

创伤患者凝血及血栓前状态实验诊断指标的变化

王毅 邓桂芳 吴玉芳 王淑云 刘长明
(天津医院, 天津 300211)

【摘要】 目的 探讨血栓形成前血管内皮细胞、血小板、凝血、抗凝、纤溶系统等多种因素改变的综合作用,寻找特异、敏感的指标识别血栓前状态。方法 将创伤骨折患者 40 例, DVT 患者 10 例及 40 例正常人血浆标本按对照、创伤手术后、DVT 及同一组患者手术前后进行分组,用放免、酶免及 ACL 凝血仪分别测定血浆 α -颗粒膜蛋白(GMP-140)、血栓烷(TXB₂)、6-酮-前列腺素_{1 α} 、凝血酶时间(PT)、部分活化凝血酶元时间(APTT)、纤维蛋白元(FIB)、D-二聚体(D-D)等指标。结果 创伤组、DVT 组与对照组比较 GMP-140、TXB₂、FIB、D-二聚体有显著增高,6-Keto-PGF_{1 α} 有显著下降;APTT、PT 的变化不明显。创伤后同一组患者手术前后比较,GMP-140、TXB₂、D-二聚体三项指标差异有显著性($P < 0.05$)。其它几项指标手术前后无显著性差异。GMP-140、TXB₂、D-二聚体三项指标对不同骨折患者检测阳性率差异无显著性。结论 创伤会造成血小板活化与血管内皮细胞损伤,监测 GMP-140、TXB₂、6-酮-前列腺素_{1 α} 等指标可以对血栓前状态(高凝状态)生理性防御反映阶段进行早期预防。

【关键词】 创伤; 静脉血栓形成; 实验室诊断

Chang of thrombosis index and diadynamic criteria of prethrombotic state in trauma patients WANG Yi, DENG Guifang, WU Yufang, et al. The Hospital of Tianjin (Tianjin, 300211, China)

【Abstract】 **Objective** To evaluate the clinical significance of human plasma GMP-140, TXB₂, 6-Keto-PGF_{1 α} , PT, APTT, FIB, D-Dimer level for the diagnosis of prethrombotic state in trauma patient **Methods** 90 cases were divided into normal control group, trauma post-operative group and DVT group. Plasma GMP-140, TXB₂, 6-Keto-PGF_{1 α} , PT, APTT, FIB, D-Dimer level were measured by RIA, ELISA and ACL-200. **Results** Compared with the control group, GMP-140, TXB₂, FIB, D-Dimer level were significantly higher, 6-Keto-PGF_{1 α} were significantly lower in the post-operative and DVT group, while APTT and PT did not changes obviously in all groups. Comparison between preoperative and postoperative of the trauma patients showed significant different in GMP-140, TXB₂, D-Dimer level ($P < 0.05$), not for others index. The positive rate of examining GMP-140, TXB₂, D-Dimer in trauma patients did not show difference. **Conclusion** Thrombocyte activation and endothelial cell injury may be cause by trauma, the measurement of this index is valuable for the diagnosis and prevention of prethrombotic state.

【Key words】 Trauma; Venous thrombosis; Laboratory diagnosis

创伤对机体既有物理的刺激(如机械刺激等),又有化学的刺激(如创伤后应激激素的释放、炎性介质和细胞因子的产生、组织因子的释放等),并常伴有各种因素相互影响,互为因果。不同性质的创伤和创伤后不同时期机体的代偿反馈机制也不同。研究显示^[1],创伤后应激因子、内毒素、炎性因子等刺激机体产生大量内皮素(ET),并且创伤后发生的花生四烯酸瀑布可生成大量的 TXA₂,血小板的活化与内皮细胞的损伤是血栓形成的始发环节。本研究通过

测定创伤骨折后患者血浆 α -颗粒膜蛋白(GMP-140)、血栓烷(TXB₂)、6-酮-前列腺素_{1 α} (6-Keto-PGF_{1 α})、凝血酶时间(PT)、部分活化凝血酶元时间(APTT)、纤维蛋白元(FIB)、D-二聚体(D-D)的变化,来探讨血栓形成前血管内皮细胞、血小板、凝血、抗凝、纤溶系统等多种因素改变的综合作用,通过检测相关指标对血栓前状态指标进行筛选,寻找特异、敏感的指标识别血栓前状态,以利于预防和治疗深静脉血栓(deep venous thrombosis, DVT)的形成。

1 材料和方法

1.1 标本来源和采集 创伤骨折患者 40 例,来自我院急症收住院患者。其中男 21 例,女 19 例;年龄 20~75 岁,平均(46.15±16.5)岁。其中下肢创伤骨折 23 例,全身多发骨折 11 例,骨盆及脊柱胸、腰段骨折 6 例。将创伤及手术后患者归为创伤后测定组 40 例(术式包括清创、切开复位内固定;人工关节置换;脊髓椎板切开减压,内固定等)。DVT 组 10 例,为我院住院患者(人工股骨头置换术,髌部骨折,急性脊髓损伤、下肢创伤术后),男 8 例,女 2 例;年龄 26~70 岁(平均 43 岁),他们均经过临床和静脉造影术确诊,近期内未经药物治疗。正常对照组为无各种创伤和血栓栓塞性疾病及出血性疾病,且在检测前 2 周内未服用过任何药物的健康人,共 40 例(男 20 例,女 20 例),年龄 23~58 岁,平均 40 岁。标本采集以试剂盒要求抗凝剂抗凝采集血液,3 000 rpm 4℃ 离心 20 min 分离血浆,保存于 -20℃ 备用。PT、APTT、FIB 等指标在采集标本 1 h 之内测定完成。

1.2 检测方法 放免法测定血浆 α -颗粒膜蛋白(GMP-140)、血栓烷(TXB₂)、6-酮-前列腺素_{1 α} (6-Keto-PGF_{1 α}),药盒购自北京北方生物技术研究所、苏

州医学院等,在 SN-695 型智能放免 γ 测量仪上检测。凝血酶时间(PT)、部分活化凝血酶元时间(APTT)、纤维蛋白元(FIB);纤维蛋白原测定采用 PT-导出法,使用美国库尔特公司生产的 ACL-200 型凝血仪及 PT 试剂、D-二聚体采用挪威 Nycomed Pharma AS 公司提供的 D-D 定量测定试剂盒,严格按照操作规程操作。

1.3 统计学处理 计量数据以 $\bar{x} \pm s$ (平均数 \pm 标准差)表示,均数比较用方差齐性 t 检验判定其差异的显著性。阳性率比较采用行 \times 列表的卡方(χ^2)检验来判定不同创伤骨折患者指标的差异显著性。

2 结果

2.1 各组检测结果比较 显示创伤手术组、DVT 组与对照组比较 GMP-140、TXB₂、FIB、D-D 有显著增高,6-Keto-PGF_{1 α} 有显著下降;APTT、PT 的变化不明显。DVT 组血中 D-D 含量为(2.82±2.11)mg/L,对照组为(0.32±0.13)mg/L。DVT 组血中 D-D 含量明显高于对照组,经统计学处理有非常显著性差异($t = 7.81, P < 0.001$)。将创伤组与 DVT 组比较, GMP-140、TXB₂、D-D 三项指标变化具显著性差异(见表 1)。

表 1 创伤及手术后测定组、DVT 组患者 GMP-140、TXB₂、6-Keto-PGF_{1 α} 、APTT、PT、FIB、D-D 检测结果($\bar{x} \pm s$)

组别	GMP-140 (ug/L)	TXB ₂ (ng/L)	6-Keto-PGF _{1α} (ng/L)	APTT (s)	PT (s)	FIB (g/L)	D-D (mg/L)
对照组①	12.4±4.6	126.5±31.8	22.8±6.7	35.7±10.2	11.2±2.30	3.01±1.01	0.32±0.13
创伤组②	16.1±8.7	156.2±45.6	16.7±5.3	33.8±8.9	12.1±2.33	3.76±1.58	0.95±0.56
DVT 组③	27.1±8.2	293.7±54.1	14.3±3.7	29.1±7.7	12.6±3.12	3.47±1.20	2.82±2.11
②与①比(t)	2.37*	3.38**	4.51 Δ	0.88	1.74	2.53*	6.71 Δ
③与①比(t)	7.61 Δ	12.8 Δ	3.81 Δ	1.91	1.60	1.24	7.81 Δ
③与②比(t)	3.61 Δ	8.23 Δ	1.34	1.51	1.01	0.54	3.74 Δ

注:1. * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ $\Delta P < 0.001$ 2. 对照组与创伤组比较采用两样本 t 检验 3. DVT 组与创伤和对照组比较采用方差齐性校正 t 检验。

2.2 同质观察组的手术前后比较 经统计学配对 t 检验处理, GMP-140、TXB₂、D-D 三项指标有显著性

差异($P < 0.05$)。其它几项指标手术前后无显著性差异(见表 2)。

表 2 创伤后同一组患者手术前、后 GMP-140、TXB₂、6-Keto-PGF_{1 α} 、APTT、PT、FIB、D-D 检测结果($\bar{x} \pm s$)

组别	GMP-140 (ug/L)	TXB ₂ (ng/L)	6-Keto-PGF _{1α} (ng/L)	APTT (s)	PT (s)	FIB (g/L)	D-D (mg/L)
手术前	17.4±6.7	201±32.1	19.2±6.1	32.8±6.4	13.1±2.1	4.11±1.21	1.17±0.18
手术后	22.5±7.7	259±24.3	17.3±4.6	30.4±4.9	12.3±3.0	4.71±2.11	1.48±0.12
P	<0.05	<0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05

注:经配对 t 检验, $P < 0.05$ 其检测指标有显著性差异。

结果经卡方检验表明,除 D-二聚体差异有显著性($P < 0.05$)外,其它指标均无显著性差异,可以认

为对不同骨折患者其检测阳性率无显著性差异(见表 3)。

表 3 不同部位创伤骨折患者其 GMP-140、TXB₂、6-Keto-PGF_{1α}、APTT、PT、FIB、D-D 检测结果阳性率比较(%)

组别	GMP-140	TXB ₂	6-Keto-PGF _{1α}	APTT	PT	FIB	D-D
参考值	10 ± 4.5	86.8 ± 30	23.5 ± 8.9	30~50	10~13	2~4	<0.37
下肢骨折	47	69	43	4.3	0	61	69
骨盆及脊柱	33	50	33	0	0	33	16
全身多发骨折	27	63	45	9	0	54	27
P	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	-	>0.05	<0.05

注:经卡方检验,除 D-D 外,其它指标差异均无显著性,可以认为对不同骨折患者其检测阳性率无显著性差异。

3 讨论

机体创伤后产生一个连续、动态的变化过程,创伤严重程度、创伤性质和处理措施等因素均影响着机体的病理生理过程,创伤后激活的中性粒细胞能破坏止血和纤溶之间的正常平衡;激活的中性粒细胞和凝血酶、纤维蛋白及纤维蛋白原和纤维蛋白原的降解产物引起内皮细胞损伤,从而导致多种血液学变化。创伤及手术对人体组织的损伤可以增加血小板的黏附性和凝固活力,易于形成血小板血栓。创伤造成静脉血栓与血液滞缓、静脉管壁结构改变和血液成分变化均有关系,因此,感染、创伤和手术是下肢深静脉血栓形成的常见诱因^[2]。

血小板膜表面 α-颗粒膜蛋白(GMP-140)是血小板活化的特异标志之一。位于 α-颗粒膜上,具有介导活化血小板或内皮细胞与多种不同类型白细胞黏附的功能^[3],在正常血小板表面并不存在,当血小板活化时,受凝血酶或组织胺等受体介导的激动剂可引起颗粒膜融合进胞浆膜,从而导致 GMP-140 表达在细胞表面,且随血小板活化程度其膜蛋白 GMP-140 分子数增加。测定 GMP-140 可直接了解血小板的活化程度,是目前最具有特异性的血小板活化的分子标志物,为创伤后血小板活化与内皮细胞与白细胞相互作用的桥梁,因此在启动和扩大血栓形成过程中具有重要意义^[4]。本文结果表明,创伤骨折及手术后,GMP-140 明显高于正常对照组,但其组间又存在差异,DVT 组与创伤后和手术后组比较存在显著差异,说明血栓形成后存在于 α-颗粒膜上的糖蛋白得以在活化的血小板膜表面大量表达,因而血小板易在受损内皮表面相互黏附聚集,同时释放 TXA₂、ADP 等,从而加剧血小板聚集,促使血小板栓子形成。众所周知,血栓烷 A₂(TXA₂)是血小板花生四烯酸代谢产物之一,亦属血小板活化的标志物。TXA₂ 主要在血小板合成和释放,具有强烈诱导血小板聚集和促血管收缩作用;PGI₂ 主要在血管内皮细

胞中合成;能舒张血管,抑制血小板聚集。因其在体内半衰期短,无法检测,故多测其进一步转化为已无生物活性的 TXB₂ 和 6-Keto-PGF_{1α} 来反映它们在体内的水平。TXB₂ 只在体内血小板活化后产生而不在体外形成,故 TXB₂ 测定是反映体内血小板活化的理想指标。TXA₂ 和 PGI₂ 在舒缩血管及对血小板作用方面对立,正常机体内 TXA₂/PGI₂ 处于动态平衡,在维持血小板功能和血管紧张度方面起重要的平衡作用。有证据表明,PGI₂ 合成减少导致 TXA₂ 与 PGI₂ 失去平衡,是血栓形成的一个危险因素。本文表 1、表 2 结果显示,DVT 组 6-Keto-PGF_{1α} 最低,同组患者手术后也比手术前低,与正常对照组和创伤组比存在显著差异。手术前后患者结果比较显示,手术后患者 TXB₂ 升高而 6-Keto-PGF_{1α} 降低,提示机体处于调节失衡状态,这也是导致血栓形成的重要原因。

纤维蛋白原 FIB 是凝血系统中的一“中心”蛋白质。1994 年发现^[5]FIB 浓度增高时,由于凝血酶使蛋白凝胶形成不完全,这种凝胶上结合的组织纤溶酶原激活物量并不减少,但纤溶酶原结合量减少,从而导致纤维蛋白凝胶表面生成成为纤溶酶量下降,降低了纤维蛋白溶解作用,从而有利于血栓形成。此外高纤维蛋白原血症可引起全血粘度增高,血小板激活,凝血因子活性增高,抗凝及纤溶活性下降,出现高凝状态,这些皆可促进血栓形成^[6]。D-二聚体是由可溶性纤维蛋白原单体复合物(SFMC)经因子Ⅷa 作用后,在 γ-γ 链和 α-α 链之间形成 ε(γ-谷氨酰胺)-赖氨酸交联,变成稳定的纤维蛋白。交联纤维蛋白经纤溶酶降解,生成多种降解产物,D-二聚体是其中一种特异性终末产物。D-D 水平的升高反映继发性纤溶活性的增强,可作为体内高凝状态和纤溶功能亢进的分子标记物。创伤后机体会产生局部和全身的应激反应,创伤的严重程度不同,应激反应的强度也不一样^[7],从表 3 的

实验设计论证了这一观点,但经统计学 χ^2 检验分析结果除 D-二聚体外,其它指标对不同的骨折并无显著性差异,分析原因①创伤后的骨折界限划分不严格;②没有考虑创伤不同骨折的并发症。D-二聚体就是纤溶酶作用于已交联的纤维蛋白所形成的特异性产物。因此,血浆 D-二聚体升高既表示凝血酶增加也表示继发性纤溶酶形成。一般认为 D-二聚体与 F1+2、TAT、FPA 代表的意义相似,均表示血栓前状态。也有作者认为^[5],既然 D-二聚体是交联纤维蛋白的降解产物而非纤维蛋白单体的降解产物,则 D-二聚体的升高很可能表明已形成了不易辨认的血栓。有报道说^[8],在严重创伤时 D-二聚体显著升高,其程度可因创伤的严重性而增加,因此,发生深静脉血栓的危险性也越高,我们的研究也证实了这一点。本组实验通过定量测定血中 D-二聚体含量,发现 DVT 及手术后患者组 D-二聚体含量明显升高,证实有高凝状态和纤溶亢进的存在。究其原因我们认为可能有几个方面:①损伤的组织中富含组织促凝血酶原激活酶,组织损伤后组织促凝血酶原激活酶被释放入血,激活外源性凝血通路;②血管内皮细胞的损伤可以引起内源性凝血通路的激活。凝血机制启动后又引起继发性纤溶亢进;③其它因素,术后因组织损伤引起血小板黏聚能力增强,血清前纤维蛋白溶酶活化剂和纤维蛋白溶酶的抑制水平有升高,从而使纤维蛋白溶解减少^[9]。在对不同类型的创伤骨折患者的 FIB 水平测定后,结果表明创伤骨折患者 FIB 水平明显高于正常对照组,股骨骨折及关节置换术后 FIB 阳性率高于其他骨折和手术前患者。这一结果提示,创伤骨折后 FIB 水平升高,易造成高纤维蛋白原血症,其增高程度与创伤程度有关,容易导致血栓形成^[10]。但 DVT 形成后 FIB 水平增高并不显著,考

虑可能与血栓形成后其消耗有关。从表中可以看出,创伤及手术前后 PT 的结果均无显著性变化,APTT 在手术后虽然有所缩短,但经统计学处理差异无显著性。

机体创伤后会发生一系列的病生理变化,下肢深静脉血栓形成是创伤或手术后的一个并发症,其血液处于高凝、高粘、高聚状态对本病的发生、发展具有明显影响。由于早期临床表现颇不明显或仅有些轻微的局部症状,从而不易发现延误治疗^[11]。通过有关检测有望识别血栓前状态,从而对深静脉栓塞的早期诊断,及时治疗无疑具有重要的临床意义。

参考文献

- 1 Wu GX, He GR, Wu JC, et al. Thrombus imaging in dogs with a monoclonal antibody specific for activated human platelets. Chin Med J, 1992, 105: 553.
- 2 杨景文, 邵慧珍, 张培华, 等. 下肢深静脉血栓形成患者的几项抗凝因子的观察. 中华血液学杂志, 1991, 12(9): 469-470.
- 3 潘宜智, 吾相铭, 洪小苏, 等. 血小板活化在运动所致缺血中的临床意义. 中华内科杂志, 1994, 33(2): 106-108.
- 4 龚和禾, 段宝祥, 耿其吉. 冠状动脉造影斑块形态与血小板 α 颗粒蛋白及内皮素的关系. 江苏医药, 1999, 25(10): 754-755.
- 5 Liu HW, Kwong YL, Bourke C, et al. High incidence of thrombophilia detected in Chinese patients with venous thrombosis. Thrombosis Haemostasis, 1994, 71(4): 416.
- 6 王振义. 血栓与止血基础理论与临床. 第 2 版. 上海: 科学技术出版社, 1995. 424-426.
- 7 孟继懋. 骨与关节损伤. 北京: 人民卫生出版社, 1980. 1.
- 8 Engelman DT. 继发于多发性创伤后的血液高凝状态. 《国外医学》创伤与外科基本问题分册, 1996, 17(3): 174-175.
- 9 Eduardo AS, Vincent D, Pellegrini JR, et al. Recent advances in venous thromboembolic prophylaxis during and after total hip replacement. J Bone Joint Surg (Am), 2000, 82(2): 252.
- 10 Kenneth Ouciel, MD, Richard Mreen, et al. The anatomy of deep venous thrombosis of the lower extremity. Journal of Vascular Surgery, 2000, 31(5): 895.
- 11 金星, 秦红松, 尚德俊, 等. 206 例下肢深静脉血栓形成的治疗与体外血栓检测分析. 山东中医学院学报, 1996, 20(5): 325-327.

(收稿: 2002-08-09 编辑: 李为农)

中国老年学学会骨质疏松委员会 2003 年度两会通知

1. 第 9 届全国骨质疏松年会(春季会议)定于 2003 年 5 月 18~23 日在成都召开, 征文截稿日期 3 月 20 日。
2. 第 4 届国际骨质疏松研讨会(秋季会议)定于 11 月 3~8 日在桂林召开, 征文截稿日期 8 月 25 日。

征文内容

有关骨质疏松和骨矿研究的基础、诊断、治疗、预防和中医药方面论文, 两会均设优秀论文奖及学分证书。

热烈欢迎专家学者和同行, 厂家和公司参加。如需了解大会事项, 请来信、来电索取征文通知和参会通知, 也可从网上下载。

联系地址: 北京市朝阳区小营路 9 号亚运豪庭 A 座 05F 室 邮编: 100101 电话: (010)64985881 传真: (010)64936211
联系人: 孙继荣主任 Email: 2001@china-osteofound.org 网址(URL): Http://www.china-osteofound.org