

## 2型糖尿病患者血小板参数及血小板表面相关膜糖蛋白和线粒体膜电位表达的临床意义\*

余司文, 武强, 王艳华, 贺乐奇, 沈芳

(复旦大学附属上海市第五人民医院 检验科, 上海 200240)

**[摘要]** 目的: 探讨2型糖尿病(T2DM)患者血小板参数、血小板聚集功能(PAgT)、血小板表面相关膜糖蛋白(CD41b、CD61和CD62P)及线粒体膜电位( $\Delta\psi_m$ )表达的临床意义。方法: 选取75例T2DM患者和50例健康对照者, 取清晨空腹静脉血, 检测血小板计数(PLT)、血小板平均体积(MPV)、血小板压积(PCT)、血小板分布宽度(PDW)、PAgT、CD41b、CD61、CD62P及 $\Delta\psi_m$ 的变化。结果: 与对照组比较, T2DM患者MPV、PDW及PAgT水平均升高( $P < 0.05$ );  $\Delta\psi_m$ 表达降低( $P < 0.05$ ); CD41b、CD62P表达升高( $P < 0.05$ )。结论: T2DM患者部分血小板相关参数发生变化, 这些参数的变化可能是糖尿病患者微血管病变的早期指标。

**[关键词]** 糖尿病; 血小板; 血小板膜糖蛋白类; 血小板聚集率; 血小板线粒体膜电位; 微血管病变

**[中图分类号]** R446.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2019)09-1105-04

**DOI:**10.19367/j.cnki.1000-2707.2019.09.024

### Clinical Significance of Platelet-related Parameter, Platelet Surface Associated Membrane Glycoprotein and Mitochondrial Membrane Potential in Type 2 Diabetes

YU Siwen, WU Qiang, WANG Yanhua, HE Leqi, SHEN Fang

(Clinical Laboratory, the Fifth People's Hospital of Shanghai Affiliated to Fudan University, Shanghai 200240, China)

**[Abstract] Objective:** To probe into the clinical significance of platelet parameters, platelet aggregation function (PAgT), platelet surface associated membrane glycoprotein (CD41b, CD61 and CD62P) and mitochondrial membrane potential ( $\Delta\psi_m$ ) expression in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM). **Methods:** 75 cases with T2DM and 50 healthy people were involved, mensuration of platelet parameters (PLT, MPV, PCT, PDW, PAgT, CD41b, CD61, CD62P,  $\Delta\psi_m$ ) expressions were respectively given to 75 patients with T2DM and 50 healthy controls to observe the difference between the two groups. **Results:** Compared with the control group, the diabetic group showed an increase in PDW, MPV and PAgT ( $P < 0.05$ );  $\Delta\psi_m$  expression decreased ( $P < 0.05$ ); the CD41b and CD62P expression rose up ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** MPV, PDW, PAgT, CD41b and CD62P expression level increased significantly and  $\Delta\psi_m$  expression is reduced in patients with T2DM. These parameter changes can be used as early indicators to assess the risk of vascular complications for T2DM.

**[Key words]** diabetes; platelet; platelet membrane glycoprotein; platelet aggregation rate; platelet mitochondrial membrane potential; microvascular lesion

随着生活水平的提高及生活习惯的改变, 高热量食物摄入增加、人口老龄化加剧及运动量减少, 2

型糖尿病(非胰岛素依赖型糖尿病, type 2 diabetes mellitus, T2DM)已成为继心血管病、肿瘤后第3大

\*[基金项目] 闵行区卫生和计划生育委员会项目(2016MW06)

网络出版时间:2019-09-16 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/52.1164.R.20190916.2137.024.html>

流行非传染疾病<sup>[1-3]</sup>。目前研究显示,2型糖尿病的发病机制不仅与家族遗传、生活方式、内分泌干扰物、肠道菌群等因素有关,还可能与血小板异常有关<sup>[4-5]</sup>,但此方面研究较少。本研究拟通过检测T2DM患者血小板计数(blood platelet count,PLT)、血小板平均体积(mean platelet volume,MPV)、血小板压积(thrombocytocri,PCT)、血小板分布宽度(platelet distribution width,PDW)、血小板聚集功能(platelet aggregation tes,PAgT)、血小板表面相关膜糖蛋白(CD41b、CD61和CD62P)及线粒体膜电位( $\Delta\psi_m$ )的变化,探讨血小板异常对T2DM患者的临床意义及与T2DM发病机制的关系。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2017年5月-2018年5月收治的符合中国2型糖尿病防治指南(2013年版)糖尿病诊断及分型标准<sup>[6]</sup>的T2DM住院患者75例(男性45例,女性30例),平均52.3岁;选取同期健康体检人群50例作为对照组,无高血压、糖尿病、心、肝、肾及血液等疾病(男性20例,女性30例),平均45.6岁。所有参与者均签署知情同意书。

### 1.2 检测指标

所有被检测人员(T2DM患者和对照组)在受检前2周内均不能服用对血小板功能有影响的药物,保持正常饮食和生活规律,避免剧烈运动,空腹8h<sup>[7]</sup>后于第2天清晨空腹抽取肘静脉血2mL、15%乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K2)抗凝,用日本Sysmex XN9000全自动血球分析仪检测PLT、MPV、PCT及PDW;(2)肘静脉血1.8mL、3.2%枸橼酸钠抗凝,用Model 700型全血血小板聚集仪(Chrono-log公司)检测PAgT;(3)肘静脉血1.8mL、3.2%枸橼酸钠抗凝,用FACSCalibur型流式细胞仪(美国BD公司)检测CD41b、CD61、CD62P和 $\Delta\psi_m$ 的荧光阳性百分率。所有检测指标均要求4h内完成检测。

### 1.3 统计学分析

使用SPSS 19.0软件处理数据,定量资料用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较用t检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 PLT、MPV、PCT、PDW和PAgT

与对照组比较,T2DM组被检者PLT计数降

低,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ );PDW及MPV显著升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );两组被检者PCT比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );与对照组比较,T2DM组患者的PAgT升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表1。

表1 两组被检者PLT、MPV、PCT、PDW及PAgT比较( $\bar{x} \pm s$ )

Tab.1 The PLT, MPV, PCT, PDW and PAgT of the two groups

指标	对照组 (n=50)	T2DM组 (n=75)	t	P
PLT( $\times 10^9/L$ )	235.68 ± 34.82	224.23 ± 58.11	22.35	0.44
MPV(fL)	10.81 ± 0.87	14.96 ± 2.56	16.34	0.02
PCT(fL)	0.25 ± 0.05	0.24 ± 0.03	10.39	0.67
PDW(%)	13.49 ± 2.32	18.72 ± 4.39	14.52	0.04
PAgT(max)(%)	53.54 ± 8.17	75.25 ± 7.22	24.08	0.03

### 2.2 $\Delta\psi_m$ 和CD62P、CD41b和CD61

与对照组比较,T2DM组的CD62P、CD41b表达水平均升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); $\Delta\psi_m$ 的含量降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );CD61的表达水平升高但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表2,图1、2。

表2 两组被检者CD41b、CD61、CD62P和 $\Delta\psi_m$ 比较( $\%, \bar{x} \pm s$ )

Tab.2 Comparison of CD41b, CD61, CD62P and  $\Delta\psi_m$  between the two groups

指标	对照组 (n=50)	T2DM组 (n=75)	t	P
$\Delta\psi_m$	92.94 ± 11.06	65.43 ± 8.42	18.49	0.02
CD62P	1.69 ± 0.62	4.26 ± 1.06	15.67	0.03
CD41b	88.98 ± 7.34	92.09 ± 4.6	26.72	0.05
CD61	91.41 ± 5.22	90.34 ± 5.11	17.93	0.23

## 3 讨论

T2DM患者最具有特异性的并发症是微血管病变,这增加了缺血性心血管事件的风险<sup>[8]</sup>,因此及早发现、及时处理血管性病变,对延缓其并发症进程及改善预后显得尤为重要。目前,T2DM微血管病变在常规体检中难以发现,大部分患者都得不到及时、有效的处理<sup>[9]</sup>。因此,临床上对T2DM微血管病变的早期筛查,已成为一项迫在眉睫的难题。本研究结果表明,T2DM患者外周血中血小板 $\Delta\psi_m$ 降低( $P < 0.05$ ),PLT数量降低,PAgT、PDW、

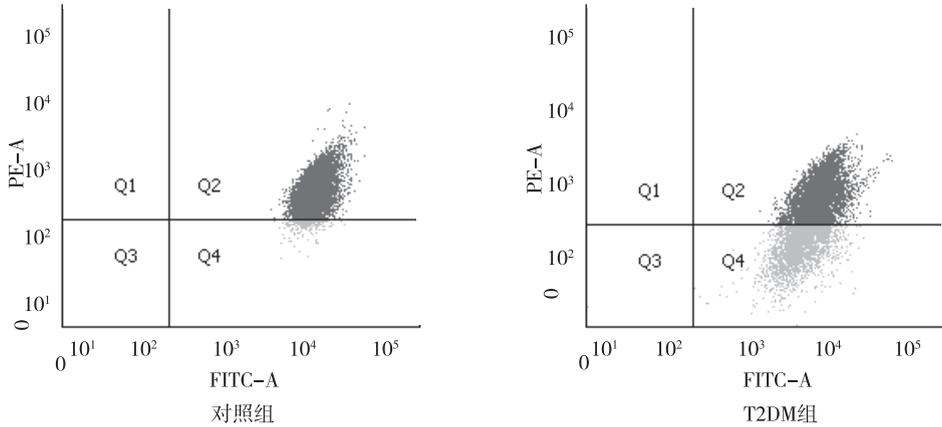
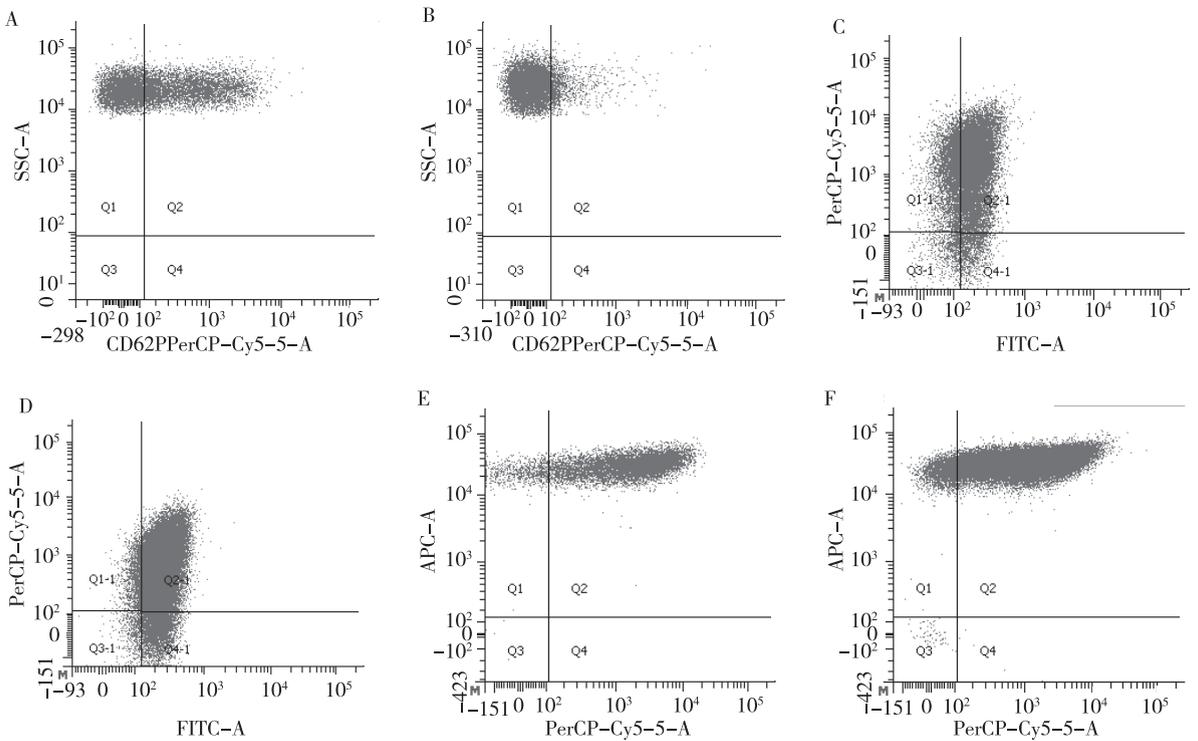


图1 两组被检者  $\Delta\psi_m$   
Fig.1  $\Delta\psi_m$  in the two groups



注:A、B为CD62P,C、D为CD41b,E、F为CD61;A、C及E为对照组,B、D及F为T2DM组。

图2 两组被检者CD62P、CD41P及CD61

Fig.2  $\Delta$ CD41b, CD61 and CD62P of the 2 groups

MPV水平升高( $P < 0.05$ )。有学者研究表明,血小板要避免不被激活、黏附、聚集,本身就要具有一定的能量,线粒体是血小板产生能量的最主要场所,而血小板线粒体膜电位的高低反映血小板能量储备力的大小<sup>[10]</sup>。有不少学者发现T2DM患者血小板MPV、PDW均大于对照组<sup>[8]</sup>,PLT数量下降<sup>[11]</sup>;Kroemer还发现血小板 $\Delta\psi_m$ 表达降低是细胞早期凋亡的重要反映指标<sup>[12]</sup>,MPV、PDW的增高不仅

与糖尿病密切相关,还是其微血管病变的一个高危因素<sup>[13]</sup>,PAgT含量越高,血小板更易发生黏附和聚集,血栓形成的可能性越大<sup>[14]</sup>。因此,本研究有理由认为,T2DM患者可能长期处于内分泌紊乱的状态,导致血小板自身能量消耗(PLT减少),血小板提早凋亡( $\Delta\psi_m$ 减低),刺激机体骨髓本身生产大血小板代偿(MPV和PDW升高),血小板聚集功能加强(PAgT升高),更易粘附,使血管形成微血

栓。众所周知,血小板表面相关膜糖蛋白由质膜糖蛋白(GP II b-III a、GP I a-II a 和 GP I b-IX-V 等)和颗粒膜糖蛋白(CD62P 和 CD63)组成,参与血小板粘附、聚集和活化等一系列的反应,在血栓性疾病的发生与发展中起着重要作用<sup>[15]</sup>。其中 CD62P 是仅表达于静息血小板 a 颗粒膜表面的一种蛋白<sup>[16]</sup>,正常情况下不表达或低水平表达<sup>[17]</sup>,而 CD41b、CD61 是以活性状态存在于未被激活的血小板上,并不与黏附蛋白结合<sup>[18]</sup>。本研究结果显示,T2DM 组 CD41b 和 CD62P 表达水平均高于与正常对照组( $P < 0.05$ ),但 CD61 表达量与对照组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),可以认为 T2DM 患者机体受到高糖刺激,血小板 a 颗粒内的 Weibel-palade 小体迅速与细胞膜融合,使 CD62P 在短时间内高表达,促使血小板活化<sup>[19]</sup>,诱导血小板内质膜释放增加及 GP II b/III a (CD41b、CD61)复合物表达增加<sup>[20]</sup>。GP II b/III a 复合物表达增加介导血小板大量粘附在内皮细胞上,改变 CD41b/CD61 立体构型,促使 GPIIb/IIIa 与黏附蛋白结合,从而诱导血小板粘附、聚集和释放等活化功能增强,形成血栓<sup>[21]</sup>,但其具体机制有待于进一步研究。另外,本研究血小板参数均采用检测者的外周血,方便采集且检测时间较短,大大减少体外人为因素对血小板的激活,可以快速、准确地得到检测结果,因此建议临床上可以将 PLT 计数、MPV、PDW、PAgT、 $\Delta\psi_m$ 、CD41b 及 CD62P 等指标作为评估 T2DM 患者血管并发症风险的早期指标,同时还可以对其病程进行及时的监控。

综上所述,本研究结果表明血小板参数、血小板表面相关膜糖蛋白、线粒体膜电位表达异常可能参与了 T2DM 的发生发展,但其具体机制有待于深入研究。同时,可将此类检测指标作为 T2DM 血管并发症风险的早期指标,值得在临床上进一步推广应用。

## 4 参考文献

[1] VANHOUTTE P M, ZHAO Y, XU A, et al. Thirty years of saying No: sources, fate, actions. and misfortunes of the Endothelium-Derived vadofilatot mediatou [J]. Circ Res, 2016, 119(2):375-396.

[2] CHENG D, ZHAO J, JIAN L, et al. Relationship between red celldistributian width and warly renal injury in paients with gestational diabetes mellitus [J]. Ren Fail, 2016, 7

(12):1-6.

[3] 季发权,吉衡山,张龙江,等. 2 型糖尿病患者骨密度变化及其相关影响因素 [J]. 贵州医科大学学报, 2018, 43(9):1109-1113.

[4] WANG W Q, LU J L. Molecular mechanisms of type 2 diabetes mellitus in Chinese (in Chinese) [J]. Sci Sin Vitae, 2018, 48: 840-846.

[5] SHEN W Q, XING Y F, HUANG L. Changes and clinical significance of platelet parameters and hemorrhenology in diabetic kidney disease [J]. Clinical Medicine of China, 2016, 32(7):622-62.

[6] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南 (2017 年版) [J]. 中国实用内科杂志, 2018, 38(4): 292-344.

[7] 李若淳,刘建红,王小星,等. 血清胱抑素 C 联合视黄醇结合蛋白在早期糖尿病肾病诊断中的价值 [J]. 贵州医科大学学报, 2017, 42(12):1-4.

[8] ZACCARDI F, ROCCA B, PITOCOCO D, et al. Platelet mean volume, distebution width and count in type 2diabetes, impaired fasting glucose and mtiabolic syndrome: a meta-analysis [J]. Diabetes Metab Res Rev, 2015, 31(4):402-410.

[9] 梁旭满. 2 型糖尿病患者血小板参数监测及微血管病变的临床研究 [J]. 贵州医科大学学报, 2016, 22(4): 379-381.

[10] HUANG T T, MIAO L F, YI J. Clopidogrel resistance in coronary artery disease and hypertension patients with high blood sugar: involving increased platelet ATP content and mitochondrial membrane potential decreased [J]. Chin J Arterioscler, 2017, 25(10):1025-1029.

[11] 赵志勇. 血小板四项参数与 2 型糖尿病并发缺血性脑卒中的关系 [D]. 南京:南京医科大学, 2017.

[12] KROENER G, REED J C. Mitochondrial control of cell death [J]. Nat Med, 2000, 6(5):513-519.

[13] ZHANG Z H. Expression and significance of platelet parameters, fibrinogen and D-dimer in type 2 diabetic patients with microangiopathy [J]. China Medical Herald, 2014, 11(16):70-73.

[14] ENQUBAHRIE D A, FELDMAN H A, HOELSCHE D H, et al. Serum homocysteine and folate concentrations among a US cohort of adlledcents before and after folicacid fortification [J]. Public Health Nutr, 2012, 15(10):1818-1826.

[15] LIANG H X, ZHANG Z A, PANG Z X. Key protein disulfide isomerase-platelet membrane glycoproteins II b III a receptor Expression analysis in type 2 diabeticmic [J]. Shanxi Med J, 2018, 47(23):2800-2802.

(下转第 1112 页)