

血小板聚集功能检测在阿司匹林溶栓治疗监测中的应用

王晓玲 任建平 孙烨 王雪清

作者单位: 030012 太原市, 山西省中医药研究院检验科

通讯作者: 任建平, E-mail: szyjk@163.com

【摘要】 目的 评价血小板聚集功能检测在高血压合并脑梗死患者阿司匹林溶栓治疗监测中的临床应用价值, 探讨阿司匹林抵抗 (aspirin resistance, AR) 与脑梗死复发的相关性。方法 选择 2013 年 1 月至 2014 年 10 月我院住院的临床确诊高血压 III 级合并脑梗死患者 35 例为患者组, 另选择健康体检者 40 例为正常对照组, 采用美国海伦娜 AggRAM 血小板聚集仪对患者组用药前后及正常对照组血小板聚集功能进行检测, 对检测结果进行统计学分析。结果 经花生四烯酸、二磷酸腺苷、胶原、肾上腺素 4 种诱导剂诱导后, 正常对照组与患者组用药前血小板聚集率检测结果比较, 差异均无统计学意义 ($t=1.10, 0.76, 1.62, 1.40, P$ 均 > 0.05)。经花生四烯酸及肾上腺素诱导的患者组用药前后血小板聚集率检测结果比较, 差异均有统计学意义 ($t=6.97, 4.18, P$ 均 < 0.05), 经二磷酸腺苷及胶原诱导的患者组用药前后血小板聚集率检测结果比较, 差异均无统计学意义 ($t=1.70, 1.31, P$ 均 > 0.05)。患者组中有 13 例患者有 AR 情况, 有 22 例无 AR 情况。1 年内 AR 患者中脑梗死的复发率为 61.5% (8/13), 无 AR 的患者中脑梗死的复发率为 9.1% (2/22), AR 与脑梗死的复发率之间有关联性 ($\chi^2=11.01, P < 0.05$), 列联系数 $r=0.88$ 。结论 血小板聚集试验可用于阿司匹林溶栓治疗效果的监测, AR 与脑梗死的复发相关。

【关键词】 血小板聚集率; 比浊法; 阿司匹林抵抗; 脑梗死; 溶栓治疗

doi: 10.3969/j.issn.1674-7151.2015.04.006

Application of platelet aggregation function detecting in aspirin thrombolytic therapy monitoring

WANG Xiao-ling, REN Jian-ping, SUN Ye, et al. Department of Clinical Laboratory, Shanxi Traditional Chinese Medicine Institute, Taiyuan 030012, China

【Abstract】 Objective To evaluate the clinical value of platelet aggregation function detecting in hypertension complicated with cerebral infarction patients with aspirin thrombolysis therapy, and to investigate the correlation of aspirin resistance (AR) with cerebral infarction recrudescence. **Methods** 35 cases patients with hypertension III combine cerebral infarction and 40 cases healthy controls in our hospital from January 2013 to October 2014 were selected as subjects in the study. The platelet agglutination test of before and after medication of patients and control group were detected by America helena platelet aggregation analyzer. The results were analyzed statistically. **Results** There were no statistical significance in the differences of platelet aggregation rates between control group and patients group before taking aspirin after induced by arachidonic acid, adenosine diphosphate, collagen and epinephrine ($t=1.10, 0.76, 1.62, 1.40, P$ all > 0.05). There were statistical significance in the differences of platelet aggregation rates between before and after taking aspirin after induced by arachidonic acid and epinephrine ($t=6.97, 4.18, P$ all < 0.05). There were no statistical significance in the differences of platelet aggregation rates between before and after taking aspirin after induced by adenosine diphosphate and collagen ($t=1.70, 1.31, P$ all > 0.05). There were 13 cases patients with AR, and 22 cases without AR in 35 cases patients. The recurrence of cerebral infarction in patients with AR was 61.5% (8/13) which was higher than the recurrence of the patients without AR [9.1% (2/22)], and the difference had statistical significance ($\chi^2=11.01, P < 0.05$). There was correlation between recurrence of cerebral infarction and AR, and the correlation index was 0.88. **Conclusion** Platelet aggregation test can be used for monitoring the curative effect of aspirin in thrombolytic therapy. There is correlation between recurrence of cerebral infarction and AR.

【Key words】 Platelet aggregation; Nephelometry; Aspirin resistance; Cerebral infarction; Thrombolysis therapy

血小板在血栓性疾病的形成及发病过程中起着十分重要的作用, 血小板的黏附、聚集、释放反应等

增强是许多疾病中血栓形成的重要条件^[1]。70 年代 Vane^[2]认为阿司匹林通过抑制前列腺素的生成(特别是血栓素 A2)而发挥其抑制血小板激活和聚集的作用。Anderson 等^[3]研究结果进一步阐明小剂量阿司匹林通过乙酰化血小板环氧化酶(乙酰化环氧化酶 21, 丝氨酸 530 位点)不可逆地抑制血栓素 A2 的形成。更重要的是,阿司匹林在达到发挥抑制血小板聚集剂量时,并不抑制内皮细胞前列腺素合成,因而不会影响血管舒张功能。由于其确切的疗效和低廉的价格,阿司匹林已成为心脑血管疾病一级预防、二级预防中的常规抗血小板治疗药物^[4]。然而,一部分患者尽管规律服用常规剂量(75~325 mg/d)的阿司匹林,仍然出现心、脑等血栓事件的发生,这种现象称之为阿司匹林抵抗(aspirin resistance, AR)^[5]。

虽然在出血时间检测之后开发了不少血小板功能试验,但实际上血小板聚集试验(platelet agglutination test, PAgT)已成为检测血小板功能的“金标准”。PAgT 的常规方法是在富含血小板血浆(platelet rich plasma, PRP)中加入诱聚剂使血小板聚集,血浆浊度降低,透光率增加,记录形成血小板聚集的动态曲线变化。将乏血小板血浆(platelet poor plasma, PPP)所测得的聚集率和透光率视为 100%,PRP 的聚集率和透光率视为 0%。加入诱聚剂,采用血小板聚集仪进行动态测量和记录。不同诱聚剂可产生不同类型的血小板聚集曲线,该方法方便、经济。

本文研究旨在通过美国海伦娜 AggRAM 血小板聚集仪对高血压Ⅲ级合并脑梗死患者服用阿司匹林前后的血小板聚集功能进行检测,并查阅病例,统计患者 1 年内脑梗死复发情况,探讨 PAgT 在阿司匹林溶栓治疗监测中的应用价值以及 AR 与脑梗死复发的相关性。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择 2013 年 1 月至 2014 年 10 月我院住院的临床确诊高血压Ⅲ级合并脑梗死患者 35 例作为患者组,男 26 例,女 9 例,平均年龄(75.2±11.3)岁,诊断标准参照《世界卫生组织/国际高血压联盟(WHO-ISH)高血压治疗指南》^[6]。查询患者病例资料,对 1 年内脑梗死复发情况进行统计并记录。另选择我院健康体检者 40 例为正常对照组,男 18 例,女 22 例,平均年龄(68.1±3.6)岁,均除外高血脂、高血压、动脉粥样硬化等疾病。

1.2 标本采集 所有脑梗死患者于入院后当天及口服阿司匹林 4 d 后,正常对照组于体检当天分别

采集静脉血于枸橼酸盐抗凝管内(抗凝剂与全血的比例为 1:9),共采集两管,每管 1.8 ml,剔除污染、脂血及黄疸等影响血小板聚集的标本。采血 8 h 内禁止吸烟,采血前 1 w 禁用影响血小板聚集的药物如阿司匹林、潘生丁、波利维等。

1.3 PRP 及 PPP 的制备 取 1 管抗凝血在室温条件下以 100×g 离心 10 min,提取 PRP,30 min 内完成检测,另一管抗凝血以 1200×g 离心 15 min,制备 PPP 作为自身对照,2 h 内完成检测。

1.4 方法 采用花生四烯酸(500 μg/mL)、二磷酸腺苷(200 μM)、胶原(10 μg/mL)和肾上腺素(300 μM)四种不同的诱导剂诱导血小板聚集。采用美国海伦娜 AggRAM 血小板聚集仪检测正常对照组及患者组用药前后的血小板聚集率。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 17.0 统计学软件对数据进行统计学分析。加入不同诱导剂后血小板聚集率检测结果采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,正常对照组与患者组用药前血小板聚集率比较采用独立样本 *t* 检验,患者组用药前后血小板聚集率的比较采用配对 *t* 检验,采用 χ^2 检验及列联系数描述脑梗死与 AR 的关联性,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 经 4 种诱导剂诱导后正常对照组与患者组用药前血小板聚集率检测结果比较 经花生四烯酸、二磷酸腺苷、胶原、肾上腺素 4 种诱导剂诱导后,正常对照组与患者组用药前血小板聚集率检测结果比较,差异均无统计学意义(P 均 > 0.05),见表 1。

表 1 经 4 种诱导剂诱导后正常对照组与患者组用药前血小板聚集率检测结果比较($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	例数	花生四烯酸	二磷酸腺苷	胶原	肾上腺素
用药前	35	97.0±9.8	92.0±10.9	96.0±8.4	92.0±7.9
正常对照组	40	86.0±13.2	89.5±11.5	88.9±7.6	78.7±10.3
<i>t</i> 值	-	1.10	0.76	1.62	1.40
<i>P</i> 值	-	0.32	0.47	0.11	0.14

2.2 经 4 种诱导剂诱导后患者组用药前后血小板聚集率检测结果比较 经花生四烯酸及肾上腺素诱导的患者组用药前后血小板聚集率检测结果比较,差异均有统计学意义(P 均 < 0.05),经二磷酸腺苷及胶原诱导的患者组用药前后血小板聚集率检测结果比较,差异均无统计学意义(P 均 > 0.05),见表 2。

2.3 AR 与脑梗死复发的关联性分析 患者组中有 13 例患者有 AR 情况,有 22 例无 AR 情况。经过近

1 年内脑梗死复发情况调查发现,AR 患者中脑梗死的复发率为 61.5%(8/13),无 AR 的患者中脑梗死的复发率为 9.1%(2/22),经卡方检验,AR 与脑梗死的复发率之间有关联性($\chi^2=11.01, P<0.05$),列联系数 $r=0.88$,详见表 3。

表 2 经 4 种诱导剂诱导后患者组用药前后
血小板聚集率检测结果比较($\bar{x}\pm s, \%$)

组别	例数	花生四烯酸	二磷酸腺苷	胶原	肾上腺素
用药前	35	97.0±9.8	92.0±10.9	96.0±8.4	92.0±7.9
用药后	35	43.0±10.1	78.0±11.2	72.0±7.4	56.0±8.1
<i>t</i> 值	-	6.97	1.70	1.31	4.18
<i>P</i> 值	-	0.00	0.09	0.19	0.00

表 3 35 例脑梗死患者 AR 与脑梗死复发的关联性分析(n)

复发情况	AR	无 AR	合计
复发	8	2	10
未复发	5	20	25
合计	13	22	35

3 讨论

血小板聚集功能检测主要用于血小板缺陷疾病的筛查和诊断^[7],目前应用血小板功能试验监测抗血小板药物治疗心脑血管疾病的效果已引起临床越来越多的重视,其目的是选择不同种类或最佳剂量的药物来预防或治疗血栓形成,并且使药物引起的出血副作用发生率降到最低。阿司匹林广泛用于心脏病及中风的预防,但在使用中又担心阿司匹林所造成的负面效果。目前常选用二磷酸腺苷和花生四烯酸联合监测服用阿司匹林后的血小板聚集能力。服药后花生四烯酸诱导的血小板聚集率迅速下降,甚至到零,而二磷酸腺苷诱导的血小板聚集力只是降到 50%,显示药物对血小板抑制到最大的程度,如复查确认花生四烯酸诱导的血小板聚集率没有下降,临床应考虑存在 AR 情况,并采用其他治疗措施抗血小板聚集。

有学者研究^[8,9]发现,一些外在因素可以影响阿司匹林抗血小板聚集的作用,如吸烟因加强血小板血栓形成而导致 AR;非甾体类抗炎药布洛芬、消炎痛等阻碍阿司匹林的长效抗血小板作用,这些非甾体类抗炎药物与乙酰化环氧酶 21 位点结合,因而阻碍了阿司匹林与丝氨酸 530 位点的结合及乙酰化;此外,外科手术后,血小板的数量应激性增加也会抵消常规剂量阿司匹林的作用。另外,还有研究^[10]发现人群中对出现抗血小板作用的药物剂量存在很

大差异,比如一些人小剂量阿司匹林即可完全抑制环氧酶 21 活性,而另一些人可能需要较大剂量阿司匹林才能起到抗血小板效果。而同一患者在不同时期,相同剂量的阿司匹林可以表现出不同的抗血小板活性,上述研究结果能够解释在不同研究中由于入选时间、人群不同,阿司匹林抵抗率可能存在很大差异的现象。血小板的一些内在因素也可能影响阿司匹林的抗聚集作用。在这些情况下,阿司匹林不能完全抑制血栓素 A2 的产生。因此早期通过对阿司匹林治疗过程中血小板聚集功能检测,筛查出 AR 的患者,及时调整抗血小板聚集的方案,有利于降低动脉粥样硬化性脑梗死的复发,降低不良预后的发生^[11-13],对于提高脑梗死患者存活率及无残疾期望寿命都有重要意义。

有研究^[14]显示,阿司匹林抗血栓形成的作用机制主要为抑制环氧酶,阻碍血小板花生四烯酸衍变为前列腺素 G2、前列腺素 H2 以及血栓素 A2。同时阿司匹林对胶原诱导的血小板聚集有明显抑制作用,这是其阻碍血小板二磷酸腺苷、三磷酸腺苷和血小板第四因子释放反应的结果。本文的研究结果显示,经花生四烯酸、二磷酸腺苷、胶原、肾上腺素 4 种诱导剂诱导后,正常对照组与患者组用药前血小板聚集率检测结果的比较,差异均无统计学意义(P 均 >0.05),而服用阿司匹林前后,经花生四烯酸及肾上腺素诱导的血小板聚集率检测结果比较,差异均有统计学意义(P 均 <0.05),经二磷酸腺苷及胶原诱导的血小板聚集率检测结果比较,差异均无统计学意义(P 均 >0.05),提示阿司匹林对花生四烯酸及肾上腺素诱导的血小板聚集有影响,而对胶原及二磷酸腺苷诱导的血小板聚集无明显影响,与上述研究结果有差异,推测可能与病例选择的不同而导致血小板释放能力不同有关,另外阿司匹林能够抑制血小板释放肾上腺素,也可解释本文研究结果的出现。但其具体作用机制仍需要进一步增加样本数量、关注血小板其他激活途径等基础研究进行深入探讨。

抗血小板治疗无反应越来越受到重视,血小板高反应性与心血管不良事件的发生直接相关。本文研究结果 2.3 显示,AR 患者脑梗死的复发率为 61.5%,而未发生 AR 的患者脑梗死的复发率为 9.1%,经卡方检验发现 AR 与脑梗死的复发率有关联性,二者的列联系数为 0.88,与相关研究^[11]结果 AR 与动脉粥样硬化性脑梗死的复发相关一致。但目前发生 AR 的机制尚未完全明确,可能与血小板的独立活化途径和药物动力学等有关,也可能与治

疗的时间、药物的相互作用、用药的剂量以及患者的性别、年龄、基因多态性等有关^[15]。

PAgT 试验运用原理是比浊法,虽然血小板是在低剪切力环境下被激动剂激活聚集,受体外的影响因素较多,不能准确模拟血管壁损伤时血小板的黏附、激活和聚集,而且该方法不能进行床边检查而即时获得结果,但如把握好各个操作环节,其重复性尚可,是目前检查血小板功能的标准方法,可以作为临床抗血小板聚集药物疗效监测的一项很好的检测方法。而应用抗血小板聚集药物治疗过程中,血小板聚集率降低到多少才为最佳用量,既能保证患者无出血情况,又能够很好预防梗死事件的发生,仍然需要做进一步的试验研究。

综上所述,PAgT 可用于阿司匹林溶栓治疗效果的监测,而且脑梗死的复发率与 AR 相关。对于脑梗死患者,早期进行 PAgT 检测,将有助于治疗方案的选择,从而有效降低脑梗死的复发率,提高患者生存质量。

4 参考文献

- 1 范家骏,赵国欣,主编.血液流变学基础与临床.第1版.西安:陕西科学技术出版社,1995,205-209.
- 2 Vane JR. Inhibition of prostaglandin syntheses as a mechanism of action for aspirin like drugs. *Nat New Bio*, 1971, 231: 232-235.
- 3 Anderson S, Emery J, Baglin T, et al. Narrative review: aspirin resistance and its clinical implications. *Ann Intern Med*, 2005, 142: 370-380.
- 4 Patrono C, Collier B, Dalen JE, et al. Platelet active drugs: the relationships among dose, effectiveness, and side effects. *Chest*, 2001, 119: 239-263.
- 5 Carr ME. In vitro assessment of platelet function. *Transfusion Medicine Reviews*, 1997, 11: 106-107.

- 6 中华神经科学会,神经外科学会.各类脑血管疾病诊断要点.中华神经科杂志,1996,29:379-380.
- 7 Storey RF, Heptiustall S. Laboratory investigation of platelet function. *Clin Lab Haem*, 1999, 21: 317.
- 8 Hung J, Lam JYT, Lacoste L, et al. Cigarette smoking acutely increases platelet thrombus formation in patients with coronary artery disease taking aspirin. *Circulation*, 1995, 92: 2432-2436.
- 9 Qian J, Yang XH. A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials on Antiplatelet Agents Versus Placebo/Control for Treating Peripheral Artery Disease. *Medicine (Baltimore)*, 2015, 94: e1293.
- 10 赵云清,罗建华,周其志,等.阿司匹林抵抗对大动脉粥样硬化性脑梗死复发的影响.卒中与神经疾病,2015,22:219-221,225.
- 11 王诚,卓志平,刘松.颅内肿瘤开颅手术并发远隔部位出血分析.山东医药,2010,50:14.
- 12 Ha SH, Kim EM, Ju HM, et al. Remote cerebellar hemorrhage after unruptured cerebral aneurysm surgery: two cases report. *Korean J Anesthesiol*, 2014, 67: 213-216.
- 13 Steinhubl SR, Talley JD, Braden GA, et al. Point-of-care measured platelet inhibition correlates with a reduced risk of an adverse cardiac event after percutaneous coronary intervention: results of the GOLD (AU-Assessing Ultegra) multicenter study. *Circulation*, 2001, 103: 2572-2578.
- 14 Antithrombotic Trialists' Collaboration. Collaborative meta-analysis of randomized trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *BMJ*, 2002, 324: 71-86.
- 15 Bray PF, Cannon CP, Goldschmidt-Clermont P, et al. The platelet PIA 2 and angiotensin converting enzyme (ACE) Dallele polymorphism and the risk of recurrent events after acute myocardial infarction. *Am J Cardio*, 2001, 88: 347-352.

(收稿日期:2015-11-10)

(本文编辑:张志成)

消 息

欢迎订阅《实用检验医师杂志》

《实用检验医师杂志》2009 年 12 月创刊,刊号:CN 11-5864/R,ISSN 1674-7151,季刊,国内外公开发行,邮发代号:6-245,10.00 元/期,全年定价 40 元。欢迎单位和个人在当地邮局或《实用检验医师杂志》编辑部订阅,也可通过中国医师协会检验医师分会网站(www.cmdal.org;www.cmdal.com)信箱及本刊编辑平台(www.cjocp.com;www.cjocp.org)订阅。

