



·论著·

## CD62p、CD63联合血栓弹力图检测在氯吡格雷治疗复发性脑梗死的临床意义

杨家慧, 罗霄鹏, 唐兰英, 周道, 朱涵静, 赵真  
中南大学湘雅医学院附属株洲医院神经内科, 湖南 株洲 412000

**摘要:**目的 探讨初发脑梗死患者与复发脑梗死患者在氯吡格雷治疗后,血小板膜糖蛋白CD62p、CD63及血栓弹力图指标变化特点及其临床意义。方法 纳入2019年7月至2021年1月在该院住院的急性缺血性脑卒中患者103例,分为复发脑梗死组(43例)和初发脑梗死组(60例)。入院后服用氯吡格雷(75 mg/d),服药后第8天采用流式细胞术测定患者血浆中血小板膜糖蛋白CD62p和CD63表达率,并行血栓弹力图(TEG)检测,包括血小板ADP抑制率(%),血细胞凝集块形成时间(K),凝血反应时间(R),血细胞凝集块形成速率( $\alpha$ 角)和血凝块最大硬度或强度(MA)等指标,分析TEG各参数与CD62p、CD63表达率特点及其相关性。结果 初发组和复发组治疗后血小板糖蛋白CD62p、CD63表达阳性率较治疗前均下降,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。与初发组相比,复发组治疗后CD62p、CD63的表达阳性率下降幅度更小,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。与初发组相比,复发组治疗后第8天检测血小板ADP抑制率更低、K值更短、MA更高,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。初发组与复发组治疗第8天TEG检测中凝血反应时间R与CD63表达阳性率均呈负相关;CD62p表达阳性率与ADP抑制率均呈负相关。复发组ADP抑制率与CD63表达阳性率呈负相关。结论 复发性脑梗死患者在氯吡格雷治疗后具有更高的血小板反应性、血小板活性和血凝状态,CD62p、CD63联合血栓弹力图指标检测有一定的临床意义。 [国际神经病学神经外科学杂志, 2021, 48(5): 471-475.]

关键词: 脑梗死; 血栓弹力图; CD62p; CD63; 血小板

中图分类号: R743.33

DOI: 10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2021.05.013

### Clinical significance of CD62p, CD63, and thromboelastography in recurrent cerebral infarction patients treated with clopidogrel

YANG Jia-Hui, LUO Xiao-Peng, TANG Lan-Ying, ZHOU Dao, ZHU Han-Jing, ZHAO Zhen

Department of Neurology, The Affiliated Zhuzhou Hospital, Xiangya Medical College CSU, Zhuzhou, Hunan 412000, China

Corresponding author: ZHAO Zhen, Email: hijenny@126.com

**Abstract:** **Objective** To study the changes and clinical significance of thromboelastography (TEG) and platelet membrane glycoproteins CD62p and CD63 in primary and recurrent cerebral infarction patients treated with clopidogrel. **Methods** A total of 103 patients hospitalized for acute cerebral infarction from July 2019 to January 2021 were enrolled in this study. The patients were divided into recurrent cerebral infarction group ( $n=43$ ) and primary cerebral infarction group ( $n=60$ ). The patients were orally administered 75 mg/d clopidogrel. On day 8 after administration, the expression rates of CD62p and CD63 in plasma were determined by flow cytometry, and TEG was performed to measure platelet adenosine diphosphate (ADP) inhibition rate (%), clot formation kinetics (K), reaction time (R),  $\alpha$  angle, and maximum amplitude (MA). The correlations of these parameters with CD62p and CD63 expression rates were analyzed. **Results** The expression

基金项目: 湖南省自然科学基金省市联合基金项目(2017JJ4066); 湖南省卫生计生委2017年度科研计划课题项目(B2017158)

收稿日期: 2021-02-02; 修回日期: 2021-05-25

作者简介: 杨家慧(1994—), 女, 硕士研究生在读, 研究方向: 脑血管病。

通信作者: 赵真(1970—), 女, 神经内科副主任, 主任医师, 硕士学位, 主要从事脑血管疾病、神经免疫和神经变性疾病的相关研究。Email: hijenny@126.com。

rates of CD62p and CD63 decreased significantly after treatment in both groups ( $P < 0.05$ ), with significantly greater reductions in the primary group than in the recurrent group ( $P < 0.05$ ). Compared with the primary group, patients in the recurrent group exhibited significantly lower ADP inhibition rate and K but higher MA ( $P < 0.05$ ). R was negatively correlated with CD63 expression rate in both groups; ADP inhibition rate was negatively correlated with CD62p expression rate in both groups; ADP inhibition rate was negatively correlated with CD63 expression rate in the recurrent group. **Conclusions** Patients with recurrent cerebral infarction have higher platelet activity and blood coagulation as compared with patients with primary cerebral infarction after clopidogrel treatment. Measurement of CD62p, CD63, and TEG is of clinical significance.

[Journal of International Neurology and Neurosurgery, 2021, 48(5): 471–475.]

**Keywords:** cerebral infarction; thromboelastography; CD62p; CD63; platelet

近年来,我国5年卒中复发风险高达41%<sup>[1]</sup>,复发性脑梗死的死亡率及致残率均高于首次发病,给社会和家庭带来极大的负担。血小板黏附、聚集、血栓形成是脑梗死发生的重要机制之一。目前,最主要的治疗及二级预防措施是抗血小板聚集治疗,其中临床广泛应用的氯吡格雷,可有效的预防脑梗死的复发<sup>[2]</sup>。但是不同患者对氯吡格雷反应性存在差异,部分患者在长期服用氯吡格雷情况下仍无法有效抑制二磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP)对血小板聚集和活化的促进作用,该现象被称为“血小板高反应性”(high on-treatment platelet reactivity, HTPR)<sup>[3]</sup>。通过实验室检测可以反映氯吡格雷抗血小板治疗效果,如血小板膜糖蛋白CD62p和CD63。近年来,血栓弹力图(thromboelastogram, TEG)广泛应用于检测凝血功能及血小板ADP抑制率,可衡量氯吡格雷影响血小板聚集率程度。本研究通过比较复发型脑梗死与初发性脑梗死患者TEG相关参数与CD62p和CD63表达水平,来探讨氯吡格雷抗血小板治疗后复发性脑梗死以上指标的相关性及临床意义。

## 1 对象与方法

### 1.1 研究对象

选取2019年7月至2021年1月发病3 d内的急性脑梗死患者103例。

纳入标准:①所有病例均符合《中国急性缺血性卒中诊治指南2018》<sup>[4]</sup>的诊断标准;②年龄>18岁。

排除标准:①近1个月内联用其他抗血小板药物或抗凝药物者;②入院后接受静脉溶栓治疗;③恶性肿瘤、心源性、风湿免疫、脑肿瘤、感染疾病相关疾病引起的脑梗死;④严重感染、严重肝肾功能不全、血液系统疾病、2周内有关外伤史或行外科手术等。

本研究经医院医学伦理委员会审查批准(伦理编号:医伦[2016]K09.34)。所有入组受试者或家属均知情并签署知情同意书。

### 1.2 一般资料收集

收集患者一般资料:年龄、性别、体重指数(body mass index, BMI)、2型糖尿病史、高血压病史、吸烟史、糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin, HbA1c)、低密度脂

蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)。

### 1.3 研究方法

1.3.1 分组 根据入组时是否符合脑梗死复发标准分为脑梗死复发组和无复发组。脑梗死复发标准:患者以往有脑梗死病史(距本次发病>1个月);本次发病有新发神经功能缺损症状或经头颅CT和(或)头颅MRI证实有新发病灶。

1.3.2 治疗及标本收集 所有入组的患者入院当天即予氯吡格雷75 mg/d抗血小板治疗,未给予其他影响血小板聚集功能的药物治疗。入院第2天抽取空腹静脉血,行血脂、HbA1c、血浆中血小板膜糖蛋白CD62p和CD63表达率等指标检测。治疗后第8天清晨抽取空腹静脉血,送检TEG以及复查CD62p、CD63表达率。

1.3.3 TEG检测方法 治疗后第8天清晨,采用含枸橼酸钠和肝素化真空采血管于分别抽取受试者空腹静脉血2 mL和3 mL,采血后在室温放置15 min后上机,2 h内通过血栓弹力图仪测定血细胞凝集块形成速率( $\alpha$ 角)、血细胞凝集块形成时间(K)、凝血反应时间(R)和血凝块最大硬度或强度(MA)。操作步骤严格按照说明书完成。所有试剂购自重庆鼎润医疗器械有限公司。

1.3.4 CD62p、CD63检测 所有研究对象于服用抗血小板药物前及治疗后第8天清晨分别空腹采集静脉血2 mL,枸橼酸钠抗凝。流式细胞术检测标本血小板糖蛋白D62p、CD63表达阳性率。

### 1.4 观察指标

1.4.1 CD62p、CD63表达率 检测两组患者治疗前及治疗第8天血浆中CD62p、CD63的表达率,以反映血小板活化程度。

1.4.2 TEG检测 检测患者服药后第8天TEG的各项指标,包括凝血反应时间(R)、血细胞凝集块形成时间(K)、最大血块强度(MA)、血细胞凝集块形成速率( $\alpha$ 角)、血小板ADP抑制率。指标临床意义:①R值:参考值5~10 min,主要反映凝血因子的活性,R值小则表示凝血因子水平升高,凝血功能亢进;②K值:参考值1~3 min,

反映血凝块形成的速率;③α角:参考值53~72°,反映凝血酶形成的速度,α角越大提示血液处于高凝状态;④MA:参考值50~70 mm,即血凝块的最大强度及其稳定性,MA值大提示血液处于高凝状态;⑤血小板ADP抑制率:根据试剂说明书,ADP抑制率<50%,定义为血小板高反应性(HTPR)。

### 1.5 统计学方法

采用SPSS 20.0统计学软件对数据进行统计分析。正态分布计量资料以均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,组间比较采用成组 $t$ 检验,组内比较采用配对 $t$ 检验;非正态分布计量资料以中位数(四分位数间距)[ $M(P_{25}, P_{75})$ ]表示,组间比较采用Mann-Whitney  $U$ 检验。计数资料以例和百分比或率[ $n(\%)$ ]表示,组间比较采用 $\chi^2$ 检验。相关性分析采用Spearman等级相关分析。以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组基线资料比较

复发组年龄较初发组大,差异有统计学意义( $P<0.05$ );高血小板反应性人数比例高,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。其余基线资料比较差异无统计学意义( $P>$

0.05)。见表1。

表1 两组一般临床资料比较

项目	初发组(n=60)	复发组(n=43)	$t/\chi^2/Z$	$P$
年龄/岁; $(\bar{x}\pm s)$	62.32±10.90	67.12±9.72	-2.305	0.023
男性[n(%)]	42(70.0)	31(72.1)	0.053	0.818
BMI/(kg/m <sup>2</sup> ); $(\bar{x}\pm s)$	24.72±3.12	24.09±3.08	1.016	0.312
吸烟史[n(%)]	31(51.7)	16(37.2)	2.110	0.146
2型糖尿病史[n(%)]	25(41.7)	19(44.2)	0.065	0.842
高血压病史[n(%)]	44(73.3)	32(74.4)	0.015	0.902
HbA1c/(g/L); $(\bar{x}\pm s)$	6.80±1.77	6.74±1.66	-0.362	0.718
LDL-C/(mmol/L); $(\bar{x}\pm s)$	2.70±0.84	2.65±1.07	-0.766	0.444
HDL-C/(mmol/L); $(\bar{x}\pm s)$	1.06±0.27	1.14±0.65	-0.237	0.812
ADP抑制率<50%[n(%)]	29(48.3)	30(69.8)	4.025	0.045

### 2.2 两组治疗前、后血小板CD62p、CD63表达阳性率比较

初发组和复发组治疗后较治疗前CD62p、CD63表达阳性率均下降,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。与初发组相比,复发组治疗后CD62p、CD63表达阳性率下降更少,差异有统计学意义(CD62p:  $P<0.05$ ; CD63:  $P<0.05$ )。见表2。

表2 两组治疗前、后血小板CD62p、CD63表达阳性率比较

组别	例数	CD62p					CD63				
		治疗前	治疗后	差值	$t$	$P$	治疗前	治疗后	差值	$t$	$P$
初发组	60	8.56±4.76	5.12±2.75	3.45±3.82	-5.260	0.000	5.85±2.94	3.37±1.97	2.47±2.63	-5.647	0.000
复发组	43	8.43±5.68	6.45±3.49	1.99±3.55	-3.435	0.001	5.60±4.04	4.13±2.30	1.47±3.60	-2.914	0.004
$t$		-0.645	-1.806	-2.157			-1.207	-1.793	-2.495		
$P$		0.519	0.071	0.031			0.227	0.073	0.013		

### 2.3 两组TEG指标的比较

服用氯吡格雷后第8天检测TEG,与初发组相比,复发脑梗组血小板ADP抑制率低( $P<0.05$ );凝血形成时间

(K值)短( $P<0.05$ );最大血块强度(MA值)增加( $P<0.05$ )。其余参数差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表3。

表3 两组TEG指标的比较  $M(P_{25}, P_{75})$

组别	例数	R/min	K/min	MA/mm	α角/°	ADP抑制率/%
初发组	60	7.10(6.40, 8.70)	1.95(1.60, 2.30)	64.95(59.75, 67.58)	63.85(56.20, 66.68)	48.55(30.23, 63.95)
复发组	43	7.50(6.00, 9.30)	1.60(1.30, 2.00)	66.50(60.90, 72.10)	66.20(57.50, 70.00)	33.50(16.50, 56.40)
$Z$		-0.682	-2.481	-1.986	-1.766	-2.200
$P$		0.495	0.013	0.047	0.077	0.028

### 2.4 TEG参数与CD62p、CD63的相关性分析

相关分析显示,初发组凝血反应时间(R)与CD63表达阳性率呈负相关( $P<0.05$ )。初发组ADP抑制率与

CD62p表达阳性率呈负相关( $P<0.05$ );复发组ADP抑制率与CD62p表达阳性率呈负相关( $P<0.01$ )。复发组ADP抑制率与CD63表达阳性率呈负相关( $P<0.05$ )。其余

TEG 参数与 CD62p、CD63 表达阳性率无明显相关性。见 表 4-5。

表 4 初发组 TEG 参数与 CD62p、CD63 的相关性分析

参数	CD62p		CD62p 差值		CD63		CD 63 差值	
	r	P	r	P	r	P	r	P
R	-0.093	0.478	-0.074	0.574	-0.265	0.041	0.049	0.709
K	-0.165	0.208	-0.226	0.082	-0.064	0.630	-0.075	0.568
MA	0.217	0.096	0.109	0.407	-0.072	0.585	-0.087	0.507
α 角	-0.005	0.970	0.202	0.122	-0.053	0.687	0.153	0.243
ADP 抑制率	-0.308	0.016	-0.064	0.628	-0.185	0.157	0.162	0.215

表 5 复发组 TEG 参数与 CD62p、CD63 的相关性分析

参数	CD62p		CD62p 差值		CD63		CD 63 差值	
	r	P	r	P	r	P	r	P
R	-0.067	0.672	-0.189	0.226	-0.073	0.641	-0.308	0.045
K	0.155	0.322	0.060	0.703	0.082	0.600	-0.287	0.062
MA	-0.206	0.185	0.016	0.921	-0.115	0.464	0.119	0.449
α 角	-0.031	0.842	0.028	0.860	-0.016	0.918	0.255	0.098
ADP 抑制率	-0.623	0.000	-0.137	0.381	-0.370	0.015	-0.075	0.631

### 3 讨论

影响缺血性卒中复发的因素众多,普遍受到关注的主要是各种血管危险因素,如高血压、糖尿病、血脂异常和不良生活方式(如抽烟)等。也有不少研究认为 HTPR 是缺血性脑血管病复发的危险因素<sup>[5-6]</sup>。

ADP 诱导血小板聚集反应的主要受体是 P2Y12 受体,氯吡格雷是拮抗剂,氯吡格雷 HTPR 使氯吡格雷对血小板聚集的拮抗作用减弱,P2Y12 受体水平升高,可抑制环磷酸腺苷水平,导致血小板活性增加,黏附聚集能力增强。特异性血小板活化标志物膜糖蛋白 CD62p 是位于血小板膜上的糖蛋白,CD63 是血小板内溶酶体颗粒膜蛋白。脑梗死急性期血栓形成,体内凝血系统激活、血小板活化,CD62、CD63p 会在血小板质膜上大量表达,介导血小板在内皮细胞上黏附、释放、聚集。因此,CD62p、CD63 是血小板活化最有特征性的分子标志物。

本研究比较了复发脑梗死组与初发脑梗死组患者在服用氯吡格雷抗血小板治疗后 CD62p、CD63 表达阳性率,两组患者治疗后的 CD62p、CD63 表达阳性率均较治疗前有所下降,认为血小板膜糖蛋白 CD62p、CD63 表达水平可作为抗血小板药物治疗后血小板反应性的重要参考指标。这和王冰等<sup>[7]</sup>的研究结果一致。本研究还发现,复发组氯吡格雷 HTPR 人数占比更高、ADP 抑制率更低,说明复发性脑梗死与氯吡格雷 HTPR 有关,并且复发组患者治疗后阳性率较治疗前下降幅度更少,因此,氯吡格雷 HTPR 患者和反映血小板活性的标志物 CD62p、CD63 高阳性率相关,有研究提出,血小板活化指标 CD62p 水平升高是脑梗死患者发生氯吡格雷抵抗的独立危险因素<sup>[8]</sup>。

近年来,TEG 逐渐成为脑卒中诊断和监测的有利工具,其可以更接近体内凝血的发生和发展过程,更好地反映血栓形成和溶解过程<sup>[9]</sup>。急性脑梗死血栓形成后可以继发血液凝血功能异常,TEG 检测表现为 R、K 值减小,α 角和 MA 值增大<sup>[10]</sup>。本研究发现复发组较初发组患者服药抗血小板药物治疗后凝血形成时间(K)更短。这与张玉峰<sup>[11]</sup>等的研究结论一致。MA 值主要反映正在形成的血凝块的最大强度及硬度,主要受血小板影响,其增高多代表血液呈高凝状态,有血栓风险,复发组较初发组的 TEG 参数最大血块强度(MA)增加,这可能与复发组患者的血小板活化率更高、ADP 抑制率更低有关。

本研究分析了 CD62p、CD 63 表达水平与 TEG 相关参数的关联,发现无论在初发组还是复发组,ADP 抑制率与 CD62p 阳性率呈负相关。这与胡晓芳等<sup>[12]</sup>的研究结论(CD62p 表达阳性率与血小板聚集率呈正相关)一致。本研究还得出两组凝血反应时间 R 与 CD63 表达阳性率均呈负相关的结果,说明血小板活化与血液高凝状态有关。有研究表明,血小板活化标志物如 CD62p、CD63 与组织型纤溶酶原激活剂(t-PA)、D-二聚体、凝血酶原时间(PT)等凝血功能指标存在关联,血小板活化与凝血及炎症反应存在密切联系<sup>[13-14]</sup>。R 值主要反映凝血因子的功能,活化后的血小板可分泌如 ADP 和血栓素 A2 (TXA2) 等激动剂,与凝血因子、凝血酶一起,促进血小板聚集并稳定血栓<sup>[15]</sup>,此过程会进一步放大凝血级联反应,导致凝血功能异常。血小板活化的过程中涉及多种机制,包括炎症、凝血级联反应等等,错综复杂,相关机制需更多的进一步研究证实。

动脉血栓形成是脑梗死发病的主要原因,血小板活

化、凝血系统和纤溶系统失衡是其主要原因。血栓形成过程复杂,血小板活化指标检测往往只能反应其中个别环节,需要多种检测方法及多个测量指标尽可能真实反映整个血栓的状态。

综上,复发性脑梗死具有更高血小板反应性,血液存在高凝状态,基于血小板活化及凝血状态检测的个体化治疗,可能是保证抗血小板疗效和降低复发性缺血性卒中事件的有效手段。

#### 参 考 文 献

- [1] CHEN YP, WRIGHT N, GUO Y, et al. Mortality and recurrent vascular events after first incident stroke: a 9-year community-based study of 0.5 million Chinese adults[J]. *Lancet Glob Health*, 2020, 8(4): e580-e590.
- [2] 王拥军. 缺血性卒中的二级预防[J]. *中华神经科杂志*, 2021, 54(2): 139-148.
- [3] 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 抗血小板药物治疗反应多样性临床检测和处理的专家建议[J]. *中华心血管病杂志*, 2014, 42(12): 986-991.
- [4] 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. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2018[J]. *中华神经科杂志*, 2018, 51(9): 666-682.
- [5] STUCKEY TD, KIRTANE AJ, BRODIE BR, et al. Impact of aspirin and clopidogrel hyporesponsiveness in patients treated with drug-eluting stents: 2-year results of a prospective, multi-center registry study[J]. *JACC Cardiovasc Interv*, 2017, 10(16): 1607-1617.
- [6] 葛中林, 于善花, 钱明月, 等. 血小板高反应性与非小卒中患者再发缺血事件的相关性研究[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2019, 21(4): 399-402.
- [7] 王冰, 李晓燕, 刘聪, 等. 抗血小板药对急性脑梗死患者血小板膜糖蛋白 CD62P、CD63 表达的调控作用[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2017, 20(11): 53-55.
- [8] LU BC, SHI XJ, LIANG L, et al. Platelet surface CD62p and serum vitamin D levels are associated with clopidogrel resistance in Chinese patients with ischemic stroke[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2019, 28(5): 1323-1328.
- [9] DE VILLIERS S, SWANEOEL A, BESTER J, et al. Novel diagnostic and monitoring tools in stroke: an individualized patient-centered precision medicine approach[J]. *J Atheroscler Thromb*, 2016, 23(5): 493-504.
- [10] ELLIOTT A, WETZEL J, ROPER T, et al. Thromboelastography in patients with acute ischemic stroke[J]. *Int J Stroke*, 2015, 10(2): 194-201.
- [11] 张玉峰, 陈兵, 井峰. 血栓弹力图在脑梗死预后中的价值[J]. *中国康复理论与实践*, 2019, 25(4): 460-464.
- [12] 胡晓芳, 李娜, 王玉红, 等. 血小板膜糖蛋白与缺血性脑血管病关系的研究[J]. *中国实验诊断学*, 2014, 18(12): 1988-1990.
- [13] ZHANG XZ, LIU AG, GUO ML, et al. Relationship of platelet microparticle CD62P and activated GP IIb/IIIa with hypercoagulable state after atrial fibrillation radiofrequency catheter ablation[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(12): 3919-3924.
- [14] 陶涛, 刘龙, 陈阳, 等. 早期检测脓毒症患者血小板 CD63、CD42b 及 CD36 表达的临床意义[J]. *中国急救医学*, 2020, 40(1): 58-64.
- [15] VARDON BOUNES F, MUJALLI A, CENAC C, et al. The importance of blood platelet lipid signaling in thrombosis and in sepsis[J]. *Adv Biol Regul*, 2018, 67: 66-73.

责任编辑: 龚学民