

肝硬化患者网织血小板和血小板参数的临床应用价值

王修石, 冷小艳 (四川省达州市中心医院, 四川 达州 635000)

摘要: 目的 探讨肝硬化患者网织血小板与血小板参数的临床应用价值及其与Child-Pugh肝功能分级的关系。方法 选择2014年1月至2015年8月于本院住院并确诊为肝硬化的162例患者作为观察组, 其中Child-Pugh A级65例, Child-Pugh B级56例, Child-Pugh C级41例。选取同期于本院体检中心正常健康体检者50例为对照组。应用Sysmex XN-9000全自动血球分析仪流水线检测所有受检者的网织血小板(reticulated platelet, RP)、血小板(platelet, PLT)及其参数。结果 ①与健康对照组比较: 观察组RP和PT值显著降低, 未成熟网织血小板比率(immature platelet fraction, IPF)、大血小板比率(platelet-large cell ratio, P-LCR)、血小板体积分布宽度(platelet distribution width, PDW)和平均血小板体积(mean platelet volume, MPV)显著升高, 差异有统计学意义(P 值均为0.001); ②按Child-Pugh标准分级显示: 随Child-Pugh分级的递增, IPF、MPV、PDW和P-LCR值逐渐升高, PLT和RP值则逐渐降低, 且3组间差异显著(P 值均为0.001)。结论 网织血小板(RP、IPF)和血小板参数(PLT、MPV、PDW、P-LCR)可以有效评估肝硬化程度, 可判断和评估肝硬化实质损害程度及病情, 为临床医生制定合理的治疗方法及预防方案提供可靠依据。

关键词: 肝硬化; 网织血小板; 大血小板比率; 平均血小板体积; 血小板分布宽度

Clinical value of reticulated platelet and platelet parameters in patients with liver cirrhosis

WANG Xiu-shi, LENG Xiao-yan (*The Central Hospital of Dazhou, Dazhou 635000, Sichuan Province, China*)

Abstract: Objective To investigate the clinical value of reticulated platelet and platelet parameter in patients with liver cirrhosis and its relationship with Child-Pugh. **Methods** Total of 162 patients with liver cirrhosis from January 2014 to August 2015 in our hospital were selected as the observation group, of whom Child-Pugh A grade were 65 cases, Child-Pugh B grade were 56 cases and Child-Pugh C grade were 41 cases. Fifty cases of healthy controls were selected in the same period. XN-9000 Sysmex automatic blood cell analyzer was used to detect the network of platelet, platelet and its parameters. **Results** ①Compared with healthy control group, the reticulated platelet (RP) and platelet (PLT) values decreased significantly, but the value of immature platelet fraction (IPF), mean platelet volume (MPV), platelet distribution width (PDW) and platelet-large cell ratio (P-LCR) increased significantly, the differences were statistically significant ($P = 0.001$); ②According to Child-Pugh standard grading display: with Child Pugh grade increasing, the IPF, MPV, PDW and P-LCR value increased gradually, PLT and RP value decreased gradually and the differences were statistically significant among the three groups ($P = 0.001$). **Conclusion** Reticulated platelet (RP and IPF) and platelet parameter (PLT, MPV, PDW and P-LCR) can effectively evaluate the degree of liver cirrhosis and can be used as clinical evaluation and assessment indicators of the severity of cirrhosis, which can provide a reliable basis for clinicians to develop reasonable treatment and prevention.

Key words: Liver cirrhosis; Reticulated platelet; Platelet-large cell ratio; Mean platelet volume; Platelet distribution width

随着全自动血细胞分析仪的普及, 血小板参数渐为人们所熟悉。网织血小板(reticulated platelet, RP)是全自动血细胞分析仪的一个新参

数, 也逐渐被人们所关注。血小板的减少在肝脏疾病患者中尤为常见, 特别多见于一些慢性肝炎和肝硬化患者, 及时有效地分析出血小板减少的原因对缓解和控制肝硬化患者因血小板减少而出血尤为关键。网织血小板是由骨髓巨核细胞释放到外周血的

最新生成的血小板,是外周血中最幼稚的血小板,可反映机体血小板的更新速度,是判断血小板生成能力的重要指标^[1]。肝硬化是我国的常见病,患者早期无明显症状,但后期会出现门静脉高压、肝功能障碍和出血倾向等,严重者可导致上消化道大出血及颅内出血,出血是本病致死原因之一。

本研究检测了162例肝硬化患者的网织血小板(reticulated platelet, RP)、未成熟网织血小板比率(immature platelet fraction, IPF)、大血小板比率(platelet-large cell ratio, P-LCR)、血小板体积分布宽度(platelet distribution width, PDW)和平均血小板体积(mmean platelet volume, MPV),以揭示肝硬化患者血小板减少的原因,旨在分析其在肝硬化患者中的临床应用价值,并进一步探讨RP、IPF、PLT、MPV、PDW和P-LCR与Child-Pugh肝功能分级的关系,最终为临床诊断及疗效观察提供重要依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2014年1月至2015年8月于本院住院并确诊为肝硬化的患者162例作为观察组,其中男92例,女70例,年龄25~80岁,平均(55.5 ± 12.3)岁。诊断均符合2000年中华医学会传染病与寄生虫分会、肝病学会联合修订的《病毒性肝炎防治方案》^[2]的标准,其中乙型肝炎肝硬化58例,酒精性肝硬化53例,胆汁淤积性肝硬化28例,丙型肝炎肝硬化11例,自身免疫性肝病及隐源性肝硬化12例。依据Child-Pugh标准分级:Child-Pugh A级65例,Child-Pugh B级56例,Child-Pugh C级41例。所有患者均排除免疫及遗传代谢性肝病、血液系统疾病、有输血史或使用过血液制品或相关药物、糖尿病、心脑血管等疾病。随机抽取于本院体检中心健康体检者50例为对照组,要求肝肾功能、心肌酶谱、风湿免疫等项目、超声检查、肝脏CT等检查均显示正常,并且还要求各型肝炎病毒表面标志物均为阴性。对照组中男25例,女25例,年龄25~50岁,平均(35.5 ± 11.3)岁。所有研究对象在采集标本前2周均未服用过影响凝血功能和影响血小板及血小板参数的药物(如阿司匹林、华发林和维生素K等药物)。

1.2 标本采集 所有研究对象,均在治疗前上午空腹(空腹8~12小时)真空静脉采血2 ml,注入紫色抗凝(含EDTA-K₂)真空采血管(BD公司)。采血要求:①采血工作人员在抽血时,应特别注意压脉带不能过紧和过久;②务必保证一针见血,并且抽血顺利无气泡产生;③抽血完成后需立即上下颠倒混匀10次左右,并立即送检;④检验工作人员在上机检测前,务必要逐一观察每个标本是否有细小的血凝块或者凝集现象、是否有溶血或严重脂血等现象,一旦发现有上述不合格现象应要求研究对象重新抽血送检;⑤所有研究对象的标本应在1小时内检测完毕。

1.3 仪器、试剂及检测方法 采用SysMex XN-9000全自动血球分析仪流水线及其原厂配套试剂(日本Sysmex公司)检测RP、IPF、PLT、P-LCR、PDW和MPV。所有测定均严格按照SOP文件及仪器说明书操作,同时进行室内质控,结果均在控。

1.4 Child-Pugh肝功能分组评分标准 按肝性脑病、总胆红素、血清白蛋白、腹水及凝血酶原时间进行评分。Child-Pugh A级5~6分,肝功能较好;Child-Pugh B级7~9分,肝功能中等;Child-Pugh C级10~15分,肝功能损害严重。

1.5 统计学处理 应用SPSS 16.0软件进行统计学分析,对于符合正态性分布的数据采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组比较采用 t 检验,3组均数比较采用 F 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 网织血小板及血小板参数测定结果 与健康对照组比较,观察组RP和PLT显著降低($t = 9.63$ 、 16.38 , P 值均为0.001),IPF、MPV、PDW和P-LCR显著升高($t = 6.04$ 、 16.24 、 14.26 、 15.63 , P 值均为0.001),差异有统计学意义,见表1。

2.2 Child-Pugh肝功能分级与PLT、RP、IPF、MPV、PDW和P-LCR的关系 对Child-Pugh A、B、C 3组间的PLT、RP、IPF、MPV、PDW和P-LCR进行单因素方差分析,结果显示3组之间上述指标差异有统计学意义(P 值均为0.001)。随Child-Pugh分级的递增,其IPF、MPV、PDW和P-LCR值逐渐升高,PLT和RP值逐渐降低,各组间差异有统计学

表1 肝硬化患者和健康对照组网织血小板及血小板参数测定结果 ($\bar{x} \pm s$)

组别	IPF (%)	RP ($\times 10^9/L$)	PLT ($\times 10^9/L$)	PDW (%)	MPV ($\times 10^9/L$)	P-LCR (%)
肝硬化组 ($n = 162$)	4.09 ± 1.35	3.54 ± 2.13	86.5 ± 41.3	18.9 ± 2.1	14.2 ± 1.2	53.6 ± 7.3
对照组 ($n = 50$)	3.67 ± 1.75	7.11 ± 2.76	191.1 ± 32.7	14.3 ± 1.6	11.3 ± 0.7	36.0 ± 5.7
t 值	6.04	9.63	16.38	14.26	16.24	15.63
P 值	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001

意义(P 值均为0.001),见表2。

3 讨论

肝脏具有合成、分解及免疫等生理功能,是人体内重要的器官。肝脏大部分是肝实质细胞,可执行各项生理功能并具有强大的分裂及增殖能力,因此肝脏具有很强的代偿能力。当肝脏代偿能力正常时,即使患者患有急性肝炎等一些非爆发性肝病,也可表现为无任何可感症状或仅有一些极其轻微的一过性反应(在短时间内即可自愈)。但是由肝炎病毒、酒精及药物等引起的肝病长期治疗未好转时,会导致肝脏慢性炎症的长期存在,进一步加重肝脏的重塑性,周而复始,最终导致肝纤维化,影响机体蛋白质(包括各种凝血有关的凝血酶和凝血因子)的合成以及葡萄糖的利用和脂类的代谢等。肝实质细胞功能性受损将会导致机体的造血系统紊乱,血小板及血小板参数也会受到严重的影响。

血小板是骨髓成熟巨核细胞胞质脱落下来的碎片,是具有一定结构及生物学活性的小块胞质,体积小,无核,能进行新陈代谢,可通过收缩血管形成止血栓,并释放促凝因子以及抗纤溶因子等发挥止血功能^[3]。血小板生成受血小板生成素(thrombopoietin, TPO)的调节^[4,5],具有止血及维护血管内皮完整的重要作用。从Child-Pugh A级至C级,患者外周血中的血小板和TPO水平逐渐下降,引起脾脏指数逐渐上升,血小板与TPO水平存在正相关性。TPO水平的下降可能是导致机体血小板减少的原因之一。

网织血小板与网织红细胞一样,是机体新近从骨髓释放到外周血中最年轻且未成熟的细胞(释放到血液循环的时间不超过24小时)^[6]。网织血小板与正常血小板相比,其胞浆中含有少量的mRNA和粗面内质网,网织血小板是不含DNA或不含核的成分,因此具有合成少量蛋白质的能力。李文庆等^[7]报道:IPF%与MPV、PDW、P-LCR均呈正相关,且与PDW高度相关,其认为IPF%可用于判断骨髓血小板增生情况,特别是部分标本未能报告出MPV、PDW、P-LCR值时,IPF%的检测可作为MPV、PDW、P-LCR的必要补充。肝硬化患者外周血中IPF%显著高于正常对照组,因此测定患者外周血的网织血小板可以较精确地反映其骨髓血小板

的生成情况。网织血小板的体积较大且有更强的血小板生理活性功能,随着PLT成熟,mRNA逐渐消失,体积逐渐变小^[8]。

网织血小板比率是网织血小板与总血小板数量的比值,可反映机体骨髓巨核细胞的活性^[9]。陈建霞等^[10]报道,网织血小板及其比率可以有效地明确PLT的减少是外周血中PLT遭到破坏所致;王海等^[11]发现RP较MPV可更精确地反映骨髓PLT生成情况。因此,RP和IPF可以有效鉴别PLT降低的原因。PLT及其参数是反应PLT功能的指标,MPV可反映PLT体积的大小,可用于鉴别PLT减少的原因;PDW反映PLT的异质性,其升高表示PLT大小不均;P-LCR是机体中的大血小板,其水平升高则提示PLT代谢活跃,聚集和黏附能力较强。有研究表明:引起肝硬化患者PLT变化的原因包括:①肝硬化患者的肝实质细胞功能受损,对外周血血液中内毒素的清除率降低,导致外周血中内毒素升高,内毒素可诱导血小板凝集并且还可损伤血小板,从而使外周血中的血小板减少^[12,13];②肝硬化患者会出现脾功能亢进,可增加血小板的损伤,大大缩短血小板在脾脏的滞留时间,血小板成熟受到抑制,从而导致其寿命缩短及PLT各个参数发生变化^[14]。

MPV是反映血小板大小(体积)及其差异程度的参数,可用来评价骨髓功能以及鉴别外周血中血小板降低的原因。患者机体血小板破坏增加会引起外周血血小板减少,此时外周血的MPV一般会增大;若是骨髓受损导致的外周血中血小板减少,外周血的MPV值一般会降低;另外,在血栓前状态时,患者外周血中MPV值又常会升高,尤其在血小板的聚集期升高显著,并且随着血小板的聚集率和聚集程度的增加,MPV值升高越明显^[15]。PDW可作为血小板活化的更为具体的标志,是反映外周血血小板所含的血小板颗粒及血小板明显大小不一致性以及外周血中血小板消耗增加和(或)破坏增加的参数。P-LCR是反映大血小板比率的参数,大体积的血小板较为年轻,其含有较多的致密颗粒,并释放更多的活性物质,聚集功能强,可诱发机体呈高凝状态。因此,患者外周血中P-LCR值的增高可以提示其机体血小板代谢能力活跃,黏附能力与聚集能力较强大。大血小板的出现也是机体针对血小

表2 肝硬化患者组 Child-Pugh 肝功能分级与网织血小板及血小板参数的关系 ($\bar{x} \pm s$)

组别	IPF (%)	RP ($\times 10^9/L$)	PLT ($\times 10^9/L$)	PDW (%)	MPV ($\times 10^9/L$)	P-LCR (%)
Child-Pugh A 级 ($n=65$)	3.97 ± 1.38	4.69 ± 2.10	118.2 ± 15.4	17.5 ± 2.1	12.8 ± 0.9	47.9 ± 4.3
Child-Pugh B 级 ($n=56$)	4.35 ± 1.46	3.06 ± 2.32	70.3 ± 18.2	19.9 ± 1.8	14.5 ± 0.7	51.8 ± 4.1
Child-Pugh C 级 ($n=41$)	5.17 ± 1.52	2.13 ± 2.41	41.2 ± 17.5	22.1 ± 2.3	15.9 ± 0.8	56.5 ± 4.2
F 值	13.58	9.47	10.71	12.62	11.79	15.21
P 值	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001

板减少的一种有效代偿。据报道^[14],肝硬化患者血小板的形态结构和功能等会发生变化,出现IPF、MPV、PDW和P-LCR增高的现象,与本研究结果一致。

肝硬化患者血小板发生变化的原因包括:①肝硬化患者脾脏肿大淤血造成脾池扩大是肝脏血小板减少的主要原因;②血小板相关免疫蛋白被激活,从而增加了肝脏及脾脏对血小板的清除;③肝硬化时机体循环免疫复合物增多,这些物质沉积在血小板表面,引起血小板自身溶解,同时这些循环免疫复合物还可沉积于机体的造血干细胞表面,使造血干细胞的分化能力降低,血小板生成减少^[12];④肝炎病毒、酒精及某些理化因素对造血组织功能的抑制或削弱作用;⑤肝硬化患者体内的内毒素清除作用下降,机体内毒素累积,影响血小板的生成,导致血小板质量和功能下降;⑥继发性脾功能亢进时,可使大量血小板滞留在脾内,血小板的成熟受到抑制,血小板在脾内的破坏增加;⑦肝硬化患者易出现消化道出血,患者消化道出血时,机体的血小板会参与止血、凝血,导致血小板消耗增多;⑧TPO在血小板形成中起至关重要的作用,可协同其他细胞因子促进血小板的产生,TPO绝大部分是在肝脏内合成,骨髓、肾脏及肌肉等仅产生少量TPO,肝硬化时体内TPO合成明显减少。TPO水平与肝功能的分级呈负相关,TPO合成的减少在肝硬化患者血小板减少中可能起主要作用。

研究发现,血小板水平与肝脏实质细胞的纤维化具有良好的相关性,在诊断肝脏实质细胞纤维化中具有重要的临床应用价值^[16]。本研究显示,肝硬化患者PLT和RP显著低于对照组,IPF、MPV、PDW和P-LCR显著高于对照组。随着肝细胞受损和肝纤维化的进一步加重,肝脏合成TPO减少,从而导致PLT数量减少,PLT数量的减少反过来刺激机体骨髓巨核细胞生成新生PLT,导致新生PLT反应性增多,MPV增加,形成“应激反应性大血小板”^[17]。此外,肝硬化患者出血倾向的发生与不仅与PLT数量有关,还与其形态变化有关。据报道^[18-20],肝硬化时合并PLT数量及功能的改变可使病情进一步加重,影响疾病预后,并可反映肝硬化病情的严重程度。本研究显示,肝硬化患者的Child-Pugh分级中,分级越差,肝细胞损伤越严重,出血的发生率越高,出血程度越严重,PLT和RP减少越明显,IPF和PLT变化也越明显,这充分说明血小板数量和功能与肝功能密切相关,血小板参数可反映肝脏受损程度。另外,本研究也对此162例肝硬化患者的血小板直方图进行观察,笔者发现85%的患者血小板直方图的降波呈锯齿状向右延伸,这明显提示血小板体积较大,P-LCR与健康对照组比较,差异有统计学意义。

综上所述,同时检测肝硬化患者外周血网织血小板(RP和IPF)和血小板参数(MPV、PDW和P-LCR)可以更好地揭示肝硬化患者血小板变化的原因,可作为临床肝硬化实质损害程度及病情的判断和评估指标,为临床医生制定合理的治疗及预防提供可靠依据。此外,外周血网织血小板(RP和IPF)可较为准确地反映骨髓血小板的生成情况,值得向临床推广应用。

参考文献

- [1] 柴晓静, 张晓薇, 陆莉, 等. 网织血小板在急性白血病患者中的检测和临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33: 2194-2195.
- [2] 中华医学会传染病和寄生虫病学分会, 肝病分会. 病毒性肝炎防治方案[J]. 中华肝脏病杂志, 2000, 8: 324-329.
- [3] Bross K, De Meyer SF, Feys HB, et al. Blood platelet biochemistry[J]. Thrombosis Res, 2012, 129: 245-249.
- [4] 范成文, 赵万春. 肝硬化患者血小板参数检测结果分析[J]. 白求恩医学院学报, 2013, 4: 182-183.
- [5] 楼江明, 李林静, 龚陈, 等. 肝硬化患者中血小板参数联合D-二聚体检测的临床意义[J]. 医学与哲学, 2014, 35: 33-34.
- [6] 刘青松, 袁国华, 唐中, 等. 网织血小板对系统性红斑狼疮的诊断和疗效判断价值[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2012, 33: 748-751.
- [7] 李文庆, 李红燕, 程云, 等. 血小板参数临床应用新进展[J]. 世界临床医学, 2015, 9: 36-38.
- [8] 邓剑青, 胡琦, 刘敏, 等. 网织血小板测定在慢性特发性血小板减少性紫癜中的意义[J]. 广东医学, 2011, 32: 1729-1730.
- [9] 李如凯, 郭龙华. 网织血小板在慢性肝病脾血小板减少症诊断中的临床价值[J]. 中国实验诊断学, 2015, 19: 404-406.
- [10] 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: 3140-3141.
- [11] 王海, 周蕾, 许丹丹. 肝硬化患者网织血小板与血小板参数之间的相关性及其临床意义[J]. 浙江中西医结合杂志, 2015, 25: 253-255.
- [12] 王珏琼. 血小板、凝血指标与老年肝硬化患者Child-pugh分级的关系[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33: 6103-6105.
- [13] 李德奎, 刘跃, 杜娟, 等. 肝硬化患者血小板参数, 血液流变学和凝血功能指标检测的临床意义[J]. 中国血液流变学杂志, 2012, 22: 303-305.
- [14] 陈永琴, 成宇, 徐文丽. 肝硬化患者血小板和单核细胞参数的变化及意义[J]. 检验医学, 2012, 27: 954-956.
- [15] 叶云辉, 罗清艳. 血小板参数和凝血指标联合检测在肝硬化诊疗中的意义[J]. 现代诊断与治疗, 2012, 23: 1357-1360.
- [16] 郭向东, 郭伟, 阿曼古, 等. 肝纤维四项联合血小板检测在诊断肝纤维化中的价值[J]. 新疆医学, 2015, 45: 167-170.
- [17] 宋娟芳. 肝病患者血小板参数及凝血功能试验检测的临床研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2012, 22: 811-812.
- [18] 原姗姗, 韩国宏, 柏明, 等. 经颈静脉肝内门体静脉分流术治疗肝硬化静脉曲张出血预后因素分析[J]. 中华消化杂志, 2011, 31: 299-302.
- [19] 徐晓明. 血小板参数对慢性乙型肝炎肝硬化及肝功能评估的临床价值研究[J]. 中国医师进修杂志, 2014, 37: 33-36.
- [20] 徐保成. 186例肝硬化患者血小板参数分析[J]. 医学临床研究, 2012, 29: 1369-1370.

收稿日期: 2015-10-21