

血栓弹力图法与光学比浊法监测冠心病患者阿司匹林抵抗的效果比较

黄媛, 陈水平, 宋世平, 于农, 张伟, 尹秀云, 金欣, 左向华(军事医学科学院附属医院检验科, 北京 100071)

【摘要】 目的 评价血栓弹力图法(TEG)与光学比浊法(LTA)监测冠心病患者阿司匹林抵抗的一致性。**方法** 通过 LTA 法与 TEG 法检测 70 例冠心病患者的血小板聚集功能,并对两种方法的检测结果进行一致性比较。**结果** LTA 法和 TEG 法检测阿司匹林抵抗的发生率分别为 10.0% 和 11.4%;两种方法检测阿司匹林抵抗具有好的一致性(Kappa=0.790)。**结论** TEG 法与 LTA 法具有好的一致性,可用于评价阿司匹林的临床疗效,指导临床治疗。

【关键词】 冠心病; 阿司匹林抵抗; 光学比浊法; 血栓弹力图

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.23.018 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)23-3277-02

Comparision of Aspirin resistance monitoration between thromboelastography and light transmission aggregometry in patients with coronary heart disease HUANG Yuan, CHEN Shui-ping, SONG Shi-ping, YU Nong, ZHANG Wei, YIN Xiu-yun, JIN Xin, ZUO Xiang-hua (Department of Laboratory Medicine, the Affiliated Hospital of Military Medical Sciences, Beijing 100071, China)

【Abstract】 Objective To evaluate the consistency between thromboelastography (TEG) and light transmission aggregometry (LTA) in monitoring aspirin resistance in patients with coronary heart disease. **Methods** A total of 70 patients with coronary heart disease were enrolled in this study. Platelet aggregation were determined by TEG and LTA, and consistency of results from the two methods were assessed as well. **Results** The incidence of Aspirin resistance determined by LTA and TEG was 10.0% and 11.4%, respectively. Fine consistence of results was found between the two method(Kappa=0.790). **Conclusion** TEG might be with fine consistency in determing Aspirin resistance, which could be used for the evaluation of therapeutic effect of Aspirin.

【Key words】 coronary heart disease; aspirin resistance; light transmission aggregometry; thromboelastography

抗血小板药物(如阿司匹林、氯吡格雷等)是血栓性疾病治疗和预防的主要措施,尽管规范了抗血小板药物的应用,部分患者仍会出现血栓事件,说明不同患者对抗血小板治疗的药物反应可能存在较大的个体差异。及时、准确的血小板功能检测,可以对抗血小板药物的疗效进行评价和监控,从而大大提高抗血栓的预防、治疗效率。血小板功能检测存在多种方法,其中以光学比浊法(LTA)检测血小板聚集功能受到广泛认可,被认为是血小板功能检测的“金标准”^[1-3]。但由于检测前需要比较繁琐的样本制备过程,质量控制难等原因,在临床实际工作中存在局限。血栓弹力图仪(TEG)是一种能监测凝血全过程的仪器,TEG 血小板图试验是一种较新的检测抗血小板药物疗效的方法。本文通过运用 TEG 与 LTA 两种方法对 70 例冠心病患者的血小板功能进行监测,评价 TEG 法与 LTA 法在检测阿司匹林抵抗时的一致性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2012 年 10 月至 2013 年 12 月于本院心内科住院的冠心病患者 70 例;男 40 例,女 30 例;平均年龄(70.26±15.11)岁;所有患者均给予标准双联抗血小板药物阿司匹林 100 mg/d 和氯吡格雷 75 mg/d 口服治疗;所有患者血小板计数在正常范围($100 \times 10^9/L < PLT < 350 \times 10^9/L$)。

1.2 仪器与试剂 血小板聚集仪(美国,Chrono-log 公司)及配套诱导剂二磷酸腺苷(ADP)和花生四烯酸(AA)。TEG-

5000 血栓弹力图仪(美国,Haemoscope 公司)及配套试剂盒。

1.3 方法

1.3.1 LTA 法 空腹采集静脉血,使用枸橼酸钠抗凝管,经 800 r/min 离心 10 min 和 3 000 r/min 离心 10 min 得到富含血小板血浆(PRP)和乏血小板血浆(PPP)。在富含血小板血浆中加入 $10 \mu\text{mol/L}$ ADP 和 0.5 mmol/L AA 为诱导剂,以 PPP 为空白参照,运用 LTA 法测定,当 PRP 中透光度改变最大时得到血小板最大聚集率,以百分数表示。

1.3.2 TEG 法 空腹采集静脉血,使用枸橼酸钠和肝素抗凝管,用 3 个通道(高岭土、激活剂 F、AA 激活剂)进行检测,MA 表示最大血块强度。 $MA_{(\text{fibrin})}$ 由激活剂 F 激活测定; MA_{AA} 由激活剂 AA 激活测定,最大可能的血块强度 MA_{thrombin} 通过高岭土和氯化钙激活测定。合成 3 个通道的测试图得出 AA 诱导的血小板抑制率(PPI), $PPI = 100 - 100 \times [(MA_{AA} - MA_{\text{fibrin}}) / (MA_{\text{thrombin}} - MA_{\text{fibrin}})]$ 。

1.3.3 阿司匹林抵抗判断标准 (1)AA 诱导的光学比浊法血小板聚集率(LTA_{AA})标准:AA 诱导的血小板聚集率大于或等于 20% 和 ADP 诱导的血小板聚集率大于或等于 70%,两项均符合者为阿司匹林抵抗(AR)^[4-5]。(2)ADP 诱导的血栓弹力图法血小板抑制率(TEG_{AA})标准:AA 诱导的血小板抑制率小于或等于 20%,为 AR。根据抵抗判断标准分组为 AR 组、非 AR 组。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计学软件进行数据分析;计数资料以百分数标示;一致性分析用 Kappa 检验,Kappa 值大于 0.75 表示一致性好; $P<0.05$ 比较差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两种方法检测阿司匹林抵抗的发生率 用 TEG 方法检出 AR 8 例(8/70,11.4%),NAR 62 例(62/70,88.6%);用 LTA 方法检出 AR 7 例(7/70,10.0%),NAR 63 例(63/70,90.0%)。见图 1,图 2。

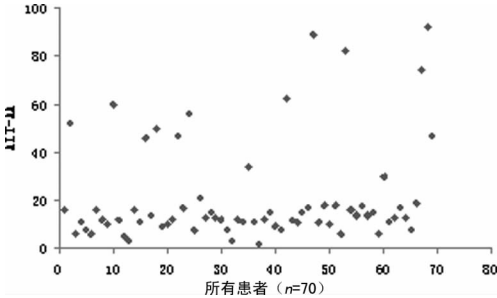


图 1 70 例患者光学比浊法 AA 诱导的血小板聚集率分布散点图

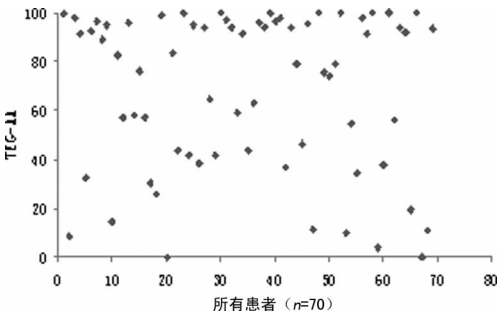


图 2 70 例患者血栓弹力图法 AA 诱导的血小板抑制率分布散点图

2.2 两种方法检测阿司匹林抵抗的一致性 6 例 AR 两种方法完全符合(符合率 85.7%);61 例 NAR 两种方法完全符合(符合率 96.8%);两种方法检测阿司匹林抵抗一致性分析 Kappa 值为 0.790,大于 0.75,一致性好。见表 1。

表 1 两种方法检测阿司匹林抵抗的一致性(n)

TEG 法	LTA 法		合计
	AR	NAR	
AR	6	2	8
NAR	1	61	62
合计	7	63	70

注:Kappa =0.790

2.3 LTA_{AA}与 TEG_{AA}相关性分析 LTA_{AA}与 TEG_{AA}存在负相关,相关系数 $r=-0.611$, $P<0.001$ 。见图 3。

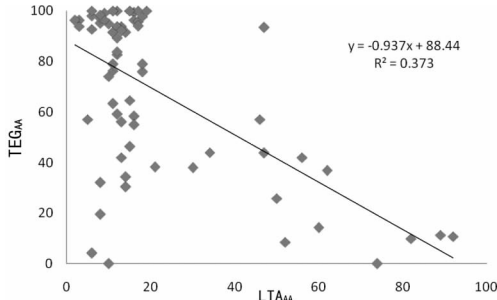


图 3 LTA_{AA}与 TEG_{AA}相关性

3 讨 论

阿司匹林抗血小板聚集的作用机制是,使环氧化酶(COX)丝氨酸位点乙酰化从而阻断催化位点与底物的结合,导致 COX 永久失活,血小板生成血栓素 A₂ (TXA₂)受到抑制,TXA₂下降抑制血小板聚集^[6-7]。但临床上发现尽管摄入阿司匹林,还有一些患者出现不良血管疾病,这种现象被称为 AR^[8]。

实验室评估阿司匹林疗效的检测方法有多种,如 LTA 法、TEG 法、VerifyNow 抗血小板治疗监测系统和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方法^[9]。目前 LTA 法被公认为评估阿司匹林反应性的金标准。体外试验证明,在服用阿司匹林的患者中,AA 以通过诱导 COX -1 途径引起血小板聚集为主,残余的 AA 可通过诱导 ADP P2Y₁ 和 ADP P2Y₁₂ 受体活化诱导血小板聚集^[4]。所以 LTA 法以 AA 诱导的血小板聚集率联合 ADP 诱导的血小板聚集率诊断 AR,即 AA 诱导的血小板聚集率大于或等于 20%和 ADP 诱导的血小板聚集率大于或等于 70%。本文中依据这一判断标准,70 例冠心病患者中用 LTA 法检测 AR 的发生率为 10.0%。但 LTA 法有一定的局限性,检测结果依赖于操作者的经验,质量控制难,不同实验室间甚至同一实验室内的可重复性以及可比性均较差。

TEG 法已广泛用于临床指导术中输血、心脏搭桥、肝脏移植监测,近年逐渐扩展到心血管疾病的风险评估、预测及监测。TEG 通过检测凝血过程中血块粘弹力的变化来检测血液的凝血、纤溶等过程;能够捕捉凝块形成的动态变化,直接反映从最初的凝血因子级联活化和血小板聚集到纤维蛋白交联和溶解的一系列过程。本文中 70 例冠心病患者用 TEG 法检测 AR 发生率为 11.4%,与 LTA 法检测 AR 的发生率相似。Tantry 等^[10]对服用阿司匹林的冠心病患者同时应用 LTA 和 TEG 检测,发现两种方法的检测结果具有很好的相关性且均可以反映阿司匹林的作用效果。本文用 LTA 法和 TEG 法两种方法检测阿司匹林抵抗,通过一致性分析得到 Kappa 值为 0.790,大于 0.75,一致性好;LTA_{AA}与 TEG_{AA}存在负相关性。

综上所述,TEG 法展示凝血全过程,直接应用全血检测,无需特殊的血样处理,操作上易于标准化。TEG 法与 LTA 法在检测 AR 时有较好的一致性,可以更贴近于体内血小板激活状态,更全面地反映血小板聚集情况。TEG 血小板图作为一种新的抗血小板药物疗效检测手段,可用于评价抗血小板药物的临床疗效,指导临床治疗。

参考文献

[1] Madsen EH,Saw J,Kristensen SR,et al. Long-term aspirin and clopidogrel response evaluated by light transmission aggregometry, VerifyNow, and thrombelastography in patients undergoing percutaneous coronary intervention [J]. Clin Chem,2010,56(5):839-847.
[2] Gurbel PA,Becker RC,Mann KG,et al. Platelet function monitoring in patients with coronary artery disease[J]. J Am Coll Cardiol,2007,50(19):1822-1834.
[3] 潘曙明,吴增斌,费爱华. 血栓弹力图对急性脑梗死患者阿司匹林疗效监测价值[J]. 中华实用诊断与治疗杂志,2011,25(11):1078-1079. (下转第 3281 页)

合成并分泌免疫球蛋白参与体液免疫。当机体受抗原刺激后,活化的 B 细胞首先产生 IgM, IgM 相对分子质量大,属于巨球蛋白,不能通过血管壁,因此主要存在于血管内,是血管内的主要免疫物质。免疫刺激使 IgG 合成并分泌入血,形成免疫复合物沉积于血管壁,从而激活补体系统,并可参与心肌损伤坏死的形成^[9]。另外,γ 球蛋白带中还含有炎性介质——C 反应蛋白(CRP),当发生 AMI 时,发生血管内斑块破裂、部分坏死心肌细胞引起局部炎性反应,这些可使血清 CRP 增高,因此也可以解释 AMI 患者 γ 球蛋白上升^[10]。

在对患者预后的随访研究中,血清蛋白电泳中的 A/G 与 BNP、LVEF 和 TNI 同时影响着患者的预后情况。A/G 包括清蛋白和球蛋白,其中清蛋白主要由肝脏细胞合成,球蛋白主要由机体的免疫器官,即淋巴细胞制造。而当发生 AMI 时,心脏射血功能下降,肝脏发生继发性缺血缺氧,导致肝功能受损,肝细胞合成清蛋白的功能下降^[11]。而坏死的心肌细胞引起局部炎性反应,免疫器官被激活,活化的淋巴细胞产生大量球蛋白。球蛋白升高而清蛋白降低从而导致 AMI 患者的 A/G 降低。本研究通过相关性分析发现,A/G 与患者的预后相关,即 AMI 患者中发生心肌梗死面积越大,引起的免疫反应较大,以及肝脏继发缺血明显,肝细胞功能下降,A/G 下降更加严重,提示该类患者的预后不佳。

综上所述,AMI 事件引起患者血清 β₁、β₂、γ 球蛋白以及 A/G 异常,同时患者的 A/G 降低偏离正常值越明显,提示预后不良,更易引起心力衰竭、心律失常甚至死亡的发生。本研究结果未体现出 AMI 组的清蛋白、α₁ 和 α₂ 球蛋白的变化差异有统计学意义,可能与研究样本数量较小有关,若扩大样本数量,血清蛋白电泳中的清蛋白、α₁、α₂ 球蛋白变化可能会更加明显。但研究显示结合患者临床情况并关注患者的血清蛋白电泳结果,及时作出临床分析、准确处理可能发生的恶性事件对于患者的治疗结果及病情发展至关重要。

参考文献

- [1] Wang M, Moran AE, Liu J, et al. Cost-effectiveness of optimal use of acute myocardial infarction treatments and impact on coronary heart disease mortality in China[J]. Circ Cardiovasc Qual Outcomes, 2014, 7(1): 78-85.
- [2] De Bacquer D, Dallongeville J, Kotseva K, et al. Residual risk of cardiovascular mortality in patients with coronary heart disease; the EUROASPIRE risk categories[J]. Int J Cardiol, 2013, 168(2): 910-914.
- [3] Wright RS, Anderson JL, Adams CD, et al. 2011 ACCF/

AHA focused update of the guidelines for the management of patients with unstable angina/ Non-ST-Elevation myocardial infarction (updating the 2007 guideline): a report of the American college of cardiology foundation/American heart association[J]. Circulation, 2011, 123(18): 2022-2060.

- [4] Nystrom LM, Buckwalter JA, Syrbu S, et al. Serum protein electrophoresis in the evaluation of lytic bone lesions[J]. Iowa Orthop J, 2013, 33(2): 114-118.
- [5] Hudson BH, Frederick JP, Drake LY, et al. Role for cytoplasmic nucleotide hydrolysis in hepatic function and protein synthesis[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2013, 110(13): 5040-5045.
- [6] Stanga Z, Nock S, Medina-Escobar P, et al. Factors other than the glomerular filtration rate that determine the serum beta-2-microglobulin level[J]. PLoS One, 2013, 8(8): e72073.
- [7] Wilson AM, Kimura E, Harada RK, et al. Beta2-microglobulin as a biomarker in peripheral arterial disease: proteomic profiling and clinical studies[J]. Circulation, 2007, 116(12): 1396-1403.
- [8] Rabenau HF, Marianov B, Wicker S, et al. Comparison of the neutralizing and ELISA antibody titres to measles virus in human sera and in gamma globulin preparations[J]. Med Microbiol Immunol, 2007, 196(3): 151-155.
- [9] Kumar B, Agrawal N, Patra S, et al. Occurrence of Guillain-Barré syndrome as an immune mediated complication after thrombolysis with streptokinase for acute anterior wall myocardial infarction: a caution to be vigilant[J]. BMJ Case Rep, 2013, 13(4): 458-459.
- [10] Kiefer CR, Stock RE, Flanagan SS, et al. Early verification of myocardial ischemia with a novel biomarker of acute tissue damage; C-reactive protein fractional forms[J]. Clin Chim Acta, 2012, 413(19/20): 1536-1541.
- [11] Xiao R, Lei ZY, Dang YM, et al. Prompt myocardial damage contributes to hepatic, renal, and intestinal injuries soon after a severe burn in rats[J]. J Trauma, 2011, 71(3): 663-671.

(收稿日期: 2014-03-19 修回日期: 2014-06-25)

(上接第 3278 页)

- [4] Ziegler S, Maca T, Alt E, et al. Monitoring of antiplatelet therapy with the PFA-100 in peripheral angioplasty patients[J]. Platelets, 2002, 13(8): 493-497.
- [5] 李晓利, 范利, 曹剑, 等. 不同实验方法调查 431 例老年患者阿司匹林抵抗患病率[J]. 中南大学学报: 医学版, 2012, 37(4): 19-23.
- [6] 张蓝宁, 白洁, 李玉茹, 等. 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[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2013, 12(1): 25-28.
- [7] Tosco P, Lazzarato L. Mechanistic insights into cyclooxygenase irreversible inactivation by aspirin[J]. ChemMedChem, 2009, 4(6): 939-945.

Chem, 2009, 4(6): 939-945.

- [8] Bhatt D, Topol EJ. Scientist and therapeutic advanced in antiplatelet therapy[J]. Nature Rev, 2003, 2(1): 15-28.
- [9] Michelson AD. Platelet function testing in cardiovascular diseases[J]. Circulation, 2004, 110(19): E489-E493.
- [10] Tantry US, Bliden KP, Gurbel PA. Overestimation of platelet aspirin resistance detection by thrombelastograph platelet mapping and validation by conventional aggregometry using arachidonic acid stimulation[J]. J Am Coll Cardiol, 2005, 46(9): 1705-1709.

(收稿日期: 2014-04-02 修回日期: 2014-07-15)