

论 著

(临床研究)

血小板聚集率在评价脓毒症患者血小板功能及预后中的价值

钟林翠, 宋景春, 姜 峻, 胡艳晶, 何龙平, 曾庆波, 林青伟

【摘要】 目的 探讨花生四烯酸(AA)和二磷酸腺苷(ADP)血小板聚集率在评价脓毒症患者血小板功能中的临床价值。**方法** 回顾性分析 2017 年 7 月至 2019 年 2 月解放军联勤保障部队第九〇八医院重症医学科收治的 62 例脓毒症患者临床资料。根据 60 d 生存情况分为生存组($n=51$)与死亡组($n=11$),比较患者入科 2 h 内的血小板(PLT)计数、血块最大强度(MA)值、AA 和 ADP 血小板聚集率等指标。**结果** 与生存组患者 AA 血小板聚集率[75.5(64.5~82.5)%]和 ADP 血小板聚集率[71.5(59.3~77.2)%]比较,死亡组[51.9(33.6~64.8)%、51.2(32.5~68.5)%]均显著下降($P<0.05$);而 MA 值和 PLT 计数差异无统计学意义($P>0.05$)。PLT 计数与 AA、ADP 血小板聚集率和 MA 的相关系数依次为 0.403、0.477 和 0.580($P<0.01$),MA 值与 ADP 血小板聚集率的相关系数为 0.310($P<0.05$);Logistic 回归结果显示 ADP 血小板聚集率是脓毒症预后的保护因素($P<0.01$);ADP 血小板聚集率预测脓毒症生存的曲线下面积为 0.734(95%CI:0.545~0.924, $P=0.015$);生存分析显示 ADP 血小板聚集率 $<63.1\%$ 患者的死亡风险是 ADP 血小板聚集率 $\geq 63.1\%$ 患者的 5.2 倍(95%CI:1.62~19.64)差异有统计学意义($P<0.01$)。**结论** ADP 血小板聚集率 $<63.1\%$ 的脓毒症患者血小板聚集功能明显障碍,且死亡率显著升高。

【关键词】 脓毒症;血栓弹力图;血小板聚集率;花生四烯酸;二磷酸腺苷

【中图分类号】 R459.7 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1008-8199(2020)03-0249-05

【DOI】 10.3969/j.issn.1672-271X.2020.03.006

Clinical study on platelet aggregation to evaluate platelet function and prognosis in patients with sepsis

ZHONG Lin-cui, SONG Jing-chun, JIANG Jun, HU Yan-jing, HE Long-ping, ZENG Qing-bo, LIN Qing-wei
(Intensive Care Unit, the 908th Hospital of the Joint Logistics Support Force, PLA, Nanchang 330002, Jiangxi, China)

【Abstract】 Objective To assess the clinical value of changes of platelet aggregation induced by arachidonic acid (AA) and adenosine diphosphate (ADP) and evaluate platelet function in patients with sepsis. **Methods** The clinical data were obtained from patients with sepsis at the intensive care unit, 908th Hospital of Chinese PLA Joint Logistic Support Force from July 2017 to February 2019. According to the 60d living situation, the patients were divided into survival group and death group. The platelet (PLT) counts, maximum amplitude (MA) values, AA-induced and ADP-induced platelet aggregation were collected and compared between the two groups. **Results** Compared to AA-induced platelet aggregation [75.5(64.5-82.5)%] and ADP-induced platelet aggregation [71.5(59.3-77.2)%] in the survival group, the rates of the death group [51.9(33.6-64.8)%, 51.2(32.5-68.5)%] decreased significantly ($P<0.05$). However, there was no significant difference between the MA value and PLT count. The correlation coefficients between PLT count with AA-induced platelet aggregation rate, ADP-induced platelet aggregation rate and MA value were 0.403, 0.477 and 0.580, respectively($P<0.01$). Correlation coefficients between MA value with ADP-induced platelet aggregation

rate was 0.310($P<0.05$), respectively. Logistic regression analysis showed that ADP-induced platelet aggregation was a protective factor for sepsis. The area under the receiver operating characteristic curves of ADP-induced platelet aggregation predicting sepsis survival was 0.734 (95%CI: 0.545-0.924, $P=0.015$). Kaplan-Meier analysis demonstrated that the

基金项目:江西省教育厅创新课题(YC2018-S274);江西省卫健委科技计划(20204820)

作者单位:330002 南昌,解放军联勤保障部队第九〇八医院重症医学科(钟林翠、宋景春、姜 峻、胡艳晶、何龙平、曾庆波、林青伟)

通信作者:宋景春, E-mail: songjingchun@126.com

death risk of the patients with ADP-induced platelet aggregation rate < 63.1% was 5.2 times (95% CI: 1.62-19.64) ($P < 0.01$) of those with ADP-induced platelet aggregation rate $\geq 63.1\%$. **Conclusion** Sepsis patients with ADP aggregation rate < 63.1% showed significantly impaired platelet aggregation function and the mortality was considerably higher.

【Key words】 sepsis; thromboelastography; platelet aggregation; arachidonic acid; adenosine diphosphate

0 引言

脓毒症作为危重病最常见的并发症之一,是指机体对感染反应失调所致的危及生命的器官功能障碍,主要表现为过度炎症反应、免疫功能失调和凝血功能紊乱^[1-3]。血小板减少在脓毒症中的发生率为 40%~60%,并且是引起脓毒症患者死亡的独立危险因素^[4-5]。近年来研究发现血小板不仅是血液凝固过程中的重要参与者,同时在脓毒症的炎症和免疫调节方面也发挥着重要作用^[6-7]。血栓弹力图是以细胞凝血理论为基础的全血监测设备,能够反映血小板在血液凝固过程中的总体功能^[8]。而血小板聚集率检测以光比浊法作为基本原理,是血小板聚集功能评价的金标准^[9]。迄今临床上尚缺乏血小板聚集率检测对脓毒症患者血小板功能评价价值的相关研究。因此,本研究采用回顾性研究方法分析我科治疗的 62 例脓毒症患者,比较患者相同时间点的小血小板聚集率和血栓弹力图(thromboelastography, TEG)参数,拟评估脓毒症患者的血小板功能改变及临床意义。

1 资料与方法

1.1 研究对象 回顾性分析 2017 年 8 月至 2019 年 2 月我科收治的 62 例脓毒症患者临床资料,其中男 39 例,女 23 例,年龄 20~89 岁,平均年龄(64 ± 19)岁。纳入标准:符合 2016 年脓毒症 3.0 诊断标准,即对于疑似或者证实感染,全身感染相关性器官功能衰竭评价系统(sepsis-related organ failure assessment, SOFA)评分 ≥ 2 分可诊断为脓毒症^[1];年龄 ≥ 18 岁;住院时间 > 24 h。排除标准:入科 24 h 内死亡或自动出院患者;血小板(PLT)计数 $< 100 \times 10^9/L$ 的患者^[10];存在已知的先天性凝血功能障碍;慢性肝功能与肾功能不全的患者;1 周之内使用过抗血小板功能的药物(如阿司匹林、氯吡格雷等)。根据患者入院后 60 d 生存情况分为生存组($n=51$)和死亡组($n=11$)。

1.2 评价指标 收集患者入住 ICU 2 h 内的相关资料,包括急性生理与慢性健康评分 II (acute

physiology and chronic health evaluation score II, APACHE II)、SOFA 评分、弥散性血管内凝血(disseminated intravascular coagulation, DIC)评分和休克发生率;血常规包括 PLT 计数、红细胞(RBC)计数和血红蛋白(Hb)(BC-6900 全自动血细胞分析,深圳迈瑞);炎症指标包括白细胞(WBC)计数、C 反应蛋白(CRP)和降钙素原(procalcitonin, PCT)(UPT-3A-1800 上转发光免疫分析仪,北京热景);常规凝血功能指标包括凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、活化部分凝血活酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT)、纤维蛋白原(fibrinogen, FIB)、凝血酶时间(thrombin time, TT)、纤维蛋白原降解产物(fibrin degradation product, FDP)、D-二聚体(D-dimer, DD)、抗凝血酶 III(antithrombin III, ATIII)(ACL-TOP700 全自动凝血分析仪,美国沃芬);TEG 相关参数包括凝血反应时间(reaction time, R)、血块形成速率(Kinetics of clot development, K)、血块形成动力学(Angle, α)、血块最大强度(maximum amplitude, MA)和凝血综合指数(coagulation index, CI)(CFMS LEPU-8800 血栓弹力图仪,北京乐普);花生四烯酸(arachidonic acid, AA)血小板聚集率和二磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP)血小板聚集率(LBY-NJ4A 全自动血小板聚集功能检测仪,北京泰利康信)。检测方法均依照说明书执行。

1.3 统计学分析 应用 SPSS 25.0 统计软件进行分析。计量资料采用单样本 S-W 法进行正态分布检验,符合正态分布的数据均采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,非正态分布的数据采用中位数和四分位数[$M(P_{25} \sim P_{75})$]表示,满足正态分布且方差齐者采用 t 检验,不满足者采用非参数检验,计数资料采用卡方检验,相关性分析采用直线相关,并进行二分类 Logistic 回归分析、受试者工作特征曲线分析和生存分析,以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料 2 组患者年龄、性别方面差异无

统计学意义($P>0.05$)。针对感染来源,2 组患者的感染部位差异亦无统计学意义($P>0.05$);针对疾病严重程度,与生存组比较,脓毒症死亡组患者的 SOFA 评分显著增高($P<0.05$),而 APACHE II 评分及休克发生率差异无统计学意义($P>0.05$);针对炎症指标,死亡组较生存组患者的 PCT、CRP 和 WBC 差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1 脓症患者生存组与死亡组一般资料比较

项目	生存组($n=51$)	死亡组($n=11$)	P 值
年龄(岁)	67(54~79)	81(67~84)	0.052
男[$n(\%)$]	35(68.6)	4(36.4)	0.096
感染部位[$n(\%)$]			
肺及呼吸系统	31(60.8)	7(63.6)	1.000
腹部及消化系统	15(29.4)	3(27.3)	1.000
泌尿系统	2(3.9)	0(0)	1.000
其他	3(5.9)	1(9.1)	1.000
疾病严重程度			
APACHEII 评分	21 \pm 6	24 \pm 4	0.140
SOFA 评分	6(4~7)	8(7~12)	0.010
休克发生率[$n(\%)$]	14(27.5)	7(63.6)	0.051
RBC($\times 10^{12}/L$)	4.08 \pm 1.02	3.55 \pm 1.01	0.124
Hb(g/L)	115.53 \pm 26.22	106.73 \pm 33.34	0.340
炎症指标			
WBC($10^9/L$)	13.4(9.7~20.9)	14.0(6.6~25.1)	0.897
CRP(mg/L)	91.2(14.7~150.2)	170.1(67.7~258.8)	0.054
PCT(ng/mL)	1.08(0.22~8.14)	3.50(1.18~20.72)	0.093

2.2 凝血功能指标比较 与生存组比较,死亡组患者的 TT 明显延长($P<0.05$);而 2 组患者的 PT、APTT、FIB、FDP、DD、ATIII 和 PLT 差异无统计学意义($P>0.05$)。有关 TEG 指标,与生存组比较,死亡组患者的 R 值明显延长($P<0.05$),而 K 值、Angle、MA 和 CI 值差异无统计学意义($P>0.05$)。有关血小板聚集功能指标,与生存组比较,死亡组患者的 AA 血小板聚集率和 ADP 血小板聚集率均明显降低且差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

2.3 相关分析 相关分析结果显示,PLT 计数与 AA 血小板聚集率和 ADP 血小板聚集率的相关系数分别为 0.403 和 0.477($P<0.01$),见图 1。PLT 计数与 MA 值的相关系数为 0.580($P<0.01$),见图 2。MA 值与 ADP 血小板聚集率的相关系数为 0.310($P<0.05$),见图 3。

表 2 脓症患者生存组与死亡组凝血功能指标的比较

项目	生存组($n=51$)	死亡组($n=11$)	P 值
PT(s)	13.2(12.0~15.3)	14.2(13.2~16.1)	0.097
APTT(s)	32.3(29.7~35.7)	29.3(24.9~36.3)	0.311
TT(s)	14.6 \pm 2.1	17.0 \pm 2.3	0.001
FIB(g/L)	3.38 \pm 1.15	2.97 \pm 1.33	0.319
FDP(μ g/mL)	6.88(3.80~14.56)	10.26(4.00~54.30)	0.405
DD(μ g/mL)	1.61(0.83~4.52)	3.49(1.47~14.26)	0.115
AT3(%)	79 \pm 26	70 \pm 33	0.341
PLT($\times 10^9/L$)	194(158~254)	149(111~251)	0.324
R(min)	7.5 \pm 2.1	9.2 \pm 3.2	0.026
K(min)	1.8(1.5~2.4)	2.6(1.6~4.8)	0.121
Angle($^{\circ}$)	64.0(57.7~69.3)	55.5(43.9~67.4)	0.148
MA(mm)	63.0 \pm 7.9	59.8 \pm 15.0	0.502
CI	-1.0 \pm 2.3	-3.3 \pm 4.3	0.098
AA 聚集率(%)	75.5(64.5~82.5)	51.9(33.6~64.8)	0.010
ADP 聚集率(%)	71.5(59.3~77.2)	51.2(32.5~68.5)	0.015

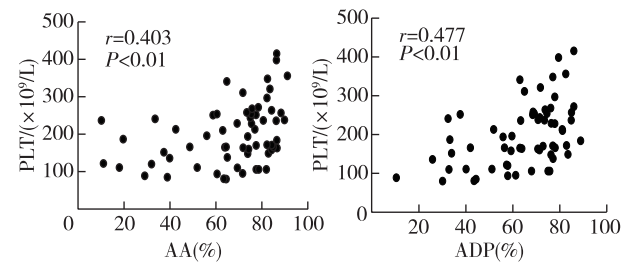


图 1 PLT 计数与 AA 血小板聚集率、ADP 血小板聚集率的相关性分析

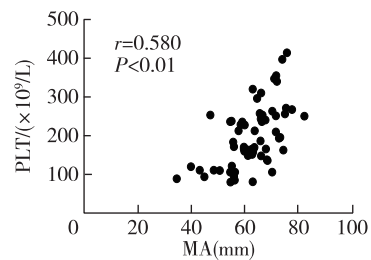


图 2 PLT 计数与 MA 值的相关性分析

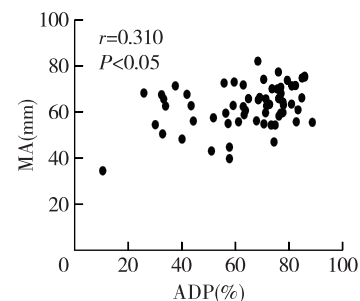


图 3 MA 值与 ADP 血小板聚集率的相关性分析

2.4 二分类 logistic 回归和 ROC 曲线分析 采用二分类 logistic 回归结果显示:ADP 血小板聚集率 ($OR=0.949, 95\% CI: 0.913 \sim 0.985$) 是脓毒症预后的保护因素 ($P<0.05$)。将 ADP 血小板聚集率纳入 ROC 曲线分析,结果显示应用 ADP 血小板聚集率预测脓毒症生存的曲线下面积为 0.734 ($95\% CI: 0.545 \sim 0.924, P=0.015$);当 ADP 血小板聚集率的界值为 63.1% 时,其敏感度、特异度、阳性预测值和阴性预测值分别为 0.706、0.727、0.923、0.348。见图 4。

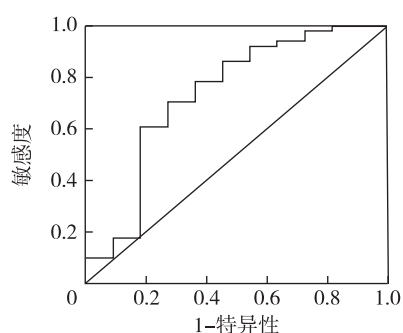


图 4 ADP 血小板聚集率预测脓毒症的 ROC 曲线

2.5 生存分析 根据 ADP 血小板聚集率的界值分组,结果显示 ADP 血小板聚集率 $<63.1\%$ 的脓毒症患者的死亡风险是 ADP 血小板聚集率 $\geq 63.1\%$ 的 5.2 倍 ($95\% CI: 1.62 \sim 19.64$),差异有统计学意义 ($P<0.01$)。见图 5。

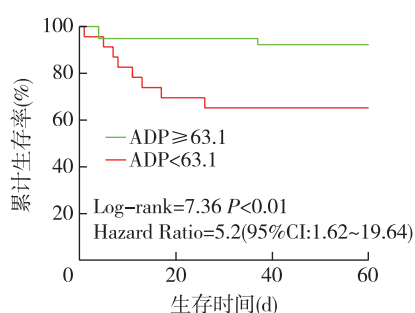


图 5 ADP 血小板聚集率进行 K-M 生存曲线分析

3 讨论

本研究通过对 62 例脓症患者进行单中心的回顾性分析,探讨 AA 和 ADP 血小板聚集率在评价脓症患者血小板功能中的临床价值。选择相同时间点的 TEG 参数与血小板聚集率进行比较。TEG 参数中的 MA 代表血块最大振幅,是基于全血

标本反映血小板整体功能的指标^[11]。本研究采用的血小板聚集率检测方法是目前被视为金标准的光比浊法^[12]。结果显示:与生存组相比,死亡组患者的 AA 和 ADP 血小板聚集率显著下降,而 PLT 计数与 MA 值差异无统计学意义。与健康人血小板聚集率 (81.91 ± 2.78)% 相比^[13],脓毒症患者血小板计数与 MA 值处于正常参考范围的情况下,出现血小板聚集功能显著下降,这种功能障碍与 AA 途径和 ADP 途径的血小板聚集率下降有关。

既往已有关于脓毒症时血小板聚集功能变化的相关研究,但其结论并不一致。Akinosoglou 等^[14]研究显示,与健康人相比,脓毒症患者的 ADP 血小板聚集率显著升高。但 Davies 等^[15]报道,与全身性炎症反应综合征患者相比,严重脓毒症患者的 AA 与 ADP 血小板聚集率均显著降低,AA 与 ADP 血小板聚集预测严重脓毒症的 AUC 为 0.740 vs 0.697;而按 28 d 预后分为生存组和死亡组,仅 AA 血小板聚集率显著降低。动物实验也证明,与健康犬相比,脓毒症犬的 AA、ADP 血小板聚集率均显著降低^[16]。Adamzik 等^[17]研究报道,按 30 d 预后对严重脓症患者进行分组,死亡组较生存组仅 ADP 血小板聚集率显著降低,AA 血小板聚集差异无统计学意义。

之所以上述研究结果结论各不相同,我们认为主要原因有如下两点:第一,各项研究的纳入标准对脓症患者病情严重程度的要求不一致。比如 Akinosoglou 等^[14]研究的患者病情危重程度较轻 [SOFA 评分 3 (1 ~ 4)], Davies 等^[15]与 Adamzik 等^[17]研究的患者病情更重 [SOFA 评分 9.0 (6.0 ~ 12.0), SOFA 评分 14.5 (12.0 ~ 16.8)]。第二,各项研究采用的血小板聚集功能检测方法各不相同。Davies 等^[15]与 Adamzik 等^[17]研究采用多电极聚集测量法测量血小板聚集率,而 Akinosoglou 等^[14]采用 VerifyNow 检测仪评估血小板功能。目前针对血小板聚集功能检测的方法较多,因为检测原理不同,故而试验结果的判读标准也不同,研究结论就可能不一致。因此,本研究采用被誉为血小板聚集率检测金标准的光比浊法,检测结果显示死亡组患者的 AA 和 ADP 血小板聚集率均显著下降。二分类 Logistic 回归分析结果显示仅 ADP 血小板聚集率是脓毒症预后的保护因素 ($P<0.05$)。ROC 曲线显示,ADP 血小板聚集率预测脓毒症生存曲线下面积

0.734(95%CI:0.545~0.924, $P=0.015$),说明 ADP 血小板聚集率是预测脓毒症患者生存的良好指标。生存分析结果显示 ADP 血小板聚集率<63.1%的脓毒症患者死亡风险明显升高。Gross 等^[18]通过对 57 975 例社区获得性肺炎患者进行回顾性队列研究,结果认为使用氯吡格雷不能改善脓毒症预后。但因为缺乏更有力的循证医学依据,目前抗血小板治疗能否改善脓毒症患者的预后迄今尚无确定结论^[19]。相关分析显示,PLT 计数、MA 值和 ADP 聚集率两两之间有相关性,但相关性不强,这主要与 TEG 和血小板聚集功能检测原理不同有关。不同方法得到的血小板聚集率检测结果的相互评价标准仍需进一步数据验证。

总之,本研究证实 ADP 血小板聚集率<63.1%的脓毒症患者血小板聚集功能明显障碍,且脓毒症患者死亡率显著升高。进一步探讨脓毒症时血小板功能障碍的分子机制和是否早期改善脓毒症患者的血小板聚集率是继续研究的重要方向。

【参考文献】

- [1] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, *et al.* The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3) [J]. *JAMA*, 2016, 315(8):801-810.
- [2] Alcamo AM, Pang D, Bashir DA, *et al.* Role of Damage-Associated Molecular Patterns and Uncontrolled Inflammation in Pediatric Sepsis-Induced Multiple Organ Dysfunction Syndrome [J]. *Pediatr Intensive Care*, 2019, 8(1):25-31.
- [3] 宋景春.脓毒症合并弥散性血管内凝血的机制与监测[J]. *医学研究生学报*, 2017, 30(7):703-708.
- [4] Naime ACA, Ganaes JOF, Lopes-Pires ME. Sepsis: The Involvement of Platelets and the Current Treatments[J]. *Curr Mol Pharmacol*, 2018, 11(4):261-269.
- [5] Martin-Loeches I, Guia MC, Vallecocchia MS, *et al.* Correction to: Risk factors for mortality in elderly and very elderly critically ill patients with sepsis: a prospective, observational, multicenter cohort study[J]. *Ann Intensive Care*, 2019, 9(1):36.
- [6] Dewitte A, Lepreux S, Villeneuve J, *et al.* Blood platelets and sepsis pathophysiology: A new therapeutic prospect in critical ill patients? [J]. *Ann Intensive Care*, 2017, 7(1):115.
- [7] 钟林翠,宋景春.脓毒症时血小板的功能改变及抗血小板治疗的研究进展[J]. *医学研究生学报*, 2019, 32(2):196-200.
- [8] Othman M, Kaur H. Thromboelastography (TEG) [J]. *Methods Mol Biol*, 2017, 1646:533-543.
- [9] Rivera J, Lozano ML. Performance and usefulness of platelet aggregation testing[J]. *Platelets*, 2018, 29(7):637.
- [10] 宋景春,刘树元,朱峰,等.中国成人重症患者血小板减少诊疗专家共识[J]. *解放军医学杂志*, 2020, 45(2):1-18.
- [11] Pivalizza EG. Use of thrombelastography as a global monitor of hemostasis[J]. *Transfusion*, 2019, 59(2):825.
- [12] Boknäs N, Macwan AS, Södergren AL, *et al.* Platelet function testing at low platelet counts: When can you trust your analysis [J]. *Res Pract Thromb Haemost*, 2019, 3(2):285-290.
- [13] Mannuß S, Schuff-Werner P, Dreißiger K, *et al.* Inhibition of agonist-induced platelet aggregation by magnesium sulfate warrants its use as an alternative in vitro anticoagulant in pseudothrombocytopenia [J]. *Platelets*, 2019; 1-5. doi: 10.1080/09537104.2019.1663804.
- [14] Akinosoglou K, Theodoraki S, Xanthopoulou I, *et al.* Platelet reactivity in sepsis syndrome: results from the PRESS study [J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2017, 36(12):2503-2512.
- [15] Davies GR, Mills GM, Lawrence M, *et al.* The role of whole blood impedance aggregometry and its utilisation in the diagnosis and prognosis of patients with systemic inflammatory response and sepsis in acute critical illness [J]. *PLoS One*, 2014, 9(9):e108589. doi: 10.1371/journal.pone.0108589.
- [16] Li RH, Chan DL. Evaluation of platelet function using multiple electrode platelet aggregometry in dogs with septic peritonitis [J]. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)*, 2016, 26(5):630-638.
- [17] Adamzik M, Görlinger K, Peters J, *et al.* Whole blood impedance aggregometry as a biomarker for the diagnosis and prognosis of severe sepsis [J]. *Crit Care*, 2012, 16(5):R204.
- [18] Gross AK, Dunn SP, Feola DJ, *et al.* Clopidogrel treatment and the incidence and severity of community acquired pneumonia in a cohort study and meta-analysis of antiplatelet therapy in pneumonia and critical illness [J]. *Thromb Thrombolysis*, 2013, 35(2):147-154.
- [19] Tsai MJ, Shih CJ, Chen YT. Association of prior antiplatelet agents with mortality in sepsis patients [J]. *Intensive Care Med*, 2016, 42(4):605-607.

(收稿日期:2019-09-26; 修回日期:2020-01-17)

(责任编辑:叶华珍; 英文编辑:吕锋烽)