

DOI:10.13602/j.cnki.jcls.2023.01.08

· 出血功能检验 ·

光学比浊法检测血小板聚集率对三七治疗阿司匹林抵抗的评价*

王琰^{1a}, 王辉², 张熙^{1b}, 雷娜^{1a}, 李雯^{1a}, 张雯^{1a}, 徐阳^{1a}, 魏伟^{1a}, 张磊^{1a} (1. 西安交通大学第二附属医院, a. 检验科, b. 神经外科, 西安 710004; 2. 西安市中医院干部保健科, 西安 710004)

摘要: **目的** 用光学比浊法检测血小板聚集率, 评估缺血性脑卒中患者二级预防阿司匹林抵抗的疗效。 **方法** 征集脑卒中后阿司匹林治疗者, 随机分为基础治疗对照组和基础治疗+三七 (3 g/d) 治疗组, 连续检测血小板聚集率变化, 以治疗前、治疗 14 d、治疗 30 d 为时间点采集数据, 分析治疗前后血小板聚集率变化差异。 **结果** 两组基础治疗后抗血小板聚集率不达标, 血小板聚集率分别为 (26.30±3.30)%, (26.20±3.35)%, 差异无统计学意义 ($P=0.590$); 加用三七治疗 14 d, 对照组和治疗组血小板聚集率分别为 (25.89±2.46)%, (15.12±3.42)%, 差异有统计学意义 ($P=0.042$); 加用三七治疗 30 d, 对照组和治疗组血小板聚集率分别为 (24.35±2.97)%, (10.30±2.62)%, 差异有统计学意义 ($P=0.025$)。 **结论** 添加中药三七治疗脑卒中阿司匹林抵抗患者可使血小板聚集率下降, 达到抗血小板聚集治疗的标准。

关键词: 阿司匹林抵抗; 血小板聚集率; 光学比浊法; 三七治疗

中图分类号: R446

文献标志码: A

在我国脑卒中是死亡和致残的重要原因, 脑血管疾病二级预防中, 阿司匹林是最常用的抗血小板药物^[1]。长期服用阿司匹林可降低脑卒中复发风险, 使非致死性脑卒中减少 25%, 全因死亡率减少 18%^[2-3]。但在临床实践中发现, 即使普遍地口服阿司匹林治疗, 脑卒中的发病率及复发率仍在继续增加, 一项队列研究报道, 阿司匹林抵抗患者卒中复发的风险更高^[4]。2016 年美国神经病学学会报道阿司匹林抵抗与严重脑卒中和大面积梗死的风险增加有关^[5]。由此可见, 阿司匹林抵抗是增加脑卒中复发率、致残率及死亡率的独立危险因素^[6]。因此在对脑卒中患者的治疗过程中进行药效监测以及及时调整治疗方案十分必要。以“散瘀通络, 调气活血”为主要功效的中药在防治阿司匹林抵抗中有较好的疗效, 含有三七的药物能够有效改善脑卒中患者血小板聚集功能^[7], 但其单味药物使用在阿司匹林抵抗患者中的作用如何, 国内外未见报道。

血小板聚集率是诊断血小板疾病、评估血栓前状态、了解个体对抗血小板药物的反应、辅助临床制定抗血小板治疗策略、提高治疗抗血小板药物的疗效和安全性的一种重要评估方法。光学比浊法测定血小板聚集率与临床事件的相关性较好, 临床

应用较普及, 是血小板聚集功能检测的“金标准”^[8-10]。综上, 本研究针对脑卒中二级预防阿司匹林抵抗患者, 运用基础治疗和中药辅助治疗进行临床观察, 以血小板聚集率为指标评估治疗方案的疗效, 以便对个体化抗血小板治疗提供临床检测的依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选取 2020 年 10 月至 2021 年 12 月就诊于西安市中医医院脑病科、老年病科以及西安交通大学第二附属医院神经外科的缺血性脑卒中二级预防阿司匹林抵抗患者。共纳入 100 例研究对象, 男性 39 例, 女性 61 例; 年龄 45~65 岁, 其中实验组年龄为 (60.2±5.7) 岁; 对照组年龄为 (61.3±4.7) 岁; 病程介于 16~180 d 之间; 所有患者均签署知情同意书, 经院级伦理委员会批准 [批准文号: (2020) 伦审第 (16) 号]。

1.1.1 诊断标准 脑卒中的诊断参照中华医学会神经病学分会发布的《中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2018》。

阿司匹林抵抗诊断标准: 通过光学比浊法测定 AA 诱导的血小板聚集率 ≥ 20% 或 ADP 诱导的血

* 基金项目: 陕西省重点研发计划 (2022SF-508)。

作者简介: 王琰, 1986 年生, 女, 技师, 大学本科, 主要从事出凝血相关研究。

通信作者: 张磊, 副主任技师, 主要从事出凝血及血液疾病相关研究, E-mail: zuibaxian2001@163.com。

小板聚集率 $\geq 70\%$ 诊断为阿司匹林抵抗^[11]。

1.1.2 纳入标准 (1)缺血性脑卒中发病 ≥ 2 周;(2)45岁<年龄<65岁,性别不限,连续口服阿司匹林肠溶片100 mg/d大于2周;(3)符合阿司匹林抵抗诊断标准;(4)Essen卒中风险评分量表 ≤ 3 分;(5)血小板计数 $(100\sim 400)\times 10^9/L$;(6)无家族或个人出血史倾向;(7)无骨髓增生异常综合症史;近1个月内无外科手术史;(8)观察前一月及周期内不再重叠使用具有活血化瘀作用的中药;(9)观察前一月未口服其他影响血小板代谢的药物及影响阿司匹林吸收的药物。

1.1.3 排除标准 短暂性脑缺血发作、脑梗死急性期急需双重抗血小板治疗的患者;伴有梗死后出血、颅脑外伤、脑动脉炎、脑肿瘤等其他疾病的患者;各种出血性疾病及有出血倾向的患者以及各种不适合纳入该实验的患者。

1.2 研究方法

1.2.1 对照组治疗 基础治疗。参照《中国缺血性脑卒中和短暂性脑缺血发作二级预防指南(2014版)》内容选择标准治疗方案^[12]。

1.2.2 治疗组治疗 基础治疗+三七粉(3 g,1次/日,冲服)。

1.2.3 选用药物 阿司匹林肠溶片(国药准字H20160684,拜耳医药保健公司),三七粉(陕西兴盛德药业公司),4周为1疗程。

1.2.4 实验室指标检测 由肘前静脉采集静脉血,采样时不得用手拍打采血部位,也不可使用止血带,采血应在1 min内完成。用19~21号采血针进行采血,选择收集的第2管血检测血小板功能,其余指标用第1管血,109 mmol/L枸橼酸钠抗凝,抗凝剂与血量比例1:9,患者标本均在西安交通大学第二附属医院检验科2 h内完成检测。

用CN-6000全自动凝血分析仪及配套血小板聚集功能检测试剂盒(希森美康公司)均按照试剂说明书、专家共识^[13]检测血小板聚集率。

1.3 统计学分析 用SPSS 25.0统计软件进行。数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示。组内数据分析采用Kruskal-Wallis *H*检验,组间数据采用Mann-Whitney *U*检

验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象的基线资料 见表1。实验组和对照组性别、是否饮酒、是否吸烟、有无糖尿病、有无高血压、有无心脏病、病程、Essen评分差异均无统计学意义($P>0.05$)。

表1 研究对象的基线资料

项目	实验组 (<i>n</i> =50)	对照组 (<i>n</i> =50)	χ^2/t 值	<i>P</i> 值
性别			1.051	0.305
男性	17	22		
女性	33	28		
是否饮酒			0.233	0.629
是	12	10		
否	38	40		
是否吸烟			0.360	0.548
是	27	24		
否	23	26		
糖尿病			1.099	0.295
有	20	15		
无	30	35		
高血压			0.762	0.383
有	37	33		
无	13	17		
心脏病			1.000	0.317
有	12	8		
无	38	42		
年龄(岁)	60.2 $\pm$ 5.6	61.3 $\pm$ 4.7	5.67	0.297
病程(d)	77.6 $\pm$ 34.0	81.1 $\pm$ 39.4	4.67	0.130
Essen评分(分)	2.36 $\pm$ 0.92	2.30 $\pm$ 0.97	0.34	0.752

2.2 三七对缺血性脑卒中二级预防阿司匹林抵抗患者血小板聚集率的影响 见表2。对照组和治疗组治疗前血小板聚集率差异无统计学意义($P>0.05$)。对照组在治疗14 d和30 d后,血小板聚集率变化差异无统计学意义($H=3.44,P=0.624$)。治疗组各时间点血小板聚集率比较差异有统计学意义($H=12.34,P=0.041$),其中第14天与治疗前比较($U=9.01,P=0.043$)、第30天与治疗前比较($U=7.89,P=0.039$)、第30天与第14天比较($U=4.34,P=0.022$),差异均有统计学意义。与对照组比较,治疗组血小板聚集率在第14天和第30天明显下降,差异均有统计学意义(P 均 <0.05)。

表2 三七治疗各组各时间点血小板聚集率比较($\bar{x}\pm s$)

组别	治疗前(%)	治疗14 d(%)	治疗30 d(%)	<i>H</i> 值	<i>P</i> 值
对照组(<i>n</i> =50)	26.30 $\pm$ 3.30	25.89 $\pm$ 2.46	24.35 $\pm$ 2.97	3.44	0.624
治疗组(<i>n</i> =50)	26.20 $\pm$ 3.35	15.12 $\pm$ 3.42* Δ	10.30 $\pm$ 2.62* Δ	12.34	0.041
<i>U</i> 值	57.5	8.91	4.78		
<i>P</i> 值	0.590	0.042	0.025		

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与治疗前比较, $\Delta,P<0.05$ 。

3 讨论

阿司匹林的抗血小板聚集作用于 20 世纪 50 年代被发现,被广泛应用于脑血管疾病的一级与二级预防。阿司匹林抵抗的机制复杂,多种临床、遗传、药理及生物因素可导致阿司匹林抵抗的发生。剂量的个体差异、患者依从性、药物的相互作用引起的低生物利用率、阿司匹林酯酶及转运体活性升高引起的阿司匹林分解排泄加速等均可诱发阿司匹林抵抗^[14-15];血小板糖膜蛋白 II b/III a (platelet membrane glycoproteins GP II b/III a)、血管性血友病因子(von Willebrand factor, vWF)等基因多态性因素使阿司匹林抵抗发生^[16];病理状态下,血小板呈高反应性,黏附及聚集功能增强,容易形成血栓,其过程不能被代偿性纤溶系统激活对抗,从而引起局部血流阻滞及血管闭塞。血小板的黏附和聚集是反映血小板活化的主要标志,也是血栓形成的重要基础。血小板聚集率能准确、快速、特异地评价血小板活化的程度,对临床预防、治疗血栓性疾病,预测病情变化及指导临床用药均具有重要意义。

阿司匹林抵抗的患者更易发生血栓性事件,故目前多检测血小板聚集率来作为判定阿司匹林抵抗的标准^[17]。临床实践过程中,临床需要良好的指标来评估抗血小板治疗的效果,但一直缺乏优秀的实验室检测设备及系统。由此阿司匹林抵抗患者难以鉴别诊断的主要原因。血小板聚集功能检测试验方法上具有技术难点,离体血小板体外实验受很多因素的影响,包括离心力、温度、激活剂浓度、全血细胞等干扰血小板聚集功能的检测。早些年血小板聚集功能仪器操作繁琐、费时、无标准化等缺点,导致很多阿司匹林治疗患者不能真实反映疗效。Sysmex CN6000 全自动血凝分析仪具有实验结果重复性良好,识别血小板聚集功能异常敏感度高等优势^[18],本研究采用 Sysmex CN6000 全自动血凝分析仪检测阿司匹林抵抗患者血小板聚集率,验证了三七+基础治疗能够降低阿司匹林抵抗患者血小板聚集率,且治疗 30 d 效果优于治疗 14 d,与其他报道基本一致^[19]。本研究实验方法无法完全模拟体内环境,在对患者血小板聚集功能进行评估时还可纳入血栓弹力图、血小板功能分析等方法。

4 参考文献

[1] Sisodia P, Bhatia R. Aspirin resistance and stroke[J]. J Stroke Med, 2018, 1(1): 19-27.
[2] Jing Y, Yue XC, Yang S, *et al.* Association of aspirin resistance with increased mortality in ischemic stroke[J]. J Nutr Health Aging, 2019, 23(3): 266-270.

[3] Collaboration AT. Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients[J]. BMJ, 2002, 324(7329): 71-86.
[4] Zhang N, Wang ZH, Zhou LH. Aspirin resistance are associated with long-term recurrent stroke events after ischaemic stroke[J]. Brain Res Bull, 2017, 134: 205-210.
[5] Oh MS, Yu KH, Lee JH, *et al.* Aspirin resistance is associated with increased stroke severity and infarct volume[J]. Neurology, 2016, 86(19): 1808-1817.
[6] Wang CW, Su LL, Hua QJ, *et al.* Aspirin resistance predicts unfavorable functional outcome in acute ischemic stroke patients[J]. Brain Res Bull, 2018, 142: 176-182.
[7] 国家中医心血管病临床医学研究中心,中国医师协会中西医结合医师分会,中国中西医结合学会活血化瘀专业委员会,等.三七总皂苷制剂临床应用中国专家共识[J].中国中西医结合杂志, 2021, 41(10): 1157-1167.
[8] 单康娜,石福宏,刘茂林,等.复发性脑梗死患者阿司匹林抵抗及血小板聚集率的一致性分析[J].黑龙江医学, 2022, 46(13): 1575-1577.
[9] 李涛,屈晨雪,王建中,等.光学比浊法血小板聚集试验的标准化研究[J].中国实验诊断学, 2010, 14(12): 2041-2043.
[10] 梅金平,周欣,姬文婕,等.流式细胞术与光学比浊法检测血小板聚集率的比较[J].临床检验杂志, 2015, 33(2): 81-84.
[11] Wang J, Xiong XJ, Feng B. Aspirin resistance and promoting blood circulation and removing blood stasis: current situation and prospectives[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2014, 2014: 954863.
[12] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会脑血管病学组.中国缺血性脑卒中和短暂性脑缺血发作二级预防指南 2014[J].中华神经科杂志, 2015, 48(4): 258-273.
[13] 中国老年保健医学研究会检验医学分会.光学比浊法检测血小板聚集标准化专家共识[J].中华检验医学杂志, 2021, 44(6): 472-479.
[14] Floyd CN, Ferro A. Mechanisms of aspirin resistance[J]. Pharmacol Ther, 2014, 141(1): 69-78.
[15] 王新华,王建中,吴煦,等.部分蔬菜抗血小板聚集功能及其作用机制的初步研究[C].中华医学会北京分会检验医学学术年会. 2009.69-78.
[16] 黄亚,闫福岭.阿司匹林抵抗研究进展[J].东南大学学报(医学版), 2015, 34(3): 459-462.
[17] 司一民,杨长春,姚桂玲,等.血栓性疾病血小板聚集实验的临床意义[J].武警医学, 2009, 20(6): 526-527.
[18] Gardiner C, Lane P, Langley K, *et al.* A comparative evaluation of the CN-6000 haemostasis analyser using coagulation, amidolytic, immuno-turbidometric and light transmission aggregometry assays [J]. Int J Lab Hematol, 2020, 42(5): 643-649.
[19] 王田,瞿惠燕,沙婉婧,等.复方丹参滴丸联合阿司匹林治疗冠心病有效性及安全性的 Meta 分析[J].中西医结合心脑血管病杂志, 2021, 19(4): 533-539.

(收稿日期:2022-11-04)

(本文编辑:王海燕)