

应用血栓弹力图分析血糖控制与阿司匹林抵抗的关系

蔡婷婷¹, 王 洁², 张 利¹, 范海波¹, 施建丰¹, 姚孝明¹, 杨婉薇^{1△}

(1. 南京中医药大学附属中西医结合医院/江苏省中医药研究院检验科, 南京 210028;

2. 常州市儿童医院检验科, 江苏常州 213003)

摘要:目的 应用血栓弹力图探讨血糖和血脂控制情况与阿司匹林抵抗(AR)的关系。方法 选取 2013 年 11 月至 2016 年 7 月就诊于南京中医药大学附属中西医结合医院心内科患者 99 例, 年龄 ≥ 40 岁, 单一服用阿司匹林(100 mg/d)作为抗血小板药物, 服药时间在 1 年以上。用血栓弹力图检测并计算阿司匹林对血小板的抑制率, 以抑制率 $< 50\%$ 记为阿司匹林抵抗(AR), 同时检测患者血清空腹血糖、三酰甘油(TG)和总胆固醇(TC)水平, 进而分析代谢状态与 AR 的关系。结果 99 例病例的 AR 总体发生率为 28.3%。根据空腹血糖结果将入组患者分为血糖正常组、糖耐量异常组和糖尿病组, 3 组患者血小板抑制率分别为 $(91.6 \pm 34.8)\%$ 、 $(64.0 \pm 81.9)\%$ 和 $(70.3 \pm 63.3)\%$, 差异有统计学意义($P < 0.05$);根据血清 TG 结果将患者分为 TG 正常组(≤ 1.7 mmol/L)和 TG 异常组(> 1.7 mmol/L), 两组的心小板抑制率 $[(82.9 \pm 53.9)\% \text{ vs. } (78.0 \pm 62.9)\%]$ 和 AR 发生率 $(27.3\% \text{ vs. } 30.3\%)$ 比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$);根据血清 TC 结果将患者分为 TC 正常组(≤ 5.17 mmol/L)和 TC 异常组(> 5.17 mmol/L), 两组的心小板抑制率 $[(82.7 \pm 56.3)\% \text{ vs. } (83.3 \pm 77.4)\%]$ 和 AR 发生率 $(28.0\% \text{ vs. } 29.4\%)$ 比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。结论 高血糖状态可能是干扰阿司匹林抑制血小板聚集的原因之一, AR 的发生与有血糖控制有关。

关键词:阿司匹林抵抗; 血小板抑制率; 血糖控制; 血栓弹力图

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.20.023

中图法分类号:R587.1

文章编号:1673-4130(2018)20-2548-03

文献标识码:A

Analysis of the relationship between glycemic control and aspirin resistance using TEG

CAI Tingting¹, WANG Jie², ZHANG Li¹, FAN Haibo¹, SHI Jianfeng¹,YAO Xiaoming¹, YANG Wanwei^{1△}

(1. Department of Clinical laboratory, Affiliated Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Jiangsu Province Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu 210028, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Changzhou Children's Hospital, Changzhou, Jiangsu 213003, China)

Abstract: **Objective** To investigate the relationship between glycemic control and aspirin resistance by using thrombelastography. **Methods** Totally 99 patients over 40 years old who took aspirin as a long-term antiplatelet therapy (≥ 1 year, 100 mg/d) and were treated in Department of Cardiology, Affiliated Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine were enrolled into the study. The inhibition rate of aspirin on platelet was measured and calculated by thrombelastography and the inhibition rate less than 50% was considered as aspirin resistance. Meanwhile, the fasting blood glucose, triglyceride (TG) and total cholesterol (TC) levels were detected, and then the relationship between metabolic status and AR were analyzed. **Results** Among the 99 patients enrolled in the study, 28.3% were aspirin-resistance. According to the fasting glucose levels, patients were divided into three groups: normal glucose group, impaired glucose tolerance group and diabetes group. The aspirin-caused platelet inhibition rates of the three groups were $(91.6 \pm 34.8)\%$, $(64.0 \pm 81.9)\%$ and $(70.3 \pm 63.3)\%$ respectively, which showed significant differences ($P < 0.05$). According to the serum TG levels, patients were divided into normal TG group (< 1.7 mmol/L) and hypertriglyceridemia TG group (> 1.7 mmol/L). There were no statistically significant difference between the two groups referring to the aspirin-caused platelet inhibition ratio $[(82.9 \pm 53.9)\% \text{ vs. } (78.0 \pm 62.9)\%]$ and the incidence rate of AR $(27.3\% \text{ vs. } 30.3\%)$. According to the serum total cholesterol levels, the patients were divided into normal TC group (≤ 5.17 mmol/L) and hypercholesterolemia (TC) group (> 5.17 mmol/L). There were no significant difference between the two groups referring to aspi-

作者简介:蔡婷婷,女,技师,主要从事临床血液学检验方向研究。△ 通信作者, E-mail: yang-wanwei@163.com。

本文引用格式:蔡婷婷,王洁,张利,等.应用血栓弹力图分析血糖控制与阿司匹林抵抗的关系[J].国际检验医学杂志,2018,39(20):2548-2550.

rin-caused platelet inhibition ratio $[(82.7 \pm 56.3) \% \text{ vs. } (83.3 \pm 77.4) \%]$ and the incidence rate of AR $(28.0 \% \text{ vs. } 29.4 \%)$. **Conclusion** Hyperglycemia may be one of the factors causing aspirin non-responding to platelet aggregation. The occurrence of AR may be related to glycemic control.

Key words: aspirin resistance; platelet inhibition rate; blood sugar control; thrombelastography

阿司匹林是常用的抗血小板聚集药物,广泛用于心血管疾病的一级和二级预防。然而,在临床实践中,有一部分患者尽管长期服用小剂量阿司匹林抗血小板,但是仍然会发生血栓事件,这一现象被称为阿司匹林抵抗(AR)^[1-2]。AR 的发生不仅增加了糖尿病患者大血管病变的发生率,也加重了患者的经济负担,同时阿司匹林的胃肠道不良反应也不容小觑。了解 AR 的原因,并进一步明确影响 AR 的因素对指导阿司匹林的使用至关重要。

国内外已有关于 AR 的报道,但是这一现象发生的机制尚未完全清楚,但普遍都提到高血糖可能是 AR 发生的一个危险因素。由于研究方法不同,研究结论也不尽相同。YASSIN 等^[3]报道显示,AR 与血糖、血脂等代谢指标无相关性,然而 ERTUGRUL 等^[4]的研究表明,AR 与空腹血糖和糖化血红蛋白水平均呈显著相关。因此,建立本院检测 AR 的方法,并进一步了解本地区阿司匹林抵抗的发生情况具有重要意义。为明确代谢情况与 AR 的相关性,本课题拟应用血栓弹力图(TEG)检测阿司匹林服用者的抵抗情况,并进一步探讨血糖、血脂与 AR 的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取在 2013 年 11 月至 2016 年 7 月就诊于南京中医药大学附属中西医结合医院心内科的患者 99 例。入组标准:年龄 ≥ 40 岁,单一服用阿司匹林作为抗血小板药物,剂量为 100 mg/d,服药时间在 1 年以上。99 例患者年龄 (65.4 ± 13.3) 岁,男性占比 65.7%(65/99)。以阿司匹林对血小板的抑制率 $< 50 \%$ 记为 AR,AR 的总体发生率为 28.3%(28/99)。排除标准:(1)肝素或低分子肝素用药史;(2)非阿司匹林的抗血小板用药史(如氯吡格雷、盐酸替罗非班等);(3)就诊前 1 周手术史或既往 PCI 手术史;(4)家族性出血病史;(5)血小板计数 $< 150 \times 10^9 / \text{L}$ 或 $> 450 \times 10^9 / \text{L}$;(6)血红蛋白 $< 80 \text{ g/L}$;(7)收缩压 $> 140 \text{ mm Hg}$ (1 mm Hg=0.133 kPa);(8)患有胃肠道疾病和(或)服用抗过敏药物(对乙酰水杨酸过敏)者。

1.2 方法 采用 TEG5000 血栓弹力图仪检测阿司匹林对血小板的抑制情况。具体操作如下:(1)取枸橼酸钠抗凝血 1 mL 移至含有高岭土的小管中,颠倒混匀,从管中取 340 μL 含高岭土血液和 20 μL CaCl_2 加入肝素酶杯中,用 TEG5000 检测凝血酶诱导的血凝块最大强度(MA);(2)取 360 μL 肝素化的血液加入含 10 μL 冻干激活剂 F 的普通杯,测定纤维蛋白的交联强度 MA_{Fib} ;(3)将 360 μL 肝素化的血液加入含 10 μL 冻干激活剂 F 和 10 μL 花生四烯酸(AA)的普

通杯,测定由 AA 诱导的血凝块强度 MA_{AA} 。通过公式计算出阿司匹林对血小板的抑制率,抑制率($\%$) $= 1 - [\text{MA}_{\text{AA}} - \text{MA}_{\text{Fib}}] / [\text{MA} - \text{MA}_{\text{Fib}}] \times 100 \%$ 。以阿司匹林抑制率 $< 50 \%$ 记为 AR。采用罗氏 Cobas e8000 生化分析仪检测血糖、三酰甘油(TG)和总胆固醇(TC)水平。

将 99 例病例按照血糖指标分为血糖正常组(3.89~6.11 mmol/L)、糖耐量异常组($> 6.11 \sim 7.0$ mmol/L)和糖尿病组(> 7.0 mmol/L)3 组;根据血脂结果将 99 例病例分为 TG 正常组(≤ 1.7 mmol/L)和 TG 异常组(> 1.7 mmol/L),以及 TC 正常组(≤ 5.17 mmol/L)和 TC 异常组(> 5.17 mmol/L)。统计分析阿司匹林对各组患者血小板的平均抑制率及 AR 的发生率。

1.3 统计学处理 采用 Graph Pad Prism 5.0 软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验,非正态分布计量资料数据以中位数(四分位数)表示,组间比较采用秩和检验;计数资料以率或构成比表示,组间比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 空腹血糖水平与 AR 的发生情况 血糖正常组、糖耐量异常组和糖尿病组患者年龄、性别、阿司匹林对血小板抑制率和 AR 发生率见表 1。3 组患者的年龄和性别差异无统计学意义($P > 0.05$);阿司匹林对血糖正常组患者的血小板抑制率明显高于糖尿病组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。尽管糖耐量异常组和糖尿病组的 AR 发生率明显高于血糖正常组,但差异无统计学意义($P > 0.05$),原因可能是样本量不足。

表 1 空腹血糖水平与 AR 的发生情况					
	<i>n</i>	年龄 ($\bar{x}\pm s$,岁)	男性 [<i>n</i> (%)]	血小板抑制率 ($\bar{x}\pm s$,%)	AR 发生 [<i>n</i> (%)]
血糖正常组	58	66.0±11.6	34(58.6)	91.6±34.8	12(20.7)
糖耐量异常组	12	71.0±9.5	10(83.0)	64.0±81.9	5(41.7)
糖尿病组	29	63.0±11.3	21(72.0)	70.3±63.3*	11(37.9)

注:与血糖正常组比较,* $P < 0.05$

2.2 血清 TG 水平与 AR 的发生情况 TG 正常组和 TG 异常组,以及 TC 正常组和 TC 异常组的年龄和性别、阿司匹林对血小板的抑制率和 AR 发生率情况见表 2。各组患者的年龄和性别比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);阿司匹林对血小板的抑制率、AR 发生率在 TG 正常组和 TG 异常组,以及 TC 正常组

和 TC 异常组,差异均无统计学意义($P>0.05$)。

表 2 血清 TG 水平与 AR 的发生情况

	年龄 ($\bar{x}\pm s$,岁)	男性 [$n(\%)$]	血小板抑制率 ($\bar{x}\pm s,\%$)	AR 发生 [$n(\%)$]
TG 正常组	66.0 \pm 13.7	43(65.2)	82.9 \pm 53.9	18(27.3)
TG 异常组	62.0 \pm 9.9	22(66.7)	78.0 \pm 62.9	10(30.3)
TC 正常组	65.5 \pm 11.4	57(67.9)	82.7 \pm 56.3	23(28.0)
TC 异常组	60.4 \pm 18.7	8(53.3)	83.3 \pm 77.4	5(29.4)

3 讨 论

心血管疾病的主要病理基础是动脉粥样硬化和血栓形成,血小板活化在病程中起着至关重要的作用。有研究表明抗血小板治疗能减少 26% 的心血管事件发生^[5]。阿司匹林作为抗血小板的一线用药主要通过抑制环氧合酶 1(COX-1)减少血栓烷 A2(TXA2)的产生而发挥不可逆性抗血小板聚集的作用^[6]。尽管有大量资料支持阿司匹林在抗血小板方面的优势,但是一些服用阿司匹林抗血小板聚集的患者仍然会发生血栓事件,因此,越来越多的研究聚焦 AR 现象。

本研究应用 TEG 直观动态的观察全血形成血栓的过程,避免了离心分离血小板的步骤,从而减少了人为因素导致的血小板活化,更真实地模拟了血小板的聚集过程。实验中通过单一诱导 AA 通路,从而计算出阿司匹林对血小板的抑制率,结果显示,入组的 99 例病例的 AR 发生率为 28.3%,与其他研究结论相似^[7-9]。

AR 的发生与环境、心理和遗传等因素有关,血液中脂质水平、炎症状态、COX1 基因的多态性及非甾体抗炎药的使用等均参与 AR 的发生^[10]。一项荟萃分析显示,服用阿司匹林用于抗血小板聚集治疗能降低 22% 的缺血事件发生,但是在伴有糖尿病的亚组,仅能降低约 7% 的缺血事件^[5]。这一变化表明,AR 的发生与患者体内的代谢状态有关。本研究结果显示,阿司匹林对糖尿病组患者血小板的抑制率明显低于血糖正常组,提示血糖控制不良可能与 AR 的发生有关。WATALA 等^[11]的动物实验发现,与糖尿病大鼠相比,对照组大鼠的血小板更易于被阿司匹林乙酰化,故 AR 的机制可能是高糖能阻碍阿司匹林对血小板的乙酰基化,使化学修饰减少,增加氧自由基产生,从而阻碍内皮功能,最终导致阿司匹林作用的靶点改变。另有研究表明,高血糖可以促进血小板糖蛋白的非酶促糖基化反应,从而使血小板及其质膜的结构发生改变,使阿司匹林与靶点结合困难,导致糖尿病患者的血小板对阿司匹林的敏感性降低^[12]。这些基础研究从分子水平揭示了血糖控制不良导致 AR 发生的机制。

本研究的入组患者数量较少,且来自单一地区,因此研究结果有一定的局限性。另外,由于无法评价患者既往服用阿司匹林的依从性,因此,难以区分 AR 的发生是否源于少服或漏服药物。临床亟待大样本、

多中心的前瞻性研究,以了解我国 AR 的发生情况。

4 结 论

血糖控制不良可能使血小板对阿司匹林的阳性降低,因此常规服用阿司匹林的糖尿病患者应注意 AR 的发生,并及时更换其他抗血小板药物如氯吡格雷、替罗非班等,以减少阿司匹林的不良反应,减轻患者经济负担。

参考文献

[1] GJ H,EIKELBOOM J W. Aspirin resistance[J]. Lancet, 2006,367(9510):606-617.

[2] CAI G Y,ZHOU W J,LU Y,et al. Aspirin resistance and other aspirin-related concerns[J]. Neurol Sci,2016,37(2):181-189.

[3] YASSINE H N,DAVIS-GORMAN G,STUMP C S,et al. Effect of glucose or fat challenge on aspirin resistance in diabetes [J]. Int J Endocrinol,2010,2010:820876.

[4] ERTUGRUL D T,TUTAL E,YILDIZ M,et al. Aspirin resistance is associated with glycemic control,the dose of aspirin,and obesity in type 2 diabetes mellitus[J]. J Clin Endocrinol Metab,2010,95(6):2897-2901.

[5] Antithrombotic Trialists' Collaboration. 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.

[6] PULCINELLI F M,BIASUCCI L M,RIONDINO S,et al. COX-1 sensitivity and thromboxane A2 production in type 1 and type 2 diabetic patients under chronic aspirin treatment [J]. Eur Heart J,2009,30(10):1279-1286.

[7] PAMUKCU B. A review of aspirin resistance;definition, possible mechanisms, detection with platelet function tests,and its clinical outcomes[J]. J Thromb Thrombolysis,2007,23(3):213-222.

[8] GASPARYAN A Y,WATSON T,LIP G Y. The role of aspirin in cardiovascular prevention-implications of aspirin resistance[J]. J Am Coll Cardiol,2008,51(19):1829-1843.

[9] PASALA T,HOO J S,LOCKHART M K,et al. Aspirin resistance predicts adverse cardiovascular events in patients with symptomatic peripheral artery disease[J]. Tex Heart Inst J,2016,43(6):482-487.

[10] YI X Y,WANG C,ZHOU Q,et al. Interaction among COX-2,P2Y1 and GPⅢa gene variants is associated with aspirin resistance and early neurological deterioration in Chinese stroke patients[J]. BMC Neurol,2017,17(1):4.

[11] WATALA C,ULICNA O,GOLANSKI J,et al. High glucose contributes to aspirin insensitivity in streptozotocin-diabetic rats; a multiparametric aggregation study [J]. Blood Coagul Fibrinolysis,2006,17(2):113-124.

[12] ABOONABI A,SINGH I. The effectiveness of antioxidant therapy in aspirin resistance,diabetes population for prevention of thrombosis [J]. Biomed Pharmacother, 2016,83:277-282.