

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2790(2006)07-0637-02

内皮细胞损伤、血小板活化及功能状态与 2 型糖尿病的相关性

王芳¹, 刘征雁², 牛保华³ (河南大学医学院: ¹检验系, ²中医教研室, ³病理教研室, 河南 开封 475001)**Correlation between vascular endothelial cell injury, platelet activation and functional status in type 2 diabetes**WANG Fang¹, LIU Zheng-Yan², NIU Bao-Hua³¹Department of Clinical Laboratory, ²Department of Traditional Chinese Medicine, ³Department of Pathology, Medical College, He'nan University, Kaifeng 475001, China

【Abstract】 AIM: To investigate the vascular endothelial cell injury and the platelet activation and functional status change in type 2 diabetes patients. **METHODS:** The plasma levels of von willebrand factor: antigen (vWF:Ag) and granule membrane protein-140(GMP-140) were measured by double sandwich ELISA. The adhesiveness of platelet was determined by Salzman's method. **RESULTS:** The plasma levels of vWF:Ag(145.6 ± 25.6)%, GMP-140(16.8 ± 3.5) μg/L and PAaT(80.3 ± 5.3)% of type 2 diabetes were significantly higher than those of normal controls ($P < 0.05$); The plasma levels of these markers in the group of type 2 diabetes with vascular complication were higher than those in the one without vascular complication($P < 0.05$); plasma levels of GMP-140 and PAaT were positively correlated with those of vWF:Ag(160.8 ± 35.6)%(18.9 ± 5.5) μg/L(89.5 ± 7.8)%, $r = 0.446, 0.413, P < 0.05$]. **CONCLUSION:** Type 2 diabetes can cause vascular endothelial cell injury, platelet activation and functional status change. The plasma levels of vWF:Ag, GMP-140 and PAaT may reflect vascular pathological changes in type 2 diabetes patients to a certain extent.

【Keywords】 diabetes; endothelial cell injury; platelet activation; angiopathies

【摘要】目的:观察 2 型糖尿病患者内皮细胞损伤、血小板活化及功能状态的变化及临床意义。方法:利用双抗体夹心 ELISA 法测定血浆血管性血友病因子抗原 vWF:Ag, 血小板膜表面 α-颗粒膜蛋白 GMP-140 水平, 采用玻珠柱法测定血小板黏附率 PAaT。结果:糖尿病组血浆 vWF:Ag(145.6 ± 25.6)%, GMP-140(16.8 ± 3.5) μg/L, PAaT(80.3 ± 5.3)% 水

平显著高于对照组($P < 0.05$);有血管病变的患者血浆 vWF:Ag(160.8 ± 35.6)%, GMP-140(18.9 ± 5.5) μg/L, PAaT(89.5 ± 7.8)% 水平显著高于无血管病变组($P < 0.05$)。相关分析显示, GMP-140, PAaT 水平与血浆 vWF:Ag 水平显著正相关($r = 0.446, 0.413, P$ 均 < 0.05)。结论:2 型糖尿病患者均存在血管内皮损伤, 并由此引起血小板活化及血小板功能状态的改变;血浆 vWF:Ag, GMP-140 及 PAaT 水平在一定程度上可反映 2 型糖尿病患者血管病变的情况。

【关键词】 糖尿病; 内皮损伤; 血小板活化; 血管病变

【中图分类号】 R446.1 **【文献标识码】** A

0 引言

血管病变是糖尿病患者死亡和致残的主要原因, 对糖尿病血管病变的发病机制做深入探讨, 并据此采取适当的防治方法是十分必要的。我们对糖尿病患者血浆 vWF:Ag, GMP-140 含量以及 PAaT 进行了检测, 探讨糖尿病血管病变形因素并以期指导临床合理用药(降糖、抗血小板、保护血管)以缓解或延迟并发症的发生。

1 对象和方法

1.1 对象 2 型糖尿病患者 68(男 37, 女 31)例, 年龄(50 ± 11.5)岁, 病程 0.5 ~ 23 a, 均符合 1997 年美国糖尿病学会(ADA)诊断标准。并发大血管病变(经临床、心电图及影像学检查证实为冠心病、脑血管病及肢体动脉缺血性病变)和/或微血管病变(经眼底检查证实为糖尿病视网膜病变及尿蛋白排泄率 $> 20 \mu\text{g}/\text{min}$ 的糖尿病肾病)者 35 例;未发现血管病变者 33 例。抽血前 2 wk 均未服用抗凝及血管保护药物。对照组为健康成人 60(男 40, 女 20)例, 年龄(50 ± 12)岁。

1.2 方法 上午 08:00/09:00 空腹采集肘静脉血置于含有 129 mmol/L 枸橼酸钠(测定 GMP-140 用 20 g/L EDTANa₂)抗凝剂的塑料离心管中, 9:1 抗凝, 3000/min 离心 10 min, 分离血浆置 -20℃ 低温冰箱中保存, 用酶联免疫吸附双抗体夹心(ELISA)法测定 vWF:Ag, GMP-140 水平(GMP-140 试剂盒由上海太阳生物制剂公司提供, vWF:Ag 试剂盒由上海捷门公司提供)。血小板黏附性测定(PAaT):采用玻珠柱法,

收稿日期 2005-05-15; 接受日期 2005-12-19

基金项目 河南省科技攻关基金(0424410102)

通讯作者:刘征雁. Email lzy8753@tom.com Tel (0378) 5654011

作者简介:王芳. 讲师. Tel 13937856365 Email wf2864754@sina.com

血小板黏附管为内径 3 mm,长 9.4 cm 的塑料管。内装直径为 0.3~0.5 mm 玻璃珠 1.5 g,塑料管两端封以孔径 0.05 cm 的尼龙布。操作遵守《全国临床检验操作规程》中提供的标准方法。

统计学处理 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差分析,各实验指标间作直线相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

糖尿病组 vWF:Ag, GMP-140, PAcT 水平均显著高于对照组 ($P < 0.05$);有血管病变的患者组 vWF:Ag, GMP-140, PAcT 水平显著高于无血管病变组 ($P < 0.05$, 表 1)。糖尿病患者 GMP-140, PAcT 水平与血浆 vWF:Ag 水平显著正相关 ($r = 0.446, 0.413, P < 0.05$)。

表 1 2 型糖尿病患者 vWF:Ag, GMP-140, PAcT 水平 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	vWF:Ag (%)	GMP-140 ($\mu\text{g/L}$)	PAcT (%)
正常	60	100.5 \pm 20.8	10.9 \pm 2.1	58.5 \pm 8.8
糖尿病	68	145.6 \pm 25.6 ^b	16.8 \pm 3.5 ^a	80.3 \pm 5.3 ^a
无血管病变	35	127.4 \pm 25.6 ^a	14.8 \pm 2.3 ^a	75.6 \pm 6.7 ^a
有血管病变	33	160.8 \pm 35.6 ^{bd}	18.9 \pm 5.5 ^{bc}	89.5 \pm 7.8 ^{bc}

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 正常组; ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$ vs 无血管病变。

3 讨论

vWF 是血管内皮细胞合成、分泌的一种糖基化蛋白质,血浆 vWF 升高被认为是血管内皮细胞受损的标志,血管内皮损伤常常是血液高凝状态和血小板活化的重要诱因^[1-3]。本研究显示 2 型糖尿病患者血浆 vWF 水平显著增高,提示患者存在内皮损伤。

GMP-140 是一种新近发现的血小板膜糖蛋白,在血小板和内皮细胞受到刺激时表达增加,测定血小板表面及血浆 GMP-140 水平可以作为血小板激活的一个新的标志,GMP-140 能介导血小板和内皮细胞、白细胞和内皮细胞之间的黏附,在启动和扩大血栓形成过程中具有重要意义^[4]。本研究显示糖尿病患者 GMP-140 水平显著增高,且血管病变组升高更为明显,说明糖尿病患者尤其是合并血管病变者血小板处于明显活化状态。本研究显示糖尿病患者血小板黏附率显著增高,血小板黏附率与内皮损伤密切相关。PAcT 增高的原因可能与患者血管内皮细胞受损,血液中存在高浓度的 vWF 及血小板处于高活化状态有关^[3]。综上所述,糖尿病患者血管内皮细胞的损害,血小板活性的增强、血液高凝状态使糖尿病成为心血管病变,特别是动脉粥样硬化的高危因素。故敏感、特异、有效地监测能反映糖尿病患者血管内皮损伤、血小板活化和功能状态改变的指标,对指导临床合理用药(降糖、抗凝、纤溶、抗血小板、保护血管)以缓解或延迟并发症的发生具有重要意义。

【参考文献】

- [1] Ruggeri ZM. Structure of von Willebrand factor and its function in platelet adhesion and thrombus formation [J]. Best Pract Res Clin Haematol, 2001, 14: 257-279.
- [2] Pearson JD. Endothelial cell function and thrombosis [J]. Best Pract Res Clin Haematol, 1999, 12: 329-341.
- [3] Yamada T, Sato A, Nishimori T, et al. Importance of hypercoagulability over hyperglycemia for vascular complication in type 2 diabetes [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2000, 49: 23-31.
- [4] 王鸿利, 王学锋. 血栓病临床新技术 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2003: 400-410.

编辑 潘伯荣

· 期刊文摘 · 夹心 ELISA 法快速检测肝病患者血清中金属蛋白酶组织抑制剂-1

[邵 彬, 聂青和, 王平忠, 李光玉, 张亚飞, 苟艳子. 细胞与分子免疫学杂志 2006 22(1) 82-84]

目的:建立一种快速检测肝病患者血清基质金属蛋白酶组织抑制剂-1 (TIMP-1) 的双抗体夹心 ELISA,了解血清 TIMP-1 的水平与肝纤维化病程进展程度的关系。方法:以不同浓度的抗人 TIMP-1 单克隆抗体 (mAb) 为包被抗体,加入待测抗原以及辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的抗 TIMP-1 mAb 作为标记抗体进行方阵滴定,建立双抗体夹心 ELISA,并用于临床检测 408 例肝病者血清 TIMP-1 的水平。结果:方阵滴定的结果表明包被抗体浓度为 1 mg/L,血清稀释倍数 1:100,HRP 标记 mAb 的最佳工作浓度为 1:400。以此条件建立的夹心 ELISA 法具有良好的可重复性,中和抑制率在 85% 以上,稳定性良好,与国外检测 TIMP-1 的 ELISA 试剂盒进行对比试验,具有良好的相关性 ($r = 0.988$)。用于临床快速检测肝硬化的检出阳性率为 76.4%,明显高于慢性肝炎 (40.2%) 和急性肝炎 (19.5%), $P < 0.005$,并随着患者肝纤维化程度的加重而升高 ($P < 0.001$)。结论:血清 TIMP-1 水平的变化可作为诊断肝纤维化良好指标。本法简便、快速,敏感性高、特异性强,用于肝纤维化的人血清学快速诊断,尤其适于医院及基层医疗单位应用。