

Agregometria impedancyjna jako metoda oceny funkcji płytek krwi w świetle wytycznych europejskich

Multiple electrode aggregometry as a method for platelet function assessment according to the European guidelines

Jan Pluta, Barbara Nicińska, Janusz Trzebicki

I Klinika Anestezjologii i Intensywnej Terapii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Abstract

Platelets play an essential role in haemostasis. Assessment of their function is vital for anaesthesiologists evaluating haemostatic potential, especially during emergency operations. The monitoring of platelets function had been implemented into the European recommendations for management of perioperative and posttraumatic bleeding. One of the diagnostic methods described in the recommendations is multiple electrode aggregometry. As antiplatelet therapy becomes more widely used in modern medicine, this method, in contrast to standard laboratory tests, can significantly help to identify patients with drug-induced thrombocytopeny. The aggregometry enables prompt evaluation of the platelets aggregation which is very useful for everyday decision-making in goal-directed hemostatic therapy.

Anestezjologia Intensywna Terapia 2018, tom 50, nr 3, 236–240

Key words: haemostasis, platelets, bleeding, thrombocytopeny, multiple electrode aggregometry

Słowa kluczowe: hemostaza, płytki krwi, trombocytopenia, agregometria impedancyjna

Płytki krwi (PLT) to podstawowy element morfotyczny układu hemostazy. Ich liczba, oznaczana w laboratoryjnym badaniu morfologii krwi obwodowej, jest rutynowo uwzględniana podczas oceny bezpieczeństwa wykonywanych procedur zabiegowych, w tym anestezjologicznych (np. blokad centralnych, obwodowych czy kaniulacji naczyń). W związku z powszechnym stosowaniem leków przeciwplateletowych wykonanie jedynie ilościowej analizy trombocytów może się okazać niewystarczające w stratyfikacji okołoperacyjnego ryzyka wystąpienia krwawienia.

Zasadniczą rolę w uzyskaniu wiarygodnej informacji o potencjale hemostatycznym PLT odgrywa ich ocena jakościowa. Proces hemostazy płytkowej przebiega w trzech etapach: aktywacji, adhezji i agregacji. Na każdym z nich może dojść do wystąpienia swoistych zaburzeń, uniemożliwiających wytworzenie spójnego i trwałego czopu płytkowego.

Pierwsze doniesienia dotyczące metod czynnościowej oceny PLT pochodzą sprzed 100 lat. Wprowadzony do praktyki klinicznej przez Duke'a czas krwawienia służył do oceny czasu potrzebnego do stworzenia skrzepu płytkowego po uprzednim mechanicznym przerwaniu ciągłości tkanek. Przez wiele lat podstawowym problemem dla dalszego rozwoju diagnostyki w tym zakresie były trudności w uzyskaniu aktywacji PLT *in vitro*. Przełomem okazało się zastosowanie optycznej oceny agregacji (LTA, *light transmission aggregometry*). W tej metodzie agregacja wynika z zastosowania odpowiednich agonistów receptorów PLT (adenozyny, kwasu arachidonowego, kolagenu, adrenaliny) [1, 2]. Rejestrowane jest proporcjonalne zwiększenie natężenia wiązki światła widzialnego przechodzącej przez badaną próbkę w miarę narastania czopu płytkowego. Technika ta pomimo swoich wad (konieczność uzyskania bogatopłytkowego osocza,

Należy cytować anglojęzyczną wersję: Pluta J, Nicińska B, Trzebicki J. Multiple electrode aggregometry as a method for platelet function assessment according to the European guidelines. *Anaesthesiol Intensive Ther* 2018, vol. 50, no 3, 230–233. doi: 10.5603/AIT.a2018.0024.

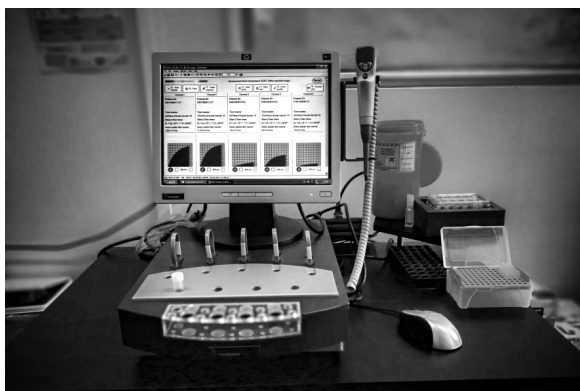
posiadanie specjalistycznego zaplecza laboratoryjnego), stanowi jak dotąd „złoty standard” czynnościowej oceny PLT [3].

W ostatnich latach doszło do znaczącego rozwoju i rozpowszechnienia metod oceniających funkcję PLT. Jest to związane z łatwiejszą i zautomatyzowaną obsługą aparatury, brakiem konieczności wcześniejszego przygotowania analizowanej próbki (ocena krwi pełnej) oraz możliwością uzyskania wyniku w ciągu kilku do kilkunastu minut. Postęp technologiczny przyczynił się do stworzenia tak zwanych metod przyłóżkowej oceny (POC, *point-of-care*) funkcji PLT [4, 5].

Dostępne metody POC oceny trombocytów opierają się między innymi na analizie agregacji i adhezji PLT, ocenie wpływu sił ścinających na tworzenie się czopu płytkowego, cytometrii przepływowej oraz obecności metabolitów tromboksanu [6].

Badaniem POC, oceniającym podobnie jak LTA proces agregacji, jest wieloelektrodowa agregometria impedancyjna (MEA, *multiple electrode aggregometry*). Stanowi ona kompleksową metodę diagnostyczną zaburzeń funkcji PLT [7]. Niewątpliwą zaletą MEA w porównaniu z LTA jest znaczne uproszczenie procesu diagnostycznego (m.in. niestosowanie bogatopłytkowego osocza), krótszy czas potrzebny do uzyskania wyniku (mniej niż 10 minut) oraz brak konieczności obsługi aparatu przez wykwalifikowanego diagnostę laboratoryjnego. Pozwoliło to na wykorzystanie MEA w szybkiej diagnostyce zaburzeń hemostazy.

Analizatorem wykorzystującym MEA do oceny funkcji płytek jest Multiplate (Roche, Szwajcaria) (ryc. 1). Technika badania opiera się na ocenie zmiany oporu elektrycznego obserwowanego pomiędzy dwiema podwójnymi, zanurzonymi we krwi metalowymi elektrodami. Próbka krwi pełnej do wykonania badania jest pobierana do próbki z hirudyną lub cytrynianem. Po dodaniu do próbki krwi agonisty danego szlaku aktywacji dochodzi do proporcjonalnego zwiększenia oporu, związanego z postępującą agregacją PLT na elektrodach. Proces ten jest rejestrowany w spo-



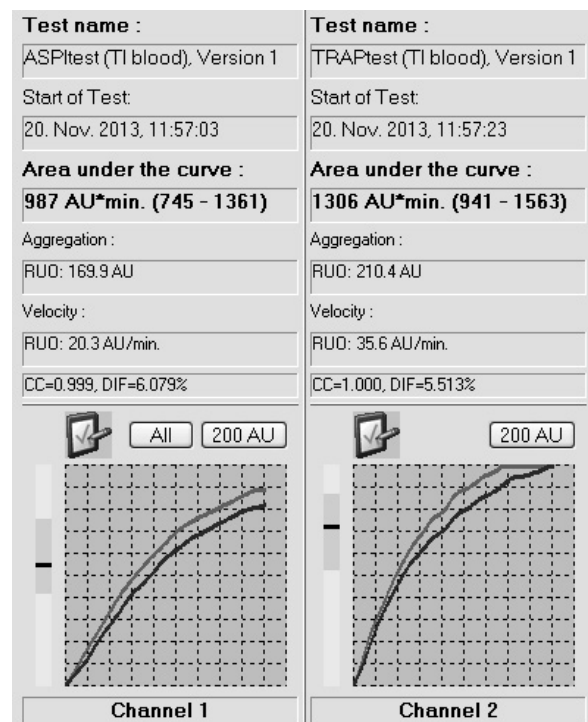
Rycina 1. Aparat Multiplate (materiał własny)

sób graficzny. Aby uzyskać większą dokładność pomiaru rejestruje się go jednocześnie z dwóch elektrod (dwie krzywe na wykresie). Uzyskany wynik (pole pod krzywą) prezentowany jest również jako wartość liczbową, którą można odnieść do wartości referencyjnych, wyliczonych dla każdego testu (ryc. 2).

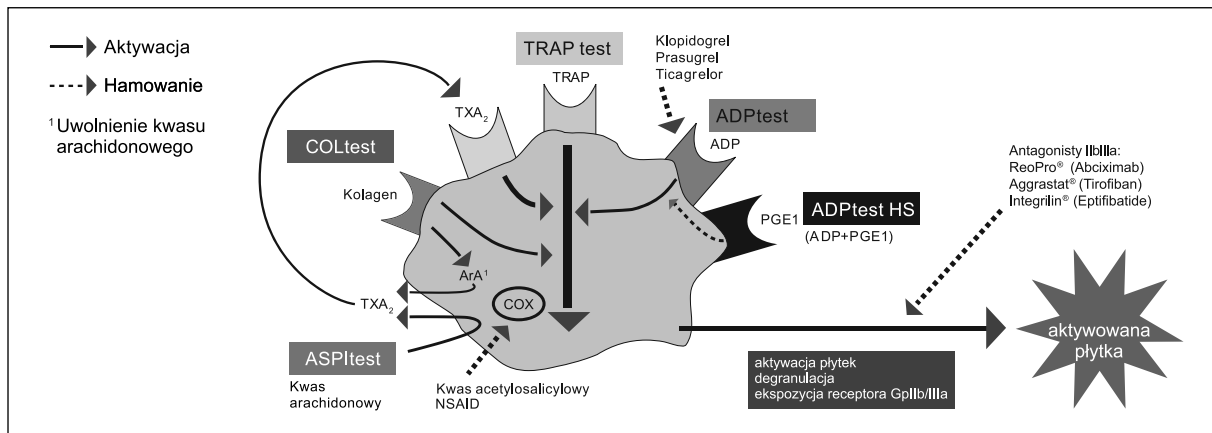
Ocenie podlegają szlaki agregacji PLT zależne od cyklo-oxygenazy (ASPItest), kolagenu (COLtest), adenosynodwufosforanu (ADPtest), trombiny (TRAPtest) oraz czynnika von Willebranda (RISTOtest) [8].

Aparat Multiplate może być wykorzystany do określenia funkcji PLT u chorych stosujących konkretne leki przeciw-płytkowe (ryc. 3). MEA pozwala monitorować zmiany agregacji PLT pod wpływem kwasu acetylosalicylowego i niesteroidowych leków przeciwzapalnych (ASPItest), pochodnych tienopirydyny — tiklopidyna, klopidoogrel, prasugrel, tikagrelol (ADPtest) czy leków blokujących receptor GPIIb/IIIa — abciximab, tirofiban oraz eptifibatyt (TRAPtest) [5, 9].

Ograniczenia MEA to między innymi: konieczność uwzględnienia wpływu wartości hematokrytu oraz liczby PLT (w szczególności trombocytopenii) na uzyskany wynik [7], jak również brak możliwości oceny wpływu śródbłonka naczyńowego oraz sił ścinających występujących przy przepływie krwi w naczyniach ze względu na pozaustrojowy charakter badania.



Rycina 2. Przykładowy graficzny wynik badania agregometrii impedancyjnej uzyskany przy użyciu aparatu Multiplate (materiał własny)



Rycina 3. Punkty działania leków przeciwplatek (źródło: Roche Diagnostics Polska, za zgodą)

Aparaty POC coraz częściej znajdują zastosowanie na blokach operacyjnych, na oddziałach intensywnej terapii, szpitalnych oddziałach ratunkowych, oddziałach intensywnej opieki kardiologicznej czy kardiochirurgii. Umożliwiają identyfikację chorych z wrodzonymi i nabytymi (np. polekowymi) zaburzeniami PLT, ułatwiają stratyfikację okołoperacyjnego ryzyka krwawienia i konieczność ewentualnego zabezpieczenia preparatów krwio pochodnych. Pozwalają także na monitorowanie skuteczności terapii przeciwplatekowej w celu zwiększenia bezpieczeństwa wykonywanych blokad centralnych i obwodowych [7].

Istotne informacje dotyczące układu hemostazy uzyskane dzięki wykorzystaniu nowych metod oceny funkcji PLT przyczyniły się do uwzględnienia ich zastosowania w zaleceniach i wytycznych Europejskiego Towarzystwa Anestezjologicznego dotyczących postępowania w masowych krwotokach [10] oraz krwawieniach związanych z ciężkim urazem [11].

Zaburzenia czynności PLT są jedną z przyczyn koagulopatii pourazowej. W wytycznych zwraca się uwagę na niewielką liczbę badań oceniających funkcję PLT wśród chorych po urazach. Autorzy wytycznych podkreślają, że przy masowych urazach ocena pierwotnej hemostazy jedynie na podstawie liczby PLT może prowadzić do nieskutecznej terapii hemostatycznej [12]. Brak funkcjonalnej oceny PLT w grupie chorych z koagulopatią pourazową, u których liczba PLT mieści się w granicach referencyjnych, może się przyczynić do zaniechania przetoczenia koncentratu krwinek płytkowych i zwiększenia śmiertelności [11, 13]. Solomon i wsp. [14] stwierdzili, że w grupie chorych, którzy zmarli w wyniku urazów, wyniki MEA były poniżej wartości referencyjnych, przy prawidłowej liczbie PLT [14]. Taką zależność zaobserwowali również Jacoby i wsp. [15] u chorych z pourazowym uszkodzeniem mózgu [15]. Zalecanym postępowaniem w diagnostyce masowych krwawień jest łączenie metod oceny funkcji PLT z globalnymi testami he-

mostazy, takimi jak tromboelastometria (ROTEM) czy tromboelastografia (TEG) [16]. Wynika to z faktu, że ROTEM oraz TEG wykazują słabą czułość w wykrywaniu i monitorowaniu dysfunkcji PLT, wynikającej między innymi z wpływu leków przeciwplatekowych [14]. Europejskie rekomendacje zalecają zastosowanie agregometrii impedancyjnej w grupie chorych z masowymi krwotokami i koagulopatią pourazową, u których podejrzewa się stosowanie leków blokujących funkcję PLT (poziom rekomendacji 2C) [11].

Okołoperacyjne monitorowanie hemostazy oceniające czynność PLT dostarcza istotnych wskazówek terapeutycznych również w kardiochirurgii [10], w której to ich dysfunkcja stanowi istotną przyczynę krwawień [17, 18]. Przedoperacyjne zastosowanie MEA (ADPtest) wśród chorych przyjmujących pochodne tienopirydyn i poddawanych zabiegom w krążeniu pozaustrojowym, pozwala na identyfikację chorych o wysokim ryzyku pooperacyjnego krwawienia [19]. Wykorzystanie MEA w połączeniu z globalnymi testami hemostazy (ROTEM lub TEG) przyczyniło się do ograniczenia kosztów oraz poprawy wyników leczenia w kardiochirurgii [20].

Metody oceniające funkcję PLT znalazły również zastosowanie w chirurgii transplantacyjnej. Wykazano bowiem zależność pomiędzy wzmożoną agregacją PLT w teście ADP a niedokrwiennym, poreperfuzyjnym uszkodzeniem wątroby, zaburzoną wczesną funkcją graftu oraz trombotopenią [21].

Istotnym zagadnieniem uwzględnionym w europejskich wytycznych jest powszechne stosowanie leków przeciwplatekowych wśród chorych poddawanych procedurom anestezjologicznym i zabiegom operacyjnym. Autorzy rekomendacji podkreślają brak jednoznacznych zaleceń dotyczących koniecznych odstępów czasowych pomiędzy odstawieniem leku przeciwplatekowego a wykonaniem interwencji [10]. Bergmann i wsp. [22] zastosowali ADPtest do oceny blokady płytek u chorego przyjmującego prze-

wlekle kwas acetylosalicylowy oraz kłopidogrel, u którego wystąpiła konieczność usunięcia założonego wcześniej cewnika zewnątrzoponowego. Pewnym ograniczeniem jest brak zdefiniowanych wartości referencyjnych stanowiących podstawę do określenia powrotu pełnej funkcji PLT w przypadku zaprzestania leczenia przeciwagregacyjnego. Pomocne w ustaleniu indywidualnego poziomu agregacji PLT jest wykonanie badania MEA przed rozpoczęciem leczenia przeciwplateletowego. Wynik taki może następnie być traktowany jako punkt odniesienia powrotu funkcji PLT dla danego chorego (ryc. 4). Europejskie rekomendacje podkreślają znaczenie krótkiego czasu potrzebnego do wykonania badania metodami POC, co umożliwia wielokrotne powtarzanie pomiaru i ocenę dynamicznego charakteru zachodzących zmian. Czynnikiem mogącym wpływać na wiarygodność uzyskanego wyniku MEA jest obecność trombocytopenii. Uważa się, że optymalna liczba PLT powinna wynosić powyżej 100 G l^{-1} [23]. Zastosowanie MEA może być również przydatne w monitorowaniu efektu zastosowanej interwencji terapeutycznej takiej jak podanie desmopresyny czy przetoczenie koncentratu krwinek płytkowych [24, 25]. Podkreśla się, że w przypadku chorych nieprzyjmujących leków przeciwplateletowym testem MEA odzwierciedlającym „globalny” potencjał agregacyjny PLT jest TRAPtest [19].

PODSUMOWANIE

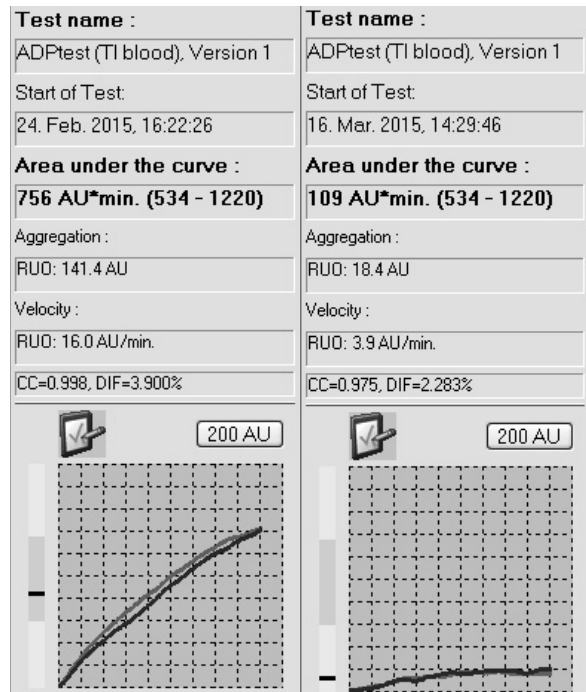
Ocena funkcji PLT z wykorzystaniem agregometrii impedancyjnej, w świetle europejskich wytycznych, stanowi ważne narzędzie wspomagające stratyfikację ryzyka zaburzeń hemostatycznych w okresie okołoperacyjnym oraz po urazie. Zastosowana wśród chorych przyjmujących leki przeciwplatetowe lub u pacjentów z aktywnymi krwawieniami w przebiegu urazów wielonarządowych, dostarcza istotnych klinicznie informacji umożliwiających ograniczenie ryzyka powikłań krwotocznych i zakrzepowo-zatorowych. Wykorzystanie MEA w codziennej praktyce może być również jednym z elementów postępowania diagnostycznego zwiększającego bezpieczeństwo wykonywanych procedur zabiegowych, w tym anestetycznych.

PODZIĘKOWANIA

1. Źródło finansowania — brak.
2. Konflikt interesów — brak.

Piśmiennictwo:

1. Born GV. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature*. 1962; 194: 927–929, indexed in Pubmed: [13871375](#).
2. Born G, Cross MJ. The aggregation of blood platelets. *J Physiol*. 1963; 168(1): 178–195, doi: [10.1113/jphysiol.1963.sp007185](#).
3. Syska K, Kosiorek A, Podśędek A, et al. Propozycja procedury oceny przeciwplatetowych właściwości preparatów polifenolowych pochodzenia roślinnego w badaniach in vitro. *Postępy Fitoter*. 2012; 1: 3–10.
4. Görlinger K, Jambor C, Dirkmann D, et al. Platelet function analysis with point-of-care methods. *Herz*. 2008; 33(4): 297–305, doi: [10.1007/s00059-008-3130-4](#), indexed in Pubmed: [18581079](#).



Rycina 4. Badanie wyjściowe przed zabiegiem i zastosowaniem kłopidogrelu (obraz po lewej) oraz po 14 dniach terapii przeciwplatekowej (obraz po prawej) (materiał własny)

5. Jámbor C, Weber CF, Gerhardt K, et al. Whole blood multiple electrode aggregometry is a reliable point-of-care test of aspirin-induced platelet dysfunction. *Anesth Analg*. 2009; 109(1): 25–31, doi: [10.1213/ane.0b013e3181a27d10](#), indexed in Pubmed: [19439684](#).
6. Pakala R, Waksman R. Currently available methods for platelet function analysis: advantages and disadvantages. *Cardiovasc Revasc Med*. 2011; 12(5): 312–322, doi: [10.1016/j.carrev.2010.09.005](#), indexed in Pubmed: [21036109](#).
7. Paniccia R, Piora R, Liotta AA, et al. Platelet function tests: a comparative review. *Vasc Health Risk Manag*. 2015; 11: 133–148, doi: [10.2147/VHRM.S44469](#), indexed in Pubmed: [25733843](#).
8. Vidali M, Rolla R, Parrella M, et al. Role of the laboratory in monitoring patients receiving dual antiplatelet therapy. *Int J Lab Hematol*. 2012; 34(5): 484–494, doi: [10.1111/j.1751-553X.2012.01428.x](#), indexed in Pubmed: [22613071](#).
9. Paniccia R, Antonucci E, Maggini N, et al. Assessment of platelet function on whole blood by multiple electrode aggregometry in high-risk patients with coronary artery disease receiving antiplatelet therapy. *Am J Clin Pathol*. 2009; 131(6): 834–842, doi: [10.1309/AJCPTE3K1SGAPOIZ](#), indexed in Pubmed: [19461090](#).
10. Kozek-Langenecker SA, Ahmed AB, Afshari A, et al. Management of severe perioperative bleeding: guidelines from the European Society of Anaesthesiology. *Eur J Anaesthesiol*. 2013; 30(6): 270–382, doi: [10.1097/EJA.0b013e32835f4d5b](#), indexed in Pubmed: [23656742](#).
11. Rossaint R, Bouillon B, Cerny V, et al. Task force for advanced bleeding care in trauma. Management of bleeding following major trauma: an updated European guideline. *Crit Care*. 2010; 14(2): R52, doi: [10.1186/cc8943](#), indexed in Pubmed: [20370902](#).
12. Kutcher ME, Redick BJ, McCreery RC, et al. Characterization of platelet dysfunction after trauma. *J Trauma Acute Care Surg*. 2012; 73(1): 13–19, doi: [10.1097/TA.0b013e318256deab](#), indexed in Pubmed: [22743367](#).
13. Brown LM, Call MS, Margaret Knudson M, et al. Trauma outcomes group. A normal platelet count may not be enough: the impact of admission platelet count on mortality and transfusion in severely injured trauma patients. *J Trauma*. 2011; 71(2 Suppl 3): S337–S342, doi: [10.1097/TA.0b013e318227f67c](#), indexed in Pubmed: [21814101](#).
14. Solomon C, Traintinger S, Ziegler B, et al. Platelet function following trauma. A multiple electrode aggregometry study. *Thromb Haemost*. 2011; 106(2): 322–330, doi: [10.1160/TH11-03-0175](#), indexed in Pubmed: [21655681](#).

15. Jacoby RC, Owings JT, Holmes J, et al. Platelet activation and function after trauma. *J Trauma*. 2001; 51(4): 639–647, indexed in Pubmed: [11586152](#).
16. Rossaint R, Bouillon B, Cerny V, et al. The European guideline on management of major bleeding and coagulopathy following trauma: fourth edition. *Crit Care*. 2016;20: 100, doi: [10.1186/s13054-016-1265-x](#), indexed in Pubmed: [27072503](#).
17. Hartmann M, Sucker C, Boehm O, et al. Effects of cardiac surgery on hemostasis. *Transfus Med Rev*. 2006; 20(3): 230–241, doi: [10.1016/j.tmr.2006.03.003](#), indexed in Pubmed: [16787830](#).
18. Solomon C, Hartmann J, Osthaus A, et al. Platelet concentrates transfusion in cardiac surgery in relation to preoperative point-of-care assessment of platelet adhesion and aggregation. *Platelets*. 2010; 21(3): 221–228, doi: [10.3109/09537100903560155](#), indexed in Pubmed: [20158381](#).
19. Ranucci M, Baryshnikova E, Soro G, et al. Surgical and Clinical Outcome Research (SCORE) Group. Multiple electrode whole-blood aggregometry and bleeding in cardiac surgery patients receiving thienopyridines. *Ann Thorac Surg*. 2011;91(1): 123–129, doi: [10.1016/j.athoracsur.2010.09.022](#), indexed in Pubmed: [21172499](#).
20. Weber CF, Görlinger K, Meininger D, et al. Point-of-care testing: a prospective, randomized clinical trial of efficacy in coagulopathic cardiac surgery patients. *Anesthesiology*. 2012; 117(3): 531–547, doi: [10.1097/ALN.0b013e318264c644](#), indexed in Pubmed: [22914710](#).
21. Schulte am Esch J, Akyildiz A, Tustas RY, et al. ADP-dependent platelet function prior to and in the early course of pediatric liver transplantation and persisting thrombocytopenia are positively correlated with ischemia/reperfusion injury. *Transpl Int*. 2010; 23(7): 745–752, doi: [10.1111/j.1432-2277.2010.01054.x](#), indexed in Pubmed: [20136783](#).
22. Bergmann L, Kienbaum P, Görlinger K, et al. Uneventful removal of an epidural catheter guided by impedance aggregometry in a patient with recent coronary stenting and treated with clopidogrel and acetylsalicylic acid. *Reg Anesth Pain Med*. 2007; 32(4): 354–357, doi: [10.1016/j.rapm.2007.06.007](#), indexed in Pubmed: [17720122](#).
23. Hanke AA, Roberg K, Monaca E, et al. Impact of platelet count on results obtained from multiple electrode platelet aggregometry (Multiplate). *Eur J Med Res*. 2010; 15(5): 214–219, indexed in Pubmed: [20562061](#).
24. Rahe-Meyer N, Winterhalter M, Boden A, et al. Platelet concentrates transfusion in cardiac surgery and platelet function assessment by multiple electrode aggregometry. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2009; 53(2): 168–175, doi: [10.1111/j.1399-6576.2008.01845.x](#), indexed in Pubmed: [19175576](#).
25. Weber CF, Dietrich W, Spannagl M, et al. A point-of-care assessment of the effects of desmopressin on impaired platelet function using multiple electrode whole-blood aggregometry in patients after cardiac surgery. *Anesth Analg*. 2010; 110(3): 702–707, doi: [10.1213/ANE.0b013e3181c92a5c](#), indexed in Pubmed: [20042444](#).

Adres do korespondencji:

Jan Pluta

I Klinika Anestezjologii i Intensywnej Terapii WUM

Szpital Kliniczny Dzieciątka Jezus

ul. Lindleya 4, 02–005 Warszawa

e-mail: jan.pluta@lekarz.eu

Przyjęto: 1.04.2017 r.

Zaakceptowano: 30.04.2018 r.