

• 论 著 •

血小板参数和血小板聚集功能检测对 2 型糖尿病 治疗后监测的临床价值探讨^{*}

赵 玲¹, 杨伏猛², 姜煥堃¹, 刘婷婷³, 马 芳¹, 梁 伟^{2△}

1. 蚌埠医学院, 安徽蚌埠 233000; 2. 蚌埠医学院附属连云港市第二人民医院检验科, 江苏连云港 222000; 3. 江苏省连云港市东海县人民医院口腔科, 江苏连云港 222300

摘 要:目的 探讨血小板参数及血小板聚集功能检测对 2 型糖尿病(T2DM)诊治的临床价值。方法 选择 2020 年 4—9 月于蚌埠医学院附属连云港市第二人民医院内分泌科进行住院治疗的非初诊 T2DM 患者 60 例纳入治疗组, 选取同期门诊确诊、初发、未经治疗的 T2DM 患者 60 例纳入初发组, 选取同期排除 T2DM 的健康体检者 60 例纳入对照组。采用全自动血液分析仪检测 3 组研究对象的血小板计数(PLT)、血小板分布宽度(PDW)、血小板平均体积(MPV)及血小板压积(PCT); 采用血小板聚集仪分别以花生四烯酸(AA)、二磷酸腺苷(ADP)及胶原(COL)为诱导剂来检测 3 组研究对象的血小板最大聚集率(PAgTm); 采用流式细胞仪检测血小板 P-选择素和磷脂酰丝氨酸(PS)外翻的表达; 比较 3 组间各项指标水平; 绘制 MPV、AA-PAgTm、ADP-PAgTm、COL-PAgTm、血小板 P-选择素及 PS 外翻辅助诊断 T2DM 的 ROC 曲线, 并分析其诊断价值。结果 治疗组 MPV 明显高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.001$), 而 PCT、PDW、PLT、AA-PAgTm、ADP-PAgTm、COL-PAgTm、血小板 P-选择素及 PS 在两组间比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 初发组 MPV、血小板 P-选择素、PS 外翻、AA-PAgTm、ADP-PAgTm、COL-PAgTm 明显高于对照组和治疗组, 差异有统计学意义($P < 0.001$), 而 PCT、PDW、PLT 3 组间比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 MPV、PAgTm 及血小板 P-选择素和 PS 可以作为 T2MD 患者治疗后血小板活性监测的有效指标来辅助 T2MD 的诊治。

关键词: 2 型糖尿病; 血小板参数; 血小板聚集率; P-选择素; 磷脂酰丝氨酸

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2021.10.003

中图法分类号: R446.1; R587.1

文章编号: 1673-4130(2021)10-1162-04

文献标志码: A

Clinical value of detection of platelet parameters and platelet aggregation function in monitoring after treatment of type 2 diabetes mellitus^{*}

ZHAO Ling¹, YANG Fumeng², LOU Huankun¹, LIU Tingting³, MA Fang¹, LIANG Wei^{2△}

1. Bengbu Medical College, Bengbu, Anhui 233000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Lianyungang Second People's Hospital Affiliated to Bengbu Medical College, Lianyungang, Jiangsu 222000, China; 3. Department of Stomatology, Donghai County People's Hospital, Lianyungang, Jiangsu 222300, China

Abstract: Objective To explore the clinical value of platelet parameters and platelet aggregation function in the diagnosis and treatment of type 2 diabetes mellitus (T2DM). **Methods** A total of 60 non-newly diagnosed patients with T2DM were collected from April to September 2020 in the Department of Endocrinology, Lianyungang Second People's Hospital Affiliated to Bengbu Medical College as treatment group, 60 patients with primary T2DM diagnosed in the outpatient clinic in the same period were selected as initial group, and 60 healthy subjects were selected as control group. Platelet count (PLT), platelet distribution width (PDW), mean platelet volume (MPV) and platelet crit (PCT) were measured by automatic hematology analyzer. Arachidonic acid (AA), adenosine diphosphate (ADP) and collagen (COL) were used as inducers to detect the maximum platelet aggregation rate (PAgTm). The expression of platelet P-selectin and phosphatidylserine (PS) was detected by flow cytometry. The levels of various indicators were compared among the three groups. ROC curve of MPV, AA-PAgTm, ADP-PAgTm, COL-PAgTm, P-selectin and PS-assisted diagnosis of

^{*} 基金项目: 江苏省卫生健康委员会面上项目(H2018073); 安徽省教育厅重点项目(KJ2018A1008)。

作者简介: 赵玲, 女, 技师, 主要从事 2 型糖尿病方面的研究。△ 通信作者, E-mail: hslwys@163.com。

本文引用格式: 赵玲, 杨伏猛, 姜煥堃, 等. 血小板参数和血小板聚集功能检测对 2 型糖尿病治疗后监测的临床价值探讨[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(10): 1162-1165.

T2DM were plotted, and their diagnostic values were analyzed. **Results** The MPV of treatment group was significantly higher than that of control group ($P<0.001$), but the expression of PCT, PDW, PLT, AA-PAgTm, ADP-PAgTm, COL-PAgTm, P-selectin and PS had no significant difference between the two groups ($P>0.05$). The expression of MPV, P-selectin, PS, AA-PAgTm, ADP-PAgTm and COL-PAgTm in initial group were significantly higher than those in control group and treatment group ($P<0.001$), but there was no significant difference on PCT, PDW and PLT between the three groups ($P>0.05$). **Conclusion** MPV, PAgTm, platelet P-selectin and PS can be used as effective indicators of platelet activity monitoring in patients with T2MD after treatment to assist the diagnosis and treatment of T2MD.

Key words: type 2 diabetes mellitus; platelet parameters; platelet aggregation rate; P-selectin; phosphatidyl serine

随着人们生活水平的提高和人口老龄化的到来, 糖尿病已经成为继肿瘤、心血管疾病之后发病率居世界第 3 位的慢性病, 严重威胁着人类的健康和生命。研究表明, 90% 以上的糖尿病患者主要死于心脑血管疾病并发症, 而心脑血管疾病的发生、发展与血小板高活性状态密切相关^[1]。研究表明, 2 型糖尿病 (T2DM) 患者的血小板处于高活性状态, 因此, 早期预防和治疗是阻止 T2DM 心脑血管疾病并发症发生、发展的关键^[2]。本研究旨在探讨血小板参数、血小板聚集功能及血小板 P-选择素和磷脂酰丝氨酸 (PS) 外翻检测对 T2DM 患者治疗后监测中的临床价值, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2020 年 4—9 月于蚌埠医学院附属连云港市第二人民医院内分泌科进行住院治疗的非初诊 T2DM 患者 60 例纳入治疗组。选取同期蚌埠医学院附属连云港市第二人民医院内分泌科门诊确诊、初发、未经治疗的 T2DM 患者 60 例纳入初发组。选取同期排除 T2DM 的健康体检者 60 例纳入对照组。所有确诊患者均符合 2016 年美国糖尿病协会 (ADA) 制定的糖尿病诊断标准及分型标准。3 组研究对象的年龄、性别等一般资料比较, 差异无统计学

意义 ($P>0.05$), 具有可比性, 见表 1。排除标准: (1) 急性创伤或急性慢性感染患者; (2) 原发或其他继发性肾脏疾病患者; (3) 急慢性心、肝、肺、肾、心脑血管、消化道疾病患者; (4) 恶性肿瘤、自身免疫性疾病患者; (5) 采集血液标本前 2 周末使用过抗血小板药物或抗凝药物。本研究经蚌埠医学院附属连云港市第二人民医院医学伦理委员会审批通过, 符合 2013 年修订的《赫尔辛基宣言》的要求, 研究对象均签署知情同意书。

1.2 仪器与试剂 血小板计数 (PLT)、血小板压积 (PCT)、血小板分布宽度 (PDW)、血小板平均体积 (MPV) 的检测采用 Sysmex XN-1000 全自动血细胞分析仪及其配套试剂 (日本希森美康公司生产); 分别应用二磷酸腺苷 (ADP)、花生四烯酸 (AA) 和胶原 (COL) 作为血小板诱导剂, 使用 LBY-NJ4A 血小板聚集仪 (北京泰利康信公司生产) 检测各组研究对象的血小板最大聚集率 (PAgTm), AA、ADP 及 COL 所对应的试剂批号分别为 20200427A、20200425B、20200424C, 严格按照仪器标准化操作规程进行操作。流式细胞仪 (美国 BD 公司) 检测血小板 P-选择素表达和 PS 外翻, 试剂分别采用 FITC 标记的抗 P-选择素单克隆抗体和 APC 标记的 Annexin V。

表 1 3 组研究对象一般资料比较

组别	<i>n</i>	年龄 ($\bar{x}\pm s$, 岁)	男: 女 (<i>n</i> : <i>n</i>)	收缩压 ($\bar{x}\pm s$, mm Hg)	舒张压 ($\bar{x}\pm s$, mm Hg)
对照组	60	52.9 \pm 11.7	33: 27	137.2 \pm 11.7	78.8 \pm 6.0
治疗组	60	53.8 \pm 11.5	29: 31	139.2 \pm 14.8	79.9 \pm 10.5
初发组	60	54.2 \pm 10.6	29: 31	141.0 \pm 9.2	81.2 \pm 7.7
<i>F</i> / χ^2		0.22	0.71	1.49	1.30
<i>P</i>		0.80	0.70	0.23	0.28

1.3 标本采集 (1) 采集空腹静脉血 2 mL, 采用 15% 乙二胺四乙酸二钾 (EDTA-K₂) 抗凝, 进行血小板参数检测; (2) 采集空腹静脉血 3 mL, 采用 10⁹ mmol/L 的枸橼酸钠以 1: 9 比例进行抗凝, 采血完毕后及时混匀, 避免使用溶血、脂血和乳糜血的标本, 将采血管在 160 \times g 的离心力下离心 10 min, 分离富血

小板血浆 (PRP); 然后继续在 2 000 \times g 的离心力下离心 10 min, 分离乏血小板血浆 (PPP), PRP 与 PPP 制备完成后分别以 AA、ADP 及 COL 作为诱导剂应用 LBY-NJ4A 血小板聚集仪来检测每例研究对象第 300 秒所对应的 PAgTm。所有检测指标均要求 4 h 内完成。(3) 制备洗涤血小板。取健康体检者或糖尿病患

者静脉血与 ACD(2.5%枸橼酸钠、2.0%葡萄糖、1.5%枸橼酸)按照 1:7 比例抗凝,1 300 r/min 离心 20 min 得到 PRP,PRP 经 2 500 r/min 离心 20 min,沉淀用 CGS 缓冲液悬浮,经离心、洗涤,最后用 MTB 液重悬,得到洗涤血小板,调整血小板计数为 3×10^8 /mL,室温静置 1~2 h 使其恢复至静息状态以备用。

1.4 检测方法 (1)PLT、PCT、PDW、MPV 采用电阻抗法在全自动血液分析仪上检测;PAgTm 采用光电比浊法检测。所有标本检测前,仪器均经过维护和校准,且室内质控符合要求方可实施检测。(2)流式细胞仪检测 PS 外翻: 3×10^8 /mL 洗涤血小板 50 μ L 加入 250 μ L $1\times$ Annexin V 结合缓冲液和 10 μ L FITC 标记的 Annexin V,在避光、震荡条件下室温孵育 20 min 后,采用流式细胞仪进行检测,并记录 Annexin V 阳性细胞百分比。(3)流式细胞仪检测血小板 P-选择素表达: 3×10^8 /mL 洗涤血小板 50 μ L 加 0.25 μ L FITC 标记的抗 P-选择素单克隆抗体,室温孵育 30 min,采用流式细胞仪检测。

1.5 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理及统计学分析。呈正态分布、方差齐的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,多组间中

的两两比较采用 SNK-*q* 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 组间血小板参数及 PAgTm 比较 治疗组 MPV 明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.001$),而 PCT、PDW、PLT、AA-PAgTm、ADP-PAgTm、COL-PAgTm 在两组间比较,差异无统计学意义($P>0.05$);初发组 MPV、AA-PAgTm、ADP-PAgTm、COL-PAgTm 明显高于对照组和治疗组,差异有统计学意义($P<0.001$);而 PCT、PDW、PLT 在 3 组间比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

2.2 3 组间血小板 P-选择素表达和 PS 外翻比较 对照组与治疗组 PS 外翻和血小板 P-选择素表达比较,差异无统计学意义($P>0.05$);而初发组与其他两组间的 PS 外翻和血小板 P-选择素表达比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

2.3 各项指标对 T2DM 的辅助诊断价值 绘制 MPV、AA-PAgTm、ADP-PAgTm、COL-PAgTm、血小板 P-选择素及 PS 外翻辅助诊断 T2DM 的 ROC 曲线,且分别计算各项指标的 ROC 曲线下面积、cut-off 值、灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值,见表 3。

表 2 3 组间血小板参数及 PAgTm 等指标比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	PCT(fL)	PDW(%)	PLT($\times 10^9$ /L)	MPV(fL)
对照组	60	0.33 \pm 0.78	13.40 \pm 2.64	227 \pm 57	9.88 \pm 0.99
治疗组	60	0.23 \pm 0.49	13.16 \pm 2.27	229 \pm 55	10.70 \pm 0.86 [*]
初发组	60	0.22 \pm 0.43	13.66 \pm 2.50	217 \pm 45	11.48 \pm 0.91 ^{*#}
<i>F</i>		1.16	0.62	0.94	45.86
<i>P</i>		0.32	0.54	0.39	<0.001

组别	<i>n</i>	AA-PAgTm (max,%)	ADP-PAgTm (max,%)	COL-PAgTm (max,%)	血小板 P-选择素 (%)	PS 外翻 (%)
对照组	60	63.58 \pm 8.27	65.27 \pm 8.57	65.87 \pm 9.44	8.32 \pm 1.98	8.68 \pm 2.02
治疗组	60	64.07 \pm 7.41	65.95 \pm 8.00	67.78 \pm 8.15	8.45 \pm 0.92	9.28 \pm 0.82
初发组	60	75.87 \pm 4.01 ^{*#}	75.58 \pm 5.30 ^{*#}	76.93 \pm 6.43 ^{*#}	10.88 \pm 1.02 ^{*#}	11.38 \pm 1.56 ^{*#}
<i>F</i>		62.47	36.18	31.98	63.93	52.61
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^{*} $P<0.05$;与治疗组比较,[#] $P<0.05$ 。

表 3 各项指标对 T2DM 的辅助诊断性能比较

项目	AUC	cut-off 值	灵敏度(%)	特异度(%)	阴性预测值(%)	阳性预测值(%)
MPV	0.802	10.65 fL	86.7	62.5	85.2	78.8
AA-PAgTm	0.924	70.50%	83.3	84.2	80.0	85.0
ADP-PAgTm	0.851	71.50%	83.3	69.2	75.0	85.0
COL-PAgTm	0.843	77.50%	65.0	91.7	90.0	65.0
血小板 P-选择素	0.874	9.72%	88.3	76.7	80.0	87.0
PS 外翻	0.861	10.52%	75.0	81.7	80.0	78.0

3 讨 论

血小板主要来源于骨髓成熟的巨核细胞,PLT 及 MPV 反映了骨髓中巨核细胞的增生、代谢及血小板生成情况^[3]。有文献报道,MPV 与血小板活性呈正相关^[4],可能是因为新生成的血小板体积较大,含较多致密体,能够释出多种内容物,故具有更高的功能活性。范志佳等^[5]也综述了糖尿病患者的大截面血小板是细胞器丰富的大体积血小板,是糖尿病患者血小板高功能活性的主要原因。本研究发现,治疗组与初发组患者的 MPV 均明显高于对照组,这与已有的大量研究结果一致^[3-4]。本研究发现,治疗组的 PLT 与对照组比较,差异无统计学意义($P>0.05$),本研究结果与李金密等^[6]的研究结论一致。但也有研究发现,T2DM 患者的 PLT 较健康对照者明显升高^[7]。此外,也有学者发现,T2DM 患者 PLT 较健康对照者明显下降^[8]。截至目前,关于糖尿病是否会引起 PLT 的变化及如何变化,尚存在争议。

本研究结果显示,各组间 PCT 无明显差异,这与赵志勇等^[4]的研究结果一致。也有研究者认为 PCT 在糖尿病患者中明显升高,且随糖尿病严重程度增加而升高^[9]。

有研究发现,糖尿病患者的 PDW 较健康对照者明显升高^[10-11],可能与 MPV 升高引起 PDW 升高有关。但本研究发现,治疗组与对照组 PDW 并无明显差异,分析其原因,这都是单中心的研究结论,需要进一步扩大样本量实施多中心研究来确认 PDW 与 T2DM 的相关性。

有研究发现,MPV 较大的血小板对诱导剂的聚集反应性也相应增强,更易促进血栓形成,使糖尿病患者发生微血管病变的危险性增加^[12]。本研究发现,治疗组的 PAgTm 明显低于初发组,表明糖尿病患者经过规范化治疗后,可引起血小板聚集功能的下降,而血小板高聚集功能与糖尿病患者心脑血管并发症密切相关^[13]。

此外,本研究发现,初发组血小板 P-选择素和 PS 外翻的水平高于治疗组和对照组,而治疗组和对照组之间差异并不明显,说明未经治疗的 T2DM 患者体内血小板的活化和凋亡增加,此结果表明血小板 P-选择素和 PS 外翻可作为初发糖尿病患者的辅助诊断指标之一,提示早期规范化降糖治疗可降低糖尿病患者血小板的聚集活性。因此,及早对糖尿病患者进行规范化治疗对延缓心脑血管疾病的发生、发展十分重要,目前临床对糖尿病患者心脑血管并发症的监测手段匮乏,本研究发现 MPV、PAgTm、血小板 P 选择素和 PS 外翻可以作为 T2DM 患者是否被规范治疗的实验

室评估指标,其中,血小板 P-选择素用来辅助诊断 T2DM 的灵敏度最高(88.3%),COL-PAgTm 的特异度最佳(91.7%),而 AA-PagTm 的诊断效率最优。

综上所述,本研究发现 MPV、PAgTm、血小板 P-选择素和 PS 外翻在初发未经治疗的 T2DM 中明显升高,经规范治疗后可明显降低血小板的活化水平,这些实验室指标可以辅助 T2DM 的诊治,为糖尿病患者心脑血管并发症的防控提供实验室数据支撑,值得在临床上推广。

参考文献

- [1] CHEN X, FANG L, LIN H, et al. The Relationship between type 2 diabetes and platelet indicators[J]. Iran J Public Health, 2017, 46(9): 1211-1216.
- [2] 王金玲, 刘霞, 王培昌. 抗心磷脂抗体与抗 β_2 糖蛋白 1 抗体在 2 型糖尿病微血管病变中的意义[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 40(18): 2246-2248.
- [3] 周艳, 黄艳红, 罗自强. 肺的血小板生成功能[J]. 生理学报, 2017, 69(5): 730-734.
- [4] 赵志勇, 韦玉和, 印永, 等. 2 型糖尿病伴急性脑梗死患者平均血小板体积的变化及意义[J]. 实用糖尿病杂志, 2016, 20(4): 21-23.
- [5] 范志佳, 徐黎明, 王力, 等. 糖尿病患者血小板高活性状态研究进展[J]. 检验医学, 2016, 31(12): 1144-1147.
- [6] 李金密, 陈开春, 陈伟, 等. 2 型糖尿病患者血小板平均体积变化及其意义[J]. 重庆医学, 2013, 42(15): 1742-1744.
- [7] 张志辉. 血小板参数、纤维蛋白原和 D-二聚体在 2 型糖尿病微血管病变患者中的表达及意义[J]. 中国医药导报, 2014, 11(16): 70-73.
- [8] 杜婧. 血小板参数与 2 型糖尿病微血管病变的关联研究[J]. 实用糖尿病杂志, 2016, 20(3): 43-45.
- [9] 温丽华, 董昱, 韩永玥. 糖尿病微血管病变患者血液指标改变的意义[J]. 吉林医学, 2018, 39(6): 1045-1047.
- [10] 李鸿燕, 张丽敏, 王永和. 血小板参数、血糖及血脂检测在 2 型糖尿病微血管病变防治中的临床意义[J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(9): 2152-2154.
- [11] 李海东, 毛剑波, 程丹, 等. 2 型糖尿病患者平均血小板体积与糖尿病黄斑水肿的关系[J]. 眼科新进展, 2018, 39(6): 576-578.
- [12] 郑锦顺. 早期胰岛素强化疗法联合西洛他唑对 2 型糖尿病微血管病变患者血小板参数的影响[J]. 慢性病学杂志, 2016, 17(6): 676-678.
- [13] 巫开文, 李国春, 李婷婷, 等. 老年人群口服氯吡格雷后血小板聚集率与血尿酸水平相关性分析[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2019, 39(1): 115-118.

(收稿日期: 2020-09-17 修回日期: 2021-01-18)