

DOI:10.13602/j.cnki.jcls.2023.01.07

· 出凝血功能检验 ·

儿童血管性血友病因子抗原和活性水平参考区间建立

魏佳^a, 申汉俊^a, 薛建^a, 谭秋霞^b (苏州大学附属儿童医院 a. 检验科, b. 输血科, 江苏苏州 215025)

摘要: **目的** 观察性别、年龄和 ABO 血型对儿童血管性血友病因子(vWF)检测的影响并建立参考区间。 **方法** 随机选取 2022 年 1 月至 9 月苏州大学附属儿童医院无出血临床表现且常规凝血检查结果均正常的 857 例儿童,检测其血浆 vWF 抗原和活性水平与 ABO 血型。 **结果** ≤ 6 岁儿童 vWF 抗原和活性水平低于 >6 岁且 ≤ 18 岁儿童 ($P < 0.05$);在不同年龄分组中 O 型血儿童 vWF 水平均低于非 O 型血儿童 ($P < 0.001$)。对于 ≤ 6 岁儿童, O 型血儿童 vWF 抗原和活性参考区间分别为 44.4%~130.6%和 43.0%~194.7%;非 O 型血儿童 vWF 抗原和活性参考区间分别为 66.3%~190.4%和 71.3%~282.3%。对于 >6 岁儿童, O 型血儿童 vWF 抗原和活性参考区间分别为 50.4%~145.4%和 51.7%~221.4%;非 O 型血儿童 vWF 抗原和活性参考区间分别为 75.4%~195.6%和 84.0%~296.5%。 **结论** 儿童血浆 vWF 抗原和活性水平受年龄和 ABO 血型影响,实验室积极建立针对儿童 vWF 的特异性参考区间有利于临床全面评估患儿的出血与血栓风险。

关键词: 儿童;血管性血友病因子;ABO 血型;参考区间

中图分类号:R446

文献标志码:A

Establishment of reference intervals of von Willebrand factor antigen and activity for children

WEI Jia^a, SHEN Hanjun^a, XUE Jian^a, TAN Qiuxia^b (a. Department of Laboratory Medicine, b. Blood Transfusion Department, Children's Hospital of Soochow University, Suzhou 215025, Jiangsu, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of gender, age, and ABO blood type on the detection of von Willebrand factor (vWF) antigen (vWF: Ag) and activity (vWF: Ac) in children, and establish the reference intervals of vWF: Ag and vWF: Ac for children.

Methods 857 children who had no clinical manifestation of bleeding or coagulation and had normal results of routine coagulation tests were selected randomly from our hospital, and their plasma vWF: Ag and vWF: Ac and ABO blood type were detected. **Results** The levels of vWF: Ag and vWF: Ac in the low age group (≤ 6 years old) were significantly lower than that in the high age group (>6 and ≤ 18 years old, $P < 0.05$). The levels of vWF: Ag and vWF: Ac in children with type O blood were significantly lower than that with non-O blood type in different age groups ($P < 0.001$). For children aged ≤ 6 years, the reference intervals of vWF: Ag and vWF: Ac in the type O blood group were 44.4%-130.6% and 43.0%-194.7%, respectively, and those in the non-O blood type group were 66.3%-190.4% and 71.3%-282.3%, respectively. For children aged >6 and ≤ 18 years, the reference intervals of vWF: Ag and vWF: Ac in the type O blood group were 50.4%-145.4% and 51.7%-221.4%, respectively, and those in the non-O blood type were 75.4%-195.6% and 84.0%-296.5%, respectively. **Conclusion** The levels of plasma vWF: Ag and vWF: Ac in children are affected by age and ABO blood type. Laboratories should actively establish the specific reference intervals of vWF in children, which will be helpful for comprehensively assessing the risk of bleeding and thrombosis in children.

Key words: children; von Willebrand factor; ABO blood type; reference interval

血管性血友病(von Willebrand disease, vWD)是最常见的遗传性出血性疾病,主要由血管性血友病因子(von Willebrand factor, vWF)基因或相关基因突变导致 vWF 数量减少或质量异常^[1]。vWF 是一种多聚体高分子糖蛋白,正常情况下在血循环中保持静息状态,当机体受损时可介导血小板黏附与聚集、结合血管内皮基质等来参与血栓形成。作为凝血因子Ⅷ(FⅧ)的特异性载体蛋白, vWF 能够保护 FⅧ不被快速清除。近年来,随着 vWF 和凝血因子系列检测项目在国内实验室的规范化开展, vWD

实验室精准诊断和分型体系逐步建立^[2]。然而,血浆 vWF 水平受性别、年龄、种族、ABO 血型、炎症应激等多种因素影响^[3-4],同时国内能够常规开展 vWD 相关检测项目的儿童医院较少。此外,儿童期本身存在的瘀伤或鼻出血等一些出血症状并不一定提示出血性疾病,出血史阴性的儿童也不能排除 vWD 诊断^[5]。因此,儿童 vWD 的筛查和诊断愈加困难。本研究旨在确定儿童血浆 vWF 抗原(vWF:Ag)和 vWF 活性(vWF:Ac)检测的影响因素,并进一步建立适用于我国儿童 vWF 的参考区间。

作者简介:魏佳,1994 年生,女,技师,硕士,主要从事临床出凝血检验研究。

通信作者:谭秋霞,主管技师, E-mail:516771231@qq.com。

1 对象与方法

1.1 研究对象 随机选取 2022 年 1 月至 9 月苏州大学附属儿童医院 857 例无出凝血临床表现,近期无服药史,且血常规、尿常规、肝肾功能、凝血常规等实验室检查结果均正常的行腺体肥大切除术的儿童。排除标准:(1)1 个月内有贫血、发热、感染、创伤的情况;(2)6 个月内有住院或手术史;(3)患有低氧血症、低血压、肾损伤及心脏疾病;(4)具有自身免疫病、手足口病、恶性肿瘤和遗传代谢疾病等既往史。857 例参与检测的儿童年龄为 7(5,9)岁,其中男性 517 例,女性 340 例。根据《儿科学》第 7 版,将儿童划分为 4 个年龄组,分别为婴幼儿组(≤ 3 岁),学龄前组(>3 岁且 ≤ 6 岁),学龄组(>6 岁且 ≤ 12 岁)和青春期组(>12 岁且 ≤ 18 岁)。本研究中 A 型血儿童 249 例(男性 155 例),年龄 6(5,9)岁;B 型血儿童 203 例(男性 115 例),年龄 6(5,9)岁;AB 型血儿童 94 例(男性 61 例),年龄 6(5,8)岁;O 型血儿童 311 例(男性 186 例),年龄 7(5,9)岁。本研究经苏州大学附属儿童医院伦理委员会批准(批准文号:2022CS139)。

1.2 主要仪器与试剂 CS5100 全自动凝血分析仪及配套 vWF 抗原和活性试剂(免疫比浊法,日本 Sysmex 公司)。

1.3 标本采集、处理与检测 研究对象空腹安静状态下常规采集开展治疗前的外周静脉血,分别用 0.109 mol/L 枸橼酸钠 1:9 抗凝和 EDTA-K₂ 抗凝,充分混匀。枸橼酸钠抗凝全血以 1 500×g 离心

15 min 分离得到血浆后上机完成 vWF 检测。用 EDTA-K₂ 抗凝全血鉴定血型。上述操作均在室温下 2 h 内完成。所有标本均无溶血、黄疸及脂血。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 24.0 统计软件进行。用 Dixon 法检查并剔除离群值。采用 Kolmogorov-Smirnov 检验进行正态性检验。偏态分布数据以 $M(P_{25},P_{75})$ 表示。两组间比较采用 Mann-Whitney U 检验。多组间比较采用 Kruskal-Wallis H 检验,若有统计学意义,则进一步采用事后成对比较进行两两比较。参照美国临床和实验室标准协会(CLSI) C28-A3 指南文件推荐的方法建立参考区间,对于偏态分布的数据采用非参数法计算参考区间($P_{2.5} \sim P_{97.5}$)。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 性别和年龄对 vWF 抗原和活性水平的影响 不同性别分组 vWF:Ag(%) 和 vWF:Ac(%) 水平差异均无统计学意义(P 均 >0.05),见表 1。vWF 抗原和活性的整体水平在婴幼儿期和学龄前期较稳定,在学龄期有缓慢上升趋势,而在青春期出现下降趋势。此外,处于婴幼儿期和学龄前期的低年龄组儿童 vWF:Ag 和 vWF:Ac 水平低于处于学龄期和青春期的高年龄组儿童(P 均 <0.05),见表 2。

表 1 不同性别分组 vWF 抗原和活性水平分布

分组	vWF:Ag(%)	vWF:Ac(%)
男性($n=517$)	102.8(83.3,122.9)	119.4(91.9,169.2)
女性($n=340$)	99.3(82.1,122.6)	119.1(95.6,174.1)
$Z(P)$ 值	-0.547(0.585)	0.266(0.790)

表 2 不同年龄分组 vWF 抗原和活性水平分布

分组	vWF:Ag(%)	vWF:Ac(%)
低年龄组(≤ 6 岁, $n=423$)	99.8(80.3,121.8)	116.4(92.3,160.0)
婴幼儿期($n=69$)	97.4(83.0,117.1)	116.4(96.8,152.0)
学龄前期($n=354$)	100.2(80.1,119.2)	116.4(91.3,161.8)
高年龄组(>6 岁且 ≤ 18 岁, $n=434$)	104.3(84.3,126.6)	126.9(95.3,174.3)
学龄期($n=400$)	105.1(84.4,127.0)	127.9(95.6,174.7)
青春期($n=34$)	97.7(77.6,118.2)	105.1(88.2,167.8)

注:低年龄组、高年龄组 vWF:Ag、vWF:Ac 比较, $Z(P)$ 值分别为 2.065(0.039)、1.975(0.048);婴幼儿期、学龄前期、学龄期、青春期 vWF:Ag、vWF:Ac 比较, $H(P)$ 值分别为 6.005(0.111)、5.671(0.129)。

2.2 血型对 vWF 抗原和活性水平的影响 不同血型分组间 vWF:Ag 和 VWF:Ac 水平比较差异有统计学意义(P 均 <0.001)。O 型血组 vWF:Ag 和 vWF:Ac 水平低于非 O 型血组(P 均 <0.001);B 型血组 vWF:Ag 和 vWF:Ac 水平低于 AB 型血组(前者 $P=0.021$,后者 $P=0.013$);A 型血组仅 vWF:Ag 水平低于 AB 型血组($P=0.017$),见表 3。

表 3 不同血型分组 vWF 抗原和活性水平分布

血型	VWF:Ag(%)	VWF:Ac(%)
A 型($n=249$)	112.5(96.0,130.4) ^{ab}	148.3(113.6,186.6) ^a
B 型($n=203$)	110.4(95.4,130.3) ^{ab}	137.6(109.9,176.7) ^{ab}
AB 型($n=94$)	123.7(107.8,142.0) ^a	167.4(128.2,200.8) ^a
O 型($n=311$)	82.1(67.9,98.2)	91.9(74.4,114.3)
$H(P)$ 值	251.895(<0.001)	255.850(<0.001)

注:a,与 O 型血组儿童比较, $P<0.001$;b,与 AB 型血组儿童比较, $P<0.05$ 。

2.3 建立不同血型人群 vWF 抗原和活性参考区间

在不同年龄组中,非 O 型血组 vWF:Ag(%) 和 vWF:Ac(%) 水平差异均高于 O 型血组 ($P <$

0.001),见表 4。因此,取数据分布的 $P_{2.5} \sim P_{97.5}$ 建立不同年龄和血型儿童的 vWF 参考区间,见表 5。

表 4 不同年龄和血型分组 vWF 抗原和活性水平分布

分组	血型	例数	vWF:Ag(%)	vWF:Ac(%)
低年龄组	非 O 型	291	107.7(93.2,124.4)	133.1(109.2,178.0)
	O 型	132	78.9(65.3,96.8) *	90.6(72.1,112.3) *
高年龄组	非 O 型	255	118.9(101.5,136.6)	160.4(126.5,193.3)
	O 型	179	83.0(71.3,95.5) Δ	94.7(77.4,112.1) Δ
Z(P)值			12.729(<0.001)	12.661(<0.001)

注:*,与同组非 O 型比较,Z 值分别为 9.565、9.856, P 均<0.001;Δ,与同组非 O 型比较,Z 值分别为 12.729、12.661, P 均<0.001。

表 5 不同年龄和血型分组 vWF 抗原和活性的参考区间

分组	血型	vWF:Ag(%)	vWF:Ac(%)
低年龄组 (≤6 岁)	非 O 型	66.3~190.4	71.3~282.3
	O 型	44.4~130.6	43.0~194.7
高年龄组 (>6 岁且≤18 岁)	非 O 型	75.4~195.6	84.0~296.5
	O 型	50.4~145.4	51.7~221.4

3 讨论

鉴于儿童凝血系统随着年龄增长不断发育成熟,儿童凝血参数参考区间也受种族、年龄、性别、检测条件和方法的影响,每个实验室在自身技术条件下建立儿童 vWF 特异性参考区间有利于儿童 vWD 的准确诊断^[6]。本研究中,儿童 vWF 水平在婴幼儿期至学龄期有整体上升的趋势,至青春期又出现缓慢下降。与李莉莉等^[3]成人研究结果比较发现,≤6 岁龄儿童的 vWF 水平略高于低龄成人组(<40 岁),而>6 岁龄儿童的 vWF 水平略低于高龄成人组(≥40 岁)。由此可见,正常人血浆 vWF 水平在不同年龄层中的生理性变化可能并不是单一的缓慢增长。Di Felice 等^[7]研究发现,1~6 月龄婴儿的 vWF 参考区间更宽且更高,而 6~12 月龄和 1~16 岁龄儿童的参考区间更窄且更低。以上变化趋势的差异可能来自研究人群的种族异质性和检测仪器及试剂的不同。

与成人结果一致的是,O 型血儿童 vWF:Ag(%) 和 vWF:Ac(%) 水平低于非 O 型血儿童 ($P < 0.001$)。研究表明,ABO 血型是影响 vWF 水平的主要遗传性因素^[8]。O 型血个体因缺乏 ABO 糖基转移酶对 ADAMTS13 金属蛋白酶的抑制作用,导致 vWF 水解作用增强,其半衰期比其他血型短约 2 h^[8]。最新国际指南建议,发生血浆 vWF 抗原水平轻度至中度降低的患者应诊断为低 vWF^[9]。低 vWF 的儿童可出现有临床意义的出血,并导致贫血、缺铁等并发症^[10]。因此,建立儿童 vWF 特异性

参考区间有利于对这类儿童进行遗传咨询,诊断和管理相关出血性疾病,降低成年期发病率。

4 参考文献

[1] 中华医学会血液学分会血栓与止血学组. 血管性血友病诊断与治疗中国指南(2022 年版)[J]. 中华血液学杂志, 2022, 43(1): 1-6.

[2] 陈娜云, 刘洋, 方代华. 0~18 岁儿童凝血功能检测指标参考区间的建立[J]. 临床检验杂志, 2022, 40(2): 155-158.

[3] 李莉莉, 邹纬, 许冠群, 等. 针对影响因素细化的 vWF 抗原与活性检测参考范围的建立[J]. 中国输血杂志, 2017, 30(7): 690-692.

[4] 张平, 余自强, 张晓辉, 等. 采用全自动标准化方法检测正常人血浆 VWF 水平及其影响因素分析[J]. 中华血液学杂志, 2017, 38(2): 146-152.

[5] Gill JC, Conley SF, Johnson VP, *et al.* Low vWF levels in children and lack of association with bleeding in children undergoing tonsillectomy[J]. Blood Adv, 2020, 4(1): 100-105.

[6] 中华医学会检验医学分会, 国家卫生健康委临床检验中心, 中国血友病协作组. 血管性血友病实验诊断中国专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2022, 45(10): 1034-1038.

[7] Di Felice G, Vidali M, Parisi G, *et al.* Reference intervals for coagulation parameters in developmental hemostasis from infancy to adolescence[J]. Diagnostics (Basel), 2022, 12(10): 2552.

[8] Favaloro EJ, Dean E, Arunachalam S. Evaluating performance of contemporary and historical von willebrand factor (vWF) assays in the laboratory identification of von willebrand disease (vWD): the Australasian experience[J]. Semin Thromb Hemost, 2022, 48(6): 711-731.

[9] O'Donnell JS. Low vWF: insights into pathogenesis, diagnosis, and clinical management[J]. Blood Adv, 2020, 4(13): 3191-3199.

[10] Srivaths L, Kouides PA. Low von willebrand factor in children and adolescents: a review[J]. JAMA Pediatr, 2021, 175(10): 1060-1067.

(收稿日期:2022-08-29)
(本文编辑:王海燕)