

• 临床检验研究论著 •

网织血小板在慢性肝病合并血小板减少症中的意义

莫莉¹, 曾学辉², 李忠新², 陈安彬¹

(1. 深圳市福田区中医院检验科, 广州 518034; 2. 广州中医药大学附属深圳医院检验科, 广东深圳 518033)

摘要:目的 探讨网织血小板在慢性肝病性伴血小板减少症中的变化及意义。方法 采用 XE-5000 全自动血液分析仪分别测定 117 例慢性肝病患者、47 例 ITP 患者和 89 例健康人群外周血 IPF% 和 IPF 绝对值, 并将慢性肝病组分为慢性肝病伴血小板正常组、慢性肝病伴血小板减少组。结果 慢性肝病伴血小板减少组 IPF% 中位数高于健康对照组 ($P < 0.01$), 高于慢性肝病伴血小板正常组 ($P < 0.01$), 低于 ITP 组 ($P < 0.01$), ITP 组和慢性肝病伴血小板正常组 IPF% 中位数高于健康对照组 ($P < 0.01$)。慢性肝病伴血小板减少组和 ITP 组 IPF 绝对值低于健康对照组 ($P < 0.01$), 慢性肝病伴血小板正常组 IPF 绝对值与健康对照组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 网织血小板可反映慢性肝病伴血小板减少者骨髓巨核系统生成血小板情况, 有利于慢性肝病患者血小板减少病因的诊断。

关键词: 血小板; 紫癜, 血小板减少性, 特发性; 肝炎, 慢性; 肝硬化

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.14.021

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)14-1823-02

Significance of reticulated platelets in chronic liver disease combined thrombocytopenia

Mo Li¹, Zeng Xuehui², Li Zhongxin², Chen Anbin¹

(1. Department of Laboratory Medicine, Futian District Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shenzhen, Guangdong 518034, China; 2. Department of Laboratory Medicine, Shenzhen Affiliated Hospital of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Shenzhen, Guangdong 518033, China)

Abstract: **Objective** To investigate the reticulocytes platelet changes and significance in chronic liver disease combined thrombocytopenia. **Methods** The IPF% and IPF absolute value of 117 patients with chronic liver disease, 47 patients with ITP and 89 cases of normal control were measured by the XE-5000 automated hematology analyzer. The chronic liver disease group was divided into chronic liver disease associated with normal platelets group and chronic liver disease associated with thrombocytopenia group. **Results** The IPF% median of chronic liver disease associated with thrombocytopenia group was higher than that of the normal control group ($P < 0.01$) and the chronic liver disease associated with the platelet normal group ($P < 0.01$), and was lower than that of the ITP group ($P < 0.01$). The IPF% median of ITP group and chronic liver disease associated with normal platelet group were higher than that of the control group ($P < 0.01$). The IPF absolute value median of chronic liver disease associated with thrombocytopenia group and the ITP group were lower than that of the control group ($P < 0.01$). There was no significant difference of IPF absolute value between the chronic liver disease group and the normal control group ($P > 0.05$). **Conclusion** The reticulated platelets can reflect bone marrow megakaryocytes to produce platelets in chronic liver disease associated with thrombocytopenia, and it is helpful for diagnosing the causes of thrombocytopenia in chronic liver disease.

Key words: blood platelets; purpura, thrombocytopenic, idiopathic; hepatitis, chronic; liver cirrhosis

网织血小板 (reticulated platelet, RP) 是由骨髓巨核细胞释放入血的最新生成的血小板, 这种血小板体积较大, 含有少量的 RNA。网织血小板比率 (immature platelet fraction, IPF) 是 RP 与总血小板数量的比值, IPF 可以反映骨髓生成血小板情况, 判断巨核细胞的活性, 鉴别血小板减少是骨髓生成障碍还是外周血中血小板破坏增加所致^[1]。本研究选择 117 例慢性肝病患者, 47 例特发性血小板减少性紫癜 (idiopathic thrombocytopenic purpura, ITP) 患者, 应用全自动血细胞分析仪检测网织血小板, 探讨网织血小板在慢性肝病中变化及其意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 117 例慢性肝病患者为本院门诊和住院患者, 男 55 例, 女 52 例, 平均年龄 46.5 岁。其中慢性肝炎 65 例, 肝硬化 51 例, 其诊断符合 2000 年病毒性肝炎防治方案^[2], 将这些病例外周血血小板计数小于 $100 \times 10^9/L$ 视为慢性肝病伴血小板减少症。47 例 ITP 患者符合《血液病诊断及疗效标准诊断标准》^[3], 其中男 13 例, 女 34 例, 平均年龄 27 岁。89 例

健康对照组为本院健康体检者, 其血常规结果均正常且无血液性疾病, 其中, 男 35 例, 女 54 例, 平均年龄为 37 岁。

1.2 仪器与试剂 XE-5000 型全自动血细胞分析仪 (日本东亚公司), 试剂为血液分析仪的配套进口试剂。

1.3 实验方法 仪器按操作规程校准, 每日测试前均做本底检测和质控, 检测指标在质控通过后进行。所有样本采集均采用真空采血法, 抽肘静脉血 2 mL, 置于 EDTA-K₂ 抗凝管中, 充分混匀后 4 h 内在 XE-5000 全自动血液分析仪上分析。

1.4 统计学处理 所有数据采用 SPSS12.0 统计软件处理, 多个独立样本比较采用 Kruskal-Wallis H 检验, 两两独立样本比较采用 Wilcoxon 秩和检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 XE-5000 检测正常对照、慢性肝病患者、ITP 患者网织血小板散点图实例 纵坐标为前向散射光, 代表细胞的体积大小, 横坐标为荧光强度, 代表 RNA 的含量, 根据细胞大小将红细胞和血小板分开, 根据 RNA 含量将成熟细胞和未成熟细胞

分开,形成了红细胞、网织红细胞、血小板和 IPF 4 个不同的区域,通过分析计算得到 IPF%和 IPF 的绝对值。

2.2 慢性肝病伴血小板正常组和慢性肝病伴血小板减少组的网织血小板检测结果 慢性肝病伴血小板减少组 IPF%中位

数高于慢性肝病伴血小板正常组($P<0.05$),同时慢性肝病伴血小板正常组 IPF%中位数高于正常对照组($P<0.01$);慢性肝病伴血小板减少组 IPF 绝对值中位数低于慢性肝病伴血小板正常组($P<0.01$),见表 1。

表 1 网织血小板在慢性肝病伴血小板正常和慢性肝病伴血小板减少组的结果

组别	<i>n</i>	IPF%Median(Range)	IPF($\times 10^9/L$)Median(Range)	PLT($\times 10^9/L$)Median(Range)
慢性肝病伴血小板减少组	76	5.1(2.8~10.7)	1.99(0.38~7.17)	56(8~98)
慢性肝病伴血小板正常组	41	4.3(2.8~8.8)	6.10(4.13~13.62)	136(103~331)
正常对照组	89	2.1(0.5~6.8)	4.74(1.07~14.69)	229(117~345)

2.3 慢性肝病肝病伴血小板减少组和 ITP 组的网织血小板检测结果 ITP 组和慢性肝病伴血小板减少组 IPF%中位数高于正常对照组($P<0.01$),ITP 组 IPF%中位数高于慢性肝病伴血小板减少组($P<0.01$);ITP 组和慢性肝病伴血小板减

少组 IPF 绝对值中位数明显低于正常对照组($P<0.01$),并且慢性肝病伴血小板减少组 IPF 绝对值中位数低于 ITP 组($P<0.05$),见表 2。

表 2 网织血小板在 ITP 及慢性肝病伴血小板减少组的结果

组别	<i>n</i>	IPF%Median(Range)	IPF($\times 10^9/L$)Median(Range)	PLT($\times 10^9/L$)Median(Range)
特发性血小板减少性紫癜组	47	11.5(2.4~38.3)	3.12(0.55~11.06)	37(2~67)
慢性肝病伴血小板减少组	76	5.1(2.8~10.7)	1.99(0.38~7.17)	56(8~98)
正常对照组	89	2.10(0.5~6.8)	4.74(1.07~14.69)	229(117~345)

3 讨 论

血小板减少症主要原因分为外周血小板破坏增多和骨髓巨核细胞生成血小板减少。慢性肝脏疾病患者血小板减少与脾脏功能亢进、血小板相关抗体等有关,肝病病毒抗原吸附于成熟和未成熟血小板表面,并与相应的抗病毒抗体结合,血小板被脾脏内单核巨噬细胞系统破坏,导致 PLT 和 IPF 值降低^[4-5]。既往主要通过骨髓巨核细胞检查来明确血小板减少症的性质,这种方法具有创伤性,不适用于疾病的随访观察。因此,需寻找一种简单、敏感且无创的检查来明确血小板减少症的性质。近年来,网织血小板在血小板减少性疾病的发病原因鉴别和疗效观察得到广泛应用^[6-7]。网织血小板是由骨髓巨核细胞入外周血最新生成的血小板,在其成熟的过程中,体积减小,胞质中的 RNA 含量减少直至消失,因此外周血网织血小板水平可反映骨髓巨核细胞的血小板生成能力。早期检测网织血小板方法主要是流式细胞术,这种方法操作步骤较繁,影响因素多,重复性较差。近年来 XE-5000 全自动血细胞分析仪采用两种 Polymehtine 和 Oxazine 荧光染料与网织血小板中的 RNA 结合,在常规血细胞检测的同时,根据 RNA 含量可区分成熟血小板和网织血小板,得到 IPF% 和 IPF 绝对值。这种方法速度快,操作简单,重复性好,与流式细胞法有较好的相关性^[8-9]。

既往研究表明 IPF 可作为一个鉴别血小板减少症患者血小板生成活跃或低下的良好指标,当 IPF 显著增高时,考虑骨髓巨核系统增生活跃性血小板减少症,如 ITP;当 IPF 无明显增高或减低时,考虑为骨髓增生低下性血小板减少症,如再生障碍性贫血等血小板减少症等^[7,10]。在本次研究中,采用 XE-5000 全自动血细胞分析仪检测 117 例慢性肝病和 47 例 ITP 的 IPF,数据经正态分布检验,属偏态分布,采用秩和检验统计分析,结果显示慢性肝病伴血小板减少组 IPF%中位数高于正常对照组($P<0.01$)。提示慢性肝病伴血小板减少组血小板

的生成能力无障碍,造成 PLT 和 IPF 绝对值下降主要是外周血小板破坏过多,这与 Nomura 等^[11]报道基本一致。ITP 组 IPF%中位数均高于肝病伴血小板减少组($P<0.01$),提示 ITP 血小板生成能力较慢性肝病伴血小板减少患者好,ITP 患者骨髓巨核细胞生成血小板能力良好,ITP 血小板减少主要原因是体内所产生的抗血小板自身抗体与血小板抗原相结合而导致血小板迅速从循环系统中减少。本研究还显示,慢性肝病伴血小板减少组 IPF%中位数高于慢性肝病伴血小板正常组($P<0.05$),提示在肝脏疾病中,当外周血小板减少时,骨髓可代偿性生成更多的血小板。

本研究显示,利用全自动血细胞分析检测 IPF 可反映慢性肝病伴血小板减少者骨髓巨核系统生成血小板情况,有利于慢性肝病患者血小板减少病因的诊断。近年有报道 IPF 除在血小板减少症中有重要意义,IPF 可用于诊断系统性红斑狼疮和疗效判断^[12],最新的研究发现,IPF 值还可作为急性冠状动脉综合症的预后指标^[13]。因此,IPF 在其他疾病中的意义值得进一步研究和探讨。

参考文献

[1]^[1]. Silva LF, Golim MA, Takahira RK. Measurement of thrombopoietic activity through the quantification of megakaryocytes in bone marrow cytology and reticulated platelets[J]. Res Vet Sci, 2012,93(1):313-317.

[2] 张之南,沈悌.血液病诊断及疗效标准[M].3 版.北京:科学出版社,2007:172-176.

[3] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会.病毒性肝炎防治方案[J].中华肝脏病杂志,2000,8(6):324-329.

[4] 袁宏,郝尧,孙永红,等.63 例慢性肝病合并血小板减少症患者血小板生成素水平及其临床意义[J].国际检验医学杂志,2008,29(11):1036-1037.

[5] 崔文娟,朱凤群,马列婷,等.慢性乙型肝炎肝硬化(下转第 1827 页)

药机制主要是存在 β -内酰胺酶,能产生 mecA 基因编码的新青霉素结合蛋白(PBP2a),PBP2a 对 β -内酰胺类抗菌素亲和力很低,MRSA 对所有 β -内酰胺类药耐药性,MRSA 还可产生修饰酶,降低膜通透性产生大量 PABA 等不同机制存在多重耐药^[5]。本资料对 MRSA 敏感性较高的抗菌素为:万古霉素、呋喃妥因、磷霉素、复方新诺明等,过去推荐使用的利福平和庆大霉素耐药性较高。MRCNS 是广泛存在于皮肤和黏膜表面的条件致病菌,包括表皮葡萄球菌、腐生葡萄球菌、人葡萄球菌和溶血葡萄球菌等。是体表感染的常见病原菌,但是 MRCNS 也能引起心内膜炎、尿路感染、骨髓炎、化脓性关节炎及各种异物性感染,近年来由于抗菌药的不合理应用、侵入性诊疗操作增多、老龄患者增多、肿瘤、糖尿病等基础性疾病的增加均导致的机体抵抗力下降等因素、使得该类细菌成为常见致病菌。本资料显示 MRCNS 的耐药现象比较严重,对青霉素 G、头孢西丁、头孢唑林、阿奇霉素、红霉素、克林霉素、庆大霉素、环丙沙星、氧氟沙星的耐药性高于 50%。MRCNS 导致的感染应从万古霉素、丁胺卡那、呋喃妥因、磷霉素、复方新诺明等敏感药中选择。

革兰阴性菌感染率较高的肠杆菌以大肠埃希菌为主。大肠埃希菌是自然界最多的细菌之一,近年来由于抗菌药在动物饲料、食品添加剂以及人类疾病的滥用,导致耐药性严重。特别是大肠埃希菌是产质粒介导的超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)的代表菌种之一,ESBLs 可以通过接合、转化和转导等形式使其耐药基因在同种或异种细菌间扩散,从而造成严重的医院交叉感染和院外耐药菌的扩散^[6],产 ESBLs 菌不仅对青霉素类和头孢菌素类呈现耐药,而且对氟喹诺酮类、氨基糖苷类有多重耐药^[7]。本研究资料大肠埃希菌 ESBLs 的阳性率为 43.8%,肺炎克雷伯菌 ESBLs% 低于全国平均水平^[1-4],可能与本地区地理环境和社区获得性感染较低有关,但高于国外报告^[8]。ESBLs 对氨苄西林、头孢类、氟喹诺酮类、庆大霉素的耐药率平均高于 50%,在细菌药敏试验中青霉素类、头孢类均报耐药。ESBLs 在临床治疗中的获得性耐药问题应引起注意。本研究资料大肠埃希菌对亚胺培南的耐药性小于 1%,表明亚胺培南对大肠埃希菌的有效性。另外两种加酶抑制剂的复方制剂耐药性小于 10%,体现了加酶抑制剂对付 ESBLs 的

有效作用。呋喃妥因、磷霉素、丁胺卡那保持了传统的抗菌特性,呋喃妥因大部分通过泌尿系排泄,在泌尿系组织浓度较高,对于泌尿系大肠埃希菌感染可选用呋喃妥因。丁胺卡那对肾和第 8 对脑神经有毒性,应慎用。

革兰阴性菌感染率较高的非发酵菌以铜绿假单胞菌为主,铜绿假单胞菌对多种抗菌药天然耐药,而且有很强的环境适应能力,能够产生生物被膜,极易获得耐药性,是医院感染的常见条件致病菌^[7],本资料监测结果与全国耐药监测网数据接近,氨曲南的耐药率略低于其他地区^[2-4]。目前在本地地区尚未发现耐万古霉素的金黄色葡萄球菌和肠球菌。

细菌耐药是国内医学界面临的严峻问题,加强本地区及本院常见细菌感染的耐药性监测和分析对于掌握细菌耐药发展趋势,制定合理的抗菌药物应用与管理措施具有重要意义,加强院内感染控制措施,重视多重耐药菌和泛耐药菌的监测,防止这些多耐药细菌在医院内部的扩散也是医院管理的重要环节。

参考文献

- [1] Clinical Laboratory Standard Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing[S]. M100-S19, 2009.
- [2] 汪复,朱德妹,胡付品,等. 2008 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2009, 9(5): 321-329.
- [3] 汪复,朱德妹,胡付品,等. 2009 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2010, 10(5): 325-334.
- [4] 陈晓,杨青,张伟丽,等. Mohnarín 2010 年报告:西北地区细菌耐药监测[J]. 中华医院感染学杂志[J], 2011, 21(23): 4933-4938.
- [5] 孙淑娟,裘燕. 抗菌药物治疗学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 284-286.
- [6] Walsh TR. Clinically significant carbapenemases: an updatr[J]. Curr opin infect dis, 2008, 21(4): 367-371.
- [7] 张伟博,倪语星. 铜绿假单胞菌耐碳青霉烯类抗菌药机制[J]. 微生物与感染, 2008, 3(2): 107-110.
- [8] Chen LF, Chopra T, Kaye KS. Pathogens resistant to antibacterial agents[J]. Infect Disease Clin North Am, 2009; 23: 817-845.

(收稿日期: 2012-12-08)

(上接第 1824 页)

- 小板减少与疾病相关性的研究[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2011, 32(01): 85-88.
- [6] Jung H, Jeon HK, Kim HJ, et al. Immature platelet fraction: establishment of a reference interval and diagnostic measure for thrombocytopenia[J]. Korean J Lab Med, 2010, 30(5): 451-459.
 - [7] 邓剑青,胡琦,刘敏,等. 网织血小板测定在慢性特发性血小板减少性紫癜中的意义[J]. 广东医学, 2011, 32(13): 1729-1730.
 - [8] Koike Y, Miyazaki K, Higashihara M, et al. Clinical significance of detection of immature platelets: comparison between percentage of reticulated platelets as detected by flow cytometry and immature platelet fraction as detected by automated measurement[J]. Eur J Haematol, 2010, 84(2): 183-194.
 - [9] Hayashi S, Nishiyama M, Suehisa E, et al. Comparison between two methods for the measurement reticulated platelet and their clinical significance—flow cytometry (FCM) method and IPF method Using automated hematology analyzer(XE-2000)[J]. Rin-

sho Byori, 2009, 57(11): 1039-1044.

- [10] 刘艳,王贞,袁百香,等. 网织血小板和血小板相关抗体在特发性血小板减少性紫癜鉴别诊断中的作用比较[J]. 中国实验血液学杂志, 2011, 19(04): 979-982.
- [11] Nomura T, Kubota Y, Kitanaka A, et al. Immature platelet fraction measurement in patients with chronic liver disease: a convenient marker for evaluating cirrhotic change[J]. Int J Lab Hematol, 2010, 32(3): 299-306.
- [12] 刘青松,袁国华,唐中,等. 网织血小板对系统性红斑狼疮的诊断和疗效判断价值[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2012, 33(06): 748-75.
- [13] López-Jiménez RA, Martín-Herrero F, González-Porras JR, et al. Immature Platelet Fraction: A New Prognostic Marker in Acute Coronary Syndrome[J]. Rev Esp Cardiol, 2013, 66(2): 147-148.

(收稿日期: 2012-11-08)