

• 论 著 •

血小板-白细胞聚集体在急性脑梗死患者及其短期预后的水平变化^{*}

高 峰, 刘瑞芳, 阎晓琳, 张宏杰, 齐海英, 刘 祺, 张晓军
(遵化市人民医院检验科, 河北唐山 064200)

摘要:目的 探讨急性脑梗死患者血小板白细胞聚集体(PLA)与短期预后的关系。方法 连续纳入发病 24 h 内入院的急性脑梗死患者 105 例, 并分别在入院 24 h 内, 发病 14 d 时用流式细胞仪检测 PLA, 包括血小板中性粒细胞聚集体(PNA)、血小板单核细胞聚集体(PMA)、血小板淋巴细胞聚集体(PlyA); 发病 14 d 时进行改良 Rankin 量表(mRS)评分, 作为评价短期预后的指标, mRS 评分<3 分为预后良好。mRS 评分>3 分为预后不良。选择 50 例健康体检者检测血小板-白细胞聚集体水平。结果 急性脑梗死组与健康体检组比较血小板-白细胞聚集体明显增高, 差异有统计学意义($P<0.05$)。mRS 评分<3 分预后良好与>3 分比较, 白细胞-聚集体差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 白细胞聚集体可以作为急性脑梗死短期预后的评价指标。

关键词:血小板-白细胞聚集体; 急性脑梗死; 短期预后

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.13.004

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)13-1738-03

The level of platelet leukocyte aggregates in patients with acute cerebral infarction and their short term prognosis^{*}

GAO Feng, LIU Ruifang, YAN Xiaolin, ZHANG Hongjie, QI Haiying, LIU qi, ZHANG Xiaojun

(Department of Clinical Laboratory, People's Hospital of Zunhua, Tangshan, Hebei 064200, China)

Abstract: Objective to investigate the level of platelet leukocyte aggregates in patients with acute cerebral infarction and their short term prognosis. Methods 105 patients with acute cerebral infarction onset within 24 hours were selected continuously, then platelet leukocyte aggregates including neutrophil aggregates (PNA) and platelet monocyte aggregates (PMA) and platelet lymphocyte aggregates (PlyA) were detected by flow cytometry within 24 hours of admission and the incidence of 14 days. modified Rankin Scale(mRS) was performed at 14 days of onset, as a prognostic indicator, and the mRS score was good at 3. The score >3 mRS was divided into poor prognosis. The level of platelet leukocyte aggregates was detected in 50 healthy subjects. Results (1) The platelet leukocyte aggregates in patients with acute cerebral infarction group were significantly higher than that of the healthy group, which was statistically significant ($P<0.05$). (2) MRS score <3 group and mRS score >3 score comparison, the difference of white blood cell aggregates was statistically significant ($P<0.05$). Conclusion leukocyte aggregates could be used as an index of short-term prognosis in patients with acute cerebral infarction.

Key words: platelet-leukocyte aggregates; acute cerebral infarction; short-term prognosis

脑梗死是严重危害人类健康的一大疾病, 血小板的活化及其诱导的炎症在脑梗死的发生发展中起着重要作用。活化血小板与白细胞黏附形成的血小板聚集体是血小板活化的敏感指标, 血小板与白细胞可以分别形成血小板白细胞聚集体(PLA)、血小板中性粒细胞聚集体(PNA)、血小板单核细胞聚集体(PMA)、血小板淋巴细胞聚集体(PlyA)。本研究以急性脑梗死患者作为研究对象, 初步探讨血小板白细胞聚集体与急性脑梗死患者短期预后的关系, 旨在为临床提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将本院神经内科 2013 年 6 月至 2014 年 10 月发病 24 h 内住院的急性脑梗死患者 105 例作为脑梗死组纳入研究, 另外选取 50 例健康体检者作为对照组。脑梗死组: (1)年龄≥18 岁; 男 55 例、女 50 例, 平均年龄(66.5±10.2)岁; (2)发病 24 h 内入院; (3)脑梗死的诊断符合中国脑血管病防治指南(2004)中脑梗死的诊断标准, 且经过电子计算机断层成像扫描和/或核磁共振成像证实。 (4)初次卒中或再次卒中[改良 Rankin's(mRS)评分为 0 分者]。对照组: 50 例, 男 30 例、女 20 例, 平均年龄(62.1±9.8)岁。排除标准: 感染、肾功能不全、恶性肿瘤、结缔组织病患者; 服用影响血小板活化的药

物, 潘生丁、阿司匹林等的人群。

1.2 仪器与试剂 日本 Sysmex 公司 1800xt 型全自动血细胞分析仪及原厂配套试剂; 美国 FACSCalibur 流式细胞仪及原厂配套试剂。

1.3 方法

1.3.1 血小板和白细胞检测 患者和健康体检者空腹采集静脉血 2 mL, EDTA-K₂ 抗凝, 全自动血细胞分析仪进行检测。

1.3.2 血小板白细胞聚集体检测 流式细胞分析仪对健康对照、急性脑梗死患者发病第 1 天和 14 天检测血小板白细胞聚集体。取 109 mmol/L 柚橼酸钠抗凝血(1:9)3 mL, 立即加入 4% 多聚甲醛 1 mL 固定 10 min。取抗凝固定血 200 μL 加入 0.92 mL 蒸馏水溶解红细胞(5 min), 400×g 离心 5 min, 弃去上清, 悬浮白细胞, 制作两管, 分别为测定管和对照管。免疫荧光染色, 测定管分别加入 10 μL CD41 FITC、CD45 PerCP; 对照管加入鼠 Ig FITC、CD45 PerCP 混匀。两管在室温、避光染色 20 min。PBS 洗涤 1 次, 1% 多聚甲醛磷酸盐缓冲液 0.5 mL 固定, 4 h 内采用流式细胞仪(FACSCalibur 型, Becton Dickinson 公司)检测。在 CellQuest 软件获取数据窗口, 画出 SSC/CD45、CD45/CD41 散点图, 以对照管调整 FL1 的本底, 获取数据

* 基金项目: 河北省卫生和计划生育委员会医学科学研究重点课题项目(20151030)。

作者简介: 高峰, 男, 副主任技师, 主要从事血液形态及免疫研究。

10 000 个白细胞,统计分析 CD41+ 单核细胞或中性粒细胞或淋巴细胞细胞的百分率,即为相应细胞与血小板的聚集百分率。

1.3.3 实验组急性脑梗死及短期预后评估 短期预后为患者发病常规抗血小板治疗 14 天时的结局状态,依据改良 Rankin 量表(mRS)评分判定, mRS 评分<3 分为预后良好, mRS 评分>3 分为预后不良。

表 1 急性脑梗死组第 1 天与对照组比较

分组	n	WBC($\times 10^9/L$)	PLT($\times 10^9/L$)	PLA(%)	PNA(%)	PLyA(%)	PMA(%)
脑梗死组	105	7.23±1.64	205±51.3	5.63±1.21	5.41±1.15	4.75±1.09	19.38±2.19
对照组	50	7.15±1.53	199±52.4	5.55±1.18	5.32±1.12	4.65±1.12	8.31±1.99
P		0.814	0.753	0.901	0.835	0.564	0.013

急性脑梗死组以 mRS 评分>3 和<3 分,分为两组, mRS 评分>3 分为预后不良组, mRS 评分<3 分为预后良好组。预后不良组和预后良好组第 1 天 PMA 分别为(19.48±2.09)%、(19.41±2.05)% ,两组间比较差异无统计学意义($P>0.05$);第 14 天 PMA 分别为(14.25±2.08)%、(9.21±2.11)% ,两组间比较差异有统计学意义($P<0.05$)。第 14 天预后良好组 PMA 明显减少。

3 讨 论

急性脑梗死是临床的常见病之一,动脉粥样硬化血栓形成是脑梗死的主要病因之一,血小板在血栓形成过程中起着重要作用。根据报道,PLA 是血小板活化的敏感指标,尤其是 PMA 可以作为评价血小板活化的指标。Michelson 等^[1-2]的研究表明,PMA 目前在临幊上已经成为急性冠脉综合征和冠脉介入手术抗血小板治疗中的新兴研究靶点^[3]。本研究也充分证明,对照组与急性梗死组血小板-单核细胞聚体比较差异有统计学意义($P<0.05$),而 PNA、PLyA 比较差异无统计学意义($P>0.05$),与相关报道一致。PMA 显著增高,说明是一个敏感的检测指标,可能与其半衰期长^[2],或与单核吞噬细胞活化衰老血小板较强相关^[4-5]。

进一步对急性脑梗死组进行分组研究,以 PMA 进行评价。短期预后为患发病 14 d 时的结局状态,依据 mRS 评分判定预后。第 1 天两组间比较差异无统计学意义($P>0.05$);第 14 天 PMA 比较差异有统计学意义($P<0.05$)。结果证明 PMA 可以做为急性脑梗死患者短期预后的评估指标。研究表明,血小板活化后,血小板膜表面的 P-选择素和糖蛋白(GP)Ⅱb/Ⅲa 的表达增加。P-选择素糖蛋白受体-1(PSGL-1),也是一种跨膜糖蛋白,其作为 P-选择素的结合配体,几乎表达于所有白细胞的表面。PSGL-1 是唯一与 P-选择素具有高亲和力的配体,且抗 PSGL-1 单克隆抗体可以完全阻断血流状态下白细胞在表达 P-选择素细胞上的滚动以及静止状态下白细胞与表达 P-选择素细胞的黏附^[6]。此外,白细胞表面的黏附受体 Mac-1(CD11b/CD18)和血小板表面的 GPⅡb/Ⅲa 分别与纤维蛋白原形成桥接作用,从而也形成 PLA^[7]。PLA 可以阻塞小血管,释放各种细胞因子及炎性介质。促进白细胞在局部损伤血管内皮细胞内聚集、激活,促进内膜炎症发生。

抗血小板药物广泛用于心脑血管病的防治。究竟选择何种药物更能抑制 PLA,本研究常规应用阿司匹林、氯吡格雷单独或联合用药。Serebruany 等^[8]进行了阿司匹林对 PLA 形成影响的研究,发现其不能减少血小板表面 P-选择素和白细胞

1.4 统计学处理 数据采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,应用 SPSS11.5 统计软件包进行 *t* 检验,采用双侧 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

急性脑梗死组第 1 天与对照组白细胞、血小板、PLA、PNA、PLyA 水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$);PMA 比较差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表面 CD11B 的表达,抑制 PLA 的形成。Klinkhardt 等^[9]的研究表明,氯吡格雷或加用阿司匹林在治疗动脉硬化患者方面可以明显降低 PLA 的形成,尤其是 PMA 的形成。Serebruany 等^[10]及 Perneby 等^[11]的研究表明,在新发脑卒中、心肌缺血患者中,阿司匹林和氯吡格雷的联用可以明显降低 PLA 的形成。Gurbel 等^[12]的研究证实在冠脉疾病中依替巴肽可以快速地抑制血小板的聚集并降低 GPⅡb/Ⅲa 的活性,但是同时也证实 PLA 的增加会导致微血管的闭塞。Weyrich 等^[13]研究表明,双密达膜可以通过作用于 PLA 上特殊的靶点来抑制其基因的表达,从而阻止 PLA 的形成。目前对抗血小板活化的药物对 PLA 形成的影响处于进一步研究之中。

PMA 作为血小板活化检测的一个敏感指标,其水平反应体内疾病的变化,疾病好转或治愈其水平相应下降;急性脑梗死发病时,PMA 不仅明显增高,而且其在发病第 14 天时短期预后与疾病转归明显相关;抗血小板活化的药物对 PLA 形成的影响仍在研究之中。总之,PMA 可以做为急性脑梗死患者短期预后的评估指标之一。

参考文献

- Michelson AD, Furman MI. Laboratory marker of platelet activation and their clinical significance [J]. Curr Opin Hematol, 1999, 6(5): 342-348.
- Michelson AD, Barnard MR, Krueger LA, et al. Circulating monocyte-platelet aggregates are a more sensitive marker of in vivo platelet activation than platelet surface P-selectin [J]. Circulation, 2001, 104(13): 1533-1537.
- Klinkhardt U, Harder S. Flow cytometric measurement of platelet-leukocyte aggregates: A possible target to monitor platelet function [J]. Sem Thromb Hemost, 2005, 31(4): 400-403.
- Pelers MJ, Heydeman RS, Faust S, et al. Severe meningococcal disease is characterized by early neutrophil but not platelet activation and increased formation and consumption of platelet-neutrophil complexes [J]. J Leukoc Biol, 2003, 73(7): 722.
- Sarma J, Laan CA, Alam S, et al. Increased platelet binding to circulating monocytes in acute coronary syndromes [J]. Circulation, 2002, 105: 2166.
- 曾宪录,王晓光. PSGL-1——一种介导(下转第 1742 页)

多见嗜酸性粒细胞降低,与文献[10]相符。

本次研究的流感暴发病例中,甲乙型流感临床特征明显不同,具体表现为显示:甲型流感患者多以高热为主,占 58%,而乙型流感患者则多以低热为主占 62%,而甲型流感组比乙型流感组中的头痛及肺部湿罗音比例稍高分别占 47.36% 和 52.63%,与黄晓燕等报道的肺部湿啰音 60% 的结果相近^[11]。甲型流感引起头痛比例较高,可能是由于甲型易引起中枢神经系统并发症有关^[12],甲型流感临床症状严重,原因还可能与甲型流感病毒感染患者体内 CD3⁺、CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺ 淋巴细胞数量偏低,细胞免疫力下降有关^[13]。而两组患者在流涕、咽痛、咳嗽、扁桃体增大的临床症状所占比例无明显差异。

本研究比较了甲乙型流感与上呼吸道感染患者中的 WBC 计数与分类,发现各类细胞在总数及比例方面都各有不同,有利于对流感的早期发现,早期预防。但是,由于流感病毒本身极容易变异,为预防流感甚至需基因分析^[14-15],如何更有效预防和治疗流感已成为长期而艰巨的任务。

参考文献

- [1] Tran DN, Pham TM, Ha MT, et al. Molecular epidemiology of influenza A virus infection among hospitalized children in Vietnam during post-pandemic period[J]. J Med virol, 2015, 87(6): 904-912.
- [2] Panayiotou C, Richter J, Bashiardes S, et al. Molecular epidemiology of influenza A virus infection in Cyprus in four consecutive seasons (2009 pandemic-2013)[J]. Epidemiol Infect, 2014, 142(5): 975-983.
- [3] 黎毅敏, 杨子峰. 流行性感冒诊断与治疗指南(2011 年版)解读[J]. 中国实用内科杂志, 2012, 32(2): 105-108.
- [4] 赵琪彦, 王培昌. 甲型和乙型流行性感冒孕妇 C 反应蛋白及白细胞计数检测结果分析[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2015, 29(2): 183-184.
- [5] 冯得香. 100 例甲型流行性感冒临床流行病学调查[J]. 河
- [6] 曹楠楠, 欧阳芬, 黄宪章, 等. 儿童甲型 H1N1 病毒感染早期血常规特点及 C 反应蛋白水平分析[J]. 热带医学杂志, 2014, 14(8): 1045-1048.
- [7] 李昕, 沈震, 张蓓, 卢美娟, 等. H7N9 禽流感患者外周血常规和 C 反应蛋白的变化及其临床意义[J]. 检验医学, 2013, 28(9): 745-748.
- [8] Franklin DZ, Pancake BA, Brown WH. Prevalence of HTLV-I Tax in a subset of patients with rheumatoid arthritis[J]. Clin Exp Rheumatol, 2002, 20(2): 161-169.
- [9] Preusse M, Schughart K, Wilk E, et al. Hematological parameters in the early phase of influenza A virus infection in differentially susceptible inbred mouse strains[J]. BMC research notes, 2015, 6(8): 225.
- [10] 丛玉隆. 实用检验医学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 763-764.
- [11] 黄晓燕, 严建江. 小儿甲型和乙型流行性感冒的临床特点比较[J]. 广州医学院学报, 2006, 34(6): 57-59.
- [12] 何颜霞. 2009 甲型 H1N1 流感相关性神经系统并发症[J]. 中国实用儿科杂志, 2010, 25(2): 88-91.
- [13] 沈芳, 金鑫, 毛会军, 等. 2009 甲型流行性感冒病毒感染者常规免疫学检测的临床意义[J]. 微生物与感染, 2009, 4(4): 198-202.
- [14] 焦素黎, 胡逢蛟, 张姝, 等. 2003-2014 年浙江省宁波市乙型流行性感冒病毒血凝素和神经氨酸酶基因变化特征分析[J]. 疾病监测, 2015, 30(6): 448-453.
- [15] 孙晓强, 温秋芳, 陈晓梅, 等. 2013-2014 年宁夏甲型 H1N1 流行性感冒病毒血凝素基因变异状况及序列分析[J]. 宁夏医学杂志, 2016, 38(1): 13-15.

(收稿日期:2017-02-22 修回日期:2017-04-22)

(上接第 1739 页)

- 白细胞黏附的重要分子[J]. 分子科学学报, 2002, 18(2): 84-89.
- [7] McGregor L, Martin J, McGregor JL. Platelet-leukocyte aggregates and derived microparticles in inflammation, vascular remodelling and thrombosis[J]. Front Biosci, 2006, 11(8): 830-837.
- [8] Serebruany VL, Malinin AI, Oshrine BR, et al. Lack of uniform platelet activation in patients after ischemic stroke and choice of antiplatelet therapy[J]. Thromb Res, 2004, 113(3/4): 197-204.
- [9] Klinkhardt U, Bauersachs R, Adams J, et al. Clopidogrel but not aspirin reduces P-selectin expression and formation of platelet-leukocyte aggregates in patients with atherosclerotic vascular disease[J]. Clin Pharmacol Ther, 2003, 73(3): 232-241.
- [10] Serebruany VL, Malinin AI, Zhai W, et al. Effects of clopidogrel and aspirin in combination versus aspirin alone on platelet activation and major receptor expression in patients after recent ischemic stroke[J]. Stroke, 2005, 36(10): 2289-2292.
- [11] Perneby C, Wallen NH, Hofman-Bang C, et al. Effect of clopidogrel treatment on stress-induced platelet activation and myocardial ischemic in aspirin-treated patients with stable coronary artery disease[J]. Thromb Haemost, 2007, 98(6): 1316-1322.
- [12] Gurbel PA, Galbut B, Bliden KP, et al. Effect of eptifibatide for acute coronary syndromes: Rapid versus late administration-therapeutic yield on platelets[J]. Thromb Thrombolytic, 2002, 14(3): 213-219.
- [13] Weyrich AS, Kraiss LW, Prescott SM, et al. New roles for an old drug: inhibition of gene expression by dipyridamole in platelet-leukocyte aggregates[J]. Trends Cardiovasc Med, 2006, 16(3): 75-80.

(收稿日期:2017-02-02 修回日期:2017-04-02)