

脓毒症患儿血小板活化状态及血小板参数的观察及临床意义

董金巧, 季秀成(江苏省淮安市楚州中医院检验科 223200)

【摘要】 目的 探讨脓毒症患儿血小板 α 颗粒膜糖蛋白(CD62P)、溶酶体膜蛋白(CD63)以及血小板参数中血小板计数(PLT)、平均血小板内容物浓度(MPC)的变化及意义。**方法** 采用流式细胞术测定 55 例脓毒症患儿血小板表面活性标记糖蛋白 CD62P 和 CD63 的表达,同时应用全自动血球分析仪对血小板的参数进行测量,并与对照组比较。**结果** 脓毒症患儿血小板 CD62P 和 CD63 水平明显高于健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$),而血小板 PLT、MPC 明显低于健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$);重症脓毒症患儿组血小板 CD62P 和 CD63 水平均高于一般脓毒症患儿组,差异有统计学意义($P < 0.01$),而血小板 PLT、MPC 均低于一般脓毒症患儿组,差异有统计学意义($P < 0.01$);血小板 CD62P、CD63 与急性生理学和慢性健康评分 II (APACHE II)及全身性感染性器官功能衰竭评分(SOFA)之间呈显著正相关关系,差异有统计学意义($P < 0.01$);血小板 PLT、MPC 与 APACHE II 及 SOFA 评分呈显著负相关,差异有统计学意义($P < 0.01$)。**结论** 血小板 CD62P、CD63 的活化在脓毒症患儿的早期发病过程中起重要作用,二者共同参与了早期的高凝状态,从而促使血小板参数 PLT 和 MPC 降低,四者的变化与病情的严重程度相关,都可作为评价脓毒症病情的有效指标。

【关键词】 脓毒症; α 颗粒膜糖蛋白; 溶酶体膜蛋白; 血小板计数; 平均血小板内容物浓度

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.22.021 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)22-2732-03

Observation of platelet activation state and platelet parameters in patients with sepsis and its clinical significance

DONG Jin-qiao, LI Xiu-cheng (Department of Clinical Laboratory, Chuzhou Traditional Chinese Medicine Hospital of Huaian City, Jiangsu 223200, China)

【Abstract】 Objective To explore the clinical significance of changes of platelet glycoprotein CD62P, CD63 and platelet parameter PLT, MPC. **Methods** The expression of platelet surface activity glycoprotein CD62P and CD63 of 55 cases patients with sepsis were measured by flow cytometry. By the means of parameter of platelets were measured in all patients using automatic blood analyzer, and to compare with the control group. **Results** The levels of platelet CD62P and CD63 in children with sepsis were obviously higher than those in the normal control group ($P < 0.01$), while the levels of platelet PLT and MPC were lower than those in the normal group ($P < 0.01$); The levels of platelet CD62P and CD63 in children with severe sepsis were higher than those in the mild sepsis group ($P < 0.01$), while the levels of platelet PLT and MPC were lower than those in the mild sepsis group ($P < 0.01$); The platelet of CD62P and CD63 had significant positive correlation with APACHE II and SOFA score (all $P < 0.01$), while the platelet PLT and MPC had significant negative correlation with APACHE II and SOFA score (all $P < 0.01$). **Conclusion** The activation of platelet glycoprotein CD62P, CD63 plays an important role in the process of sepsis, and participates in the early hypercoagulable state. Then it contributes to reduce the platelet parameters of PLT and MPC. The changes of platelet CD62P, CD63, PLT and MPC are correlated to the intensity of sepsis, which can be considered as an effective index in the assessment of the extent of sepsis.

【Key words】 sepsis; CD62P; CD63; PLT; MPC

脓毒症是机体对细菌感染做出的过度反应的全身性炎症反应综合征(SIRS),大多发生在严重感染、重度创伤、大手术后,是重型急性胰腺炎和休克等常见的并发症,进一步发展可导致感染性休克、急性呼吸窘迫综合征和多器官功能障碍综合征。有研究表明,脓症患者早期外周血中血小板 α 颗粒膜糖蛋白(CD62P)和溶酶体膜蛋白(CD63)显著升高,血小板出现明显活化,并且其活化程度与病情的严重程度相关^[1]。CD62P 与血浆黏度、纤维蛋白原浓度呈正相关,CD62P 在血小板质膜上的表达或其阳性血小板的百分率的增加被认为是活化血小板的特异性标志物之一^[2]。血小板膜糖蛋白 CD63 复为血小板内溶酶体膜蛋白,在静息状态下血小板表面仅有极少量表达,血小板活化时可随脱颗粒反应而大量表达在血小板表面,并介导中性粒细胞对活化内皮的黏附,因此也是检测血小板活化的理想指标^[3]。本研究旨在探讨反映血小板活化状态

CD62P 和反映血小板数量及功能的血小板参数在脓毒症早期诊断的临床意义,为脓毒症的预防和治疗提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2010 年 1 月至 2011 年 2 月本院重症监护病房(ICU)收治的 55 例脓毒症患儿,均符合美国胸科医师学会/危重病医学会(ACCP/SCCM)2001 年华盛顿国际脓毒症定义会议提出的诊断标准^[4]。其中一般脓毒症组 30 例,男 17 例,女 13 例,年龄 30 d 至 13 岁,平均(6.2±4.4)岁;严重脓毒症组 25 例,男 14 例,女 11 例,年龄 28 d 至 13 岁,平均(5.9±4.5)岁。上述病例入院前 2 周均未用过阿司匹林、潘生丁、肝素等影响血小板功能的药物,并排除感染、血液病、恶性肿瘤、肝肾疾病及可引起血小板计数升高的疾病。对照组为本院儿童保健所体检合格的年龄 28 d 至 14 岁的 55 例儿童,男 31 例,女 24 例,年龄 28 d 至 13 岁,平均(6.0±4.6)岁,均为无心、肝、

肾疾病和感染性疾患的健康儿童。各组年龄、性别比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

1.2 研究方法 所有研究对象均晨起空腹静脉取外周血 3 mL, 置于 3.8% 枸橼酸钠的试管中(血与抗凝剂之比为 9:1), 用美国 Becton-Dickinson 公司 FACS Calibur 型流式细胞仪及包括异硫氰酸荧光素 FITC 标记的单克隆抗体由美国 Becton-Dickinson 公司提供在内所有试剂做活化状态血小板 CD62P 和 CD63 的测定。血小板参数检测取患者入院后次日晨空腹肘前静脉血, 用 2% 乙二胺四乙酸二钾抗凝管抗凝, 血液与抗凝剂的比例为 1:10, 采血 1 h 内在 Sysmex XSI000i 全自动五分类血细胞分析仪上进行血小板计数(PLT)、平均血小板内容物浓度(MPC)的检查。并用急性生理学和慢性健康评分 II (APACHE II) 和全身性感染性器官功能衰竭评分(SOFA)的方法, 对疾病各期的严重程度进行评估。

1.3 统计学方法 采用 SPSS16.0 软件分析, 所有计量资料采以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 计量资料组间比较采用 t 检验, 相关分析用 Pearson 相关分析。

2 结 果

2.1 脓毒症患儿组与健康对照组血小板 CD62P、CD63 的表达及血小板参数的比较 脓毒症患儿血小板 CD62P、CD63 的表达较健康对照组明显升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); PLT、MPC 水平较健康对照组显著下降, 差异也有统计学意义 ($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 两组血小板活化状态及血小板参数的比较 ($n=55$)

| 组别 | CD62P(%) | CD63(%) | PLT($\times 10^9/L$) | MPC(g/L) |
|-------|-----------------|-----------------|------------------------|--------------------|
| 健康对照组 | 1.46 \pm 0.42 | 1.81 \pm 0.57 | 242.54 \pm 80.43 | 290.76 \pm 16.24 |
| 脓毒症组 | 5.21 \pm 1.32 | 6.34 \pm 1.45 | 130.87 \pm 55.82 | 200.62 \pm 11.53 |
| t | 20.07 | 21.56 | -8.46 | 33.56 |
| P | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 |

2.2 不同程度脓毒症患儿血小板 CD62P、CD63 的表达及血小板参数的比较 严重脓毒症患儿与一般脓毒症患儿相比, 血小板 CD62P 和 CD63 显著升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); PLT 和 MPC 水平显著下降, 差异也有统计学意义 ($P < 0.01$)。见表 2。

表 2 两组血小板活化状态及血小板参数的比较

| 组别 | n | CD62P(%) | CD63(%) | PLT($\times 10^9/L$) | MPC(g/L) |
|-------|-----|-----------------|------------------|------------------------|--------------------|
| 一般脓毒症 | 30 | 2.76 \pm 0.72 | 3.12 \pm 0.68 | 161.62 \pm 60.44 | 238.76 \pm 16.88 |
| 严重脓毒症 | 25 | 8.15 \pm 2.08 | 10.20 \pm 2.42 | 93.98 \pm 35.72 | 154.85 \pm 10.79 |
| t | — | 12.77 | 15.34 | 4.92 | 19.32 |
| P | — | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 |

注: — 表示无数据。

2.3 血小板 CD62P、CD63、PLT、MPC 与 APACHE II、SOFA 的相关性分析 相关分析结果表明, 脓症患者外周血中血小板 CD62P 与 APACHE II、SOFA 呈高度正相关 ($r=0.615, r=0.713, P < 0.01$); CD63 与 APACHE II、SOFA 呈高度正相关 ($r=0.642, r=0.764, P < 0.01$); PLT 与 APACHE II、SOFA 呈高度负相关 ($r=0.687, r=0.748, P < 0.01$); MPC 与 APACHE II、SOFA 呈高度负相关 ($r=0.532, r=0.671, P < 0.01$)。

3 讨 论

脓毒症及其引起的多脏器功能障碍综合征 (MODS) 已经成为 ICU 内最主要的发病及致死原因之一^[5]。目前为止, 对激发脓毒症的细胞及分子机制和脓毒症患者在抵御炎症、维持

自稳方面的天然生理机制并不十分清楚, 因而对脓症患者并无有效的治疗措施。有研究表明, 脓毒症时过度的炎症反应和凝血功能障碍是导致 MODS 发生、发展的病理生理基础, 而活化血小板正是连接炎症反应和凝血反应之间的桥梁, 在脓毒症的发生、发展过程中起重要作用^[6]。研究表明, 严重脓毒症和脓毒性休克的患者血液流变学和血小板功能均发生异常, 血小板数与脓毒症的严重程度呈负相关, 脓症患者因遭受缺氧、酸中毒、内毒素、休克、严重创伤等多种因素的打击, 使血管内皮受损, 血小板过度聚集或全身性感染通过免疫介导的血小板破坏, 外周血小板消耗增加, 减少血小板消耗有助于脓毒症的治疗^[7]。大量的研究显示, 血小板在脓毒症中可能起着非常复杂的作用, 它不仅调节自身的功能, 还调节着它周围细胞的功能, 血小板的主要功能是参与血栓形成, 该功能的实现是通过其表面的受体蛋白来完成的。血小板主要由膜糖蛋白的细胞外衣、溶胶区、凝胶区、细胞器和内容物等组成, 其中较重要的有 α 颗粒、致密颗粒、溶酶体颗粒和特殊管膜系统。CD62P 和 CD63 是血小板胞浆内颗粒上的膜糖蛋白及溶酶体膜糖蛋白, 均为活化血小板的膜糖蛋白, 二者在血小板静息状态下有极少量表达, 而在血小板活化时可随着血小板“脱颗粒”发生移位, 与血小板质膜相融合, 表达于血小板的表面膜上成为识别活化血小板的分子标志物。CD62P 亦称血小板活化依赖性颗粒膜蛋白, 又称 P-Selectin 或 GMP-140, 属选择素家族成员, 定位于静止血小板 α 颗粒和活化血小板的质膜上。静止血小板膜表面平均每个血小板仅表达 800~1 120 个 GMP-140 分子, 其功能是维持机体止血-纤溶系统功能平衡。而血小板活化时, 血小板内的 α 颗粒通过开放管道系统与质膜融合, CD62P 持久暴露在活化血小板膜表面, 使血小板质膜上表达 (1.0~1.3) $\times 10^3$ 个 GMP-140 分子, 增加 15 倍之多。CD62P 是目前所知的反映血小板活化与释放反应特异性的标志物, 且与脓毒症密切相关^[1]。CD63 为溶酶体颗粒膜糖蛋白, 在静息状态下血小板表面仅有极少量表达, 血小板活化时可随脱颗粒反应而大量表达在血小板表面, 并介导中性粒细胞对活化内皮的黏附, 因此也是检测血小板活化的理想指标。CD63 随着脓毒症病情的加重及血小板活化的程度而逐步增加, 由此表明血小板活化是脓毒症的重要病理基础之一, 提示常规检测血小板 CD63 可能作为预测脓毒症进展的实验室检查^[3]。研究表明^[9], MPC 是反映血小板激活的一项新的血小板功能性参数之一, MPC 较 PLT 可更早提示脓毒症的发生。本研究检测脓症患者血小板 CD62P 和 CD63 分子及血小板参数水平表达的变化, 来探讨脓症患者血小板的功能变化及其临床意义。

本研究研究表明, 脓症患者血小板 CD62P、CD63 的表达较健康对照组明显升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); PLT、MPC 水平较健康对照组显著下降, 差异也有统计学意义 ($P < 0.01$), 与以往报道基本一致^[1,8]。提示脓症患者血小板功能异常活跃, 活化水平明显增高, 血小板的活化促进了脓毒症的病理过程。其可能机制是^[9-10]: (1) 凝血系统异常在脓毒症发生、发展过程中具有重要作用, 脓毒症可以引起凝血系统活化并促进炎症的进一步发展, 二者互相影响, 共同促进脓毒症的恶化。(2) 血小板在炎症和凝血之间复杂的相互作用中占据着非常重要的中间位置。脓毒症释放大量的炎症介质、细胞因子, 以及内毒素及代谢产物等致血管内皮损伤, 使血管内皮屏障作用受损, 导致内皮下组织暴露, 使血小板与血管壁连接起来, 从而激活血小板, 使血小板活化, 机体处于高凝状态; 血小板释放有形成分, 又加重炎症反应, 炎症反应与高凝状

态互为因果,形成恶性循环。推测脓毒症血小板活化程度明显增高可能与此机制有关,血小板通过黏附和分泌预先存储的促炎性反应的介质与炎性细胞相互作用,从而对炎症起调控作用。本文的研究结果还显示,严重脓毒症组患儿与一般脓毒症组患儿相比,血小板 CD62P 和 CD63 显著升高,脓毒症患者外周血中血小板 CD62P 和 CD63P 与 APACHE II、SOFA 呈高度正相关;PLT 和 MPC 水平显著下降,与 APACHE II、SOFA 呈高度负相关。提示血小板的活化程度及血小板相关参数指标与脓毒症严重程度的密切相关,监测脓毒症患者血小板 CD62P、CD63P 及血小板参数水平在一定程度上反映脓毒症患者的病情变化,并对判断预后有一定的价值。彭晓东和陈骥^[11]报道脓毒症血患者血小板处于高激活状态,体内反映血小板活化的分子标志物 CD62P 和 CD63 明显升高,脓毒症血患者血小板激活程度与脏器功能损害程度有关,血小板的活性越高,脏器功能损害就越严重,提示血小板激活指标可作为判断脏器功能损害的指标之一,与本文的研究相符。血小板减少常与脓毒症一起出现,并与病情的发展和预后有一定关系。黎赛等^[8]研究表明,随着脓毒症患儿病情加重,如发生多器官系统衰竭时,血小板活化程度增加,消耗血小板过多,血小板数量减少,与本文的研究结果一致。

综上所述,本研究表明,脓毒症患者体内出现血小板的异常活化,血小板数量、体积等均出现显著变化,且其数量、体积及活化程度与患者病情的严重程度呈正相关,为脓毒症的发病机制提供了一定的理论基础。动态监测血小板膜糖蛋白 CD62P、CD63 以及血小板参数 PLT、MPC 的变化趋势,以期对脓毒症患儿的抗血小板治疗提供新的治疗依据。

参考文献

[1] 林孟相,魏宏建,付春来. 脓毒症患者血小板膜糖蛋白 CD62P 和 CD63 的表达及其临床意义[J]. 中国呼吸与危重监护杂志,2007,6(3):205-208.

(上接第 2731 页)

于其他类型的肺癌;NSE 在小细胞肺癌中的水平明显高于其他类型的肺癌。即 CEA 在肺腺癌、CY21-1 在肺鳞癌、NSE 在小细胞肺癌中表达水平最高。不同的肿瘤标志物联合检测可提高肿瘤阳性检出率。其中 CEA 与 CY21-1 联合检测可提高对肺腺癌、肺鳞癌的检出灵敏度,CEA 与 NSE 联合检测可提高对小细胞癌的检出灵敏度,CEA、CY21-1、NSE 三者之间有互补作用,3 种联合检测对各型肺癌诊断都有较高的灵敏度,并有利于肺癌病例类型的鉴别诊断。肿瘤标志物的联合检测并非检测的标志物越多越好,肿瘤标志物联合检测的最大意义在于增加肿瘤诊断的效率,为临床进一步明确诊断提供参考,或有助于临床治疗效果监测,但在提高阳性率的同时也增加了假阳性率的机会。因此,临床工作者需寻找最佳组合来提高肿瘤标志物检测的参考价值。

参考文献

[1] Bach PB. Smoking as a factor in cau sing lung cancer[J]. JAMA,2009,301(5):539-541.
[2] 金秀木,谢文晖,余志吕,等. CYFRA21-1、CEA、NSE 三项联合测定对肺癌患者的临床研究[J]. 核技术,2000,23(11):800-804.
[3] Schneider J, Velcovsky HG, Morr H, et al. Comparison of

[2] 徐长根,戴瑞娣,朱阳泉. 流式细胞仪测定血小板表面 CD62p 的临床意义[J]. 右江民族医学院学报,2003,5(2):689-690.
[3] 郑贵军,武子霞,李银平. 脓毒症大鼠血小板膜糖蛋白的表达变化及血必净的干预作用[J]. 中国危重病急救医学,2008,20(12):758-760.
[4] Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ES-ICM/ACCP/ATS/SIS International sepsis definitions conference[J]. Intensive Care Med,2003,29(4):530-538.
[5] 司徒超,黄卫东,付秀丽,等. 脓毒症患儿白细胞介素-6、血小板动态测定的临床意义[J]. 中华实用诊断与治疗杂志,2009,23(12):1202-1204.
[6] Kinasewitz GT, Yan SB, Basson B, et al. Universal changes in biomarkers of coagulation and inflammation occur in patients with severe sepsis, regardless of causative micro-organism[J]. Crit Care,2004,8(2):82-90.
[7] 宋冬梅,杨莉,曹相原. 危重病患者血小板计数变化的临床意义[J]. 宁夏医学杂志,2007,29(4):319-320.
[8] 黎赛,李梨平,宋春荣,等. 平均血小板内容物浓度测定与血小板计数在脓毒症诊疗中的应用[J]. 中国感染控制杂志,2010,9(1):25-27.
[9] 刘晓蓉,任新生. 脓毒症凝血机制及组织因子通路抑制剂治疗的研究现状及治疗进展[J]. 中国急救医学,2005,11(11):833-835.
[10] Walley KR, Russell JA. Protein C-1641 AA is associated with decreased survival and more organ dysfunction in severe sepsis[J]. Crit Care Med,2007,35(1):12-17.
[11] 彭晓东,陈骥. 脓毒症血患者血小板膜糖蛋白的变化及其意义[J]. 中国医师进修杂志,2006,20(9):20-41.

(收稿日期:2011-06-28)

the tumor marker s M2-PK, CEA, CYFRA21-1, NSE and SCC in the diagnosis of lung cancer[J]. Anticancer Res, 2000,20:5053-5058.

[4] 赵先文,江波,韩存芝,等. 大肠癌患者血清肿瘤标志物含量测定与临床研究[J]. 中华肿瘤杂志,2005,27(5):286-288.
[5] 程田,刘献华,宋文忠. 胸腔积液中 CYFRA21-1、NSE、CEA 的水平与肺癌组织学型及 TNM 分期的关系[J]. 放射免疫学杂志,2010,23(1):46-48.
[6] 刘延峰,杨栓盈. CYFRA21-1 对早期非小细胞肺癌诊断价值的 Meta 分析[J]. 西安效能大学学报:医学版,2011,32(1):34-37.
[7] 刘向红. CEA、NSE 和 CY21-1 联检在肺癌中的诊断价值[J]. 放射免疫学杂志,2008,21(5):465-466.
[8] Zweig HM, Campbell G. Receive-operating characteristic plots: a fundamental evaluation tool in clinical medicine [J]. Clin Chem,1993,39(4):561-577.
[9] 孟凡亮,胡杰贵. 血清 TPS、CEA、CYFRA21-1、NSE 联合检测对肺癌的诊断价值[J]. 临床肺科杂志,2011,16(2):223-224.

(收稿日期:2011-06-25)