

血小板与单核细胞聚合物在 2 型糖尿病患者血管并发症诊断中的意义

耿朝晖 郭竹英 胡晓波

作者单位:201900 上海市,上海交通大学医学院附属第三人民医院检验科

通讯作者:胡晓波, E-mail: xiaobo_hu@hotmail.com

【摘要】 目的 探讨血小板与单核细胞聚合物(platelet-monocyte aggregates, PMA)在 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)患者血管病变诊断中的意义。**方法** 应用荧光标记单抗流式细胞术对 94 例 T2DM 患者(按有无血管并发症分为有血管并发症组 64 例和无血管并发症组 30 例)和 42 例健康对照组血清中 PMA 表达率及实验室常规检测指标进行分析。**结果** T2DM 患者组血清中的 PMA 表达率明显高于健康对照组,且差异有统计学意义($P < 0.01$)。有血管病发症组患者血清中的 PMA 表达率高于无血管病发症组,且两组间差异亦有统计学意义($P = 0.015$);糖尿病患者血管病变损伤区域数量 ≥ 2 时,其 PMA 表达率明显高于无血管病变患者组,且差异均有统计学意义(P 均 < 0.05)。PMA 表达率与 RBC、WBC、HGB、高密度脂蛋白胆固醇等均有一定相关性(P 均 < 0.05)。受试者工作特征曲线显示 PMA 表达率为 24.72% 时,对 T2DM 血管并发症诊断的灵敏度为 71.9%,特异性为 73.8%,曲线下面积为 0.754。**结论** T2DM 患者血清中的 PMA 表达率明显升高,且升高的程度与糖尿病血管病变数量有关。

【关键词】 血小板与单核细胞聚合物;2 型糖尿病;血管并发症

doi:10.3969/j.issn.1674-7151.2012.02.008

Significance of circulating platelet-monocyte aggregates in vascular complications diagnosis of type 2 diabetes mellitus

GENG Chao-hui, GUO Zhu-ying, HU Xiao-bo. Department of Clinical Laboratory, Shanghai No.3 People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University, Shanghai 201900, China

【Abstract】 Objective To evaluate the significance of platelet-monocyte aggregates(PMA) in vascular complications diagnosis of type 2 diabetes mellitus(T2DM) patients. **Methods** 94 T2DM patients were divided into two groups according to their vascular complication including 64 patients with vascular complications (group A) and 30 patients without vascular disease (group B). 42 healthy age-matched people were selected as the normal controls. PMA levels were analyzed with fluorescent labeling flow cytometry. **Results** The PMA expression rate of T2DM group was significantly higher than that of normal control group, and the difference had statistical significance ($P < 0.01$). The PMA expression rate in group A was higher than in group B, and the difference had statistical significance ($P = 0.015$). When the degree of diabetic vascular disease damaged areas was larger than 2 in patients with T2DM, the PMA expression rate were significantly higher than diabetes without vascular complications group and the differences all had statistical significance (P all < 0.05). The PMA expression rate had correlations with RBC, WBC, HGB and high density lipoprotein cholesterol (P all < 0.05). The diagnostic sensitivity was 71.9%, specificity was 73.8% when the cut-off value of PMA expression was 24.72% according to the receiver operating characteristic curve and the area under curve was 0.754. **Conclusion** The serum level of PMA in T2DM is significantly increased and the increasing degree is closely correlated with vascular disease.

【Key words】 Platelet-monocyte aggregates; Type 2 diabetes mellitus; Vascular complications

糖尿病(diabetes mellitus, DM)血管并发症是 DM 患者死亡和致残的重要原因。在血管病变检查中,除影像、视觉等技术外,实验室还可通过测定外周血小板活化程度来反映是否出现血管病变。近年研究^[1]证明,血小板与单核细胞聚合物(platelet-

monocyte aggregates, PMA)可作为活化血小板标志物。本文旨在研究 PMA 表达率在健康人群与 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)患者血清中表达情况,探讨 PMA 表达率变化在 T2DM 血管病变诊断中的临床意义。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选择 T2DM 患者 94 例,系我院 2010 年 10 月至 2012 年 1 月住院患者,均符合 1999 年世界卫生组织 DM 诊断与分型标准:男 53 例,女 41 例,平均年龄(61.4 ± 13.5)岁,病程为 1 个月~40 年。按照有无血管并发症分为两组:A 组:有血管并发症者 64 例,男 36 例,女 28 例;B 组:无血管并发症者 30 例,男 17 例,女 13 例。

DM 血管病变损伤区域数量标准:大血管并发症累及区域为 3 个,分别为:冠心病,脑血管病变,周围大血管病变;微血管并发症累及区域为 3 个,分别为:视网膜,肾脏,神经。每个区域损伤,即记为 1,可依次累加。相关的微血管和大血管并发症数据由我院内分泌病区提供。

健康对照组 42 例,男 25 例,女 17 例,平均年龄(57.6 ± 8.96)岁,系同期健康体检正常者。

以上各组在最近 2 w 内未曾用抗凝药和抗血小板药物等任何对血小板有影响的药物。所有研究对象均进行详细的病史询问和仔细的体格检查。

1.2 方法 所有观察对象均空腹抽取静脉全血。分别测定 PMA、血糖(glucose, GLU)、血脂、糖化血红蛋白(hemoglobin A1c, HbA1c)、血常规等项目。其中,PMA 测定采用荧光标记流式细胞术法;GLU 的测定采用己糖激酶法;高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-CH)采用胆固醇氧化酶法;HbA1c 采用高压液相色谱法;血常规采用五分类全自动血液分析仪法。

1.3 主要仪器与试剂 BECKMAN EPICS XL 型流式细胞仪和 LX20 全自动生化分析仪(美国 Beckman Coulter 公司),SYSMEX-XE2100 五分类血液分析仪(日本希森美康公司)和 Bio-Rad Variant II 糖化血红蛋白仪(美国 Bio Rad 公司)。鼠抗人单克隆抗体:CD61、CD14、CD64、CD45 和 IgG1 均为美国 Beckman Coulter 公司产品。血液分析仪、生化分析仪和 HbA1c 均使用配套试剂、质控品和校准品。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 17.0 统计软件对数据进行分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。两组间比较采用两样本 t 检验。正态分布资料相关性分析采用 Pearson 直线相关分析,非正态分布资料采用 Spearman 相关统计分析。PMA 的临床诊断性能评价采用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线进行分析。

2 结果

2.1 对照组与 T2DM 组 PMA 表达率的比较

T2DM 组血清中 PMA 表达率明显高于对照组,两组间差异有统计学意义($P < 0.01$)。见表 1、图 1。

表 1 对照组与 T2DM 组 PMA 表达率比较($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	例数	PMA
对照组	42	22.07 ± 9.13
T2DM 组	94	32.91 ± 15.84
t 值	-	4.13
P 值	-	0.000

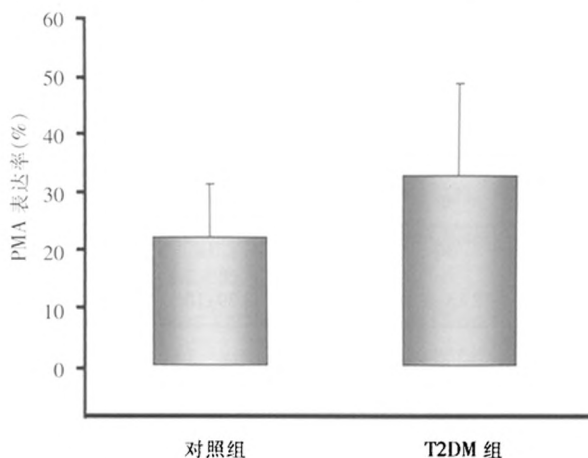


图 1 T2DM 组与对照组 PMA 表达率的比较

2.2 T2DM 组中有无血管并发症患者组 PMA 表达率的比较 A 组 PMA 表达率高于 B 组,两组间差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

表 2 T2DM 组中有无血管并发症患者组间

PMA 表达率比较($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	例数	PMA
A 组	64	35.61 ± 17.76
B 组	30	27.15 ± 8.31
t 值	-	2.478
P 值	-	0.015

2.3 PMA 表达率与 T2DM 组基本资料的相关性分析 应用双变量相关性分析,进行 PMA 表达率与 T2DM 组基本资料相关性分析结果表明,PMA 表达率与患者性别、年龄、体重指数(body mass index, BMI)无明显相关性(P 均 > 0.05);PMA 表达率与 RBC、HGB、HDL-CH 呈负相关(P 均 < 0.05);PMA 表达率与 WBC、GLU、HbA1c 呈正相关(P 均 < 0.05)。见表 3。

2.4 不同 T2DM 血管病变损伤区域数量 PMA 表达率比较 随着血管病变损伤区域的增多,PMA 的表达率也呈上升趋势。T2DM 血管病变损伤区域数量为 ≥ 2 时,PMA 的表达率明显高于 T2DM 无血管病变组,差异均有统计学意义(P 均 < 0.05)。见表 4。

表 3 PMA 表达率与 T2DM 组基本资料的相关性分析

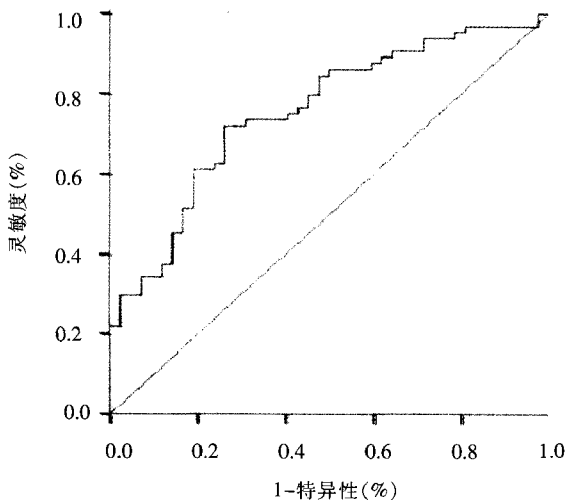
参数	r 值	P 值
性别	-0.114	0.186
年龄	-0.158	0.066
BMI	0.171	0.207
RBC	-0.200	0.020
HGB	-0.217	0.011
HDL-CH	-0.222	0.013
WBC	0.250	0.003
GLU	0.178	0.043
HbA1c	0.210	0.028

表 4 不同 T2DM 血管病变损伤区域数量 PMA 表达率的比较($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	0	1	2	≥ 3
例数	30	19	18	27
PMA	27.15 $\pm$ 8.31	27.93 $\pm$ 7.43	33.39 $\pm$ 10.53*	41.36 $\pm$ 16.79**

注: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$

2.5 PMA 诊断 T2DM 血管病变的 ROC 曲线 由图 2 可知, PMA 的临界值为 24.72% 时, 其诊断 T2DM 血管病变的灵敏度为 71.9%, 特异性为 73.8%, ROC 曲线下面积为 0.754。

**图 2** PMA 诊断 T2DM 血管病变的 ROC 曲线

3 讨论

T2DM 血管并发症的病因十分复杂, 除糖、蛋白质、脂肪代谢异常以外, 血小板活化、内皮细胞损伤、血液高凝状态、红细胞变形能力降低以及慢性炎症损伤等都被证实与其有关, 其中, 血小板活化与血管内皮细胞的损伤可能起重要作用。由于 DM 血管病变特别是微血管病变具有一定的隐匿性, 通过普通的临床检查往往难以发现^[2]。近年来利用流式细胞术检测活化血小板标志物在血栓性疾病中的表现,

对血栓形成的诊断、预防以及疗效监测提供了重要的依据^[3]。

PMA 的形成主要依赖于血小板活化^[4]和单核细胞活化^[5], 当血小板被激活时, 通过血小板表面 GPIIb/IIIa 和白细胞表面黏附受体 Mac-1 (CD11b/CD18) 在纤维蛋白原的桥接作用下, 形成血小板白细胞聚集体。在血小板-白细胞聚集体中, 活化血小板与单核细胞结合比与中性粒细胞结合要早, 且血小板与单核细胞聚合物所占比率远大于血小板与中性粒细胞聚合物^[6]。

本文研究通过检测 94 例确诊为 T2DM 患者入院当天的 PMA 及常用实验室检查指标, 与同期健康对照组做比较, 结果显示, T2DM 组 PMA 表达率明显高于健康对照组, 说明 PMA 可能参与了 T2DM 的发生。与 Elalamy 等^[7]发现血小板-中性粒细胞聚合物和 PMA 在 DM 患者中的表达率显著高于正常对照组结果一致。

本文研究中 T2DM 伴血管病变组和无血管病变组 PMA 表达率差异有统计学意义($P = 0.015$), 提示 PMA 参与了 T2DM 慢性并发症的发生和发展。有报道^[8]认为, DM 有血管病变组 PMA 表达率的水平显著高于 DM 无血管病变组, 与本文研究结果一致。Shoji 等^[8]认为 PMA 增高可能与 DM 患者颈动脉粥样硬化的病理生理有关。本文研究通过绘制 ROC 曲线显示, PMA 的临界值为 24.72% 时, 其诊断 T2DM 血管病变的灵敏度为 71.9%, 诊断特异性为 73.8%, 曲线下面积为 0.754, 提示 PMA 表达率对 DM 患者体内血小板活化程度和有无血管并发症有一定诊断价值, 其机制可能是 PMA 形成可使血小板生成血小板源性生长因子及代谢产物增多, 同时上调血小板表面 CD41 (GP II b/III a) 的表达, 使血小板间同源聚合增加, 聚集血小板可堵塞受损血管。PMA 可释放单核细胞趋化蛋白、IL-8、IL-1、Mac-1 和组织因子, 使 TF 作为受体与因子 VII 和 VIIa 受体, 形成 TF/VIIa 复合物, 激活外源凝血系统。另外, PMA 可加强血小板、白细胞和内皮细胞间相互作用, 促进血小板和白细胞在局部损伤内皮细胞处聚集和激活, 促进附壁血栓形成和内膜炎症发展。聚集体还可形成微血栓阻塞微血管。同时, 微血栓可促进血小板活化, 介导白细胞黏附, T 细胞、巨噬细胞聚集, 在高血糖条件下激活蛋白激酶, 导致 DM 血管病变和病情加剧。

本文研究结果显示, PMA 与患者性别、年龄和 BMI 无明显相关性, 说明血小板活化程度不受年龄性别和 BMI 影响。PMA 与 RBC、HGB、HDL-CH 呈

负相关,与 WBC、GLU、HbA1c 呈正相关,说明血小板活化参与 T2DM 患者的糖和脂代谢紊乱,并与炎症反应、病情进展的严重程度有关。同时,检测 PMA 可全面反映 T2DM 患者血小板活化程度,对观察疗效、炎症控制和改善患者高凝状态有一定临床价值。

当 T2DM 血管病变区域超过 2 个时,PMA 表达率明显高于 DM 无血管病变组 (P 均 < 0.05),说明 PMA 参与血管病变发生和发展,PMA 增高与疾病严重程度有关。PMA 被认为是介导炎症和血栓的桥梁。炎症因子增高与 DM 发生发展有密切联系,随着 DM 病程进展,部分毛细血管处于破损或细小病变中,引起血小板和一些炎症细胞聚集和吸附,导致血栓和(或)微血栓形成。通过 PMA 测定,不仅可以反映体内血小板活化水平,而且可提供血管内斑块形成状态等,以了解患者血栓形成的趋势和病变的严重程度。

综上所述,T2DM 患者的 PMA 表达率明显升高,与 DM 血管病变程度具有相关性。PMA 的测定对 DM 血管病变的研究和临床应用有一定的意义,PMA 既可以反映 DM 患者血小板活化的程度,又可以作为早期诊断 DM 血管病变一项新的临床参考指标。

4 参考文献

1 Klinkhardt U, Harder S. Flow cytometric measurement of platelet -

leukocyte aggregates: a possible target to monitor platelet function?

Semin Thromb Hemost, 2005, 31: 400-403.

2 石晶,赵敏,于素云,等. 2 型糖尿病患者血小板参数变化与血管性病变的关系. 临床检验杂志, 2007, 25: 58-59.

3 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: Studies in baboons, human coronary intervention, and human acute myocardial infarction. Circulation, 2001, 104: 1533-1537.

4 Rinder HM, Bonan JL, Rinder CS, et al. Dynamics of leukocyte-platelet adhesion in whole blood. Blood, 1991, 78: 1730-1737.

5 Li N, Hu H, Lindqvist M, et al. Platelet-leukocyte cross talk in whole blood. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2000, 20: 2702-2708.

6 Ahn KC, Jun AJ, Pawar P, et al. Preferential binding of platelets to monocytes over neutrophils underflow. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 329: 345-355.

7 Elalamy I, Chakroun T, Gerotziakas GT, et al. Circulating platelet-leukocyte aggregates: A marker of microvascular injury in diabetic patients. Thromb Res, 2008, 121: 843-848.

8 Shoji T, Koyama H, Fukumoto S, et al. Platelet-monocyte aggregates are independently associated with occurrence of carotid plaques in type 2 diabetic patients. Atheroscler Thromb, 2005, 12: 344-345.

(收稿日期: 2012-04-20)

(本文编辑: 杨军)

消 息

致谢

《实用检验医师杂志》编辑部全体工作人员衷心感谢以下编委/专家对本刊出版的大力支持!(姓名以拼音为序)

陈 端 陈亚琼 郭微媛 胡晓波 焦连亭 李会强 李健开
刘树业 毛远丽 穆 红 曲 芬 孙长义 王瑞琳 魏殿军
袁 慧 张贺平 张 珩 张 曼 张 鹏 郑淑芳 郑永刚