

同型半胱氨酸联合 D-二聚体对肝癌血栓前状态监测的研究^{*}陈浩宇, 钟远红, 吴晓蔓, 嘉红云[△] (广州医科大学附属第二医院检验科, 广州 510260)

【摘要】 目的 探讨联合应用同型半胱氨酸(HCY)和 D-二聚体(D-Dimer)对肝癌血栓前状态预测的临床应用价值。**方法** 选取 50 例原发性肝癌患者(肝癌组), 30 例肝硬化患者(肝硬化组), 30 例健康对照组, 检测血清 HCY、血浆 D-Dimer 的水平, 应用 ROC 曲线分析其对肝癌血栓前状态的预测价值。**结果** 肝癌组与肝硬化组、健康对照组比较, 血清 HCY、D-Dimer 水平均明显升高($P < 0.05$); 肝硬化组与健康对照组比较, 血清 D-Dimer 水平明显升高($P < 0.05$), 而 HCY 差异无统计学意义($P = 0.912$)。原发性肝癌患者的 HCY、D-Dimer 与两者联合检测在 ROC 曲线下的面积分别为 0.902、0.846、0.941。HCY、D-Dimer 对原发性肝癌血栓前状态的临床预测临界点分别为 13.28 $\mu\text{mol/L}$ 、1 451 ng/mL。**结论** HCY 和 D-Dimer 可以作为原发性肝癌血栓前状态的辅助诊断指标, 两者联合应用可以提高对原发性肝癌血栓前状态的检出率。

【关键词】 原发性肝癌; 同型半胱氨酸; D-二聚体; 血栓前状态; 受试者工作特征曲线

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2013.22.007 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)22-2952-02

Study of HCY combined with D-Dimer on monitoring of prethrombotic state in hepatocarcinoma patients^{*} CHEN

Hao-yu, ZHONG Yuan-hong, WU Xiao-man, JIA Hong-yun[△] (Department of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong 510260, China)

【Abstract】 Objective To explore the predictive value of homocysteine(HCY) combined with D-Dimer in the prethrombotic state of primary hepatocarcinoma(PHC). **Methods** 50 cases of primary liver cancer, 30 cases of hepatic sclerosis and 30 cases of healthy human were selected, and the levels of HCY and D-Dimer were detected. The predictive value was evaluated by ROC curve. **Results** The HCY and D-Dimer in the PHC group were significantly higher than that in hepatic sclerosis and control group($P < 0.05$). The D-Dimer level was significantly higher in hepatic sclerosis group than that in healthy human($P < 0.05$), while there was no significance of HCY between the hepatic sclerosis and the control group($P = 0.912$). The areas under ROC curve of HCY, D-Dimer and the joint detection of the two indexes were 0.902, 0.846 and 0.941, respectively. The clinical predictive critical points of HCY and D-Dimer in PHC with prethrombotic state were 13.28 $\mu\text{mol/L}$ and 1 451 ng/mL, respectively. **Conclusion** The combination of the HCY and D-Dimer could predict the prethrombotic state of the primary hepatocarcinoma.

【Key words】 primary hepatocarcinoma; HCY; D-Dimer; prethrombotic state; ROC

血栓形成是恶性肿瘤的并发症之一, 血栓前状态或称血栓前期是指机体可能发生血栓形成的状态^[1]。几乎所有的凝血因子、多种抗凝因子、纤溶酶及其抑制剂都在肝脏合成, 肝脏还是多种因子的主要灭活器官^[2]。因此, 严重肝脏疾病时可产生复杂的止血功能紊乱。明确血栓前状态分子标志物水平在肝癌患者血液中的变化规律, 寻找行之有效的实验室检测指标, 用于预测肝癌患者血栓形成的发生、发展, 对血栓形成倾向和高危患者及早进行药物干预, 对预防并发症、延长肝癌患者生命、降低其病死率有着非常重要的临床意义。本研究旨在探讨血清同型半胱氨酸(HCY)和 D-二聚体(D-Dimer)联合检测对于原发性肝癌(PHC)患者监测的意义, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2011 年 10 月至 2012 年 10 月本院收治的原发性肝癌患者(肝癌组)50 例, 其中男 30 例, 女 20 例, 年龄(57.6 $\pm$ 9.6)岁, 均经临床、AFP 和影像学检查明确诊断; 肝癌病例的入组标准参照 2001 年 9 月在广州召开的第八届全国肝癌学术会议上正式通过的“PHC 的临床诊断与分期标准”; 肝硬化患者(肝硬化组)30 例, 其中男 19 例, 女 11 例, 年龄(52.3 $\pm$ 3.9)岁; 健康对照组(排除肝脏疾病)30 例, 其中男 17

例, 女 13 例, 年龄(58.3 $\pm$ 5.7)岁。研究对象均排除下肢静脉血栓、肺栓塞等血栓性疾病, 排除心脑血管疾病、糖尿病及肾疾病等, 全部病例在此检测前未用肝素等影响凝血、纤溶的药物。

1.2 标本采集与检测方法 所有标本均空腹清晨采血。HCY 检测: 用干燥管采血 4 mL, 采血后 1 h 内 3 500 r/min 离心 5 min 分离血清, AXSYM 仪器检测 HCY 水平。D-Dimer 检测: 以 109 mmol/L 枸橼酸钠抗凝剂, 抗凝比例为 1:9 的抗凝管采血 1.8 mL, 充分混匀后, 以 3 000 r/min 离心 15 min 后分离血浆, 用 Sigma 全自动血凝仪测定血浆 D-Dimer 水平。每日室内质控在控条件下检测各项指标。检测步骤参照试剂说明书进行。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析, 正态计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析, 检验水准为 0.05。对单项及联合检测结果作图绘成 ROC 曲线, 计算曲线下面积和标准误, 其中联合检测结果变量即预测概率由 logistic 回归产生。

2 结果

2.1 血清 HCY、D-Dimer 检测结果 如表 1 所示, 各组间比较采用 ANOVA 检验, HCY 检测结果显示: 与健康对照组和

肝硬化组相比,肝癌组 HCY 显著升高($P<0.05$),差异有统计学意义;而肝硬化组与健康对照组之间 HCY 检测值差异无统计学意义($P>0.05$)。D-Dimer 检测结果显示:与健康对照组和肝硬化组相比,肝癌组 D-Dimer 显著升高($P<0.05$);肝硬化组 D-Dimer 水平亦显著高于健康对照组($P<0.05$)。

表 1 各组 HCY、D-Dimer 分析结果($\bar{x}\pm s$)			
组别	<i>n</i>	HCY($\mu\text{mol/L}$)	D-Dimer(ng/mL)
肝癌组	50	18.35 $\pm$ 9.04 ^{ab}	2 617 $\pm$ 743 ^{ab}
肝硬化组	30	11.06 $\pm$ 1.74	1 345 $\pm$ 247 ^a
健康对照组	30	9.7 $\pm$ 1.84	47 $\pm$ 9.7

注:与健康对照组比较,^a $P<0.05$;与肝硬化组比较,^b $P<0.05$ 。

2.2 HCY、D-Dimer 及两者联合检测对 PHC 患者血栓前状态的监测价值 在单项检测中,HCY、D-Dimer 对 PHC 患者高凝状态的诊断的敏感度分别为 0.760、0.700,两项联合敏感度提高至 0.880。HCY、D-Dimer 对 PHC 患者高凝状态的诊断的特异度分别为 0.914、0.829,两项联合特异度提高至 0.857。ROC 曲线下面积(AUC)HCY、D-Dimer 分别为 0.902、0.846,而两者联合后的 ROC 曲线下面积提高至 0.941。由此可见,两者联合检测的诊断效能是最好的。见图 2,表 2、3。

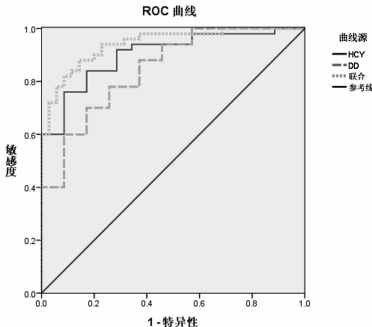


图 2 HCY 和 D-Dimer 诊断 PHC 的 ROC 曲线

表 2 HCY、D-Dimer 对 PHC 诊断性能比较						
检测项目	敏感度	特异度	阳性 预测值	阴性 预测值	诊断 符合率(%)	临界值
HCY	0.760	0.914	0.898	0.792	83.7	13.28 $\mu\text{mol/L}$
D-Dimer	0.700	0.829	0.804	0.734	76.5	1 451 ng/mL
两项联合	0.880	0.857	0.860	0.877	86.9	—

注:—表示无数据。

表 3 HCY、D-Dimer 及两项联合 ROC 曲线下面积、标准误、 P 及 95% 可信区间比较					
检验变量	曲线下面积	标准误	<i>P</i>	95% 可信区间	
				下限	上限
HCY	0.902	0.032	0.000	0.839	0.965
D-Dimer	0.846	0.041	0.000	0.765	0.927
两项联合	0.941	0.023	0.000	0.895	0.987

3 讨 论

恶性肿瘤患者存在明显的止凝血功能紊乱,止凝血功能紊乱反过来又促进肿瘤的生长浸润和转移^[3]。临床上肝癌患者死亡的原因之一即是凝血和纤溶系统功能障碍合并弥散性血

管凝血^[4]。因此,寻找血栓前状态检测的分子标志物,预测肝癌患者血栓形成的发生发展,对高危患者及早进行药物干预,对预防并发症、延长患者生命、降低病死率有着非常重要的临床意义。

近年有研究表明,血浆 D-Dimer 水平与恶性肿瘤进程有关,随着患者病情和肝功能损伤程度的不同,血浆 D-Dimer 水平随之变化^[5-6]。本研究结果显示,肝癌组 D-Dimer 水平明显高于肝硬化组以及健康对照组,同时肝硬化组 D-Dimer 水平亦比健康对照组高。这提示肝癌患者和肝硬化患者体内存在高凝状态及异常增强的纤溶活性,导致 D-Dimer 水平显著升高,并且肝癌患者的肝细胞受损程度大于肝硬化患者,导致两种不同病理进程的 D-Dimer 水平有差异性,与文献^[7]报道一致。

本研究结果显示,肝癌组的 HCY 水平高于健康对照组以及肝硬化组,而肝硬化组与健康对照组差异无统计学意义。高水平的 HCY 促进血栓形成倾向,且常见于维生素 B12、叶酸吸收和代谢能力下降的恶性肿瘤患者^[8-9]。HCY 引起血栓形成的机制主要是损伤血管内皮细胞、增强内皮细胞表面因子 V 的活性、降低蛋白 C、纤溶系统的活性、活化血小板、降低 AT-Ⅲ的活性等,由于内皮细胞的损伤激活凝血系统,并消耗抗凝血、纤溶系统,另外血管内皮的广泛损伤也使 AT-Ⅲ生成障碍,并造成凝血酶调节蛋白生成减少,导致活化的蛋白 C 形成障碍,因此肝癌患者 HCY 升高是血栓前状态的重要危险因素。

单项指标对 PHC 高凝状态的临床价值 ROC 曲线描述了诊断实验区分患者与非患者的固有能力,综合了灵敏度、特异度两个指标,而且考虑了所有可能的诊断界值的影响,能更客观、全面地评价诊断试验的准确性。ROC 曲线下面积,0.9<AUC<1.0,表明其有较高的准确性;0.7<AUC<0.9,表明其有中等的准确性^[10]。本研究结果显示,HCY 与 D-Dimer 在预测血栓前状态时,ROC 曲线下面积分别为 0.902、0.846,表明两者对 PHC 血栓前状态均有一定的预测价值,对 PHC 血栓前状态的临床诊断临界点分别为 13.28 $\mu\text{mol/L}$ 、1 451 ng/mL 。其中 HCY、D-Dimer 对 PHC 患者高凝状态的预测的敏感度分别为 0.760、0.700,特异度分别为 0.914、0.829。从结果中可看出,HCY 和 D-Dimer 的敏感度均不高,会造成一定的漏诊率。

多项指标联合诊断对 PHC 高凝状态的鉴别诊断要求既灵敏又特异,但在临床实践中,众多非创性诊断实验不够完善,灵敏度和特异度并非都很高,这就需要应用多指标的联合检测来进行诊断。本研究通过 logistic 回归结果显示,联合检测对 PHC 血栓前状态预测有意义。本组病例,两者的联合检测的 AUC 最高,为 0.941;HCY 本身的诊断价值可达 0.902,与联合 D-Dimer 的方法相比,其敏感度明显提高至 0.880,可降低漏诊率,表明两者具有互补性,避免误诊。

在临床工作中,较常应用血浆 D-Dimer 预测弥散性血管内凝血(DIC)的发生,但其测定具有一定的不稳定性,重复性较差,以及其在体内受多种因素影响而变化。而 HCY 是血栓形成的高风险因素,特异性较好。但 HCY 的检测也存在一定影响因素,其受年龄、性别、营养状态、药物作用等影响。

综上所述,单项检测 HCY、D-Dimer 对诊断 PHC 的血栓前状态存在一定的漏诊率。因此,联合 D-Dimer 和 HCY 检测能提高 PHC 高凝状态预测的灵敏度和特异度,具有重要的临床应用价值。

因素相互作用而形成的多基因疾病^[4]。Bourassa 等^[5]认为高血压发病其中的原因之一,可能就是由于血管紧张素Ⅱ(AngⅡ)浓度升高;而本课题组在之前的研究中也发现,当兔迷走神经被颈动脉压迫后,其体内的 AngⅡ及其 1 型受体的 mRNA 的转录量都增加^[6]。

在血小板膜上具有大量的 AngⅡ受体,血液中 AngⅡ的增加对血小板上的 AngⅡ受体具有强烈的刺激作用,可引起血小板聚集与活化。当血小板活化时,暴露出纤维蛋白原识别和结合位点,并能与纤维蛋白原结合从而引起血小板聚集^[7]。有研究表明,血小板活化、血管内皮受损、纤维蛋白原的水平升高在高血压的病理机制中起着重要作用^[8-9]。内皮细胞受损对血压的升高有以下几个影响,首先内皮细胞受损可以释放大量的内皮素,增加肾血管阻力,促进 AngⅡ的分泌,导致血压升高^[10]。其次内皮细胞受损使得抑制血小板激活的物质生成减少,结果使增加血小板的活化。再次,血管内皮损伤,暴露出内皮下的纤维蛋白原,引起血小板与纤维蛋白原结合。

从本次检测结果可见,实验组的纤维蛋白原水平要高于对照组,纤维蛋白原的升高使得血浆黏度增加^[11];而血浆黏度、HCT、红细胞刚性指数的升高使得全血黏度高切指数和低切指数升高^[12]。切变力的增加使得致血小板膜受损,引起血小板释放二磷酸腺苷,促进血小板内钙离子的释放,合成血栓素 A₂。血栓素 A₂ 是一种强烈的血管收缩剂和血小板聚集释放诱导剂,它一方面作用于血管平滑肌促血管强烈收缩,加重高血压;另一方面,使得血浆黏度和血小板聚集率增加,进一步提高血液的黏性。血液黏性的增加又致使血管内皮细胞及机体慢性缺氧,造红细胞压积的升高等一系列变化使得血压升高^[13]。

本实验通过经颈动脉制作原发性的高血压模型,发现兔迷走神经被压迫后,全血黏度高切指数、全血黏度低切指数、红细胞聚集指数、纤维蛋白原等多项指标明显异常的变化,为高血压产生机制的研究和治疗提供了新的实验资料。

参考文献

- [1] 刘佳,夏大胜. 经颅及颈动脉制作神经源性高血压模型的比较研究[J]. 天津医科大学学报,2011,17(2):207-209.
- [2] 李宏宝,鲁彦,郑天珍. 头端延髓腹外侧区与原发性高血压

压[J]. 中华高血压杂志,2011,19(10):917-919.

- [3] 钟明奎. 延髓腹外侧头端活性氧介导室旁核血管紧张素Ⅱ的交感兴奋作用[J]. 中国老年学杂志,2011,6(31):2008-2011.
- [4] 杨文娟. 尿酸水平与原发性高血压相关性的临床研究[J]. 实用心脑血管病杂志,2012,6(20):939-940.
- [5] Bourassa EA, Sved AF, Speth RC. Angiotensin modulation of rostral ventrolateral medulla(RVLM) in cardiovascular regulation[J]. Mol cell Endocrinol, 2009, 302(2):167-175.
- [6] 呼格吉乐,董莉,张彩虹,等. 兔迷走神经压迫后对血浆血管紧张素Ⅱ及其 1 型受体 mRNA 表达水平的检测[J]. 国际检验医学杂志,2013,6(34):515-516.
- [7] 张晓雷,吴艳. 安步乐克对短暂时脑缺血发作患者凝血指标及血管紧张素Ⅱ的影响[J]. 临床合理用药,2012,10(5):9-10.
- [8] van den Born BJ, Löwenberg EC, van der Hoeven NV, et al. Endothelial dysfunction, platelet activation, thrombogenesis and fibrinolysis in patients with hypertensive crisis[J]. J Hypertens, 2011, 29(5):922-927.
- [9] Yang P, Liu YF, Yang L, et al. Mechanism and clinical significance of the prothrombotic state in patients with essential hypertension[J]. Clin Cardiol, 2010, 33(6):81-86.
- [10] 张凌慧,杨桂明,周志春. 妊娠期高血压疾病患者血浆内皮素与血小板聚集率的相关性分析[J]. 基层医学论坛, 2012, 22(16):2874-2875.
- [11] 黄永存,于玲,孙华. 原发性高血压伴代谢综合征血液流变学及血小板功能的早期变化[J]. 牡丹江医学院学报, 2013, 1(34):61-63.
- [12] 曾垦. 血液流变学、血脂与高血压关系的探讨[J]. 数理医药学杂志, 2012, 5(25):604-605.
- [13] 黄汉辉,郑师明,梅峥嵘,等. 替米沙坦对原发性高血压合并高脂血症患者血液流变学、血脂及血小板聚集功能的影响[J]. 中国医院药学杂志, 2011, 22(31):1883-1885.

(收稿日期:2013-06-03 修回日期:2013-08-01)

(上接第 2953 页)

参考文献

- [1] 程艳,蔡欣,刘基巍. 恶性肿瘤与血栓形成[J]. 临床肿瘤学杂志,2010,15(4):376-379.
- [2] Primignani M. Portal vein thrombosis, revisited[J]. Dig Liver Dis, 2010, 42(3):163-170.
- [3] 王东琳,王全楚,许丽芝. 门静脉血栓形成的机制及诊治研究进展[J]. 实用医药杂志, 2011, 28(8):751-754.
- [4] 王淑庚,冯亮飞,王玉梅,等. 原发性肝癌患者检测同型半胱氨酸的临床意义[J]. 现代中西医结合杂志, 2011, 20(34):4416-4417.
- [5] 刘永华. 脑梗死患者同型半胱氨酸、血小板聚集率、D-D 二聚体水平的研究[J]. 实用医技杂志, 2011, 18(11):1176-1177.
- [6] Spadaro A, Tortorella V, Morace C, et al. High circulating D-dimers are associated with ascites and hepatocellular carcinoma in liver cirrhosis[J]. World J Gastroenterol,

2008, 14(10):1549-1552.

- [7] 涂学亮,薛燕平,李莉华,等. 血浆 D-二聚体在肝癌临床分期及分级中的临床意义[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2010, 24(12):1213-1214.
- [8] Teng YW, Mehedint MG, Garrow TA, et al. Deletion of betaine-homocysteine S-methyltransferase in mice perturbs choline and 1-carbon metabolism, resulting in fatty liver and hepatocellular carcinomas[J]. J Biologic Chem, 2011, 286(42):36258-36267.
- [9] 杜伟鹏. D-二聚体、同型半胱氨酸与老年深静脉血栓患者的相关性[J]. 中国老年学杂志, 2011, 31(7):2775-2776.
- [10] 黄义强,刘斌,张永辉. 血清 α -L-岩藻糖苷酶、 γ -谷氨酰转氨酶、碱性磷酸酶和同型半胱氨酸联合检测对原发性肝癌的诊断价值[J]. 中国现代医学杂志, 2011, 21(11):1359-1361.

(收稿日期:2013-03-17 修回日期:2013-06-22)