

• 临床检验研究 •

急性脑梗死患者外周血血小板糖蛋白 I b α 及血管性血友病因子血浆水平的研究

欧阳红梅, 张 芹 Δ , 翟 明, 蒋雅先, 朱红艳, 张 蕾, 甸自金

(昆明医学院附属昆华医院/云南省第一人民医院检验科, 昆明 650032)

摘要:目的 探讨急性脑梗死(ACI)患者血小板膜糖蛋白 I b α (GP I b α)表达与血管性血友病因子(vWF)血浆水平的变化及其与疾病临床特征的关系。方法 采用流式细胞术和免疫比浊法分别检测 119 例 ACI 患者与 117 例健康对照者 GP I b α 的表达水平和 vWF 血浆水平,对不同类型 ACI 患者及对照组进行比较分析。结果 ACI 患者外周血 GP I b α 的表达明显低于对照组, vWF 的血浆水平明显高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$);同时合并高血压和糖尿病的 ACI 患者外周血 GP I b α 的表达明显高于单纯 ACI 患者($P < 0.05$)。既往有 ACI 病史患者外周血 GP I b α 的表达及 vWF 的水平与既往无 ACI 病史组相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。梗死面积大小和是否合并高血压对 ACI 患者 GP I b α 及 vWF 的血浆水平也无显著影响($P > 0.05$)。结论 外周血 GP I b α 的表达和 vWF 的血浆水平可用于辅助诊断 ACI;同时合并糖尿病和高血压对 ACI 患者外周血 GP I b α 的表达水平有显著影响。

关键词:脑梗死; 血小板膜糖蛋白类; 流式细胞术; 散射测浊法和比浊法; 血管性血友病因子

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.15.011

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)15-1682-02

Study on the plasma levels of platelet membrane glycoprotein I b α and von Willebrand factor in patients with acute cerebral infarction

Ouyang Hongmei, Zhang Qin Δ , Zhai Ming, Jiang Yaxian, Zhu Hongyan, Zhang Lei, Dian Zijin

(Affiliated Kunhua Hospital of Kunming Medical College/the First People's Hospital of Yunnan Province, Kunming, Yunnan 650032, China)

Abstract: Objective To explore the expression of platelet membrane glycoprotein (GP) I b α and von Willebrand factor (vWF) in patients with acute cerebral infarction (ACI) and their relationship with the clinical feature of ACI. **Methods** 119 patients with ACI and 117 healthy volunteers were enrolled as clinical group and control group. The concentrations of GP I b α and vWF were measured by flowcytometry and immunoturbidimetry respectively. **Results** Compared to control group, the expression of GP I b α was significant lower and the concentration of vWF was much higher in clinical group ($P < 0.05$). But there were no significant differences between the patients with history of ACI and the patients without history of ACI ($P > 0.05$). The complications of hypertension and diabetes had significant influence on the level of GP I b α in patients with ACI. The area of infarction and hypertension complication had no significant influence on the level of GP I b α and vWF in patients with ACI. **Conclusion** The plasma level of GP I b α and vWF might be helpful for the auxiliary diagnosis of ACI. The complications of hypertension and diabetes could have significant influence on plasma level of GP I b α in patients with ACI.

Key words: brain infarction; platelet membrane glycoproteins; flow cytometry; nephelometry and turbidimetry; von willebrand factor

急性脑梗死(ACI)通常因脑动脉的主干或其皮质下有动脉粥样硬化及各类动脉炎性血管病变导致血管腔狭窄或闭塞,进而形成血栓所致。在 ACI 的发生和发展过程中血小板活化及血栓形成是极其重要的环节。研究血栓标志物及血小板活化相关指标,分析它们与 ACI 的关系,对 ACI 的诊断、治疗、预后判断及预防具有重要意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2007 年 1 月至 2009 年 9 月在本院神经内科就诊的 ACI 患者 119 例,其中男 56 例,女 63 例;年龄 35~86 岁,平均(65.4 \pm 13.45)岁,符合全国第 4 届脑血管病会议修订的 ACI 诊断标准^[1],并在发病 24 h 内入院。全部病例均经头颅 CT 或 MRI 证实,排除急性心肌梗死、外周血管病、自身免疫性疾病、严重感染、肝肾功能障碍、妊娠、妇女月经期、口服抗凝剂或止血药。对照组为同期 117 例汉族健康体检者,其中男

51 例,女 66 例;年龄 33~84 岁,平均(54 \pm 10)岁,均无心、脑、肝、肾疾病,无糖尿病、甲状腺病史,近期无感染,检查前 10 d 内均未用阿司匹林、双嘧达莫、肝素等影响血小板功能药。2 组入选人群性别、年龄差异无统计学意义($P > 0.05$)。

依据《脑卒中的分型分期治疗建议草案》^[2],将 ACI 患者分为大面积脑梗死、腔隙性脑梗死和其他脑梗死(包括中梗死、小梗死和多发性脑梗死)3 组,同时按并发症和既往病史将 ACI 患者分为 ACI 合并高血压组、ACI 合并高血压及糖尿病组、单纯 ACI 组、既往有 ACI 史组及既往无 ACI 史组。

1.2 血小板膜糖蛋白 I b α (GP I b α)表达水平测定 采用流式细胞术(FCM)进行 GP I b α 表达水平的检测,检测仪器为美国 Beckman Coulter EPICS-XL 型流式细胞分析仪。EDTA-K₂ 抗凝静脉血 2 mL 静置 1 h 获得上层血小板血浆,以 1% 多聚甲醛固定后,用异硫氰酸荧光素(FITC)标记的 GP I b α 单克隆

Δ 通讯作者, E-mail: zhangqin85@hotmail.com.

抗体(GP I b α -FITC)室温孵育 20 min 后上机检测。采用流式细胞分析仪计数 5 000 个血小板测定 GP I b α 的表达式。

1.3 血浆血管性血友病因子(vWF)水平测定 采用免疫比浊法进行血浆 vWF 水平检测,检测仪器为法国 STAGO 公司的全自动血凝仪 STAGO-STA,试剂来自 STAGO 公司。采集枸橼酸钠抗凝静脉血 2.7 mL,2 500 r/m 离心 15 min 获得血小板血浆后上机检测。

1.4 统计学处理 采用 SPSS11.5 统计软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组计量资料均数的比较采用独立样本 *t* 检验,多组比较采用单因素方差分析,以 $\alpha=0.05$ 作为检验水准。

2 结 果

2.1 ACI 患者与对照组外周血 GP I b α 和 vWF 水平的比较

ACI 患者外周血 GP I b α 水平显著低于对照组,vWF 水平显著高于对照组水平,差异均有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

表 1 ACI 患者组与对照组外周血 GP I b α 和 vWF 水平比较($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	<i>n</i>	GP I b α	vWF
ACI 患者组	119	85.05 \pm 14.90	200.20 \pm 96.03
对照组	117	94.09 \pm 4.45	114.15 \pm 29.51

2.2 不同类型 ACI 患者外周血 GP I b α 和 vWF 水平比较 不同类型 ACI 患者间外周血 GP I b α 和 vWF 水平无统计学意义差异,各组间比较 *P* 值均大于 0.05,见表 2。

表 2 不同类型 ACI 患者外周血 GP I b α 和 vWF 水平($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	<i>n</i>	GP I b α	vWF
大面积脑梗死组	32	83.85 \pm 15.36	191.81 \pm 96.46
腔隙性脑梗死组	43	86.33 \pm 13.14	192.74 \pm 95.22
其他脑梗死组	44	84.09 \pm 17.11	216.23 \pm 98.00

2.3 既往有 ACI 史和无 ACI 史的患者外周血 GPIb 和 vWF 水平比较 既往是否有 ACI 病史对 ACI 患者外周血 GP I b α 和 vWF 水平无显著影响,2 组 GP I b α 和 vWF 水平比较无统计学意义差异($P > 0.05$),见表 3。

表 3 既往 ACI 史对外周血 GP I b α 和 vWF 水平的影响($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	<i>n</i>	GP I b α	vWF
既往有 ACI 史组	25	82.36 \pm 17.72	170.80 \pm 82.84
既往无 ACI 史组	94	85.77 \pm 14.10	208.04 \pm 98.26
对照组	117	94.09 \pm 4.45	114.15 \pm 29.51

2.4 高血压与糖尿病对 ACI 患者外周血 GP I b α 和 vWF 水平的影响 是否合并高血压对 ACI 患者外周血 GP I b α 和 vWF 水平无显著影响($P > 0.05$)。由于所收集的病例中患有糖尿病的患者同时均患有高血压,因此无法单独比较仅合并糖尿病对外周血 GP I b α 和 vWF 水平的影响。由统计数据看出,同时合并有糖尿病和高血压的 ACI 患者外周血 GP I b α 水平高于单纯 ACI 患者($P < 0.05$),但是对 vWF 血浆水平无显著影响($P > 0.05$)。*P* 值均为与单纯 ACI 组对比较结果,见表 4。

表 4 合并高血压病与糖尿病对外周血 GP I b α 和 vWF 水平的影响($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	<i>n</i>	GP I b α	vWF
合并高血压组	49	85.22 \pm 18.63	195.03 \pm 98.14
合并高血压及糖尿病组	24	89.35 \pm 11.00	181.84 \pm 71.89
单纯 ACI 组	46	2.66 \pm 11.72	215.08 \pm 104.37

3 讨 论

FCM 具有速度快、精密度高、准确性好等优点。采用 FCM 检测 GP I b α 与以往的放射免疫法相比具有操作简便、干扰少、无放射污染等优点。

GP I b α 是血小板表面一种重要的糖蛋白,vWF 是由血管内皮细胞和巨噬细胞合成的一种多聚糖蛋白。vWF 是 GP I b α 的配体,两者结合后可参与血小板的黏附反应,是血栓形成的一个重要环节。本研究显示,ACI 患者外周血 GP I b α 水平明显低于对照组,提示 GP I b α 可能参与了缺血性脑损伤的病理过程,因此笔者认为 GP I b α 可以作为监测血小板活化程度的指标,对指导临床使用抗血小板药物和防治 ACI 有重要意义。同时,ACI 患者血浆 vWF 水平明显高于对照组,说明 ACI 患者体内存在着内皮功能损害及血小板的活化,且在 ACI 的发生、发展过程中具有重要作用。

ACI 有多种不同的分型方式^[3-4]。为进一步探讨外周血 GP I b α 及 vWF 表达水平与 ACI 的关系,本研究依据并发症不同、有无既往史、梗死面积分型等将 ACI 患者分组,研究其 GP I b α 及 vWF 表达水平的差异。研究发现 ACI 的类型对外周血 GP I b α 及 vWF 水平无显著影响。这与之前的部分报道相符^[5-6],但也有一些研究结果表明 ACI 的类型与外周血 GP I b α 表达及 vWF 血浆水平存在相关性^[7-8]。这种差异可能与各研究中所选取的研究对象不尽相同有关,也可能是由于分型标准不同造成的。不同类型 ACI 的病理生理、临床表现、并发症、临床疗效和预后都有所不同。因此对 ACI 进行准确、统一的分类和诊断,从而进行个体化治疗,对提高 ACI 疗效和改善预后具有重要意义。本研究显示,合并高血压对 ACI 患者外周血 GP I b α 和 vWF 的血浆水平无显著影响,但是不能排除患者长期治疗的影响。而同时合并高血压和糖尿病的 ACI 患者外周血 GP I b α 水平显著高于单纯 ACI 患者,表明高血压和糖尿病的协同作用显著影响了 ACI 患者外周血中血小板的活化程度。ACI 患者 GP I b α 和 vWF 血浆水平变化可能与其基因多态性相关^[9-13],其详细机制尚需进一步研究。

参考文献

[1] 全国第 4 次脑血管病会议. 脑卒中患者临床神经功能缺损程度评分标准[J]. 中华神经科杂志,1996,29(6):381.
 [2] 黄如训,郭玉璞. 脑卒中的分型分期治疗建议草案[J]. 临床神经病学杂志,2001,14(1):60-62.
 [3] 北京神经病学学术沙龙. BNC 脑血管病临床指南[M]. 北京:人民卫生出版社,2002:2-3.
 [4] 曹理璞. 急性脑梗死辩证分型与梗死灶面积、数量的关系[J]. 江苏中医药,2005,26(11):15-16.
 [5] Bamford J, Sandercock P, Dennis M, et al. Classification and natural history of clinically identifiable subtypes of cerebral infarction [J]. Lancet,1991,337(4):1521-1526.
 [6] 马付坚. 急性脑梗死 vWF、P-选择素的作用研究(下转第 1685 页)

表 1 ACI 危险因素分析

自变量	β	SE	Wald	P	Exp(β)	Exp(β) 的 95%CI	
						低值	高值
高血压	1.088	0.317	11.779	0.001	2.426	1.368	4.303
GP I b α	-1.202	0.624	3.708	0.054	0.301	0.088	1.022

β : 偏回归系数; SE: 偏回归系数的标准误; Wald: 检验统计量; Exp(β): 优势比 OR 值; 95%CI: 优势比 OR 的 95% 置信区间。

3 讨论

GP I b 是血小板膜表面的主要糖蛋白之一, 它由 2 个亚单位即 GP I b α 和 GP I b β 以二硫键连接而成, 所构成的 GP I b 异二聚体与 GPIX、GPV 之间在非共价键的作用下又以 2:2:1 的比例形成复合物, 存在于血小板表面。静止状态下, GP I b α 的细胞质区通过肌动蛋白连接蛋白的 C 末端与膜下肌动蛋白细丝相接, 具有稳定的三联结构。经凝血酶、二磷酸腺苷(ADP)以及胶原等活化后, 血小板形态与结构发生一系列变化, GP I b 及 GPIX 向开放管道系统转位而在血小板表面表达降低, 并失去与表面抗体的亲和性, 此时血小板表面 GP I b α 分子的种类、数量、分布和构型等出现显著变化^[2-3]。发生 ACI 时在氧自由基、凝血酶原等刺激下血小板被激活, GP I b α 迅速从膜表面转移到中央管中, 导致膜表面含量减少。有研究表明, 血小板 GP I b α 表达的减少促进血小板的聚集与释放, 是体内血小板活化的敏感指标^[4]。因此, 检测血小板膜上 GP I b α 水平的变化可能对血栓性疾病的早期诊断起到积极的作用。

由于血小板体积很小, 检测受到一定的限制, 以往的研究中常采用放射免疫标记单抗的方法, 其主要缺点是操作繁琐, 有放射性污染物产生, 并易受其他细胞的干扰。FCM 具有快速、简便、灵敏度高的优点, 可以非常灵敏地检测到活化 GP 分子的变化^[5]。

本研究发现, GP I b α 在 ACI 组表达水平较健康对照组明显下降, 这是否与编码它的基因多态性相关尚无定论^[6-9]。但 GP I b α 可以作为监测血小板活化程度的指标是毋庸置疑的。同时 Logistic 回归分析显示, GP I b α 表达降低是 ACI 的独立危险因素。因此, 检测 GP I b α 对临床防治 ACI 具有重要意义。

参考文献

[1] 陈清棠. 脑卒中患者临床神经功能缺损程度评分标准(1995)[J].

(上接第 1683 页)

[J]. 脑与神经疾病杂志, 2002, 10(3): 163-164.
 [7] 高宝山, 白新学, 金点石, 等. 脑梗死患者血浆血管性血友病因子等三种因子的测定及其临床意义[J]. 中国脑血管病杂志, 2006, 3(8): 365-368.
 [8] 陈军, 孙恒芳, 张旭东. 急性脑梗死与活化血小板因子相关性的研究[J]. 中国社区医师, 2007, 21(3): 209-210.
 [9] 张健, 欧阳红梅, 翟明, 等. 某地区急性缺血性脑梗死患者 GP I b α 基因 VNTR 多态性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(3): 322-326
 [10] Afshar-Kharghan V, Matijevic-Aleksic N, Ahn C, et al. The variable number of tandem repeat polymorphism of platelet glycoprotein Ibalpha and risk of coronary heart disease[J]. Blood, 2004,

中华神经科杂志, 1996, 29(6): 381-383.
 [2] Shimizu M, Kohara S, Yamamoto M, et al. Significant relationship between platelet activation and intra-media thickness of the carotid artery in patients with ischemic cerebrovascular disease[J]. Thromb Res, 2006, 117(6): 647-652.
 [3] Yip HK, Liou CW, Chang HW, et al. Link between platelet activity and outcomes after an ischemic stroke[J]. Cerebrovasc Dis, 2005, 20(2): 120-128.
 [4] Michelson AD. Flow cytometry; a clinical test of platelet function [J]. Blood, 1996, 87(12): 4925-4936.
 [5] Beltrame MP, Malvezzi M, Zanis J, et al. Flow cytometry as a tool in the diagnosis of Bernard-Soulier syndrome in Brazilian patients [J]. Platelets, 2009, 20(4): 229-234.
 [6] 张健, 欧阳红梅, 翟明, 等. 某地区急性缺血性脑梗死患者 GP I b α 基因 VNTR 多态性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(3): 322-326.
 [7] Afshar-Kharghan V, Matijevic-Aleksic N, Ahn C, et al. The variable number of tandem repeat polymorphism of platelet glycoprotein Ibalpha and risk of coronary heart disease[J]. Blood, 2004, 103(3): 963-965.
 [8] Sucker C, Schmitz M, Hetzel GR, et al. Are prothrombotic variants of platelet glycoprotein receptor polymorphisms involved in the pathogenesis of thrombotic microangiopathies? [J]. Clin Appl Thromb Hemost, 2009, 15(4): 402-407.
 [9] Pruissen DM, Kappelle LJ, Rosendaal FR, et al. Prothrombotic genetic variants and atherosclerosis in patients with cerebral ischemia of arterial origin[J]. Atherosclerosis, 2009, 204(1): 191-195.

(收稿日期: 2011-06-10)

103(3): 963-965.
 [11] Sucker C, Schmitz M, Hetzel GR, et al. Are prothrombotic variants of platelet glycoprotein receptor polymorphisms involved in the pathogenesis of thrombotic microangiopathies? [J]. Clin Appl Thromb Hemost, 2009, 15(4): 402-407.
 [12] Shimizu M, Kohara S, Yamamoto M, et al. Significant relationship between platelet activation and intra-media thickness of the carotid artery in patients with ischemic cerebrovascular disease[J]. Thromb Res, 2006, 117(6): 647-652.
 [13] 赵新和, 薛秀美, 吕明录, 等. vWF 基因多态性与冠心病的相关性研究[J]. 中华现代内科学杂志, 2005, 2(9): 818-819.

(收稿日期: 2011-06-10)