

临床血小板功能检测的影响因素和检测方法标准化探讨

赵益民 博士、教授

(作者简介: 赵教授长期专业从事血小板功能研究, 现就职于苏州大学附属一院血液研究室、卫生部止血凝血重点实验室及江苏省血液研究所。)

人类对血小板功能的认识已有近百年的历史, 开展血小板功能检测也有 50 年以上的历史。血小板功能检测在血小板的基础研究、出血性临床诊断和治疗、抗血小板药物研发及血栓性疾病研究等方面都发挥了巨大的作用。已有的理论及实验室研究都支持血小板功能水平监控是指导血栓病的预防、治疗的有效措施, 因此临床一线医师尤其心血管、神经科医师迫切期望通过血小板功能检测获得患者血小板功能水平准确的信息, 以便更加有效地指导临床对血栓类疾病的预防和治疗。近年来关于血小板功能检测应用于临床血栓病预防和治疗的研究和应用指导取得了一些成绩, 但其发挥的作用还十分有限, 远远没达到其应当达到的效果。为此笔者特对现有的血小板功能检测在临床应用中存在的问题进行研究分析, 以期找出问题的原因和改进办法。希望通过改进和对检测方法的标准化, 提高血小板功能检测结果的准确性和临床应用的有效性。

血小板功能与血栓的形成有着十分密切的和直接的相关性。血小板功能增高, 形成血栓的风险增加; 反之出血风险增加。临床上使用的抗血小板药物如阿司匹林、氯吡格雷和 GPIIb/IIIa 拮抗剂等药物都是通过不同途径对血小板不同的功能受体抑制从而控制血小板功能的活化, 达到预防和治疗血栓性疾病的目的。血小板功能与血栓形成的关系是进行血小板功能检测的理论基础。采用合理的有效的检测方法检测血

血小板功能就一定能真实反映体内血小板功能状况，从而有效预测体内血小板形成血栓的风险程度，就能有效地指导临床血栓性疾病的预防和治疗。

目前血小板功能检测所遇到的问题不是基础理论上的问题，而是在检测方法过程中的一些因素控制不当或忽略所导致的。做好检测过程的控制，将检测过程、方法标准化将大大提高血小板功能检测准确性及临床指导价值。因此当务之急是要找出目前血小板功能检测方法及管理上的问题并进行改进和标准化，才是解决问题的关键。对血小板功能检测在临床上预防及诊疗指导价值的怀疑甚至否定的观点在理论上和实际上都是完全站不住脚的。以下是笔者根据多年的实验研究经验针对目前临床血小板功能检测过程中比较普遍存在的问题和影响因素进行分析并提出改进及标准化的建议，希望有助于各临床医疗单位提高血小板功能检测质量、更好指导临床工作。

一、 检测样本的准备和处理的标准化

由于血小板本身稳定性较差，一些简单的因素都可以导致血小板功能水平较大的改变：如温度、震荡、放置时间、采血过程、抗凝管及抗凝剂的质量等等。因此在采血和准备样本时控制好血样中血小板的稳定性，使血样中血小板尽量保持与体内状态一致是确保检测结果真实和有效的重要因素。而这一点常常被忽略。血小板功能检测样本不应当简单地按照常规生化、免疫或一般的血液常规标本对待，而是需要格外细心。如果准备和处理不当，可导致样本中血小板功能改变，随后的检测结果也必将是与体内真实状态不一致而导致获得错误的信

息。在血小板功能检测血样采集准备时应特别注意确保血小板功能的稳定及与体内一致的状态。具体注意事项如下：

1-1 采血时间必须是空腹或在餐后 2 小时以上。

1-2 被采血者采血前应处于比较平静状态，激烈运动后应适当休息待心跳、脉搏正常后方可采血。

1-3 采血应在 $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 环境中进行采血和检测，即现场采血、现场检测，切忌采血后长距离传递血样。

1-4 采血使用的采血针、真空枸橼酸采血抗凝管应在采血前放置在 24°C 恒温 2 小时以上，且在采血前应将真空管内抗凝剂在管内颠倒使抗凝剂浸润全部管内部，血样采集后采血管应放置在 $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 环境中保存。

1-5 应选用内腔壁光洁度高、采血后死腔小的真空枸橼酸抗凝采血管。

1-6 注意控制采血量，尽量与采血管规定量一致，采好血后立即轻柔颠倒采血管 2-3 次，使抗凝剂充分混匀。采集后的血样禁止震荡、剧烈混匀。

二. 选择准确、稳定的血小板功能检测仪器并注意仪器检测过程的标准化

检测仪器是检测工作的关键和检测结果精确的核心。对于血小板功能检测目前国内外有多种仪器方法投入市场。应用于临床血小板功能检测的仪器应满足以下性能要求。

2-1 仪器检测变异系数（CV）值必须小于 10%，当然 CV 值越小越好。

仪器 CV 越小越能够准确指示样本中血小板功能水平，减少临床误判。

2-2 仪器要具有质控体系：可以确保检测结果的可信度及标准化。

2-3 检测应使用全血、样本处理必须简便，以确保血小板功能不会由于样本处理过程发生较大改变，这样才能比较真实地反应体内的血小板聚集功能，也有利于提高检测的效率。

2-4 检测仪器一定能够方便地同时应用多种诱聚剂检测，检测获得的信息可以比较全面地反映血小板的功能水平；

2-5 此外仪器检测原理合理、检测信号直接、技术成熟稳定及检测成本不宜过高等。

三. 血小板功能检测方案设计标准化探讨

有了可靠的仪器和标准化操作、做好样本采集和处理的标准化，可以初步满足血小板功能检测结果准确的要求，但这还不够。孤立的单次血小板功能检测对临床帮助是有限的！一个有效的血小板功能检测必须是一个合理的连续和全面的多参数检测方案。血小板功能活化的表面受体有许多种，包括花生四烯酸受体，ADP 受体，胶原受体，凝血酶受体，肾上腺素受体和 VWF 等，任何一种受体被激活后都可以导致血小板启动血栓形成过程。加之血小板的生命周期仅约 10 天以及长期用药可能引起的耐药因素等，因此对血小板功能检测应是多种受体通道同时和及时的动态跟踪检测，才能比较全面和真实地反映体内血小板的真实功能水平。否则，血小板功能检测信息将是有限和滞后的，其指导意义显然也将是十分有限甚至可能误导临床工作。合理的、标准化的血小板功能检测方案应包含以下几个方面。

3-1 检测项目设计及诱聚剂的选用

由于血小板表面与聚集功能相关受体种类较多及个体差异，单纯一种诱聚剂检测的结果不一定能全面地反映被检者体内血小板功能真实水平。尽管选用单一诱聚剂可以有针对地检测相应药品使用后的有效性，例如在应用阿司匹林有效的患者用花生四烯酸诱聚剂检测时可以反映血小板花生四烯酸受体的抑制，表现为该项聚集率特别低，甚至大大低于正常人参考值的低限！在同时检测其它受体时若不同时表现出较低的血小板功能状态，此时被检测者一般并无出血风险。但若其它指标偏高将仍然可能有形成血栓的风险。这说明单纯一种诱聚剂检测的结果不能全面地反映或代表被检者血小板全面功能水平和体内真实的功能状况。因此，在指导临床预防和治疗应用时应当要选择二种或二种以上的诱聚剂检测，根据几种诱聚剂检测结果进行综合判断，才可能获得更加全面、真实的被检者血小板功能水平状况。对于使用阿司匹林药物患者的血小板功能评价，推荐使用花生四烯酸（AA）进行检测判断，但同时还必须选用胶原（Col1），甚至加选其它诱导剂分别同时检测，这样才可以获得患者血小板功能水平的更全面判断。

同样道理对服用氯吡格雷患者建议选用二磷酸腺苷（ADP）和胶原二种诱聚剂分别同时进行检测。对于联合使用氯吡格雷和阿司匹林的患者，应该分别同时选用花生四烯酸、胶原、ADP 或其它诱聚剂同时进行检测。单项诱聚剂检测一般只适合应用于单品种抗血小板药物效应评价，而不能简单地作为对血小板功能水平全面的反映。

3-2 血小板功能检测应该在规定时间内重复检测

血小板的生命周期约为10天，因此，体内血小板及血小板的功能不

是长期恒定不变的。此外，由于长期的药物刺激，机体产生对药品的耐受或低反应的可能性也一定存在。这或许可以很好解释部分持续使用抗血小板药物患者再次发生血栓的原因。因此，对于高风险个体，应每个月进行一次血小板功能检测，而且每次检测应该是多项诱聚剂同时检测！

3-3 临床血小板功能水平的合理监控原则建议

对于血小板功能水平的判断必须是多项检测结果综合评价，并根据多项检测指标对血小板功能水平的进行合理调控方可以达到预期疗效。建议对血小板功能调控的原则是：对于血栓形成风险患者，检测结果中如有一项指标在高值区域，就应关注并通过调整用药尽量将患者几项检测指标都控制在参考范围的中值或以下。即单一指标降低，并不完全意味着血小板功能水平被有效抑制。只有多项指标均控制在中值或以下时对于预防和治疗血栓性疾病的患者才是比较安全的。

同理对于有出血倾向患者，应注意重点防止血小板功能过低状态，控制各项指标检测结果趋近中值或中值偏上的区域。

四 关于抗血小板药物抵抗判断标准的探讨

抗血小板药物的有效性也是临床关心的一个重点，但目前暂时还没有一个统一的标准。根据一些专家的意见及结合我们的经验，建议可以通过对比用药前后血小板聚集功能变化，或用药后血小板聚集功能水平的绝对值结果进行判断。用药前后检测比较判定原则建议：在针对性诱聚剂（阿司匹林-AA，氯吡格雷—ADP）检测时血小板聚集率在用药前后下降差值 $\geq 30\%$ ，判断为有效；下降幅度为10-29%判断为半有

效；下降 $\leq 10\%$ 判定为无效。或在用药后血小板聚集率在针对性诱聚剂检测结果在低值区域或以下的为有效；在中值区域为半有效；在高值区域为无效。通过增加药物用量或增加品种都有可能进一步降低患者的血小板聚集及血栓形成的风险。但是再次强调，单项指标不足以确保全面反映血小板功能水平的真实性，单项检测应主要应作为抗血小板药效判断指标。

总之，血小板功能检测必须依据血小板功能所具有的特点和规律，检测过程只有认真做好以上几个环节方面的标准化和合理化安排，才能够为临床提供真实有效的血小板功能信息。