

抗凝血酶检测及临床研究进展

沈凌志

北海市人民医院检验科 广西北海 536000

[中图分类号] R446.112

[文献标识码] A

[文章编号] 2095-7165 (2019) 04-209-03

抗凝血酶 (antithrombin, AT), 是人体抗凝系统的重要因子, 约占抗凝系统总活性的 50%~70%。抗凝系统主要是维持机体出血与止血平衡, 当抗凝系统中某些因子的数量或功能发生改变的时候, 就有可能对机体产生严重影响, 导致出血或引起血栓形成。造成各种疾病的发生。本文将从 AT 的结构、功能以及对相关疾病影响方面研究进展综述如下。

1 抗凝血酶的分子结构及功能

抗凝血酶 (AT) 是一单链糖蛋白, 相对分子质量为 58.2ku, 由 432 个氨基酸 (aa) 组成。编码 AT 蛋白的基因已被定位于人类染色体 1q23-25.1 (基因符号 SERPINC 1), 全长为 13535bp, 血浆浓度为 $2 \mu\text{mol} / \text{L}$ 。AT 分子主要由 3 个 β 折叠 (A、B 和 C), 9 个 α 螺旋和 1 个反应中心环 (reactive center loop, RCL)。共同组成一个大小 75~100Å 的球状分子。AT 有两个重要的功能区^[1], 一个是位于 N 端的肝素结合区, AT 反应位点在 P1 (Arg 393) 和 P1' (Ser 394) 位, AT 通过 Arg393-ser394 的丝氨酸蛋白酶反应点及 Lys 残基 (第 125 位、第 107 位和第 136 位) 和 Arg 残基 (第 129 位和第 145 位) 有关 2 个功能位点, 与肝素、凝血酶结合发挥其抗凝作用, 其抗凝作用占体内总抗凝作用 70% 左右^[2]。一个是位于 C 端的反应位点。AT 与肝素的结合, 是 AT 抗凝功能中的重要一环, 在肝素存在下, AT 的抗凝作用可以增加数十倍^[3]。在人体有生理意义的有 3 种亚型: AT-I、AT-III、AT-VI, 肝素主要通过加强 AT-III 的活性而发挥间接抗凝作用, AT 灭活丝氨酸蛋白酶活性的速度依赖于肝素, 但灭活丝氨酸蛋白酶的量的量取决于 AT 的活性。1993 年, 国际血栓和止血协会推荐将 AT-III 简称为 AT。由于 AT-I 实际上是纤维蛋白, AT-VI 为纤维蛋白 (原) 的降解产物, 故只有 AT-III 才具有抗凝血酶的作用, 在循环血液中 AT 的浓度大约为 $2.3 \mu\text{M}$, 这些 AT 的抗凝活性比较弱, 只有在与特殊的戊糖 (pentasaccharide) 序列 (存在于用于治疗的肝素和暴露的血管壁中的硫酸肝素分子中) 结合后, AT 构象发生改变, 反应中心环 (RCL) 暴露, 才可有效地发挥抗凝作用^[4]。对于 F X a 和 F IX a, 肝素既能通过促进 AT-肝素-蛋白酶复合物 (michaeliscomplex) 的稳定而加速 AT 对其的灭活, 肝素还能通过介导 AT 变构激活 (allostericactivation) 而发挥其抗凝作用。在肝素的参与下, AT 与 F X a 和 F IX a 结合的阻力减小, 并且促进 AT 反应中心环上的外结合位点 (exosite) 与 F X a 和 F IX a 的作用^[5]。Izaguirre 等^[6] 研究认为 Tyr 253 和 Glu 255 是外结合位点关键因子, 能与 F X a 和 F IX a 上的 Arg 150 特异结合, 凝血酶由于缺乏 Arg150 而无法参与该反应。在正常血循环中存在 2 种形式: α -AT 和 β -AT, 血浆中 90% 的 AT 以 α -AT 形式存在, 它是反应中心环中的 P14 和 P15 插入 β 折叠结构 A 中的一种 T 结构, 此结构对凝血酶和活化因子 X (F X a) 的抑制较弱。 β -AT 是 P14 和 P15 在 β 折叠结构 A 中展开的一种 AT 结构, 对 F X a 抑制能力比 α -AT 增加 300 倍, 是凝血酶的主要抑制物, 同时对其他丝氨酸蛋白酶如 F IX a、F XI a 和 F XII a 等凝血因子以及纤溶酶、胰蛋白酶和激肽释放酶等的活性也有抑制作用^[7]。因此临床上常常以测定血浆 AT 的水平作为判断机体抗凝水平和血栓

形成性疾病的实验室指标, 也据此选择治疗方法和评价疗效。

2 抗凝血酶检测方法及原理

严格按抗凝剂与血液 1:9 的比例采血。严格按照全自动凝血分析仪操作规程进行。实验用发色底物法检测 AT, 其原理为定量的凝血酶加入到待测血浆中, 与血浆中 AT 作用, 形成无活性的复合物, 剩余的凝血酶作用于发色底物, 释放出对硝基苯胺 (PNA), PNA 在波长 405nm 处有最大吸收峰, PNA 显色深浅与 AT 成反比^[8]。

3 抗凝血酶与主要疾病的关系

正常人体的凝血与抗凝血系统处于动态平衡状态, 若失平衡就会有出血或血栓形成的危险, AT 是血浆中抑制凝血的关键物质, 它可直接抑制凝血也可与凝血酶形成复合物抑制多种凝血因子活性。当体内启动凝血系统随之产生消耗性 AT 减少, 是体内处于高凝状态的客观指标。因此, AT 的增多或减少是出血、血栓的关键, 其不仅在高血压、糖尿病、心梗 (AMI)、脑梗死、肺栓塞、肝病、肿瘤等疾病的诊断中有一定的重要意义, 在静脉血栓等疾病的治疗方面也有积极的作用, 尤其是在脑梗、心梗、肺栓塞等突发疾病的协助诊断方面尤为重要。

3.1 抗凝血酶与高血压病

原发性高血压病患者存在凝血、纤溶的失衡。研究发现^[9]: 高血压 I 期时血浆中 AT 无显著性改变, 尿中 AT 与正常人无显著性差异; 到 II 期时随着尿中微量蛋白的出现, 血中 AT 下降, 尿中 AT 升高; 发展到 III 期时, 血浆中 AT 水平显著降低, 尿液中 AT 增高更加明显。尿中 AT 与尿中白蛋白有关, 与血压高低无关。尿中 AT 水平增高导致了血中 AT 减少, 说明血液凝固性增高易形成血栓, 如果肾内凝血反复进行, 可导致肾功能减退以及肾小球硬化。通过检测血、尿中 AT 的变化, 可以为临床监控高血压病及有无并发肾损害提供依据。

3.2 抗凝血酶与糖尿病

糖尿病患者持续性高血糖状态下, 可导致一些组织、器官功能障碍及形态上的改变, 特别是 2 型糖尿病, 神经、血管、视网膜、肾脏等最易受累, 血管内皮损伤、出凝血机制异常是其发生病变的重要原因。单纯的控制血糖, 似乎也不能阻止并发症的发生、发展。糖尿病伴视网膜病变、肾脏病变, 血浆中 AT 明显下降^[10]。糖尿病患者血管内皮细胞受损, 激活凝血系统及纤溶系统, 修复损伤的血管内皮, 清除局部病理产物的堆积, 致使 AT 下降。此外 AT 相对分子质量小, 通过肾小球, 流失到尿液, 尿中 AT 水平增高导致血中 AT 减少, 并随着糖尿病肾脏病变的加重而逐渐变化^[11]。如果肾内凝血反复进行必将导致肾功能的减退以及肾小球硬化。为此, 在对糖尿病患者的治疗除了积极控制血糖, 治疗原发病因外, 还应进行血、尿中 AT 的监测, 以防止糖尿病并发症的发生。

3.3 抗凝血酶与急性心梗 (AMI)

抗凝血酶 (AT) 是体内主要的生理性抗凝因子, 可抑制凝血酶类丝氨酸蛋白酶活性。据文献报道^[12] 急性心肌梗死 (AMI) 时血浆, AT 呈消耗性降低, 其机制就是凝血酶与抗凝血酶结合形成

的一种复合物 TAT (促凝血酶原激酶复合物), 血浆 TAT 水平的增高, 可较早提示急性心肌梗死患者体内凝血系统处于异常活跃状态, 其所导致的高凝状态是冠脉血栓形成的重要因素, 而冠脉血栓形成则是急性心肌梗死发生的主要因素。有研究发现, 急性心肌梗死 (AMI) 患者, TAT 变化较心肌肌钙蛋白 T (cTnT) 和肌酸激酶-MB (CK-MB)、肌红蛋白等更为敏感, 高 TAT 的 AMI 患者可能有心肌大片的坏死, 因此, TAT 水平有助于 AMI 早期诊断及预后判断^[13]。

3.4 抗凝血酶与脑梗死

Tohgi 等^[10]的临床实验结果显示, 脑梗死患者急性期血浆 AT 明显下降, 说明急性脑梗死患者存在高凝状态, AT 大量消耗所致, 此变化且与年龄因素有关。表明 AT 的测定对进展性脑卒中的早期诊断、治疗及病情演变的观察提供了依据。

3.5 抗凝血酶与慢性阻塞性肺疾病 (COPD)

研究表明, COPD 患者无论是急性发作期还是缓解期血浆 AT 含量都明显低于正常组, 治疗后明显上升, 这可能是由于 COPD 患者长期缺氧、感染等因素使体内凝血因子含量增加或活化, 从而使抗凝血酶的消耗增多, 导致其抗凝机制出现异常^[14, 15], 造成血液的高凝状态和肺小动脉血栓的形成, 进而加重病情发展。因此, 笔者认为在临床治疗中加以适当的活血抗凝治疗对控制病情的发展有重要的价值^[16]。COPD 常易并发肺小动脉血栓的形成, 这与 COPD 的高凝状态有关, 持续的肺部微小血栓的形成是导致及加重肺动脉高压的一个重要原因。

3.6 抗凝血酶与肝脏疾病

肝细胞损害时血液中的凝血因素与抗凝因素保持一个低水平, 平衡一旦被破坏, 如组织坏死或细胞溶解释放入血(含凝血酶), 大量凝血因子被激活引起 AT 的大量消耗, 极易伴发 DIC。AT 活性低于 50% 时有利于血栓形成, 可以作为肝病的早期预防和诊断血栓性疾病的依据^[17]。临床上在用小剂量肝素抗凝治疗无效时, 可选用 AT 制剂治疗, 使体内 AT 升高至 80% 以上再行肝素治疗, 所以临床上治疗肝病伴发 DIC 时一定要注意合理利用肝素, 达到最好的抗凝治疗效果^[18]。

3.7 抗凝血酶与肿瘤

肿瘤患者特别是恶性肿瘤患者, 在肿瘤免疫性淋巴细胞的刺激下, 可以合成释放大量的组织因子 (TF), 而 TF 又是参加外源性凝血途径的凝血因子, 其因暴露于血液而启动。由于肿瘤患者体内增加了 TF 凝血因子, 同时由于肿瘤浸润破坏周围器官、组织, 使血管受损, 打破了机体内凝血系统与抗凝血系统的动态平衡, 为了避免肿瘤患者高凝状态出现, 机体必须调动抗凝血因子来与 TF 凝血因子形成复合物, 从而消耗了机体内的抗凝物质, 无论恶性肿瘤还是良性肿瘤其抗凝活性都比正常人低得多^[19, 20]。据此, 抗凝血酶活性检测对于肿瘤患者出凝血状况的观察、诊断和疗效监测有重要意义。另外, 实验还发现恶性肿瘤抗凝血酶活性明显低于良性肿瘤, 这对区别恶性与良性肿瘤具有一定价值。特别对胸腔积液的良、恶性诊断是目前困扰医学界的一大难题。有学者发现, 出现胸腔积液的肺癌患者血液中的 AT 较正常人及结核性患者显著降低, 而结核性患者血浆 AT 略有升高, 但与正常人比较, 差异无显著性^[21]。所以 AT 的检测, 对于良、恶性胸腔积液的鉴别具有辅助诊断意义。

3.8 抗凝血酶与妊高征

文献报道^[22], 正常孕妇 AT 水平在整个妊娠期进行性降低, 妊高征患者于孕 20~24 周起与对应的正常孕妇存在显著性差异, 降低更为明显。妊娠时由于活性高的凝血因子与 AT 结合形成复合物, AT 被消耗而降低, 导致高凝状态。患者体内这种病理生理紊乱状态如未得到改善并继续发展, 必然超出抗凝系统的代偿能力, 最终形成血栓。故有专家建议采用小剂量肝素改善微循环, 以提高 AT 的作用, 这对于预防妊高征的发生及发展有一定的临床意义。因此, 在产前除做常规凝血功能检查外, 对高危人群监测 AT, 对

保护母婴健康有重要的意义。

3.9 抗凝血酶与弥散性血管内凝血 (DIC)

DIC 是多种原因造成的获得性全身性出血、血栓综合征, 其起病急骤, 发展迅速, 预后凶险。抗凝系统功能降低是 DIC 发病过程的重要环节, 约 80% 的急性 DIC 患者 AT 降低, 治疗后 AT 较治疗前显著回升, 并接近正常水平^[23, 24]。AT 水平下降可能是由于 AT 在凝血酶形成时不断被消耗, 同时被中性粒细胞释放的弹性酶降解所致。临床上常采用抗凝血酶与肝素合用, 既可减少肝素用量又可增强抗凝疗效。因此, 检测 AT 不仅有助于 DIC 的诊断, 而且是肝素抗凝治疗及疗效判断的重要参考指标。

3.10 抗凝血酶的其他功能研究进展

除了抗凝作用, AT 还具有抗炎和抗血管新生作用。其抗炎作用首先由 Taylor 在猴子模型上研究 DIC 时提出, 他发现输注 AT 能大大降低接受致死量 E. coli 猴子的死亡率。其作用机制是通过抑制凝血酶和 F X a, AT 能减少凝血酶 /F X a 介导的促炎症反应细胞因子 (如 IL-6 和 IL-8) 的释放。通过与内皮细胞上的硫酸乙酰肝素结合, AT 能增加重要的抗炎症细胞因子前列环素的产生, 后者能使平滑肌舒张, 血管扩张并抑制血小板聚集。AT 的抗炎作用与其和内皮细胞上葡萄糖胺聚糖结合能力紧密相关^[4]。

综上所述, AT 检测越来越受到检验界及临床医生的重视, 并有望成为诊断血栓、出血等疾病的首选检测手段。

[参考文献]

- [1] Patnaik MM, Molls M. Inherited antithrombin deficiency: a review [J]. Haemophilia, 2008, 14 (6): 1229-1239.
- [2] 中华医学会重症医学分会. 休克的发展 [J]. 中国危重病急救医学, 2007, 19 (3): 129-133.
- [3] Izaquirre G, Swanson R, Raja SM, et al. Mechanism by which exosites promote the inhibition of blood coagulation proteases by heparin activated antithrombin [J]. J Biol Chem, 2007, 282 (46): 336099-33622.
- [4] JOHNSON DJ, LIW, ADAMSTE, et al. Antithrombin "S195A" factor Xa-heparin structure reveals the allosteric mechanism of antithrombin activation [J]. EMBO J, 2006, 25(9): 2029-2037.
- [5] OLSON ST, RICHARD B, IZAGUIRREG, et al. Molecular mechanisms of antithrombin heparin regulation of blood clotting proteinases. A paradigm for understanding and integrin regulation by serpin family protease inhibitors [J]. Biochimie, 2010 [Epub ahead of print].
- [6] IZAGUIRREG, OLSON ST. Residues Tyr253 and Glu255 in strand 3 α -sheet C of antithrombin are key determinants of an exosite made accessible by heparin activation to promote rapid inhibition of factors Xa and IXa [J]. J Biol Chem, 2006, 281(19): 13424-13432.
- [7] QUINSEYNS, GREEDYAL, BOTTOMLEY SP, et al. Antithrombin: in control of coagulation [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2004, 36(3): 386-389.
- [8] 董存岩, 周志芳. 肝病患者的血浆 AT-III 活性检测及意义 [J]. 实用预防医学, 2004, 11 (2): 264-265.
- [9] 俞姝虹, 李月川. 慢性阻塞性肺疾病患者 D-二聚体和抗凝血酶 III 水平及与预后的关系 [J]. 天津医药, 2010, 38 (5): 389-391.
- [10] Tohgi H, Kacashima M, Tamura K, et al. Coagulation fibrinolysis abnormalities in acute and chronic phases of cerebral thrombosis and embolism [J]. Stroke, 1990, 21 (12): 1663-1667.
- [11] 刘凤纯, 杨文东, 马庆海. 2 型糖尿病患者尿液 D-二聚体、AT-III、PDA 的检测及其价值 [J]. 江西医学检验, 2005, 23 (2): 123-124.
- [12] 滕宁燕, 王明山, 徐斐, 等. 急性心肌梗死溶栓治疗时

(下转第 213 页)

3 隔药灸联合其他中医治疗原发性痛经

3.1 联合针刺

在针刺辅助治疗中,采用平补平泻法,可以进一步提升人体对药物的吸收量,而且药效会明显优于西药治疗。并且整体不良反应小,通过调养,患者能在短时间内摆脱痛经带来的痛楚。

3.2 联合中药内服

中药本身具有活血化瘀,温经通络的效果,通过内服和外用的联合治疗,可以起到相辅相成作用,进一步提升疗效。由于艾条药性偏温,所以一般会将艾叶作为主要内服药。

3.3 联合中药离子导入和耳穴压法

在刘照时等的《隔药灸治疗前后不同证型原发性痛经患者生殖激素水平检测研究》中详细提到^[6],该种联合治疗方式是近几年才出现的新颖治疗方法,在通过隔药灸关元穴的同时,将中药离子导入子宫、神门、内耳分泌,并且进行合理按压,在数个疗程后,即可取得优异疗效。

4 小结与未来展望

原发性痛经与多个因素有联系,如生理发育、神经、内分泌、吸烟、饮酒等。其中,内分泌因素是一种依赖研究的重点内容,而且经过实验证明,内分泌确实是原发性痛经最直接的影响因素。近年来,隔药灸的使用越来越多,其疗效也得到了大多数人的认可。

中医在临床上对原发性痛经类型进行分类,可将其划分为五个证型,其中寒湿凝滞型是原发性痛经最常见痛经类型,且对其研究相应较多,其他证型原发性痛经相对较少。因此,未来的研究方向上大体是对其他证型原发性痛经进行研究。此外,最佳穴位的选择也是临床重难点问题,具体是对于单一证型原发性痛经患者究竟是选择单一穴位还是多穴,或者是否存在其他特异性穴

位,均是研究重难点问题,并且,还涉及到最佳隔药灸介质问题以及用法用量,这些问题均需要展开深入探究,从而得到最佳治疗方案。而且目前中医发展迅猛,新型治疗方式更新换代较快,在不久的将来,可能会出现更加优质的辅助治疗方式,使隔药灸的疗效再提升一个档次。

[参考文献]

[1] 耿宝忠,范郁山,叶子维等.隔药灸命门穴对痛经模型大鼠子宫前列腺素表达的作用[J].北京中医药大学学报,2015,38(7):486-489.

[2] 杨星月,马玉侠,杜冬青等.基于代谢组学的隔药灸脐法治疗原发性痛经的机理研究[J].上海针灸杂志,2015,34(8):707-710.

[3] 姬乐,陈日兰,周丽晶等.隔药灸不同灸量对寒凝型痛经的 IL-4、IL-10 和 IFN- γ 影响[J].针灸临床杂志,2014,30(9):4-6,7.

[4] 张晓宁,杜冬青,马海洋等.隔药灸脐法对原发性痛经患者下腹部疼痛及额外卧床时间的影响[J].南京中医药大学学报,2015,31(6):528-531.

[5] 薛哲,刘存志,高树中等.隔药灸治疗原发性痛经及对患者生殖内分泌的影响[J].中国针灸,2014,34(3):209-212.

[6] 雷海燕.辨证分型隔药灸治疗原发性痛经临床观察[J].上海针灸杂志,2014,33(2):140-142.

[7] 李振联,李艳青,潘分乔等.隔中穴位贴敷灸治疗原发性痛经 55 例[J].上海针灸杂志,2013,32(2):130.

[8] 刘照时,黄月娜,赵苏萍等.隔药灸治疗前后不同证型原发性痛经患者生殖激素水平检测研究[J].中国妇幼保健,2016,31(4):779-781.

(上接第 210 页)

抗凝血酶和纤溶功能的关系[J].浙江临床医学,2004,6(4):274-275.

[13] 沈培辰,张代富,王娟,等.急性心肌梗死患者血浆 TAT 变化的价值[J].实用全科医学,2005,3(6):477-478.

[14] 芦璐,高辉,葛汝村,等.老年原发性高血压患者血栓前状态的研究[J].中国老年学杂志,2006,26(2):148-150.

[15] 李衬,李月川.慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者血浆 D-二聚体、抗凝血酶 III、纤维蛋白原检测的临床意义[J].湖北中医学报,2007,9(3):39.

[16] 吕元文,姜正华,李昌喜,等.慢性阻塞性肺疾病患者血浆抗凝血酶及凝血 3 项的测定[J].临床荟萃,2005,20(12):702.

[17] 翟中良,汪宏良,蒋玉叶,等.凝固时间法测定血浆抗凝血酶 III 活性及在肝病诊断中的临床应用[J].重庆医学,2006,35(21):1983-1984.

[18] Carr JM, Mckinney M, Donagh J, et al. Diagnosis of disseminated intravascular coagulation roce of Ddimer[J]. AMJ Clinpathol, 2009, 91

(34): 1020-1022.

[19] 苏学飞,黄秋莲,陈广新,等.肿瘤患者抗凝物质的检测及临床意义[J].右江民族医学院学报,2006,28(3):454.

[20] 苍忠齐,蔡奕蓉,徐成轩,等.三种恶性肿瘤患者血浆 D-二聚体、抗凝血酶 III 活性、纤维蛋白原含量的测定及其临床意义[J].吉林医学,2011,32(20):4114-4115.

[21] 薛城敬,于钦凤,肖伟,等.胸腔积液患者抗凝血酶活性测定及其临床意义[J].山东医药,2002,42(31):83-84.

[22] 张一鸣,蒋雅琴,袁佩.孕妇血浆纤维蛋白原、D-二聚体和 AT-III 动态检测的临床意义[J].临床检验杂志,2007,25(3):229.

[23] 杨锐,魏文宁,杨焰,等.血浆二聚体与抗凝血酶活性在血管内凝血诊治中的应用价值[J].中华内科杂志,2004,43(2):131.

[24] 殷勤,王丽馨,帖儒修,等.严重下肢创伤患者血浆纤溶酶原激活物抑制物和抗凝血酶 III 水平变化及弥散性血管内凝血相关性研究[J].药物研究,2011,20(16)21-22.

(上接第 211 页)

出血特征,充分认识并了解诱发该现象的高危因素,提高对产前评估的重视力度,做好整个生产过程的监测工作,实时掌握患者病情。当出现产后大出血现象时,需及时对出血量进行准确评估。要想减少产后大出血并发症,降低孕产妇死亡率,就应做到早发现、早治疗,所以,在临床工作中,应了解并掌握易引发产后出血的因素,通过监测和防范来应对产后大出血的发生,做好产后大出血的急救抢救预案,采取科学的护理措施,为孕产妇的生命安全提供最大保障,提高产后大出血患者生存率。

[参考文献]

[1] 刘永杰.浅谈产后出血的临床原因及护理措施[J].临床医

药文献电子杂志,2015,2(15):3055-3056.

[2] 张钰梓.探讨产后出血的原因及护理对策[J].世界最新医学信息文摘,2016,16(90):342-343.

[3] 叶金好.产后出血的原因及护理对策分析[J].内蒙古中医药,2016,35(3):155-156.

[4] 柯春华.产后出血的原因与护理方法分析[J].湖北科技学院学报(医学版),2017,31(3):271-272.

[5] 肖碧蓉.早期产后出血发生的原因及护理干预措施[J].智慧健康,2017,3(6):109-110.

[6] 张丽.产后出血原因及护理体会[J].医药前沿,2017,7(24):278-279.