

• 论著 •

慢性高原病患者血浆组织因子微粒和 P- 选择素与凝血功能异常的关系研究

王卓亚^{1, 2}, 杨发满^{1*}, 周红梅¹, 刘冀¹, 汪元浚¹, 李晓平¹, 敬泽慧¹



扫描二维码查看
原文 + 培训视频

【摘要】 背景 大量研究表明慢性高原病 (CMS) 患者凝血功能异常, 其机制目前了解有限, 本研究旨在通过寻找新的指标对 CMS 凝血功能异常给予评估和判断。**目的** 探究 CMS 患者血浆组织因子微粒 (TF-MPs)、P- 选择素与凝血功能异常的关系。**方法** 选取 2016 年 12 月—2018 年 9 月入住青海大学附属医院的 CMS 并深静脉血栓患者 20 例为 CMS 并血栓组 (CMS+T 组)、CMS 患者 40 例为 CMS 组。另选取同期于本院进行健康体检的高原体检健康者 28 例为高原健康对照组 (GY 组), 于运城市中心医院的平原体检健康者 40 例为平原健康对照组 (PY 组)。研究对象均为汉族男性。常规检测研究对象血红蛋白 (Hb)、血小板计数 (PLT)、凝血酶原时间 (PT)、部分凝血酶原时间 (APTT)、D- 二聚体、TF-MPs、P- 选择素。比较 PY 组、GY 组, CMS+T 组、CMS 组、GY 组 Hb、PLT、凝血功能 (PT、APTT、D- 二聚体)、TF-MPs、P- 选择素, 分析 CMS 患者 TF-MPs、P- 选择素、PLT、D- 二聚体间的相关性及患者发生深静脉血栓的影响因素, 并探究 D- 二聚体、TF-MPs、P- 选择素预测 CMS 患者发生深静脉血栓的价值。**结果** GY 组 Hb、P- 选择素高于 PY 组 ($P<0.05$); CMS+T 组、CMS 组 Hb 高于 GY 组, PLT 低于 GY 组, PT、APTT 长于 GY 组 ($P<0.05$); CMS+T 组 D- 二聚体水平高于 CMS 组、GY 组 ($P<0.05$); CMS 组、CMS+T 组 TF-MPs、P- 选择素高于 GY 组 ($P<0.05$); CMS+T 组 TF-MPs、P- 选择素高于 CMS 组 ($P<0.05$)。CMS 患者 TF-MPs 与 P- 选择素呈正相关 ($r=0.589$, $P<0.001$), 与 PLT 呈负相关 ($r=-0.451$, $P=0.008$); P- 选择素与 PLT 呈负相关 ($r=-0.442$, $P<0.001$)。多因素 Logistic 回归分析结果显示, PT [$OR=0.138$, $95\%CI(0.026, 0.735)$, $P=0.020$]、TF-MPs [$OR=8.067$, $95\%CI(1.660, 39.200)$, $P=0.010$]、P- 选择素 [$OR=8.236$, $95\%CI(1.381, 49.104)$, $P=0.021$] 是 CMS 患者发生深静脉血栓的影响因素。D- 二聚体、TF-MPs、P- 选择素预测 CMS 患者发生深静脉血栓的受试者工作特征 (ROC) 曲线下面积分别为 0.939、0.727、0.732, 灵敏度分别为 85.0%、45.0%、70.0%, 特异度分别为 92.5%、87.5%、75.0%。**结论** 长期居住在高原可引起 Hb 升高和 PLT 降低, 且 CMS 患者 TF-MPs、P- 选择素与 PLT 降低、深静脉血栓形成有一定关系, 同时 PT、TF-MPs、P- 选择素是 CMS 患者发生深静脉血栓的影响因素, D- 二聚体、TF-MPs、P- 选择素预测 CMS 患者发生深静脉血栓有一定价值。

【关键词】 高原病; 凝血功能; P 选择素; 静脉血栓形成; 凝血酶; 凝血酶原时间

【中图分类号】 R 594.3 **【文献标识码】** A DOI: 10.12114/j.issn.1007-9572.2020.00.238

王卓亚, 杨发满, 周红梅, 等. 慢性高原病患者血浆组织因子微粒和 P- 选择素与凝血功能异常的关系研究 [J]. 中国全科医学, 2020, 23 (27): 3416-3421. [www.chinagp.net]

WANG Z Y, YANG F M, ZHOU H M, et al. Relationship of abnormal coagulation with plasma TF-MPs and P-selectin in patients with chronic mountain sickness [J]. Chinese General Practice, 2020, 23 (27): 3416-3421.

Relationship of Abnormal Coagulation with Plasma TF-MPs and P-selectin in Patients with Chronic Mountain Sickness

WANG Zhuoya^{1, 2}, YANG Faman^{1*}, ZHOU Hongmei¹, LIU Ji¹, WANG Yuanjun¹, LI Xiaoping¹, JING Zehui¹

1.Department of General Medicine, Qinghai University Affiliated Hospital, Xining 810001, China

2.Research Center for High Altitude Medicine, Qinghai University, Xining 810001, China

*Corresponding author: YANG Faman, Chief physician; E-mail: 13997296043@163.com

【Abstract】 Background Many studies have shown that patients with chronic mountain sickness (CMS) have abnormal coagulation and the mechanism is still unclear. The purpose of this study was to find out new indicators to evaluate the status of abnormal coagulation. **Objective** To explore the relationship of abnormal coagulation with plasma TF-MPs and P-selectin in CMS patients. **Methods** Participants were Chinese Han males who were enrolled during December 2016 to September

基金项目: 青海省卫生计生委青年课题 (2016-wjqn-02)

1.810001 青海省西宁市, 青海大学附属医院全科医学科 2.810001 青海省西宁市, 青海大学高原医学研究中心

*通信作者: 杨发满, 主任医师; E-mail: 13997296043@163.com

数字出版日期: 2020-03-13

2018, including 20 inpatients with CMS and deep vein thrombosis (CMS+T group), 40 inpatients with CMS (CMS group), and 28 physical examinees from plateau regions (plateau control group) from Qinghai University Affiliated Hospital, as well as 40 physical examinees from plain regions from Yuncheng Central Hospital (plain control group). Hemoglobin (Hb), platelet count (PLT), coagulation parameters [prothrombin time (PT), partial prothrombin time (APTT), and D-dimer], TF-MPs and P-selectin were routinely detected and compared in all groups. Correlations of PLT, and D-dimer with F-MPs and P-selectin were analyzed. The factors associated with deep vein thrombosis in CMS were identified. Predictive value of D-dimer, TF-MPs and P-selectin for deep vein thrombosis in CMS were explored. **Results** Compared with plateau control group, plain control group had lower mean levels of Hb and P-selectin, CMS+T and CMS groups had higher mean levels of Hb, lower mean level of PLT, and longer mean PT and APTT ($P<0.05$). The mean D-dimer level in CMS+T group was higher than that in CMS group and plateau control group ($P<0.05$). The mean TF-MPs and P-selectin levels in CMS and CMS+T groups were higher than those in plateau control group ($P<0.05$). And they were also higher in CMS+T group than those in CMS group ($P<0.05$). In CMS patients, TF-MPs was positively correlated with P-selectin ($r=0.589, P<0.001$), and was negatively correlated with PLT ($r=-0.451, P=0.008$). P-selectin was negatively correlated with PLT ($r=-0.442, P<0.001$). Multivariate Logistic regression analysis PT [OR=0.138, 95%CI (0.026, 0.735), $P=0.020$], TF-MPs [OR=8.067, 95%CI (1.660, 39.200), $P=0.010$] and P-selectin [OR=8.236, 95%CI (1.381, 49.104), $P=0.021$] were associated with deep vein thrombosis in CMS patients. The area under ROC curve of D-dimer, TF-MPs and P-selectin for predicting deep vein thrombosis in CMS patients was 0.939, 0.727 and 0.732, respectively, the sensitivity was 85.0%, 45.0% and 70.0%, and the specificity was 92.5%, 87.5% and 75.0%, respectively. **Conclusion** Long-term high altitude exposure may lead to elevated Hb and decreased PLT. In CMS patients, TF-MPs and P-selectin are associated with decreased PLT and deep vein thrombosis. PT, TF-MPs and P-selectin are the influencing factors of deep vein thrombosis. And D-dimer, TF-MPs, and P-selectin all have certain value in predicting deep vein thrombosis.

【Key words】 Altitude sickness; Coagulation; P-selectin; Venous thrombosis; Thrombin; Prothrombin time

慢性高原病(CMS)患者由于长期高原缺氧,红细胞代偿增加,血液黏稠呈高凝状态^[1]。组织因子(TF)作为体内外源性凝血途径的启动因子,可以存在于细胞微粒表面形成组织因子微粒(TF-MPs),其表面的磷脂酰丝氨酸(PS)和TF具有很强的促凝活性。研究发现P-选择素是血小板活化的标志物^[2],P-选择素可能是深静脉血栓的一个重要危险因素^[3]。本研究旨在了解CMS凝血功能异常和血浆TF-MPs、P-选择素的相关性,为临床提供更多资料。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2016年12月—2018年9月入住青海大学附属医院的CMS并深静脉血栓患者20例为CMS并血栓组(CMS+T组)、CMS患者40例为CMS组。CMS+T组纳入标准:CMS标准符合第六届国际高原医学和低氧生理学术大会颁布的慢性高原病青海诊断标准^[4];世居或移居(时间 ≥ 2 年)海拔2 500 m以上的汉族男性患者;下肢静脉CT血管造影(CTA)确诊为深静脉血栓。CMS+T组排除标准:肺动脉CTA确诊为肺栓塞;真性红细胞增多症;骨髓增殖性疾病;由于肺部疾患及睡眠障碍导致的继发性红细胞增多症;近3个月使用影响凝血功能及血小板功能药物;心功能不全;肝、肾功能障碍;自身免疫性疾病等炎性疾病;合并有其他慢性疾病如高血压、糖尿病;恶性肿瘤者。CMS组纳入标准仅为CMS+T组纳入标准的第一项和第二项。

本研究价值:

(1) 本研究发现了慢性高原病患者血浆组织因子微粒(TF-MPs)和P-选择素与血栓形成有一定的相关性,并且为慢性高原病患者血栓形成的独立危险因素,为临床预防和评估血栓形成找到了新的观测指标。

(2) 本研究发现TF-MPs和P-选择素与慢性高原病的血栓形成有关,但未进一步发现其机制,仅为相关性研究,希望在以后的研究中进一步探索。

CMS组排除标准:深静脉血栓;余同CMS+T组排除标准。CMS+T组患者平均年龄(46.0 ± 8.6)岁,平均居住海拔($3\,216.5 \pm 332.8$)m;CMS组患者平均年龄(45.6 ± 9.3)岁,平均居住海拔($3\,387.5 \pm 413.1$)m。

另选取同期于本院进行健康体检的高原体检健康者28例为高原健康对照组(GY组),于运城市中心医院的平原体检健康者40例为平原健康对照组(PY组)。GY组纳入标准:世居或移居(时间 ≥ 2 年)海拔2 500 m以上的健康汉族男性。PY组纳入标准:世居或移居(时间 ≥ 2 年)海拔500 m以下的健康汉族男性。GY组人群平均年龄(43.8 ± 11.1)岁,平均居住海拔($3\,228.5 \pm 314.6$)m;PY组人群平均年龄(46.0 ± 10.3)岁,平均居住海拔(419.4 ± 282.8)m。

4组年龄比较,差异无统计学意义($F=0.146$,

$P=0.932$) ; 4 组居住海拔比较, 差异有统计学意义 ($F=590.736, P<0.001$) ; 其中 CMS+T 组、CMS 组、GY 组居住海拔均高于 PY 组, 差异均有统计学意义 ($P<0.001$) 。

本研究经青海大学附属医院伦理委员会通过, 所有患者及健康者已签署书面同意书。

1.2 血常规及凝血指标的测定 抽取所有受检者治疗前空腹静脉血 2 ml 置于 EDTA 管中, 应用全自动血细胞分析仪 SYSMEXXE-2100 测定血红蛋白 (Hb)、血小板计数 (PLT) ; 抽取 GY 组和 PY 组空腹静脉血 2 ml、CMS 组和 CMS+T 组空腹静脉血 3.6 ml 置于柠檬酸钠管中, 采用全自动凝血功能仪 SYSMEX-CA7000 测定凝血酶原时间 (PT)、部分凝血酶原时间 (APTT)、D-二聚体, 具体操作过程按仪器操作规范和配套试剂说明书进行。

1.3 TF-MPs 测定 抽取受检者治疗前空腹静脉血 5 ml, 置于 EP 管中, 以 $160 \times g$ 离心 20 min, 获取富血小板血浆, 吸取上层 2/3 血浆, 以 $1\,000 \times g$ 离心 20 min, 取上清获得乏血小板血浆。将异硫氰酸荧光素 (FITC) 标记的抗 Annexin V 抗体 (美国 BD 公司) 和藻红蛋白 (PE) 标记的抗 CD142 抗体 (美国 BioLegend 公司) 或等量的同型对照抗体加入 50 μ l 乏血小板血浆中, 室温孵育 30 min, 随后加入 1 ml 磷酸盐缓冲溶液 (PBS) 后采用流式细胞仪 (美国 BD 公司 -FACSCanto II) 检测, 标本上机前用 0.1~1.0 μ m 的标准进行前角设门, 门内收集的微粒进行 FITC 和 PE 荧光强度分析。TF-MPs 定义为直径 0.1~1.0 μ m 且 CD142⁺/Annexin V⁺ 的微粒。

1.4 P-选择素测定 抽取所有受检者治疗前空腹静脉血 5 ml, 以 $1\,000 \times g$ 离心 10 min, 取血浆放于 EP 管中, 用 P-选择素试剂盒 (上海远慕生物科技有限公司) 进行测定。

1.5 观察指标 比较 PY 组、GY 组, CMS+T 组、CMS 组、GY 组 Hb、PLT、凝血功能 (PT、APTT、D-二聚体)、TF-MPs、P-选择素, 分析 CMS 患者 TF-MPs、P-选择素、D-二聚体、PLT 间的相关性及患者发生深静脉血栓的影响因素, 并探究 D-二聚体、TF-MPs、P-选择素预测 CMS 患者发生深静脉血栓的价值。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计学软件进行数据

分析。符合正态分布的计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 SNK- q 检验, 两组间比较采用成组 t 检验; 两个变量间的相关性分析采用 Pearson 相关分析; 影响因素分析采用多因素 Logistic 回归分析; 绘制 D-二聚体、TF-MPs、P-选择素预测 CMS 患者发生深静脉血栓的受试者工作特征 (ROC) 曲线, 并计算 ROC 曲线下面积 (AUC)、灵敏度、特异度等。双侧检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 PY 组、GY 组 Hb、PLT、凝血功能、TF-MPs、P-选择素比较 GY 组 Hb、P-选择素高于 PY 组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$) ; 两组 PLT、PT、APTT、D-二聚体、TF-MPs 比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$, 见表 1) 。

2.2 CMS+T 组、CMS 组、GY 组 Hb、PLT、凝血功能、TF-MPs、P-选择素比较 CMS+T 组、CMS 组、GY 组 Hb、PLT、PT、APTT、D-二聚体、TF-MPs、P-选择素比较, 差异有统计学意义 ($P<0.05$) ; 其中 CMS+T 组、CMS 组 Hb 高于 GY 组, PLT 低于 GY 组, PT、APTT 长于 GY 组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$) ; CMS+T 组 D-二聚体水平高于 CMS 组、GY 组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$) ; CMS 组、CMS+T 组 TF-MPs、P-选择素高于 GY 组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$) ; CMS+T 组 TF-MPs、P-选择素高于 CMS 组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$) ; 余指标组间两两比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$, 见表 2) 。

2.3 CMS 患者 TF-MPs、P-选择素、PLT、D-二聚体相关性分析 CMS 患者 TF-MPs、P-选择素、PLT、D-二聚体分别为 (1.41 ± 0.45) %、(7.74 ± 2.68) ng/L、(120.0 ± 51.5) $\times 10^9$ /L、(2.94 ± 1.93) mg/L, 其中 TF-MPs 与 P-选择素呈正相关 ($r=0.589, P<0.001$) , 与 PLT 呈负相关 ($r=-0.451, P=0.008$) , 与 D-二聚体无直线相关关系 ($r=0.228, P=0.080$) ; P-选择素与 PLT 呈负相关 ($r=-0.442, P<0.001$) , 与 D-二聚体无直线相关关系 ($r=0.070, P=0.560$) 。

2.4 CMS 患者发生深静脉血栓的影响因素分析 以 CMS 是否发生深静脉血栓为因变量 (赋值: 未发生 =0, 发生 =1) , 以 Hb、PLT、PT、APTT、TF-MPs、P-选择素为自变量 (赋值见表 3) , 进行多因素 Logistic 回

表 1 PY 组、GY 组 Hb、PLT、凝血功能、TF-MPs、P-选择素比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of Hb, PLT, coagulation function parameters, TF-MPs and P-selectin between PY and GY groups

组别	例数	Hb (g/L)	PLT ($\times 10^9$ /L)	PT (s)	APTT (s)	D-二聚体 (mg/L)	TF-MPs (%)	P-选择素 (ng/L)
PY 组	40	148.9 \pm 13.2	203.3 \pm 45.7	11.4 \pm 1.0	29.6 \pm 7.1	0.67 \pm 0.33	0.55 \pm 0.29	2.28 \pm 0.75
GY 组	28	163.7 \pm 17.7	179.0 \pm 56.6	11.4 \pm 0.8	29.8 \pm 3.8	0.70 \pm 0.27	0.64 \pm 0.23	2.81 \pm 1.17
t 值		3.950	-1.960	0.072	0.123	0.438	1.345	2.271
P 值		<0.001	0.054	0.943	0.903	0.663	0.183	0.026

注: Hb= 血红蛋白, PLT= 血小板计数, PT= 凝血酶原时间, APTT= 部分凝血酶原时间, TF-MPs= 组织因子微粒; PY 组 = 平原健康对照组, GY 组 = 高原健康对照组

归分析,结果显示,PT、TF-MPs、P-选择素是CMS患者发生深静脉血栓的影响因素($P<0.05$,见表4)。

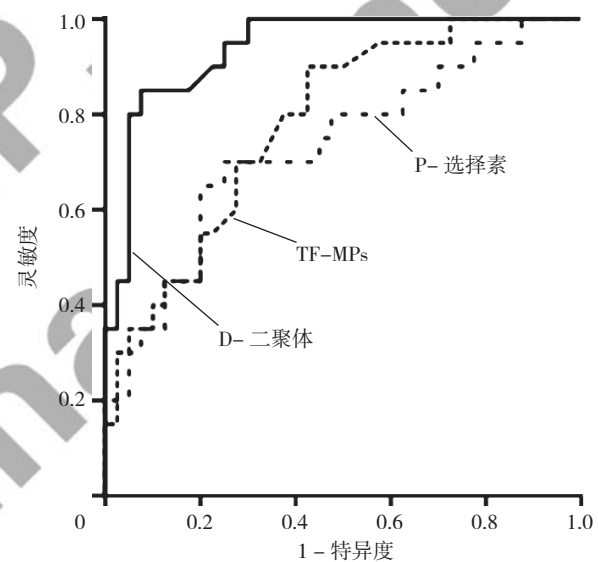
2.5 分析D-二聚体、TF-MPs、P-选择素预测CMS患者发生深静脉血栓的价值 绘制D-二聚体、TF-MPs、P-选择素预测CMS患者发生深静脉血栓的ROC曲线,结果显示,D-二聚体、TF-MPs、P-选择素预测CMS患者发生深静脉血栓的AUC分别为0.939、0.727、0.732,灵敏度分别为85.0%、45.0%、70.0%,特异度分别为92.5%、87.5%、75.0%(见图1、表5)。

3 讨论

微粒是一种直径为0.1~1.0 μm 的脂蛋白,为血小板、白细胞、上皮细胞和平滑肌细胞等在激活或凋亡过程中从细胞膜上脱落下来的片段,需要与直径 $>1.0 \mu\text{m}$ 的血小板和直径 $<0.1 \mu\text{m}$ 的外来杂质相鉴别^[5-6]。微粒在脂质双分子层中表达负电荷的PS,可为凝血过程提供必需的负离子脂质表面。TF是外源性凝血途径的启动因子,既往认为只有当血管壁的完整性遭到破坏时TF才暴露于循环血液,通过激活凝血级联反应发挥止血作用,但近来有研究表明TF不仅表达于各种组织表面和血管外膜,还存在于循环血液中^[7]。TF以微粒为

载体共同构成TF-MPs,其可与丝氨酸蛋白酶因子VII/VIIa结合形成双分子复合物,并在VIII因子的作用下激活X因子转变成Xa,使凝血酶原变成凝血酶,在血栓形成过程中发挥重要作用^[6-7]。

本研究发现,TF-MPs在GY组、CMS组、CMS+T组中依次升高,提示TF-MPs与CMS和CMS并深静脉血栓有一定的相关性。分析其机制可能与以下因素有关:CMS患者长期缺氧导致广泛内皮系统受损^[8],表现为血管内皮屏障作用减弱,信息传递及分泌能力下降,扩



注:TF-MPs=组织因子微粒

图1 D-二聚体、TF-MPs、P-选择素预测CMS患者发生深静脉血栓的ROC曲线

Figure 1 ROC curve of D-dimer, TF-MPs, and P-selectin for predicting deep vein thrombosis in CMS patients

表5 D-二聚体、TF-MPs、P-选择素预测CMS患者发生深静脉血栓的AUC、约登指数、最佳截断值、灵敏度、特异度

Table 5 AUC, Youden's index, optimal cutoff value, sensitivity and specificity of D-dimer, TF-MPs and P-selectin in predicting deep vein thrombosis in CMS patients

项目	AUC	P值	约登指数	最佳截断值	灵敏度(%)	特异度(%)
D-二聚体	0.939	0.001	0.775	2.13 mg/L	85.0	92.5
TF-MPs	0.727	0.004	0.325	1.78%	45.0	87.5
P-选择素	0.732	0.004	0.450	8.49 ng/L	70.0	75.0

注:AUC=受试者工作特征曲线下面积

表3 CMS患者发生深静脉血栓影响因素的多因素Logistic回归分析赋值表

Table 3 Assignment table of factors associated with deep vein thrombosis in CMS patients incorporated in the multivariate Logistic regression model

变量	赋值
Hb (g/L)	$<230.0=1, \geq 230.0=2$
PLT ($\times 10^9/L$)	$<110.0=1, \geq 110.0=2$
PT (s)	$<15.0=1, \geq 15.0=2$
APTT (s)	$<38.0=1, \geq 38.0=2$
TF-MPs (%)	$<1.50=1, \geq 1.50=2$
P-选择素 (ng/L)	$<7.00=1, \geq 7.00=2$

表4 CMS患者发生深静脉血栓影响因素的多因素Logistic回归分析

Table 4 Multivariate Logistic regression analysis of factors influencing deep vein thrombosis in CMS patients

变量	B	SE	Wald χ^2 值	P值	OR值	95%CI
Hb	-1.291	0.823	2.464	0.116	0.275	(0.055, 1.378)
PLT	-0.385	0.866	0.198	0.657	0.680	(0.125, 3.715)
PT	-1.979	0.852	5.391	0.020	0.138	(0.026, 0.735)
APTT	0.605	0.887	0.465	0.495	1.832	(0.322, 10.425)
TF-MPs	2.088	0.807	6.700	0.010	8.067	(1.660, 39.200)
P-选择素	2.108	0.911	5.357	0.021	8.236	(1.381, 49.104)

表2 CMS+T组、CMS组、GY组Hb、PLT、凝血功能、TF-MPs、P-选择素比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of Hb, PLT, coagulation function parameters, TF-MPs and P-selectin among CMS+T, CMS and GY groups

组别	例数	Hb (g/L)	PLT ($\times 10^9/L$)	PT (s)	APTT (s)	D-二聚体 (mg/L)	TF-MPs (%)	P-选择素 (ng/L)
GY组	28	163.7 \pm 7.8	182.5 \pm 54.7	11.4 \pm 0.8	29.8 \pm 3.8	0.73 \pm 0.27	0.64 \pm 0.23	2.81 \pm 1.17
CMS组	40	225.4 \pm 16.1 ^a	123.0 \pm 47.4 ^a	17.9 \pm 4.9 ^a	43.0 \pm 10.3 ^a	1.14 \pm 0.96	1.28 \pm 0.42 ^a	6.96 \pm 2.21 ^a
CMS+T组	20	221.5 \pm 11.5 ^a	114.2 \pm 59.6 ^a	15.3 \pm 4.4 ^a	41.0 \pm 11.1 ^a	6.55 \pm 4.28 ^{ab}	1.65 \pm 0.42 ^{ab}	9.30 \pm 2.91 ^{ab}
F值		315.300	13.628	22.862	18.942	19.771	46.956	58.972
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:CMS=慢性高原病;CMS+T组=CMS并血栓组;与GY组比较,^a $P<0.05$;与CMS组比较,^b $P<0.05$

血管物质自分泌能力下降, 缩血管物质相对增加, 白细胞黏附及血小板聚集度增强^[9], 而微粒的产生主要来源于激活的血小板、白细胞、上皮细胞和平滑肌细胞, CMS 由于慢性缺氧损伤了血管内皮, 刺激了上述微粒的生成。本课题组同时发现, CMS 患者内皮细胞微粒水平升高^[10], 也证明了这种推测。生理情况下 TF 是被加密的, 只有在特定条件下被解密, 从而表达促凝活性^[11]。CMS 患者血浆 TF-MPs 水平升高, 推测该疾病可能导致 TF 解密, 具体机制有待进一步研究。本研究中发现 CMS+T 组 TF-MPs 水平最高, 考虑 TF-MPs 参与了 CMS 患者深静脉血栓的形成。

P- 选择素由活化的血小板释放, 是血小板活化或血栓形成的特异性标志物, 可以反映凝血功能亢进状态下血小板的激活情况^[5], 其释放与 PLT 活化和内皮细胞受损有关^[3]。P- 选择素可与配体相结合进一步介导活化的 PLT、内皮细胞与白细胞的黏附, 促进血栓的形成^[12]。SHANG 等^[13]研究发现在高海拔地区居住时间 >2 个月者血小板呈活化状态, 其 P- 选择素明显升高, 考虑血小板活化与高原低氧有关。在本研究中发现 PY 组 Hb、P- 选择素低于 GY 组, 说明在高原低氧情况下, 人体 Hb 呈代偿性增生, 同时由于高原低氧, P- 选择素升高提示血小板呈活化状态。一般认为, 血液中 P- 选择素基础水平主要来源于血小板, 而在疾病状态下, 高水平的 P- 选择素水平主要由活化的内皮细胞分泌所致, 同时多种炎性递质可通过不同的机制增强人内皮细胞 P- 选择素 mRNA 和蛋白质持续性转录合成^[14]。而本课题组发现, CMS 患者内皮细胞微粒水平升高, 提示内皮受损处于活化状态^[10]。而多项研究证实 CMS 是由于内皮受损、炎性递质水平升高等因素共同导致了 CMS 患者 P- 选择素水平升高^[15]。P- 选择素在活化的血小板表面融合并大量表达, 介导血管内皮细胞最终参与血栓形成^[7], 因此 P- 选择素在 CMS+T 组最高, 在 CMS 组、GY 组和 PY 组依次降低。由此, 笔者考虑 TF-MPs、P- 选择素参与了 CMS 患者深静脉血栓形成的过程。

既往研究证实, 在损伤修复、实体瘤和恶性血液病中, 大量的 TF-MPs 聚集在血小板表面形成血栓, 并且该过程依赖于 P- 选择素和 P- 选择素配体的相互作用^[16-18], 这与本研究相符, CMS 患者 TF-MPs、P- 选择素呈正相关。而 P- 选择素作为中性粒细胞及单核细胞的受体, 使血小板与中性粒细胞黏附聚集, 形成血栓, 从而血小板被活化后消耗增多, 破坏加速, 这与国内吴纯^[19]的研究结果相一致。因此血小板活化后的消耗性破坏是 CMS 患者 PLT 降低的一个重要原因, 故在 CMS 患者中 TF-MPs、P- 选择素与 PLT 呈负相关。

本研究及既往研究均发现, CMS 患者 PT、APTT 延长, 出血风险升高, 但由于长期高原低氧, 红细胞代偿

增加, 血液黏稠呈高凝状态, 血栓发生率也同时增高, 甚至有些患者会出现血栓栓塞性疾病合并凝血功能异常, 目前临床上采用凝血功能指标 (PT、APTT) 等进行出血预测, 进而提早干预, 但在干预出血的同时如果能够结合高凝和血栓形成的预测指标进行判断, 将会对临床治疗起到积极作用。目前临床常用的指标为 D- 二聚体, 依据的是已经形成血栓后在纤溶酶作用下分解后产生的物质, 可以说其是血栓形成和继发纤溶的结果, 而不是在血栓或高凝状态形成之初的物质, 而血浆 TF-MPs、P- 选择素参与了血栓的形成, 可能是血栓形成的重要物质。笔者通过多因素 Logistic 回归分析发现, TF-MPs、P- 选择素是 CMS 患者发生深静脉血栓的独立危险因素, PT 是 CMS 预防发生深静脉血栓的保护因素, 故临床上可以通过检测这些指标从而进行风险判定, 后续将继续研究是否可以通过吸氧、降低血细胞比容、保护血管内皮等治疗降低该指标, 以期减少 CMS 患者发生血栓的风险。

国外学者研究显示, CMS 患者 PLT 较健康人群明显降低, 同时 CMS 患者是血栓栓塞性疾病的高危人群^[20-21], CMS 患者在 PLT 减少的情况下仍表现高凝状态, 临床很少发现明显的出血倾向^[22], 推测血小板功能为活化状态。本研究结果证明在高原低氧的情况下, 血小板仍处于活化状态, 且 CMS 中血小板活化水平更高, 这可能是 CMS 发生深静脉血栓的一个因素; 同时 CMS 患者血浆 TF-MPs 水平升高, 其可为血栓形成提供 PS 及 TF, 促进血栓形成。在本研究中, CMS 患者 P- 选择素、TF-MPs 与 PLT 呈负相关, 说明血栓发生风险与 PLT 密切相关, 血小板活化后的消耗性破坏可能是 CMS 患者 PLT 降低的一个重要原因。通过 ROC 曲线分析发现, D- 二聚体、TF-MPs 和 P- 选择素评估 CMS 患者发生深静脉血栓的灵敏度和特异度均较高, 这将对 CMS 患者抗凝和血栓的治疗起到指导作用。

综上所述, 长期居住在高原可引起 Hb 和 PLT 降低, 且 CMS 患者 TF-MPs、P- 选择素与 PLT 降低和深静脉血栓形成有一定关系, 同时 PT、TF-MPs、P- 选择素是 CMS 患者发生深静脉血栓的影响因素, D- 二聚体、TF-MPs、P- 选择素预测 CMS 患者发生深静脉血栓有一定价值。

致谢: 感谢运城城市中心医院同仁收集并提供资料。

作者贡献: 王卓亚进行文章的构思与设计、研究的实施与可行性分析、结果分析与解释、撰写论文和论文修订; 杨发满进行研究的实施与可行性分析、负责文章的质量控制及审校, 对文章整体负责并监督管理; 周红梅、敬泽慧进行数据收集; 汪元浚、李晓平进行数据整理; 刘冀进行统计学分析。

本文无利益冲突。

参考文献

- [1] 司本辉, 肖青林, 常开齐, 等. 高原不同人群血液流变学指标改变及血液粘度的调节[J]. 微循环学杂志, 2004, 14(4): 43-45. DOI: 10.3969/j.issn.1005-1740.2004.04.017.
- SI B H, XIAO Q L, CHANG K Q, et al. Changes of hemorrheological indexes and regulation of blood viscosity in different crowds on highland[J]. Chinese Journal of Microcirculation, 2004, 14(4): 43-45. DOI: 10.3969/j.issn.1005-1740.2004.04.017.
- [2] CHEN M, GENG J G. P-selectin mediates adhesion of leukocytes, platelets, and cancer cells in inflammation, thrombosis, and cancer growth and metastasis[J]. Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 2006, 54(2): 75-84. DOI: 10.1007/s00005-006-0010-6.
- [3] ANTONOPOULOS C N, SFYROERAS G S, KAKISIS J D, et al. The role of soluble P selectin in the diagnosis of venous thromboembolism[J]. Thromb Res, 2014, 133(1): 17-24. DOI: 10.1016/j.thromres.2013.08.014.
- [4] 国际高原医学会慢性高原病专家小组. 第六届国际高原医学和低氧生理学术大会颁布慢性高原病青海诊断标准[J]. 青海医学院学报, 2005, 26(1): 3-5. DOI: 10.3969/j.issn.1006-8252.2005.01.002.
- International Working Group on CMS. Qinghai diagnostic criteria for chronic mountain sickness (CMS)[J]. Journal of Qinghai Medical College, 2005, 26(1): 3-5. DOI: 10.3969/j.issn.1006-8252.2005.01.002.
- [5] LEROYER A S, TEDGUI A, BOULANGER C M. Role of microparticles in atherothrombosis[J]. J Intern Med, 2008, 263(5): 528-537. DOI: 10.1111/j.1365-2796.2008.01957.x.
- [6] ZWICKER J I, TRENOR C C 3rd, FURIE B C, et al. Tissue factor-bearing microparticles and thrombus formation[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2011, 31(4): 728-733. DOI: 10.1161/ATVBAHA.109.200964.
- [7] 白斯君, 陈剑芳. 恶性血液病中组织因子微粒与血栓形成的研究进展[J]. 临床血液学杂志, 2014, 27(2): 254-256. DOI: 10.13201/j.issn.1004-2806.2014.03.027.
- BAI S J, CHEN J F. Advances in the relationship between tissue factor bearing microparticles and thrombosis in hematologic malignancies[J]. Journal of Clinical Hematology, 2014, 27(2): 254-256. DOI: 10.13201/j.issn.1004-2806.2014.03.027.
- [8] 崔建华, 张西洲, 何富文, 等. 高原低氧与循环内皮细胞计数及内皮素-1和心钠素含量的相关性研究[J]. 高原医学杂志, 1999, 9(3): 28-30.
- CUI J H, ZHANG X Z, HE F W, et al. The relationship of hypoxia on circulating endothelial cell count, contents of endothelin 1 and atrial natriuretic peptide in subjects at high altitude[J]. Journal of High Altitude Medicine, 1999, 9(3): 28-30.
- [9] 黄蕊, 徐卓明. 循环内皮细胞和内皮细胞微粒的临床应用及其进展[J]. 上海医学, 2013, 36(12): 1067-1071.
- [10] 王卓亚, 杨发满, 汪雪萍, 等. 慢性高原病患者发生血栓与血浆EMP和P-选择素水平的关系[J]. 中国高原医学与生物学杂志, 2019, 40(4): 232-237. DOI: 10.13452/j.cnki.jqmc.2019.04.003.
- [11] FURIE B. Pathogenesis of thrombosis[J]. Hematology, 2009, 2009(1): 255-258. DOI: 10.1182/asheducation-2009.1.255.
- [12] 杨美荣, 陈乃耀. 血小板 α -颗粒膜蛋白与血栓性疾病的相关关系[J]. 华北煤炭医学院学报, 2007, 9(2): 189-190. DOI: 10.3969/j.issn.1008-6633.2007.02.024.
- YANG M R, CHEN N Y. Relationship between platelet granular membrane protein and thrombotic disease[J]. Journal of North China Coal Medical College, 2007, 9(2): 189-190. DOI: 10.3969/j.issn.1008-6633.2007.02.024.
- [13] SHANG C X, WUREN T N, GA Q, et al. The human platelet transcriptome and proteome is altered and pro-thrombotic functional responses are increased during prolonged hypoxia exposure at high altitude[J]. Platelets, 2020, 31(1): 33-42. DOI: 10.1080/09537104.2019.1572876.
- [14] 孙桂芝, 赵亚鹏, 周同, 等. P-选择素与血栓性疾病[J]. 中国微循环, 2004, 8(5): 322-325.
- [15] 高亮, 李彬, 李年华, 等. 驻海拔5000m以上高原红细胞增多症患者血清炎症因子变化分析[J]. 人民军医, 2018, 61(5): 429-431, 435.
- [16] HRON G, KOLLARS M, WEBER H, et al. Tissue factor-positive microparticles: cellular origin and association with coagulation activation in patients with colorectal cancer[J]. Thromb Haemost, 2007, 97(1): 119-123.
- [17] KHORANA A A, FRANCIS C W, MENZIES K E, et al. Plasma tissue factor may be predictive of venous thromboembolism in pancreatic cancer[J]. J Thromb Haemost, 2008, 6(11): 1983-1985. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2008.03156.x.
- [18] ZWICKER J I, LIEBMAN H A, NEUBERG D, et al. Tumor-derived tissue factor-bearing microparticles are associated with venous thromboembolic events in malignancy[J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(22): 6830-6840. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-0371.
- [19] 吴纯. 血小板参数及GMP-140在II型糖尿病患者中的变化[J]. 中国实验诊断学, 2008, 12(10): 1273-1274.
- WU C. The variation of the blood platelet and GMP-140 in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. Chinese Journal of Laboratory Diagnosis, 2008, 12(10): 1273-1274.
- [20] LEHMANN T, MAIRBÄURL H, PLEISCH B, et al. Platelet count and function at high altitude and in high-altitude pulmonary edema[J]. J Appl Physiol, 2006, 100(2): 690-694. DOI: 10.1152/japplphysiol.00991.2005.
- [21] CANCIENNE J M, DIDUCH D R, WERNER B C. High altitude is an independent risk factor for postoperative symptomatic venous thromboembolism after knee arthroscopy: a matched case-control study of medicare patients[J]. Arthroscopy, 2017, 33(2): 422-427. DOI: 10.1016/j.arthro.2016.07.031.
- [22] 范爱莉, 格桑罗布, 周南, 等. 慢性高原红细胞增多症凝血与纤溶活性动态平衡的研究[J]. 西藏医药, 2015, 36(3): 18-19.

(收稿日期: 2019-09-20; 修回日期: 2019-12-30)

(本文编辑: 毛亚敏)