DOI: 10.16016/j.1000-5404.1998.05.034

风心病二尖瓣狭窄血栓前状态的初探

Role of prethrombotic state in mitral stenosis of rheumatic heart disease

王敏中* 张海勇** 梁大强*** (第三军医大学附属西南医院心血管内科) 重庆, 400038

提 要 目的: 初步探讨风心病二尖瓣狭窄血栓栓塞发病机制之一——血栓前状态(PTS)。方法: 通过检测风心病二尖瓣狭窄病人止血系统的多项指标,反映内皮损伤(vWF)、血小板激活(GMP-140)、凝血酶产生(FPA)和纤溶状态(D-D)等生化标志物的血浆水平,证实 PTS的存在并探讨其在血栓栓塞过程中的作用。结果: vWF GMP-140 FPA和 D-D血浆浓度均明显高于正常对照组(134.75%± 25.78%, 12.08± 3.89 ng/ml 10.50± 5.44 ng/ml 0.46± 0.15 mg/ml, P均 < 0.01)。结论: 风心病二尖瓣狭窄患者存在血栓栓塞的基础—— PTS,且合并心房纤颤的患者,止血系统异常尤为显著,且 PTS与左心房内径或二尖瓣瓣口面积无关。

血栓栓塞是风心病二尖瓣狭窄(MS)的常见而严重的并发症。据统计,MS并发血栓栓塞的发生率约 20%,MS并发房颤时血栓栓塞的危险性较窦性心律时提高 3~ 7倍,故深入研究 MS血栓状态的发生机制,将有助于血栓栓塞的防治,改善患者的预后。本研究观察尚未发生血栓栓塞的 MS病人止血系统多项指标,旨在证实 MS血栓前状态的存在,并探讨其发生机制及防治措施。

1 材料与方法

1.1 临床资料

病例组: 男 8例,女 4例,平均年龄 42.54± 14.58岁。均经病史询问,体格检查及心脏超声检查,诊断为单纯中、重度风湿性心脏病 MS无心内附壁血栓及血栓栓塞病史,近期未使用抗凝及抗血小板药物,排除恶性肿瘤、器质性肝肾疾患、糖尿病、高脂血症、感染及风湿活动等。根据心律,分为 MS并房颤组(MS-AF组,5例)和 MS窦性心律组(MS-SR组,7例);根据二尖瓣瓣口面积(MVA)分为中度 MS(MVA> 1.0 cm^2组,7例)和重度 MS(MVA≤ 1.0 cm^2组,5例)。

正常对照组: 选择性别、年龄与病例组相匹配的健康人 15例,男 10例,女 5例;平均年龄 42.08± 11.24岁,均经病史询问、体格检查及常规辅助检查,排除器质性心、肝、肾疾患及高脂血症等。

1.2 研究方法

1.2.1 仪器 ①美国 Acuson. 128 xp/10彩色多普勒超声诊断仪。检测二尖瓣口面积 MVA 左房前后径 LAD,并仔细探查左房,尤其是左心耳有无附壁血栓。② DG 3022A型酶联免疫检测仪。

1.2.2 血液标本采集和检测 均于上午空腹状态下,平卧位,由周围静脉采血,检测指标包括:① 血小板计数(BPC)。② 血浆纤维蛋白肽 A(FPA)采用 ELISA法测定(法国产试剂盒由上海贝特生物制品公司提供),特殊抗凝溶液收集标本,Bentonite处理。抗凝剂成份包括肝素、枸橼酸、特殊蛋白抑制物和叠氮化钠。③ 血浆假血友病因子抗原(vWF: Ag)和血浆 D-二聚体(D-D)均以 0.13 mol枸橼酸、钠抗凝,采用 ELISA法测定(试剂盒由福建太阳生物制品公司提供)。④ 血浆颗粒膜蛋白-140(GMP-140) 2% EDTA抗凝,采用 ELISA法测定(试剂盒由福建太阳生物制品公司提供)。⑤ 红细胞比积(HCT)、红细胞沉降率(ESR)。

血标本均以 1: 9抗凝,3 000 r/min离心 10 min收集上层液,血浆标本置于 -70℃冰箱储存,1次检测。

1.3 统计方法

采用第四军医大学统计教研室线性拟合统计软件 SPLM 23 计量资料以 $\bar{x}\pm s$表示,组间比较采用方差分析,相关分析为线性相关分析。

2 结果

2.1 病例组与对照组止血系统指标比较

病例组血浆 FPA水平明显超过正常对照组,反映血小板活化的 GMP-140,反映血管壁损伤的 vWF: Ag,反映纤溶指标的 D-D及红细胞比积均明显超过正常对照组(P < 0.01或 P < 0.05); BPC及 ESR变化不明显,见表 1。

2.2 病例组的窦性心率(MS-SR)或心房纤颤(MS-AF)两组止血系统指标改变

MS-AF组的 FPA vWF: Ag HCT均较 MS-SR组明显升高,而 BPC GMP-140及 D-D则变化不明显,见表 2。

2.3 止血系统各指标变化

FPA在 MS-SR组、MS-AF组与正常对照组差异均显著

* 王敏中,男,56岁,教授
** 总后基金班学员,解放军 536医院内科 *** 附属西南医院血液科

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

($P < 0.01$), GMP-140. MS-AF组仅与正常对照组差异明显 ($P < 0.05$), vWF: Ag正常对照与 MS-AF, MS-SR与 MS-AF差异明显 ($P < 0.05$), D-D则 MS-AF与正常对照组差异显著 ($P < 0.01$)。BPC与 ESR在病例组及病例分组中与正常对照组无变化。左心房内径、二尖瓣瓣口面积与血栓前状态(各项止血系统指标)无明确线性相关。

表 1 病例组与对照组止血系统指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

检测指标	对照组 ($n = 15$)	病例组 ($n = 12$)	P值
BPC(× 10^9/L)	153± 24	158± 28	> 0.05
FPA(ρB/ng·ml^{-1})	2.58± 1.21	10.50± 5.44	< 0.01
GMP-140(ρB/ng·ml^{-1})	10.31± 2.28	12.08± 3.89	< 0.05
vWF: Ag(%)	98.67± 22.86	134.75± 25.78	< 0.01
D-D(ρB/g·L^{-1})	0.28± 0.09	0.46± 0.15	< 0.01
HCT(%)	37.29± 3.3	41.4± 4.4	< 0.01
ESR(mm/h)	13.9± 5.8	14.9± 8.7	> 0.05

表 2 MS-SR组和 MS-AF组止血系统指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

检测指标	MS-SR组 ($n = 7$)	MS-AF组 ($n = 5$)	P值
BPC(× 10^9/L)	155± 34	164± 22	> 0.05
FPA(ρB/ng·ml^{-1})	7.84± 5.59	14.22± 2.18	< 0.01
GMP-140(ρB/ng·ml^{-1})	13.28± 2.91	11.58± 2.37	> 0.05
vWF: Ag(%)	133± 22.88	137.2± 32.08	< 0.05
D-D(ρB/g·L^{-1})	0.48± 0.19	0.42± 0.08	> 0.05
HCT(%)	39.80± 4.00	43.5± 3.64	< 0.01
ESR(mm/h)	13.80± 5.07	16.1± 7.4	> 0.05

3 讨论

关于 MS病人发生血栓栓塞之前是否存在血栓前状态及其发生机制、影响因素等的研究,目前国内报道较少[1]。本研究发现在血栓形成的多个环节上,MS病人均有异常,从而证实 MS病人存在血栓前状态。

3.1 MS病人止血系统的改变

本研究发现 MS患者 GMP-140增加,与 Kunishima[2]研究结论一致,表明: MS患者不仅存在血小板激活增加,而且其破坏亦增加。MS病人血小板激活的确切机制尚不清楚,推测可能与下列因素有关:① 反复风湿活动导致心内膜及血管内皮损伤,暴露内皮下组织。② 狭窄的二尖瓣附近血流紊乱形成湍流。

vWF是一种多聚糖蛋白,参与凝血和血小板粘附过程,是反映血管壁损伤的特异指标之一。本研究发现 MS患者 vWF: Ag显著增高,该蛋白质对于血小板血栓的形成是必需的。据国外报道: vWF抗原浓度在 MS患者的外周血中明显增高并且其升高与肺血管阻力明显增加相关,表明 vWF在肺循环合成增加,使 vWF: Ag水平明显高于正常受试者。

纤维蛋白原(Fg)转变为纤维蛋白(Fb)的过程中,凝血酶水解 Fb分子中 α(A)的 Arg(16)-Gly(17)肽键,释放出 FPA,血浆 FPA的水平是反映凝血酶活性的标志,由表 1看出 MS病人,外周血 FPA水平明显超过正常对照组。

D-D是可溶性纤维蛋白单体复合物(SFMC),经因子Ⅷa和 Ca^{2+} 的作用后,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。纤溶酶对交联后的纤维蛋白降解,可产生多种降解产物, D-二聚体是其之一,它由 D(Aα)D(Bβ)和 D(γ)组成,MW为 62× 10^3 u[3]。血浆 D-二聚体水平反映纤溶状态。本结果显示该分子标志物在 MS患者外周血中明显高于对照组。

血液流变学是反映血栓前状态的指标之一[5]。本研究发现 MS患者 HCT显著高于正常对照组,部分说明 MS血栓前状态具有血液流变学基础。

3.2 房颤对血栓前状态的影响

现已证实,房颤是 MS并发血栓栓塞的重要危险因素[6]。MS一旦发生房颤,则心房丧失收缩功能,使原已存在的左房血液淤滞更加明显,而血液淤滞及狭窄二尖瓣附近的湍流均可促发血栓形成[3]。本研究发现,与 MS-SR组相比, MS-AF组 vWF: Ag、HCT显著增高,说明合并房颤的 MS病人止血系统异常更突出,这也可能是 MS并房颤者血栓栓塞发生率高于窦性心律病人的原因之一。

3.3 MS严重程度对血栓前状态的影响

经食道超声心动图观察到的反映血栓前状态的 SEC,与房颤、MS严重程度、无明显二尖瓣关闭不全及左心房内径显著相关。相关分析显示:血栓前状态与 MS二尖瓣瓣口面积、左心房内径无关,与 Yamamoto[4]的结论一致,有待于进一步研究证实。

3.4 MS血栓栓塞并发症的预防

以往临床研究显示,华发令等抗凝剂可有效预防发生血栓栓塞,但抗血小板药物的预防效果尚无定论[6]。本研究发现 MS病人,尤其合并房颤者,在止血系统多个环节存在异常。故我们认为预防血栓栓塞应从多方面着手,如应用抗血小板药物、抗凝剂,避免过度使用利尿剂,以防血液浓缩增加血液粘度;积极纠治房颤,以改善血栓前状态,改善患者预后。

关键词 二尖瓣狭窄;血栓前状态;止血系统
中图法分类号 R541.2

参考文献

1 王延章,蒲富端,杨合碧,等.风心病二尖瓣狭窄血高凝状态的初步观察.四川医学, 1992, 13(6): 360
2 Kunishima S, Hattori M, Kobuyashi S, *et al*. Activation and destruction of platelets in patients with rheumatic heart disease. Eur Heart J, 1994, 15(3): 335
3 王鸿利.分子标志物在诊断血栓前状态的意义.国外医学:输学及血液分册, 1995, 18(2): 6

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

4 Yamamoto K, Ikeda U, Seino Y, *et al*. Coagulation activity is increased in the left atrium of patients with mitral stenosis. J Am Coll cardiol, 1995, 25(1): 107
5 范家骏,赵国欣 主编.血液流变学基础与临床.西安: 陕西科技出版社, 1996. 85~89
6 温沁竹,曹林生,冯义柏,等.经皮二尖瓣扩张术对二尖瓣狭窄患者血凝系统的影响, 1996, 24(6): 437

(收稿: 1997-11-18;修回: 1998-05-04)
(编辑　汪勤俭)

内源性一氧化碳合成酶-1在体内分布状态

The distribution state of endogenous carbon monoxide synthetas-1 *in vivo*

喻　陆*　何作云　(第三军医大学附属新桥医院心血管内科) 重庆, 400037

提　要　目的: 研究内源性一氧化碳合成酶即血红素氧化酶-1在心脏,肺脏,肝脏,肾脏,血管中的分布状态。方法: 采用免疫组化法。结果: 在上述脏器不同部位有内源性一氧化碳合成酶(血红素氧化酶-1)的分布。结论: 血红素氧化酶-1主要分布于各脏器与血液相邻的内皮细胞中及血管内皮细胞,部分心肌细胞,肺泡壁上皮及肾盂间质。

内源性一氧化碳是小分子生物活性气体,既往研究仅局限于它的生物学毒性。近年来研究发现其很可能为一种新型的信使分子[1]。为研究内源性一氧化碳的作用,产生内源性一氧化碳的合成酶血红素氧化酶-1的体内分布研究就显得非常重要。我们采用免疫组化技术研究血红素氧化酶-1在兔心脏,肺脏,肝脏,肾脏及主动脉中的分布状态,以便为以后研究其在生理及病理生理中作用打下基础。

1　材料与方法

健康雄性新西兰大白兔,体重 0.5~1.0 kg, 60只。血红素氧化酶-1抗体由新加坡国立大学龚屏博士惠赠。免疫组化试剂盒购买于北京中山生物技术有限公司。

将兔钝性处死,迅速取兔心脏、主动脉、肺脏、肝脏及肾脏固定于 10%的福尔马林中 24 h,取出后常规酒精脱水,进行石蜡包埋。① 石蜡切片,厚度为 7μm,常规脱蜡至水。② 3%的过氧化氢孵育 5 min,消除内源性氧化酶的活性。③ 冲洗后加 5%的正常羊血清封闭,室温 10 min。④ 倒去血清,加入 1/250稀释的血红素氧化酶-1的抗体 4度孵育过夜。⑤ PBS冲洗后,滴加生物素标记的二抗(1% GBSA+ PBS稀释) 1/300稀释, 37℃孵育 30 min。⑥ PBS冲洗后加入辣根酶标记的链霉卵白素(PBS稀释) 1/300, 37℃孵育 30 min。⑦ PBS冲洗后加入 DAB显色剂显色。⑧ 充分冲洗后复染,封片。

2　结果

血红素氧化酶-1在心脏、肺脏、肾脏及主动脉的分布状态。

心脏: 血红素氧化酶-1分布于冠状动脉内皮细胞、心内膜内皮细胞、心肌间质毛细血管细胞,部分心肌细胞,见图 1, 2

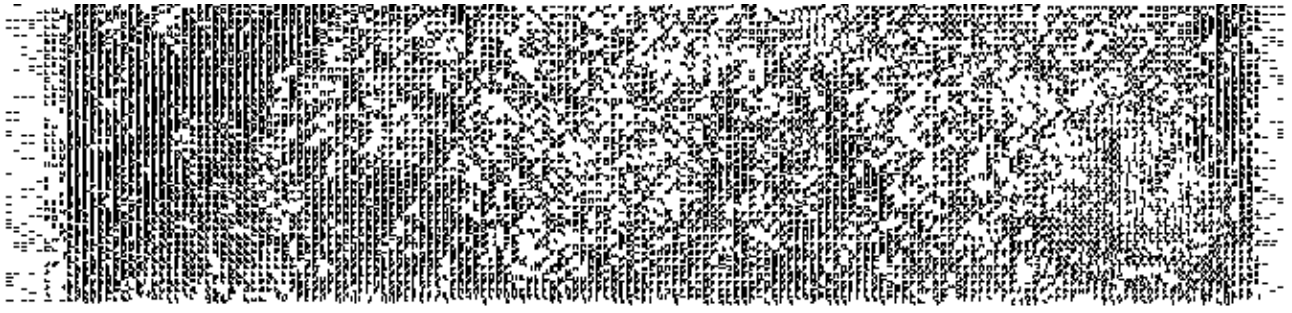


图 1　血红素氧化酶-1分布于冠状动脉内皮细胞　(免疫组化染色　× 200)
图 2　血红素氧化酶-1　(免疫组化阴性对照　× 200)

* 喻　陆,男, 34岁,主治医师,讲师,博士研究生

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net