• 临床研究 •

慢性乙型肝炎肝硬化 3 项指标与 HBV-DNA 载量分析*

邓小燕¹, 杨 静¹, 冯桂玲¹, 卓树洪¹, 刘小敏²

(1. 广州医科大学附属第二医院 510260; 2 广州医科大学金域检验学院 510182)

摘要:目的 通过检测慢性乙型肝炎肝硬化不同病毒载量患者和健康对照组血浆 D-二聚体、纤维蛋白原和抗凝血酶,探讨上述指标与 HBV-DNA 载量的关系研究。方法 收集慢性乙型肝炎后肝硬化患者 103 例为研究组,健康人群 50 例作为对照组,分别测定血清中 D-二聚体、纤维蛋白原含量、抗凝血酶活性和 HBV-DNA 载量。结果 慢性乙型肝炎后肝硬化患者不同 HBV-DNA 载量组的 D-二聚体、纤维蛋白原和抗凝血酶活性与对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),D-二聚体含量随病毒载量的增高而升高,纤维蛋白原和抗凝血酶活性随 HBV-DNA 载量的增高而降低。结论 慢性乙型肝炎后肝硬化中病毒载量患者以抗凝系统受损为主,高病毒载量患者则存在纤溶和抗凝失衡状态,建议中病毒复制量患者应尽早进行抗病毒干预,维持机体纤溶和抗凝的动态平衡。

关键词:乙型肝炎; 肝硬化; 病毒载量; D-二聚体; 纤维蛋白原; 抗凝血酶

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.18.039

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)18-2606-02

慢性乙型肝炎患者由于乙肝病毒(HBV)长期、反复损害肝脏,引起广泛的肝实质损害,肝细胞坏死,纤维组织增生,质地变硬,最终导致肝硬化。肝脏是多数凝血因子、蛋白和酶合成的场所,因此往往存在凝血障碍、蛋白酶含量异常,容易出现出血的症状,对患者的生命健康造成威胁。D-二聚体、纤维蛋白原和抗凝血酶活性分别是反映体内纤溶状态和凝血-抗凝功能较灵敏、准确的指标。本文通过对慢性乙型肝炎不同病毒载量患者和健康对照组的血浆中抗凝血酶、D-二聚体和纤维蛋白原进行检测,探讨慢性乙型肝炎不同病毒载量患者抗凝和纤溶系统的变化,为病情预后的判断及治疗时机的选择提供指导依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择临床诊断为慢性乙型肝炎后肝硬化住院或者门诊患者 103 例,其中男 69 例,女 34 例,诊断必须符合以下条件:患者必须具有血清 HBsAg 阳性、肝组织病理学表现为弥漫性肝纤维化及结节形成,两者同时具备才纳入病例组。对照组 50 例,均为同期性别、年龄、种族匹配的体检健康志愿者。

1.2 标本采集 标本严格按照 1:9 抗凝比例,空腹采集静脉血 1.8 mL,加入浓度为 0.109 mol/L 含有 0.2 mL 的枸橼酸钠抗凝,充分混匀后置于离心机中,3 000 r/min 离心 20 min,离心后,分离贫血小板血浆待检 D-二聚体含量、抗凝血酶活性和纤维蛋白原含量。采集空腹静脉血 3 mL,离心分离血清置于 -20 °C 冻存待检 HBV-DNA。

1.3 检测方法

1.3.1 采用实时荧光定量 PCR 技术检测 HBV-DNA 载量,试剂由凯杰生物工程(深圳)有限公司提供,仪器采用罗氏 lc480 荧光定量 PCR 仪。按 HBV-DNA 载量,将研究对象分为低载量组($< 10^3$ copy/mL)30 例,中载量组($10^3 \sim 10^5$ copy/mL)41 例及高载量组($> 10^5$ copy/mL)32 例。

1.3.2 D-二聚体含量、抗凝血酶活性、纤维蛋白原定量采用东亚 CA7000 全自动凝血分析仪检测,上述检测操作步骤及结果判断严格按照试剂盒说明书进行。试验同时做阳性、阴性定量参考品,在采血后 4 h 内完成。

1.4 统计学处理 应用 SPSS17.0 软件进行统计分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,将统计资料对数转换后进行正态性检验,服从正态分布。组间均数比较采用方差分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

不同 HBV-DNA 病毒载量组患者 D-二聚体含量、纤维蛋白原含量和抗凝血酶活性与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。各 HBV-DNA 病毒载量组的 D-二聚体含量显著高于对照组($P < 0.05$),而抗凝血酶活性、纤维蛋白原含量均显著低于对照组($P < 0.05$),其中高载量组的 D-二聚体含量与低载量组相比差异有统计学意义($P < 0.05$),高、中载量组的抗凝血酶与低载量组相比差异均有统计学意义($P < 0.05$)。其余各项指标组间差异无统计学意义,见表 1。

表 1 不同 HBV-DNA 血清 3 项指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	HBV-DNA 载量(copy/mL)	n	D-二聚体(mg/L)	纤维蛋白原(g/L)	抗凝血酶:A(%)
对照组	0	50	0.12±0.09	2.71±0.53	90.60±8.65
低载量组	<10 ³	30	2.39±3.33*	2.03±0.88*	58.83±34.30*
中载量组	10 ³ ~10 ⁵	41	2.83±3.35*	1.90±0.84*	48.30±23.17*#
高载量组	>10 ⁵	32	5.12±9.49*#	1.83±0.77*	40.62±18.13*#

注:与对照组比较,* $P < 0.05$;与低载量组比较,# $P < 0.05$ 。

* 基金项目:广东省广州市医药卫生科技项目(20151A010099)。

3 讨 论

HBV-DNA 侵犯人的肝细胞后,控制从复制、装束到释放病毒的全过程,阳性说明体内有活性病毒的复制,而病毒载量的高低决定了病毒复制的高低,病毒载量高则传染性越大。因此,HBV-DNA 的检测对于监控 HBV 在人体内的复制情况和病毒数量具有重要的临床应用价值。近年来,国内对乙肝患者 HBV-DNA 载量与凝血 4 项进行了大量的探讨,而较少关注 HBV-DNA 病毒载量与纤溶状态和抗凝系统的关系^[1-2]。众所周知,肝脏是凝血酶原、凝血因子和抗凝血酶的合成器官,也是合成和灭活纤维蛋白溶解物与抗纤溶物质的主要场所,与凝血-抗凝血、纤溶-抗纤溶的关系极为密切,肝脏发生病变必将对机体正常时所维持的凝血和纤溶两系统间的平衡造成不利的影 响^[3]。乙肝后,肝硬化患者更是存在复杂的止血功能紊乱,而纤溶活性升高及其继发于凝血系统活化是肝硬化的常见并发症^[4]。有研究显示,纤溶活性随肝脏的损伤程度加重而增高^[5]。本研究以慢性乙型肝炎后肝硬化为研究对象,探讨不同 HBV-DNA 载量分级的慢性乙型肝炎后肝硬化患者中纤维蛋白原、D-二聚体和抗凝血酶的临床变化规律,评估病毒载量与纤溶或抗凝的关系。

本文结果显示,各 HBV-DNA 病毒载量组的纤维蛋白原和 D-二聚体与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。纤维蛋白原含量低于对照组,随着 HBV-DNA 病毒载量的升高呈下降趋势,而 D-二聚体含量高于对照组,随着 HBV-DNA 病毒载量的升高而呈增高趋势,其中高病毒载量组与低病毒载量组差异有统计学意义($P < 0.05$)。此现象提示在慢性乙型肝炎后肝硬化患者中,一方面,因肝脏蛋白合成受抑制导致纤维蛋白原合成减少;另一方面可能是 HBV 的长期存在诱导血管内皮细胞的炎性反应,导致内皮系统受损,纤溶酶原激活增多,纤溶抑制物减少,从而引起纤溶亢进,纤维蛋白过早、过度破坏和纤维蛋白原大量降解,使血浆 D-二聚体含量升高^[6]。本研究结果提示,慢性乙型肝炎后肝硬化患者在 HBV-DNA 高载量组的纤溶活性呈现明显亢进现象,可以推测 HBV 病毒复制量达到高拷贝水平时,继发性活化肝脏纤溶系统,纤维蛋白原在纤溶酶的作用下使之降解,导致含量下降,引发 D-二聚体含量升高,此时机体处于纤溶活性增强。

抗凝血酶是由肝细胞和血管内皮细胞合成的一种广谱丝氨酸蛋白酶,是体内最重要的生理抗凝物,主要功能为抑制或灭活凝血酶、因子 XIII a、XI a、X a 和 VII a。本研究发现,各 HBV-DNA 病毒载量组的抗凝血酶活性与对照组比较差异有统计学

意义($P < 0.05$),随着 HBV-DNA 病毒载量的升高呈下降趋势,当 HBV-DNA 含量 $> 10^3$ copy/mL 时,抗凝血酶活性显著低于低载量组。此现象说明 HBV-DNA 含量 $> 10^3$ copy/mL 时,患者的抗凝系统严重受损,容易诱发微血栓的形成。其降低的原因是肝细胞受损合成减少,另一方面是消耗性减少,因此,可以推测在慢性乙型肝炎后肝硬化患者中,中病毒载量有可能是触发抗凝系统损害的主要因素之一。

综上所述,慢性乙型肝炎后肝硬化患者处于纤溶和抗凝的双重激活平衡状态,HBV-DNA 病毒载量处于中复制水平时,患者以抗凝系统受损为主,当病毒载量处于高复制水平时,患者同时存在纤溶活性的亢进和抗凝系统的严重受损。因此,为维持慢性乙型肝炎后肝硬化患者纤溶和抗凝的微妙平衡,建议临床上对于中病毒复制量的慢性乙型肝炎后肝硬化患者应尽早进行抗病毒干预,动态监控抗病毒治疗后 D-二聚体、纤维蛋白原和抗凝血酶的水平变化,避免在 HBV-DNA 病毒载量的高水平引发纤溶和抗凝系统的紊乱,预防慢性乙型肝炎后肝硬化出血和 DIC 并发症的发生。

参考文献

- [1] 杨娜,蒲泽宴,刘禄,等. 141 例慢性重度乙型肝炎患者凝血功能与 HBV 标志物模式 HBV-DNA 载量相关性研究[J]. 中国保健营养,2013,22(11):67-68.
- [2] 安宏亮,江海燕,伍华林,等. 常用凝血指标对慢乙肝肝纤维化的诊断价值[J]. 中国卫生检验杂志,2014,24(13):1919-1921.
- [3] 钟洪明,黄宇清,曾荔山. D-二聚体、抗凝血酶 III、凝血因子 VIII、凝血因子 IX 检测对肝脏疾病诊断的意义[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(7):707-709.
- [4] 丛玉隆,魏玉香,殷宗健,等. 肝硬化患者纤溶活性升高机制的研究[J]. 中华检验医学杂志,2005,28(5):504-507.
- [5] 尤德宏,张根兴,邓历. 肝硬化患者血浆 D-二聚体的变化及其意义[J]. 现代中西医结合杂志,2012,21(25):2826-2827.
- [6] 宋向芹,司秀文,张芳,等. 慢性乙肝病毒感染者血清血管内皮生长因子的研究[J]. 中西医结合肝病杂志,2012,22(4):234-235.

(收稿日期:2016-02-13 修回日期:2016-05-22)

医学统计工作的基本内容

按工作性质及其先后顺序,可将医学统计工作分为实验设计、收集资料、整理资料、分析资料。实验设计是开展某项医学研究工作的关键,包括医学专业设计和统计学设计,医学专业设计的内容包括研究对象纳入和排除标准、样本含量、获取样本的方法、分组原则、观察(检测)指标、统计方法等。收集资料的方法包括各种试验、检测或调查,要求资料完整、准确、及时、有足够数量、具有代表性和可比性等。整理资料包括原始资料的检查与核对、对资料进行分组与汇总等。分析资料即对资料进行统计学分析,包括进行统计描述和统计推断。