

## NGHIÊN CỨU MỘT SỐ YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN XÉT NGHIỆM NGUNG TẬP TIỂU CẦU VỚI ADP

Nguyễn Trung Kiên<sup>1</sup>, Thái Danh Tuyên<sup>1</sup>

### TÓM TẮT

**Mục tiêu:** Đánh giá một số yếu tố ảnh hưởng đến độ ngưng tập tiểu cầu (NTTC) với ADP và khảo sát tương quan của một số chỉ số huyết học với độ NTTC với ADP. **Đối tượng & phương pháp:** nghiên cứu ngang, mô tả, tiến cứu 32 trường hợp người lớn trưởng thành, khỏe mạnh, tuổi 18-35, không phân biệt giới.

**Kết quả:** Giá trị trung bình độ NTTC với ADP là 70,1%. Không có sự khác biệt về giới tại thời điểm T0 ( $p > 0,05$ ). Ở thời điểm sau 6h (T6), độ NTTC với ADP giảm rõ so với thời điểm T0 và T4 ( $p < 0,001$ ). Nhóm dùng ống chống đông Natri citrat 3,8% cho kết quả độ NTTC với ADP thấp hơn so với nhóm dùng ống chống đông Natri citrat 3,2% ( $p < 0,001$ ). Không có khác biệt thống kê giữa nhóm có PLT của huyết tương giàu tiểu cầu bình thường (150-450 G/l) với nhóm có PLT  $> 450$  G/l ( $p > 0,05$ ). Độ NTTC với ADP tương quan nghịch mức độ chặt với MPV máu ngoại vi ( $r = -0,687$ ;  $p < 0,005$ ). Không có tương quan giữa độ NTTC với ADP với các chỉ số huyết học khác của máu ngoại vi ( $p > 0,05$ ).

**Kết luận:** Kết quả xét nghiệm NTTC với ADP bị ảnh hưởng bởi yếu tố thời gian, loại chất chống đông, thể tích trung bình tiểu cầu (MPV) và không bị ảnh hưởng bởi giới tính, số lượng tiểu cầu của huyết tương giàu tiểu cầu.

**Từ khóa:** yếu tố ảnh hưởng, ngưng tập tiểu cầu, ADP.

### ABSTRACT

#### STUDY ON SOME FACTORS THAT AFFECTED ON THE PLATELET AGGREGATION WITH ADP

Nguyen Trung Kien<sup>1</sup>, Thai Danh Tuyen<sup>1</sup>

**Objectives:** To assess some factors that affected on the platelet aggregation with ADP and to investigate correlations between some hematological indexes with platelet aggregation with ADP.

**Methods:** A prospective, cross-sectional study of 32 healthy adults, aged from 18 to 35 years, regardless of gender, agreed to participate in Hematology and Blood Transfusion Department, Military Hospital 103.

**Results:** Mean value of platelet aggregation with ADP was 70.1%. There was no gender difference of platelet aggregation with ADP at sample collection time (T0) ( $p > 0.05$ ). After 6 hours (T6), platelet aggregation with ADP decreased significantly compared with T0 and T4 ( $p < 0.001$ ). Samples using 3.8% sodium citrate tube showed lower platelet aggregation with ADP compared with 3.2% sodium citrate tube ( $p < 0.001$ ). The platelet aggregation showed no difference between normal platelet count (150-450 G/l) and  $> 450$  G/l platelet count of platelet-rich plasma. The platelet aggregation with ADP correlated strongly with mean platelet volume (MPV) of peripheral blood ( $r = -0,687$ ;  $p < 0.005$ ). There was no correlation between platelet aggregation with ADP and other hematological indexes of peripheral blood ( $p > 0.05$ ).

**Conclusions:** The results of platelet aggregation with ADP were influenced by time, anticoagulant, MPV and they were not influenced by gender and platelet count of platelet-rich plasma.

**Key words:** impact factors, platelet aggregation, ADP.

1. Bệnh viện Quân Y 103

- Ngày nhận bài (Received): 06/9/2017; Ngày phản biện (Revised): 2/10/2017;  
- Ngày đăng bài (Accepted): 31/10/2017  
- Người phản hồi (Corresponding author): Nguyễn Trung Kiên  
- Email: tophuchoai@gmail.com; ĐT: 0919005559

**I. ĐẶT VẤN ĐỀ**

Sau khi Born mô tả lần đầu (1962), xét nghiệm NTTTC được ứng dụng rộng rãi trong sàng lọc khuyết tật di truyền hoặc mắc phải của chức năng tiểu cầu [1]. Đo độ NTTTC dựa trên nguyên lý đo lường sự gia tăng lượng ánh sáng truyền qua huyết tương giàu tiểu cầu sau khi tiểu cầu bị ngưng tập, bằng cách cho thêm một chất kích tập. Chất kích tập thường dùng là ARA, nor-epinephrine, ADP, collagen và ristocetin; với các nồng độ khác nhau; mỗi chất kiểm tra một phần của chức năng tiểu cầu [6].

Theo một số tác giả, đo NTTTC bằng phương pháp truyền quang thường bị ảnh hưởng bởi thời gian, dụng cụ lấy máu, chất kích tập...[4], [8]; việc điều chỉnh tăng số lượng tiểu cầu bằng cách trộn huyết tương giàu tiểu cầu (PRP) với huyết tương nghèo (PPP) để đạt 200-300 G/l cũng ảnh hưởng đến độ NTTTC với ADP [2]... Độ NTTTC là tiêu chuẩn cơ bản để đánh giá chức năng tiểu cầu [7], do đó các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả đo độ NTTTC cần phải được làm rõ. ADP là một chất kích tập thường dùng nhất. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này với mục tiêu: *xác định yếu tố ảnh hưởng đến độ ngưng tập tiểu cầu với ADP.*

**II. ĐỐI TƯỢNG & PHƯƠNG PHÁP**

**2.1. Đối tượng nghiên cứu:** 32 người trưởng thành, khỏe mạnh, tuổi: 18-35.

**2.2. Phương pháp nghiên cứu**

**2.2.1. Thiết kế nghiên cứu:** tiến cứu, mô tả, cắt ngang.

**2.2.2. Nội dung, chỉ số nghiên cứu**

- CBC: máu ngoại vi, mẫu huyết tương giàu tiểu cầu (PRP) thời điểm ngay sau lấy mẫu (T0); sau 4h (T4); 6h (T6); mẫu huyết tương nghèo tiểu cầu (PPP) thời điểm T0.

- Độ NTTTC với ADP tại thời điểm T0, T4, T6, khi sử dụng ống chống đông Natri citrat 3,2% BD (Mỹ) - ống có áp lực âm, hút chân không.

- Độ NTTTC với ADP tại thời điểm T0 khi sử dụng ống chống đông Natri citrat 3,8%.

\* *Các bước tiến hành:* chọn đối tượng nghiên cứu, lấy máu, khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố thuộc về quy trình chuẩn bị mẫu: dụng cụ và quy trình lấy máu, thời gian bảo quản mẫu trước khi xét nghiệm, xác định các chỉ số huyết học trong mẫu máu toàn phần, chuẩn bị mẫu huyết tương giàu tiểu cầu và nghèo tiểu cầu, xác định các chỉ số huyết học trong mẫu PRP và PPP; đo độ NTTTC trên máy Chronolog - 530 VS (Mỹ).

\* *Xử lý số liệu:* phần mềm SPSS 20.0.

**III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN**

**3.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu**

*Bảng 1. Đặc điểm tuổi, giới của đối tượng nghiên cứu (n=32)*

Nhóm		Nữ		Nam		Cả hai giới	
		n	%	n	%	n	%
Đối tượng NC	n, %	15	47	17	53	32	100
	Tuổi trung bình (năm)	22,9 ± 3,14		25,0 ± 3,05		23,95 ± 3,20	

Tuổi trung bình của đối tượng nghiên cứu là 23,9 với tỉ lệ nam nữ 53% và 47%. Độ tuổi trung bình trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn các nghiên cứu về yếu tố ảnh hưởng đến độ ngưng tập tiểu cầu với ADP của Mani H. (36 tuổi)[5] và Stegnar M. (32 tuổi) [8].

## Bệnh viện Trung ương Huế

Bảng 2. So sánh một số chỉ số dòng tiểu cầu máu ngoại vi theo giới (n=32)

Chỉ số	Giới	Cả 2 giới (n=32) $\bar{X} \pm SD$	Nam (n=17) $\bar{X} \pm SD$	Nữ (n=15) $\bar{X} \pm SD$	p
PLT (G/L)		254,35 ± 44,84	236,15 ± 25,94	272,54 ± 53,26	> 0,05
MPV (fL)		8,62 ± 0,80	8,68 ± 0,55	8,57 ± 1,02	> 0,05
PCT (%)		0,20 ± 0,03	0,21 ± 0,03	0,19 ± 0,02	> 0,05
PDW (fL)		13,58 ± 3,21	12,85 ± 3,17	14,32 ± 3,24	> 0,05

Giá trị trung bình của PLT là 254,35 G/l (tương đương nghiên cứu của Linnemann B. và CS: 279,2 G/l)[3]; không có khác biệt giữa nam và nữ đối với tất cả các chỉ số dòng tiểu cầu ( $p > 0,05$ ); tất cả đối tượng nghiên cứu đều có PLT nằm trong khoảng giá trị bình thường từ 150-420 G/l. Điều này giúp loại trừ ảnh hưởng của số lượng tiểu cầu đến kết quả đo độ ngưng tập tiểu cầu với ADP.

Bảng 3. So sánh một số chỉ số huyết học của mẫu huyết tương RPP với PPP

Chỉ số	Mẫu PRP (n=32) $\bar{X} \pm SD$	Mẫu PPP (n=32) $\bar{X} \pm SD$	p
WBC (G/L)	0,40 ± 0,23	0,002 ± 0,004	< 0,001
RBC (T/L)	0,02 ± 0,01	0,003 ± 0,005	< 0,001
HCT (L/L)	0,001 ± 0,0005	0,00025 ± 0,0004	< 0,001
PLT (G/L)	519,20 ± 108,56	7,25 ± 2,09	< 0,001
MPV (fL)	8,55 ± 0,92	7,31 ± 1,15	< 0,005
PCT (%)	0,40 ± 0,11	0,0025 ± 0,004	< 0,001
PDW (fL)	14,55 ± 4,12	7,10 ± 1,18	< 0,001

Giá trị trung bình PLT ở mẫu PRP là 519,20 G/l còn ở mẫu PPP là 7,25 G/l, (tương đồng với nghiên cứu của Linnemann B và cộng sự: PLT không điều chỉnh số lượng tiểu cầu là 536,2 G/l) [3]. Sử dụng tốc độ ly tâm đối với mẫu RPP là 500 vòng/phút và mẫu PPP là 4000 vòng/phút (10 phút), chúng tôi đã loại bỏ được phần lớn bạch cầu và hồng cầu: giá

trị trung bình WBC ở mẫu RPP và PPP là 0,40 và 0,002 G/l; giá trị trung bình RBC ở mẫu PRP và PPP là 0,02 và 0,003 T/l. Điều này có ý nghĩa quan trọng bởi nhiễm WBC hay RBC làm thay đổi mật độ quang của huyết tương. Việc loại bỏ tối đa WBC và RBC sẽ giúp loại bỏ các yếu tố gây nhiễu, giúp đánh giá chính xác hơn các yếu tố cần nghiên cứu.

Bảng 4. So sánh một số chỉ số huyết học ở mẫu RPP tại các thời điểm T0, T4, T6

Chỉ số	T0 (1)	T4 (2)	T6 (3)	p
WBC (G/L)	0,40 ± 0,23	0,38 ± 0,23	0,31 ± 0,18	> 0,05
RBC (T/L)	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01	> 0,05
HCT (L/L)	0,001 ± 0,0005	0,006 ± 0,022	0,0008 ± 0,0006	> 0,05
PLT (G/L)	519,2 ± 108,5	497,6 ± 104,8	395,8 ± 86,4	p1-2>0,05; p1-3; p2-3 < 0,01
MPV (fL)	8,55 ± 0,92	8,21 ± 0,77	8,07 ± 0,77	> 0,05
PCT (%)	0,40 ± 0,11	0,37 ± 0,11	0,36 ± 0,10	> 0,05
PDW (fL)	14,55 ± 4,12	13,68 ± 3,99	13,21 ± 3,63	> 0,05

Đánh giá sự thay đổi theo thời gian của một số chỉ số huyết học ở mẫu RPP, thấy chỉ có số lượng tiểu cầu bị ảnh hưởng, các chỉ số còn lại đều không thay đổi sau 4h và 6h so với thời điểm T0. Số lượng tiểu cầu ở thời điểm sau 4h giảm hơn so với thời điểm T0 không có ý nghĩa ( $p > 0,05$ ). Tuy nhiên, sau 6h, số lượng tiểu cầu giảm rõ rệt so với thời điểm T0 và T4 ( $p < 0,01$ ). Sự thay đổi này có thể do bản thân tiểu cầu tự hoạt hóa trong ống nghiệm theo thời gian. Đây có thể là một yếu tố dẫn đến thay đổi kết quả độ ngưng tập tiểu cầu với ADP.

### 3.2. Một số yếu tố ảnh hưởng đến kết quả đo độ ngưng tập tiểu cầu với ADP

Bảng 5. Độ ngưng tập tiểu cầu với ADP theo giới

Chỉ số		Cả hai giới (n=32)	Nam (n=17)	Nữ (n=15)	p
Độ ngưng tập tiểu cầu với ADP (%)	$\bar{X} \pm SD$	70,10 ± 5,47	70,80 ± 6,19	69,40 ± 4,88	> 0,05
	Min	60	60	63	
	Max	81	81	76	

Không có khác biệt về giới đối với kết quả độ ngưng tập tiểu cầu với ADP ( $p > 0,05$ ). Độ ngưng tập tiểu cầu thấp nhất trong nghiên cứu của chúng tôi là 60%. Như vậy, 100% đối tượng nghiên cứu của chúng tôi có kết quả độ ngưng tập tiểu cầu với ADP trong khoảng giá trị bình thường (59 – 88%). Giá trị trung bình độ ngưng tập tiểu cầu với ADP của chúng tôi là 70,1%, thấp hơn so với của Stegnar M. (79%)[8]. Điều này có thể do sự khác biệt về chủng tộc, nhóm đối tượng nghiên cứu, cỡ mẫu... giữa 2 nghiên cứu.

Bảng 6. Ảnh hưởng bởi yếu tố thời gian đến kết quả đo NTTC với ADP

Chỉ số	T0 (1) $\bar{X} \pm SD$	T4 (2) $\bar{X} \pm SD$	T6 (3) $\bar{X} \pm SD$	p
Độ ngưng tập tiểu cầu với ADP (%)	70,10 ± 5,47	66,55 ± 5,11	37,40 ± 5,18	p1-2>0,05; p1-3; p2-3 < 0,001

Ở thời điểm sau 4h, độ ngưng tập tiểu cầu với ADP giảm từ 70,10% xuống 66,55%. Tuy nhiên, sự thay đổi này là không có ý nghĩa ( $p > 0,05$ ). Ở thời điểm sau 6h, độ ngưng tập tiểu cầu với ADP giảm

rõ (37,4%) so với thời điểm T0 và T4 ( $p < 0,001$ ). Nghiên cứu của Stegnar M. cũng chỉ ra sau 4h, độ ngưng tập tiểu cầu đã giảm có ý nghĩa so với thời điểm T0 (độ ngưng tập tiểu cầu với ADP giảm từ

## Bệnh viện Trung ương Huế

71% xuống 66% với  $p < 0,001$ ) [8]. Điều này có thể do sự suy giảm số lượng và chất lượng tiểu cầu theo thời gian dẫn tới ảnh hưởng đến độ ngưng tập tiểu cầu với ADP. Vì vậy, các mẫu xét nghiệm ngưng tập tiểu cầu với ADP tốt nhất nên được tiến hành phân tích trước 4h kể từ khi lấy mẫu.

*Bảng 7. Ảnh hưởng bởi chất chống đông đến kết quả đo NTTC với ADP*

Chỉ số	Natri citrat 3,2% $\bar{X} \pm SD$	Natri citrat 3,8% $\bar{X} \pm SD$	p
<b>Độ ngưng tập tiểu cầu với ADP (%) n=32</b>	70,10 ± 5,47	40,05 ± 2,91	< 0,001

Để đánh giá sự ảnh hưởng bởi chất chống đông khác nhau, chúng tôi đã lựa chọn 2 loại ống nghiệm khác nhau: ống 1 với chống đông Natri citrat 3,8%, ống 2 có áp lực âm hút chân không của BD (Mỹ) là Natri citrat 3,2%). Qua đánh giá chúng tôi nhận thấy, ở nhóm dùng ống Natri citrat 3,8% cho kết quả độ ngưng tập tiểu cầu với ADP thấp hơn hẳn so với nhóm dùng ống Natri citrat 3,2% ( $p < 0,001$ ). Điều này cho thấy, loại ống và chất chống đông có thể gây ảnh hưởng đến kết quả đo độ ngưng tập tiểu cầu với ADP. Do đó, mỗi phòng xét nghiệm đông máu cần có ghi chú kết quả bình thường là bao nhiêu khi trả cho bệnh nhân.

*Bảng 8. Ảnh hưởng bởi số lượng tiểu cầu của huyết tương giàu tiểu cầu PRP*

Chỉ số	PLT	$\leq 450$ G/l $\bar{X} \pm SD$ (n=12)	$> 450$ G/l $\bar{X} \pm SD$ (n=20)	p
	<b>Độ ngưng tập tiểu cầu với ADP (%)</b>		70,50 ± 3,50	

Giá trị trung bình của độ ngưng tập tiểu cầu với ADP nhóm có số lượng tiểu cầu trong khoảng bình thường 150-420 G/l với nhóm có số lượng tiểu cầu  $> 450$  G/l, không có sự khác biệt ( $p > 0,05$ ). Điều này chỉ ra: có thể số lượng tiểu cầu ở mẫu PRP cao hay thấp không ảnh hưởng đến kết quả độ ngưng tập tiểu cầu với ADP; không nhất thiết phải điều chỉnh số lượng tiểu cầu của PRP bằng PPP trước khi phân tích. Nghiên cứu của Mani M. cũng chỉ ra rằng việc điều chỉnh số lượng tiểu cầu hay không là không ảnh hưởng đến kết quả độ ngưng tập tiểu cầu với ADP [5].

### 3.3. Tương quan giữa một số chỉ số huyết học với độ ngưng tập tiểu cầu với ADP

*Bảng 9. Tương quan giữa một số chỉ số máu ngoại vi với độ NTTC với ADP*

Chỉ số	r	p	Phương trình tương quan
WBC (G/L)	-0,220	> 0,05	
RBC (T/L)	0,131	> 0,05	
HCT (L/L)	0,187	> 0,05	
PLT (G/L)	0,057	> 0,05	
MPV (fL)	-0,687	< 0,005	%NTTC= 110,37 – 4,668*MPV
PCT (%)	-0,020	> 0,05	
PDW (fL)	-0,059	> 0,05	

Khảo sát tương quan giữa một số chỉ số huyết học máu ngoại vi với độ NTTC với ADP, thấy: độ NTTC tương quan nghịch mức độ chặt với MPV ( $r = -0,687$ ;  $p < 0,005$ ); không có tương quan với các chỉ số WBC, RBC, HCT, PLT, PCT, PDW. Kết quả này tương đồng với tác giả Khaspekova SG ( $r = -0,373$ ,  $p < 0,05$ ). Điều này có thể do bất thường về kích thước tiểu cầu ảnh hưởng đến chức năng của các hạt đặc hiệu cũng như màng tiểu cầu, làm giảm độ ngưng tập tiểu cầu với ADP.

#### IV. KẾT LUẬN

Không có khác biệt về giới đối với độ NTTC với ADP ( $p > 0,05$ ). Sau 6h, độ NTTC với ADP giảm rõ ( $p < 0,001$ ). Dùng ống Natri citrat 3,8% cho kết quả độ NTTC thấp hơn so với dùng ống chống đông Natri citrat 3,2% ( $p < 0,001$ ). Số

lượng tiểu cầu của PRP không ảnh hưởng đến kết quả đo. Độ NTTC với ADP có tương quan nghịch chặt chẽ với MPV ở máu ngoại vi ( $r = -0,687$ ;  $p < 0,005$ ,  $n=32$ ). Không có sự tương quan giữa độ NTTC với các chỉ số huyết học khác ( $p > 0,05$ ).

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Born, G.V. (1962), *Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal*. Nature, 194, pp. 927-9.
2. Breddin, H.K. (2005), *Can platelet aggregometry be standardized?*, Platelets, 16(3-4), pp.151-8.
3. Linnemann, B., et al. (2008), *Standardization of light transmittance aggregometry for monitoring antiplatelet therapy: an adjustment for platelet count is not necessary*, J Thromb Haemost, 6(4), pp. 677-83.
4. Mani, H., et al. (2004), *Influence of blood collection techniques on platelet function*. Platelets, 15(5), pp. 315-8.
5. Mani, H., et al. (2005), *Use of native or platelet count adjusted platelet rich plasma for platelet aggregation measurements*, J Clin Pathol, 58(7), pp. 747-50.
6. Moffat, K.A., et al. (2005), *Variability in clinical laboratory practice in testing for disorders of platelet function: results of two surveys of the North American Specialized Coagulation Laboratory Association*, Thromb Haemost, 93(3), pp. 549-53.
7. Pulcinelli, F.M. and S. Riondino (2006), *More on aspirin resistance: position paper of the Working Group on Aspirin Resistance. Proposal for a Laboratory Test Guiding Algorithm*, J Thromb Haemost, 4(2), pp. 485-7.
8. Stegnar, M., A. Knezevic, and M. Bozic-Mijovski (2010), *The effect of pre-analytical variables on light transmittance aggregometry in citrated platelet-rich plasma from healthy subjects*, Clin Chem Lab Med, 48(10), pp. 1463-5.