

• 临床检验研究论著 •

网织血小板在系统性红斑狼疮患者的临床应用

赵 辉, 苏 娜, 张朝霞[△]

(新疆医科大学第一附属医院医学检验中心, 新疆乌鲁木齐 830011)

摘 要:目的 研究系统性红斑狼疮(SLE)患者合并血小板减少疾病的发病机制,探讨网织血小板(RP)在诊疗 SLE 合并血小板减少疾病中的临床应用价值。方法 确诊为 SLE 患者 55 例和健康体检者 50 例,对 SLE 伴血小板减少的患者进行治疗前后检查,采用 Sysmex XE-5000 全自动血细胞分析仪检测网织血小板百分比(IPF)以及其他外周血细胞参数。结果 SLE 患者组和正常对照组的 IPF 检测结果分别为 $(5.30 \pm 3.75)\%$ 、 $(2.74 \pm 1.05)\%$,两者比较差异有统计学意义($P < 0.05$);SLE 伴血小板减少组的 IPF $[(10.14 \pm 3.66)\%]$ 、血小板计数(PLT) $[(67.2 \pm 13.5) \times 10^9/L]$ 、血小板平均体积(MPV) $[(12.64 \pm 0.92)fL]$ 、血小板分布宽度(PDW) $[(18.24 \pm 1.70)fL]$ 与正常对照组、SLE 血小板未减少组比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$);SLE 伴血小板减少组治疗前后的 IPF 分别为 $(9.76 \pm 1.82)\%$ 和 $(5.86 \pm 0.96)\%$,两者比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 SLE 患者血小板减少的主要原因可能与外周血小板破坏有关,IPF 的高低可以反映出骨髓血小板的生成情况,有助于疾病的辅助诊断和预后判断。

关键词:网织血小板; 红斑狼疮,系统性; 血小板减少

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.05.021

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)05-0557-03

The application of reticulated platelet counts in the systemic lupus erythematosus patients with thrombocytopenia

Zhao Hui, Su Na, Zhang Zhaoxia[△]

(Department of Clinical Laboratory, First Affiliated Hospital of Xinjiang

Medical University, Urumqi, Xinjiang 830011, China)

Abstract: Objective To study the disease pathogenesis of systemic lupus erythematosus patients with thrombocytopenia, and discuss reticulated platelets(RP) in SLE merger thrombocytopenia disease of diagnosis and treatment in the clinical application value. Methods 55 patients diagnosed with SLE patients and 50 cases of healthy check-up, low platelet count patients of SLE patients treated before and after the inspection by Sysmex XE-5000 automatic blood cell analyzer immature platelet fraction(IPF) and other peripheral blood cell parameters. Results Group of patients with SLE and normal controls of IPF test results respectively was $(5.30 \pm 3.75)\%$, $(2.74 \pm 1.05)\%$, both comparative difference was statistically significant($P < 0.05$); SLE associated with thrombocytopenia group of IPF $[(10.14 \pm 3.66)\%]$, platelets(PLT) $[(67.2 \pm 13.5) \times 10^9/L]$, mean platelet volume(MPV) $[(12.64 \pm 0.92)fL]$, platelet distribution width(PDW) $[(18.24 \pm 1.70)fL]$ compared with normal control group and SLE did not reduce platelet group, differences had statistical significance($P < 0.05$); SLE associated with thrombocytopenia in patients with IPF respectively before and after treatment was $(9.76 \pm 1.82)\%$ and $(5.86 \pm 0.96)\%$, both comparative difference was statistically significant($P < 0.05$). Conclusion The main cause of SLE patients with thrombocytopenia may be associated with peripheral blood platelet destruction, IPF's result can reflect the bone marrow platelet production, Help in the auxiliary diagnosis of disease and prognosis judgment.

Key words: reticulated platelets; lupus erythematosus, systemic; thrombocytopenia

系统性红斑狼疮(SLE)是一种弥漫性、全身性的慢性自身免疫性炎症性疾病,可累及多个系统、多个器官的疾病。血液系统损害并不少见,有研究表明 SLE 因免疫介导而出现白细胞减少、血小板减少和贫血的表现^[1],其中血小板减少是最常见的表现,发生率约占 7%~30%^[2]且又是 SLE 患者死亡的重要原因,及时观察 SLE 患者的外周血细胞参数将有助于对该疾病的早期发现、疾病的发展和预后的判断^[3]。网织血小板(RP)是巨核细胞转化为成熟血小板过程中的一种幼稚阶段,RP 与成熟血小板相比胞浆内含有少量 RNA 和粗面内质网,体积比较大,有研究表明外周血 RP 胞质中 RNA 成分与巨核细胞的活性密切相关^[4],巨核细胞活性越强,则 RP 中的 RNA 含量越高,随着 RP 升高,网织血小板比例(IPF)也升高,检测 RP、IPF 可以判断巨核细胞活性、预测血小板生成能力^[5]。应用血细胞分析仪检测 RP 相关参数已经是一种有效和实用的临床常规检测方法。本研究通过检测 IPF 及其他外周血细胞参数如血小板计数(PLT)、血小板平均体积(MPV)、血小板分

布宽度(PDW),探讨 SLE 患者合并血小板减少的原因和可能发病机制,为 RP 在诊疗 SLE 合并血小板减少性疾病提供尽可能多的依据,提高 SLE 合并血小板减少性疾病的缓解率。

1 资料与方法

1.1 一般资料 55 例 SLE 患者组均为新疆医科大学第一附属医院 2013 年 1~6 月风湿科住院患者,男性 6 例,女性 49 例,男女比例为 1.0:8.2;年龄 18~77 岁,平均 39.3 岁。其中 13 例为 SLE 患者伴血小板减少组;42 例为 SLE 患者血小板未减少组(41 例血小板正常,1 例血小板增高)。诊断均符合 1982 年美国风湿病协会(ARA)修订的 SLE 诊断标准^[6]。正常对照组为 50 例健康体检者,无血液系统疾病既往史,血小板计数正常参考范围内,男性 6 例,女性 44 例;年龄 20~74 岁,平均 38.9 岁。

1.2 仪器与试剂 Sysmex XE-5000 全自动血细胞分析仪。鞘液、溶血剂、稀释液、血红蛋白检测试剂、网织红细胞染液试剂、STROMATOLYSER-IMI 均为进口原厂配套。

1.3 方法 IPF 检测在流式细胞仪的基础上,使用特殊的荧光染料 (Polymehtine 和 Oxazine),使这两种染料穿透细胞膜,与网织血小板中的 RNA 结合,染色后形成不同的前向散射光和荧光强度,通过检测散射光和荧光,从而测定出网织血小板。IPF = 在 RET 通道中的 IPF 分类区域中的粒子/RET 通道中的血小板数 $\times 100\%$ 。启动 Sysmex XE-5000 全自动全血细胞分析仪,经过自动清洗,精密度和携带污染率测试,室内质量控制及在室间质量评价,以保证仪器处于良好工作状态。空

腹静脉血 2 mL 置于 EDTA-K₂ 抗凝管中轻轻混匀,并在采集后 4 h 内经自动进样的方式上机检测,收集 IPF 数据。

1.4 统计学处理 数据采用 SPSS 17.0 软件分析,对网织血小板相关参数的数据进行分析。所有数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,计量资料组间比较采用配对 *t* 检验或独立样本 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组的 IPF、PLT、MPV 和 PDW 结果比较 见表 1。

表 1 各组的 IPF、PLT、MPV 和 PDW 结果比较

组别	<i>n</i>	IPF(%)	PLT($\times 10^9/L$)	MPV(fL)	PDW(fL)
正常对照组	50	2.74 $\pm$ 1.05	228.0 $\pm$ 33.6	11.12 $\pm$ 0.67	16.56 $\pm$ 1.27
SLE 患者组	55	5.30 $\pm$ 3.75*	171.5 $\pm$ 77.3*	11.54 $\pm$ 1.06*	16.83 $\pm$ 2.10
SLE 患者伴血小板减少组	13	10.14 $\pm$ 3.66*#	67.2 $\pm$ 13.5*#	12.64 $\pm$ 0.92*#	18.24 $\pm$ 1.70*#
SLE 患者血小板未减少组	42	3.80 $\pm$ 2.21*	203.8 $\pm$ 57.5*	11.20 $\pm$ 0.85	16.40 $\pm$ 2.04

* $P < 0.05$,与正常对照组比较;#: $P < 0.05$ 与 SLE 血小板未减少组比较。

2.2 SLE 患者治疗前后各指标结果比较 SLE 患者经过住院治疗后,追踪检测 11 例 SLE 伴血小板减少的患者,随着治疗的进展,IPF 由治疗前的 (9.76 $\pm$ 2.82)% 下降到治疗后的 (5.86 $\pm$ 1.96)%,两者比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);SLE 伴血小板减少的患者,治疗前 IPF[(6.36 $\pm$ 1.40) $\times 10^9/L$]、PLT[(65.6 $\pm$ 12.8) $\times 10^9/L$]与 SLE 伴血小板减少的患者治疗后 IPF[(9.22 $\pm$ 1.98) $\times 10^9/L$]、PLT[(162.2 $\pm$ 36.6) $\times 10^9/L$]比较,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。

3 讨 论

SLE 不是单一的疾病,而是与多因素所致的一组综合征。其发生机制可能是由于免疫系统丧失了对于自身组织(抗原)的耐受性,以致淋巴细胞对于自身组织出现免疫性反应使组织受损,进而使多系统受累,并导致血液系统异常。血液系统受累居 SLE 死亡患者脏器损害第 2 位^[7],其中血小板减少又是 SLE 血液系统损害中最常见的临床表现,血小板减少已成为 SLE 死亡的主要风险因素,直接影响 SLE 患者的病情进展及预后,但 SLE 患者血小板减少的原因是多重的、复杂的其发病机制仍不十分清楚^[8],所以探讨 SLE 患者血小板减少的病因具有十分重要的临床意义。

以往骨髓血小板生成状况的评估主要依靠骨髓巨核细胞(MK)形态学检查和 MPV 测定,但是 MK 形态学检查取材难而且具有创伤性且不能作为血小板生成状态的动态评估;MPV 是反映血小板大小的指标,一般情况下越年轻的血小板体积越大,但 MPV 的仪器法检测易受小红细胞、红细胞碎片等的干扰,并存在个体差异,因而不能正确的评估血小板增生状态。网织血小板的检测简单快速、无创伤性,且能比较精确地反映骨髓血小板的生成情况,有助于血小板减少症发病原因的鉴别,特别是鉴别骨髓造血减少和外周血小板破坏增多所致的血小板减少,IPF 的监测对血液病的疗效观察亦有重要的作用。文献^[9]报道 IPF 在血小板减少性疾病的鉴别诊断及判断干细胞移植后骨髓造血功能恢复上都有明确的临床意义,所以检测外周血中 IPF 值是反映血小板生成能力极有价值的指标。

本研究中血小板减少的 SLE 患者占 SLE 全部患者的 23.6%,与文献^[2]报道的发生率(7%~30%)相符。从表 1 可以看出 SLE 伴血小板减少组的 IPF、MPV、PDW 均高于正常

对照组、SLE 血小板未减少组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),尤其以 IPF 增高为明显,对于 SLE 伴血小板减少的患者,如果 IPF 值升高,说明其血小板减少的主要原因可能与外周血小板破坏过多有关,有研究表明,IPF 在判断血小板减少症患者的血小板生成活性方面是一个高敏感性和特异性的指标^[10],IPF 值对于区别因消耗引起的巨核细胞增加性或巨核细胞减少性血小板减少症有很强的阳性预测价值^[11],为此研究者认为 SLE 患者外周血小板减少的可能原因是外周血由于各种自身抗体(比如 GPⅡb/Ⅲa 抗体、抗 GPⅠb/Ⅸ 抗体)的增加^[2],引起血小板在外周血中破坏增加导致了轻重不等的水小板减少。SLE 伴血小板减少的患者 IPF 治疗前明显高于治疗后 ($P < 0.05$),给予激素治疗封闭血小板表面的抗原位点或尽快减轻免疫反应,从而增加血小板寿命,延长外周血中血小板的存活时间,大部分严重血小板降低的 SLE 患者的血小板计数均可恢复至正常水平,达到止血或预防大出血的目的,已经取得了较好的疗效,所以动态观察 IPF 的水平可以反映 SLE 伴血小板减少的患者的治疗效果,MPV 治疗前虽高于治疗后,但差异无统计学意义 ($P > 0.05$),表明 IPF 的检测在骨髓血小板生成状况的动态评估方面优于 MPV 的检测。

本次试验结果显示,IPF 的检测可以帮助研究者分析疾病可能的原因是血小板破坏增加,同时 IPF 的水平有助于 SLE 伴血小板减少患者的辅助诊断和预后判断。

参考文献

[1] Hepburn AL, Narat S, Mason JC. The management of peripheral blood cytopenias in systemic lupus erythematosus[J]. Rheumatology (Oxford), 2010, 49(12): 2243-2254.

[2] 陈颖娟, 赖蓓, 杨拓, 等. 抗血小板抗体在系统性红斑狼疮血小板减少患者中临床意义的研究[J]. 中华风湿病学杂志, 2011, 15(4): 241-244.

[3] 李清森. 血小板平均体积与系统性红斑狼疮活动性的相关性研究[J]. 齐齐哈尔医学院学报 2009, 30(5): 370-371.

[4] Briggs C, Kunka S, Hart D, et al. Assessment of an immature platelet fraction (IPF) in peripheral thrombocytopenia [J]. Br J Haematol, 2004, 126(1): 93-99.

[5] 田英, 庞洁, 王一雯. 网织血小板检测在肿瘤化疗中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(2): 250-251. (下转第 561 页)

监测内源性凝血,主要受 FⅡ、FⅨ和 FⅩ等因子水平的影响,但在本实验结果显示 APTT 与上述因子变化的关系与预期不符,说明 APTT 不能完全反映肝硬化患者内源性凝血的状态,这也与 Kitchens 等^[14]研究结果相一致。

在凝血酶生成试验中,延迟时间阶段应与蛋白 C 和蛋白 S 水平呈正相关,与 FIB 呈负相关^[10-15]。但本研究结果显示了 FIB 与延迟时间是呈正相关性的,这是因为 FIB 作为急性期蛋白在肝细胞炎症病变时期合成是增加的,但此时还伴随凝血因子合成分泌下降,增加的 FIB 浓度不足以补偿凝血因子降低对 TGA 延迟时间的调控作用,因此 FIB 对该阶段的“正调控”是由凝血因子合成降低导致的。TGA 各阶段均明显依赖蛋白 C,证明 TGA 对于肝硬化和获得性生成障碍等体内蛋白 C 水平较低的患者,更能准确反映其凝血状态。

蛋白 C 是体内主要的抗凝物质,作用是激活 TM,分别在 TM 存在和不存在的条件下进行凝血酶生成试验,所获得的 ETP 比值表示血液凝固系统抵抗 TM 抗凝固作用的能力。Tridopi 等^[8]报道了 1 pmol/L TF 刺激下,ETP 比值能够提示肝硬化患者血液是否处于高凝状态。在本研究引入了 1 pmol/L 和 5 pmol/L 两种不同浓度 TF 的反应体系进行分析比较。在 1 pmol/L 体系中肝硬化组的 ETP 比值要明显高于对照组;而 5 pmol/L 体系中两组研究对象没有明显差异。这是由于 1 pmol/L TF 对 FⅢ、FⅨ和 FⅩI 的浓度变化较为敏感,肝硬化患者血液的高凝状态常是由 FⅢ增加和蛋白 C 下降导致的,实验结果也从侧面说明了 Brummel-Ziedins 等^[16]在早期的研究中采用的 5 pmol/L TF 反应体系并不适合评估肝硬化患者血液的凝固状态。另外,在本实验 1 pmol/L TF 反应体系中,当 MELD<25 分时,ETP 比值随着分数的增加而增加;当 MELD>25 分时,大部分 ETP 比值低于上述结果,说明 MELD<25 分时患者存在血栓形成风险的比例较高,同时提示需要进一步增加 MELD>25 分的研究对象,以确定血液的高凝状态是否主要出现在 MELD 低分人群。

综上所述,PT、TGA 受凝血和抗凝因子浓度的影响,TGA 可较为灵敏地反映蛋白 C 水平的变化;在 1 pmol/L TF TGA 反应体系中,ETP 比值能够较为确切地反映肝硬化患者是否处于高凝状态,避免了 PT、APTT 结果延长所提示的“出血倾向”的假象,提示利用 TGA 评估肝硬化患者血栓形成风险具有临床意义。

参考文献

- [1] 熊斌,姜红星. 120 例肝病患者凝血功能检测分析[J]. 检验医学与临床,2011,8(2):198-199.
- [2] 林壮琼,张展青. 肝硬化患者凝血功能和血小板检测分析[J]. 检
- [6] Tan EM, Cohen AS, Fries JF, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus[J]. Arthritis Rheum, 1982, 25(11):1271-1277.
- [7] 费允云,张奉春. 系统性红斑狼疮患者死亡原因分析[J]. 中华风湿病学杂志,2008,12(6):187-191.
- [8] 刘旭. 组织型纤溶酶原激活物及纤溶酶原激活物抑制剂对系统性红斑狼疮的检测价值[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(12):1446-1447.
- [9] 黄萃,武蓉珍,吴日荷,等. 正常成年人网织血小板相关参数的检

验医学与临床,2012,10(8):986-987.

- [3] 易有峰,王晓娟,陈有元. 肝硬化患者凝血指标检测的临床意义[J]. 中国肝脏病杂志:电子版,2010,2(3):28-29.
- [4] Ahmad H, Samina N, A. Saeed S, et al. An assessment of coagulation parameters in liver cirrhosis[J]. Biomedica, 2006, 22(1):74-77.
- [5] Biresi M, Hull R, Coffin CS. Venous thromboembolism in cirrhosis: a review of the literature[J]. Can Gastroenterol, 2012, 26(12):905-908.
- [6] Tripodi A, Primignani M, Lemma L, et al. Detection of the imbalance of procoagulant versus anticoagulant factors in cirrhosis by a simple laboratory method[J]. Hepatology, 2010, 52(1):249-255.
- [7] Tripodi A, Primignani M, Chantarangkul V, et al. An imbalance of pro- versus anti-coagulation factors in plasma from patients with cirrhosis[J]. Gastroenterology, 2009, 137(6):2105-2111.
- [8] Tripodi A, Salerno F, Chantarangkul V, et al. Evidence of normal thrombin generation in cirrhosis despite abnormal conventional coagulation tests[J]. Hepatology, 2005, 41(3):553-558.
- [9] Chantarangkul V, Clerici M, Bressi C, et al. Thrombin generation assessed as endogenous thrombin potential in patients with hyper- or hypo-coagulability[J]. Haematologica, 2003, 88(5):547-554.
- [10] Anstee QM, Thursz MR. The role of hypercoagulability in liver fibrogenesis[J]. Clin Res Hepatol Gastroenterol, 2011, 35(8/9):526-533.
- [11] Gatt A, Riddell A, Calvaruso V, et al. Enhanced thrombin generation in patients with cirrhosis-induced coagulopathy[J]. Thromb Haemost, 2010, 8(9):1994-2000.
- [12] Youngwon N, Kim JE, Lim HS, et al. Coagulation proteins influencing global coagulation assays in cirrhosis: hypercoagulability in cirrhosis assessed by thrombomodulin-induced thrombin generation assay[J]. Biomed Res Int, 2013, 13(1):856754.
- [13] Regnault V, Beguin S, Wahl D, et al. Thrombinography shows acquired resistance to activated protein C in patients with lupus anticoagulants[J]. Thromb Haemost, 2003, 89(2):208-212.
- [14] Kitchens CS. To bleed or not to bleed: Is that the question for the PTT[J]. Thromb Haemost, 2005, 3(12):2607-2611.
- [15] Dielis AW, Castoldi E, Spronk HMH, et al. Coagulation factors and the protein C system as determinants of thrombin generation in a normal population[J]. Thromb Haemost, 2008, 6(1):125-131.
- [16] Brummel-Ziedins KE, Pouliot RL, Mann KG. Thrombin generation: phenotypic quantitation[J]. Thromb Haemost, 2004, 2(2):281-288.

(收稿日期:2013-11-01)

(上接第 558 页)

- [6] Tan EM, Cohen AS, Fries JF, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus[J]. Arthritis Rheum, 1982, 25(11):1271-1277.
- [7] 费允云,张奉春. 系统性红斑狼疮患者死亡原因分析[J]. 中华风湿病学杂志,2008,12(6):187-191.
- [8] 刘旭. 组织型纤溶酶原激活物及纤溶酶原激活物抑制剂对系统性红斑狼疮的检测价值[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(12):1446-1447.
- [9] 黄萃,武蓉珍,吴日荷,等. 正常成年人网织血小板相关参数的检

测评价[J]. 中国医师杂志,2010,12(4):536-538.

- [10] Monteagudo M, Amengual MJ, Mufioz L, et al. Reticulated platelets as a screening test to identify thrombocytopenia aetiology[J]. QJM, 2008, 101(7):549-555.
- [11] 杨林花,李智婷,刘秀娥,等. 系统性红斑狼疮患者网织血小板和血小板生成素检测及其临床意义[J]. 中国药物与临床,2004,4(6):432-435.

(收稿日期:2013-12-14)