

Metab, 2011, 31(4):1133-1142.

- [10] 张元晓, 李正仪. 血清胆红素水平与急性脑卒中关系的临床研究[J]. 中国医药, 2012, 7(2):148-150.
- [11] 董艳玲, 王荣桂, 李瑶宣, 等. 影响急性脑梗死患者治疗效果的相关因素分析[J]. 临床神经病学杂志, 2013, 26(3):177-179.

• 临床研究 •

- [12] 苏江利, 刘玉, 夏章勇, 等. 脑梗死患者血清胆红素、P 选择素与 C 反应蛋白的动态变化及意义[J/CD]. 中华临床医师杂志(电子版), 2013, 30(24):11217-11221.

(收稿日期:2017-02-22 修回日期:2017-04-21)

网织血小板检测在免疫因素相关的血小板减少性疾病中的诊断价值

王丹微, 杨平, 沈瀚[△]

(南京大学医学院附属鼓楼医院检验科, 南京 210008)

摘要:目的 观察网织血小板(RP)在几种免疫因素相关的血小板减少性疾病中的水平,探讨网织血小板百分率(RP%)在免疫因素相关的血小板减少性疾病的应用价值。方法 通过流式细胞仪检测 50 例免疫性血小板减少性紫癜(ITP)患者,40 例系统性红斑狼疮(SLE)患者,15 例干燥综合征(SS)患者,10 例再生障碍性贫血(AA)患者,10 例骨髓增生异常综合征(MDS)患者以及 30 例健康志愿者外周血 RP%。将检测结果分为 3 组:免疫因素组(含 ITP、SLE、SS 患者),非免疫因素组(包括 AA、MDS 患者)及健康对照组。结果 免疫因素组 RP%明显高于非免疫因素组及健康对照组($P < 0.05$);非免疫因素组与健康对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 RP%可反映骨髓产生血小板的状况,对鉴别血小板减少原因,尤其是免疫因素引起的血小板减少有重要意义。

关键词:网织血小板; 血小板减少; 流式细胞术

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.18.041

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)18-2611-03

血小板减少性疾病是临床上的常见疾病,临床表现通常以出血为主,重度血小板减少可导致内脏和中枢神经出血,危及患者生命。因此,对血小板减少的早期诊断和治疗非常重要。血小板减少的原因很多,主要有血小板生成减少、血小板破坏或者消耗过多、血小板分布异常等几种。血常规中的血小板计数是临床最常用的检验项目之一,但它仅能反映血小板的数量,且易受多种因素影响,并不能用来评估骨髓中血小板的生成情况。网织血小板(RP)是从骨髓刚释放到外周循环的介于成熟巨核细胞和成熟血小板之间的年轻血小板,与红细胞系统中的网织红细胞有类似的意义。与成熟的血小板相比,RP 的胞质颗粒粗糙,含有部分 RNA 和粗面内质网,体积较大,且具有更强的活性,可以通过流式细胞仪利用核酸荧光染料染色,比较容易地检测出来。与外周血 PLT 相比,RP 更能反映人体骨髓中巨核细胞生成血小板的能力及外周血血小板的更新速率。本研究采用流式细胞术测定免疫因素相关的血小板减少性疾病,包括免疫性血小板减少性紫癜(ITP)患者和伴有血小板减少的风湿免疫性疾病[系统性红斑狼疮(SLE),干燥综合征(SS)]患者,其他非免疫因素相关的血小板减少性疾病[再生障碍性贫血(AA)、骨髓增生异常综合征(MDS)]患者以及健康人群外周血中网织血小板百分率(RP%),探讨其在免疫因素相关的血小板减少性疾病诊断中的意义,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 8 月至 2016 年 8 月就诊于南京鼓楼医院门诊及住院血小板减少患者 125 例。其中 ITP 患者 50 例,男 18 例,女 32 例,年龄 20~81 岁,平均(44.00±21.63)岁;SLE 患者 40 例,男 14 例,女 26 例,年龄 24~78 岁,平均(43.65±17.39)岁;SS 患者 15 例,男 3 例,女 12 例,年龄 24~78 岁,平均(57.92±13.54)岁;AA 患者 10 例,男 4 例,女 6

例,年龄 20~77 岁,平均(48.83±23.60)岁;MDS 患者 10 例,男 3 例,女 7 例,年龄 32~50 岁,平均(44.00±8.12)岁。所有 ITP、AA、MDS 患者诊断均符合张之南《血液病诊断及疗效标准》^[1];SLE 采用 SLE 国际临床协作组(SLICC)于 2009 年 ACR 会议新修订的 SLE 分类诊断标准^[2];SS 采用 2002 年 SS 国际分类(诊断)标准^[3]。另选本院同期健康体检者 30 例为健康对照组,血小板计数(PLT)在(100~300)×10⁹/L,其中男 10 例,女 20 例;年龄 20~70 岁,平均(40.85±12.61)岁。

1.2 仪器与试剂 PLT 采用日本希森美康公司生产的 XE-5000 全自动血液分析仪及其配套的鞘液、溶血剂、稀释液检测,RP 检测采用美国 BD 公司生产的流式细胞仪(FACSCalibur)以及该公司生产的荧光素藻红蛋白(PE)标记的 CD61 单抗及鼠抗 IgG、TO 染料-噻唑橙、溶血素等试剂。

1.3 方法 取研究对象空腹静脉血 2 mL,用乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝,1 h 内完成检测。抗凝血混匀后以 800 r/min 的转速离心 10 min,获得富血小板血浆(PRP)。在检测管中加入荧光素 PE 标记的 CD61 单抗 5 μL 用来区分血小板,再加入 25 μL 的 PRP,接着将 5 μL 荧光素 PE 标记的鼠抗 IgG 与 25 μL 的 PRP 加入对照管,混匀后放置在室温条件下避光孵育 15 min,然后两管分别加入溶血素 100 μL,避光条件下继续反应 10 min 后,再将 0.5 mL RNA 试剂(TO 染料-噻唑橙)加入检测管,5 mL 磷酸盐缓冲液(PBS)加入对照管,充分混匀后继续避光孵育染色 15 min,然后用流式细胞仪对研究对象标本进行检测。本实验室 RP%的参考区间为(2.31±0.74)%。

1.4 统计学处理 数据采用 SPSS19.0 软件分析,对 RP%相关参数的数据进行分析,符合正态分布采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,计量资料组间比较采用配对 t 检验或独立样本 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

[△] 通信作者, E-mail: shenhan10366@sina.com。

2 结 果

免疫因素组 RP% 明显高于非免疫因素组及健康对照组,且差异具有统计学意义($P<0.05$);非免疫因素组与健康对照组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1 各组 RP%、PLT 检测结果比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	RP%(%)	PLT($\times 10^9/L$)
健康对照组	30	2.30 $\pm$ 0.56	182.21 $\pm$ 31.60
免疫因素组			
ITP	50	8.53 $\pm$ 5.10* [#]	36.68 $\pm$ 32.17
SLE	40	7.91 $\pm$ 6.65* [#]	31.94 $\pm$ 30.84
SS	15	4.81 $\pm$ 4.39* [#]	56.75 $\pm$ 45.19
非免疫因素组			
AA	10	1.83 $\pm$ 0.67	40.50 $\pm$ 33.87
MDS	10	2.84 $\pm$ 2.19	31.50 $\pm$ 31.46

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与非免疫因素组比较,[#] $P<0.05$ 。

3 讨 论

本研究结果显示,RP% 在不同原因引起的血小板减少性疾病中有不同的表现。免疫因素组(包括 ITP、SLE、SS 患者)的 RP% 明显高于非免疫因素组及健康对照组。

ITP 是由于患者免疫功能紊乱,体内产生的抗血小板抗体与血小板表面抗原相结合,导致血小板破坏增加,寿命缩短,外周血血小板减少的一种自身免疫性出血性疾病^[4]。目前临床上主要是以患者的临床表现,以及骨髓涂片后巨核细胞计数和成熟情况作为依据对 ITP 进行鉴别诊断。骨髓穿刺的结果受取材涂片等个人主观因素影响,有一定的误差,而且属于有创操作,经常穿刺会给患者带来负担,因此采用非侵入性的周围血 RP% 测定进行辅助诊断,对 ITP 患者,特别是对穿刺有一定难度的儿童具有重要的意义^[5-6]。

SLE 是一种多因素所致的慢性系统性自身免疫病,在疾病的发生过程中产生了广泛的自身抗体和炎症因子,免疫系统对自身组织不耐受,淋巴细胞与自身组织产生免疫性反应使组织受损,导致多系统受累,包括血液系统异常。据统计,血液系统损害已成为 SLE 患者死亡的主要风险因素之一,其中血小板减少又是 SLE 血液系统损害中最常见的临床表现,对 SLE 患者的病情发展和预后有直接影响^[7]。但 SLE 患者血小板减少的原因具有多重性和复杂性,其发病机制到现在仍不是非常清楚,所以探讨 SLE 患者血小板减少的病因具有十分重要的临床意义。研究表明,SLE 患者可能是由于外周血各种自身抗体的增加,引起血小板在外周血中破坏增加导致了轻重不等的血小板减少,RP% 代偿性增高^[8-9]。SS 也是一种临床常见的慢性系统性自身免疫性疾病,通常以大量淋巴细胞浸润腺体间质为特征,侵犯以唾液腺和泪腺为代表的内分泌腺体,临床通常表现为口、眼干涩,患者实验室检查可显示血细胞沉降率增快,多克隆性免疫球蛋白升高、类风湿因子阳性,血清中还可检测到多种自身抗体阳性。另外 SS 患者血液系统损害也比较多,出现血小板减少是较常见的症状。SS 的病因也不明确,通常被认为是遗传因素、病毒感染、内分泌因素等多种因素相互作用引起。目前的研究表明,血小板减少的发病机制中自身免疫占主导作用,患者产生自身抗体,形成免疫复合物吸附在血小板表面上导致血小板膜的结构和完整性遭到破坏,影响血小板寿命^[10-12]。

这几种免疫因素相关的血小板减少性疾病已经进行了大量的研究,虽然目前对其发病机制还没有十分清楚的认知,但研究显示,机体的免疫系统产生抗血小板抗体是血小板破坏的主要原因。患者体内骨髓巨核细胞代偿性的大量增加,导致释放到外周的 RP% 增加,这一指标随着外周血小板的恢复会逐渐降低。而对于 MDS、AA 患者,其病因是各种原因引起骨髓内巨核细胞受抑,产生及释放至外周的血小板显著减少,基本与免疫因素无关,RP% 在 AA 低于健康对照组,MDS 变化不明显。

以往临床上血小板减少性疾病的诊断主要是通过骨髓巨核细胞的形态学检查对骨髓血小板生成状况进行评估,优点是较为精准全面反映骨髓造血的状态,但是这个方法的存在取材困难且具有创伤性,受主观因素影响较大的问题,不适合作为动态评估血小板生成状态的方法^[13-14]。与之相比,RP% 的检测则具有快速便捷、基本无创伤性的优点,而且能比较精准地反映患者体内骨髓血小板的生成情况,有助于血小板减少症的不同发病原因的鉴别,特别是对鉴别骨髓造血减少和免疫因素相关的外周血血小板破坏增多所致的血小板减少有重要意义,值得在临床上推广。现在 Sysmex 和 Abbott 一些型号的血液分析仪已经提供了 RP% 的自动化参数检测模块,但由于缺乏染料、温度、温育时间、使用全血还是富血小板血浆,设门区分阴阳性界线的方式等实验条件的共识,公认规范的检测方法和参考标准还没有设立,不同实验室设立的参考值有较大差异,可比性较差,需要进一步标准化,使这一指标在临床上的广泛推行受到一定的阻碍,有待于在以后的研究中探讨解决^[15-16]。

参考文献

[1] 张之南,沈悌. 血液病诊断及疗效标准[M]. 3 版. 北京:科学出版社,2007.

[2] Petri M. Systemic Lupus International Collaborating Clinic(SLICC):SLICC revision of the ACR classification criteria for SLE[J]. Arthritis Rheum,2009,60(Suppl 10):895.

[3] Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, et al. Classification criteria for Sjgren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group[J]. Ann Rheum Dis,2002,61(6):554-558.

[4] Cines DB, Blanchette VS. Immune Thrombocytopenic Purpura[J]. N Engl J Med,2002,28(13):995-1008.

[5] 刘艳,王贞,袁百香,等. 网织血小板和血小板相关抗体在特发性血小板减少性紫癜鉴别诊断中的作用比较[J]. 中国实验血液学杂志,2011,19(4):979-982.

[6] 陈建霞,黄衍锋,张旭,等. 网织血小板检测对特发性血小板减少性紫癜的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(23):3140-3141.

[7] 费允云,张奉春. 系统性红斑狼疮患者死亡原因分析[J]. 中华风湿病学杂志,2008,12(3):187-191.

[8] 任传永,徐亮,陆进明,等. 系统性红斑狼疮合并自身免疫性血小板减少血清学研究[J]. 医学研究杂志,2014,43(2):31-34.

[9] 杨平,钱香,徐学静,等. 网织血小板和 PLT 计数在 SLE 患者诊疗中的临床应用价值[J]. 医疗卫生装备,2016,37

- (2):97-99.
- [10] 徐蓓,厉小梅,王喜梅,等.原发性干燥综合征患者 338 例临床分析[J].实用医学杂志,2011,27(5):827-828.
- [11] 冯斯斯,钟白云,郭婧婧,等.原发性干燥综合征并发血液系统损害与免疫学指标相关性分析[J].中国现代医学杂志,2013,23(25):44-46.
- [12] 吕英春,姜国平,李慧颖,等.探讨原发性干燥综合征患者血小板减少的临床特点及疗效分析[J].中国医药指南,2012,10(34):460-461.
- [13] Monteagudo M, Amengual M J, Muñoz L, et al. Reticulated platelets as screening test to identify thrombocytopenia etiology[J]. QJM, 2008, 101(7):549-550.
- 临床研究 •
- [14] 杨惊,赵永强,吴卫,等.网织血小板检测在血小板减少症病因鉴别中的意义[J].中国实验血液学杂志,2010,18(2):482-485.
- [15] Rubak P, Nissen PH, Kristensen SD, et al. Investigation of platelet function and platelet disorders using flow cytometry[J]. Platelets, 2016, 27(1):66-74.
- [16] Hedley BD, Llewellyn-Smith N, Lang S, et al. Combined accurate platelet enumeration and reticulated platelet determination by flow cytometry[J]. Cytometry Part B: Clinical Cytometry, 2015, 88(5):330-337.
- (收稿日期:2017-02-17 修回日期:2017-04-16)

3 种指标联合检测评估非小细胞肺癌患者化疗效果的分析

李桂湖,陈媛[△]

(潜江市中心医院肿瘤科,湖北潜江 433100)

摘要:目的 探讨血清 C 反应蛋白(CRP)、D-二聚体(D-D)、纤维蛋白原(FIB)联合检测评估非小细胞肺癌(NSCLC)患者化疗效果的临床价值。方法 检测 70 例进行化疗的 NSCLC 患者血清 CRP、D-D 及 FIB 水平,同期 40 例良性肺部疾病患者作为对照组。根据实体肿瘤疗效评价标准(RECIST)将 70 例 NSCLC 患者分为完全缓解(CR)、部分缓解(PR)、稳定(SD)及进展(PD),比较不同疗效患者化疗前后血清 CRP、D-D 及 FIB 水平,并分析其与疾病预后之间的相关性。结果 NSCLC 组患者化疗前血清 CRP、D-D、FIB 水平均明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);不同疗效组患者血清 CRP、D-D、FIB 水平比较,差异均具有统计学意义($P < 0.05$),疗效越差其水平越高($P < 0.05$)。化疗后 CR、PR 患者血清 CRP、D-D、FIB 水平较化疗前均明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),而 PD 患者血清 CRP、D-D、FIB 水平较化疗前明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。SD 患者化疗前后血清 CRP、D-D、FIB 水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);所有患者化疗后均随访 12 个月以上,中位无进展生存时间(PFS)为 13.2 个月,与血清 CRP、D-D、FIB 水平均呈负相关关系($r = -0.712$ 、 -0.674 、 -0.422 , $P < 0.05$)。结论 联合检测血清 CRP、D-D、FIB 水平对 NSCLC 患者化疗效果及疾病预后等方面具有较高的评估价值。

关键词:C 反应蛋白; D-二聚体; 纤维蛋白原; 非小细胞肺癌; 化疗

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.18.042

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)18-2613-03

非小细胞肺癌(NSCLC)占有肺癌患病总人数的 80% 左右^[1],相关流行病学调查显示,半数以上 NSCLC 患者医院就诊时,已处于肺癌的晚期阶段,目前化疗仍是临床治疗 NSCLC 患者的主要措施。采取 CT 等影像学技术对 NSCLC 患者化疗前后进行观察,对判断治疗效果具有一定的评估价值,但无法准确反映肿瘤组织的生理代谢状态,且由于多数患者合并有胸腔大量积液、肺不张及空洞形成等情况,故对最后的评估准确性造成明显的影响作用,在预测疾病预后情况等方面也缺乏必要的可靠性^[2]。有相关研究认为,恶性肿瘤疾病的发生、发展过程,远处脏器组织转移及疾病治疗后复发等情况与血液出现高凝病理状态之间存在密切的相关性关系,而血清 C 反应蛋白(CRP)、纤维蛋白原(FIB)、D-二聚体(D-D)水平明显升高均可成为肿瘤疾病发展的危险因素^[3]。因此,本研究拟探讨血清 CRP、D-D 及 FIB 联合检测评估 NSCLC 患者的化疗效果,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 70 例 NSCLC 患者均为本院肿瘤科 2012 年 2 月至 2015 年 2 月住院行化疗治疗的患者,经临床症状体征、肺部影像学检查或细胞组织学病理检查均已确诊,且近 3 个月未口服抗凝或激素类药物,也无心、肝、肾等重要脏器功能严

重障碍。其中男 40 例,女 30 例,平均年龄为 (64.5 ± 7.7) 岁, TNM 分期为ⅢA 期 27 例,ⅢB 期 22 例,Ⅳ期 21 例,病理类型为腺癌 42 例,鳞癌 28 例。同期选择 40 例肺部良性疾病患者作为对照组,其中男 22 例,女 18 例,平均年龄为 (62.2 ± 8.5) 岁。两组在性别、年龄等临床资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 化疗方法 所有 NSCLC 患者入院后均予以铂类化疗药物为治疗基础的治疗方案,顺铂:治疗剂量为 25 mg/m^2 ,第 1~3 天,静脉滴注;吉西他滨:治疗剂量为 1000 mg/m^2 ,静脉滴注 30 min,第 1、8 天各 1 次;3 周为 1 个化疗治疗周期。所有 NSCLC 患者共化疗 2~6 个周期。

1.3 血清相关指标检测方法 对照组患者在入院次日, NSCLC 患者在化疗前、化疗 2 个周期后次日清晨空腹状态下抽取 5 mL 肘部静脉血液,3 000 r/min 离心处理 10 min,吸取上层血清,采用酶联免疫吸附法检测血清 CRP 水平(测定仪器为深圳市华科瑞科技有限公司,试剂盒为浙江爱康生物有限公司,正常参考范围为 $1.0 \sim 10.0 \text{ mg/L}$),采用免疫比浊法检测血清 DD 水平(测定仪器为 Sysmex CalS00,试剂盒为德国 DADE BEHRING,正常参考范围为 $0.05 \sim 0.35 \text{ mg/L}$),采用凝血酶固定法检测血清 FIB 水平(测定仪器为日本 Sysmex

[△] 通信作者, E-mail: wangjuejiyy@126.com。