

异常黑胆质性哮喘血栓前状态的变化特点

克丽别娜·吐尔逊¹, 米合热古力·司马义¹, 迪丽努尔·乌甫尔¹, 热娜古丽·艾则孜², 哈木拉提·吾甫尔²

1. 新疆医科大学第一附属医院呼吸科, 乌鲁木齐 830011
2. 新疆医科大学维吾尔医学院, 乌鲁木齐 830011

摘要 为探讨新疆维吾尔族异常黑胆质型哮喘患者血栓前状态的变化特点, 对76例哮喘患者按维吾尔医学理论进行辨证分型(其中异常黑胆质型哮喘组30例, 非异常黑胆质型哮喘组46例), 并与健康对照组89名进行对照, 检测血小板膜表面糖蛋白CD41和CD62P、内皮素(ET-1)、组织型纤溶酶原激活物(t-PA)、组织型纤溶酶原激活物抑制剂-1(PAI-1)和凝血4项指标, 即血浆纤维蛋白原(FIB)水平、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶原时间(PT)、凝血酶时间(TT)。研究发现, 与正常对照组相比, 异常黑胆质型哮喘组和非异常黑胆质型哮喘组CD62P、ET-1、PAI-1水平均升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 且异常黑胆质型哮喘组CD62P、ET-1、PAI-1水平高于非异常黑胆质型哮喘组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。与正常对照组相比, 异常黑胆质型哮喘组和非异常黑胆质型哮喘组t-PA含量均降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 且以异常黑胆质型哮喘组下降较明显, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。与正常对照组相比, 异常黑胆质型哮喘组和非异常黑胆质型哮喘组FIB含量明显升高, 差异有统计学意义($P < 0.01$), 且异常黑胆质型哮喘组FIB含量高于非异常黑胆质型哮喘组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。APTT、PT时间较正常对照组缩短, 差异有统计学意义($P < 0.05$), APTT、PT时间在异常黑胆质型哮喘组最短, 其次为非异常黑胆质型哮喘组。研究表明, 异常黑胆质型哮喘患者的血管内皮细胞、血小板、凝血和纤溶功能都发生紊乱, 提示异常黑胆质型哮喘处于血栓前状态, 且这种状态较非异常黑胆质型哮喘更为突出。

关键词 异常黑胆质型; 支气管哮喘; 血栓前状态

中图分类号 R29

文献标志码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2014.17.010

Prethrombotic State in Bronchial Asthmatic Patients with Abnormal Savda

TUERXUN Kelibiena¹, SIMAYI Mihereguli¹, WUFUE Dilinuer¹, AIZEZI Renaguli², UPUR Halmurat²

1. Department of Respiratory Disease, The First Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China
2. Faculty of Traditional Uighur Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China

Abstract This paper discusses the changes of CD41, CD62P, ET-1, t-PA, PAI-1, FIB, APTT, PT, and TT in asthma patients with abnormal Savda. Totally 76 asthmatic patients were syndrome typed according to the body fluid theory of Uygur medicine. Among them, there were 30 asthmatic patients with abnormal Savda and 46 asthmatic patients without abnormal Savda. A comparison study was performed with 89 normal individuals (as the healthy control group). The expression of CD62P on platelets, the level of plasma tissue plasminogen activator (t-PA) and its inhibitor (PAI-1), the level of endothelin-1 (ET-1), activated partial thromboplastin time (APTT), fibrinogen (FIB), prothrombin time (PT) and thrombin time (TT) were tested by using flow cytometer, ELISA method, radioimmunoassay method and auto coagulometer. Finally, we found the followings. Compared to the normal control group, there was no significance between the expressions of the asthma with abnormal Savda group and the asthma without abnormal Savda group ($P >$

收稿日期: 2013-05-20; 修回日期: 2014-03-19

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973计划)项目(2011CB512004); 长江学者和创新团队发展计划项目(IRT0977)

作者简介: 克丽别娜·吐尔逊, 副教授, 研究方向为呼吸系统疾病, 电子信箱: kelbinur@yeah.net; 哈木拉提·吾甫尔(通信作者), 教授, 研究方向为新疆重大疾病的维吾尔医干预, 电子信箱: halmurat@263.net

引用格式: 克丽别娜·吐尔逊, 米合热古力·司马义, 迪丽努尔·乌甫尔, 等. 异常黑胆质型哮喘血栓前状态的变化特点[J]. 科技导报, 2014, 32(17): 64-70.

0.05); For the expression of CD62P in all the three groups ($P < 0.05$), the expression of CD62P in the asthma with abnormal Savda group was significantly higher than that of the asthma without abnormal Savda group ($P < 0.05$); The level of serum ET-1 was significantly higher in both the asthma with abnormal Savda and the asthma without abnormal Savda groups ($P < 0.05$); The level of ET-1 was significantly higher in the asthma with abnormal Savda group than those of the asthma without abnormal Savda group and the normal control group ($P < 0.01$); The level of plasma t-PA was significantly lower in both the asthma with abnormal Savda and the asthma without abnormal Savda groups ($P < 0.05$); The level of serum PAI-1 was significantly higher in both the asthma with abnormal Savda and the asthma without abnormal Savda groups ($P < 0.05$); The level of plasma FIB was significantly higher in the asthma with abnormal Savda and asthma without abnormal Savda groups ($P < 0.05$), the level of plasma FIB was significantly higher in the asthma with abnormal Savda group than those of the asthma without abnormal Savda group and the normal control group; The level of APTT and PT were significantly shortened in the asthma with abnormal Savda and asthma without abnormal Savda groups ($P < 0.05$). There was no significance on TT between these three groups.

Keywords abnormal Savda; bronchial asthma; prethromboticstate

血栓前状态(PTS)是指机体促凝和天然抗凝机制平衡失调,即血管内皮细胞、血小板、凝血、纤溶系统等发生改变所引起的有利于血栓形成的病理状态,即纤维蛋白产生前的状态。PTS是指凝血、抗凝及纤溶机制平衡失调,即血管内皮细胞、血小板、凝血、抗凝和纤溶系统等发生改变所引起的有利于血栓形成的病理状态^[1,2]。这些变化可以反映出:1)血管内皮细胞受损或受刺激;2)血小板和白细胞被激活或功能亢进;3)凝血蛋白(凝血因子)含量增高或被活化;4)抗凝蛋白(抗凝因子)含量减少或结构异常;5)纤溶因子含量减少或活性减弱;6)血液黏度增高和血流减慢^[3]。这些因素在血栓形成前已发生不同程度的变化,因此通过有关检测,可判定血栓前状态。近几年的研究认为,血栓前状态的一些分子标志物具有较强的可靠性和准确性。

分子标志物是指由这些因素在活化过程中或在代谢过程中表现出某些特征或释放出某些产物^[4,5]。通过检测凝血激活的某些微量的分子标志物可反映体内高凝状态或血栓形成等情况^[6]。较常用的分子标志物有:1)激活血小板的蛋白质CD41(GPIIb),它与CD61(GPIIIa)在血小板膜上以1:1的复合物形式存在,在血小板黏附聚集中起关键性作用^[7];2)反映血小板活化和破坏的程度的蛋白质CD62P^[7];3)反映内皮损伤状况的可靠指标内皮素-1(ET-1)^[8];4)反映纤溶系统活性的组织型纤溶酶原激活物(t-PA)和组织型纤溶酶原激活物抑制剂(PAI-1)^[9,10];5)凝血4项指标:包括参与止血、血栓形成的主要物质纤维蛋白原(FIB)和反映凝血功能的活化部分凝血活酶时间(APTT)、血浆凝血酶原时间(PT)及凝血酶时间(TT)^[11]。

根据维吾尔医体液论,异常黑胆质体液极易附着在血管壁上,使血管变硬变窄,通透性变差;焦灼黑胆质浓度较高时,容易引发异常黑胆质性凝结,且具有强刺激和破坏作用,导致哮喘等疾病^[12]。异常黑胆质是否通过损伤血管内皮细胞,激活血小板、打破纤溶平衡导致哮喘,可能的物质基础是否是血栓前状态。本文通过对哮喘患者按维吾尔医体液论辨

证分型,了解血栓前状态在哮喘不同体液分型患者的变化、探寻异常黑胆质性哮喘血栓前状态的物质基础及其特点。

1 资料与方法

1.1 诊断标准

支气管哮喘诊断分级标准参照中华医学会呼吸病学分会哮喘学组(2003年)制定的“支气管哮喘防治指南(支气管哮喘的定义、诊断、治疗及教育和管理方案)”^[13]。

1.2 维医辨证分型标准

以新疆维吾尔医药高等学校教材《维吾尔医诊断学》^[14]、《维吾尔医气质、体液论及其现代研究》^[15]为依据,对哮喘患者进行辨证分型,分为异常黑胆质型哮喘和非异常黑胆质型哮喘(包括异常血液质型哮喘、异常黏液质型哮喘、异常胆液质型哮喘),具体分型标准如下。

1) 异常黑胆质型。喉中哮鸣有声,胸膈满闷,喘咳无痰,或少痰呈泡沫样,口渴喜热饮,饮不解渴,但欲漱口不欲咽,面色萎白而发干,唇色淡白而枯燥,舌质淡红之涩,舌形瘦,舌涎少,舌苔薄白而不润,大便干结而色淡不臭,小便清而短少。

2) 异常黏液质型。喉中哮鸣有声,胸膈满闷,咳痰稀白,不易咯出,口不干,面色白泽或晦黄,唇色淡白,舌质淡,舌形胖,舌涎多,舌苔薄而润,或白腻,大便溏薄,色淡黄,气腥臭,小便清长。

3) 异常胆液质型。烦扰气促,无痰或少痰,痰不易咯出,痰少而黏或带血丝如粉线,咽干鼻燥,面干唇色红或紫而燥,舌质深红,扪之糙,舌形瘦,舌涎少,舌苔色深黄而薄,大便干燥,色深黄气臭,小便短赤。

4) 异常血液质型。喉中哮鸣如吼,气粗息涌,胸膈烦闷,呛咳阵作,痰黄黏稠,排吐不利,口干喜冷饮,面色淡黄,润而有光,唇色红紫而不枯燥,舌质红,舌液多,舌苔厚腻而黄,或罩深黑色于上,大便时溏时结深黄气臭,小便黄。

1.3 纳入及排除标准

纳入标准:符合西、维医支气管哮喘的诊断分型标准,年

龄 17~72 岁,急性发作期患者。排除标准:1) 经检查证实为结核、矽肺、真菌、肿瘤等因素所致的慢性咳嗽、喘息患者;2) 合并有心血管、肾、肝脏疾病,糖尿病或造血系统等严重原发性疾病及精神病患者。

1.4 一般资料

收集 2009 年 3 月至 2011 年 5 月新疆和田地区第一人民医院 76 例哮喘患者,其中,重度哮喘 27 例,中度哮喘 33 例,轻度哮喘 16 例。按维医辨证分型分为异常黑胆质型哮喘组(异黑组)和非异常黑胆质型哮喘组(非异黑组)。异常黑胆质型哮喘组 30 例,男性 14 例,女性 16 例;年龄 17~72 岁,平均年龄(38.48±9.45)岁;病程 3~24 年,平均病程(13.35±9.72)年。非异常黑胆质型哮喘组 46 例,男性 13 例,女性 33 例;年龄 17~72 岁,平均年龄(38.11±9.14)岁;病程 4~23 年,平均病程(13.42±9.13)年。两组患者性别、年龄、病程等比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。另任选 89 名健康成年人作为正常对照组,均来自新疆和田地区,经询问病史及各项检查证实为健康者。其中,男性 41 名,女性 48 名,年龄 18~70 岁,平均(38.12±8.23)岁。健康对照组 1 个月内无急性上呼吸道感染,胸部 X 线检查未见异常,均无哮喘病史、哮喘病家族史及典型过敏史(包括湿疹、过敏性鼻炎、过敏性皮炎),本组亲属中未问及有患哮喘病者。3 组均为长期生活在新疆和田地区(3 代或以上)未与其他民族通婚的维吾尔族人群,近期未用糖皮质激素。

1.5 主要仪器

酶标仪为 Sunrise Remote(丹麦 Sunrise 公司);洗板机为 Sunrise Remote(丹麦 Sunrise 公司);微量震荡器为 WZQ-1 型(沈阳市温控开关厂);全自动血凝分析仪为 AMAX-200 型(德国 Amelung 公司);流式细胞仪为 EpicsXL-型(美国 Beckman Coulter 公司);电热恒温培养箱为 DNP-9162(上海精密实验设备有限公司);低速冷冻离心机为 KDC-2046(科大创新股份有限公司中佳分公司);冰箱为美菱 BCD-275(科大创新股份有限公司中佳分公司);放射免疫计数器为 GC-2016y(科大创新股份有限公司中佳分公司)。

1.6 主要试剂

免疫荧光单克隆抗体 CD41-PE 及免疫荧光单克隆抗体 CD62P-FITC 均购自美国 ImmunoTech 公司。底物 OPD 片剂、浓缩洗涤液(20×);标本稀释液、酶标抗体工作液;底物稀释液、终止液;包被抗人 t-pA 抗体、标准品;包被抗人 PAI-1 抗体、标准品;Fib 凝血酶、定值血浆、缓冲液;APTT 试剂、0.025 mol/L 氯化钙;PT 凝血酶、缓冲液及 TT 凝血酶、TT 缓冲液均购自上海太阳生物技术有限公司。

1.7 检测指标及方法

以哮喘患者及健康人为主要研究对象,清晨取空腹静脉血用于检测血小板膜表面糖蛋白 CD41 和 CD62P、ET-1、t-PA、PAI-1 和凝血 4 项指标,即 FIB、APTT、PT、TT。

1.7.1 血小板膜表面糖蛋白(CD41 和 CD62P)的检测

清晨采肘静脉血,全血由 EDTA 抗凝。各管加稀释液 70 μ L,

全血 5 μ L,分别加入荧光染料 CD41-PE 5 μ L、CD62P-FITC 8 μ L 进行染色,轻揉混匀,避光孵育 30 min,待测。选择氩离子激光激发,激发波长为 488 nm,测定中以前向角散射(FSC)对侧向散射(SSC)设门,调整电压,圈出血小板群,获取 20000 个血小板黄光信号(FITC、PE)用 PMT1、PMT2 收集,转化成 log 信号散点图,以 Expo 软件进行处理,得出 CD41、CD62P 阳性血小板百分数。

1.7.2 ET-1 检测

取清晨空腹静脉血 2 mL,置于 EDTA-Na₂ 抗凝真空管,4℃、3000 r/min 离心 10 min,取出上清血浆,-80℃ 保存待测。向待测血浆中加入 125I-ET(红色)、兔抗-ET 抗血清(蓝色)各 100 μ L,摇匀,4~8℃ 温育 24 h。加入驴抗兔免疫分离剂 500 μ L,充分摇匀,室温放置 15 min,4℃、3500 r/min 离心 15 min,吸弃上清,测各沉淀管的放射性计数(cpm)。采用 logit-log 处理软件由电脑自动处理数据。

1.7.3 t-PA 和 PAI-1 检测

取清晨空腹静脉血 2 mL,置于枸橼酸钠抗凝真空管,4℃、3000 r/min 离心 10 min,取出上清血浆,-80℃ 保存待测。收集好标本后将待测血浆分别加入包被抗人 tPA 抗体和 PAI 抗体的反应条内,充分混匀,37℃ 孵育 150 min,然后洗板机洗涤,每孔加 OPD 底物稀释液 100 μ L,37℃ 孵育 15~20 min 使其显色,每孔加终止液 50 μ L 终止反应,最后由 550 酶标仪检测,并在 492 nm 处测定各孔 OD 值,以 OD₄₉₂ 对 t-PA、PAI-1 标准品含量(ng/mL)在坐标上作标准曲线,待测样本含量(ng/mL)可从标准曲线上查出。

1.7.4 凝血 4 项指标检测

取清晨空腹静脉血 2 mL,置于枸橼酸钠抗凝真空管,3000 r/min 离心 15 min,其中 FIB 测定采用 Clauss 比浊法,其余指标采用相应配套试剂,然后由自动血凝分析仪检测。由机器自动将待测血浆用缓冲液作 1:10 稀释,并取得待测稀释血浆 200 μ L,37℃ 预温 30 min,加入凝血酶溶液 100 μ L,测定各项指标。

1.8 统计学方法

统计学处理均应用 SPSS 15.0 统计软件包进行处理分析,试验结果以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,计数资料以率(%)表示。百分比数据进行平方根反正弦变换(数据转换公式为 DEGREES(ASIN(1)) = ASIN(1) · 180/PI()),即将百分比转换成弧度后进行检验,最后的统计结果再将弧度转换成百分比。采用完全随机设计两组样本的 *t* 检验及多组样本的方差分析。取检验水准 $\alpha = 0.05$ 。 $P < 0.01$ 表示差异极显著, $P < 0.05$ 表示差异显著, $P > 0.05$ 表示差异不显著。

2 结果与分析

2.1 血小板膜表面糖蛋白(CD41 和 CD62P)检测结果

经 Expo 软件处理,得出 CD41 和 CD62P 阳性血小板百分数(图 1、图 2)。

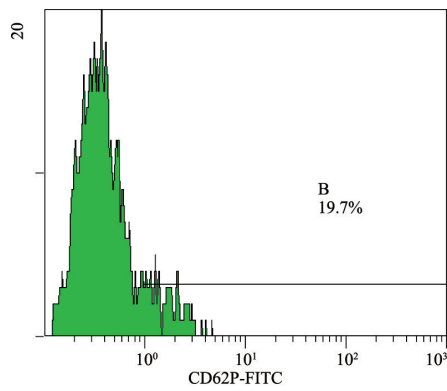


图1 流式细胞分析技术检测血小板CD62P的结果
Fig. 1 Results of the detection of platelet CD62P flow cytometry analysis

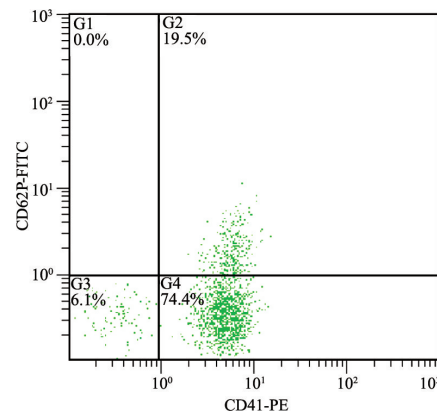


图2 流式细胞分析技术检测血小板CD41的结果
Fig. 2 Results of detecting platelet CD41 flow cytometry analysis

2.2 哮喘维医体液分型与正常对照组CD41和CD62水平检测结果

与正常对照组相比,异常黑胆质型哮喘组和非异常黑胆质型哮喘患者CD41阳性表达率无明显差异($P > 0.05$);

CD62P阳性表达率均升高($P < 0.05$),且异常黑胆质型哮喘组CD62P水平高于非异常黑胆质型哮喘组($P < 0.05$),CD62P阳性表达率在各组间呈:异常黑胆质型哮喘组 > 非异常黑胆质型哮喘组 > 正常对照组不同程度的梯度变化(表1)。

表1 3组间CD41和CD62P水平的变化及组间比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Variation of CD41 and CD62P levels among three groups and their comparison ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	CD41 阳性表达率/%	χ^2	P	CD62P 阳性表达率/%	χ^2	P
异黑组	32	90.07±2.39	0.9081	0.4067	4.81±1.98*▲	14.0644	0.000
非异黑组	35	96.66±2.48			3.75±2.01*		
正常对照组	33	96.76±1.64			2.29±1.58		

注:与正常对照组相比,* $P < 0.05$,★ $P < 0.01$;与非异常黑胆质型组相比,▲ $P < 0.00$ 。

2.3 哮喘维医体液分型与正常对照组ET-1正常检测结果

与正常对照组相比,异常黑胆质型哮喘组和非异常黑胆质型哮喘组ET-1水平均升高($P < 0.05$),且异常黑胆质型哮喘

组ET-1水平高于非异常黑胆质型哮喘组($P < 0.05$),ET-1水平在各组间呈:异常黑胆质型哮喘组 > 非异常黑胆质型哮喘组 > 正常对照组不同程度的梯度变化(表2)。

表2 3组间ET-1水平变化及组间比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Variation of ET-1 level among three groups and their comparison ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	ET-1 水平/(pg·mL ⁻¹)	χ^2	P
异黑组	32	127.11±49.60*▲	3.39	0.0374
非异黑组	35	117.36±40.85*		
正常对照组	33	101.3±36.02		

注:与对照组相比,* $P < 0.05$;与非异常黑胆质型组相比,▲ $P < 0.05$ 。

2.4 哮喘维医体液分型与正常对照组t-PA和PAI-1检测结果

与正常对照组相比,异常黑胆质型哮喘组和非异常黑胆质型哮喘患者t-PA含量均下降($\chi^2=3.0741, P < 0.05$),异常黑胆质型哮喘组下降明显,t-PA含量在各组间呈:异常黑胆

质型哮喘组 < 非异常黑胆质型哮喘组 < 正常对照组不同程度的梯度变化;PAI-1含量均升高($\chi^2=3.458, P < 0.05$),在异常黑胆质型哮喘组升高明显,PAI-1含量在各组间呈:异常黑胆质型哮喘组 > 非异常黑胆质型哮喘组 > 正常对照组不同程度的梯度变化,见表3。

表3 3组间t-PA和PAI-1水平的变化及组间比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Variation of t-PA and PAI-1 levels among three groups and their comparison ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	t-PA水平/(pg·mL ⁻¹)	χ^2	P	PAI-1水平/(pg·mL ⁻¹)	χ^2	P
异黑组	32	17.60±10.82 [*]	4.249	0.047	56.89±15.71 [*]	3.458	0.035
非异黑组	35	17.92±8.52 [*]			54.14±16.35 [*]		
正常对照组	33	22.33±7.39			47.39±12.80		

注:与正常对照组相比,*P<0.05。

2.5 哮喘维医体液分型与正常对照组FIB、APTT、PT、TT检测结果

与正常对照组比较,异常黑胆质型哮喘组和非异常黑胆质型哮喘组患者FIB含量明显升高($\chi^2=10.0559, P<0.01$),且异常黑胆质型哮喘组FIB含量高于非异常黑胆质型哮喘组($\chi^2=10.0559, P<0.05$),FIB含量在各组间呈:异常黑胆质型

哮喘组>非异常黑胆质型哮喘组>正常对照组不同程度梯度变化;异常黑胆质型哮喘组和非异常黑胆质型哮喘组APTT、PT时间缩短($\chi^2=10.5830, \chi^2=6.7997, P<0.05$),APTT、PT时间长短依次为异常黑胆质型哮喘组<非异常黑胆质型哮喘组<正常对照组;TT的变化无差异($\chi^2=1.44, P>0.05$),见表4、表5。

表4 3组间FIB和APTT水平的变化及组间比较($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Variation of FIB and APTT levels among three groups and their comparison ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	FIB水平/(mg·L ⁻¹)	χ^2	P	APTT/s	χ^2	P
异黑组	32	3.82±1.34 ^{*▲}	10.0559	0.0001	30.11±4.12 [*]	10.5830	0.0001
非异黑组	35	3.64±1.23 [*]			31.17±6.26 [*]		
正常对照组	33	2.64±0.53			35.16±3.05		

注:与正常对照组相比,*P<0.05;与非异常黑胆质型组相比,▲P<0.05。

表5 3组间PT、TT水平的变化及组间比较($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Variation of PT and TT levels among three groups and their comparison ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	PT/s	χ^2	P	TT/s	χ^2	P
异黑组	32	12.72±1.12 [*]	6.7997	0.0017	12.21±0.79	1.44	0.2119
非异黑组	35	12.80±1.14 [*]			12.29±1.27		
正常对照组	33	13.61±0.93			12.41±1.02		

注:与正常对照组相比,*P<0.01。

3 讨论

3.1 异常黑胆质型哮喘血栓前状态分子标志物的变化特点

支气管哮喘是由多种炎症细胞参与的气道慢性炎症,炎症细胞浸润并释放大量炎性介质,这些介质可导致血管内皮细胞损伤,激活血液中凝血因子,凝血物质增加,发生凝血反应,引起肺微血管收缩,导致微循环淤滞^[16-20]。

血栓前状态的一些分子标志物具有较强的可靠性和准确性,通过检测凝血激活的某些微量的分子标志物可反映体内高凝状态或血栓形成等情况^[6]。

CD41又称GPIIb,与CD61(GPIIIa)能在Ca²⁺参与下以1:1的比例构成复合物CD41/CD61(GPIIb-GPIIIa)。静息时,血小板该复合物上纤维蛋白原受体的结合部位未暴露,当血小板受到刺激活化后,其空间构型发生变化而与纤维蛋白原结合,引起纤维蛋白原构型变化而成为“桥链”,导致相邻小

板间聚集活化,发生释放反应,加速血小板血栓的形成。CD41在静息和活化的血小板上均表达且能恒定,血小板活化时CD41/CD61复合物作为纤维蛋白受体可出现变化,但总CD41的数量无改变^[23]。正如本文结果显示,可能是CD41作为血小板身份的标识物,静息状态时已在其表面表达大量的CD41/CD61复合物,血小板活化时膜内外转位的糖蛋白对CD41总的影晌不大。

CD62P,又名颗粒膜蛋白140×10³(granular membrane protein 140×10³,GMP-140)或简称P选择素,是目前所知反映血小板活化与释放最特异的标志物^[24]。其作用是介导血小板黏附于内皮细胞,以及血小板中性粒细胞、血小板单核细胞的连接,使中性粒细胞激活,释放多种活性酶、细胞因子等血管活性物质,损伤内皮细胞,引起基底膜通透性增加,细胞外基质增生、纤溶活性下降、纤维蛋白原沉积等多种生物学效

应,启动血栓形成过程^[25]。静息血小板和内皮细胞很少表达P-选择素,当两种细胞受凝血酶、组胺、过氧化氢、氧自由基、缺氧、补体C5a、高血糖等刺激激活时,P-选择素在细胞膜表面大量并持久表达,成为反映血小板活化程度的标志物^[26]。本文研究结果显示异常黑胆质性哮喘患者血小板活化性增强。

内皮素是目前已知最强的缩血管物质之一,参与多种疾病的病理生理过程^[21]。ET包括3种亚型,ET-1、ET-2、ET-3。其中ET-1活性最强,主要在内皮细胞中表达,它在内皮细胞损伤时释放,是其损伤标志物,其血浆浓度水平可作为反映内皮损伤状况的可靠指标^[27,28]。本研究提示异常黑胆质性哮喘组患者存在血管内皮细胞损伤。

组织性纤溶酶原激活物是纤溶系统的主要启动因子,是体内最强烈的纤溶酶原激活物^[29]。纤溶酶原激活物抑制剂-1主要来源于血管内皮细胞、血小板、巨核细胞、平滑肌细胞和肝细胞。PAI-1的主要功能是以1:1的比例与t-PA活性中心的丝氨酸发生不可逆的共价结合,形成复合物,从而抑制t-PA的活性^[30]。t-PA是纤溶过程的主要启动因子,在纤溶系统的激活中占有重要的地位,PAI-1是t-PA活性的主要抑制因子,二者之间的平衡对维持正常的血液流动有着重要的作用,t-PA过高和/或PAI-1降低,致纤溶活性亢进,可以导致出血症状;t-PA过低和/或PAI-1增高,致纤溶活性降低,可以导致血栓形成^[31,32]。本文资料结果说明其PAI-1和t-PA的正常平衡状态被打破,提示异常黑胆质性哮喘组患者纤溶功能减退。

FIB、APTT、PT、TT是反映凝血功能状况的4个指标。其中FIB是重要的凝血因子,是凝血系统中的“中心”蛋白质。FIB可诱导血小板聚集,刺激因子相关抗原释放,后者在调节血小板黏附于受损的血管壁过程中起关键作用^[33]。FIB又是非特异性调理素,在血浆中可以形成具有结构黏度的网状结构,可吸附于红细胞表面,形成细胞-蛋白-细胞桥联复合物增强红细胞聚集而促进缗钱状物形成,导致血黏度增高^[34]。FIB同时是参与血小板黏集的重要辅助因子,在激活的血小板之间作为桥梁与血小板膜上的糖蛋白受体(GpIIb/IIIa)结合,将它们互相连接起来,从而促进血小板黏集和血栓形成^[35];APTT是内源性凝血系统较为敏感和常用的筛选试验;PT是一种反映外源性凝血系统有无异常的较敏感筛选试验;TT是观察凝血因子血中抗凝物质增多与否。本文研究显示,异常黑胆质性哮喘组患者体内存在血液凝固性增强倾向。

3.2 异常黑胆质性哮喘与非异常黑胆质性哮喘血栓前状态的不同

维吾尔医学体液论认为,人体由胆液质,血液质,黏液质和黑胆质等4种体液组成。人体体液的平衡是机体保持正常生理功能的基础,在正常生理状态下体液处于一种动态平衡状态,人体的各种脏器,组织和细胞均发挥自己的正常生理功能,从而使机体保持内稳态。当机体遇到体内外几种或多种不良因素(如饮食,环境,精神因素等)的影响或长时间处

于不良环境时,体液在质和量上发生变化,超越人体自行调节功能,导致体液平衡紊乱,产生异常胆液质、异常血液质、异常黏液质和异常黑胆质等异常体液。各异常体液长期积聚,所致疾病长期不愈,在机体“热”作用下,体液质“燃烧”继而“沉淀”形成最终病理产物或表现形式异常黑胆质体液^[36]。

本资料对异常黑胆质性哮喘与非异常黑胆质性哮喘患者的血栓前状态分子标志物的变化进行研究,与正常对照组相比,CD62P、ET-1、PAI-1、FIB水平在异常黑胆质性哮喘患者组和非异常黑胆质性哮喘患者组均升高($P < 0.05$),以异常黑胆质性哮喘患者组升高明显;t-PA水平在异常黑胆质性哮喘患者组和非异常黑胆质性哮喘患者组均下降($P < 0.05$),以异常黑胆质性哮喘患者组下降明显,提示异常黑胆质性哮喘与非异常黑胆质性哮喘患者均存在血管内皮细胞损伤、血小板活化、血液黏度增高、纤溶功能降低,表明异常黑胆质性哮喘与非异常黑胆质性哮喘患者的血管内皮细胞、血小板、凝血和纤溶功能都发生紊乱,且异常黑胆质性哮喘患者紊乱程度更突出。

维吾尔医学异常黑胆质性哮喘病情较重,发病机理较为复杂,结合以往研究结果,认为在诊断异常黑胆质性哮喘时,基于维吾尔的辨证分型标准,同时应考虑患者免疫功能紊乱、内源性皮质醇降低、血清ECP、T-IgE、S-IgE水平肺功能FEV₁及 β_2 -AR、IL-4、IL-13基因多态性和CD62P、ET-1、t-PA、PAI-1、FIB、APTT、PT的改变,并应将这些指标作为维吾尔治疗异常黑胆质性哮喘判断疗效的部分微观指标。

4 结论

异常黑胆质性哮喘患者的血管内皮细胞、血小板、凝血和纤溶功能都发生紊乱,表现为血管内皮细胞损伤、血小板活化、血液黏度增高、纤溶功能降低,提示异常黑胆质性哮喘处于血栓前状态,且这种状态较非异常黑胆质性哮喘更为突出。

参考文献(References)

- [1] Bauer K A, Rosenberg R D. The pathophysiology of the perthrombotic state in humans: Insights gained from studies using markers of hemostatic system activation[J]. *Blood*, 1987, 70(2): 343-350.
- [2] 常玉荣, 杨德全, 唐福美, 等. 血栓栓塞性疾病血栓前状态的实验室诊断[J]. *中国综合临床*, 2001, 17(2): 83.
Chang Yurong, Yang Dequan, Tang Fumei. Thromboembolic disease before thrombus state laboratory diagnosis[J]. *Clinical Medicine of China*, 2001, 17(2): 83.
- [3] Beather E, Lichtman M A, Collier B S, et al. *Hematology*[M]. 6th ed. New York: McGraw Hill, 2001: 1735-1763.
- [4] 宗俊学, 芦璐, 徐洪玉. 血栓前状态与高血压病的关系[J]. *血栓与止血学*, 2005, 11(1): 21-23.
Zong Junxue, Lu Lu, Xu Hongyu. The relationship between prethrombotic state and hypertension[J]. *Chinese Journal of Thrombosis and Hemostasis*, 2005, 11(1): 21-23.
- [5] Falanga A, Tickles F R. Pathophysiology of the thrombophilic state in the cancer patient[J]. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 2002, 25(2): 173-182.
- [6] Sarkar R R, Banerjee S. Cancer self remission and tumor stability a stochastic approach[J]. *Mathematical Biosciences and Engineering*, 2005,

- 196(1): 65-81.
- [7] Calvete J. Clues for understanding the structure and function of a prototypic human integrin: The platelet glycoproteinIIb/III acomplex[J]. *Thrombosis and Haemostasis*, 1994, 7(1): 11-16.
- [8] Egidy G, Juillerat J L, Jeannin J F, et al. Modulation of human colon tumor-stromalinter actions by the endothelin system[J]. *American Journal of Pathology*, 2000, 157(6): 1863-1874.
- [9] Calvete J J. Clues for understanding the structure and function of a prototypic human integrin: The platelet glycoproteinIIb/III acomplex[J]. *Thrombosis and Haemostasis*, 1994, 7(1): 11-16.
- [10] Erlandsen S L, Bittermann A G, White J, et al. High-resolution cryo-EM of individual cell adhesion molecules (CAMs) in the glycocalyx of human platelets: Detection of P-selectin(CD62P), GPI-IX complex (CD42a/CD42b, bB), and integrin GPIIb/IIIa(CD41/CD61) by immunogold labeling and stereo imaging[J]. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 2001, 49(7): 809-819.
- [11] Suzuki S, Hayashi Y, Wang Y, et al. Urokinase type plasminogen activator receptor expression in colorectal neoplasms[J]. *Gut*, 1998, 43(6): 798-805.
- [12] 哈木拉提·吾甫尔. 维吾尔医学气质、体液论及其现代研究[M]. 乌鲁木齐: 新疆科学技术出版社, 2003, 7: 75-77.
- Upur Halmurat. Theory of mizaj and hilit in Uighur medicine and modern study[M]. Urumqi: Xinjiang Science and Technology Publishing House, 2003, 7: 75-77.
- [13] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 支气管哮喘防治指南(支气管哮喘的定义、诊断、治疗及教育和管理方案)[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2003, 26(3): 132-136.
- Bronchial Asthmatic Group of Respiratory Medicine Branch of Chinese Association. The Chinese medical association respiratory epidemiology (Bronchial asthmatic diagnosis and treatment guidelines)[J]. *Chinese Journal of Tuberculosis and Respiratory Diseases*, 2003, 26(3): 132-136.
- [14] 巴克·阿里木阿吉. 维吾尔医诊断学[M]. 乌鲁木齐: 新疆人民出版社, 2012: 111-120.
- Alemajim Bak. Uighur medical diagnostics[M]. Urumqi: Xinjiang People's Medical Publishing House, 2012: 111-120.
- [15] 哈木拉提·吾甫尔. 维吾尔医气质、体液论及其现代研究[M]. 乌鲁木齐: 新疆科学技术出版社, 2003: 40-47.
- Upur Halmurat. Theory of mizaj and hilit in uighur medicine and modern study[M]. Urumqi: Xinjiang Science and Technology Publishing House, 2003: 40-47.
- [16] Dunn E J, Grant P J. Type 2 diabetes: Another thrombotic syndrome[J]. *Current Molecular Medicine*, 2005, 5(3): 323-332.
- [17] Lip G Y, Edmunds E, Beevers D G. Should patients with hypertension receive antithrombotic therapy?[J]. *Journal of Internal Medicine*, 2001, 249(3): 205-214.
- [18] 严宗毅, 魏茂元, 于天文. 血液流变学[M]. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 1993: 209-215.
- Yan Zongyi, Wei Maoyuan, Yu Tianwen. Hemorheology[M]. Harbin: Heilongjiang Science and Technology Publishing House, 1993: 209-215.
- [19] Korbut R, Gryglewski R J. The effect of prostacyclin and nitric oxide on deformability of red blood cells in septic shock in rats[J]. *Physiology and Pharmacology*, 1996, 47(4): 591-599.
- [20] Baskurt O K, Gdmont D, Meiselman H J. Red blood cell deformability in sepsis[J]. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 1998, 157: 421-427.
- [21] 武焕玲, 林隆玖. 血栓前状态研究进展[J]. *中国实验诊断学*, 2003, 7(4): 277-280.
- Wu Huanling, Lin Longjiu. The reviewed of prethrombotic state[J]. *Chinese Journal of Laboratory Diagnosis*, 2003, 7(4): 277-280.
- [22] 李家增. 血管血栓性疾病的发病机制和防治[J]. *基础医学与临床*, 2006, 26(6): 561-565.
- Li Jiazeng. Pathogenic mechanism and treatment of vascular thromboembolism disease[J]. *Basic Medical Sciences and Clinics*, 2006, 26(6): 561-565.
- [23] Ferguson J J, Waly H M, Wilson J M. Fundamentals of coagulation and glycoprotein IIb/IIIa receptor inhibition[J]. *European Heart Journal*, 1998, 19(S1): D3.
- [24] 徐宜, 孙文学. 老年糖尿病肾病血小板活化分子检测的意义[J]. *黑龙江医学*, 2004, 28(1): 26-28.
- Xu Yi, Sun Wenxue. Significance of detection of platelet activation markers in elderly diabetic nephropathy[J]. *Heilongjiang Medical Journal*, 2004, 28(1): 26-28.
- [25] Zizzi H C, Zibari G B, Granger D N, et al. Quantification of P-selectin expression after renal ischemia and reperfusion[J]. *Journal of Pediatric Surgery*, 1997, 32(7): 1010-1013.
- [26] Miamino T, Kitakase M, Sanada S, et al. Increased expression of P-selectin on platelets is a risk factor for silent cerebral infarction in patients with atrial fibrillation[J]. *Circulation*, 1998, 98(3): 1721-1727.
- [27] Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells[J]. *Nature*, 1988, 332(6163): 411-415.
- [28] 陶连方. 老年高血压病糖尿病患者血浆内皮素测定及其意义[J]. *中国微循环*, 2003, 7(4): 245.
- Tao Lianfang. Significance of detection of plasma endothelin in elderly diabetic nephropathy and hypertension[J]. *Journal of Chinese Microcirculation*, 2003, 7(4): 245.
- [29] Nguyen-Ho P, Lakkis N M. Platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor antagonists and coronary disease[J]. *Current Atherosclerosis Reports*, 2001, 3(2): 139-148.
- [30] 王振义, 李家增, 阮长耿, 等. 纤维蛋白溶解系统[C]//上海第二医科大学编辑委员会. 血栓与止血基础理论与临床. 2版. 上海: 上海科学技术出版社, 1996.
- Wang Zhenyi, Li Jiazeng, Ruan Changgeng, et al. Fibrinolytic system [C]//Editorial Committee of Shanghai Second Medical University. The Basic Theory and Clinical of Thrombosis and Haemostasis. 2nd ed. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publishing House, 1996.
- [31] 丛玉隆, 王淑娟, 朱士俊, 等. 纤溶系统的组成及特点[C]//今日临床检验学编辑委员会编. 今日临床检验学. 北京: 中国科学技术出版社, 1997.
- Cong Yulong, Wang Shujuan, Zhu Shijun, et al. The composition and the characteristics of fibrinolytic system[C]//Today Clinical Inspection Editorial Board. Today Clinical Test. Beijing: China Science and Technology Publishing House, 1997.
- [32] Bernd R B, Gunter C, Florian G, et al. Plasminogen activator inhibitor physiological and pathophysiological roles[J]. *News in Physiological Sciences*, 2002, 17: 56-61.
- [33] 葛郁芝, 刘冬生. 高血压病患者血栓前状态P-选择素等标志物变化及其临床意义[J]. *中国心血管病研究杂志*, 2005, 3(12): 896-899.
- Ge Yuzhi, Liu Dongsheng. Levels of P selection and its clinic significance in hypertensive patients with prothrombotic status[J]. *Chinese Journal of Cardiovascular Review*, 2005, 3(12): 896-899.
- [34] Qizilbash N, Duffy S, Prentice C R M, et al. Willebrand factor and risk of ischemic stroke[J]. *Neurology*, 2001, 53(6): 1552-1556.
- [35] Yamell J W G, Baker I A, Sweetnam P M, et al. Fibrinogen, viscosity and white blood cell count are major risk factor for ischemic heart disease[J]. *Circulation*, 1991, 83: 836.
- [36] 居来提·托乎提, 阿不都克热木江·吐尔逊托乎提. 维吾尔医学对哮喘病因的认识[J]. *中国民族医学杂志*, 2004, 10(4): 3-4.
- Tuohuti Julaiti, Tuexuntuohuti Abudukeremujan. Recognize on the Uygur traditional medicine for asthma cause[J]. *Journal of Medicine & Pharmacy of Chinese Minorities*, 2004, 10(4): 3-4.

(责任编辑 吴晓丽)