·经验交流·

血小板活化指标在急性脑梗死疾病中的应用研究*

符布清[1]，彭丽晨[1]，季明德[1]，王　佳[1]，于顾然[2]
（江苏省中医院：1. 检验科；2. 神经内科，江苏南京 210029）

摘　要：目的　探讨急性脑梗死患者脑梗死初期发生时血小板活化指标的变化规律。**方法**　将 115 例急性脑梗死患者作为脑梗死组，30 例该院同期体检健康者作为对照组。检测其血浆 CD62P、溶血磷脂酸（LPA）及 LPA 相似磷脂水平。**结果**　脑梗死组患者在发病 24 h 内，CD62P、LPA、LPA 相似磷脂浓度均显著高于对照组，差异有统计学意义（$P<0.01$）。CD62P、LPA、LPA 相似磷脂在 ROC 曲线下的面积：CD62P 为 0.95，LPA 相似磷脂为 0.969，LPA 为 0.972。根据 ROC 曲线，当 CD62P 临界值为 26.78%时，诊断的敏感性为 88%，特异性为 87%；LPA 相似磷脂临界值为 5.32 μmol/L 时，诊断的敏感性为 93%，特异性为 93%；LPA 临界值为 3.12 μmol/L 时，诊断的敏感性为 94%，特异性为 94%。脑梗死组患者 CD62P、LPA、LPA 相似磷脂的相关分析显示，CD62P 与 LPA 相似磷脂（$r=0.221\ 9$，$P>0.01$），CD62P 与 LPA（$r=0.260\ 2$，$P>0.01$）无明显相关性；LPA 与 LPA 相似磷脂（$r=0.856\ 7$，$P<0.01$）呈显著正相关。**结论**　急性脑梗死患者初期血小板活化明显，血小板活化指标 CD62P、LPA、LPA 相似磷脂可作为急性脑梗死发生初期诊断的辅助指标。

关键词：脑梗死；　溶血磷脂酸；　磷脂；　P 选择素
DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2013.23.062　　**文献标识码：**B　　**文章编号：**1673-4130(2013)23-3232-03

脑梗死是一种常见的缺血性脑病。它的发生、发展与血小板活化功能亢进有关。研究急性脑梗死血小板活化指标的变化规律，对急性脑梗死诊断和治疗都有重要意义。近年来关于血小板活化分子研究取得了飞速发展，静止状态的血小板在各种刺激因素作用下，可表达各种特异性分子标志物[1-4]。其中储存在血小板 α 颗粒中的 P 选择素（P-Selectin/CD62P/GMP140）在血小板活化时，可在血小板表面表达，成为为血小板活化后期的重要标志物之一。溶血磷脂酸（LPA）是在凝血和血栓形成的早期过程中，由血小板产生并释放到血液中的一种脂类小分子物质，为体内凝血和血栓形成启动的分子标志，是血小板处于活化状态时的最早信号分子。笔者对 LPA、CD62P 及组织缺氧的敏感标记物 LPA 相似磷脂进行测定，具体研究如下。

1　资料与方法

1.1　一般资料　选择本院 2010 年 7 月至 2011 年 3 月神经内科收治的 115 例住院急性脑梗死患者作为脑梗死组，均符合全国第 4 届脑血管病学术会议修订的诊断标准，并经头部 CT 和（或）磁共振成像（MRI）证实，其中，男 70 例，女 45 例；年龄 41～86 岁，平均 65 岁；单纯急性脑梗死 26 例，急性脑梗死合并高血压 31 例，急性脑梗死合并糖尿病 18 例，急性脑梗死合并高血压和糖尿病 26 例，急性脑梗死合并高血压和冠状动脉粥样硬化性心脏病（冠心病）14 例。另选择 30 例本院同期体检健康者作为对照组，其中，男 20 例，女 10 例；年龄 36～84 岁，平均 62 岁。

1.2　检测方法　在急性脑梗死发病 24 h 内，检测脑梗死组患者血浆 CD62P、LPA 及 LPA 相似磷脂。对照组健康者也进行相应检测。

1.2.1　血浆 LPA、LPA 相似磷脂的测定　取患者乙二胺四乙酸（EDTA）-K_2 抗凝血 3 mL，离心抽取磷脂成分，按说明书制备、分离 LPA 和 LPA 相似磷脂测定液。LPA 和 LPA 相似磷脂测定均采用比色法，采用岛津 UV-2401PC 紫外可见分光光度计（日本）在 636 nm 波长下测定吸光度值，计算血浆 LPA 和 LPA 相似磷脂相对量。检测试剂为北京泰福仕科技公司产品。

1.2.2　CD62P 测定　采用 Beckman Coulter FC 500 全自动流式细胞分析仪（美国 BD 公司）进行检测，使用试剂 CD62P-PE 为藻红蛋白（PE）标记的抗 CD62P 单克隆抗体（美国 Beckman 公司）。

1.3　统计学处理　采用 SPSS16.0 软件进行统计学分析，计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示，组间比较采用 t 检验，对 CD62P、LPA、LPA 相似磷脂的受试者工作特征（ROC）曲线进行分析，以 $\alpha=0.05$ 为检验水准，以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　　果

脑梗死组患者与对照组健康者各项指标的比较见表 1。脑梗死组患者在发病 24 h 内，CD62P、LPA、LPA 相似磷脂浓度均显著高于对照组，差异有统计学意义（$P<0.01$）。

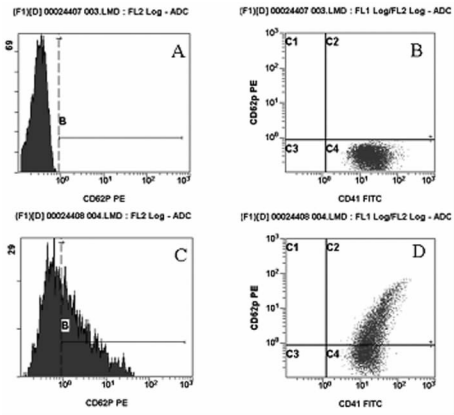
表 1　脑梗死组患者与对照组健康者各项指标的比较（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	CD62P(%)	LPA(μmol/L)	LPA 相似磷脂(μmol/L)
脑梗死组	115	49.57±21.65*	5.76±2.80*	9.72±3.56*
对照组	30	17.81±4.28	1.54±0.84	3.59±1.24

*：$P<0.01$，与对照组比较。

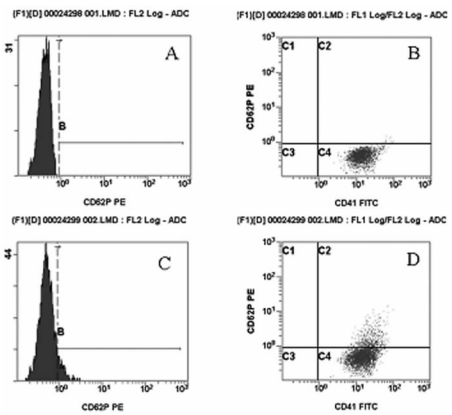
CD62P、LPA、LPA 相似磷脂在 ROC 曲线下的面积：CD62P 为 0.95，LPA 相似磷脂为 0.969，LPA 为 0.972。根据 ROC 曲线，当 CD62P 临界值为 26.78%时，诊断的敏感性为 88%，特异性为 87%；LPA 相似磷脂临界值为 5.32 μmol/L 时，诊断的敏感性为 93%，特异性为 93%；LPA 临界值为 3.12 μmol/L时，诊断的敏感性为 94%，特异性为 94%。脑梗死组患者和对照组健康者部分病例的流式细胞检测 CD62P 结果见图 1、2。

*　基金项目：江苏省中医药管理局课题（HLZ09028）。



A：对照组直方图（阳性率 0.2%）；B：对照组散点图（阳性率 0.2%）；C：脑梗死组直方图（阳性率 58.0%）；D：脑梗死组散点图（阳性率 58.0%）。

图 1　脑梗死组患者流式细胞检测 CD62P 结果



A：对照组直方图（阳性率 0.5%）；B：对照组散点图（阳性率 0.5%）；C：脑梗死组直方图（阳性率 15.5%）；D：脑梗死组散点图（阳性率 15.5%）。

图 2　对照组健康者流式细胞检测 CD62P 结果

脑梗死组患者 CD62P、LPA、LPA 相似磷脂的相关分析显示，CD62P 与 LPA 相似磷脂（$r=0.221\ 9$，$P>0.01$），CD62P 与 LPA（$r=0.260\ 2$，$P>0.01$）无明显相关性；LPA 与 LPA 相似磷脂（$r=0.8567$，$P<0.01$）呈显著正相关。

3　讨　论

血小板活化是血栓性疾病发生的重要原因之一。近年研究发现，与血小板活化有关的标志分子有以下几种，（1）CD62P：为血小板活化后期的标志物，是反映血小板活化程度的特异性指标之一[5-7,12]。（2）CD63：是血小板溶酶体膜糖蛋白，血小板活化时可大量表达在血小板表面，也是血小板活化的特异性标志。（3）CD41-CD61（GPⅡb/Ⅲa/）：血小板膜糖蛋白（GP）Ⅱb/Ⅲa（PAC-1）为结合素家族成员，是血小板膜糖蛋白之一，当血小板活化时，GPⅡb/Ⅲa 增加，并可与白细胞表面的配基集合形成血小板-白细胞聚集体（PLA），后者是血小板活化的敏感指标[4,6]。（4）CD42：CD42（GPⅠb-Ⅸ-Ⅴ）也是血小板膜糖蛋白之一，在血小板活化可显著降低，可作为血小板活化分子标志之一。（5）CD36：CD36（GPⅣ）在血小板活化可显著增加，也可作为血小板活化的分子标志。（6）LPA：是在凝血和血栓形成的早期过程中，由血小板产生并释放到血液中的一种脂类小分子物质，为体内凝血和血栓形成启动的分子标志，是血小板处于活化状态时最早的信号分子[8-11]。（7）CD226：CD226（血小板/T 淋巴细胞活化抗原 1）与血小板活化作用有关。

近年来有的学者研究发现，进展型脑梗死患者和完全型脑梗死患者血小板糖蛋白 CD62P、CD63、GPⅡb/Ⅲa 明显高于完全型脑梗死患者，提示血小板活化是脑梗死发病急性期的重要病理基础之一。国内有人研究发现，发生脑梗死 3 d 内的老年患者，CD62P 显著升高。

研究发现，脑梗死患者发病 24 h 内进行血小板活化指标 CD62P、LPA、LPA 相似磷脂检测，其结果均显著高于对照组，进一步研究发现，LPA 与 LPA 相似磷脂呈正相关，但 LPA、LPA 相似磷脂与 CD62P 相关性不明显，表明在急性脑梗死发生 24 h 内，患者体内存在明显血小板活化，LPA 相似磷脂是在大脑等组织缺氧后，由于磷脂酶 D 活性增加而催化产生的一种反映组织缺氧的敏感标记物[10]，LPA 相似磷脂明显增高，表明有缺氧的发生，且其与 LPA 呈正相关，后者是体内凝血和血栓形成启动最早的信号分子，说明脑组织缺氧可能与血小板活化具有某种关联。笔者通过对血小板活化指标 LPA、CD62P 和组织缺氧指标 LPA 相似磷脂的 ROC 曲线进行分析，发现这 3 种指标对急性脑梗死的诊断都有重要意义。当 CD62P 临界值为 26.78%时，诊断的敏感性为 88%，特异性为 87%；LPA 相似磷脂临界值为 5.32 μmol/L 时，诊断的敏感性为 93%，特异性为 93%；LPA 临界值为 3.12 μmol/L 时，诊断的敏感性 94%，特异性 94%，3 种指标对急性脑梗死早期诊断都有较高的敏感性和特异性。

CD62P、LPA 和 LPA 相似磷脂的联合检查发现，它们在早期急性脑梗死疾病中均有不同程度的改变，尤其 LPA 和 LPA 相似磷脂作为凝血和血栓形成早期过程的标志分子，它们可能在血栓性疾病前期即发生了改变，在血栓性疾病的发生初期表现为显著性增高。因此，对于怀疑有血栓性疾病前期或早期患者的血浆 LPA 和 LPA 相似磷脂可作为一个辅助性筛查和早期诊断指标。

参考文献

[1] Dohi T, Miyauchi K, Ohkawa R, et al. Increased lysophosphatidic acid levels in culprit coronary arteries of patients with acute coronary syndrome[J]. Atherosclerosis, 2013, 229(1): 192-197.

[2] Rancoule C, Attané C, Grès S, et al. Lysophosphatidic acid impairs glucose homeostasis and inhibits insulin secretion in high-fat diet obese mice[J]. Diabetologia, 2013, 56(6): 1394-1402.

[3] Lan M, Liu W, Wang Y, et al. Copolythiophene-derived colorimetric and fluorometric sensor for lysophosphatidic acid based on multipoint interactions[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2013, 5(6): 2283-2288.

[4] Ino M, Shimizu Y, Tanaka T, et al. Alterations of plasma levels of lysophosphatidic acid in response to fasting of rats[J]. Biol Pharm Bull, 2012, 35(11): 2059-2063.

[5] Zhao Y, Natarajan V. Lysophosphatidic acid (LPA) and its receptors: role in airway inflammation and remodeling[J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1831(1): 86-92.

[6] Park EY, Kazlauskas A. Primary human endothelial cells secrete agents that reduce responsiveness to lysophosphatidic acid (LPA)[J]. Biosci Rep, 2012, 32(4): 393-400.

[7] Cheng HY, Dong A, Panchatcharam M, et al. Lysophosphatidic acid signaling protects pulmonary vasculature from hypoxia-induced remodeling[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2012, 32(1): 24-32.

[8] Dohi T, Miyauchi K, Ohkawa R, et al. Increased circulating plasma

lysophosphatidic acid in patients with acute coronary syndrome [J]. Clin Chim Acta, 2012, 413(1-2): 207-212.
[9] Dusaulcy R, Rancoule C, Grès S, et al. Adipose-specific disruption of autotaxin enhances nutritional fattening and reduces plasma lysophosphatidic acid[J]. J Lipid Res, 2011, 52(6): 1247-1255.
[10] Li ZG, Yu ZC, Yu YP, et al. Lysophosphatidic acid level and the incidence of silent brain infarction in patients with nonvalvular atrial fibrillation[J]. Int J Mol Sci, 2010, 11(10): 3988-3998.
[11] Yatomi Y. Clinical introduction of lysophosphatidic acid and autotaxin assays[J]. Rinsho Byori, 2010, 58(6): 631-635.
[12] Gierse J, Thorarensen A, Beltey K, et al. A novel autotaxin inhibitor reduces lysophosphatidic acid levels in plasma and the site of inflammation[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2010, 334(1): 310-317.

(收稿日期: 2013-09-08)

·经验交流·

淮安地区健康成人尿液电导率参考区间的建立

高玉琴
(南京医科大学附属淮安市第一人民医院检验科, 江苏淮安 22300)

摘 要: 目的 调查淮安市健康成人的尿液电导率分布情况, 建立本地区健康人群尿电导率的参考区间。**方法** 采用日本 Sysmex UF-50 型全自动尿沉渣分析仪及其配套试剂检测 1 196 例健康人群尿液的电导率, 对结果进行统计学分析。**结果** 男、女之间尿电导率的差异有统计学意义($P<0.05$), 男、女性不同年龄组之间尿电导率的差异有统计学意义($P<0.05$), 男、女性尿电导率随着年龄的增长有下降趋势。男、女之间尿电导率有性别差异($t=6.67$, $P=0.00$), 男性不同年龄组之间, 尿电导率有差异($P=0.00$), 男性年龄>30～40 岁组与>40～55 岁组, 尿电导率无差异($t=1.59$, $P=0.11$); 女性不同年龄组之间, 尿电导率也有差异($P=0.00$)。女性年龄 18～30 岁组, >30～40 岁组, >40～55 岁组尿电导率无差异($P=0.96$)。将无显著性差异的不同组数据合并后计算均数和标准差, 按 ±1.96 s 表示 95%参考区间得到健康成年男性尿电导率参考区间, >18～30 岁组为 9.46～42.86 mS/cm, >30～55 岁组为 6.17～40.15 mS/cm, >55 岁组为 4.82～34.66 mS/cm; 健康成年女性尿电导率参考区间: >18～55 岁组为3.32～37.62 mS/cm, >56 岁组为 1.97～31.73 mS/cm。**结论** 建立了淮安地区健康成人尿液电导率参考区间。

关键词: 尿液; 电导率; 参考区间; 成人
DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.23.063 **文献标识码:** B **文章编号:** 1673-4130(2013)23-3234-02

肾脏是人体重要的代谢和排泄器官, 尿渗透压是反映肾脏的浓缩能力的一项重要指标[1], 尿电导率与尿渗透压有密切关系[2], 因此, 对尿液电导率的分析可评价肾脏的浓缩稀释功能。本研究通过检测淮安地区健康成人的尿电导率, 制定出适合本地区人群的尿电导率生物参考区间, 以便进一步指导临床应用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2009～2011 年来本院体检中心进行健康体检的, 经相关检查排除心、肺、肝、肾疾病, 高血压及糖尿病的健康成人 1 196 例, 其中, 男 727 例, 年龄(43.73±14.25)岁; 女 469 例, 年龄(44.55±14.99)岁。

1.2 主要仪器与试剂 UF-50 型全自动尿沉渣分析仪及其配套试剂(日本 Sysmex 公司); 迪瑞 H-300 型尿液分析仪及 URISTIK H11 干化学试剂条(长春迪瑞实业有限公司)。

1.3 方法 所有试验固定专人操作。并在取样后 2 h 内完成。仪器均为开机后先测质控, 质控在控情况下, 再进行尿液标本检测。

1.4 统计学处理 采用 SPSS11.5、Excel 2003 软件进行统计学分析, 计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示, 不同性别组样本比较用成组样本 t 检验, 各年龄组样本均数用方差分析和 SNK-q 检验, 用 $\bar{x}\pm 1.96s$ 计算尿电导率参考区间, 以 $\alpha=0.05$ 为检验水准, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

男、女健康成人尿液电导率分别为(23.03±8.66)、(19.58±8.84)mS/cm; 不同性别、年龄的健康成人尿液电导率见表 1。不同性别、年龄健康成人尿液电导率参考区间见表 2、3。男、女之间尿电导率有性别差异($t=6.67$, $P=0.00$), 男性不同年龄组之间, 尿电导率有差异($P=0.00$), 男性年龄>30～40 岁组与>40～55 岁组, 尿电导率无差异($t=1.59$, $P=0.11$); 女性不同年龄组之间, 尿电导率也有差异($P=0.00$)。女性年龄>18～30 岁组, >30～40 岁组, >40～55 岁组尿电导率无差异($P=0.96$)。将无显著性差异的不同组数据合并后计算均数和标准差, 按 ±1.96 s 表示 95%参考区间得到健康成年男性尿电导率参考区间, >18～30 岁组为 9.46～42.86 mS/cm, >30～55 岁组为 6.17～40.15 mS/cm, >55 岁组为 4.82～34.66 mS/cm; 健康成年女性尿电导率参考区间: >18～55 岁组为 3.32～37.62 mS/cm, >55 岁组为 1.97～31.73 mS/cm。

表 1 健康成人不同年龄组尿电导率结果

年龄(岁)	男性		女性	
	n	电导率(mS/cm)	n	电导率(mS/cm)
>18～30	156	26.16±8.52	96	20.69±9.51
>30～40	176	23.93±8.57	111	20.43±8.31
>40～55	231	22.56±8.71	147	20.36±8.62
>55	164	19.74±7.61	115	16.85±8.59

表 2 男性不同年龄健康人尿液电导率参考区间的比较

年龄段(岁)	n	电导率(mS/cm)	95%参考区间(mS/cm)
18～30	156	26.16±8.52	9.46～42.86
>30～55	407	23.16±8.67	6.17～40.15
>55	164	19.74±7.61	4.82～34.66