

血栓弹力图评价肝素浓度变化对凝血功能影响的价值

燕姿辰,杨新春,周丽娜

(首都医科大学附属北京朝阳医院,北京 100020)

摘要:目的 探讨血栓弹力图(TEG)评价肝素浓度对凝血功能影响的价值。方法 对 60 名健康志愿者行枸橼酸真空抗凝管肘静脉抽血。用同种肝素钠注射液,在待测血样中分别加入肝素,使终浓度分别为 0、1、2、3、4、5、6 U/mL。用 TEG 测定凝血因子水平(R)、纤维蛋白原时间(K)、最大血块强度(MA)、凝血综合指数(CI)和最大血块形成时间(TMA)。结果 肝素浓度与凝血因子和血小板聚集功能的抑制程度成正比。当肝素浓度到达 3 U/mL 以上时,R 和 MA 与 0 U/mL 比较具有统计学意义($P < 0.05$);当肝素浓度到达 4 U/mL 以上时,R、MA、CI 和 TMA 与 0 U/mL 比较具有统计学意义($P < 0.05$);K 值变化与肝素浓度变化无关。结论 TEG 可全面检测肝素对血液的抗凝作用;在管理肝素使用以及常规凝血风险管理中具有重要作用。

关键词:血栓弹力图;肝素;凝血系统

中图分类号:R552 **文献标志码:**B **文章编号:**1002-266X(2012)31-0070-03

肝素(Heparin)是一种抗凝剂^[1],是由 D-β-葡糖醛酸(或 L-α-艾杜糖醛酸)和 N-乙酰氨基葡萄糖形成重复二糖单位组成的多糖,在体内外均有抗凝血作用。临床上主要用于血栓栓塞性疾病、心肌梗死、心血管手术、心脏导管检查、体外循环、血液透析等。血栓弹力图(TEG)是应用高敏感悬垂丝描记血液凝固过程中凝块大小并生成图形的一种分析仪^[2],主要针对凝血状态的研究,具有真实还原凝血全貌、敏感度高、检测精准、结果直观和数据详细等特点^[3]。2010 年 10 月~2011 年 10 月,我们采用 TEG 对肝素作用下的凝血过程进行整体监测,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 健康志愿测试者 60 名,其中男 34 名,女性 26 名;全部受试者年龄、体质量、身高均无统计学差异。排除标准:①6 个月内出血,活动性消化性溃疡;②血小板计数小于 $100 \times 10^9/L$;③严重肝、肾、肺和血液系统疾病;④6 个月内发生的脑血管事件、颅脑外伤、肿瘤、手术、动脉性颅内病变(动脉瘤、肿瘤);⑤未控制的高血压(收缩压 ≥ 200 mmHg 和/或舒张压 ≥ 110 mmHg);⑥妊娠;⑦1 周内应用过抗凝及抗血小板药物;⑧风湿活动的证据;⑨家族血液病史。

1.2 实验方法

1.2.1 主要试剂与仪器 枸橼酸钠抗凝管(2.7 mL, BD Corp, 美国);TEG-5000 (Haemoscope Corp, 美国);Thrombelastograph Analyzer 配套进口试剂高岭土促进剂 Kaolin、氯化钙($CaCl_2$)及原厂质控 Con-

trol level I (Thrombelastograph Analyzer TEG-5000, Haemoscope Corp, 美国);肝素钠注射液(12 500 U, 2 mL, 天津生物化学制药厂, 中国)。所有健康志愿者行肘前静脉采血。分别用 0、1、2、3、4、5、6 U/mL 肝素加入待测血样中。取枸橼酸化凝血 1 mL 置高岭土管内,静置 5 min,取 340 μL 上样,加氯化钙 20 μL 。检测中以配套进口高岭土促进剂(Kaolin)作为激活剂,以配套进口 $CaCl_2$ 作为复钙剂。不再额外使用任何试剂激活。

1.2.2 相关参数测定 采用 TEG 绘制正常凝血及低凝血状态曲线图,同时测定下列参数:①凝血因子水平(R 值):指从标本开始检测至描记幅度 2 mm 所需的时间,即从血注入容器内到开始发生凝固的时间,是引起初期纤维蛋白形成所必须的时间;主要反映凝血因子活性,参考范围:5~10 min;②纤维蛋白原时间(K):从描记幅度 2 mm 至描记幅度达 20 mm 所需时间。反应纤维蛋白和血小板在血凝块开始形成时的共同作用时间,即血凝块形成的速率,参考范围:1~3 min;③最大血块强度(MA):即描记图上的最大幅度,或最大切应力系数,为图形两侧最宽距离。相当于血栓的最大坚固度。MA 值与血小板聚集功能及纤维蛋白原的量有关,参考范围:50~70 mm;④凝血综合指数(CI):在 TEG 自动描记和检测中自动报告的参数之一,是对标本凝血状态的综合评估。 < -3 为低凝, $-3 \sim +3$ 为正常, $> +3$ 为高凝;⑤最大血块形成时间(TMA):测量形成稳定血凝块所需时间。即从凝血开始至 MA 值确定所

需用的时间。TMA 反应血凝块的全程形成速率。

1.5 统计学方法 采用 SPSS15.0 统计软件。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两独立样本均数比较的 t 检验, 曲线拟合采用 MatLab 7.0 数学软件计算。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

不同浓度肝素作用下 TEG 各项参数值比较见表 1; TEG 正常及低凝血曲线见图 1、图 2。

3 讨论

表 1 不同浓度肝素作用下 TEG 各项参数值 ($\bar{x} \pm s$)

浓度级 (U/mL)	R 值 (min)	K 值 (min)	MA 值 (mm)	CI 值	TMA (min)
0	7.2±0.6	2.1±0.6	63.4±2.4	1.2±0.8	29.8±2.7
1	8.8±1.4	2.3±0.7	62.7±1.7	0.8±1.1	31.3±1.8
2	8.9±0.7	2.4±0.4	61.1±2.6	-0.7±3.2	31.5±2.3
3	11.4±2.2*	2.8±0.6	52.3±3.2*	-0.9±2.6	31.8±3.4
4	13.1±1.8*	4.2±1.1* [△]	44.6±1.8*	-2.7±1.3*	43.4±1.5*
5	17.9±3.1*	2.7±0.7	41.3±3.7*	-3.3±2.3*	48.3±2.1*
6	23.6±1.6* [△]	2.5±1.0	40.2±4.1*	-5.2±3.1* [△]	51.1±1.4* [△]

注:与 0 U/mL 比较, * $P < 0.05$; 与 3 U/mL 比较, $\Delta P < 0.05$

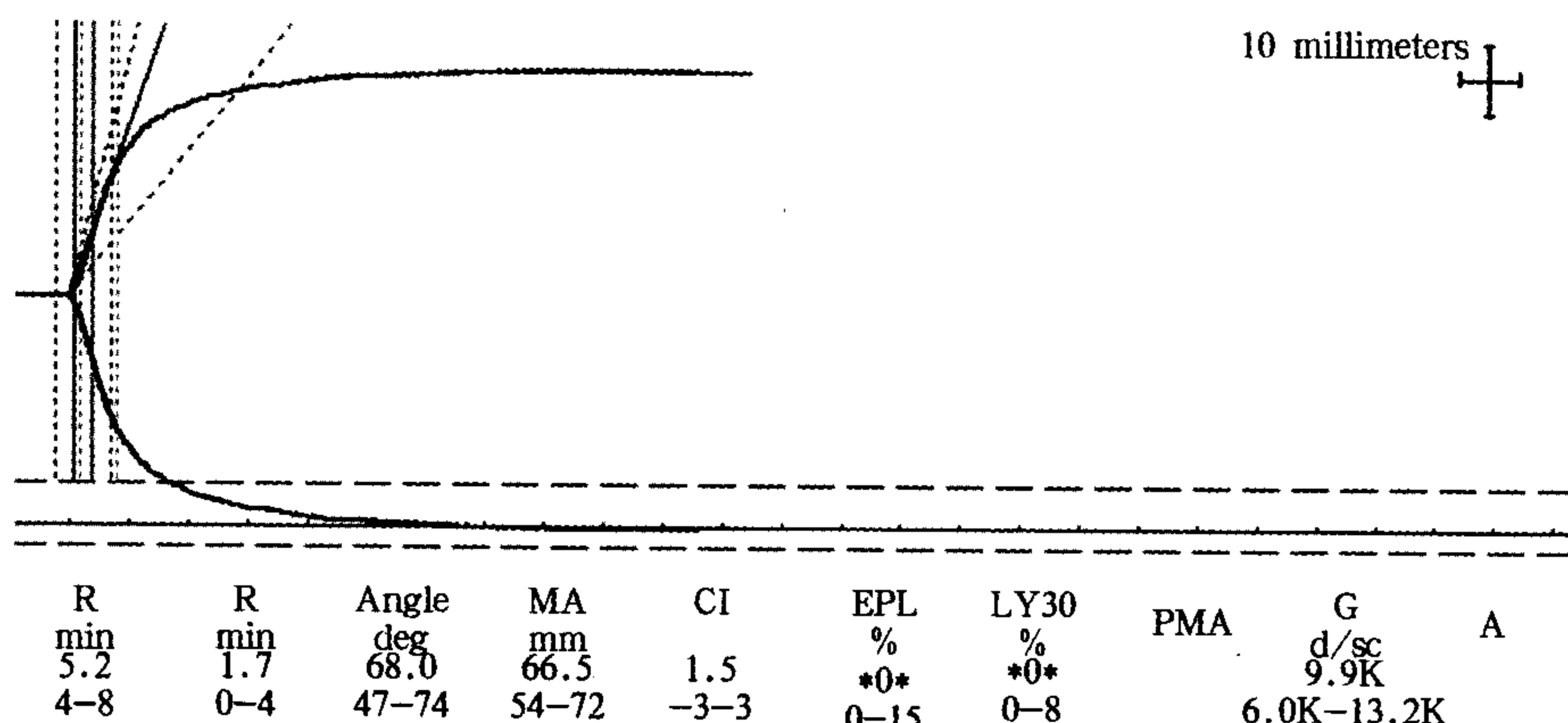


图 1 TEG 正常凝血曲线

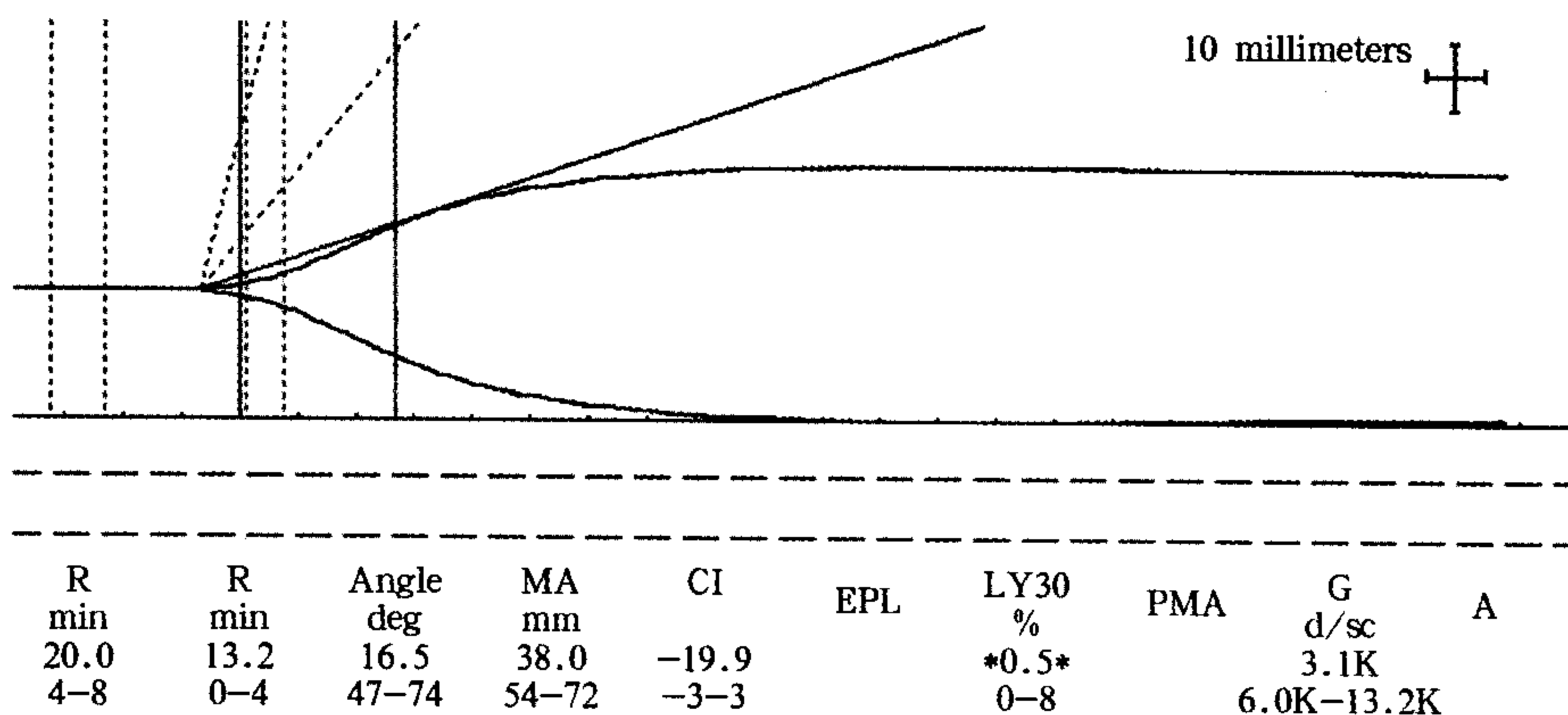


图 2 TEG 低凝血曲线

肝素是一类多糖,由糖醛酸和葡萄糖胺以 1→4 键连接起来的重复二糖单位组成的多糖链的混合物。含 10~30 个二糖单位,相对分子质量 4 000~20 000,平均 12 000。L- α -艾杜糖醛酸和 N-乙酰氨基葡萄糖是其中的主要单糖,由它们所组成的三硫酸二糖重复单位构成了肝素结构的主要部分。肝素是临床应用的一种主要抗凝药物^[4]。在抗凝血酶 III^[5](ATIII)的参与下,相对分子质量大于 5 000 的肝素能抑制凝血酶(FIIa)及活化十因子(FXa)的活性,而在同样的条件下,小分子量的肝素则只能抑制 FXa 的活性。ATIII 属于丝氨酸蛋白酶抑制剂家族,是血凝过程中丝氨酸蛋白酶,尤其是 FIIa 及 FXa 的主要抑制剂。ATIII 通过暴露的活性中心环

以底物的形式与凝血酶的活性中心结合,形成一个紧密的不可逆的复合物。彻底抑制凝血酶活性,从而延长凝血时间,抑制血栓生成。正常情况下 ATIII 与凝血酶反应速度较慢,但当肝素存在时,其结合速度将增加上千倍,并能有效提高抗凝效果。从而达到抗凝目的。本研究结果显示,随肝素浓度逐渐增加 R 值明显延长,说明在足量肝素浓度的作用下,凝血因子生成凝血酶的过程得到抑制。验证了肝素抗凝理论的准确性。

随着对肝素药理作用认识的不断深入,研究者发现,肝素在发挥其抗凝作用的同时,可能会造成血小板聚集功能的抑制^[6],其对血小板活化的影响日益受到人们的关注。血小板表面膜糖蛋白含量丰

富,在血小板黏附、聚集和释放反应中起着重要作用。其中,糖蛋白 GP II b/III a 受体复合物是血小板膜上含量最多的糖蛋白,是所有激活剂活化血小板的最终途径。本研究发现,随肝素浓度的增加 MA 值明显减小,TMA 值明显延长。说明在足量肝素浓度的影响下,MA 降低、TMA 延长,血小板的聚集功能受到抑制。志愿者被测血液表现为明显低凝状态。也有临床研究发现,抗血小板药物联合肝素共同治疗心血管患者,发生血栓的风险明显降低^[7]。这可能是由于凝血因子生成的凝血酶是一种血小板聚集的强激活剂。肝素加强了 AT III 与凝血酶的结合速率,可以有效抑制凝血酶生成。因此在整体凝血过程中,肝素大大降低了凝血酶对血小板聚集功能的激活作用,抑制血小板膜表面糖蛋白受体 GP II b/III a 的活性,使标本血液表现为一种低凝状态。

纤维蛋白原也是参与凝血的重要组成部分^[8]。纤维蛋白原由 α 、 β 、 γ 三对不同多肽链所组成,多肽链间以二硫键相连。凝血启动后, α 链与 β 链分别释放出 A 肽与 B 肽,生成纤维蛋白单体。在此过程中,由于释放了酸性多肽,负电性降低,单体易于聚合成纤维蛋白多聚体。并在 FIV a 与 FX III a 因子作用下,单体之间以共价键相连,则变成稳定的不溶性纤维蛋白凝块,完成凝血过程。本研究发现,肝素浓度对 K 值不具有线性关系。这说明虽然肝素和纤维蛋白原存在某种凝血关系,但是纤维蛋白原的变化不随肝素浓度的增加而降低。这可能是由于 TEG 是通过血凝块强度变化来评价患者凝血状态,而在血块形成过程中血块强度 80% 由血小板决定,仅 20% 由纤维蛋白原决定。纤维蛋白原在整个凝血过程中只起到很小的作用。即便肝素对纤维蛋白原有抑制作用,但在整个血块强度中表现并不明显。

本研究采用 TEG 检测肝素浓度变化对凝血系统的整体影响,发现随着肝素浓度的变化,R、MA、CI、TMA 也随之发生变化;浓度越高效果越明显。即 TEG 参数的异常变化与肝素浓度变化密切相关。

TEG 能完整地动态监测从凝血开始至血凝块形成及稳定的全过程,测定血凝块生成速度、强度以及血凝块的稳定性。能动态评估凝血级联反应相互作用、血小板以及其他血液成分(白细胞、红细胞等)对血浆因子活动的影响,从而全面分析血液凝固的全过程,是整体评价凝血功能最有效手段。总之,采用 TEG 可明确肝素对凝血系统的影响原理,全面反映肝素对凝血因子、血小板聚集功能的抑制作用。对于肝素使用过量、出血风险等情况具有很好的临床预警价值,在管理肝素使用以及常规凝血风险管理中具有重要作用,为凝血状态复杂患者的应对处理可提供更为有效的检测手段。

参考文献:

- [1] Norman R. Skill, drive and luck: the discovery and development of heparin[J]. CMAJ, 2011,183(18):2139-2140.
- [2] Chavez JJ, Foley DE, Snider CC. A novel thrombelastograph tissue factor/kaolin assay of activated clotting times for monitoring heparin anticoagulation during cardiopulmonary bypass[J]. Anesth Analg, 2004,99(5):1290-1294.
- [3] Johansson PI, Bochsén L, Stensballe J. Transfusion packages for massively bleeding patients: the effect on clot formation and stability as evaluated by Thrombelastograph (TEG)[J]. Transfus Apher Sci, 2008,39(1):3-8.
- [4] Park SH, Lee SW, Jeon U, et al. Transcatheter arterial embolization as treatment for a life-threatening retroperitoneal hemorrhage complicating heparin therapy[J]. Korean J Intern Med, 2011,26(3):352-355.
- [5] Al-Horani RA, Liang A, Desai UR. Designing nonsaccharide, allosteric activators of antithrombin for accelerated inhibition of factor Xa[J]. J Med Chem, 2011,54(17):6125-6138.
- [6] Bambah RK, Pham DC. Heparin-induced thrombocytopenia[J]. Clin Adv Hematol Oncol, 2011,9(8):594-599.
- [7] Daykin HJ, Sturgeon SA, Jones C, et al. Arterial antithrombotic effects of aspirin, heparin, enoxaparin and clopidogrel alone, or in combination, in the rat[J]. Thromb Res, 2006,118(6):755-762.
- [8] Srensen B, Tang M, Larsen OH. The role of fibrinogen: a new paradigm in the treatment of coagulopathic bleeding[J]. Thromb Res, 2011,128(Suppl 1):13-16.

(收稿日期:2012-02-17)