

凝血及纤溶因子水平对新生儿弥散性血管内凝血的诊断价值^{*}

袁启明¹, 张宏杰¹, 张 任^{2△} (1. 湖北省南漳县人民医院检验科 441500; 2. 湖北医药学院附属东风医院肾内科, 湖北十堰 442008)

【摘要】 目的 探讨血浆凝血酶-抗凝血酶复合物(TAT)、D-二聚体(D-D)、纤维蛋白原降解产物(FDP)检测在早期诊断新生儿弥散性血管内凝血(DIC)中的价值。**方法** 将收治的 105 例危重患者作为研究组, 所有患儿新生儿危重病例评分小于或等于 90 分; 其中诊断为 pre-DIC 患儿 57 例; 另选同期在妇产科出生的 60 例健康新生儿作为对照组。对弥散性血管内凝血前状态(pre-DIC)患儿采用小剂量肝素治疗, 对比各组血浆 D-D、TAT、FDP 水平。**结果** 与对照组相比, 危重患儿血浆 D-D、TAT、FDP 水平明显升高, 两组间相比差异有统计学意义($P < 0.05$); 治疗后 pre-DIC 患儿血浆 D-D、TAT、FDP 水平降低至正常水平内, 与治疗前相比差异有统计学意义($P < 0.05$)。相关性分析显示血浆 D-D、TAT、FDP 水平与危重病例评分呈明显负相关关系($P < 0.05$); D-D、TAT、FDP 联合检测能够明显提高诊断的敏感性和特异性。**结论** 血浆 D-D、TAT、FDP 检测可以作为新生儿 DIC 早期诊断和干预治疗的依据。

【关键词】 凝血酶-抗凝血酶复合物; D-二聚体; 纤维蛋白原降解产物; 弥散性血管内凝血

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2015.01.006 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)01-0014-02

Diagnostic value of coagulation and fibrinolytic factors levels in neonatal DIC^{*} YUAN Qi-ming¹, ZHANG Hong-jie¹, ZHANG Ren^{2△} (1. Department of Clinical Laboratory, Nanzhang County People's Hospital, Xiangfan, Hubei, 441500, China; 2. Department of Nephrology, Affiliated Dongfeng Hospital of Hubei Medical and Pharmacy College, Shiyan, Hubei 442008, China)

【Abstract】 Objective To explore the value of plasma TAT, D-D and FDP detection in early diagnosis of neonatal disseminated intravascular coagulation(DIC). **Methods** 105 neonatal cases of critically ill in our hospital were taken as the study group, all cases had the neonatal critical illness score of ≤ 90 ; among them, 57 cases were pre-DIC; contemporaneous 60 healthy neonates were selected as the control group. Pre-DIC was treated with low dose heparin. The plasma D-D, TAT and FDP levels were compared among various groups. **Results** Compared with the control group, the plasma D-D, TAT and FDP levels in the critically ill group were increased significantly, the difference was statistically significant between the two groups($P < 0.05$); the plasma D-D, TAT and FDP levels after treatment in the pre-DIC group were decreased to the normal level, compared with before treatment, the difference was statistically significant($P < 0.05$). The correlation analysis showed that the significantly negative correlation existed between plasma D-D, TAT and FDP levels with the critical illness score($P < 0.05$); the combined detection of D-D, TAT and FDP could significantly improved the sensitivity and specificity of diagnosis. **Conclusion** Plasma D-D, TAT and FDP detection can be used as the basis for early diagnosis and interventional treatment of neonatal DIC.

【Key words】 TAT; D-D; FDP; DIC

弥散性血管内凝血(DIC)是一种以凝血-抗凝血失衡为特征的临床症状, 该病是新生儿严重的急症之一^[1]; 调查发现重症监护病房(ICU)住院患儿中 DIC 约占 7.8%^[2]。导致新生儿 DIC 的原因主要有重症酸中毒、感染性休克、围生期窒息等; 由于该病早期无明显特征, 一旦发生 DIC, 病情进展快、预后差, 因此早期诊断 DIC 对患儿的抢救至关重要。临床上常采用血小板计数(PLT)、凝血酶原时间(APTT)诊断 DIC, 但是新生儿 APTT 比成人更长, 因此给早期诊断新生儿 DIC 造成困扰^[3]。近年来有研究发现凝血酶-抗凝血酶复合物(TAT)、D-二聚体(D-D)、纤维蛋白原降解产物(FDP)等是不同阶段抗凝、凝血、纤溶和血小板活化中特异的产物, 与 PLT、APTT 相比, 上述指标出现得更早^[4], 因此对早期诊断 DIC 有着重要意义。本研究通过对新生儿血中 TAT、D-D、FDP 进行

检测, 探讨这 3 种指标对 pre-DIC 诊断的临床价值, 现将研究成果总结如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2010 年 5 月至 2013 年 5 月湖北省南漳县人民医院收治的 105 例危重患者作为研究组, 男 64 例, 女 41 例, 胎龄 26~44 周; 其中足月儿 79 例, 早产儿 26 例; 出生日龄 1 h 至 27 d, 出生体质量 700~5 500 g。所有患儿均进行新生儿危重病例评分法^[5], 评分小于或等于 90 分; 按照 DIC 临床诊断标准弥散性血管内凝血前状态(pre-DIC)患儿 57 例。选择同期在湖北省南漳县人民医院妇产科出生的 60 例健康新生儿作为对照组, 两组患儿性别、年龄等一般资料差异无统计学意义($P > 0.05$), 具有可比性。

1.2 方法 所有患儿均进行详细体检, 治疗前检查患儿凝血

^{*} 基金项目: 湖北省卫生厅基金项目(WJ01564)。

作者简介: 袁启明, 男, 副主任技师, 大学本科, 主要从事临床基础学检验工作。 △ 通讯作者, E-mail: 68471104@qq.com。

功能、血气分析、血液生化和血常规;对 D-D 升高合并 TAT、FDP 一项异常者,采用小剂量肝素进行抗凝治疗 5 d;治疗后再对相关指标进行检测。三组患者均取静脉血 3 mL,高速离心后分离血浆,−80 ℃ 冰箱中保存待检。D-D 采用发色底物法进行检测,仪器为 Coatron1800 全自动血凝仪及其配套设备。TAT 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)进行检测,相关试剂盒由上海酶联生物研究所提供。FDP 采用乳胶凝集试验进行检测;所有操作均按照说明书进行。阳性判定标准^[6]:D-D>500 μg/L;TAT>4 μg/L;FDP>20 mg/L。

1.3 统计学处理 所有研究数据采用 SPSS17.0 统计学软件包进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,独立样本采用 *t* 检验分析样本间的差异,相关性采用 Pearson 检验,以 $\alpha=0.05$ 为检验水准,以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组血浆 D-D、TAT、FDP 水平对比 与对照组相比,危重患儿血浆 D-D、TAT、FDP 水平明显升高,两组间相比差异具有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 两组血浆 D-D、TAT、FDP 水平对比($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	D-D(μg/L)	TAT(μg/L)	FDP(mg/L)
研究组	105	677.5±53.8	8.05±1.57	417.2±67.8
对照组	60	231.4±163.1	2.31±1.07	12.9±9.5
<i>t</i>		25.732	25.161	43.605
<i>P</i>		0.000	0.000	0.000

2.2 pre-DIC 患儿治疗后血浆 D-D、TAT、FDP 水平 治疗后 pre-DIC 患儿血浆 D-D、TAT、FDP 水平降低至正常水平内,与治疗前相比差异具有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 2 pre-DIC 患儿治疗后血浆 D-D、TAT、FDP 水平($\bar{x} \pm s$)

时段	<i>n</i>	D-D(μg/L)	TAT(μg/L)	FDP(mg/L)
治疗前	57	677.5±53.8	8.05±1.57	417.2±67.8
治疗后	57	273.4±37.5	2.65±0.46	11.6±3.1
<i>t</i>		47.038	33.822	61.236
<i>P</i>		0.000	0.000	0.000

2.3 危重病例评分与 D-D、TAT、FDP 相关性分析 研究组血浆 D-D、TAT、FDP 水平与危重病例评分呈明显负相关关系($P<0.05$),见表 3。

表 3 危重病例评分与 D-D、TAT、FDP 相关性分析

统计值	D-D	TAT	FDP
<i>r</i>	−0.683	−0.724	−0.542
<i>P</i>	0.000	0.000	0.000

2.4 单项指标与 3 项指标联合检测的特异性和敏感性对比 3 项指标联合检测能够明显提高诊断的敏感性和特异性,见表 4。

表 4 单项指标与 3 项指标联合检测的特异性和敏感性对比

检测指标	特异性(%)	敏感性(%)
D-D	83.1	73.5
TAT	78.4	63.8
FDP	55.9	67.4
3 项联合	80.5	94.8

3 讨 论

DIC 是由多种疾病导致的综合征,其临床表现为全身纤溶系统紊乱、凝血系统激活和多器官内形成微血栓,最终发展成为全身广泛性出血和多器官衰竭综合征。危重新生儿会因感染、缺氧、创伤等导致 DIC,患儿发病急、病死率高,严重威胁新生儿的生命安全。pre-DIC 又称 DIC 前状态^[7],该病无特异性,虽然有局部血栓形成,但是未达到 DIC 标准,因此容易被忽视,因此寻找可靠的早期检测指标有着重要意义。

D-D 主要由纤维蛋白原向纤维蛋白转变中产生,通过检测 D-D 可以反映机体的纤溶状态;与 PLT、APTT 检测相比,D-D 临床诊断价值更高。姜志凤等^[8]研究发现,DIC 诊断中,D-D 特异度为 96%,阳性预测率为 97%,阳性诊断率为 98%,因此 D-D 是 pre-DIC 诊断的理想指标之一。盛伟松^[9]在对新生儿硬肿症血浆 D-D 检测时发现,随着疾病的进展,D-D 水平呈明显升高趋势,表明硬肿症患儿体内纤溶和凝血系统被激活,D-D 可以作为临床治疗的参考指标。凝血酶-抗凝血酶复合物是凝血酶与抗凝血酶Ⅲ形成的复合物,在体内维持抗凝和凝血的平衡;当 TAT 升高,则表明凝血酶形成过多,血液呈高凝状态。Seo 等^[10]发现,在 DIC 早期阶段 TAT 就明显升高,其诊断 DIC 的阳性率为 89.5%,因此可以作为早期诊断 DIC 的理想指标。在 DIC 发展中 TAT 保持较高水平,提示体内抗凝血酶被消耗和凝血酶生成。FDP 是纤溶酶激活后,将纤维蛋白原或纤维蛋白降解所产生的产物总称;血浆 FDP 上升代表体内有纤溶亢进的状态。但是由于 FDP 操作复杂,检测中可能存在人为因素干扰,临床检测假阳性较高。宋丽等^[11]证实,FDP 对 DIC 检测具有较高的敏感性,但是特异性不高,因此临床上常用作 DIC 诊断的参考指标。

在本研究中危重患儿血浆 D-D、TAT、FDP 水平明显升高,提示这 3 种指标可以作为 pre-DIC 早期诊断的依据;随着肝素治疗后,患儿血浆 D-D、TAT、FDP 水平均降低至正常水平以内,说明 D-D、TAT、FDP 水平随着疾病的好转而逐渐恢复正常;这与吴跃进等^[12]报道结论一致。进一步研究证实血浆 D-D、TAT、FDP 水平与危重病例评分呈明显负相关关系,这提示危重患儿血液可能处于高凝状态,通过检测 D-D、TAT、FDP 水平可以作为临床药物干预治疗的参考。另外,这 3 种指标单独检测的特异性和敏感性不高,但是联合检测后可以明显提高临床诊断率;因此 D-D、TAT、FDP 检测可以作为 DIC 早期诊断的方法之一。

综上所述,通过检测血浆 D-D、TAT、FDP 水平,可以提高 pre-DIC 诊断率,并能够为干预治疗提供参考,值得临床推广。

参考文献

[1] Windsperger K,Lehner R. The fibrinogen/CRP ratio as a new parameter for the diagnosis of disseminated intravascular coagulation in patients with HELLP syndrome and as a predictive factor for neonatal outcome[J]. Am J Obstet Gynecol,2013,208(2):118,e1-e7.

[2] 王岩,苏萍. 新生儿弥散性血管内凝血的早期诊断及治疗进展[J]. 中国新生儿科杂志,2009,24(4):247-250.

[3] Hatada T,Wada H,Kawasugi K,et al. Analysis of the cutoff values in fibrin-related markers for the diagnosis of overt DIC. [J]. Clin Appl Thromb Hemost,2012,18(5):495-500.

[4] 徐澄澄,付向宁. 低分子肝素干预对普胸(下转第 18 页)

μmol/L。

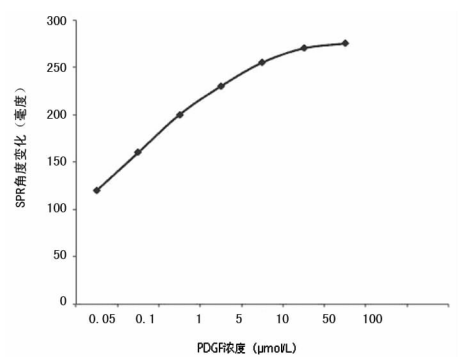


图 1 不同浓度 PDGF 的 SPR 传感器检测结果

2.3 纳米金适配子生物芯片的再生性能 因此根据前期再生条件的摸索,本研究依据传感器检测信号数值的大小来确定较为合适的 NaOH 溶液的浓度,当样品浓度为 3×10^7 CFU/mL 时采用 7 μL 浓度为 1.5 mmol/L NaOH 溶液进行再生,PDGF 与适配体的解离效果最好,再生后 SPR 折射角变化值基本恢复到上一次检测前的基线。再生后的 SPR 折射角变化值与进样检测前检测基线的差值保持在 ± 25 RU 以下,该芯片可在此条件和要求下重复使用 40 次以上。

3 讨 论

本研究采用了核酸适配体代替传统的抗体与蛋白质结合,并结合高灵敏度的 AuNPs 信号放大技术,成功构建了对 PDGF 实时在线检测的 SPR 生物传感器。SPR 生物传感器方法与传统检测方法相比使用便捷、检测速度快,同时也可连续检测多个样品,检测限可达到目前通用的检测要求,并且通过 NaOH 溶液再生可重复利用芯片 40 次以上,极大地降低了检测成本。

为了提高现有 SPR 生物传感器的检测灵敏度,降低检测限,将纳米技术与 SPR 生物传感器相结合,利用 AuNPs 颗粒生物亲和性好、表面积大、可用于放大信号的特点,将 AuNPs 颗粒固定于生物芯片表面,用于结合更多的核酸适配体,极大地提高了 SPR 生物传感器的灵敏度与检测限。实验结果表

明,该方法检测下限低,线性范围宽,灵敏度高。因此该项技术在蛋白质检测、疾病诊断、发现新药等方面具有非常大的应用价值。

参考文献

[1] 付健,罗文军,孙建明,等. 血小板衍生生长因子 CC 在大鼠静脉血栓溶解过程中的表达及其意义[J]. 解放军医学杂志,2013,38(2):120-124.

[2] 黄雯,朱莹. PDGF 及其受体与肝纤维化的相关性[J]. 世界华人消化杂志,2013,21(9):773-778.

[3] 李晓佩,杨良嵘,黄昆,等. 核酸适配体在生化分离及检测领域中的研究进展[J]. 化工学报,2013,64(1):233-242.

[4] Baratellaa D, Magroa M, Sinigagliaa G, et al. A glucose biosensor based on surface active maghemite nanoparticles[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2013, 45(1): 13-18.

[5] Olaru A, Gheorghiu M, David S, et al. Quality assessment of SPR sensor chips; case study on L1 chips[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2013, 45(1): 77-81.

[6] Situ C, Crooks SRH, Baxterb AG, et al. On-line detection of sulfamethazine and sulfadiazine in porcine bile using a multi-channel high-throughput SPR biosensor[J]. Analytica Chimica Acta, 2002, 473(1): 143-149.

[7] Chen Z, Huang Y, Li X, et al. Colorimetric detection of potassium ions using aptamer-functionalized gold nanoparticles[J]. Anal Chim Acta, 2013, 787: 189-192.

[8] Tran DT, Knez K, Janssen KP, et al. Selection of aptamers against Ara h 1 protein for FO-SPR biosensing of peanut allergens in food matrices[J]. Biosens Bioelectron, 2013, 43(3): 245-251.

(收稿日期:2014-02-24 修回日期:2014-05-12)

(上接第 15 页)

外科患者术后凝血功能的影响[J]. 华中科技大学学报:医学版,2010,39(4):536-539.

[5] 王菲,胡风华,宋国维,等. 简化新生儿危重病例评分法的临床应用评价[J]. 中华急诊医学杂志,2011,20(5):469-472.

[6] 黄坚,曾雪,李成,等. 弥散性血管内凝血患者出凝血分子标志物的检测及其临床价值[J]. 中国老年学杂志,2013,33(15):3558-3559.

[7] Okamoto K, Wada H, Hatada T, et al. Frequency and hemostatic abnormalities in pre-DIC patients[J]. Thromb Res, 2010, 126(1): 74-78.

[8] 姜志凤,宗玮芳,徐叶,等. 不同妊娠期正常孕妇及产科早期 DIC 患者 PT、APTT、TT、FIB、D-D、FM 变化的探讨[J]. 检验医学,2011,26(2):111-113.

[9] 盛伟松. 低分子肝素治疗新生儿硬肿症的疗效观察[J]. 中华全科医学,2009,7(6):573-574.

[10] Seo JW, Kim HK, Kim JE, et al. Prognostic values of the factor Xa-activated clotting time and endogenous thrombin potential in patients suspected of having disseminated intravascular coagulation[J]. Thromb Res, 2009, 123(4): 565-572.

[11] 宋丽,张艳丽,栾斌,等. D-二聚体/FDP 比值在新生儿弥散性血管内凝血前期诊治中的意义[J]. 中国妇幼保健,2012,27(16):2525-2527.

[12] 吴跃进,王振海,冯玲玲,等. 足月窒息新生儿早期凝血功能及血小板参数的变化[J]. 中国临床实用医学,2009,3(10):36-38.

(收稿日期:2014-04-27 修回日期:2014-10-02)