

DOI:10.13602/j.cnki.jcls.2021.12.08

· “迈瑞杯”临检发展专栏 ·

激素替代治疗围绝经期患者抗缪勒管激素、抗 $\beta 2$ 糖蛋白 1 抗体、蛋白 C、蛋白 S 检测及意义*

陈华干^a, 张海洁^a, 朱书宇^a, 蒙青青^a, 廖志兴^a, 徐嵘婷^b (柳州市妇幼保健院 a. 检验科, b. 妇科, 广西柳州 545001)

摘要:目的 探讨激素替代治疗(HRT)围绝经期患者抗缪勒管激素(AMH)、抗 $\beta 2$ 糖蛋白 1 抗体(抗 $\beta 2$ GP1)、蛋白 C(PC)、蛋白 S(PS)水平的变化及临床意义。方法 收集围绝经期患者,行 HRT 者 60 例(观察组),未行 HRT 者(对照组),观察组以 BMI 分 $< 28 \text{ kg/m}^2$ 组(A 组)和 $\geq 28 \text{ kg/m}^2$ 组(B 组),分析各组间治疗前和治疗 3、6 个月及 1 年时 AMH、抗 $\beta 2$ GP1、PC、PS 差异。结果 观察组治疗 6 个月及治疗 1 年时 AMH、抗 $\beta 2$ GP1 水平均较治疗前升高(P 均 < 0.05),PC、PS 水平均较治疗前下降(P 均 < 0.05);治疗 6 个月、治疗 1 年时,观察组 AMH、抗 $\beta 2$ GP1 水平均高于对照组(P 均 < 0.05),PC、PS 水平均低于对照组(P 均 < 0.05)。随着治疗时间的延长,A 组及 B 组 AMH、抗 $\beta 2$ GP1 水平均较治疗前升高(P 均 < 0.05),PC、PS 水平均较治疗前下降(P 均 < 0.05)。A 组治疗 6 个月、治疗 1 年抗 $\beta 2$ GP1 水平高于 B 组($P < 0.05$),PC、PS 水平均低于 B 组(P 均 < 0.05)。结论 HRT 围绝经期患者随治疗时间延长,AMH 逐渐升高,卵巢功能得到改善,且不受 BMI 的影响;抗 $\beta 2$ GP1 逐渐升高,PC、PS 逐渐下降明显,尤其是 BMI $\geq 28 \text{ kg/m}^2$ 者,其血栓风险形成增加。

关键词:围绝经期;激素替代治疗;抗苗勒氏激素;抗 $\beta 2$ 糖蛋白 1 抗体;蛋白 C;蛋白 S

中图分类号:R446

文献标志码:A

围绝经期是指女性绝经前后出现月经紊乱、神经衰退及血管异常收缩等临床症状的一段时期。这一时期女性由于卵巢功能下降、激素水平降低等原因而易出现心脑血管疾病、骨质疏松等并发症^[1]。激素替代治疗(hormone replacement therapy, HRT)是围绝经期女性最常用的治疗方法,它可有效减缓围绝经期女性的临床症状和体征,降低相关并发症的发生风险,但同时也增加静脉血栓形成及肺栓塞的风险^[2]。因此,对于 HRT 患者,监测其卵巢功能及血栓形成的相关指标变化,利于评估 HRT 的治疗效果及预防血栓形成的风险。

抗缪勒管激素(anti-Müllerian hormone, AMH)评估卵巢储备功能有较高的敏感性和特异性,且不受患者月经周期影响,重复性较好,因此得到广大临床医生的重视^[3]。传统凝血功能指标,如活化部分凝血活酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT)、凝血酶原时间(prothrombin time, PT)和血小板计数(platelet count, Plt)等指标仅能反映血液凝血功能,不能反映凝血系统的动态变化,尤其不能预判血栓风险。蛋白质 C(protein C, PC)、

蛋白质 S(protein S, PS)是机体内两种重要的生理性抗凝蛋白,其活性改变会影响机体凝血-抗凝系统的生理平衡状态^[4]。聂晓辉等^[5]研究证实,PC、PS 预测恶性肿瘤患者发生静脉血栓风险的敏感性和特异性在 70% 以上。另有研究证实,超重或肥胖患者接受 HRT 治疗时发生血栓性相关疾病的风险增加 3.8 倍^[6],提示身体质量指数(BMI)对 HRT 治疗患者发生血栓的风险存在一定影响。

本研究对 60 例 HRT 围绝经期患者进行 AMH、抗 $\beta 2$ GP1、PC、PS 的检测,并与非 HRT 围绝经期患者进行对比,采用对照和按 BMI 分层的方法分析患者治疗期间 AMH、抗 $\beta 2$ GP1、PC、PS 的变化,以探讨这 4 个指标检测对 HRT 治疗效果的评估及血栓形成预测的价值。

1 对象和方法

1.1 研究对象 收集 2018 年 11 月至 2019 年 11 月在我院接受 HRT 的围绝经期患者 60 例,接受 HRT 前均伴有不同程度潮热、睡眠障碍、骨质疏松所致关节疼痛等症状,乳腺检查正常,心、肝、肾功

* 基金项目:广西壮族自治区卫健委医学科研课题(Z20200188)。

作者简介:陈华干,1980 年生,男,副主任技师,大学本科,研究方向为生殖和内分泌相关实验室技术。

通信作者:徐嵘婷,副主任医师,E-mail:1119342127@qq.com。

能正常,无吸烟、饮酒嗜好。排除外生殖系统激素依赖性肿瘤患者、宫颈癌患者、内分泌代谢疾病患者。60 例患者,年龄 46~56 岁,平均年龄 50.2 岁; BMI 18~32 kg/m²,平均 23.4 kg/m²。另选 60 例同期在我院就诊但未行 HRT 围绝经期患者作为对照,年龄 45~57 岁,平均年龄 51.1 岁; BMI 为 17~31 kg/m²,平均 23.5 kg/m²。两组年龄、BMI 等基本资料对比差异无统计学意义,具有可比性。

根据 BMI 将观察组患者分为 <28 kg/m² 组(A 组)和 ≥28 kg/m² 组(B 组),A 组 45 例,平均年龄 48.9 岁; ≥28 kg/m² 组 15 例,平均年龄 51.2 岁,观察组 2 个亚组年龄比较差异无统计学意义。

1.2 治疗方法 对照组未行 HRT,观察组采用地屈孕酮联合戊酸雌二醇序贯治疗方案对其进行治疗,于月经开始后第 5 日口服戊酸雌二醇,每日 1 片,持续服用 14 d,14 d 后服用雌二醇地屈孕酮片,以 28 d 为 1 个周期,不间断服用 12 个周期。

1.3 主要仪器与试剂 罗氏 E601 电化学发光分析仪及 AMH 试剂盒(德国罗氏公司),亚辉龙 iFlash3000-C 化学发光分析仪及 β2GP1 抗体试剂盒(深圳亚辉龙公司),Sysmex CS5100 血凝仪(日本 Sysmex 公司),PC、PS 试剂盒(西门子德灵公司)。

1.4 标本采集与检测 观察组:分别于 HRT 前、治疗 3 个月、治疗 6 个月及治疗 1 年时采集患者空腹肘部静脉血 1.8 mL,用枸橼酸钠抗凝(血液与抗凝剂比例为 9:1),30 min 内以 3 000 r/min 离心 15 min,血浆用于 PC、PS 的测定;采集静脉血 3 mL 于普通促凝剂管,30 min 内以 4 000 r/min 离心 10 min,血清用于 AMH、抗 β2GP1 测定。对照组:分别于入组后次日、入组后 3 个月、入组后 6 个月、入组后 1 年采集空腹肘部静脉血 5 mL,标本采集和

处理方法同观察组。

血清 AMH 采用电化学发光法检测,AMH 参考区间:0.046~2.06 ng/mL(45 岁以上)。血清抗 β2GP1 采用化学发光法测定,参考区间为阴性:<16 ng/mL;阳性:≥24 ng/mL;可疑:16~24 ng/mL。血浆 PC 采用发色底物法测定,参考区间:70%~140%。血浆 PS 采用凝固法检测,参考区间:55%~140%。

1.5 随访 对所有患者进行为期 6~12 个月的随访,每隔 6 个月进行 1 次门诊随访,主要行抗 β2GP1、PC、PS 检测及 B 超检查下肢深静脉管径、管内回声、血流等情况。

1.6 统计学分析 采用 SPSS 21.0 统计软件进行;符合正态分布数据以 $\bar{x} \pm s$ 描述,重复测量数据用两因素多水平方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 观察组、对照组不同时间点 AMH、抗 β2GP1、PC、PS 水平 见表 1。观察组治疗 6 个月及治疗 1 年 AMH、抗 β2GP1 水平均较治疗前升高(P 均 <0.05),血浆 PC、PS 水平均较治疗前下降(P 均 <0.05)。对照组治疗前、治疗 3 个月、治疗 6 个月、治疗 1 年时 AMH、抗 β2GP1、PC、PS 水平比较差异均无统计学意义(P 均 >0.05)。观察组与对照组比较,治疗前、治疗 3 个月 AMH、抗 β2GP1、PC、PS 水平比较差异均无统计学意义(P 均 >0.05),治疗 6 个月、治疗 1 年时,观察组 AMH、抗 β2GP1 水平均高于对照组(P 均 <0.05),PC、PS 水平均低于对照组(P 均 <0.05)。

表 1 观察组、对照组不同时间点 AMH、抗 β2GP1、PC、PS 水平变化情况($\bar{x} \pm s$)

分组	例数	时间点	AMH(ng/mL)	抗 β2GP1(ng/mL)	PC(%)	PS(%)
观察组	60	治疗前	1.22±0.14	11.01±3.12	96.42±12.65	67.63±9.14
		治疗 3 个月	1.30±0.19	12.03±3.65	94.5±9.81	65.42±8.36
		治疗 6 个月	1.43±0.22	15.74±3.91	88.36±7.02	58.54±7.47
		治疗 1 年	1.78±0.26	17.02±3.84	76.14±6.23	55.25±6.84
对照组	60	治疗前	1.25±0.15	11.92±2.73	97.08±11.43	67.45±8.92
		治疗 3 个月	1.26±0.16	11.14±2.52	98.72±10.94	66.76±8.61
		治疗 6 个月	1.27±0.15	12.03±2.65	97.85±12.56	67.34±10.37
		治疗 1 年	1.19±0.14	11.84±2.17	98.33±10.64	67.24±9.71

2.2 观察组不同 BMI 亚组间不同时间点 AMH、抗 β2GP1、PC、PS 水平 见表 2。A 组、B 组随着治疗时间延长,AMH、抗 β2GP1 水平均较治疗前升高(P 均 <0.05),PC、PS 水平均较治疗前下降(P 均 <

0.05)。A 组与 B 组比较:A 组、B 组 AMH 水平在各时间点比较差异均无统计学意义(P 均 >0.05);A 组、B 组治疗前及治疗 3 个月时抗 β2GP1、PC、PS 水平比较差异均无统计学意义(P 均 >0.05);A 组

治疗 6 个月、治疗 1 年抗 β 2GP1 水平高于 B 组 (P 均 <0.05), PC、PS 水平低于 B 组 (P 均 <0.05)。

表 2 观察组不同 BMI 亚组间不同时间点 AMH、抗 β 2GP1、PC、PS 水平变化情况 ($\bar{x} \pm s$)

分组	例数	时间点	AMH (ng/mL)	抗 β 2GP1 (ng/mL)	PC (%)	PS (%)
A 组	45	治疗前	1.24 \pm 0.16	11.24 \pm 2.75	95.87 \pm 11.53	67.06 \pm 8.72
		治疗 3 个月	1.28 \pm 0.23	11.78 \pm 3.01	95.27 \pm 10.15	66.23 \pm 8.05
		治疗 6 个月	1.45 \pm 0.34	14.56 \pm 3.19	91.37 \pm 7.35	59.98 \pm 7.42
		治疗 1 年	1.80 \pm 0.27	15.84 \pm 3.77	81.47 \pm 6.83	56.69 \pm 6.48
B 组	15	治疗前	1.21 \pm 0.20	11.47 \pm 2.80	96.85 \pm 12.30	68.04 \pm 8.05
		治疗 3 个月	1.31 \pm 0.25	12.37 \pm 3.14	93.34 \pm 9.68	63.45 \pm 7.49
		治疗 6 个月	1.40 \pm 0.36	16.71 \pm 3.20	86.58 \pm 6.91	55.31 \pm 7.06
		治疗 1 年	1.76 \pm 0.32	18.46 \pm 3.32	71.42 \pm 6.41	51.75 \pm 6.08

2.3 随访情况 观察组失访 4 例, 随访 56 例, 56 例患者抗 β 2GP1、PC、PS 水平分别为 14.37 \pm 3.02 ng/mL、(81.75 \pm 8.51)%、(57.64 \pm 6.36)%, 其中 1 例 B 超提示下肢静脉(胫后静脉)管腔内有实质回声, 患者 BMI 为 29.71 kg/m², 患侧下肢有轻微酸胀、疼痛感症状, 其抗 β 2GP1、PC、PS 水平分别为 22.59 ng/mL、60.47%、50.25%。

对照组失访 6 例, 随访 54 例, 其抗 β 2GP1、PC、PS 水平分别为 11.74 \pm 2.30 ng/mL、(98.05 \pm 11.44)%、(66.98 \pm 7.25)%, B 超检查均无异常。

3 讨论

对于围绝经期, 目前临床上主要采用 HRT, 其起效快, 效果确切。研究表明, 围绝经期患者卵巢功能开始逐渐减弱, 雌激素分泌减少, 故临床上可给予雌激素治疗来增强卵巢功能^[7]。HRT 对雌激素不足的患者, 可减轻其临床症状^[8]。围绝经期女性性激素水平下降, 导致凝血功能障碍, 机体处于高凝状态, 静脉血栓形成风险增加^[9]。因此, 本研究分析 HRT 对围绝经期患者治疗前后卵巢功能、血栓形成风险的影响, 对围绝经期女性行 HRT 具有参考价值。

HRT 尽管能有效改善围绝经期女性的情绪波动、睡眠障碍和性功能障碍等症状, 但对血栓栓塞性疾病是危险因素。因此, 在 HRT 期间, 密切监测患者的血栓形成的相关指标变化显得尤为重要。

AMH 是一种同源二聚体糖蛋白, 它受其他激素的调节和干扰少, 稳定性好, 因此是目前临床比较认可的卵巢储备功能评价指标^[10]。围绝经期女性的卵巢储备功能开始下降, 其血清 AMH 水平偏低。本研究结果显示, 观察组 HRT 围绝经期女性, 在治疗 6 个月、1 年时, 其血清 AMH 高于对照组, 说明 HRT 治疗能改善围绝经期患者的卵巢功能, 延缓卵巢功能衰退。邓娅等^[11]研究发现, 绝经前

子宫切除术患者术后接受为期 6 个月的 HRT 治疗, 其血清 AMH 水平高于治疗前, 肖风华^[12]及张慧^[13]分别在 HRT 治疗围绝经期综合征及血液病移植后卵巢早衰的育龄女性的过程中也发现治疗后血清 AMH 升高, 本研究结果与之基本相符。本研究还发现, 观察组不同 BMI 亚组间治疗前后血清 AMH 水平比较差异无统计学意义 ($P>0.05$), 说明 HRT 对卵巢功能的影响不受 BMI 的影响。

抗 β 2GP1 是一种能与带负电荷磷脂相结合的血浆蛋白, 当血清中的 β 2GP1 与心磷脂抗体 (ACA) 结合后即暴露出抗原位点, 诱导产生针对 β 2GP1 的自身抗体, 即抗 β 2GP1。研究表明, 抗 β 2GP1 对血栓栓塞疾病有良好的预测价值^[14]。有学者对活动期的系统性红斑狼疮患者进行研究, 合并血栓形成患者血清抗 β 2GP1 水平高于无血栓形成患者, 抗 β 2GP1 阳性率分别为 59.09%、5.17%, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); 而抗 β 2GP1 阳性患者与阴性患者的血栓形成率分别为 81.25%、23.7%, 表明系统性红斑狼疮患者的血清抗 β 2GP1 水平与血栓形成有密切联系, 其抗 β 2GP1 水平越高、阳性率越高, 血栓形成风险越高^[15]。

PC、PS 在凝血过程中, 活化的凝血因子 VIII (FVIIIa) 及凝血因子 V (FVa) 是凝血因子 X (FX) 和凝血酶原激活的限速因子, PC 可使 FVIIIa 和 FVa 灭活, PS 作为活化 PC 的辅因子, 可增强活化 PC 灭活 FVIIIa 及 FVa 而发挥抗凝作用^[16]。而口服方式 HRT 可降低患者体内的 PC 和 PS 的活性, 并增强活化 PC 抵抗。另有研究发现, 雌酮是雌激素代谢产物之一, 其水平增加可刺激肝凝血酶的合成, 故会增加血栓形成的风险^[17]。研究表明, 监测 PC、PS 水平变化可协助评估血栓栓塞疾病的病情严重程度, 亦可用于治疗后疗效的评估^[18]。黄燕婷^[19]对血栓栓塞疾病患者 175 例及健康受试者 50 例进行对比研究, 发现血栓栓塞疾病患者的血 PC、PS

水平明显低于正常,提示 PC、PS 水平检测有利于早期发现血栓栓塞疾病。本研究结果显示观察组治疗 6 个月、1 年时的血清抗 $\beta 2\text{GP1}$ 水平明显高于对照组,PC、PS 水平均低于对照组(P 均 <0.05),表明 HRT 患者随着治疗时间延长,其血栓形成风险增加。进一步对观察组按 BMI 进行分层分析发现,随着治疗时间的延长, $\geq 28 \text{ kg/m}^2$ 的患者在治疗 6 个月、1 年的血清抗 $\beta 2\text{GP1}$ 水平升高程度及 PC、PS 水平下降程度均比 $<28 \text{ kg/m}^2$ 的患者更为明显,表明 BMI $\geq 28 \text{ kg/m}^2$ 的围绝经期患者接受 HRT 后血栓形成风险更高。

本研究在随访 6~12 个月期间,观察组获得随访患者中有 1 例出现下肢静脉血栓形成的 B 超征象及症状,其抗 $\beta 2\text{GP1}$ 、PC、PS 水平异常,对照组获得随访患者 B 超征象、抗 $\beta 2\text{GP1}$ 、PC、PS 水平均无异常,提示抗 $\beta 2\text{GP1}$ 、PC、PS 水平检测在预测 HRT 治疗患者血栓形成中具有一定的参考价值。

综上所述,对行 HRT 围绝经期患者,通过监测其血 AMH、抗 $\beta 2\text{GP1}$ 、PC、PS 水平,可了解其卵巢功能变化及血栓形成的风险,对评估 HRT 的疗效及安全性具有较高的临床应用价值。

4 参考文献

- [1] Azam S, Jacobsen KK, Aro AR, *et al.* Hormone replacement therapy and mammographic density: a systematic literature review[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2020, 182(3): 555-579.
- [2] Bateson D, Butcher BE, Donovan C, *et al.* Risk of venous thromboembolism in women taking the combined oral contraceptive: a systematic review and meta-analysis[J]. *Aust Fam Physician*, 2016, 45(1): 59-64.
- [3] Moolhuijsen LME, Visser JA. Anti-müllerian hormone and ovarian reserve: update on assessing ovarian function[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2020, 105(11): 3361-3373.
- [4] Martos L, Ramón LA, Oto J, *et al.* $\alpha 2$ -macroglobulin is a significant in vivo inhibitor of activated protein C and low APC: $\alpha 2\text{M}$ levels are associated with venous thromboembolism[J]. *Thromb Haemost*, 2018, 118(4): 630-638.
- [5] 聂晓辉,洪流,李艳,等. 蛋白 C、蛋白 S、FVII、FVIII 与静脉血栓栓塞的相关性研究[J]. *齐齐哈尔医学院学报*, 2015, 36(7): 940-941.
- [6] Eisenberger A, Westhoff C. Hormone replacement therapy and venous thromboembolism[J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2014, 142: 76-82.
- [7] Martinelli I, Lensing AW, Middeldorp S, *et al.* Recurrent venous thromboembolism and abnormal uterine bleeding with anticoagulant and hormone therapy use[J]. *Blood*, 2016, 127(11): 1417-1425.
- [8] 朱小明,徐君碧,何人可,等. 围绝经期女性内分泌变化及相关疾病[J]. *山东大学学报(医学版)*, 2019, 57(2): 6-10.
- [9] Kraljicková D, Král J, Herzig R, *et al.* Factors influencing therapy choice and clinical outcome in cerebral venous sinus thrombosis[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 21633.
- [10] Almeida FRCL, Costermans NGJ, Soede NM, *et al.* Presence of anti-Müllerian hormone (AMH) during follicular development in the porcine ovary[J]. *PLoS One*, 2018, 13(7): e0197894.
- [11] 邓娅,陈萍,陈卫红. 激素替代治疗对绝经前子宫切除术患者术后血清抗苗勒氏激素水平、卵巢动脉血流动力学、骨代谢及凝血功能的影响[J]. *中国妇幼保健*, 2020, 35(12): 2219-2222.
- [12] 肖风华. 抗苗勒管激素与围绝经期综合征诊断与激素替代治疗的相关性研究[J]. *中国伤残医学*, 2014, 22(4): 112-114.
- [13] 张慧. 44 例血液病移植后卵巢早衰的育龄女性激素补充治疗初探[D]. 苏州: 苏州大学, 2017: 1-71.
- [14] 张耀中,王晓微,许丽辉,等. $\beta 2\text{GPI}$ 及其抗体与血栓形成的相关性研究[J]. *生命的化学*, 2016, 36(2): 158-164.
- [15] 秦韬,杨峻,全裔,等. 抗心磷脂抗体及抗 $\beta 2$ 糖蛋白 I 抗体对系统性红斑狼疮患者发生血栓并发症的预测价值[J]. *血栓与止血学*, 2019, 25(5): 738-740.
- [16] Malinowski AK, Bomba-Opoń D, Parrish J, *et al.* Venous thromboembolism in obese pregnant women: approach to diagnosis and management[J]. *Ginekologia Polska*, 2017, 88(8): 453-459.
- [17] 张本平,田阔,李杰,等. 血浆蛋白 C、蛋白 S、抗凝血酶 III 活性与脑梗死的相关性研究[J]. *哈尔滨医科大学学报*, 2017, 51(1): 49-52.
- [18] Sare GM, Gray LJ, Bath PM. Association between hormone replacement therapy and subsequent arterial and venous vascular events: a meta-analysis[J]. *Eur Heart J*, 2008, 29(16): 2031-2041.
- [19] 黄燕婷. 血浆蛋白 C 和蛋白 S 在静脉血栓栓塞患者体内表达水平[J]. *国际医药卫生导报*, 2018, 24(11): 1625-1626.

(收稿日期:2021-07-02)

(本文编辑:王海燕)