

慢性肝病和肝硬化血小板的数量与功能

田辉[沈阳第242医院(沈阳医学院第三临床学院)感染科, 沈阳 110034]

血小板减少症是肝硬化特征之一, 多数学者认为血小板的数量与肝硬化的严重度相关。血小板功能缺陷在慢性肝病也颇常见。慢性肝病、肝硬化血小板数量、功能的变化意义重大。现今慢性肝病、肝硬化, 更受关注的是Ⅱ期止血变化(凝血)而非Ⅰ期止血改变(血小板黏附、激活、凝集)。虽然肝硬化患者因血小板减少自发性出血机率并不大, 但临床上低血小板计数与执行肝组织学检查、肝移植或应用骨髓抑制药物(IFN抗病毒治疗、抗癌药)息息相关^[1]。此外, 血小板也许参与了病毒性肝炎和胆汁淤积性肝病的进展^[2]。业已证实血小板衍生的5-羟色胺调节了肝脏再生的起始^[3]。

1 评估血小板功能的实验室检查

血小板研究存在技术难题, 需新鲜血液标本, 检验应立即进行。由于血小板实验的高敏感性, 越专业的方法越可能出现人为假象。目前广泛使用血小板凝集仪(aggregometry)评估血小板功能^[4], 它采用富含血小板血浆(抗凝血离心获得), 体外通过与不同的激活剂(胶原、凝血酶、ADP等)反应发生浊度变化来测定血小板凝集, 也可用电阻抗方法查全血。另一种方法是应用流式细胞仪测定血小板膜分子, 如P选择素、CD62P或血小板-淋巴细胞复合物, 评估血小板活化程度。更复杂、实验技术要求更高的是在分子水平测定2级信使(钙、cAMP)和含致凝集分子血小板颗粒, 如5-羟色胺(5-HT)、ATP、血小板因子4(PF4)、 β 血小板球蛋白(BTG)等浓度。血栓弹力图和振动频率凝血仪(Sonoclot)常

用且简便, 二者不需特殊试剂, 直接获结果。如血栓弹力图, 样本杯内血凝块环绕悬浮针前后转动, 因此血样本杯活动逐步受限, 这样运动被图标记, 从而计算不同变量(凝血、纤溶、血小板功能)。

2 肝硬化、慢性肝病血小板的数量

理论上血小板减少是血小板生成下降、脾分离(sequestration)增多或血小板消耗增加的结果。肝硬化、慢性肝病患者血小板生存降低, 但血小板计数基于个体骨髓增加血小板产生能力的不同可正常也可降低, 与网织血小板百分比一致^[5]。

2.1 血小板生成 血小板生成素(TPO)是调节血小板生成和巨核细胞分化的最重要生长因子^[6]。TPO主要由肝脏产生, 骨髓、肾脏也能生成。其受体表达于干细胞、巨核细胞祖细胞、巨核细胞、血小板表面。TPO既能协同IL-3、IL-11、促红细胞生成素、G-CSF等促进巨核细胞增殖、分化, 也能增强血小板活化和功能。维持TPO生理浓度的最重要机制是通过与血小板结合被清除。解释血清TPO值必须考虑血小板总数, 包括无法测量的脾内血小板数, 才能估计血小板生成。目前关于TPO在肝脏疾病中的作用并不清楚。已发表的研究表明肝硬化患者TPO血清值从正常、减低到增加不等, 与Child-Pugh评分、白蛋白水平、门脉高压等相关性也无定论。实验室技术上的差异, 无标化试剂及应用抗体的不同(单克隆、多克隆)或许是造成结果差异的原因^[7]。肝移植后逆转血小板减少症的主要因素是TPO增多, 其他细胞因子(IL-3、IL-6、IL-11)并非主要的^[8]。肝硬化患者TPO降解增加。部分脾栓塞或脾切除能提升TPO, 恢复TPO与血小板生理关系, 逆转血小

板减少症。

肝脏疾病血小板生成受损的确切机制还待阐明。肝硬化患者骨髓巨核细胞密度与特发性血小板减少性紫癜(ITP)类似,显著高于再生障碍性贫血,表明原发性生成缺陷不是血小板减少症的惟一因素^[5]。

2.2 血小板分离 脾大乃门脉高压特征性表现,长久以来一直认为脾脏血小板分离是血小板减少症的重要机制,虽然此理论从未被证实过。放免标记的血小板动力学研究显示血小板生存时间缩短,表明不仅仅是脾脏贮池,也是脾脏破坏导致了血小板减少。充血性脾大是机制的过度简化,脾脏大小与门脉高压非线性相关。TIPS术后血小板计数的提升研究结论并不一致,有益处者计数也未正常,而且与门脉高压降低的百分比无关。同样,门腔和脾肾分流术不能提升血小板。由此可见,血小板减少不是单纯的门脉高压造成的脾脏贮池增多所致。相反,部分脾栓塞可升高血小板^[9]。

2.3 血小板分解 肝硬化血小板减少症与ITP类似,二者网织血小板比例和糖萼蛋白(glycocalicin)指数(血小板生成标志)高于正常人群^[5]。ITP自身抗体在调节血小板破坏中起了主要作用,而且一定程度上抑制了巨核细胞生成。慢性肝病,血小板IgG和产生针对血小板主要自身抗原糖蛋白(GP IIb/IIIa)的抗体的B细胞数量明显升高^[10,11]。抗体效价与血小板数量、脾脏容积负相关。脾栓塞增加血小板生存时间,降低血小板IgG。慢性肝病血小板消耗也增多,如体内血小板活化标志物可溶性P选择素水平上升^[12]。

总之,目前肝硬化血小板减少症的确切机制不清,也许是脾脏血小板分解增加、脾脏贮池和骨髓提升血小板生成无力等多方面因素所致。

3 不同类型慢性肝病、肝硬化血小板的数量

不同类型慢性肝病、肝硬化与血小板数量的关系现知之甚微。免疫调节性紊乱,如原发性胆汁性肝硬化(PBC),血小板减少似乎是血小板IgG起重要作用,应用糖皮质激素可逆转。PBC患者从血小板洗脱的抗体可结合GP IIb/IIIa和

70 kDa的线粒体抗原,表明可能存在常见抗体结合位点。病毒性肝炎血小板减少症涉及了肝纤维化、脾大的加剧,TPO生成改变等多因素过程,但确切机制不清。病毒性肝炎TPO较正常人群及其他慢性肝病增多,但与血小板计数无关。RT-PCR、免疫组化显示肝脏TPO与其他肝病表达相同。血小板计数与脾脏大小呈负相关,表明存在血小板降解或分离,但无脾亢也可出现血小板减少^[13]。有研究表明HCV感染个体血小板自身抗体常见,但其检测并无助于免疫性血小板减少症的诊断^[14]。

4 慢性肝病、肝硬化血小板功能

2.5%~40%肝硬化患者出血时间延长,与肝衰竭程度密切相关,这与血小板功能缺陷的相关性更强。迄今对肝硬化血小板功能研究多限于体外,仅极少数采用了流动条件,设备的差异、灌注黏附表面的不同,结论冲突在所难免^[15]。这些研究应用全血或调整了血细胞比容和血小板计数的重组血,故血小板功能外的因素及血浆和血液流变学因素不能忽略^[16]。

通过体外凝集实验和流式细胞仪分析刺激依赖性抗原已阐明慢性肝病、肝硬化患者凝集力明显低下,对胶原、凝血酶、花生四烯酸、ADP、U46619(ADP模拟物)、肾上腺素、瑞斯托菌素(ristocetin)应答降低。这些也被血栓弹力图证实。采用血小板凝集仪发现慢性肝病、肝硬化患者存在血小板内在缺陷,血浆因素与血小板功能低下有关。

目前,跨膜信号传导缺陷被认为是慢性肝病、肝硬化血小板功能低下的最重要因素。肝硬化血小板跨膜信号传导减少,造成磷脂酶C、A2、环氧合酶、血栓素合成酶激活降低,血栓素生成下降。前列腺素、血栓素生成花生四烯酸利用减少。而花生四烯酸能增加膜脂肪酸水平,提高胶原诱导的血小板凝集^[17]。细胞内钙释放是血小板凝集的最后常见途径。肝硬化血小板应答凝血酶产生三磷酸肌醇(IP3)明显下降,造成胞浆钙增加减少;血小板胞浆内碱化降低,钙转运减

少还不利于细胞外钙进入。肝硬化贮存池缺陷,致密体ATP、5HT、 α 颗粒PF4、BTG、P选择素减少,降低了凝集过程颗粒释放效应。肝硬化前列环素(PGI₂)、NO增多刺激血小板两大主要抑制信使cAMP、cGMP表达上调。门静脉、体循环血小板凝集存在局部差异,内脏血管扩张、PGI₂产生增多致使门静脉胶原凝集曲线显著右移。

除了血小板内在缺陷外,众多血浆因素也影响了血小板功能。肝硬化HDL、去脂蛋白E增多,抑制血小板凝集。过量的纤维蛋白原降解产物吸附在血小板表面,影响血小板功能。体内凝集研究显示胆盐对血小板凝集和ADP、胶原诱导的5HT释放有抑制作用。体外研究也表明胆盐升高明显抑制了ADP-肾上腺素诱导的凝集。I期、II期止血紧密关联,肝脏疾病时止血异常也能影响血小板功能^[18],如血小板在凝血酶形成中起重要作用,凝血酶是血小板的激活剂。此外,也有因素促进血小板激活。例如,肝硬化血管性假性血友病因子(vWF)表达上调,使胶原结合力、相对瑞斯托菌素活性下降^[16]。非结合型胆红素是类似于ADP的血小板凝集强诱导剂,可被前列腺素I₂或E₂完全抑制。由于非结合型胆红素与白蛋白的高亲和力,这种作用的生理意义还待明确。腹腔静脉分流术后凝血病是直接和快速输入致凝胶原的结果。10倍浓缩的腹水可导致不可逆性血小板凝集,添加胶原酶能阻断之。

总之,肝硬化血小板功能失调显而易见。既有血小板内在缺陷,也存在血小板激活剂和拮抗剂,能造成凝集性增高或降低,但确切机制尚待阐明。

5 不同类型肝病的小血小板功能

胆汁淤积性肝病常出现血小板高凝集性,有别于其他型肝炎。PBC、PSC患者静脉曲张出血后存活率高,肝移植失血少,约40%的PBC患者肝移植时发现门静脉血栓。分子水平研究发现,CD42b(结合vWF糖蛋白复合物抗原)和基础状态下或ADP、肾上腺素刺激后配体结合位点表达增多,表明PBC、PSC患者血小板被预激活^[19]。这

与高水平凝血酶-抗凝血酶复合物和内皮激活信号半胱氨酸、组织因子水平增高相一致^[20]。胆汁淤积动物模型(胆道结扎鼠)发现

纹状肌纤维内质网(sarcoplasmic reticulum)/胞浆内质网钙-ATP酶活性增加,细胞内储存钙增多释放也增多,受刺激后血小板细胞内钙(血小板激活最后途径)迅速升高^[21]。PBC、PSC高凝集性可能也是显著的全身炎症反应和具有致凝性的非结合型胆红素显著升高的结果。但并不是所有的报道都一致认同胆汁淤积性肝病血小板高凝集性,而且抑制NO(潜在血小板拮抗剂)生成能使出血时间延长趋于正常,血管内激活期间血小板颗粒丢失可能导致部分ATP释放和刺激后缺乏CD62P增加均暗示血小板功能低下^[19]。新近,Laschke等^[2]采用胆道结扎鼠研究发现血小板能导致胆汁淤积性肝病肝损伤。血小板消耗或阻断血小板P选择素受体可减少凝集形成,减少血小板黏附和淋巴细胞聚集,从而改善肝功能。

酒精性肝病中研究血小板极其困难。乙醇直接作用血小板脂类,第2信使系统(通过cAMP、IP₃、甘油二酯调节)、磷脂酶A₂系统,改变血小板凝集性。即使生理浓度乙醇也抑制血小板凝集。大多数研究认为酒精性肝病凝集性降低。酒精性肝病丙二醛、血栓素B₂生成增多可引起血小板减少症。

慢性病毒性肝炎及肝炎肝硬化患者体内BTG、PF₄浓度升高导致血小板激活。与正常人群相比静息血小板P选择素表达增多。慢性丙肝血清可溶性P选择素明显增多,与HCV RNA正相关,与IgG无关^[22]。表明HCV感染能直接激活血小板。现今血小板被认为是炎症反应参与者,分泌化学因子调节细胞间相互反应。在急性病毒性肝炎鼠模型中发现血小板消耗降低了病毒特异性细胞毒性T淋巴细胞积聚和器官损伤。输注血小板后,这些鼠模型恢复了细胞毒性T淋巴细胞积聚,疾病严重程度增加^[23]。

血管性肝病,如门脉梗阻和非硬化性门脉纤维化,可出现血小板低凝集性^[24]。凝血紊乱以轻

度DIC多见。在肝周门脉高压实验动物模型鼠发现出血时间延长,血小板活性降低,但应用低剂量阿司匹林可纠正^[25]。部分Budd-Chiari综合征患者显示存在高凝集性,BTG水平升高。而且血小板有超微结构异常如无 α 颗粒、凝集块,血小板中心颗粒融合。

6 结语

决定血小板数量减少的重要因素是脾内血小板降解增加、血小板生成下降和脾脏贮池。血小板功能的变化则缘于跨膜、细胞内信号传导的缺陷致使凝集性降低,贮存池缺陷和抑制途径表达上调。总的看来,众多报道尚存矛盾,主要由于纳入标准的不同,样本偏小或肝病类型、程度的不一致。也许肝病动物模型研究进展可能有助于克服这些困难。深入研究血小板在慢性肝病病程:如组织修复、炎症反应、血管生成中的作用将有助于深化理解肝病、门脉高压、肝纤维化病理生理学,进而研发新治疗。

参考文献

- Giannini EG. Review article: thrombocytopenia in chronic liver disease and pharmacologic treatment options[J]. *Aliment Pharmacol Ther*,2006,23:1055-1065.
- Laschke MW, Dold S, Menger MD, et al. Platelet-dependent accumulation of leukocytes in sinusoids mediates hepatocellular damage in bile duct ligation-induced cholestasis[J]. *Br J Pharmacol*,2008,153:148-156.
- Lesurtel M, Graf R, Aleil B, et al. Platelet-derived serotonin mediates liver regeneration[J]. *Science*,2006,312:104-107.
- Shah U, Ma AD. Tests of platelet function[J]. *Curr Opin Hematol*,2007,14:432-437.
- Kajihara M, Okazaki Y, Kato S, et al. Evaluation of platelet kinetics in patients with liver cirrhosis: similarity to idiopathic thrombocytopenic purpura[J]. *J Gastroenterol Hepatol*,2007,22:112-118.
- Afdhal N, McHutchison J, Brown R, et al. Thrombocytopenia associated with chronic liver disease[J]. *J Hepatol*,2008,48:1000-1007.
- Wolber EM, Jelkmann W. Thrombopoietin: the novel hepatic hormone[J]. *News Physiol Sci*,2002,17:6-10.
- Rios R, Sangro B, Herrero I, et al. The role of thrombopoietin in the thrombocytopenia of patients with liver cirrhosis[J]. *Am J Gastroenterol*,2005,100:1311-1336.
- Lee CM, Leung TK, Wang HJ, et al. Evaluation of the effect of partial splenic embolization on platelet values for liver cirrhosis patients with thrombocytopenia[J]. *World J Gastroenterol*,2007,13:619-622.
- Sanjo A, Satoi J, Ohnishi A, et al. Role of elevated platelet-associated immunoglobulin G and hypersplenism in thrombocytopenia of chronic liver diseases[J]. *J Gastroenterol Hepatol*,2003,18:638-644.
- Kajihara M, Kato S, Okazaki Y, et al. A role of autoantibody-mediated platelet destruction in thrombocytopenia in patients with cirrhosis[J]. *Hepatology*,2003,37:1267-1276.
- Vardareli E, Saricam T, Demirustu C, et al. Soluble P selectin levels in chronic liver disease: relationship to disease severity[J]. *Hepatogastroenterology*,2007,54:466-469.
- Wang SJ, Tsai SC, Chen GH, et al. In-111-labeled platelet scintigraphies in patients with chronic hepatitis C[J]. *Hepatogastroenterology*,2002,49:1066-1068.
- Panzer S, Seel E, Brunner M, et al. Platelet autoantibodies are common in hepatitis C infection, irrespective of the presence of thrombocytopenia[J]. *Eur J Haematol*,2006,77:513-517.
- Lisman T, Adelmeijer J, de Groot PG, et al. No evidence for an intrinsic platelet defect in patients with liver cirrhosis-studies under flow conditions[J]. *J Thromb Haemost*,2006,4:2070-2072.
- Lisman T, Bongers TN, Adelmeijer J, et al. Elevated levels of von willebrand factor in cirrhosis support platelet adhesion despite reduced functional capacity[J]. *Hepatology*,2006,44:53-61.
- Pantaleo P, Marra F, Vizzutti F, et al. Effects of dietary supplementation with arachidonic acid on platelet and renal function in patients with cirrhosis[J]. *Clin Sci (Lond)*,2004,106:27-34.
- Tripodi A, Mannucci PM. Abnormalities of hemostasis in chronic liver disease: reappraisal of their clinical significance and need for clinical and laboratory research[J]. *J Hepatol*,2007,46:727-733.
- Pihusch R, Rank A, Göhring P, et al. Platelet function rather than plasmatic coagulation explains hypercoagulable state in cholestatic liver disease[J]. *J Hepatol*,2002,37:548-555.
- Biagini MR, Tozzi A, Marcucci R, et al. Hyperhomocysteinemia and hypercoagulability in primary biliary cirrhosis[J]. *World J Gastroenterol*,2006,12:1607-1612.
- Atucha NM, Iyú D, Alcaraz A, et al. Altered calcium signalling in platelets from bile-duct-ligated rats[J]. *Clin Sci (Lond)*,2007,112:167-174.
- Ferroni P, Mammarella A, Martini F, et al. Increased soluble P-selectin levels in hepatitis C virus-related chronic hepatitis: correlation with viral load[J]. *J Invest Med*,2001,49:407-412.
- Iannacone M, Sitia G, Isogawa M, et al. Platelets mediate cytotoxic T lymphocyte-induced liver damage[J]. *Nat Med*,2005,11:1167-1169.
- Prasad CV, Kaur U, Marwaha N, et al. Hemostatic alterations in non-cirrhotic portal fibrosis, extrahepatic portal venous obstruction and budd-chiari syndrome[J]. *Indian J Gastroenterol*,1990,9:57-60.
- Eizayaga FX, Aguejouf O, Belon P, et al. Platelet aggregation in portal hypertension and its modification by ultra-low doses of aspirin[J]. *Pathophysiol Haemost Thromb*,2005,34:29-34.

收稿日期: 2008-11-20