

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.22.016

急性心理应激下血小板活化参数的变化及其机制探讨*

崔益芬¹ 邓玉琴¹ 白 鹰² 范亚欣³ 丁晓倩¹ 唐一源^{1△}

(1 大连理工大学神经信息学研究所 辽宁 大连 116024; 2 大连医科大学附属第一医院神经内科 辽宁 大连 116021;

3 大连市血液中心 辽宁 大连 116001)

摘要 目的:探讨急性心理应激下健康人群血小板活化参数的变化及其与性别、年龄的相关性,并分析其可能的机制。**方法:**检测 54 名健康被试者急性心理应激前后的血小板四项变化,包括血小板计数(PLT)、血小板平均体积(MPV)、血小板分布宽度(PDW)和大血小板比率(P-LCR)。随后,将被试者分成男、女性组或中、老年组,对其血小板四项结果进行组内及组间比较。**结果:**急性心理应激可导致健康人群中 MPV、PDW 和 P-LCR 的显著增加($P<0.05$),但年龄分组或性别分组组间均未见显著差异($P>0.05$)。**结论:**实验性急性心理应激可导致健康人群血小板活化指标 MPV、PDW 和 P-LCR 的显著增加,但与年龄和性别无关。

关键词:急性心理应激;血小板活化;血小板平均体积;血小板分布宽度;大血小板比率

中图分类号:B849;R331 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)22-4269-04

Analysis of Acute Psychological Stress induced the Changes of Platelet Indices and its Mechanisms*

CUI Yi-fen¹, DENG Yu-qin¹, BAI Ying², FAN Ya-xin³, DING Xiao-qian¹, TANG Yi-yuan^{1△}

(1 Institute of neuroinformatics(INI), Dalian University of Technology, Dalian, Liaoning, 116024, China;

2 Neurology Department, First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian, Liaoning, 116021, China;

3 Dalian Blood Center, Dalian, Liaoning, 116001, China)

ABSTRACT Objective:To investigate the changes of platelet activation parameters under acute psychological stress and its correlation with age and gender, and analyze its possible mechanisms, female and male groups. The aim was to determine whether an acute laboratory psychological stress task produced platelet reactivity by using three haematologically markers: MPV, PDW and P-LCR in healthy participants and whether there is age or gender related differences. **Methods:** Fifty-four healthy volunteers were performed a psychological stress challenge. The blood samples were obtained and the blood platelet count (PLT), mean platelet volume(MPV), platelet distribution width (PDW) and platelet-large cell ratio (P-LCR) were detected and compared pre-stress and immediately post-stress prior to haematological analysis. Then these parameters were compared between middle-aged and elderly participants, or male and female participants. **Results:** The acute psychological stressor induced significant increase of MPV, PDW and P-LCR in healthy participants ($P<0.05$), but there was no significant difference between middle aged and elderly participants, or male and female participants ($P<0.05$). **Conclusion:** MPV, PDW and P-LCR were sensitively increased after acute lab psychological stress in healthy adults, which may had no correlation with the age and gender.

Keywords: Acute psychological stress; Platelet activation; MPV; PDW; P-LCR

Chinese Library Classification(CLC): B849; R331 **Document Code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)22-4269-04

前言

心理应激可导致神经系统、心血管、内分泌和免疫系统的一系列变化,如交感神经系统和垂体肾上腺皮质轴可产生应激激素,并激活免疫细胞进入“战斗”状态来应对可能因为受伤而进入体内的病原微生物,促进治疗^[1]。一系列研究表明急性的精神和情绪压力能导致多种疾病的发生,例如增加冠脉综合症的风险,压力事件后导致的心肌梗塞等^[2-4],交感神经兴奋诱发血小板聚集是其机制之一。血小板可由心理应激通过交感神经刺激激活或通过接触血栓破裂斑块被激活^[5],活化的血小板可聚集在受损的血管壁附近并导致血管内血栓的发生,或形成血栓

前身引发心脏缺血导致急性冠状动脉综合症,或可通过促进白细胞迁移到血管内皮加速动脉粥样硬化的发生和发展。

多种指标可用来衡量血小板活化,如血小板 GP IIb/IIIa 受体、纤维蛋白原受体、血小板单核细胞聚合体、血小板 P- 选凝素、三磷酸腺苷、血小板因子、血栓素 a₂ 和血小板球蛋白^[6,9],但这些指标都不能通过常规手段检测,昂贵费力。血液分析仪可通过检测血小板的形态学改变如球形和伪足形成等,获得血小板平均体积(MPV)、血小板分布宽度(PDW)和大血小板比率(P-LCR)等参数^[7,10-12],可简单快捷的反映血小板的状态变化,显示其活化程度。有报道显示健康人群和心血管疾病患者应激导致的小血小板变化是不同的^[6]。健康男性较女性有更强烈的心理

* 基金项目:国家重点基础研究发展计划(973 计划)课题(2012CB518200)

作者简介:崔益芬(1981-),女,博士研究生,神经信息学研究方向,电话:0411-62893507;18698600969,E-mail:yvonecui@hotmail.com

△ 通讯作者:唐一源,875098639@qq.com

(收稿日期:2014-02-24 接受日期:2014-03-20)

应激反应^[13]。还有一些证据表明年龄可能导致增加促凝血的倾向^[14]。因此,本研究旨在观察实验性急性心理应激导致的健康人群血小板参数变化,并分析这种变化与年龄和性别的相关性。

1 资料与方法

1.1 研究对象

本研究招募了 54 名健康被试者参与实验(35~82 岁,平均年龄 61.85 岁,SD=12.73)。根据 WHO 规定的老年人标准年龄,将这些被试者分为中年组(35~64 岁,n=25,Mage=50.95,SD=10.46)和老年组(65~82 岁,n=29,Mage=71.24,SD=3.98);按照性别可将这些被试者分为男性组(37~75 岁,n=18,Mage=57.28,SD=14.38)和女性组(35~82 岁,n=36,Mage=64.14,SD=11.36),两种性别组间无年龄差异。所有的被试符合以下条件:①身体健康;②无数学恐惧和恐针症;③女性志愿者没有处于月经期,怀孕期或泌乳期;④半年内未遭遇重大生活事件;⑤参与实验期间没有饮酒或服用任何 OTC 药物。所有被试由社区和广告招募而来,并签署了知情同意书。

1.2 实验流程

被试者于下午 13 点到 15 点间到达医院,填写完知情同意后埋入静脉留置针,休息约 30 分钟后第一次采血。随后对被试进行三分钟连减急性实验性心理应激^[15,16]:被试者被要求从四位数例如 2375 开始连减 17,其准确性和速度由主试监测,计算错误或者超过 5 秒回答时由主试大声喊停并要求重最初数字开始计算。三分钟急性心理应激结束后,进行第二次采血。

1.3 血液分析

全血室温加入 EDTA,立即由德国产 Coulter AcTdiff 血象分析仪进行分析,其中 MPV 的计算公式如下:MPV(fL)=[血小板比积(%)/血小板数($\times 10^9/l$)] $\times 10^5$,血小板比积为血小板体积在全血体积中的比率。PDW 和 P-LCR 由血小板大小分布直方图中获得,分布宽度水平在 20%(直方图顶为 100%)的部分被

定义为血小板分布宽度(PDW),血小板大小超过 12fL 的比率为大血小板比率(P-LCR)^[17](图 1)。

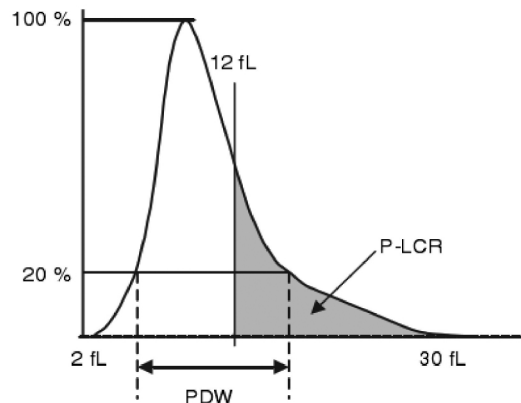


图 1 血小板大小分布直方图、血小板分布宽度(PDW)及大血小板比率(P-LCR)定义:分布宽度水平为 20% 被定义为 PDW,尺寸大于 12fL 的血小板百分比被定义为 P-LCR

Fig. 1 Histogram of platelet size distribution and the definition of platelet size deviation width(PDW),and platelet-large cell ratio (P-LCR).The distribution width at the level of 20%was defined as PDW,and the percentage of the platelets with a size of more than 12 fL was defined as P-LCR.

1.4 统计学分析

采用 SPSS15.0 软件进行统计学分析,应激前后数据的对比使用配对 t 检验,组间差异使用独立 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

所有被试者应激前后的血小板计数、MPV、PDW 和 P-LCR 结果见表 1。应激后,血小板计数仅为边缘显著增加($P=0.073$),MPV、PDW 和 P-LCR 均较应激前显著增加($P<0.01$)。

表 1 急性应激前后所有被试者的血小板计数和血小板参数比较

Table 1 Comparison of the platelet count and platelet indices of all the participants before and after the acute psychological stress

总 体 Total				
	人数 N	应激前 Pre-stress(baseline)	应激后 Post-stress	P
PLT(10^9)	54	224.07 (7.134)	227.52 (7.267)	0.073
MPV(fL)	54	10.00 (0.117)	10.24 (0.126)	0.000***
PDW(fL)	54	10.41 (0.188)	10.80 (0.195)	0.002**
P-LCR(%)	54	25.06 (0.914)	26.95 (0.977)	0.000***

PLT:血小板;MPV:平均血小板体积;PDW:血小板分布宽度;P-LCR:大血小板比率数值表达为:均值(SEM),* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$ (配对 t 检验)

PLT: platelet; MPV: mean platelet volume; PDW: platelet size deviation width; P-LCR: platelet-large cell ratio Value are mean(SEM),* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$ (paired t test)

表 2 为中年组和老年组应激前后的血小板计数及血小板参数结果: 应激可导致两组组内 MPV、PDW 和 P-LCR 显著增加($P<0.01$), 血小板计数无显著差异, 组间比较和重复测量的结果也未见显著差异。

表 2 中年组和老年组应激前后的血小板计数和血小板参数比较

Table 2 Comparison of the platelet count and platelet indices between middle-aged group and elderly group before and after the acute psychological stress

	中年组(35~64 岁) Middle aged (35~64 years old)				老年组 (>65 岁) Elderly (>65 years old)			
	人数 N	应激前 pre-stress(baseline)	应激后 post-stress	P	人数 N	应激前 pre-stress(baseline)	应激后 post-stress	P
PLT (10^9)	25	236.16 (11.729)	238.40 (11.759)	0.405	29	213.66 (8.328)	218.14 (8.786)	0.107
MPV (fL)	25	9.90 (0.180)	10.10 (0.199)	0.007**	29	10.10 (0.154)	10.36 (0.159)	0.001***
PDW (fL)	25	10.36 (0.277)	10.68 (0.275)	0.030*	29	10.45 (0.262)	10.91 (0.278)	0.025*
P-LCR (%)	25	24.33 (1.426)	25.81 (1.565)	0.008**	29	25.68 (1.187)	27.94 (1.217)	0.000***

PLT: 血小板; MPV: 平均血小板体积; PDW: 血小板分布宽度; P-LCR: 大血小板比率

数值表达为: 均值(SEM), * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ (配对 t 检验)

PLT: platelet; MPV: mean platelet volume; PDW: platelet size deviation width; P-LCR: platelet-large cell ratio

Value are mean(SEM), * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ (paired t test)

男性组和女性组分组结果见表 3: 应激导致两组 MPV 和 P-LCR 均显著增加($P<0.05$), 但仅女性组 PDW 发生显著变化, 而男性组内血小板计数可见边缘显著增加($P=0.079$), 组间比较和重复测量的结果未见显著差异。

表 3 男性组和女性组应激前后的血小板计数和血小板参数比较

Table 3 Comparison of the platelet count and platelet indices between male group and female group before and after the acute psychological stress

	男性组 Male group				女性组 Female group			
	人数 N	应激前 Pre-stress(baseline)	应激后 Post-stress	P	人数 N	应激前 Pre-stress(baseline)	应激后 Post-stress	P
PLT 10^9)	18	221.50 (10.653)	226.89 (10.523)	0.079	36	225.36 (9.375)	227.83 (9.647)	0.318
MPV (fL)	18	9.99 (0.141)	10.16 (0.152)	0.042*	36	10.01 (0.162)	10.28 (0.174)	0.000***
PDW (fL)	18	10.41 (0.239)	10.55 (0.216)	0.278	36	10.41 (0.258)	10.93 (0.271)	0.004**
P-LCR (%)	18	24.93 (1.134)	26.22 (1.254)	0.045*	36	25.12 (1.258)	27.32 (1.332)	0.000***

PLT: 血小板; MPV: 平均血小板体积; PDW: 血小板分布宽度; P-LCR: 大血小板比率

数值表达为: 均值(SEM), * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ (配对 t 检验)

PLT: platelet; MPV: mean platelet volume; PDW: platelet size deviation width; P-LCR: platelet-large cell ratio

Value are mean(SEM), * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ (paired t test)

3 讨论

血小板为无核无 DNA 细胞, 源于骨髓巨核细胞的核内有丝分裂, 具有黏附、聚集和释放的功能, 参与炎症和免疫过程, 在凝血、止血和血栓形成中发挥重要作用^[8]。血小板激活时会为了增加表面积而改变外形, 如从铁饼状变为球形或形成伪足。大血小板相较于小血小板更易代谢和发生酶反应。大血小板更易形成前血栓聚合物, 有较高水平的细胞内血栓素 a_2 、bTG 以及更多的促凝血表面蛋白如 P 选择素和 GpIIb/IIIa。被激活的大血小板具有更多颗粒和粘着受体, 能导致流血时间变短, 血小板激活变强。由激活的血小板引发生成的新血小板被 Penington 等称为“压力”血小板, 这种血小板相较于通常的

血循环血小板体积更大, MPV 值更高^[11]。急性活化状态中的血小板体积增大也可能是由巨核细胞细胞质分裂的变化所产生的年轻血小板所造成^[9]。

血小板平均体积(MPV)可能是研究最广泛的血小板活化标志物, 能反映骨髓中巨核细胞的增生、代谢及血小板生成情况, 是衡量血小板功能和活性的一个重要指标^[20]。血小板分布宽度(PDW)是血小板数量对数结果的标准差, 能反映血小板体积的差异程度, 由流式细胞仪直接测量到的血小板体积计算得来, 主要反映血小板体积的分布情况, 是衡量血小板体积的另一指标, 一般情况下与 MPV 成正比^[17]。大血小板比率(P-LCR)表示大于 12fL 的血小板的比率, 常与 MPV 和 PDW 有明显相关性^[21]。虽然 PDW 和 P-LCR 的临床意义很少被提及, 但这两

个参数很可能比 MPV 提供更精确的血小板激活信息。血小板激活参数 MPV、PDW 和 P-LCR 可以直接通过血液分析仪自动获得,使得这些数据相较于其他生化指标更便宜和简单。

3 分钟急性实验性心理应激可导致健康人群血小板的显著激活。由于没有机体“损伤”的消耗,血小板数量没有发生明显的变化,但血小板的激活和部分年轻血小板的出现却能通过应激引起的血小板参数 MPV、PDW 和 P-LCR 的升高得以证实。然而,中年组和老年组间未发现显著差异,表明应激造成的血小板激活与年龄并无显著相关性。同时,应激仅在女性组内引起 PDW 的显著增加,男性组内未见;而男性组内可见血小板数量的边缘显著增加($P=0.079$)。这可能基于男性组血小板大小分布直方图的平移,也可能是由于女性相较于男性对心理应激更为敏感。然而,由于被试数量不够(男性组别仅有 18 人),本研究并不能对应激产生的性别差异做十分肯定的结论。

综上所述,急性实验性心理应激可导致健康人群血小板激活的形态学改变,但与年龄和性别可能均无显著相关性,这种改变通过血液分析仪获得的血小板参数 MPV、PDW 和 P-LCR 的增加得以证明,且这种方法简单、便宜、高效,可被广泛应用于血小板激活状态的检测。

参考文献(References)

- [1] Meylan S, Miles D B, Clobert J. Hormonally mediated maternal effects, individual strategy and global change [J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2012, 367 (1596): 1647-1664
- [2] Ramadan R, Sheps D, Esteves F, et al. Myocardial Ischemia During Mental Stress: Role of Coronary Artery Disease Burden and Vasomotion [J]. *Journal of the American Heart Association*, 2013, 2 (5): e000321
- [3] Weihs V, Szűcs D, Fellner B, et al. Stress-induced cardiomyopathy (Tako-Tsubo syndrome) in Austria[J]. *European Heart Journal: Acute Cardiovascular Care*, 2013, 2(2): 137-146
- [4] Strike PC, Perkins-Porras L, Whitehead DL, et al. Triggering of acute coronary syndromes by physical exertion and anger: clinical and sociodemographic characteristics[J]. *Heart*, 2006, 92(8): 1035-1040
- [5] Brydon L, Magid K, Steptoe A. Platelets, coronary heart disease, and stress[J]. *Brain Behav Immun*, 2006, 20(2): 113-119
- [6] Zupancic ML. Acute psychological stress as a precipitant of acute coronary syndromes in patients with undiagnosed ischemic heart disease: a case report and literature review [J]. *Prim Care Companion J Clin Psychiatry*, 2009, 11(1): 21-24
- [7] Vagdatli E, Gounari E, Lazaridou E, et al. Platelet distribution width: a simple, practical and specific marker of activation of coagulation[J]. *Hippokratia*, 2010, 14(1): 28-32
- [8] Allison G L, Lowe G M, Rahman K. Aged garlic extract inhibits platelet activation by increasing intracellular cAMP and reducing the interaction of GPIIb/IIIa receptor with fibrinogen [J]. *Life sciences*, 2012, 91(25): 1275-1280
- [9] Gehi A, Musselman D, Otte C, et al. Depression and platelet activation in outpatients with stable coronary heart disease: findings from the Heart and Soul Study[J]. *Psychiatry research*, 2010, 175(3): 200-204
- [10] Thompson CB, Jakubowski JA, Quinn PG, et al. Platelet size and age determine platelet function independently [J]. *Blood*, 1984, 63 (6): 1372-1375
- [11] Tong M, Seth P, Penington DG. Proplatelets and stress platelets[J]. *Blood*, 1987, 69(2): 522-528
- [12] Frojmovic MM, Milton JG. Human platelet size, shape, and related functions in health and disease[J]. *Physiol Rev*, 1982, 62(1): 185-261
- [13] Ross AE, Flaa A, Hoiegggen A, Reims H, Eide IK, Kjeldsen SE. Gender specific sympathetic and hemorrheological responses to mental stress in healthy young subjects[J]. *Scand Cardiovasc J*, 2001, 35(5): 307-312
- [14] Aschbacher K, von Kanel R, Mills PJ, et al. Longitudinal platelet reactivity to acute psychological stress among older men and women [J]. *Stress*, 2009, 12(5): 426-433
- [15] Fan Y, Tang Y, Lu Q, et al. Dynamic changes in salivary cortisol and secretory immunoglobulin A response to acute stress [J]. *Stress and Health*, 2009, 25(2): 189-194
- [16] Tang YY, Ma Y, Wang J, et al. Short-term meditation training improves attention and self-regulation [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(43): 17152-17156
- [17] Kaito K, Otsubo H, Usui N, et al. Platelet size deviation width, platelet large cell ratio, and mean platelet volume have sufficient sensitivity and specificity in the diagnosis of immune thrombocytopenia[J]. *Br J Haematol*, 2005, 128(5): 698-702
- [18] Semple J W, Italiano J E, Freedman J. Platelets and the immune continuum[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2011, 11(4): 264-274
- [19] Corash L, Levin J. The relationship between megakaryocyte ploidy and platelet volume in normal and thrombocytopenic C3H mice[J]. *Exp Hematol*, 1990, 18(9): 985-989
- [20] Yuri Gasparian A, Ayvazyan L, P Mikhailidis D, et al. Mean platelet volume: a link between thrombosis and inflammation? [J]. *Current pharmaceutical design*, 2011, 17(1): 47-58
- [21] Bessman JD, Williams LJ, Gilmer PR, Jr. Mean platelet volume. The inverse relation of platelet size and count in normal subjects, and an artifact of other particles[J]. *Am J Clin Pathol*, 1981, 76(3): 289-293