

2 型糖尿病患者活化血小板糖基化复合物水平与颈动脉粥样硬化的关系

潘永源, 王立, 万岁桂

(首都医科大学宣武医院内分泌科, 北京市 100053)

[主题词] 流式细胞术; 血小板活化; 动脉粥样硬化; 糖尿病

[摘要] 探讨 2 型糖尿病患者血小板活化与颈动脉粥样硬化的关系, 应用流式细胞仪测定 118 例 2 型糖尿病患者(其中合并颈动脉粥样硬化者 73 例)及 25 例正常对照者的血小板活化指标活化血小板糖基化复合物, 同时观察活化血小板糖基化复合物、年龄、糖尿病病程、血压、血脂、血糖及肾功能与颈动脉粥样硬化的相关性。结果发现, 糖尿病患者活化血小板糖基化复合物明显高于正常对照者, 颈动脉粥样硬化患者活化血小板糖基化复合物、年龄、病程、血糖、糖化血红蛋白、血压及低密度脂蛋白胆固醇显著高于无颈动脉粥样硬化患者, 且颈动脉狭窄程度与活化血小板糖基化复合物呈正相关。结果提示, 活化血小板糖基化复合物水平增高可能是 2 型糖尿病患者易合并颈动脉粥样硬化的独立危险因素。

[中图分类号] R363.2

[文献标识码] A

The Relationship between Glycoprotein Complex of Activated Platelets and Cervical Atherosclerosis in Type 2 Diabetic Patients

PAN Yong-Yuan, WANG Li, and WAN Su-Gui

(Department of Endocrinology, Xuanwu Hospital, Capital University of Medical Science, Beijing 100053, China)

[MeSH] Flow Cytometric Analysis; Platelet Activation; Atherosclerosis; Diabetes Mellitus

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the relationship between glycoprotein complex of activated platelets (PAC-1) and cervical atherosclerosis in type 2 diabetic patients. **Methods** PAC-1 were measured by FCA in 118 type 2 diabetic patients (73 with cervical atherosclerosis, 45 without cervical atherosclerosis). The correlation of PAC-1, age, diabetic courses, blood pressure, blood lipids, blood glucose and renal function with cervical atherosclerosis was evaluated. **Results** The level of PAC-1 in diabetic group was significantly higher than that in control group. PAC-1 in diabetic group with cervical atherosclerosis was higher than those without cervical atherosclerosis. Moreover PAC-1, age, disease course, plasma glucose, GHbA₁, blood pressure and low density lipoprotein cholesterol (LDLC) was positively correlated with cervical atherosclerosis. **Conclusion** The high level of PAC-1 is the independent risk factor for diabetic patients suffering from cervical atherosclerosis.

众所周知, 2 型糖尿病患者合并动脉粥样硬化的危险性显著增加, 其发病机理与高血糖、高胰岛素血症、脂质代谢紊乱、血管内皮受损及血小板活化密切相关^[1-7], 其中活化的血小板参与血栓形成及止血、炎症和免疫反应^[7], 在动脉粥样硬化的形成中也起着重要作用^[14-16]。因此, 观测血小板活性与动脉粥样硬化之间的关系显得尤为重要。

1 对象和方法

1.1 对象

选自 2000 年 5 月~2001 年 5 月在我院内分泌

科住院的 2 型糖尿病患者 118 例, 所有患者均无糖尿病急性并发症及急性心脑血管事件, 检查前 2 周内均未应用阿司匹林、巴米尔、肝素等影响血小板的药物。并选择 25 例正常健康者作对照。所有糖尿病患者均行颈动脉超声检查, 按有无颈动脉粥样硬化分为两组: 有颈动脉粥样硬化组 73 例, 其中男性 34 例, 女性 39 例, 平均年龄 63.89 ± 9.24 岁; ④无颈动脉粥样硬化组 45 例, 男性 24 例, 女性 21 例, 平均年龄 52.33 ± 11.74 岁。

1.2 检测指标

测定糖尿病患者清晨空腹状态下体重、身高、腰臀比、收缩压(systolic blood pressure, SBP)、舒张压(diastolic blood pressure, DBP)、血糖(blood glucose, BG)、糖化血红蛋白、甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)、低密度脂

[收稿日期] 2001-11-27 [修回日期] 2002-04-25

[作者简介] 潘永源, 男, 35 岁, 山东人, 学士, 内分泌专业主治医师。王立, 男, 42 岁, 辽宁人, 博士, 硕士研究生导师, 内分泌专业主任医师, 内分泌科主任。万岁桂, 女, 35 岁, 江西人, 硕士, 血液专业主治医师。

蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)和血尿酸以及糖尿病患者和健康对照者活化血小板糖基化复合物(glycoprotein complex of activated platelets, PAC-1)活性。

1.3 检测方法

活化血小板糖基化复合物采用美国 Becton-Dickinson 公司生产的流式细胞仪进行测定。用真空采血针穿刺静脉,枸橼酸钠抗凝管(美国 BD 公司提供)抽取 2 管各 2 mL 血,轻轻混匀。立即将 5 μ L 全血分别加入事先置有单抗的塑料管内,其中对照管含 CD₆₁ 同型对照(PerCP, 购自美国 BD 公司)和鼠抗人 IgM-异硫氰酸荧光素(FITC, 购自美国 BD 公司)各 20 μ L, 实验管含 CD₆₁ PerCP 和活化血小板糖基化复合物-FITC 各 20 μ L,, 室温避光反应 20 min, 每管分别加入 1 mL 含 1% 多聚甲醛的固定液固定 20 min, 40 $^{\circ}$ C 保存, 24 h 内上机检测, 结果以百分数表示。血糖采用氧化酶法测定, 其余生物化学指标检测按本院生物化学常规操作。

颈动脉超声由一位经验丰富的超声医师专人负责测定, 动脉内膜增厚 > 1.5 mm, 内膜不连续, 且向管腔内突出为斑块形成, 即诊断合并颈动脉粥样硬化。并按斑块所占管腔面积, 将狭窄分为不同的百分比。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 统计软件进行分析, 所有数据以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 计量资料采用 t 检验, 计数资料采用 χ^2 检验, 各参数间作多元相关分析及多元逐步回归分析。

2 结果

2.1 活化血小板糖基化复合物活性比较

糖尿病组活化血小板糖基化复合物活性与正常对照组相比明显增高($P < 0.01$), 有颈动脉粥样硬化组活化血小板糖基化复合物活性显著高于无颈动脉粥样硬化组($P < 0.01$), 见表 1(Table 1)。

2.2 一般情况比较

与无颈动脉粥样硬化的糖尿病患者相比, 有颈动脉粥样硬化的糖尿病患者年龄、糖尿病病程、收缩压、总胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、空腹血糖、糖化血红蛋白及血尿素氮均显著增高(表 2, Table 2)。

2.3 相关性分析

活化血小板糖基化复合物水平与颈动脉狭窄程度(百分比)呈正相关($r = 0.60$, $P < 0.05$)。

表 1. 活化血小板糖基化复合物活性比较。

Table 1. Comparison of PAC-1 activity (%).

Groups	n	PAC-1
Control	25	3.14 \pm 2.13
Diabetes	118	36.33 \pm 1.75 ^a
With cervical atherosclerosis	73	42.52 \pm 1.88 ^b
Without cervical atherosclerosis	45	26.27 \pm 2.17

a: $P < 0.01$, compared with control group; b: $P < 0.01$, compared with without cervical atherosclerosis group.

表 2. 糖尿病患者一般情况比较。

Table 2. Comparison of characteristics in diabetic patients.

Index	With cervical atherosclerosis (n = 73)	Without cervical atherosclerosis (n = 45)
Age (year)	63.89 \pm 9.24 ^b	52.33 \pm 11.74
Male/Female	34/39	24/21
BMI	25.20 \pm 3.63	25.44 \pm 4.34
The ratio of lumbus to buttock	0.91 \pm 0.07	0.89 \pm 0.08
Smoking (with/without)	45/28	28/17
Diabetic course (year)	9.43 \pm 0.73 ^b	4.98 \pm 0.71
SBP (mmHg)	145.03 \pm 2.60 ^b	132.00 \pm 2.79
DBP (mmHg)	80.27 \pm 10.30	81.00 \pm 10.69
TG (g/L)	17.444 \pm 1.213	16.702 \pm 1.378
TC (g/L)	20.245 \pm 0.511 ^a	18.678 \pm 0.517
HDLC (g/L)	5.327 \pm 0.216	5.851 \pm 0.261
LDLC (mg/L)	111.06 \pm 3.73 ^a	96.18 \pm 4.0
Fasting blood glucose (g/L)	18.310 \pm 0.685 ^a	15.884 \pm 0.752
GHbA _{1c} (%)	9.80 \pm 2.03 ^b	8.36 \pm 1.86
UA (g/L)	0.443 \pm 0.172	0.414 \pm 0.151
Cr (g/L)	0.112 \pm 0.032	0.103 \pm 0.021
BUN (g/L)	1.945 \pm 0.748 ^a	1.604 \pm 0.581

a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$, compared with without cervical atherosclerosis group.

3 讨论

循环血液中处于静息状态的血小板受到生物或物理因素刺激后, 刺激物与血小板膜上 GP α IIb/ β 3 纤维蛋白原受体结合, 使血小板胞浆内的颗粒膜糖蛋白释放, 并与脂膜融合, 血小板膜表面糖蛋白发生数量重排和构象变化而成为活化血小板, 发生聚集, 与血浆纤维蛋白原结合, 形成血栓。活化血小板糖基化复合物是早期血小板活化的标志物, 即活化的 GP α IIb/ β 3 复合物, 能够直接、敏感、特异地反映人体内血小板的活化程度和功能状态^[8]。流式细胞仪

是用于研究细胞生物学的重要工具,应用流式细胞仪测定活化血小板糖基化复合物的特点是快速、精确、多参数,相对定量测定单个细胞膜、胞浆或核内的多种物质^[11]。通过对单个细胞计数和血小板活化度的分析,进行血小板活化率的测定,其方法简单,结果精确。许多研究结果显示,糖尿病患者的血小板活化程度明显增高^[14],从而促进动脉粥样硬化的发生,这与本实验结果相符。

糖尿病大血管病变对糖尿病患者的威胁日益增加,冠心病、脑梗死、肢体动脉闭塞已成为影响糖尿病患者生存率和生活质量的重要因素,故防治动脉粥样硬化也变得越来越重要。很多作者报告颈动脉粥样硬化与冠心病、脑梗死及多种冠心病危险因素显著相关^[10~13]。

大量研究表明,糖尿病患者动脉粥样硬化的发生率显著增加的机理为高胰岛素血症刺激血管平滑肌细胞增殖,脂代谢紊乱及低密度脂蛋白的糖基化和氧化修饰以及高血糖损伤血管内皮细胞等。血管内皮损伤,血小板活化,血小板粘附、聚集,形成微血栓是导致糖尿病微血管病变的重要原因,而糖尿病患者的血小板活化与动脉粥样硬化之间的直接相关关系的报道则相对较少。

本研究结果显示,有颈动脉粥样硬化的糖尿病患者血小板活化指标活化血小板糖基化复合物显著高于无颈动脉粥样硬化的糖尿病患者,且活化血小板糖基化复合物与颈动脉粥样硬化呈显著正相关,说明糖尿病患者血小板活化与动脉粥样硬化之间的关系密切,可能是导致动脉粥样硬化的独立危险因素。在进一步的相关分析中表明,年龄、糖尿病病程、血压、血糖、低密度脂蛋白胆固醇及肾功能与颈动脉粥样硬化的发生率均呈正相关,与上述动脉粥样硬化的发生机理相符合。

由于糖尿病患者血小板处于较高的活化状态,而且伴有颈动脉粥样硬化患者的血小板活化更加明

显,因此活化血小板糖基化复合物的检测对 2 型糖尿病合并动脉粥样硬化的识别以及血小板活化在动脉粥样硬化发病机制上的探讨,具有临床应用和研究价值。

[参考文献]

- [1] Osende J I, Badimon J J, Fuster V, et al. Blood thrombogenicity in type 2 diabetes mellitus patients is associated with glycemic control. *J Am Coll Cardiol*, 2001, **38** (5): 1 307-312
- [2] 沈捷,陈家伟,刘铨之,等. 葡萄糖及高脂血清对动脉平滑肌细胞结构的影响. *中国糖尿病杂志*, 1994, **2**: 139
- [3] 沈捷,刘铨之,陈家伟,等. 高胰岛素血症、高脂血症致动脉粥样硬化的实验研究. *中国糖尿病杂志*, 1998, **6** (2): 97-100
- [4] 叶平. 非胰岛素依赖性糖尿病的脂代谢紊乱与动脉粥样硬化. *国外医学·年医学分册*, 1995, **16** (3): 119-122
- [5] Austin MA, Hokanson JE, Brunzell JD. Characterization of low density lipoprotein subclasses: Methodologic approaches and clinical relevance. *Curr opin lipidol*, 1994, **5**: 395-403
- [6] Regnstrom J, Nilsson J, Tomvall P, et al. Susceptibility to low-density lipoprotein oxidation and coronary atherosclerosis in man. *Lancet*, 1992, **339**: 1 183-186
- [7] Metzleer MJ, Clevers HC. Lysosomal membrane glycoprotein in platelets. *Thromb Haemost*, 1992, **68**: 378-392
- [8] Ruf A, Patscheke H. Flow cytometric detection of activated platelets: Comparison of determining shape change, fibrinogen binding, and P-selection expression. *Semin Thromb Hemost*, 1995, **21**: 146-157
- [9] Okuda Y, Mizutani M, Ikegami T, et al. Hemodynamic effects of cilostazol on peripheral artery in patients with diabetic neuropathy. *Arzeimittelforschung*, 1992, **42**: 540-542
- [10] Fabris F, Zancocci M, Bo M, et al. Carotid plaque aging and risk factors a study of 457 subjects. *Stroke*, 1994, **25**: 1 133
- [11] Salonen JT, Salonen R. Ultrasound B-mode imaging in observational studies of atherosclerotic progression. *Circulation*, 1993, **87** (Suppl): ⑤56
- [12] Salonen R, Seppanen K, Rauramaa R, et al. Prevalence of carotid atherosclerosis and serum cholesterol level in eastern. *Finland*, 1988, **8**: 788
- [13] Hougaku H, Matsumoto M, Handa N, et al. Asymptomatic carotid lesions and silent cerebral infarction. *Stroke*, 1994, **25**: 566
- [14] Tokumura A, Sumida T, Toujima M, et al. Platelet-activating factor (PAF)-like oxidized phospholipids: relevance to atherosclerosis. *Bifactors*, 2000, **13**: 29-33
- [15] Unno N, Nakamura T, Kaneko H, et al. Plasma platelet-activating factor acetylhydrolase deficiency is associated with atherosclerotic occlusive disease in Japan. *J Vasc Surg*, 2000, **32** (2): 263-7
- [16] Saposnik G, Caplan L R. Arteriosclerosis and the promise of GP IIb/IIIa inhibitors in stroke. *Arch Neuropsychiatr*, 2000, **58** (1): 1-10

(此文编辑 文玉珊)