 sPsel 被认为主要来自于血小板,来源于血管内皮细胞只占很小部分,表明 sPsel 可以作为血小板激活的指标^[9-10]。大量研究已显示在卒中、冠心病、急性心肌梗死和深静脉血栓形成等疾病中均有 sPsel/vWF 水平升高^[11-17]。在严重创伤和 TIC 患者中血管内皮损伤和血小板功能失调常常发生,但其发生机制仍未完全

明确,同样,严重创伤后 sPsel 和 vWF 水平的变化情况也少有报道。

在现有研究中,Frith 等^[7]的流行病学研究将入院时 PTR>1.2 作为确定 TIC 的阈值,PTR>1.2 与死亡风险和血液制品需求的增加相关;Frith 等^[7]的研究还证实,以往常用的 PTR/INR>1.5 作为 TIC 判断阈值将漏检 16% 预后不良患者。以 PTR>1.2 作为阈值,本研究中 45.1% 的患者被确定为 TIC,这些患者 ISS 评分和 30 d 病死率显著高于未确定为 TIC 者;同时选择 PC 和 FⅦ作为凝血标志物,因为两者被证实是凝血障碍的敏感指标,而且与创伤患者预后密切相关^[18-19]。

在本次研究中,创伤患者 vWF 水平在进入 ICU 后第 1 周内大多高于正常参考区间,凝血障碍患者或死亡患者入院时 vWF 水平分别低于非凝血障碍患者或生存患者,且与入院时 PC/FⅦ水平均显著正相关,这提示早期较低的 vWF 水平可能主要归因于 TIC,并预示预后不良。这结果与 Ostrowski 等^[20]对创伤所致急性凝血障碍患者的生物学指标研究结果相近,但是与 De Oliveira 等^[21]的研究结果不一致—其研究中严重脑外伤患者入院时、24 h 后、7 d 后死亡组 vWF 水平均高于生存组。然而 De Oliveira 等^[21]的研究中凝血障碍的发生率未知,因此推测两者研究结果相冲突可能部分归因于颅脑损伤与非颅脑损伤中凝血障碍发生率的差异。

在入院后 1 周内,死亡组 vWF 水平在第 7 天达到峰值并显著高于生存组。这表明创伤患者后期出现的进行性血管内皮损伤与 ICU 死亡高风险密切相关。监测 vWF 水平的变化可能有助于 ICU 创伤患者死亡风险预测。

创伤后血小板功能失调在近期的多个研究中已被证实^[22-23]。研究同样发现创伤患者 sPsel 水平大多高于正常参考上限,TIC 组入院 sPsel 水平低于非 TIC 组,并且与入院时 PC/FⅦ水平显著正相关。然而,生存组和死亡组间入院 1 周内 sPsel 水平没有显著性差异,这可能归因于严重损伤所致血小板活化和 TIC 所致血小板功能障碍的双重作用。研究数据也可以部分解释在许多临床实践中输注血小板治疗对于纠正 TIC 似乎并不必要,然而输注正常功能的血小板可能带来其他间接益处,如有助于血管内皮细胞修复及感染和炎症状况的改善^[4]。

本研究局限性如下:作为观察性研究,无法独立评估 sPsel/vWF 结果与患者预后之间的因果关系;由于纳入研究的病例数有限及部分患者临床资料不齐全,没有对纳入的临床患者资料进行更详细的分类和分析(如根据是否发生败血症或器官功能衰竭分类)。另外,可能影响患者 sPsel 和 vWF 水平的基础疾病,例如血管性血友病或先天性血小板功能缺陷,没有从纳入的患者中排除。

研究表明,ICU 创伤患者 sPsel 和 vWF 水平大多升高,入院时 TIC 组 sPsel 和 vWF 水平均低于非 TIC 组,入院 1 周后 vWF 水平的进行性升高与 30 d 病死率的增加相关,然而 sPsel 水平变化与创伤所致死亡没有明显相关性。这些研究结果强调了创伤治疗中修复血管内皮功能的重要性,有必要进行前瞻性、大样本量的临床研究来进一步证实这些结论。

参考文献

[1] Brohi K, Cohen MJ, Ganter MT, et al. Acute coagulopathy of trauma; hypoperfusion induces systemic anticoagulation and hy-

perfibrinolysis[J]. J Trauma, 2008, 64(1): 1211-1217.

[2] Johansson PI, Stensballe J, Rasmussen LS, et al. A high admission syndecan-1 level, a marker of endothelial glycocalyx degradation, is associated with inflammation, protein C depletion, fibrinolysis, and increased mortality in trauma patients[J]. Ann Surg, 2011, 254(1): 194-200.

[3] Kutcher ME, Redick BJ, McCreery RC, et al. Characterization of platelet dysfunction after trauma[J]. J Trauma Acute Care Surg, 2012, 73(1): 13-19.

[4] Davenport R. Pathogenesis of acute traumatic coagulopathy[J]. Transfusion, 2013, 53(1): 23-27.

[5] Blann AD, Faragher EB, McCollum CN. Increased soluble P-selectin following myocardial infarction; a new marker for the progression of atherosclerosis[J]. Blood Coagul Fibrinolysis, 1997, 8(7): 383-390.

[6] Blann AD, Lip GY. The endothelium in atherothrombotic disease: assessment of function, mechanisms and clinical implications[J]. Blood Coagul Fibrinolysis, 1998, 9(4): 297-306.

[7] Frith D, Goslings JC, Gaarder C, et al. Definition and drivers of acute traumatic coagulopathy: clinical and experimental investigations[J]. J Thromb Haemost, 2010, 8(9): 1919-1925.

[8] Denis CV. Molecular and cellular biology of von Willebrand factor[J]. Int J Hematol, 2002, 75(1): 3-8.

[9] Blann AD, Lip GY, Beevers DG, et al. Soluble P-selectin in atherosclerosis: a comparison with endothelial cell and platelet markers[J]. Thromb Haemost, 1997, 77(6): 1077-1080.

[10] Ferroni P, Martini F, Riondino S, et al. Soluble P-selectin as a marker of in vivo platelet activation[J]. Clin Chim Acta, 2009, 399(1/2): 88-91.

[11] Nadar SK, Lip GY, Lee KW, et al. Circulating endothelial cells in acute ischaemic stroke[J]. Thromb Haemost, 2005, 94(4): 707-712.

[12] Soskin P, Wiesel ML, Mossard JM, et al. Von Willebrand factor in coronary disease[J]. Arch Mal Coeur Vaiss, 1994, 87(1): 85-93.

[13] Lytvyn OI, Kopitsa MP, Petyunina OV. Interaction between inflammation and thrombosis in acute coronary syndrome[J]. Kardiolog Pol, 2004, 61(8): 110-116.

[14] Ridker PM, Buring JE, Rifai N. Soluble P-selectin and the risk of future cardiovascular events[J]. Circulation, 2001, 103(1): 491-495.

[15] Shimomura H, Ogawa H, Arai H, et al. Serial changes in plasma levels of soluble P-selectin in patients with acute myocardial infarction[J]. Am J Cardiol, 1998, 81(4): 397-400.

[16] Gremmel T, Ay C, Seidinger D, et al. Soluble p-selectin, D-dimer, and high-sensitivity C-reactive protein after acute deep vein thrombosis of the lower limb[J]. J Vasc Surg, 2011, 54(6 Suppl): 48-55.

[17] Yamada N, Wada H, Nakase T, et al. Hemostatic abnormalities in patients with pulmonary embolism compared with that in deep vein thrombosis[J]. Blood Coagul Fibrinolysis, 1995, 6(7): 627-633.

[18] Cohen MJ, Call M, Nelson M, et al. Critical role of activated protein C in early coagulopathy and later organ failure, infection and death in trauma patients[J]. Ann Surg, 2012, 255(2): 379-385.

[19] Lissalde-Lavigne G, Combescure C, Muller L, et al. (下转第 1838 页)

3 讨 论

α -地贫是世界上最常见的单基因遗传病之一,我国的 α -地贫在基因型上主要为 $-\alpha^{3,7}$ 、 $-\alpha^{4,2}$ 和 $---^{SEA}$ 这三种缺失型,根据这三种缺失型在个体中的不同组合,可表现为静止型、标准型、中间型或血红蛋白 H 病(HbH 病)和 Hb Bart's 胎儿水肿综合征这四种表现型^[5-6]。静止型和标准型在临床上虽无明显症状,但当分别携带 α -地贫静止型与标准型基因的夫妻结婚后,就有 1/4 的可能生产出血红蛋白 H 病的后代,而两个都为标准型的夫妇结合,其胎儿就有 1/4 的可能为 Hb Bart's 胎儿水肿综合征,将会给家庭极大的精神和经济负担,需要消耗大量的医疗资源,当前, α -地贫已成为我国一个严重的公共健康问题^[7-9]。

本研究采用以跨越断裂点 PCR(GAP-PCR)技术为基础的多重 PCR 和电泳平台进行 α -地贫临床诊断,同时检测人临床全血样本中 α 珠蛋白基因上 $---^{SEA}$ 、 $-\alpha^{3,7}$ 和 $-\alpha^{4,2}$ 基因位点的缺失。gap-PCR 快速、简单、无放射性,可以检测缺失和重排,是目前诊断缺失型地贫的常规方法。但该方法在杂合性丢失(loss of heterozygosity, LOH)时可致假阴性,另部分断裂点序列尚未明时不能检测^[10]。由于 GAP-PCR 技术的普及和诊断费用的降低,对我国的优生优育、提高人口素质具有重要意义^[11]。

本研究对缺失型 α -地贫各基因型和表现型红细胞参数的变化特征进行了统计分析。表 1 和表 2 结果显示,随着 α 珠蛋白基因缺陷数目增加,小细胞低色素特征越来越显著;RBC 总体增高,Hb、MCV 和 MCH 呈下降趋势,红细胞体积大小异质性增加,提示 RDW 指标从另一个方面反映了珠蛋白肽链合成的状态。地贫患者 MCV 和 MCH 常减低,减低的程度与基因突变的类型及贫血严重程度相关,因此 MCV、MCH 均是地贫筛查的最常用基础指标^[12-13]。表 3 结果显示,389 例缺失型 α -地贫基因携带者中 $MCV<78\text{ fL}$ 、 $MCH<27\text{ pg}$ 为 84.82%, $MCV<80\text{ fL}$ 、 $MCH<27\text{ pg}$ 为 88.17%, $MCV<82\text{ fL}$ 、 $MCH<27\text{ pg}$ 为 92.28%。参照 2012 年我国卫生部行业标准(WS/T405-2012)《血细胞分析参考区间》提供的 MCV 和 MCH 参考区间值^[14], α -地贫基因携带者中 $MCV\geq 82\text{ fL}$ 、 $MCH\geq 27\text{ pg}$ 的比率为 5.91%。结果说明,静止型地贫的 MCV、MCH 可在正常区间内,或仅轻度减低;标准型地贫的 MCV、MCH 常是减低的,中间型地贫 MCV、MCH 明显减低。MCV、MCH 降低时应高度疑似地贫,但 MCV、MCH 正常时不能除外静止型、标准型地贫。基因诊断是地贫诊断的金标准,但通过全血细胞计数参数对 α -地贫基因携带者进行初步筛

查,是临床上尤其是基层单位最常用的检测手段,了解 α -地贫不同基因型和表现型患者全血细胞计数特点,有助于贫血类型的初步判断。

参考文献

[1] Galanello R, Cao A. Alpha-thalassaemia[J]. Genet Med, 2011, 13(3): 83-88.

[2] 包碧惠, 胡华, 姚宏, 等. 地中海贫血的产前筛查和基因诊断[J]. 第三军医大学学报, 2008, 30(5): 453-455.

[3] Haeteveld CL, Higgs DR. α -thalassaemia[J]. Orphanet J Rare Dis, 2010, 5(1): 13-21.

[4] 张明, 朱春江, 丁晖, 等. 血液学指标正常的 α -地中海贫血基因携带者的检出及临床意义[J]. 中国妇幼保健, 2009, 24(3): 376-377.

[5] 张永良, 汪伟山, 周玉球, 等. α -地中海贫血基因型和红细胞参数关系的研究[J]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(5): 418-422.

[6] Singer ST. Variable clinical phenotypes of alpha- thalassemia syndromes[J]. The Scientific World Journal, 2009, 9(7): 615-625.

[7] 晁艳, 冯琴, 余伍忠, 等. 常见类型地中海贫血患者全血细胞计数参数特点[J]. 中国生育健康杂志, 2013, 24(6): 26-28.

[8] Xiong F, Sun M, Zhang X, et al. Molecular epidemiological survey of haemoglobinopathies in the Guangxi Zhuang Autonomous Region of southern China[J]. Clin Genet, 2010, 78(2): 139-148.

[9] 熊符, 娄季武, 魏小凤, 等. 广西地区 79 例 α -地中海贫血复合 β -地中海贫血患者血液学特征分析[J]. 中华血液学杂志, 2012, 33(10): 856-860.

[10] 刘贵建, 孙士鹏. 地中海贫血的实验诊断: 项目和方法的选择及临床应用评价[J]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(5): 385-389.

[11] 李亚红, 梁玉全, 岑妙珍, 等. 地中海贫血基因携带者产前筛查及实验室指标的评价[J]. 国际检验医学杂志, 2007, 28(8): 673-677.

[12] 汪伟山, 周玉球, 张永良, 等. 静止型 β -地贫红细胞指标截断值的确定及其临床应用[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(2): 147-149.

[13] Chan LC, Ma SK, Chan AYY, et al. Should we screen for globin gene mutations in blood samples with mean corpuscular volume (MCV) greater than 80 fL in areas with a high prevalence of thalassaemia[J]. J Clin Pathol, 2001, 54(4): 317-320.

[14] 中华人民共和国卫生行业标准. WS/T405-2012 血细胞分析参考区间[S]. 北京: 卫生部, 2012.

(收稿日期: 2014-01-19)

(上接第 1835 页)

Simple coagulation tests improve survival prediction in patients with septic shock[J]. J Thromb Haemost, 2008, 6(4): 645-653.

[20] Ostrowski SR, Srensen AM, Larsen CF, et al. Thrombelastography and biomarker profiles in acute coagulopathy of trauma: a prospective study[J]. Scand J Trauma Resusc Emerg Med, 2011, 19(1): 64.

[21] De Oliveira CO, Reimer AG, Da Rocha AB, et al. Plasma von Willebrand factor levels correlate with clinical outcome of severe trau-

matic brain injury[J]. J Neurotrauma, 2007, 24(8): 1331-1338.

[22] Wohlaue MV, Moore EE, Thomas S, et al. Early platelet dysfunction: an unrecognized role in the acute coagulopathy of trauma[J]. J Am Coll Surg, 2012, 214(5): 739-746.

[23] Kutcher ME, Redick BJ, McCreery RC, et al. Characterization of platelet dysfunction after trauma[J]. J Trauma Acute Care Surg, 2012, 73(1): 13-19.

(收稿日期: 2014-02-01)