

· 论 著 ·

慢性肾功能不全对巨核细胞系统造血的影响*

赵俊暎¹, 袁胜男², 常玉荣¹, 崔秀凤¹, 陈乃耀¹, 王沂¹, 王洋³, 石峻^{1△}

(1. 华北理工大学附属医院检验科, 河北唐山 063000; 2. 华北理工大学临床医学院, 河北唐山 063000; 3. 华北理工大学生命科学学院, 河北唐山 063000)

摘要:目的 探讨慢性肾功能不全(CRF)患者巨核细胞、血小板计数和形态学变化状况, 评价 CRF 对巨核系统造血的影响, 为临床诊断、治疗提供实验室依据。方法 将 134 例 CRF 患者分为肾功能不全代偿期、肾功能不全失代偿期和尿毒症期, 与健康对照组进行血小板、巨核细胞数及巨核细胞分类结果比较。同时观察比较血小板和巨核细胞形态学改变。结果 CRF 各组患者血小板数、巨核细胞数均较健康对照组低, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 产血小板巨核细胞数量均较健康对照组低, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 异常巨核细胞百分比比较健康对照组明显升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 异形血小板百分比比较健康对照组明显升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 CRF 患者的血小板及巨核细胞分化、增殖、成熟障碍, 表现为无效造血的血液学改变; 巨核细胞、血小板的改变随肾功能减退而加剧, 与临床分期预后相关, 可作为 CRF 骨髓象的指标; 血小板参数检测是间接监测因血小板因素引起出血及凝血机制不良的一种快速简便的方法。

关键词: 慢性肾功能不全; 巨核细胞; 血小板; 造血功能

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.12.008

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)12-1612-04

The effect of chronic renal failure to organism haematogenesis of megakaryocyte serial*

ZHAO Junjian¹, YUAN Shengnan², CHANG Yurong¹, CUI Xiufeng¹, CHEN Naiyao¹,
WANG Yi¹, WANG Yang³, SHI Jun^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory, the Affiliated Hospital of North China University of Science and Technology, Tangshan, Hebei 063000, China; 2. Clinic Medical College, North China University of Science and Technology, Tangshan, Hebei 063000, China; 3. College of Life Science, North China University of Science and Technology, Tangshan, Hebei 063000, China)

Abstract: Objective To investigate the changes of megakaryocyte and platelet in patients with chronic renal failure (CRF). **Methods** The platelet, numbers of megakaryocyte and megakaryocytic classification in 134 CRF patients were compared with healthy controls. **Results** The number of megakaryocyte, platelet-forming megakaryocyte and platelets in patients with CRF were significant lower than those in the healthy group ($P < 0.05$). Abnormal megakaryocyte and the percentage of abnormal platelet were significant higher than those in the healthy group ($P < 0.05$). **Conclusion** The effect of CRF to organism haematogenesis is versatility. The cell differentiation, proliferation, maturation of platelet and megakaryocyte reflect hematology transform of ineffective hematopoiesis, both on quantity and quality. The changes of platelet and megakaryocyte decrease following renal function impairment. They are correlated with clinical stages and prognosis, could become the fine indexes of CRF bone marrow. Meanwhile the parameters of platelet is a quickly and convenient index to haemorrhage and defect in clotting mechanism in CRF patients.

Key words: chronic renal failure; megakaryocyte; platelet; haematogenesis function

慢性肾功能不全(CRF)为各种原因造成的慢性进行性肾实质损伤, 慢性尿毒症可对血液细胞组成成分造成影响, 并以肾性贫血最为常见, CRF 患者常常由于促红细胞生成素(EPO)生成不良而导致贫血的发生, 据报道 CRF 患者贫血患病率为 92.7%~98.0%^[1]。临床上 CRF 患者易反复发生出血并发症, 其中血小板的异常也是一个重要因素。血小板来源于骨髓巨核细胞系统, 巨核细胞产血小板功能好坏决定了血小板产生是否正常。而 EPO 作为人体肾脏在贫血和低压缺氧状态下分泌的激素样物质, 从造血细胞的发生及与造血因子的相关性来看, 在 CRF 患者 EPO 水平减低的内环境中, 骨髓巨核细胞系统造血及血小板的生成功能有何改变, 是临床工作者密

切关注的问题。本文对不同发病阶段的 CRF 患者进行外周血血小板、骨髓巨核细胞的数量和质量的检测和观察, 旨在探讨 CRF 骨髓巨核细胞系统造血功能改变与病情、出血的相关性及临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 根据我国 CRF 的分期方法及诊断标准确诊的 CRF 患者共 134 例纳入研究组, 均为本院 2009 年 1 月至 2015 年 1 月收治的 CRF 患者, 所有病例均未经透析或重组促红细胞生成素(rHuEPO)治疗。研究组中男 86 例, 女 48 例; 年龄 29~51 岁, 平均(36.1±5.3)岁; 分为肾功能不全代偿期 52 例, 肾功能不全失代偿期 35 例, 尿毒症期 47 例。造血干细

* 基金项目: 河北省唐山市科学技术研究与发展计划指令项目(12150222B-14)。

作者简介: 赵俊暎, 男, 主管检验师, 主要从事血液学检验临床和教学研究。△ 通讯作者, E-mail: mytsmyts@126.com。

胞供者体检健康者 20 例纳入健康对照组,其中男 15 例,女 5 例;年龄 31~54 岁,平均(35.1±4.8)岁。两组性别、年龄比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 诊断标准 CRF 诊断标准^[1]:肾功能不全代偿期血清肌酐 133~180 $\mu\text{mol/L}$;肾功能不全失代偿期血清肌酐 180~442 $\mu\text{mol/L}$;尿毒症期血清肌酐 451~717 $\mu\text{mol/L}$ 。

1.3 方法

1.3.1 骨髓涂片制作 由临床专科医生进行穿刺涂片,于髂后(前)上棘常规抽取骨髓液 0.3 mL,制成能区分头、体、尾的涂片(2.0 cm×3.5 cm),室温干燥,常规方法进行瑞氏吉姆萨染色(珠海贝索),糖原染色(珠海贝索)、小巨核酶标染色(协和干细胞公司),操作方法按说明书,各染色 2 张。

1.3.2 镜检与形态学观察 由细胞学专职检验人员进行细胞形态学观察。对全片巨核细胞进行计数,于体尾交接处油镜观察 25 个巨核细胞(不足增加涂片观察),将其分为原幼巨核细胞、颗粒巨核细胞、产血小板巨核细胞和裸核巨核细胞 4 型,分类标准依据《血液细胞基础学》^[2],计算各类细胞所占百分比,并对巨核细胞胞体大小、分叶、空泡、逸核、多核巨核细胞等进行观察。

1.3.3 外周血血小板检测 采用法国 ABX PENTRA 80 全自动血细胞分析仪进行血常规检测,使用 ABX 原装试剂,血细胞分析仪定期校准,质控结果在控。全部病例均进行血小板计数(PLT)、平均血小板体积(MPV)、血小板体积分布宽度(PDW)检测及血小板形态观察,计数异形血小板比率。

1.3.4 肾功能检查 采用贝克曼 AU5800 全自动生化分析仪检测血清肌酐水平,血清肌酐检测使用贝克曼原装试剂,生化分析仪每日均经定标校准,质控结果在控。

1.4 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。对数据进行正态性检验,对正态分布的计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,两两比较采用 t 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CRF 各期巨核细胞及分类 CRF 患者各期巨核细胞数量、产血小板巨核细胞均较健康对照组降低,差异有统计学意义($P<0.05$);巨核细胞减少程度从高到低依次为:尿毒症期、肾功能不全失代偿期、肾功能不全代偿期,3 期患者间巨核细胞数、产血小板巨核细胞比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。各组肾功能不全患者巨核细胞数量及分类情况,见表 1。

表 1 各组肾功能不全患者巨核细胞数量及分类情况($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	巨核细胞数(<i>n</i>)	原幼巨核细胞(%)	颗粒巨核细胞(%)	产血小板巨核细胞(%)	裸核巨核细胞(%)
研究组	134					
肾功能不全代偿期	52	102.5±51.5*#△	20.5±10.2*#△	45.2±12.1*#△	16.5±12.1*#△	17.4±2.2*#△
肾功能不全失代偿期	35	82.5±45.5*#	26.9±13.8*#	43.0±13.9*#	12.3±12.8*#	17.9±6.6*#
尿毒症期	47	62.5±35.5*	34.9±13.8*	37.0±13.9*	8.3±12.8*	19.9±6.5*
健康对照组	20	114.0±40.6	19.9±10.6	49.1±13.3	18.5±10.7	12.0±5.5

注:与健康对照组比较,* $P<0.05$;与尿毒症期比较,# $P<0.05$;与肾功能不全失代偿期比较,△ $P<0.05$ 。

2.2 CRF 患者骨髓巨核细胞形态学改变 健康对照组骨髓内的巨核细胞主要为正常巨核,偶见异形巨核。CRF 各期异形巨核细胞数量、逸核巨核细胞、多核巨核细胞均较健康对照组增多,差异有统计学意义($P<0.05$);异形巨核细胞增多程度由高到低依次为:尿毒症期、肾功能不全失代偿期、肾功能不全代偿期,3 期间比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。CRF 患者骨髓巨核细胞呈大小不均,部分呈退行性变及核分叶过多,可见到逸核巨核细胞、多核巨核细胞,胞浆内可见空泡变性。见图 1~3。各组肾功能不全患者异形巨核细胞数量及分类情况,见表 2。

表 2 各组肾功能不全患者异形巨核细胞数量及分类情况($\bar{x}\pm s, \%$)

组别	<i>n</i>	异形巨核细胞		
		数量	逸核巨核细胞	多核巨核细胞
研究组	134			
肾功能不全代偿期	52	9.4±2.6*#△	3.3±0.2*#△	5.3±0.1*#△
肾功能不全失代偿期	35	12.6±1.3*#	6.4±1.2*#	8.3±1.2*#
尿毒症期	47	15.6±1.1*	8.4±1.3*	12.5±1.2*
健康对照组	20	1.5±0.4	1.2±0.4	2.6±0.4

注:与健康对照组比较,* $P<0.05$;与尿毒症期比较,# $P<0.05$;与肾功能不全失代偿期比较,△ $P<0.05$ 。

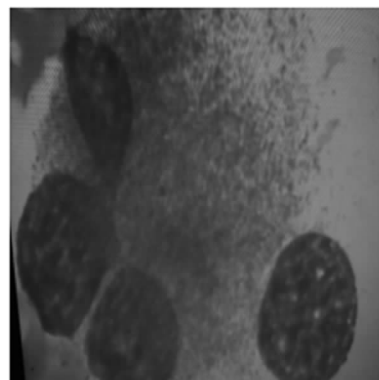


图 1 巨核细胞逸核(瑞氏吉姆萨染色,×1 000)

2.3 CRF 外周血血小板改变 (1)肾功能不全代偿期、肾功能不全失代偿期、尿毒症期血小板减少发生率分别为 23.0%、28.6%、43.5%。(2)CRF 患者各期 PLT 减少与血清肌酐升高呈负相关(r 分别为 0.672、0.762、0.823),PLT 减少随病情进展而加重。(3)CRF 各期 PLT 均较健康对照组降低,差异有统计学意义($P<0.05$);血小板减少程度从高到低依次为:尿毒症期、肾功能不全失代偿期、肾功能不全代偿期,3 期间 PLT 比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。(4)CRF 各期血小板参数 MPV、PDW 均较健康对照组降低,差异有统计学意义($P<0.05$);MPV、PDW 减少程度由高到低依次为:尿毒症期、

肾功能不全失代偿期、肾功能不全代偿期,3 期间血小板参数 MPV、PDW 比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。CRF 患者各期均可见血小板大小不均,部分血小板体积小,并可见颗

粒减少等异形血小板。异形血小板检出的比例随病情进展而增多,差异有统计学意义($P < 0.05$)。各组肾功能不全患者 PLT 及相关参数与血清肌酐的比较,见表 3。

表 3 各组肾功能不全患者 PLT 及相关参数与血清肌酐的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PLT($\times 10^9/L$)	MPV(fL)	PDW(%)	异形血小板(%)	血清肌酐($\mu\text{mol/L}$)
研究组	134					
肾功能不全代偿期	52	128.4 \pm 8.3* \blacktriangle	9.8 \pm 2.5 \blacktriangle	15.5 \pm 2.0 \blacktriangle	6.3 \pm 0.1* \blacktriangle	167.1 \pm 2.3* \blacktriangle
肾功能不全失代偿期	35	102.5 \pm 1.3* \triangle	9.4 \pm 1.3* \triangle	14.3 \pm 1.2* \triangle	9.8 \pm 1.1* \triangle	342.6 \pm 1.3* \triangle
尿毒症期	47	82.5 \pm 1.5*	9.2 \pm 1.2*	13.6 \pm 1.3*	13.8 \pm 1.2*	652.5 \pm 1.3*
健康对照组	20	160.4 \pm 38.6	10.0 \pm 0.5	15.8 \pm 0.5	1.5 \pm 0.2	51.3 \pm 0.4

注:与健康对照组比较,* $P < 0.05$;与肾功能不全失代偿期比较, $\blacktriangle P < 0.05$;与尿毒症期比较, $\triangle P < 0.05$ 。

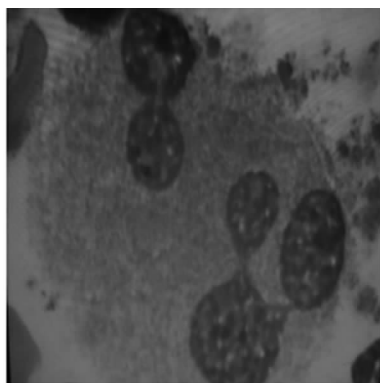


图 2 巨核细胞胞核极性状逸核偏向两端(瑞氏吉姆萨染色, $\times 1\ 000$)

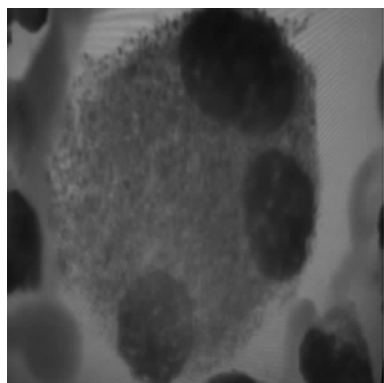


图 3 多核巨核细胞(瑞氏吉姆萨染色, $\times 1\ 000$)

3 讨 论

巨核细胞主要通过合成和表达血小板膜的黏附蛋白参与免疫应答,也可作为炎性因子的一个来源参与免疫网络,同时多个细胞因子也具有一个自分泌的作用,从而影响巨核细胞-血小板的生长调控,从而造成形态学上的改变^[3]。通过回顾性分析 CRF 患者骨髓象,发现巨核细胞异形性明显。本研究中 CRF 患者易见大而规则的逸核巨核细胞,可能与 CRF 时免疫异常使血小板破坏或消耗增加,从而使巨核细胞代偿性生成有关。多核巨核细胞的增多与巨核细胞病态增生有关。研究同时观察到巨核细胞有细胞核分叶过多现象,核形呈散开状,胞核移向细胞周边或高度重叠在一起,呈不规则性分布。巨核细胞胞体有增大现象,呈细胞核增大程度较细胞质明显。由于生物毒素等有害因素的作用,CRF 患者巨核细胞也易见空泡

变性。另外,CRF 程度对巨核细胞数量及形态学有着重要的相关性,症状重的患者巨核细胞改变比症状轻的患者要明显,同时出现逸核和多核型巨核细胞的概率也大,对患者病情及预后判断具有一定提示作用。

血小板参数作为疾病诊断鉴别诊断的指标已越来越受到临床重视。PLT 反映血小板生成和衰亡的动态平衡;MPV 是反映骨髓巨核细胞增生、代谢及血小板生成的参数,与血小板的超微结构、功能状态密切相关,体积大的血小板成熟性低,含更多的活性物质,代谢更活跃,黏附、聚集力较强;PDW 可客观、定量地反映血小板异质性程度,是评价血小板再生率的良好指标。本研究显示肾功能不全期血小板减少率为 51.6%;尿毒症期为 43.5%,比文献[1]报道数据高,并随肾功能减退血小板减少加剧,是 CRF 早期无效造血的特征。CRF 患者的血小板减少,常被慢性肾病、贫血所掩盖,也是易被临床忽视的早期诊断 CRF 的特征之一。

文献[4]报道 CRF 患者在透析前,血液中小而圆的且结构不完整的崩溃型血小板比例明显升高,致使血栓中血小板相互穿插连接不牢,存活时间缩短,使血小板在凝血过程中无法正常行使生理功能。本研究显示反映血小板功能和质量的指标 MPV 降低,PDW 减小,表明慢性 CRF 患者均一性的小血小板比率增加,提示 CRF 患者并发出血的危险性增加。

文献[5]报道 CRF 患者 EPO 生成不良,从造血细胞的发生及与造血因子的相关性来看,EPO 不仅能够作用于红系爆式集落形成单位(BUF-E)和红系集落形成单位(CFU-E),促进其分化、增殖和成熟^[6],而且也作用于巨核细胞集落形成单位(CFU-Meg,巨核细胞的细胞因子之一)^[7],具有促进 CFU-E、巨核细胞分化和增殖的作用^[8],作为血小板前驱细胞的巨核细胞不断产生,保证了血小板的生成。同时也有研究表明促血小板生成素(TPO)具有明确的促血小板生成作用,人类 TPOcDNA 由 332 个氨基酸残基构成,氨基端结构域由 163 个氨基酸残基构成,其中 23%与 EPO 同源,是其主要活性部位^[9]。

CRF 患者血清中含有抑制血细胞生成的物质,如聚胺、精胺、极性脂质和中分子物质等,使骨髓造血微环境损伤,导致造血干细胞定居、存活、增殖、分化及成熟障碍,又间接损伤粒、红、巨核系祖细胞、幼稚细胞及成熟细胞,抑制了骨髓巨核细胞发育,造成血小板代谢紊乱、膜稳定性下降,使外周血血小板进一步减少和畸变。本研究中 CRF 患者骨髓巨核细胞不仅数量减少,也有明显的异形性改变,提示 CRF 各 (下转第 1618 页)

部感染亚组为 49.5%，与 hs-CRP、WBC 和 NEUT 有较好的相关性($P < 0.05$)；其他感染亚组为 51.9%，与 WBC 和 NEUT 有很好的相关性($P < 0.05$)。血培养阳性率在非感染组仅为 16.7%，但与 PCT、WBC 和 NEUT 有较好的相关性($P < 0.05$)，这可能是由于部分非感染患者出现全身炎性反应并引起了血流感染所致。

本研究结果还显示，对于感染性疾病，病情越重者越可能引起血流感染，造成血培养阳性率和 PCT 均值增高。肺部感染亚组的重症肺炎各项指标均处于很高水平，与中症和轻症肺炎比较，差异有统计学意义($P < 0.05$)；除 PCT 阳性率在 3 个小组均较高外，其他指标阳性率是重症肺炎高于中症和轻症肺炎。其他感染亚组的尿路感染 PCT 明显升高，与术后感染和外伤感染比较，差异有统计学意义($P < 0.05$)；而外伤感染 WBC 明显升高，其阳性率明显高于尿路感染($P < 0.05$)。肺部感染亚组和其他感染亚组 4 项炎性指标阳性率在各小组大多高于血培养，但与血培养比较，仅 WBC 和 NEUT 在个别小组有较好相关性($P < 0.05$)。对于非感染性疾病来说，也是病情越重者越可能引起血流感染，出现血培养阳性率和 PCT 水平升高，且各项指标阳性检出率表达不一。糖尿病患者 PCT 水平有所升高，hs-CRP 以恶性肿瘤患者最高；PCT 阳性率在心血管病高于恶性肿瘤，hs-CRP 和 WBC 在恶性肿瘤高于另外 2 个小组。非感染组几项炎性指标阳性率在各小组大多也高于血培养，3 个小组的血培养阳性率均低，仅心血管病的 NEUT 和恶性肿瘤的 PCT 与血培养有较好相关性($P < 0.05$)。

综上所述，PCT 等相关炎性指标检测与血培养可作为本文所列疾病的辅助诊断指标，为临床上这些疾病是否使用抗菌药物提供客观依据。

参考文献

[1] 李绍持. 血清降钙素原在鉴别诊断细菌性感染和病毒性

(上接第 1614 页)

阶段巨核细胞失去 EPO 的保护，而遭受尿毒症毒素直接损伤导致其分化、增殖、成熟障碍表现为无效造血的血液学改变。本研究中发现巨核细胞、血小板的改变随肾功能减退而加剧，在一定程度上与临床分期预后相关，能及时、快速地为临床提供诊疗意见，可作为 CRF 骨髓象的指标；同时血细胞分析仪提供的血小板参数检测方法简便，报告快速，是监测 CRF 患者出血、凝血值得推荐的方法。

参考文献

[1] 葛均波, 徐永健. 内科学[M]. 8 版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 543-545.
 [2] 王凤计, 王鸿利. 血液细胞基础学[M]. 贵州: 贵州科学技术出版社, 2008: 231-233.
 [3] Jenne CN, Kubes P. Platelets in inflammation and infection[J]. Platelets, 2015, 26(4): 286-292.
 [4] Abrantes DC, Brunini TM, Matsuura C, et al. Diminished nitric oxide generation from neutrophils suppresses platelet activation in chronic renal failure[J]. Mol Cell Biochem, 2015, 401(1/2): 147-153.

感染中的应用[J]. 右江医学, 2014, 42(2): 243-244.
 [2] 姚明媚, 汤凤珍, 胡英华, 等. 血培养联合血清降钙素原对血流感染患者的诊断价值分析[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(9): 1292-1293.
 [3] 丁爽, 闫玲, 李若倩, 等. PCT 和 CRP 对菌血症的诊断价值比较[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(7): 892-893.
 [4] 郎少磊, 安淑霞, 常婧. 降钙素原水平检测在急性胰腺炎并发感染患者中的诊断价值分析[J]. 临床合理用药, 2014, 7(6A): 103-104.
 [5] 王萍, 赵莉, 牛莉莉. C 反应蛋白和降钙素原与感染性疾病的相关性探讨[J]. 标记免疫分析与临床, 2014, 21(2): 168-169.
 [6] 万泽民, 陈伟焯, 卢妙莲, 等. 糖尿病肾病患者血清降钙素原水平及与其他指标间的关系[J]. 四川大学学报(医学版), 2014, 45(3): 442-446.
 [7] 赵建华, 何义明, 陈琳, 等. 血培养革兰阳性与阴性菌感染血清降钙素原水平比较[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(2): 2734-2735.
 [8] 刘文超, 杨桂强. 血液病血流感染患者血培养与血清降钙素原定量结果的关联性分析[J]. 中国医药指南, 2013, 11(30): 115-116.
 [9] 华关民, 唐荣德, 陈敏, 等. CRP、WBC 和 FIB 在 6 种疾病中的血液水平分析[J]. 中外医学研究, 2013, 11(36): 5-7.

(收稿日期: 2016-01-21 修回日期: 2016-03-21)

[5] Rossert J, Froissart M. Role of anemia in progression of chronic kidney disease [J]. Seminars in Nephrology, 2006, 26(1): 283-289.
 [6] Matide L, Kalman K, Bernd WS. Erythromycin: a hormone with multiple functions[J]. Pathobiology, 2011, 78(1): 41.
 [7] Joyeux-Faure M. Cellular protection by erythropoietin: new therapeutic implications[J]. Pharmacol Exp Ther, 2007, 323(12): 759-762.
 [8] Dev A, Fang J, Sathyanarayana P, et al. During EPO or anemia challenge, erythroid progenitor cells transit through a selectively expandable proerythroblast pool[J]. Blood, 2010, 116(24): 5334-5346.
 [9] McCarty JM, Melone PD, Simanis JP, et al. A preliminary investigation into the action of anagrelide; thrombopoietin-c-Mpl receptor interactions[J]. Exp Hematol, 2006, 34(1): 87-96.

(收稿日期: 2016-01-28 修回日期: 2016-03-23)