·临床研究·

血栓弹力图法和光密度比浊法对双联抗血小板治疗患者的血小板聚集率检测的比较

张蓝宁[1]，白 洁[2]，李玉茹[2]，杨 洁[1]，徐 斌[1]，王红娟[1]，张玉霄[1]，卢才义[1*]，尹 彤[1*]

（解放军总医院：[1]内科临床部老年心血管病研究所；[2]南楼临床部检验科，北京 100853）

【摘 要】**目的** 分析血栓弹力图法（TEG法）和光密度比浊法（LTA法）对经双联抗血小板治疗的急性冠脉综合征（ACS）患者的血小板聚集率检测的相关性。**方法** 募集2010年9月至2012年 9 月，在解放军总医院住院期间行氯吡格雷和阿司匹林双联抗血小板治疗的ACS患者共93名。在患者经口服双联抗血小板药物稳定剂量后取血，分别采用LTA法和TEG法，检测腺苷二磷酸（ADP）和花生四烯酸（AA）诱导的血小板聚集率，并对不同方法的检测指标进行相关回归分析。**结果** 在93名ACS受试者中，应用LTA法和TEG法检测的ADP诱导的血小板聚集率分别为（59.3 ± 21.34）%和（63.67 ± 28.15）%，两者之间的相关系数为0.814（$P < 0.0001$），回归方程为$\hat{Y}_{(比浊法)} = 0.2+0.617X_{血栓弹力图法}$。LTA法和TGA法检测的AA诱导的血小板聚集率分别为（40.87 ± 35.16）%和（46.02 ± 39.26）%，两者的相关系数为0.965（$P < 0.0001$），回归方程为$\hat{Y}_{(比浊法)} = 1.077\ X_{血栓弹力图法}+0.02$。**结论** 在双联抗血小板治疗的ACS患者中，采用TEG法和LTA法检测的血小板功能具有较好的一致性。

【关键词】氯吡格雷；阿司匹林；血小板聚集率；血栓弹力图；光密度比浊法

【中图分类号】 R973^{+}.2 【文献标识码】 A 【DOI】 10.3724/SP.J.1264.2013.00007

Thromboelastography *vs* light transmission aggregometry for platelet aggregation in acute coronary syndrome patients under dual antiplatelet therapy

ZHANG Lanning[1], BAI Jie[2], LI Yuru[2], YANG Jie[1], XU Bin[1], WANG Hongjuan[1], ZHANG Yuxiao[1], LU Caiyi[1*], YIN Tong[1*]

([1]Institute of Geriatric Cardiology, [2]Geriatric Clinical Laboratory, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

【**Abstract**】 **Objective** To analyze the correlation between the platelet aggregation from thromboelastography (TEG) and light transmission aggregation (LTA) in patients with acute coronary syndrome (ACS) after dual antiplatelet therapy. **Methods** Ninty-three ACS patients who were prescribed with aspirin and clopidogrel in Institute of Geriatric Cardiology, Chinese PLA General Hospital during September 2010 to September 2012 were subjected in this study. They received LTA and TEG to determine platelet aggregation induced by adenosine diphosphate (ADP) and arachidonic acid (AA). Correlation and regression analysis were applied to analyze the relationship between detection indicators. **Results** The ADP-induced platelet aggregation were (59.3 ± 21.34)% and (63.67 ± 28.15)% respectively by LTA and TEG, with a correlation coefficient $r = 0.814$ ($P < 0.0001$), and the regression equation was $\hat{Y}_{LTA} = 0.2+0.617X_{TEG}$. The AA-induced platelet aggregation were (40.87 ± 35.16)% and (46.02 ± 39.26)% respectively with LTA and TEG with a correlation coefficient $r = 0.965$($P < 0.0001$), and the regression equation was $\hat{Y}LTA = 1.077X_{TEG}+0.02$. **Conclusion** Platelet function determined by LTA and TEG is in good correlation in ACS patients after dual antiplatelet therapy.

【**Key words**】 clopidogrel; aspirin; platelet aggregation; thromboelastography; light transmission aggregation

This work was supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (No.30971259; No.30570736/C03030201), *and the Innovative Foundation of Scientific and Technological Research of Young Talents of Chinese PLA General Hospital* (09KMM23)

收稿日期：2012-11-06；**修回日期：**2012-12-18

基金项目：国家自然科学基金面上项目（No.30971259; No.30570736/C03030201）；解放军总医院科技创新苗圃基金”（09KMM23）

通讯作者：卢才义, Tel: 010-55499239, E-mail: cylu2000@sina.com.cn；尹 彤, Tel: 010-66936782, E-mail: yintong2000@yahoo.com

氯吡格雷联合阿司匹林抗血小板治疗已成为临床防治急性冠脉综合征（acute coronary syndrome，ACS）或防止经皮冠状动脉介入术（percutaneous coronary intervention，PCI）后再发缺血事件的经典治疗方案[1,2]，但不同个体间存在明显的氯吡格雷抗血小板反应差异性[3],因此准确、可靠地检测氯吡格雷抑制血小板聚集功能的水平就显得非常重要。氯吡格雷通过阻断血小板P2Y12受体发挥抗血小板作用[4]。阿司匹林使血小板的环氧酶（即前列腺素合成酶）乙酰化，从而抑制了环内过氧化物的形成，血栓素A2（thromboxane A2，TXA_2）的生成也减少。另外，它还可使血小板膜蛋白乙酰化，并抑制血小板膜酶，这也有助于抑制血小板功能[5]。临床常用的检测血小板功能的方法有：光密度比浊法（light transmission aggregation，LTA法）、血栓弹力图法（thromboelastography，TEG法）、以及流式细胞仪检测法等，其中前两者是临床监测患者服用抗血小板药物疗效的常用检测方法[5]。目前尚无充分研究证实上述几种方法检验效能如何，不同情况下哪种检测方法更加合适也暂未见相关报道，为此我们比较了LTA和TEG检测腺苷二磷酸（adenosine diphosphate，ADP）和花生四烯酸（arachidonic acid，AA）诱导的血小板聚集率。

1 对象与方法

1.1 对象

募集2010年9月至2012年9月期间，因ACS在解放军总医院住院且需服用氯吡格雷和阿司匹林双联抗血小板治疗的患者，所有参加本试验的患者均需签署书面知情同意书。入选标准：（1）18岁以上并且有完全行为能力；（2）性别不限；（3）诊断为ACS的患者，包括不稳定型心绞痛、非ST段抬高型心肌梗死以及ST段抬高型心肌梗死。排除标准：（1）已知双联抗血小板治疗禁忌症患者；（2）有慢性炎症性疾病者；（3）服用甾体或非甾体抗炎药者；（4）有活动性出血、出血体质、有出血倾向者以及血液疾病患者；（5）近1个月内有深部穿刺及大手术病史（含眼科或脑科手术）；（6）可疑的主动脉夹层、心包炎和亚急性细菌性心内膜炎；（7）已知对研究药物或器械过敏者（普通肝素、阿司匹林、氯吡格雷、不锈钢、造影剂等）或过敏体质者；（8）孕妇、哺乳期及有生育计划的患者；（9）研究者认为不适合参加本研究的任何情况。所有患者入院后均给予氯吡格雷（波立维®，Plavix®）75mg/d+阿司匹林肠溶片（拜阿司匹林®，Bayaspirin®）100mg/d口服抗血小板治疗。

1.2 血小板聚集率的检测方法

口服氯吡格雷24h内抽取患者外周静脉血2管（5ml/管），保存于EDTA管中，2h之内送检。分别用LTA（ADP浓度5ul/L）和TEG进行检测ADP和AA诱导的血小板聚集率（ADP浓度5umol/L，AA浓度0.5mol/L）。若患者接受血小板糖蛋白Ⅱb/Ⅲa受体拮抗剂（如替罗非班），则在停止用该药24h后采血。采用LTA法检测血小板聚集率步骤如下：（1）标本收集：用3.8%枸橼酸钠抗凝的真空采血管从肘前静脉抽取5mL静脉血，混匀。采血要熟练，尽量一针见血。混匀时手法要轻柔，不可剧烈晃动。（2）富血小板血浆的制备：上述标本于25～32℃以1000r/min离心10min，待离心机自然停止后取出（如出现溶血现象应重新采血），离心不要中断。小心吸取上层血浆即为富血小板血浆，移至另一塑料试管并做标志，注意勿吸入白细胞及红细胞，放置30min后再进行检测。（3）贫血小板血浆的制备：制备富血小板血浆吸除上层血浆后的余下标本以3000r/min离心5min，再吸取上层血浆即为贫血小板血浆。血小板数为（10～20）xl0/L。（4）用全自动血液细胞分析仪计数血小板，用贫血小板血浆调整富血小板血浆，检测ADP诱导下的血小板聚集率。采用TEG法检测AA诱导的血小板聚集率步骤如下：使用TEG凝血分析仪5000型（Haemoscope公司生产）；试剂包括高岭土（含1%的kaolin液），激活剂F（由蝮蛇血凝酶和血小板XⅢa因子混合而成），AA（0.5mol/L）和ADP（5ul/L），上述试剂均由Haemoscope公司提供；使用4个通道进行检测：(1)高岭土，（2）激活剂F，（3）激活剂F+AA，（4）激活剂F+ADP；患者于口服双联抗血小板药物稳定剂量后24h取静脉血，包括1个肝素化抗凝管和1个枸橼酸抗凝管。所有检测均在取血后2h内完成。观察分别采用LTA法和TEG法测得各研究对象的ADP和AA诱导的血小板聚集率（%）。

1.3 统计学处理

采用SPSS16.0进行统计分析，以$\bar{x} \pm s$表示计量资料，两样本组间的比较采用t检验。用变异系数（Coefficient of Variance，CV）表示数据的离散程

度。两种检测方法间进行Pearson相关分析，并进行线性回归分析。$P < 0.05$为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 临床特征

本研究共纳入病例93例，男性63例，女性30例，年龄52～82岁，平均60.9岁，其他资料详见表1。

表1 受试患者的一般临床特征

Table1 General characteristics of all subjects ($n = 93$)

临床特征	数值
年龄(岁，$\bar{x} \pm s$)	60.9 ± 21.1
男性[n(%)]	63(67.74)
体质量指数($\bar{x} \pm s$)	24.85 ± 3.43
收缩压(mmHg，$\bar{x} \pm s$)	136.54 ± 26.78
舒张压(mmHg，$\bar{x} \pm s$)	82.14 ± 18.62
高血压[n(%)]	70(75.27)
总胆固醇(mol/L，$\bar{x} \pm s$)	4.06 ± 0.92
甘油三酯(mol/L，$\bar{x} \pm s$)	1.43 ± 0.87
低密度脂蛋白胆固醇(mol/L，$\bar{x} \pm s$)	2.13 ± 0.79
高密度脂蛋白胆固醇(mol/L，$\bar{x} \pm s$)	1.23 ± 0.23
高脂血症[n(%)]	48(51.61)
糖尿病[n(%)]	29(31.18)
肌酐(μmol/L，$\bar{x} \pm s$)	78.30 ± 36.47
白细胞计数(中位数，$\times 10^9$/L)	6.29
血小板计数($\bar{x} \pm s$，$\times 10^9$/L)	189.00 ± 57.29
吸烟[n(%)]	33(35.48)
他汀[n(%)]	86(92.47)
β受体阻滞剂[n(%)]	55(59.13)
ACEI或ARB[n(%)]	40(43.01)
利尿剂[n(%)]	21(22.58)
硝酸酯类[n(%)]	79(84.95)
奥美拉唑[n(%)]	6(6.45)
钙离子阻滞剂[n(%)]	51(54.84)
阿司匹林[n(%)]	83(89.25)
替罗非班[n(%)]	20(21.51)
地高辛[n(%)]	8(8.60)

2.2 LTA法和TEG法检测的ADP诱导的血小板聚集率的相关分析

应用LTA法检测到的ADP诱导的血小板聚集率波动在11%～97%之间，平均值为（59.3 ± 21.34）%，CV为4.6%；应用TEG法测得的ADP诱导的血小板聚集抑制率波动在4%～100%之间，平均值为（63.67 ± 28.15）%，CV为7.9%。

采用直线相关模型分析发现，LTA法和TEG法检测的ADP诱导的血小板聚集率呈正相关（$r = 0.814$，$P < 0.0001$）。回归方程为$Y_{(比浊法)} = 0.2+0.617X_{血栓弹力图法}$（图1）。

2.3 LTA法和TEG法检测的AA诱导的血小板聚集率的相关分析

LTA法测得AA诱导的血小板聚集率波动在1%～94%间，平均值（40.87 ± 35.16）%，CV为12.4%。TEG法测得的血小板聚集抑制率波动在0%～100%间，平均值为（46.02 ± 39.26）%，CV为15.4%。

采用直线相关模型考察LTA法和TEG法测得的AA诱导的血小板聚集率，结果发现，LTA法和TEG法检测的AA诱导的血小板聚集率正相关（$r = 0.965$，$P < 0.0001$），回归方程为$\hat{Y}_{(比浊法)} = 1.077\ X_{血栓弹力图法}+0.02$（图2）。

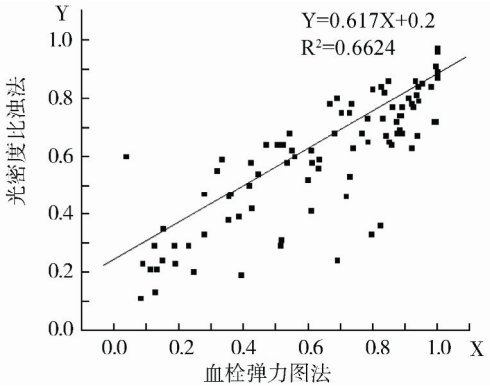

图1 LTA法和TEG法检测的ADP诱导的血小板聚集率之间的相关分析

Figure 1 Correlation analysis of ADP induced platelet aggregation rates assessed by TEP and LTA

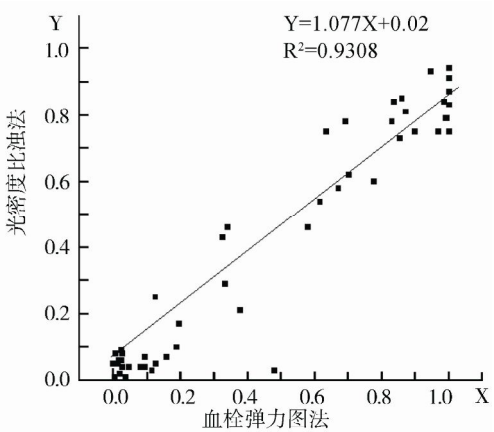

图2 LTA法和TEG法检测的AA诱导的血小板聚集率之间的相关分析

Figure 2 Correlation analysis of AA induced platelet aggregation rates assessed by LTA and TEG

3 讨 论

血小板在动脉粥样硬化性疾病形成和发展过程中起着重要的作用，抗血小板药物已成为治疗心血

管疾病的基石之一[6]。ADP是引起血小板活化和聚集的关键介质，它通过P2Y1和P2Y12这两个G蛋白耦联受体与血小板不可逆结合促使血小板结合并维持稳定[7]。阿司匹林使血小板的环氧酶乙酰化，从而抑制了环内过氧化物的形成，TXA2的生成也减少。另外，它还可使血小板膜蛋白乙酰化，并抑制血小板膜酶，这也有助于抑制血小板功能[5]。

目前氯吡格雷联合阿司匹林双联抗血小板治疗已成为治疗ACS和PCI后的经典方案，但患者间存在明显的抗血小板反应性变异。因此快速、准确地检测服药后血小板功能成为临床急需解决的问题。TEG分析仪是目前临床常用的检测手段之一。目前主要有普通检测、TEG法和肝素酶对比检测[8]。普通检测采用枸橼酸钠抗凝全血综合判断患者凝血状态；肝素酶检测用于检测患者对肝素、低分子肝素的反应性；而TEG法主要用于检测服用不同抗血小板药物后机体反应情况，其中ADP诱导的血小板聚集率可反映机体对氯吡格雷、双嘧达莫和血小板糖蛋白受体Ⅱb/Ⅲa抑制剂的反应性，而AA诱导的血小板聚集率可反映机体对阿司匹林的反应性[8,9]。LTA法也是临床检测ADP和AA诱导的血小板聚集率的常用方法之一[10]。它和TEG相比，具有操作较为简单、费用低廉等优势。

针对临床医生对上述两种检测方法检测结果一致性、相关性的疑问，我们进行了本项研究。研究结果发现LTA法和TEG法检测同一患者ADP和AA诱导的血小板聚集率，结果相关性较好。上述结果提示：对于服用氯吡格雷的ACS或PCI术后患者，LTA法和TEG法在检测血小板聚集功能方面具有较好的一致性，可以互相补充。LTA法操作简单、费用低廉，在做好质控措施的前提下，可作为服用阿司匹林、氯吡格雷等抗血小板药物的ACS和PCI术后患者初筛、监测和复测血小板活性的常规检测手段。TEG法虽然操作繁琐、费用昂贵，但它的众多检测项目可动态、综合评估患者凝血状况，不同的检测指标可检测肝素、阿司匹林、氯吡格雷、替罗非班等多种药物的抗血小板效果。

从本研究建立的线性模型中可以看出，两种检测方法的相关性在血小板聚集率呈现极端值（较高或较低）时更好的趋势。这一发现提示，应用不同方法检测的血小板聚集率在有血栓形成风险或出血风险的ACS患者中的一致性更强。

总之，在双联抗血小板治疗的ACS患者中，采用TEG法和LTA法检测的血小板功能具有较好的一致性。LTA法操作更加简便，费用更加低廉，因此更适于用作临床快速筛查抗血小板反应性的检测方法。而TEG法动态监测凝血全貌，更适合需全面评估凝血功能的危重症患者。

【参考文献】

[1] Sabatine MS, Cannon CP, Gibson CM, *et al*. Effect of clopidogrel pretreatment before percutaneous coronary intervention in patients with ST-elevation myocardial infarction treated with fibrinolytics: the PCI-CLARITY study[J]. JAMA, 2005, 294(10): 1224-1232.

[2] Chen ZM, Jiang LX, Chen YP, *et al*. Addition of clopidogrel to aspirin in 45, 852 patients with acute myocardial infarction: randomised placebo-controlled trial[J]. Lancet, 2005, 366(9497): 1607-1621.

[3] Kolandaivelu K, Bhatt DL. Overcoming 'resistance' to antiplatelet therapy: targeting the issue of nonadherence[J]. Nat Rev Cardiol, 2010, 7(8): 461-467.

[4] Yin T, Miyata T. Pharmacogenomics of clopidogrel: Evidence and perspectives[J]. Thromb Res, 2011, 128(4): 307-316.

[5] 刘毅敏，罩 军，王祥智，等. 血小板聚集检测方法进展[J]. 检验医学, 2004, 19(4): 383-384.

[6] Davi G, Patrono C. Platelet activation and atherothrombosis[J]. N Engl J Med, 2007, 357(24): 2482-2494.

[7] Trumel C, Payrastre B, Plantavid M, *et al*. A key role of adenosine diphosphate in the irreversible platelet aggregation induced by the PAR1-activating peptide through the late activation of phosphoinositide 3-kinase[J]. Blood, 1999, 94(12): 4156-4165.

[8] Park MS, Martini WZ, Dubiek MA, *et al*. Thromboelatography as a better indicator of hypercoagulable state after injury than prothrombin time or activated partial thromboplastin time[J]. J Trauma, 2009, 67(2): 266-275

[9] Gonzalez E, Kashuk JL, Moore EE, *et al*. Differentiation of enzymatic from platelet hypercoagu1abi1ity using the novel thrombelastography parameter delta[J]. J Surg Res, 2010, 163 (1): 96-101.

[10] Chen A, Teruya J. Global hemostasis testing thromboelastography: old technology, new applications[J]. Clin Lab Med, 2009, 29(2): 391-407.

（编辑：王雪萍）