

## • 临床研究 •

## 老年冠心病血小板表面活性物质的改变

张丽萍 叶平 郑延松 段留法 范英鲜 唐朝枢 戴智云 李葭灰

**【摘要】** 目的 探讨老年稳定性及不稳定性心绞痛患者血小板表面活性物质膜糖蛋白Ⅱb/Ⅲa(PAC-1)及P-选择素(CD62p)的变化。方法 采用流式细胞术(FCM),以单克隆抗体分子作为分子探针,检测健康老年人及老年稳定性及不稳定性心绞痛患者血小板膜上PAC-1及CD62p的表达量。结果 稳定性及不稳定性心绞痛组血小板表面PAC-1表达的阳性百分率及平均荧光强度明显高于对照组,尤其是不稳定性心绞痛组。不稳定性心绞痛组血小板表面CD62p表达的阳性百分率及平均荧光强度明显高于对照组,而稳定性心绞痛组与对照组比较无明显差异。结论 老年稳定性及不稳定性心绞痛患者血小板表面活性物质的表达量明显增加,说明血小板明显被激活,对临床上抗血小板药物的应用有指导作用。

**【关键词】** 心绞痛;血小板;糖蛋白类;P-选择素

## Changes of active molecular marker on platelet surface in old patients with coronary disease

ZHANG Liping, YE Ping, ZHENG Yansong, et al

The Second Department of Geriatric Cardiology, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

**【Abstract】** Objective To investigate the changes of active platelet markers and their significance in old patients with unstable and stable angina. Methods The glycoprotein Ⅱb/Ⅲa(PAC-1) and P-selectin (CD62p) were used as molecular markers of activated platelets, which were analyzed by flow cytometric 3-color immunofluorescence. Results PAC-1 expression of platelet membrane surface in old patients with unstable and stable angina was higher than that in healthy individuals, especially in patients with unstable angina. Expression of CD62p on platelet membrane surface in patients with unstable angina was higher than that in patients with stable angina and control group. Conclusions The results suggest that PAC-1 and CD62p may be regarded as sensitive and specific molecular markers in activated platelets. There is platelet activation in old patients with unstable and stable angina, which has important significance for the antiplatelet therapy in these patients.

**【Key words】** angina pectoris; platelet; glycoprotein; P-selectin

冠心病病人的冠状动脉病变处存在多种激活血小板的因素,如暴露的胶原、动脉管道狭窄导致的高切变力及粥样硬化斑的易变性。所以血流经病变处时血小板被激活,活化血小板的质膜糖蛋白(glycoprotein, GP)会发生显著变化,原来存在于颗粒膜上的GP在质膜上大量表达,成为活化血小板的分子

标志物。本研究用流式细胞术(flow cytometry, FCM)特异性地检测血小板膜糖蛋白Ⅱb/Ⅲa(PAC-1)及P-选择素(CD62p)的变化,并探讨其临床意义。

### 1 资料与方法

1.1 病例及分组 正常对照组15例(男10例,女5例),为体检正常,无心脑血管病的健康老年(>60岁)志愿者,平均年龄(65.8±3.6)岁。稳定性心绞痛组20例(男14例,女6例),为解放军总医院门诊及住院的老年稳定性心绞痛患者(>60岁),无并发症,平均年龄(66.3±4.2)岁。不稳定性心绞痛组

收稿日期:2006-05-24

作者单位:100853北京市,解放军总医院老年心血管二科(张丽萍、叶平、郑延松、段留法、范英鲜、戴智云、李葭灰);100034北京市,北京大学医学部生理/病理生理系(唐朝枢)

作者简介:张丽萍,女,1962年5月生,山西省交城县人,医学博士,主任医师,教授,科副主任。Tel: 010-66939190, E-mail: Zhanglpdoctor@yahoo.com.cn

20例(男15例,女5例),老年不稳定性心绞痛患者(>60岁),无并发症,平均年龄(67.5±3.2)岁。

**1.2 诊断及排除标准** 稳定性心绞痛的诊断标准为劳力性心绞痛持续3个月以上或运动试验阳性。不稳定性心绞痛的诊断标准为初发劳力型心绞痛、恶化劳力型心绞痛及静息性心绞痛。无心肌坏死的心肌酶谱改变,同时伴有心电图上ST段压低或T波的改变。肿瘤及血液病患者除外。

**1.3 方法** 采用FCM特异性地检测血小板膜糖蛋白Ⅱb/Ⅲa(PAC-1)及P-选择素(CD62p)<sup>[1]</sup>。

**1.4 数据统计** 以中位数或均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,以Stata7.0统计软件处理数据。多组均数间的比较采用One way ANOVA检验,多组间中位数比较采用Kwallis检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 3组血小板表面PAC-1和CD62p的测定结果

从表1可见,稳定性心绞痛及不稳定性心绞痛组患者血小板膜PAC-1阳性百分率及平均荧光强度(mean fluorescent intensity, MFI)明显增高,与正常对照组比较差异极显著( $P < 0.01$ ),不稳定性心绞痛组患者血小板膜PAC-1阳性百分率及MFI与稳定性心绞痛组比差异极显著( $P < 0.01$ )。不稳定性心绞痛组CD62p阳性百分率及MFI明显升高,与正常对照组差异显著( $P$ 分别为 $< 0.01$ 及 $<$

$0.05$ ),而与稳定性心绞痛组比差异不显著,稳定性心绞痛组与正常对照组相比差异不显著。

**2.2 3组一般资料的比较** 从表2可见三组在年龄、活化部分凝血激酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT)、凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、凝血酶原时间活动度(PTa)、国际标准化比值(international normalized ratio, INR)方面无显著性差异。稳定性心绞痛组及不稳定性心绞痛组病人体重指数明显升高与对照组比较有显著差异( $P$ 分别为 $< 0.05$ 及 $< 0.01$ )。不稳定性心绞痛组患者纤维蛋白原(fibrinogen, Fbg)与对照组及稳定性心绞痛组比较 $P < 0.01$ 。

## 3 讨论

在正常血液循环中血小板处于静息状态,受到生理及物理刺激因子作用时,血小板发生活化,伸出伪足并释放胞内颗粒内容物,参与生理止血或病理性血栓形成等。CD62p(P-选择素或GMP-140或PADGEM)存在静止血小板的 $\alpha$ 颗粒膜上,刺激活化时,从 $\alpha$ 颗粒释放,CD62p随 $\alpha$ 颗粒内容物的释放而与质膜融合,成为血小板活化的标志<sup>[2]</sup>,导致中性白细胞黏附于血小板,P-选择素导致了大量的多形核白细胞、激活的内皮细胞及血小板相互反应<sup>[3]</sup>。

GPⅡb/Ⅲa<sup>[4]</sup>是血小板上含量最多的膜蛋白,GPⅡb/Ⅲa不但是Fbg的受体,而且能与纤维连接蛋白,玻璃连接蛋白和VWF因子等黏附蛋白结合。正常循环中的血小板不能与血浆Fbg结合,只有当

表1 3组血小板膜表面PAC-1和CD62p测定结果比较(中位数)

组别	例数	PAC-1(%)	PAC-1(MFI)	CD62p(%)	CD62p(MFI)
对照组	15	1.80(0.30-6.33)	21.8(13.5-35.28)	0.89(0.22-8.13)	25.6(19.37-36.96)
稳定性心绞痛组	20	3.88(0.30-24.3)*	32.15(19.1-40.23)*	2.08(0.76-9.61)	33.08(21.6-68.5)
不稳定性心绞痛组	20	23.45(3.6-51.45)* <sup>△</sup>	45.05(22.04-67.30)* <sup>△</sup>	5.05(0.32-18.36)*	53.30(15.43-70.23)*

注:与正常对照组比较,\* $P < 0.05$ ; \* $P < 0.01$ ;与稳定性心绞痛组比<sup>△</sup> $P < 0.01$

表2 3组一般资料比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	年龄(岁)	体重指数(kg/m <sup>2</sup> )	Fbg(mg/L)	APTT(s)	PT(s)	Pta	INR
对照组	15	65.8±3.6	22.47±2.20	291.9±64.2	29.0±5.1	12.7±1.3	0.79±0.08	1.24±0.12
稳定性心绞痛组	20	66.3±4.2	23.70±1.13*	300.3±76.5	30.6±5.0	13.0±1.7	0.78±0.15	1.25±0.13
不稳定性心绞痛组	20	67.5±3.2	24.50±2.22* <sup>△</sup>	389.2±68.9* <sup>△</sup>	30.9±5.2	13.1±1.6	0.80±0.28	1.26±0.12

注:与正常对照组比较,\* $P < 0.05$ ; \* $P < 0.01$ ;与稳定性心绞痛组比较,<sup>△</sup> $P < 0.01$

血小板被活化时才能暴露 Fbg 结合位点而与 Fbg 结合,从而形成血小板-Fbg-血小板结合状态,即血小板聚集,成为导致血小板性血栓形成的最后通路。PAC-1<sup>[5]</sup>是早期血小板活化的标志物,抗体与活化后血小板膜表面的 GP II b/III a 复合物 Fbg 结合位点结合。CD62p 是血小板活化后期的标志物<sup>[6]</sup>,能特异地与活化血小板结合。

本研究采用流式细胞仪检测血小板表面活化标志物,需抗凝全血标本,且用量极少,影响血小板体外活化因素较少(如离心等),更接近生理状态,使血小板与红细胞及白细胞在一起,比以往方法简单快捷。该试验结果示,稳定性及不稳定性心绞痛组血小板表面 PAC-1 表达的阳性百分率及平均荧光强度明显高于对照组,说明该两组患者的血小板活化明显,尤其是不稳定性心绞痛组。不稳定性心绞痛组血小板表面 CD62p 表达的阳性百分率及平均荧光强度明显高于对照组,而稳定性心绞痛组与对照组比较无明显差异。Hu 等<sup>[7]</sup>报道稳定性心绞痛、不稳定性心绞痛及心梗患者血中 GMP-140 明显高于对照组,存在高凝状态,D 二聚体、 $\alpha_2$  抗纤溶酶、促凝血酶 F<sub>1+2</sub> 及纤维蛋白肽 A 均增高。Vidal 等<sup>[8]</sup>报道了 30 例心绞痛患者血小板表面 CD62p 及 PAC-1 的表达明显高于对照组,与本试验结果相似,但他们分组不象我们细,血小板均在上机前处理过(稀释及洗涤),且未见老年病例的报道。近年来,冠状动脉粥样硬化疾病被认为是冠状动脉血管壁的慢性炎症病变,其发生发展中的细胞黏附机制日益受到重视,内皮细胞、白细胞和血小板之间以及血管内皮基质间相互黏附、相互作用而导致炎症反应和促凝异常,血栓形成,从而促进冠状动脉粥样斑块的形成和发展,P-选择素在其中起着重要的作用<sup>[9,10]</sup>。有证据提示 P-选择素在动脉粥样形成的早期即起作用,并发现动脉粥样斑块局部内皮细胞 P-选择素表达明显升高。本研究结果还提示,似乎慢性的心肌缺血不引起血浆 P-选择素水平的明显改变,急性严重的心肌缺血才会导致血小板和(或)内皮细胞与白细胞相互黏附,从而引起 P-选择素明显升高。Ridker 等<sup>[11]</sup>报道,即使除外肥胖、高血压、糖尿病及运动的影响血浆 P-选择素增多 25%,心血管事件

(心梗、卒中、需冠状血管再通及死亡)增加 28%。可见血浆 P-选择素能预见心脑血管事件,血小板表面 PAC-1 及 CD62p 表达量能否预见心脑血管事件值得研究。

#### 参考文献

- [1] 张丽萍,刘国树,段留法,等.老年高血压合并 2 型糖尿病患者血小板表面 P-选择素及糖蛋白 GP II b/III a 的变化.解放军医学杂志,2003,28:542-543.
- [2] Mcever PR. GMP-140: a receptor for neutrophils and monocytes on activated platelets and endothelium. J Cell Biochem,1991,45:156-161.
- [3] Jilma B, Fasching P, Ruthner C, et al. Elevated circulating P-selectin in insulin dependent diabetes mellitus. Thromb Haemost,1996,76:328-332.
- [4] 王振义,李家增,阮长耿.血栓与止血基础理论与临床.上海:上海科学技术出版社,1995. 34-38.
- [5] Taub R, Gould RJ, Garsky VM, et al. A monoclonal antibody against the platelet fibrinogen receptor contains a sequence that mimics a receptor recognition domain in fibrinogen. J Biol Chem,1989,264:259-265.
- [6] Michelson AD. Flow cytometry: a clinical test of platelet function. Blood,1996,87:4925-4936.
- [7] Hu Y, Song S, Wei W, et al. Study on the hypercoagulable state in patients with angina and myocardial infarction. J Tongji Med Univ,1998,18:18-20,24.
- [8] Vidal C, Spaulding C, Picard F, et al. Flow cytometry detection of platelet procoagulant activity and microparticles in patients with unstable angina treated by percutaneous coronary angioplasty and stent implantation. Thromb Haemost,2001,86:784-790.
- [9] Shebuski RJ, Kilgore KS. Role of inflammatory mediators in thrombogenesis. J Pharmacol Exp Ther,2002,300:729-735.
- [10] Carter AM, Anagnostopoulou K, Mansfield MW, et al. Soluble P-selectin levels, P-selectin polymorphisms and cardiovascular disease. J Thromb Haemost, 2003, 1: 1718-1723.
- [11] Ridker PM, Buring JE, Rifai N. Soluble P-selectin and the risk of future cardiovascular events. Circulation, 2001,103:491-495.