

血栓弹力图监测低相对分子质量肝素的探讨

沈 韻, 张利伟, 林孝怡

(上海交通大学医学院附属瑞金医院检验科, 上海 200025)

摘要:目的 尝试使用血栓弹力图(TEG)R 时间来监测低相对分子质量肝素(LMWH)的临床用药。方法 选取本院肾脏内科肾病综合症住院患者 20 例,患者首次用药和第二次用药后 4 h 均抽血进行 TEG 和抗 Xa 活性检测;TEG R 时间及抗 Xa 活性的检测;TEG R 时间与抗 Xa 活性的相关性分析;抗 Xa 活性与首次用药间的相关性分析;TEG R 时间与首次用药的相关性分析;不同剂量用药间抗 Xa 活性的比较分析;不同剂量用药间 TEG R 时间的比较分析。结果 TEG R 时间与抗 Xa 活性无相关性($P=0.54, R=-0.1449$);抗 Xa 活性与首次用药量无相关性($P=0.26, R=-0.2636$);TEG R 时间与首次用药量间有显著相关性($P<0.0001, R=0.875$);2 次用药间抗 Xa 活性存在差异($P=0.0005, t=4.152$);2 次用药间 TEG R 时间存在显著差异($P<0.0001, t=15.19$)。结论 TEG R 时间比抗 Xa 活性更能准确反映出患者的 LMWH 用药情况。

关键词:低相对分子质量肝素;血栓弹力图;抗 Xa 活性

Study on the utility of thromboelastography in monitoring low molecular weight heparin SHEN Yun, ZHANG Liwei, LIN Xiaoyi. (Department of Clinical Laboratory, Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200025, China)

Abstract: Objective To attempt to use thromboelastography (TEG) reaction time (R) to monitor the clinical use of low molecular weight heparin (LMWH). **Methods** A total of 20 hospitalized patients from nephrology department with nephritic syndrome were enrolled. Blood samples were collected at 4 h after both firstly and secondly receiving dose in order to perform TEG and anti-Xa activity test. TEG R and anti-Xa activity were determined. The associations between TEG R and anti-Xa activity, between the dose of taking drugs at first time and anti-Xa activity, and between the dose of taking drugs at first time and TEG R, were analyzed. The comparative analysis of anti-Xa activity with different doses of taking drugs was performed. The comparative analysis of TEG R with different doses of taking drugs was performed. **Results** There was no association between TEG R and anti-Xa activity ($P=0.54, R=-0.1449$). There was no association between anti-Xa activity and the dose of taking drugs at first time ($P=0.26, R=-0.2636$). There was obvious association between TEG R and the dose of taking drugs at first time ($P<0.0001, R=0.875$). There was difference in anti-Xa activity between the 2 doses of taking drugs ($P=0.0005, t=4.152$). There was significant difference in TEG R between the 2 doses of taking drugs ($P<0.0001, t=15.19$). **Conclusions** TEG R reflects patients' condition of using LMWH much more accurately than anti-Xa activity.

Key words: Low molecular weight heparin; Thromboelastography; Anti-Xa activity

低相对分子质量肝素(low molecular weight heparin, LMWH)被广泛应用于血栓形成的预防和治疗。多数患者,常规用药未进行实验室监测。然而在许多肾病,尤其是肾病综合症患者,因药代动力学发生改变而致常规用药效果不一,故需进行实验室监测,以确保抗凝效果足够且不致出血。

目前 LMWH 的监测常通过抗 Xa 活性检测来完成。

血栓弹力图(thromboelastography, TEG)根据在低切变率条件下凝块形成的粘弹性原理,综合反映凝血抑制、凝血形成以及稳定的整个过程,全面反映凝血的全貌。我们旨在通过 LMWH 用药

量、抗 X_a 活性以及 TEG R 时间之间的相关性研究,以期寻找 LMWH 的最佳实验室监测指标。

材料和方法

一、材料

1. 病例 瑞金医院肾脏内科肾病综合症住院患者 20 例,其中男 14 例,女 6 例,年龄 18 ~ 72 岁,均由专科医师按标准化诊断方法^[1]确诊。

2. 样本采集 患者首次使用依诺肝素 4 000 U 后 4 h 静脉采血,立即送检;当日第二次用药 4 000 U,同前抽血。同时进行 TEG 和抗 X_a 活性检测,3 h 内监测完毕。

3. 试剂和仪器 (1) 血栓弹力图仪: Hemoscope TEG5000 血栓弹力图仪 (Haemonetics corporation, Skokie, IUinois, USA) 及其配套试剂 (TEG Kaolin),用于 TEG 检测;(2) DIGNOSTICA STAGO 半自动凝血仪 (France) 及其配套试剂,用于抗 X_a 活性 (STACLOT^R HEPARIN) 检测。

二、方法

1. TEG 检测 (1) 按仪器说明书进行定标及质控;(2) 将检测杯置于 TEG 检测仪检测架上,加入 0.2 M 氯化钙 20 μL;(3) 取枸橼酸钠抗凝血 1 000 μL 于高岭土管中充分混匀,吸取高岭土化全血 345 μL 于试管杯中,按 START 检测开始。待检测完成后记录 R 时间。

2. 抗 X_a 活性检测 (1) 按检测试剂盒说明书进行标准曲线制备及质控;(2) 顺序加入试剂 a (基质血浆) 100 μL,枸橼酸钠抗凝血浆 25 μL,试剂 b (FXa) 100 μL,37 °C 孵育 1 min,加入试剂 c (磷脂) 100 μL 观察凝固形成,根据凝固形成时间从标准曲线查出相应的 LMWH 含量 (u/mL)。

三、统计学方法

本研究使用 GraphPad Prism v 5.0 软件进行统计分析,采用 Spearman 秩相关检验分析相应指标的相关性, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、20 例患者 TEG R 值及抗 X_a 活性检测结果见表 1。

二、20 例患者 R 值与抗 X_a 活性检测的相关性分析

见图 1。由图 1 所见抗 X_a 活性和 R 时间间无相关性 ($P = 0.54, R = -0.1449$)

三、抗 X_a 活性与用量间的相关性分析

见图 2。由图 2 所见抗 X_a 活性与用量间无相关性 ($P = 0.26, R = -0.2636$)

四、TEG R 值与用量间的相关性分析

见图 3。由图 3 所见 R 时间与用量间有显著相关性 ($P < 0.0001, R = 0.875$)

表 1 20 例患者首次用药及 2 次用药 TEG R 时间和抗 X_a 活性检测结果

患者	体重 (kg)	第一次用药 (4 000 U)		第二次用药 (4 000 U)	
		抗 X _a 活性 (U/mL)	R 值 (min)	抗 X _a 活性 (U/mL)	R 值 (min)
1	50	0.10	9.10	0.41	11.20
2	64	0.32	8.40	0.43	10.90
3	85	0.56	6.40	0.59	12.10
4	70	0.52	7.80	0.71	13.90
5	83	0.50	6.00	0.93	12.30
6	62	0.31	8.50	0.55	11.90
7	75	0.15	6.80	0.29	12.30
8	64	0.64	8.20	0.91	13.50
9	70	0.68	7.50	1.12	10.90
10	64	0.33	8.00	0.51	14.20
11	69	0.31	7.40	0.83	11.80
12	80	0.34	6.70	0.71	11.30
13	70	0.57	6.30	0.62	12.10
14	68	0.32	6.90	0.45	10.80
15	70	0.31	7.60	0.39	11.70
16	68	0.10	6.90	0.51	13.10
17	80	0.23	6.30	0.72	11.70
18	71.5	0.34	7.50	0.41	12.50
19	63.5	0.15	8.10	0.59	11.30
20	48	0.45	9.20	0.62	13.10

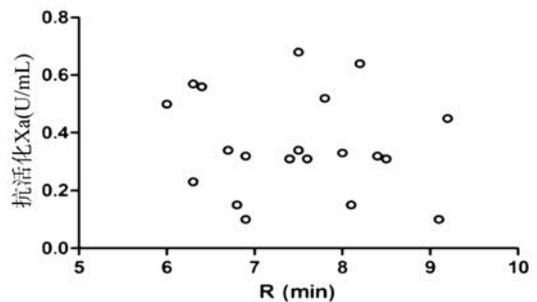


图 1 抗活化 X_a 和 R 时间的相关性分析 ($P = 0.54, R = -0.1449$)

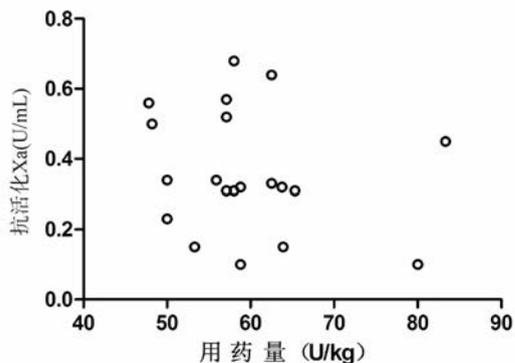


图 2 抗活化 X_a 与用药量的相关性分析
($P=0.26, R=-0.2636$)

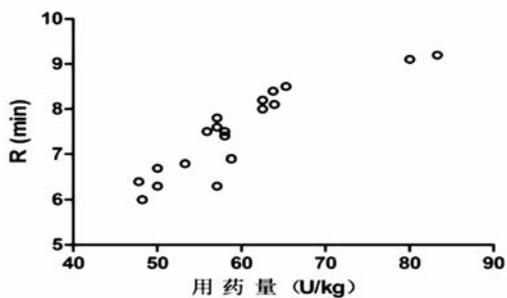


图 3 R 时间与用药量的相关性分析
($P<0.0001, R=0.875$)

五、2 种剂量用药与抗 X_a 活性的相关性分析
见图 4。由图 4 所见,2 次用药间抗 X_a 活性有差异。 $(P=0.0005, t=4.152)$

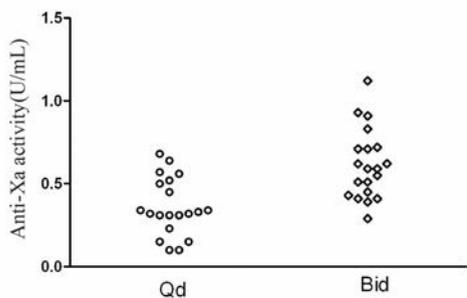


图 4 2 种剂量间抗 X_a 活性的比较分析($P<0.01$)

六、2 种剂量用药与 R 值的相关性分析

见图 5。由图 5 所见,2 次用药间 R 时间明显差异($P<0.0001, t=15.19$)

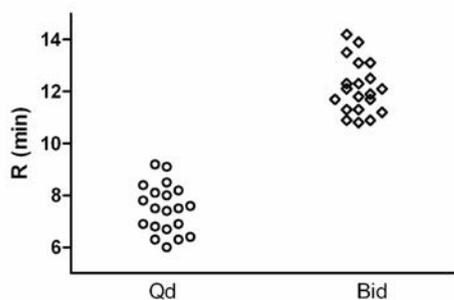


图 5 2 种剂量间 R 时间的比较分析($P<0.01$)

讨 论

低分子肝素由普通肝素进行化学或酶促反应解聚而成,由 4~25 个不同分子片段组成,相对分子质量约 4 000~9 000,低相对分子质量肝素可使抗凝血酶发生构型改变,并与其 1:1 结合,中和活化的 X_a 和 II_a 的比率约为 3~4:1。因此,从理论上讲,低相对分子质量肝素抗凝作用主要通过抑制 X_a 来完成的^[2]。

目前,许多商品化抗 X_a 活性检测试剂盒已经问世,但均存在批内误差大、受干扰因素多等缺点,且用抗 X_a 活性来反映低相对分子质量肝素的抗凝作用不甚全面,其尚可影响抗凝途径的其它方面,包括抗 II_a,组织因子途径抑制物(TFPI),直接抑制凝血酶及血小板功能,因此,全面评估患者的凝血状况更有利于监测患者的用药情况,尤其在肾功能衰竭等影响药代动力学的患者^[1]。

研究发现,低相对分子质量肝素用量与抗 X_a 活性及抗凝作用间缺乏相关性,AL Dieri 等^[3-4]证实,用药后,患者间抗 X_a 和抗 II_a 的变异系数为 22%~37%,并发现固定低相对分子质量肝素的用量可使 10%~13% 的患者用药不足及 5%~11% 的患者用药过量^[5]。因此,认为抗 X_a 活性与用药的有效性、或安全性间缺乏相关性^[6]。

我们的研究发现,抗 X_a 活性与用药量间($P=0.26, R=-0.1449$)及抗活化 X_a 与 TEG R 时间之间($P=0.54, R=-0.2636$)均无相关性,而 TEG R 时间与用药量间存在显著的相关性($P<0.0001, R=0.875$),二种剂量抗 X_a 活性和 TEG R 时间比较分析发现,前者差异有统计学意义($P<0.01, t=4.152$);而后者差异有显著统计学意义($P<0.01, t=15.19$)这可能是因为 TEG R 时间能够更全面反映 LMWH 对凝血因子抑制情况,而抗 X_a 活性只反映少部分凝血抑制的缘故。此外,根据低相对分子质量肝素用药指南,有效用药的抗 X_a 活性应为 0.6~1.0^[2]。我们首次用药患者 2 例达标,仅占首次用药者的 10%,而 2 次用药患者也仅 9 例达标,占总数的 45%,故而未达到理想的治疗效果。因此,我们认为,肾病综合症患者必须进行 LMWH 的用药监测,而 TEG R 时间是 1 个能反映 LMWH 用药情况的有效指标。

TEG 是 1 种检测凝血动态变化的分析手段,能完整地反映从凝血开始至血块形成及纤维蛋白溶解的全过程,对凝血因子、纤维蛋白、血小板聚

集功能以及纤维蛋白溶解等方面进行凝血全貌的检测和评估^[2,7]。本研究结果表明,TEG R 值反映了血液凝固过程的全部凝血因子活性。因此,更能确切地反映低相对分子质量肝素患者的抗凝水平,不失为低相对分子质量肝素临床检测的敏感指标,至于 TEG R 时间多少才能达到即不出血,又能达到抗凝的目的,尚待进一步研究。

参 考 文 献

[1] 葛均波,徐永健. 内科学[M]. 第 8 版. 北京:人民卫生出版社,2013:521-545.

[2] White H, Sosnowski K, Bird R, et al. The utility of thromboelastography in monitoring low molecular weight heparin therapy in the coronary care unit[J]. Blood Coagul Fibrinolysis, 2012,23(4):304-310.

[3] Van PY, Cho SD, Underwood SJ, et al. Thrombelastography versus AntiFactor Xa levels in the assessment of prophylactic-dose enoxaparin in critically ill patients [J]. J Trauma, 2009, 66(6):1509-1515.

[4] Al Dieri R, Alban S, Béguin S, et al. Fixed dosage of

low-molecular-weight heparins causes large individual variation in coagulability, only partly correlated to body weight[J]. J Thromb Haemost, 2006, 4(1):83-89.

[5] Kovacs MJ, Kearon C, Rodger M, et al. Single-arm study of bridging therapy with low-molecular-weight heparin for patients at risk of arterial embolism who require temporary interruption of warfarin [J]. Circulation, 2004,110(12):1658-1663.

[6] Barras MA, Duffull SB, Atherton JJ, et al. Individualized compared with conventional dosing of enoxaparin[J]. Clin Pharmacol Ther, 2008, 83(6):882-888.

[7] Reinhöfer M, Brauer M, Franke U, et al. The value of rotation thromboelastometry to monitor disturbed perioperative haemostasis and bleeding risk in patients with cardiopulmonary bypass [J]. Blood Coagul Fibrinolysis, 2008, 19(3):212-219.

(收稿日期:2013-08-14)

(本文编辑:范基农)

(上接第 612 页)

三、讨论

全自动生化分析仪试剂探针的残留携带,是造成检测项目间交叉污染,相互影响结果的重要因素^[1]。许多含镁的试剂如淀粉酶(AMY)、肌酸激酶(CK)、碱性磷酸酶(ALP)等直接污染^[2]可以影响镁的测定。总蛋白试剂不含镁,但含有较高浓度的硫酸铜成分^[3],铜离子与二甲苯胺蓝的发生显色反应干扰镁的检测结果。为了避免试剂携带污染的发生,目前普遍采取措施是通过调整污染项目测试顺序,增加探针清洗次数,安排在不同仪器或不同模块检测,更换检测方法等^[2,4-5]。但在日常工作中常受实验条件的限制,检测项目随机性强,以上方法会在一定程度上降低工作效率,增加运营成本。

由于总蛋白与镁的测定是均为单试剂法,残留的总蛋白试剂就可通过 R1 试剂探针的携带干扰镁离子的结果。本研究使用的是浓缩型的总蛋白试剂盒,使用前需用去离子水稀释。我们将干扰试剂设置为双试剂,干扰试剂成分改由 R2 试剂探针吸取,而 R1 试剂探针吸取对镁无干扰的去离子水,由生化分析仪在检测的过程中自行对总蛋白试剂浓缩液进行稀释。此法在不影响总蛋白测定(2 种总蛋白测定方法另经方法学的比对)

的前提下有效的排除了对镁的携带污染,方法简单方便,不影响工作效率。考虑到改进后的双试剂法总蛋白是否对其他双试剂项目产生干扰,经过试剂交叉污染实验方法^[2]进行筛查后未发现有携带污染存在。此外,我们在贝克曼 LX20 生化分析仪进行了同样的实验,获得类似的结果,故值得在其他实验室推广。

参 考 文 献

[1] 宋莲芳,颜景祥. 自动生化分析仪分析试剂探针污染携带率对检测结果影响的探讨[J]. 现代检验医学杂志, 2003, 18(2):61.

[2] 于嘉屏. 全自动生化分析仪及其试剂间化学污染对检测结果的影响[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(11):1301-1302.

[3] 叶应妩,王毓三. 全国临床检验操作规程[M]. 第 2 版. 南京:东南大学出版社,1997:155-288.

[4] 张国伟,张少锋. 雅培 C8000 生化分析仪总蛋白试剂的携带污染对血清镁测定的干扰及对策[J]. 检验医学, 2007, 22(6):749-750.

[5] 王传发. 日立 7600 生化分析仪检测血清镁中的试剂交叉污染及消除措施[J]. 检验医学, 2010, 25(6):465-467.

(收稿日期:2013-07-25)

(本文编辑:龚晓霖)