

医疗中占很重要地位。不同个体的基因组信息对疾病的早期诊断有重要意义。(3) 疾病的治疗和药物敏感性检测。针对不同患者的药物靶基因上的不同突变,分析该药物对患者的作用,从而适当的选择不同的用药和药物剂量,使之达到最佳治疗效果,这是个性化医疗的重要表现。(4) 疾病预后的监测。在预后的监测中主要对部分基因或特定分子的表达检测来判断疾病的预后情况。2007 年美国 FDA 批准了第一个用于监测癌症患者 5 年内肿瘤转移和复发的方法 Mamma Print。该试剂盒就是根据 70 个基因的表达信号来实现肿瘤的预后^[15]。

5 展 望

迄今为止,GWAS 和第 2 代高通量测序技术已经成为研究人类复杂疾病和药物反应的遗传背景的重要方法,在今后一段时间内将依然是研究的热点所在。相信随着越来越多的高通量生物医学研究技术的应用和研究的深入开展,复杂疾病和药物反应的遗传背景知识会越来越丰富,将为疾病预警、风险预测、临床诊断、药物开发和个性化医疗奠定坚实的基础。

参考文献:

- [1] 刘伯宁. 后基因组时代十年志--兼论十年间生命科学的发展及所面临的挑战[J]. 自然杂志, 2010, 467(6): 1061-1073.
- [2] The 1000 Genomes Project Consortium. A map of human genome variation from population-scale sequencing [J]. Nature, 2010, 467(7319): 1061-1073.
- [3] Amberger J, Bocchini C, Hamosh A. A new face and new challenges for Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM)[J]. Hum Mutat, 2011, 32(5): 564-567.
- [4] Klein RJ, Zeiss C, Chew EY, et al. Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration [J]. Science, 2005, 140(2): 352.
- [5] Zhang XJ, Huang W, Yang S, et al. Psoriasis genome-wide association study identifies susceptibility variants within LCE gene cluster at 1q21 [J]. Nature Genetics, 2009, 41: 205-210.
- [6] Han JW, Zheng HF, Cui Y, et al. Genome-wide association study in a Chinese Han population identifies nine

new susceptibility loci for systemic lupus erythematosus [J]. Nat Genet, 2009, 41(11): 1234-1237.

- [7] 范岚, 张伟, 周宏灏. 与人类疾病的发病和治疗相关的全基因组关联研究进展[J]. 中国临床药理学杂志, 2010, 26(4): 307-310.
- [8] Daly AK. Genome-wide association studies in pharmacogenomics[J]. Nat Rev Genet, 2010, 11(4): 241-246.
- [9] Takeuchi F, McGinnis R, Bourgeois S, et al. A genome-wide association study confirms VKORC1, CYP2C9, and CYP4F2 as principal genetic determinants of warfarin dose[J]. PLoS Genet, 2009, 5(3): e1000433.
- [10] Inada T, Koga M, Ishiguro H, et al. Pathway-based association analysis of genome-wide screening data suggest that genes associated with the gamma-aminobutyric acid receptor signaling pathway are involved in neuroleptic-induced, treatment-resistant tardive dyskinesia [J]. Pharmacogenet Genomics, 2008, 18(4): 317-323.
- [11] SEARCH Collaborative Group. SLC01B1 variants and statin-induced myopathy--a genomewide study [J]. N Engl J Med, 2008, 359(8): 789-799.
- [12] Tanaka Y, Kurosaki M, Nishida N, et al. Genome-wide association study identified ITPA/DDRGGK1 variants reflecting thrombocytopenia in pegylated interferon and ribavirin therapy for chronic hepatitis C [M]. Hum Mol Genet In press, 2011: 5-8.
- [13] Ng SB, Turner EH, Robertson PD, et al. Targeted capture and massively parallel sequencing of 12 human exomes [J]. Nature, 2009, 461(7261): 272-276.
- [14] 杨旭, 焦睿, 杨琳, 等. 基于新一代高通量技术的人类疾病组学研究策略[J]. 遗传, 2011, 33(8): 829-846.
- [15] van de Vijver MJ, He YD, van't Veer LJ, et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer [J]. N Engl J Med, 2002, 347(25): 1999-2009.

(收稿日期: 2012-01-19 修回日期: 2012-03-23)

· 综 述 ·

肾病综合征凝血机制研究近况

胡石炜 综述, 张道友[△] 审校

(安徽省芜湖市皖南医学院弋矶山医院肾脏内科 241000)

关键词: 肾病综合征; 凝血机制; 综述

doi: 10. 3969/j. issn. 1671-8348. 2012. 20. 040

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)20-2102-03

机体的止血涉及一系列过程,包括血小板(PLT)的激活和聚合形成 PLT 栓子,血管壁损伤暴露出组织因子活化凝血链,各种抑制剂终止凝血链,溶解已形成的血栓。其中任一步骤异常都会导致血栓形成。肾病综合征(NS)血栓形成可能由于抑制凝血的蛋白酶的丢失,促凝因子合成的增加,肾小球凝血系统的激活^[1]。其他因素有长期卧床不动,导管插入所致静脉损

伤、高脂血症等。

1 PLT 激活和聚合

PLT 与血管壁相互作用,PLT 聚合参与 NS 血栓栓塞。NS 患者存在 PLT 增多,红细胞变形能力逐渐降低,vW 因子渐增该因子能促进 PLT 转运到血管壁和 PLT 聚合,PLT 聚合增强。研究 NSPLT 功能发现^[2],有 72 的患者存在 PLT 高聚

合;PLT 活化的标记物如 P-选择素、CD62P 阳性在 NS 患者中较多。

PLT 聚合力增强的机制是多因素的,诸如低蛋白血症,高胆固醇血症,高纤维蛋白原。低蛋白血症引起清蛋白连接的花生四烯酸可利用度增加,导致 PLT 内血栓素 A₂ 增多,PLT 聚集增强。Bramham 等^[3]报道在 NS 患者 ADP 诱导 PLT 聚集增强,ADP 与花生四烯酸有着类似的效应,导致 PLT 内血栓素 A₂ 和 B₂ 增多。通过降低 NS 患者血脂水平扭转 PLT 聚合,也能证明低密度脂蛋白胆固醇对 PLT 聚合有影响^[4]。纤维蛋白原(FiB)连接到激活的 PLT 上的 GP II b~III a 受体,参与 PLT 的聚集和富含 PLT 的血栓形成。但也有学者认为 PLT 黏附与聚集在 NS 患者比正常值低^[5],随着更多的 FiB 沉积,PLT 黏附于血管壁减少。可能与 FiB 覆盖在内皮下膜,干扰了内皮下膜的配体系统,因而 PLT 黏附减少。

2 凝血系统的激活

NS 患者丢失的蛋白总量多于合成量;相反,高相对分子量蛋白,如 V 因子、VIII 因子、vW 因子、FiB、2 巨球蛋白,由于相对分子量较大,合成量多于丢失量。VIII 因子浓度较健康人增加 2~3 倍^[6],是静脉血栓形成的重要因素。2 巨球蛋白在肝脏中合成,NS 患者浓度增加,与合成增多密切相关。其使血液黏滞度增加。2 巨球蛋白的含量在静脉血栓组明显增多,证实其对血液高凝状态的形成有明显影响^[7]。可能与抑制蛋白 C、蛋白 S 的活性,抑制纤溶酶,激活凝血酶有关。

NS 患者,血浆清蛋白与 FiB 呈现负相关。由于清蛋白合成只有肝脏这条途径,因此,肝脏合成的不协调势必影响机体内的清蛋白浓度。与此不同,FiB 原, V 因子、VIII 因子在肝脏内代偿性合成增多,远多于小便中丢失量。FiB 的增加反映了肝脏合成功能的增强,以及血管内分布和正常降解途径作用减弱。增多的 FiB 原进而导致 FiB 合成增加,还能促进 PLT 凝聚,增加血液黏稠度和红细胞聚集。增加的 FiB 沉积也可能由于 V 因子、VIII 因子的影响,它们在体内含量增多,凝血酶形成增多,而凝血酶是 FiB 原转换为 FiB 的关键酶。

3 源性抗凝的减弱

内源性抗凝物质,如抗凝血酶、蛋白 C(PC)、蛋白 S(PS)存在诸多异常。NS 患者 PC、PS 含量降低,PC 活性减少^[9]。PC 使凝血时间延长,致 FV、FVIII 因子失活,而被 FX 激活。有证据表明当其血浆浓度小于 50% 时,血栓可形成^[10]。PC 活性减少主要由于 FV 基因突变,氨基酸变异,FV 对 PC 抵抗。PS 含量降低除了从小便中丢失外,也与其与 C4b-连接蛋白相连有关。

抗凝血酶的缺失在 NS 凝血机制里起着很重要的作用。血浆抗凝血酶含量与蛋白尿呈负相关,与血清清蛋白浓度呈正相关。抗凝血酶的缺失与血清清蛋白浓度小于 20 g/L 有着紧密联系^[12],在一些研究里发现与深静脉血栓、肺动脉栓塞有着关联^[13]。若血清清蛋白浓度小于 20 g/L,临床上建议使用抗凝剂,如低分子肝素。低分子肝素增加抗凝血酶与凝血酶的亲和力,但清蛋白浓度过低,单一使用低分子肝素难以取得理想效果。

4 纤溶系统活性降低

在 NS 患者中,许多因素可导致纤溶系统活性降低;有关纤溶酶原 纤溶酶的前体、纤溶酶原激活抑制剂 PAI、组织型纤溶酶原激活物 t-PA,现已有大量的研究。由于大量蛋白在小便中丢失,纤溶酶原含量随之丢失。低蛋白血症本身也能影响纤溶系统,清蛋白将纤溶酶原连接到 FiB,与 t-PA 发生纤溶

效应,若清蛋白从小便丢失,则会影响纤溶系统的活性。Chen 等^[15]研究膜性肾病的 NS 患者,发现 PAI 浓度是正常对照组的 6 倍,t-PA 浓度与对照组相比没显著差异。证实 NS 患者纤溶系统活性降低。凝血酶激活的纤溶抑制物 TAFI 是新发现的一种纤溶调控因子,属于金属羧基蛋白酶家族成员,通过切割部分降解 FiB 的羧基末端赖氨酸残基,发挥它的抑制纤溶作用。在凝血过程中,激活的凝血酶一方面促进 FiB 凝块的形成,另一方面激活 TAFI,保护凝血过程中形成的 FiB,使其免受降解。最终导致更多的稳定的血凝块形成。Kraft 等^[16]报道抑制 TAFI 活性增强溶栓疗效,说明其降低纤溶系统活性。Tkaczyk 等^[17]报道在 NS 患儿,TAFI 抗原浓度与活性是升高的。这也部分解释 NS 血栓形成和心血管危险度增加。亦有观点认为纤溶系统活性降低是相对的,伴随凝血活性的亢进,存在继发性纤溶活性增强^[18]。D-二聚体(D-dimer)、FDP 的增高,肾组织中稳定的 FiB 降解产物的沉积可证明这一观点。

5 肾小球凝血系统的激活

NS 患者肾脏内存在血凝活动和血栓形成。(1)NS 血栓主要发生在肾静脉;(2)肾小球内 FiB 沉积可见于各种肾小球疾病。肾静脉血液里增加的 FiB 原含量与肾小球内 FiB 沉积有关,并能促进肾小球损伤;(3)肾小球或者细胞浸润的肾小球包含可能激活原位凝血的止血成分^[19];(4)PAI 在肾小球表达增强,促进 FiB 沉积,并能导致肾静脉血栓的形成。有研究发现 PAI 在肾小球表达增强^[20],能证明这一观点。究其机制可能为肾小球内皮损伤,释放组织因子,或浸润的细胞受刺激后表达组织因子,触发外源性凝血反应,这在相关研究中得到证实^[21];也与肾小球内免疫复合物沉积激活补体,启动内源性凝血反应有关。

6 内皮功能

已证实 NS 患者内皮功能受损,其受损程度与原发性高脂血症相似^[22]。L-精氨酸能调节内皮释放一氧化氮(NO),但不适用于 NS 患者^[23];逐渐增加的高血压和高半胱氨酸浓度,作为高脂血症相关指标,却与 NS 内皮功能无关。以上两点提示其他机制可能参与 NS 内皮功能受损。未酯化的脂肪酸(NEFA)连接清蛋白,NEFA 和清蛋白的比例与 NS 患者内皮功能受损有关;当血浆清蛋白浓度减少时,游离的 NEFA 引起内皮细胞中毒或者合成 NO 减少^[24]。也有相关研究认为低蛋白血症本身通过影响内皮细胞膜的架构或者干扰信息传递而损伤内皮功能^[23]。

7 其他因素

NS 患者血容量减少,血液浓缩,血液黏稠度高,利尿剂应用可加重血液浓缩。血栓好发于肾静脉,免疫反应所致损伤可能起一定作用。肾小球免疫损伤可能增加凝血活性,该作用可因其全身效应对肾静脉循环产生影响而引起血栓。糖皮质激素(GC)的应用加强血液高凝^[25],究其机制为以下几点:(1)GC 增加血浆 PAI-1 浓度,上调其活性和促进 m-RNA 表达,并能下调 t-PA 活性;(2)GC 增加 T-cell 活性,抑制血管生成,克服药物抵抗,这几点可促进血栓形成^[26];GC 使细胞凋亡,凋亡的细胞增加血液高凝,此外,血管内皮生长因子被抑制也有一定的关系;(3)GC 诱导组织因子表达,增加血浆 FVIII、FVII、FiB 原、vWF 浓度,而这些因素均能促进血液高凝。高脂血症血液高凝除传统上认为与内皮细胞损伤、加强血液黏滞、红细胞变形能力降低外,最近有资料表明与 PLT 内的一种酪氨酸蛋白激酶有关。低密度脂蛋白(LDL)沉积于血管发生氧化应激,形成氧化 LDL(ox-LDL)。ox-LDL 与 PLT 上的 CD36 受体结

合,进而激活 PLT 内的 Fyn,后者磷酸化 Vav-1 和 Vav-3 鸟嘌呤转化因子。磷酸化的 Vav-1 和 Vav-3 增强 PLT 敏感度,提高 PLT 聚集的可能性。该研究表明,对缺乏 Vav 或 Fyn 的大鼠喂以高脂饮食,不见血栓形成,能证实这个观点。

参考文献:

- [1] Zaffanello M, Brugnara M, Fanos V, et al. Prophylaxis with AT III for thromboembolism in nephrotic syndrome; why should it be done? [J]. *Int Urol Nephrol*, 2009, 41(3): 713-716.
- [2] Sirolli V, Ballone E, Garofalo D, et al. Platelet activation markers in patients with nephrotic syndrome. A comparative study of different platelet function tests [J]. *Nephron*, 2002, 91(3): 424-430.
- [3] Bramham K, Hunt BJ, Goldsmith D. Thrombophilia of Nephrotic Syndrome in Adults [J]. *Clinical Advances in Hematology*, 2009, 7(6): 368-372.
- [4] Ito S, Machida H, Inaba A, et al. Amelioration of steroids and cyclosporine-resistant nephrotic syndrome by pravastatin [J]. *Pediatr Nephrol*, 2007, 22(4): 603-606.
- [5] Singhal R, Brimble KS. Thromboembolic complications in the nephrotic syndrome: Pathophysiology and clinical management [J]. *Thromb Res*, 2006, 118(3): 397-407.
- [6] Chang H, Chen YM, Dunn P. Factor VIII inhibitor associated with nephrotic syndrome [J]. *Haemophilia*, 2007, 13(6): 766.
- [7] Beheiri A, Langer C, Düring C, et al. Role of elevated α 2-macroglobulin revisited; results of a case-control study in children with symptomatic thromboembolism [J]. *J Thromb Haemost*, 2007, 5(6): 1179-1184.
- [8] Kuipers S, Cannegieter SC, Doggen CJ, et al. Effect of elevated levels of coagulation factors on the risk of venous thrombosis in long-distance travelers [J]. *Blood*, 2009, 113(9): 2064-2069.
- [9] Ozkaya O, Bek K, Fisqin T, et al. Low protein Z levels in children with nephrotic syndrome [J]. *Pediatr Nephrol*, 2006, 21(8): 1122-1126.
- [10] Cacciapuoti F. Some considerations about the hypercoagulable states and their treatments [J]. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2011, 22(3): 155-159.
- [11] Lizakowski S, Zdrojewski Z, Jagodzinski P, et al. Plasma tissue factor and tissue factor pathway inhibitor in patients with primary glomerulonephritis [J]. *Scand J Urol Nephrol*, 2007, 41(3): 237-42.
- [12] Kaneko J, Suqawara Y, Tamura S, et al. Antithrombin effect on coagulation and fibrinolytic profiles after living donor liver transplantation; a pilot study [J]. *Int J Lab Hematol*, 2009, 31(1): 81-86.
- [13] Tkaczyka M, Czupryniak A, Owczarek D, et al. Markers of Endothelial Dysfunction in Children with Idiopathic Nephrotic Syndrome [J]. *Am J Nephrol*, 2008, 28(2): 197-202.
- [14] Cvirn G. The Role of Inhibitors in Hemostasis; A Comparison Between Neonates and Adults [J]. *Vascular Disease Prevention*, 2004, 1(4): 225-231.
- [15] Chen CH, Shu KH, Wen MC, et al. Impact of plasminogen activator inhibitor-1 gene polymorphisms on primary membranous nephropathy [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2008, 23(10): 3166-3173.
- [16] Kraft P, Schwarz T, Meijers JC, et al. Thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) deficient mice are susceptible to intracerebral thrombosis and ischemic stroke [J]. *PLoS One*, 2010, 5(7): e11658.
- [17] Tkaczyka M, Czupryniak A, Owczarek D, et al. Markers of Endothelial Dysfunction in Children with Idiopathic Nephrotic Syndrome [J]. *Am J Nephrol*, 2008, 28(2): 197-202.
- [18] 叶任高, 杨念生, 郑智华. 肾病综合征 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 164.
- [19] Ruppert C, Markart P, Wygrecka M, et al. Role of coagulation and fibrinolysis in lung and renal fibrosis [J]. *Hamostaseologie*, 2008, 28(1-2): 30-32, 34-36.
- [20] Rodrigues MM. Cardiac dysfunction in HgCl₂-induced nephrotic syndrome [J]. *Physiology*, 2010, 235(3): 392-400.
- [21] Moreira-Rodrigues M, Roncon-Albuquerque R Jr, Henriques-Coelho T, et al. Cardiac remodeling and dysfunction in nephrotic syndrome [J]. *Kidney Int*, 2007, 71(12): 1240-1248.
- [22] Shouman M. Biochemical markers of endothelial dysfunction in pediatric nephrotic syndrome [J]. *Arch Med Sci*, 2009, 5(3): 415-421.
- [23] Dogra GK, Herrmann S, Irish AB, et al. Insulin resistance, dyslipidaemia, inflammation and endothelial function in nephrotic syndrome [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2002, 17(12): 2220-2225.
- [24] Kerachiana MA, Séguinb C, Harvey EJ. Glucocorticoids in osteonecrosis of the femoral head; A new understanding of the mechanisms of action [J]. *J Steroid Biochem Mol Bio*, 2009, 114(3-5): 121-128.
- [25] Zakarija A, Kwaan HC. Adverse Effects on Hemostatic Function of Drugs Used in Hematologic Malignancies [J]. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 2007, 33(4): 355-364.
- [26] de Kruif MD, Lemaire LC, Giebelen IA, et al. Prednisolone Dose-Dependently Influences Inflammation and Coagulation during Human Endotoxemia [J]. *J Immunol*, 2007, 178(3): 1845-1851.