

弥散性血管内凝血诊断与相关分子标志物

Diagnosis and related molecular markers of disseminated intravascular coagulation

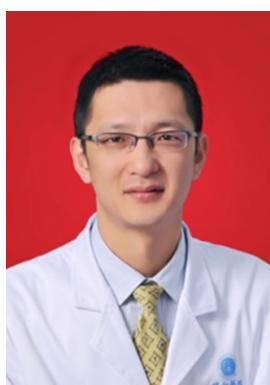
严思棋¹ 郭涛¹

[关键词] 弥散性血管内凝血;诊断;分子标志物

Key words disseminated intravascular coagulation;diagnosis;molecular markers

doi:10.13201/j.issn.1004-2806.2019.01.004

[中图分类号] R554.8 [文献标志码] C



专家简介:郭涛,华中科技大学同济医学院附属协和医院血液科主任医师、博士生导师。担任中国医师协会血液科医师分会委员、中华血液学会血栓与止血学组委员、武汉市血液学会主任委员,中国研究型医院协会生物治疗学组常务委员。《临床血液学杂志》,《血栓与止血学杂志》,《国际输血及血液学杂志》及《临床急诊杂志》编委。

弥散性血管内凝血(disseminated intravascular coagulation, DIC)是在严重感染、恶性肿瘤、创伤、病理产科等众多疾病的基础上,微血管体系受损,导致持续的凝血活化、全身微血管血栓形成、凝血因子大量消耗并继发纤溶亢进,引起以出血及微循环衰竭为特征的临床综合征。DIC并不是独立的疾病,而是众多疾病复杂病理生理过程的中间环节,除了基础疾病自身的恶化外,DIC还可导致危及生命的持续性出血或多器官功能障碍综合征(MODS),使患者的死亡风险增加1倍以上^[1-2]。因此,DIC的早期诊断和及时治疗十分重要。本文将对DIC相关的分子标志物进行介绍,以加强对疾病诊断的认识。

1 临床特点

由于病因及所处的阶段不同,DIC的临床表现也有很大差别^[3-4]。严重感染诱发的DIC多以高凝、微血栓形成为主,临床表现为微循环衰竭、多器官功能障碍;血液系统恶性肿瘤或病理产科诱发的DIC多以纤溶亢进为主,临床表现为明显的出血倾向;大手术或创伤诱发的DIC,高凝及纤溶亢进同时存在,临床表现为危及生命的持续性出血;而实验室指标出现异常但临床表现尚不明显的,我们称为非显性DIC或DIC前期。

2 发病机制

DIC并不是独立的疾病,而是众多疾病复杂病理生理过程的中间环节,到目前为止,它的发病机制仍未完全阐明。

当严重感染或创伤时,内皮广泛受损,使内皮细胞和单核细胞活化,产生大量的组织因子(TF)、组织型纤溶酶原激活剂(t-PA)或白细胞介素-1 β (IL-1 β)等炎性细胞因子;当恶性肿瘤时,肿瘤细胞高表达TF、癌性促凝物质(CP)、微粒(MPs)或肿瘤坏死因子(TNF)等细胞因子^[5],使凝血酶过度产生或活化。此时,机体内的抗凝血酶(AT)、活化的蛋白C(APC)和组织因子途径抑制剂(TFPI)被大量消耗,不足以对抗过度产生的凝血酶和活化的因子VIII,使得凝血系统被持续激活,全身微血管血栓形成。

凝血持续活化后,凝血及纤溶因子被消耗,炎性和肿瘤细胞高表达组织型或尿激酶型纤溶酶原激活剂(t-PA/u-PA),使得纤溶酶原大量转化成纤溶酶,纤维蛋白原被降解。白血病细胞可以特异性地高表达膜联蛋白II^[6],作为t-PA的细胞表面受体,使纤溶酶生成增加60倍。炎性或肿瘤细胞还可以产生大量的中性粒细胞弹性蛋白酶(NE)和组织蛋白酶G(CG)^[7],用以切割TFPI和纤维蛋白原,这些都进一步加重了纤溶系统亢进。

3 实验室检查和分子标志物

DIC的实验室检查包括两方面:一是反映凝血

¹华中科技大学同济医学院附属协和医院血液科(武汉,430022)

通信作者:郭涛,E-mail:guotao1968@163.com

活化的指标,如血小板计数(PLT)、凝血酶原时间(PT)、部分激活的凝血活酶时间(APTT)、纤维蛋白原浓度(FIB)、抗凝血酶活性(AT)、活化的蛋白C(APC);二是反映纤溶亢进的指标,如D-二聚体(D-dimer)、纤维蛋白降解产物(FDP)、可溶性纤维蛋白单体(SF)等。这些检查在临床实验室中简单易行,但特异度不高,当这些传统指标出现变化时,往往预示着DIC已很明确。因此开展分子标志物检测可以帮助DIC的早期诊断。

3.1 反映凝血活化的分子标志物

生理条件下,凝血酶活性受内源性抗凝血剂(AT、APC、TFPI)调节,致病因素损伤微血管后,机体内凝血-抗凝血系统失衡,导致凝血持续活化,凝血酶大量产生。

凝血酶-抗凝血酶复合物(thrombin-antithrombin complex, TAT):AT是丝氨酸蛋白酶抑制剂,可以与凝血酶1:1特异性结合形成稳定的TAT,从而抑制凝血酶活性。在DIC早期,凝血酶过量产生,与抗凝血酶结合形成的TAT随之增多,是反映机体早期凝血活化的敏感指标。

血栓调节蛋白(thrombomodulin, TM):TM是内皮细胞膜表面的蛋白质,可以与凝血酶特异性结合,将蛋白质C转化为活性形式(APC),与辅因子蛋白S一起通过蛋白水解使凝血因子Va和VIIIa失活,从而抑制凝血酶的产生^[8]。当内皮细胞损伤时,膜表面的TM被裂解释放到血浆中,失去其原有的抗凝血作用。因此,血浆中升高的TM是反映内皮细胞损伤和机体早期凝血活化的敏感指标。

组织因子途径抑制剂(tissue factor pathway inhibitor, TFPI):TFPI被凝血酶激活后,可以抑制TF途径中凝血酶原酶复合物上因子VII和因子X的活性^[9],从而抑制凝血酶的产生。受损内皮或肿瘤细胞释放大量的TF,使得TFPI被消耗,反映了凝血系统的过度活化。

3.2 反映纤溶亢进的分子标志物

生理条件下,t-PA或u-PA诱发纤维蛋白溶解,将纤溶酶原转化为纤溶酶,随即体内的纤溶抑制剂(α 2-PI、PAI-1、TAFI)发挥作用,维持纤溶-抗纤溶系统平衡。

纤溶酶- α 2纤溶酶抑制剂复合物(plasmin- α 2 plasmin inhibitor complex, PPIC):生理条件下, α 2纤溶酶抑制剂(α 2-PI)可以与纤溶酶迅速特异性结合,形成无活性的PPIC,从而抑制纤溶酶的活性。当大量纤溶酶原转化为纤溶酶, α 2-PI与之结合形成的PPIC增多,反映了机体内晚期的纤溶亢进。

纤溶酶原激活物抑制剂-1(plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1):PAI-1可以特异性地结合t-PA/u-PA并形成稳定的复合物来抑制它们的活性,从而特异性地抑制纤溶系统活化。在DIC早

期,炎性细胞因子如TNF- α 等刺激PAI-1的释放,反映了机体的高凝低纤溶状态;在DIC晚期,炎症或肿瘤细胞持续产生大量的t-PA/u-PA,使得PAI-1与之结合被消耗,机体此时处于纤溶亢进状态。

凝血酶激活的纤维蛋白溶解抑制剂(thrombin activatable fibrinolysis inhibitor, TAFI):TAFI被凝血酶激活后,可以水解纤维蛋白分子中的羧基末端赖氨酸残基,即去除t-PA和纤溶酶原的结合位点,从而抑制纤溶过程^[10]。在DIC早期,TM可以刺激凝血酶介导的TAFI激活途径,使TAFI活化增加,此时机体处于高凝低纤溶状态;在DIC晚期,活化的凝血酶持续激活TAFI,使其大量消耗,机体处于纤溶亢进状态。

4 诊断

目前DIC的诊断标准尚未完全统一,需要结合基础疾病、临床表现和实验室指标进行综合评估,三者缺一不可。国际上常用的诊断积分系统有国际血栓与止血协会标准(ISTH)、日本卫生福利部标准(JMHW)和日本急诊医学学会标准(JAAM)等,它们纳入了多个实验室指标比较全面地反映机体内出凝血平衡的变化。近年来国内专家也在不断努力,建立并完善了中国弥散性血管内凝血诊断积分系统(CDSS),通过前瞻性研究比较,发现CDSS的诊断敏感性与特异性并不劣于ISTH和JMHW积分系统^[11],是目前国内最常用的DIC诊断标准。多项研究表明:如能在现有的积分系统上联用分子标志物,可以更好地帮助诊断DIC。比如ISTH非显性积分系统添加了AT和APC活性指标后,被证明可以诊断DIC高风险患者^[12]。此外,有系统评价认为PAI-1是感染患者DIC严重程度和全因死亡率的重要预测指标^[13],非幸存者的PAI-1水平显著高于幸存者。也有回顾性研究表明JAAM积分系统加上PAI-1水平和APC活性组成的新标准,相较于原来的JAAM积分系统和ISTH显性积分系统,对预测DIC死亡率具有更高的敏感性和特异性^[14]。

多项研究对不同病因诱发的DIC的诊断及预后的分子标志物进行了评价,以下是几个较大规模的前瞻性研究结果。有研究认为^[15],与非DIC患者相比,创伤诱发的DIC患者血浆中AT水平下降,TM水平升高,这反映了患者体内早期的高凝状态。而严重感染合并DIC的患者中,血浆TAT、PAI-1和APC活性均显著高于非DIC患者^[16],这也反映了机体内的高凝低纤溶状态,并且与单个指标相比,TAT+PAI-1+APC联用时的诊断效能最大。同时,TAT和PAI-1也是预测DIC 28天死亡率的良好预后因子。另一项研究表明^[10],与非DIC患者相比,严重感染合并DIC的患者血浆中TAFI活性较低,SF与PPIC水平较高,并且在感

染合并 DIC 的患者中,有或没有 MODS 的患者之间 SF、PPIC 和 TAFI 活性均存在差异,认为低 TAFI 活性和低 PPIC 水平是感染合并 DIC 患者死亡和发生 MODS 的独立预测因子。

此外,血液病合并 DIC 的患者血浆中 TAT 和 PPIC 水平显著高于非 DIC 患者,而在严重感染患者中,DIC 与非 DIC 组的 TAT、PPIC 水平没有区别。在严重感染合并 DIC 的患者中血浆 TM、SF 水平显著高于非 DIC 组^[17]。因此,笔者认为,SF+AT+TM 对严重感染患者的 DIC 敏感,而 TAT+PPIC 对血液系统恶性肿瘤患者的 DIC 敏感。我们近来的研究也有类似的结果,当 PT 联合 TAT、PIC、TM、PAI-1 四种分子标志物诊断 DIC 时,诊断效能最大。

总而言之,理论上 TM、TAT、PAI-1 和 TAFI 的升高以及 TFPI 的下降共同反映了机体早期的高凝低纤溶状态,对诊断严重感染或创伤诱发 DIC 敏感;而 PPIC 的升高以及 PAI-1、TAFI 的下降共同反映了机体晚期的纤溶亢进状态,对诊断血液病合并的 DIC 敏感。在现有的 DIC 积分系统上联用 1 个或多个分子标志物,可以弥补现有的国内外积分系统的不足,拥有更高的灵敏度和特异度,也拥有更好的预后价值。然而,并不是所有的分子标志物都能应用于临床实验室,比如 TFPI 会与内皮上的肝素样分子结合,还可能与脂蛋白结合而失活^[18],使其血浆中含量很低,难以用现有的实验室条件检测到。

综上所述,我们认为理想的 DIC 评分系统应包括基础疾病、临床表现、传统的实验室指标以及分子标志物。它们比较全面地反映了机体内凝血-抗凝血,纤溶-抗纤溶系统的失衡,可以帮助我们更好地早期诊断 DIC。然而,将分子标志物加入到现有的积分系统中仍需要更多的研究证实,尤其是大型前瞻性研究数据的支持。

参考文献

- [1] Polderman KH, Girbes AR. Drug intervention trials in sepsis: divergent results[J]. *Lancet*, 2004, 363: 1721-1723.
- [2] Saracco P, Vitale P, Scolfaro C, et al. The coagulopathy in sepsis: significance and implications for treatment[J]. *Pediatr Rep*, 2011, 3: e30.
- [3] Wada H, Matsumoto T, Yamashita Y, et al. Disseminated intravascular coagulation: Testing and diagnosis[J]. *Clin Chim Acta*, 2014, 436: 130-134.
- [4] Wada H, Hatada T, Okamoto K, et al. Modified non-overt DIC diagnostic criteria predict the early phase of overt-DIC[J]. *Am J Hematol*, 2010, 85: 691-694.
- [5] Ma G, Liu F, Lv L, et al. Increased promyelocytic-derived micro particles: a novel potential factor for coagulopathy in acute promyelocytic leukemia[J]. *Ann Hematol*, 2013, 92: 645-652.
- [6] Liu Y, Wang Z, Jiang M, et al. The expression of annexin II and its role in the fibrinolytic activity in acute promyelocytic leukemia[J]. *Leuk Res*, 2011, 35: 879-884.
- [7] Madoiwa S, Tanaka H, Nagahama Y, et al. Degradation of cross-linked fibrin by leukocyte elastase as alternative pathway for plasmin-mediated fibrinolysis in sepsis-induced disseminated intravascular coagulation[J]. *Thromb Res*, 2011, 127: 349-355.
- [8] Esmon CT. Protein C anticoagulant system-anti-inflammatory effects[J]. *Semin Immunopathol*, 2012, 34: 127-132.
- [9] Chu AJ. Tissue factor, blood coagulation, and beyond: an overview[J]. *Int J Inflamm*, 2011, 2011: 367284.
- [10] Hayakawa M, Sawamura A, Gando S, et al. A low TAFI activity and insufficient activation of fibrinolysis by both plasmin and neutrophil elastase promote organ dysfunction in disseminated intravascular coagulation associated with sepsis[J]. *Thromb Res*, 2012, 130: 906-913.
- [11] Wu Y, Luo L, Niu T, et al. Evaluation of the new Chinese Disseminated Intravascular Coagulation Scoring System in critically ill patients: A multicenter prospective study[J]. *Sci Rep*, 2017, 22: 9057.
- [12] Levi M, Sivapalaratnam S. Disseminated intravascular coagulation: an update on pathogenesis and diagnosis[J]. *Expert Rev Hematol*, 2018, 11: 663-672.
- [13] Tipoe TL, Wu WKK, Chung L, et al. Plasminogen activator inhibitor 1 for predicting sepsis severity and mortality outcomes: a systematic review and meta-analysis[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1218.
- [14] Umemura Y, Yamakawa K, Kiguchi T, et al. Design and evaluation of new unified criteria for disseminated intravascular coagulation based on the Japanese Association for Acute Medicine criteria[J]. *Clin Appl Thromb Hemost*, 2016, 22: 153-160.
- [15] Yanagida Y, Gando S, Sawamura A, et al. Normal prothrombinase activity, increased systemic thrombin activity, and lower antithrombin levels in patients with disseminated intravascular coagulation at an early phase of trauma: comparison with acute coagulopathy of trauma-shock[J]. *Surgery*, 2013, 154: 48-57.
- [16] Koyama K, Madoiwa S, Nunomiya S, et al. Combination of thrombin-antithrombin complex, plasminogen activator inhibitor-1, and protein C activity for early identification of severe coagulopathy in initial phase of sepsis: a prospective observational study[J]. *Crit Care*, 2014, 18: R13.
- [17] Kawasugi K, Wada H, Hatada T, et al. Prospective evaluation of hemostatic abnormalities in overt DIC due to various underlying diseases[J]. *Thromb Res*, 2011, 128: 186-190.
- [18] Iba T, Ito T, Maruyama I, et al. Potential diagnostic markers for disseminated intravascular coagulation of sepsis[J]. *Blood Rev*, 2016, 30: 149-155.