

文章编号: 1004-7220(2022)03-0425-08

生理性流动条件下血小板在玻璃表面的聚集行为

张天聪, 陈丹, 廖娟, 邓素容, 米永华, 刘占术, 何菲, 胡煜琳, 李远

(重庆医科大学附属永川医院 中心实验室, 重庆 402160)

摘要:目的 研究生理性流动条件下血小板在玻璃表面的聚集行为。方法 采用软光刻工艺加工聚二甲基硅氧烷 (polydimethylsiloxane, PDMS)-玻璃微通道芯片。将抗凝人外周全血以 300 、 $1\ 500\ \text{s}^{-1}$ 壁剪切率流过微通道芯片, 倒置荧光显微镜拍摄荧光标记血小板在微通道玻璃表面形成的血小板聚集体荧光图像, 通过图像分析得到血小板聚集体数量、平均尺寸、表面覆盖率和平均荧光强度。分别对玻璃表面进行亲水性处理、牛血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA) 封闭和胶原纤维蛋白修饰处理, 调整血液样品红细胞比容 (hematocrit, Hct), 用抗血小板制剂处理血液样品, 观察上述条件下血小板在玻璃表面的聚集行为; 比较分析健康人群和糖尿病患者的血小板聚集情况。结果 流动条件下, 血小板在玻璃表面发生聚集形成三维血小板聚集体; 血小板聚集依赖于壁剪切率大小、玻璃表面亲疏水性和 Hct; 血小板聚集主要由血小板膜糖蛋白 GPIIb/IIIa-纤维蛋白原和 ADP-P2Y₁₂受体通路调控; 血小板在玻璃表面的聚集能够反映糖尿病患者血小板的高活化状态。结论 在 300 、 $1\ 500\ \text{s}^{-1}$ 流动条件下, 血小板在玻璃表面的聚集与剪切率、蛋白吸附、血小板相关受体和血小板自身活化状态相关。本文建立了一种无需额外黏附蛋白修饰的微流控血小板功能分析的新模型, 可用于临床血小板功能评估。

关键词: 玻璃-血小板相互作用; 血小板聚集; 剪切率; 抗血小板药物; 糖尿病

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2022.03.007

Platelet Aggregation on Glass Surface under Physiological Flow Condition

ZHANG Tiancong, CHEN Dan, LIAO Juan, DENG Surong, MI Yonghua, LIU Zhanshu, HE Fei, HU Yulin, LI Yuan

(Central Laboratory, Yongchuan Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 402160, China)

Abstract: **Objective** To investigate platelet aggregation on glass surface under physiological flow condition. **Methods** The polydimethylsiloxane (PDMS)-glass microchannel chips were fabricated by soft lithography. Anti-coagulant human peripheral whole blood was flowed through the microchannel chip at flow shear rate of $300\ \text{s}^{-1}$ and $1\ 500\ \text{s}^{-1}$, respectively. The fluorescence images of platelet aggregates formed on glass surface at the bottom of the microchannel were captured after 150 s using an inverted fluorescence microscope. The number of platelet aggregates, average size, surface coverage and average fluorescence intensity were quantified by image analysis. The glass surface was treated with oxygen plasma, BSA blocking or collagen modification to establish different surfaces for platelet aggregation. The hematocrit (Hct) of blood sample was adjusted, and the whole blood was treated with different anti-platelet agents. The platelet aggregation on glass surface was observed under the above experimental conditions. The platelet aggregations in healthy people and diabetic patients were also

收稿日期: 2021-07-19; 修回日期: 2021-08-31

基金项目: 国家自然科学基金项目 (11702047), 重庆市社会事业与民生保障科技创新专项 (cstc2017shmsA130009), 重庆市医学科研项目 (2017MSXM079)

通信作者: 李远, 副研究员, E-mail: liyuan_1985999@163.com

analyzed. **Results** Under the flow condition, platelet aggregation on glass surface was three-dimensional. Platelet aggregation was dependent on wall shear rate, the hydrophilicity of glass surface and Hct, and was mainly regulated by GPIIb/IIIa-fibrinogen and ADP-P2Y₁₂ receptor pathways. The aggregation of platelets on the glass surface could also reflect the high activity of platelets in diabetic patients. **Conclusions** At the flow conditions of 300 s⁻¹ and 1 500 s⁻¹, platelet aggregation on glass surface is related to flow rate, protein adsorption, platelet related receptors and platelet activation state. In this study, a new model for microfluidic platelet function analysis without additional adhesion protein modification was established, and it could be used for clinical evaluation of platelet function.

Key words: glass-platelet interaction; platelet aggregation; shear rate; anti-platelet drugs; diabetes mellitus

血小板是人体血液循环系统中重要的无核血细胞,参与众多的生理和病理进程。血小板聚集体形成是实现其功能的最终环节,需经历黏附、活化和聚集3个步骤,每个步骤均严格受到不同受体通路调控^[1]。当血管损伤时,少量的血小板通过血小板糖蛋白(GP)VI-胶原、GP IIb/IIIa-纤维蛋白原(Fg)、GP Ib-IX-V-血管性假性血友病因子(von Willebrand factor, vWF)等相互作用黏附在血管暴露的细胞外基质蛋白表面,随后被激活,自分泌二磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP)、血栓烷素A₂(TXA₂)等激动剂,激活血液中邻近的血小板,活化血小板之间通过GP IIb/IIIa-Fg连接形成血小板聚集体,完成初步止血功能^[2]。

大量研究已证实,血小板聚集行为依赖于流体剪切力环境。微流控芯片可降低血液样品用量,通过设计与体内微血管尺寸和结构特征相似的微通道,可实现在精准调控的流体动力学环境下研究血小板功能^[5]。将微流控芯片与荧光显微成像平台结合,能进一步实现对体外血小板聚集行为进行动态、直观地观察,用于探索剪切力调控下的血小板聚集^[6]、血小板-血管内皮细胞相互作用^[7]、抗血小板药物抑制效能^[8]等。在实践过程中,为促进血小板黏附聚集和受损血管模拟,研究者通常采用在微通道内修饰支撑黏附蛋白,如Fg、胶原、胶原多肽、vWF等^[9-12]。然而,微通道修饰步骤不但造成实验复杂性增加,限制芯片的保存;而且修饰蛋白在微通道分布的不均匀性导致检测误差增大,限制微流控芯片在血小板功能体外分析中的应用。

外源性材料表面可通过非特异性吸附血液中相关蛋白促进血小板黏附、活化和聚集^[13]。在静态条件下,洁净的玻璃表面能够支持血小板发生黏附

和活化^[14];而流动条件下,有关玻璃和血小板相互作用报道较少^[15]。本文以微流控芯片技术为基础,研究流动条件下血小板在玻璃表面上的聚集行为,分析流动壁剪切率、玻璃亲疏水性质、红细胞比容(hematocrit, Hct)、抗血小板制剂对血小板聚集的影响,最后比较糖尿病患者和健康志愿者血小板在玻璃表面上聚集行为。结果显示,流动条件下血小板可在玻璃表面形成三维聚集体,聚集依赖于流动壁剪切率、玻璃亲疏水性和血小板自身状态。通过本研究,期望建立一种无需黏附蛋白修饰的微流控芯片血小板功能分析的新模型。

1 实验

1.1 仪器与试剂

IX 71 倒置荧光显微镜(Olympus公司,日本);单色制冷 CCD 相机(Photometrics公司,美国);VK-X150激光三维显微成像系统(Keyence公司,日本);PSP01-CS双向推拉型精密注射泵(嘉善瑞创电子科技有限公司);PDG-32G-2等离子清洗机(Harrick公司,德国);Streampix 7.0视频录制软件(Norpix公司,加拿大);Image J图像处理软件。

阿司匹林和替格瑞洛(Topscience公司,美国);依替巴肽(MCE公司,美国);GPIIb-IX-vWF抑制剂(Abcam公司,美国);Sylgard 184 PDMS(Dow Corning公司,美国);Calcein AM 荧光染料(Invitrogen公司,美国);胶原纤维蛋白(山东泰利康信医疗科技有限公司);3.2%柠檬酸钠抗凝真空采血管(山东威高采血耗材有限公司);显微镜载玻片(江苏世泰实验器材有限公司);牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)和磷酸盐缓存液(phosphate buffered saline, PBS)[生工生物工程(上海)有限公司]。

1.2 实验方法

1.2.1 血液样品采集和处理 6名健康志愿者[男、女性各3名,年龄(32.4±6.8)岁]由重庆市血液中心永川分中心招募。入选标准:志愿者自述1月内无服药史、手术史和酗酒史,血小板数量、Hct、凝血功能均在正常参考值区间。

12名2型糖尿病患者从门诊患者中招募(男性9名,女性3名),糖尿病病史超过1年,近半年无住院史,符合世界卫生组织糖尿病诊断标准;12名健康体检人员(男性8名,女性4名)作为对照组,无心脑血管疾病或其他慢性病。糖尿病组和对照组年龄、性别、血小板计数及Hct的差异无统计学意义。本研究经重庆医科大学附属永川医院伦理委员会批准,采血前志愿者和患者均签署知情同意。真空采血管采集静脉血液样品,室温放置,2h内使用。

6名健康志愿者血液样品进行以下处理:①全血在1000 r/min转速下离心10 min,收集下层红细胞和上层富血小板血浆(PRP),配制Hct分别为45%、20%和0%的血液样品;②将每位志愿者全血等分成5份,其中4份作为处理组,分别加入不同的抗血小板制剂,37℃静止孵育30 min,抗血小板制剂名称和终浓度分别为:阿司匹林(20 μmol/L)、替格瑞洛(2 μmol/L)、依替巴肽(3.6 μmol/L)和GPIIb-IX-vWF抑制剂(4 μmol/L)。剩余1份加入PBS作为实验对照,37℃静止孵育30 min。

1.2.2 微通道芯片设计、加工和处理 微通道芯

片设计参考课题组前期文献报道^[16]。PDMS微通道加工采用感光干膜软光刻工艺^[9],通过氧等离子处理(30 W,1 min)将PDMS微通道和载玻片进行不可逆键合,制备成玻璃-PDMS微通道芯片[见图1(a)]。芯片由微通道(高70 μm,宽700 μm,长7 mm)、样品池(直径7 mm)和出口(直径1.5 mm)构成,每片芯片含6条独立测试微通道。根据实验设计对微流控芯片进行处理。①封闭处理:微通道内注入5 mg/mL BSA,室温孵育1 h,吸出BSA,PBS冲洗;②胶原纤维蛋白修饰:微通道内注入40 μg/mL的胶原纤维蛋白溶液,室温孵育1 h,吸出后PBS冲洗,加入5 mg/mL BSA室温孵育1 h封闭,吸出BSA,PBS冲洗;③亲水性处理:将微通道芯片用等离子清洗机30 W处理1 min和2 min。

1.2.3 流动条件下血小板聚集分析 实验装置图1(b)所示。将芯片放置于显微镜载物台上,用聚四氟乙烯管将芯片出口和注射泵相连;在血液样品中加入1 mmol/L Calcein AM 荧光染料,37℃孵育15 min对血小板进行荧光标记;将血液样品加载到样品池中,注射泵设置为回拉模式。血液流过微通道的壁剪切率和流量间的关系由Poiseuille定律计算:

$$v = 6Q/(a^2b)$$

式中: v 为壁剪切率; Q 为流量; a 为微通道深度; b 为微通道宽度。本文设定壁剪切率为 300 s^{-1} 和 1500 s^{-1} ,分别代表生理条件下人体静脉和动脉内的血液流动壁剪切率。

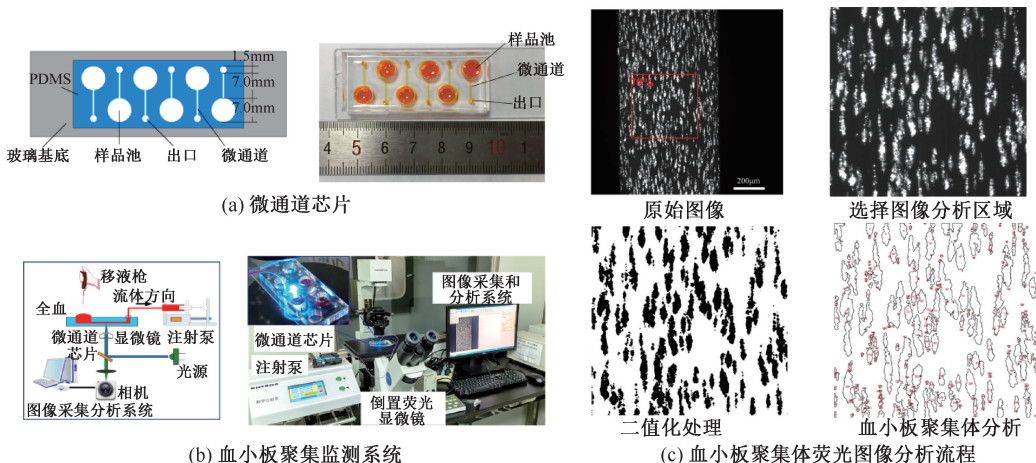


图1 流动条件下血小板聚集分析

Fig.1 Analysis of platelet aggregation under flow condition (a) Microchannel chip, (b) Platelet aggregation detection system, (c) Fluorescence image analysis process of platelet aggregates

用 Streampix 7.0 软件控制 CCD 记录玻璃表面形成的血小板聚集体荧光图像。预实验显示流动 150 s 时可观察到稳定增长的血小板聚集体,且血小板解聚行为较弱,故本文选择流动 150 s 时形成的血小板聚集体进行分析。流动 150 s 时玻璃表面上形成的血小板聚集体典型荧光图像如图 1(c) 所示。

血小板聚集体用 4% 多聚甲醛固定,通过激光三维显微成像系统观察聚集体的三维形貌。血小板聚集体荧光图像用 Image J 软件进行分析。为避免微通道侧壁效应影响,选择微通道中部 70% 区域作为分析区域,通过图像阈值分割、二值化和颗粒度分析,计算出血小板聚集体数量、平均尺寸、表面覆盖率和平均荧光强度。

1.3 统计学分析

计量资料用均值 \pm 标准差表示,统计分析采用

SPSS 13.0 软件。两组间比较采用配对 t 检验或 t 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 流动条件下血小板在玻璃表面的聚集

在 300、1 500 s^{-1} 流动条件下,血小板在玻璃表面形成稳定的血小板聚集体。其中,300 s^{-1} 条件下血小板聚集体尺寸和荧光强度较小,分布无方向性。1 500 s^{-1} 条件下血小板聚集体尺寸和荧光强度均较大,沿流动方向延伸。1 500 s^{-1} 条件下,血小板聚集体高度和横截面积均大于 300 s^{-1} 条件形成的血小板聚集体。两种流动条件下,三维显微成像结果显示血小板聚集体由活化血小板之间紧密连接形成(无法分辨出单个血小板),在流动平面和高度方向同时发生聚集形成三维状血小板聚集体(见图 2)。

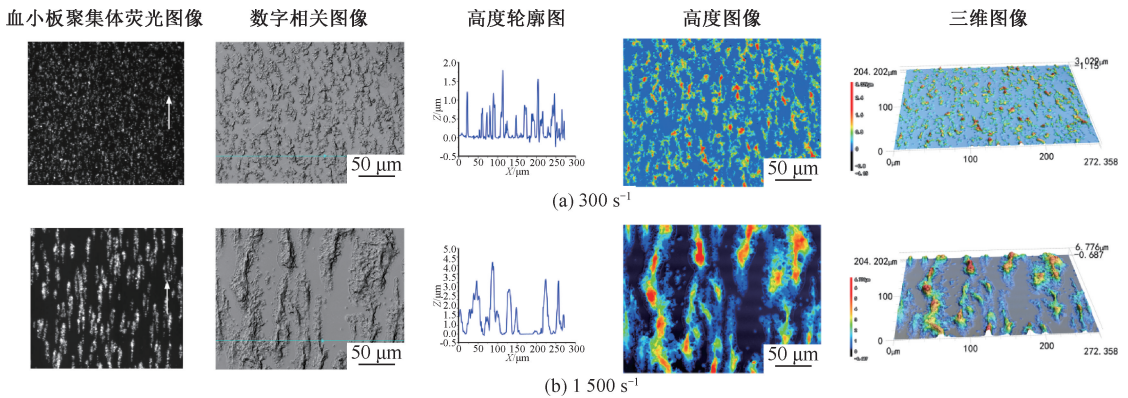


图 2 不同流动条件下玻璃基底表面形成的血小板聚集体

Fig.2 Platelet aggregates formed on the surface of glass substrate under different flow conditions (a) At flow shear rate of 300 s^{-1} , (b) At flow shear rate of 1 500 s^{-1}

注:箭头指示血液流动方向。

2.2 玻璃表面性质影响血小板的聚集

300、1 500 s^{-1} 流动条件下等离子亲水性处理后玻璃表面形成的血小板聚集体荧光图像如图 3(a) 所示。相比未处理玻璃表面,亲水性处理后血小板聚集体数量、尺寸和荧光强度均降低,处理时间 2 min 相较 1 min 降低程度更明显。综合考虑背景荧光和血小板聚集活性,后续实验前均对芯片进行亲水性处理 1 min。玻璃表面用胶原纤维蛋白修饰和用 BSA 进行封闭,300、1 500 s^{-1} 条件下血小板聚集荧光图像如图 3(b) 所示。结果显示,血小板能够

在胶原纤维蛋白上发生聚集,而 BSA 封闭后血小板聚集被完全抑制。6 个独立生物学样品间的实验结果相同。

2.3 Hct 对血小板聚集的影响

不同 Hct 的血液样品(0%、20%、48%)在玻璃表面形成的血小板聚集荧光图像如图 4 所示。结果显示,随着 Hct 降低,血小板聚集体数量和尺寸均降低。当 Hct 为 0% 时(即为 PRP 样品),没有发现明显的血小板聚集现象。6 个独立生物学样品实验结果相似。

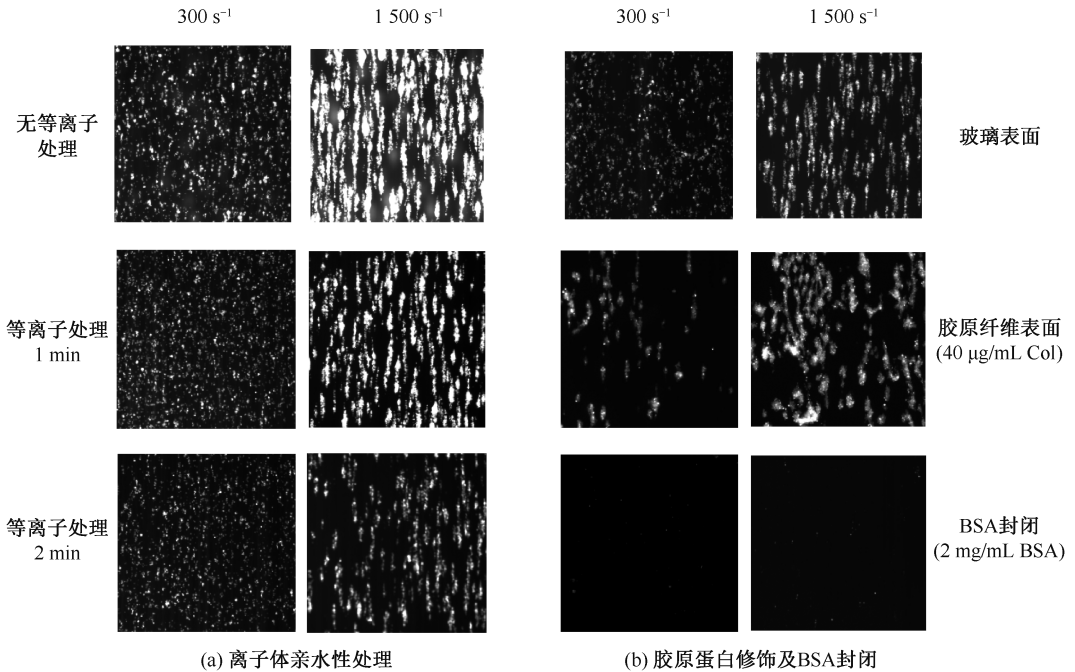


图3 玻璃表面亲疏水性和蛋白修饰对血小板聚集的影响

Fig.3 Effect of surface hydrophilicity and protein modification on platelet aggregation (a) Hydrophilic treatment using plasma, (b) Collagen modification and BSA blocking

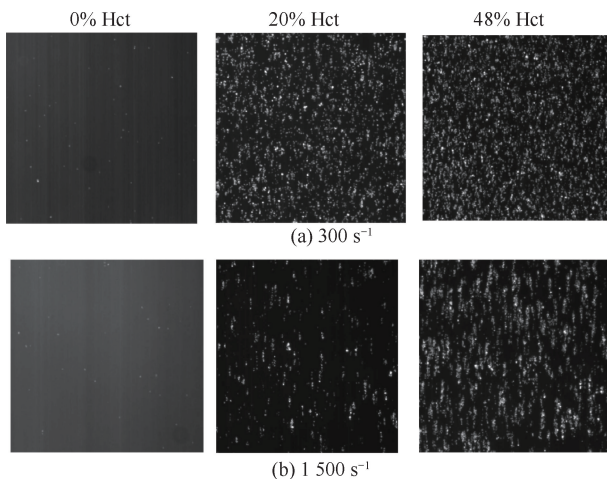


图4 不同流动条件下血液样品 Hct 对血小板聚集的影响

Fig.4 Effect of blood sample Hct on platelet aggregation under different flow conditions (a) At flow shear rate of 300 s^{-1} , (b) At flow shear rate of 1500 s^{-1}

2.4 抗血小板制剂对血小板聚集的影响

血液样品用推荐浓度的血小板抑制剂进行处理后玻璃表面形成的血小板聚集荧光图像和统计结果如图5所示。两种流动条件下,相比对照组, GPIb-IX-vWF 抑制剂处理后血小板聚集未见显著改

变;替格瑞洛和依替巴肽处理未见明显的血小板聚集体形成,且血小板聚集体数量、平均尺寸、表面覆盖率和平均荧光强度均显著降低;在 1500 s^{-1} 流动条件下,阿司匹林处理血小板聚集体相关参数显著降低;在 300 s^{-1} 流动条件下,血小板聚集体相关参数相比对照未见显著改变。

2.5 糖尿病患者血小板聚集功能

流动条件下糖尿病患者和健康人血小板在玻璃表面的聚集行为如图6所示。两种流动条件下,相比健康对照组,糖尿病组血小板聚集体数量减少,而血小板聚集体的平均尺寸、表面覆盖率和平均荧光强度均显著增加,糖尿病患者组相比健康对照组的血小板在玻璃表面的聚集能力增强。

3 讨论

大量研究证实,血小板聚集依赖于流体剪切应力^[16]。本文发现,在 300 、 1500 s^{-1} 流动条件下流动 150 s ,血小板能够在玻璃表面发生聚集,形成分布均匀和稳定黏附的三维血小板聚集体(见图1)。相比 300 s^{-1} 、 1500 s^{-1} 条件下形成的血小板聚集体沿流动方向延伸,平均尺寸和荧光强度均明显提高,

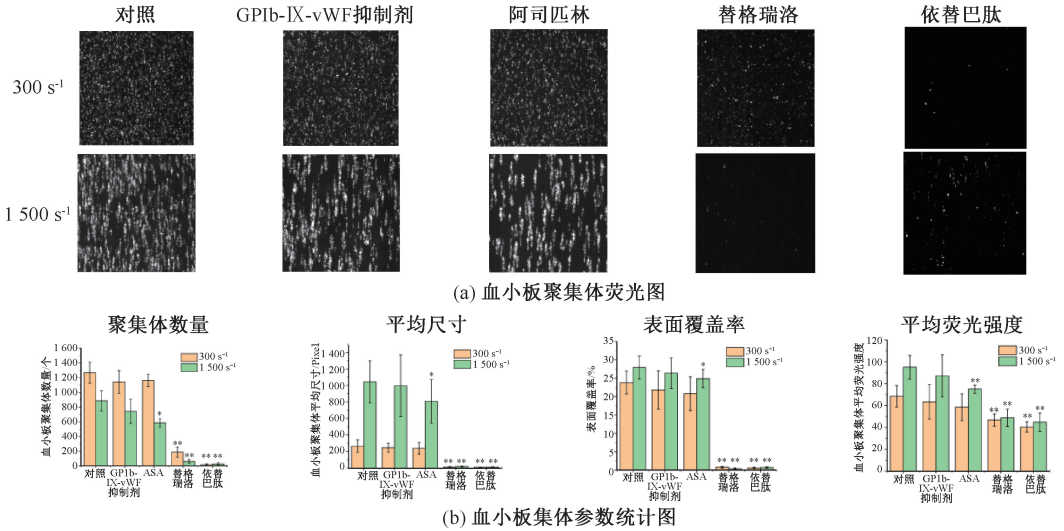


图5 抗血小板制剂对血小板聚集的影响

Fig.5 Effects of anti-platelet agents on platelet aggregation (a) Typical fluorescence image of platelet aggregation,

(b) Statistical graphs of platelet aggregation parameters

注:与对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

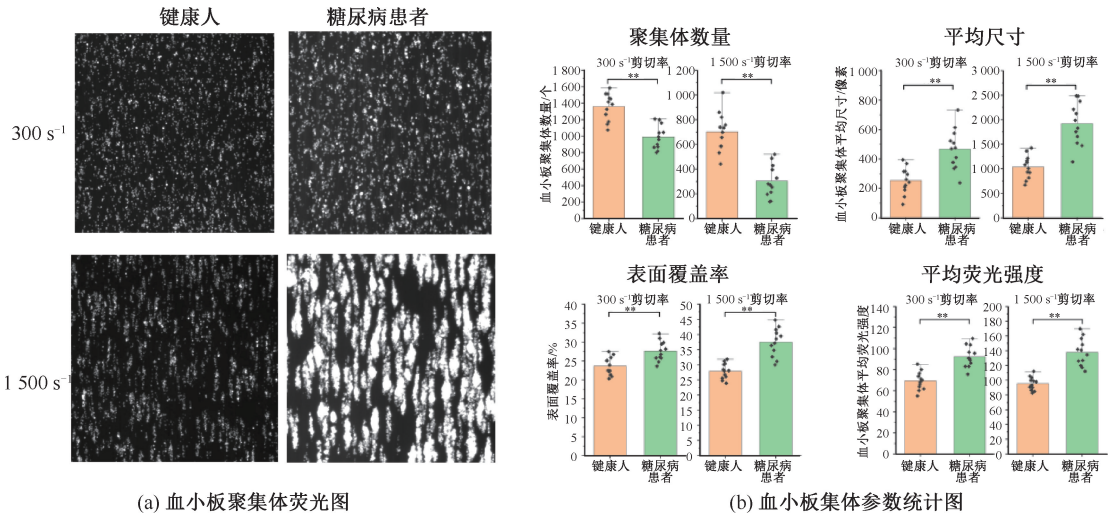


图6 流动条件下健康人群和糖尿病患者血小板在玻璃表面的聚集行为

Fig.6 Platelet aggregation on glass surface in healthy people and diabetic patients under flow condition (a) Typical

fluorescence image of platelet aggregation, (b) Statistical graphs of platelet aggregation parameters

注:与对照组相比, ** $P < 0.01$ 。

说明血小板聚集受壁剪切率大小调控,推测原因与高壁剪切率条件下玻璃表面附近血小板数量增多和vWF因子参与程度增加有关。该结果与血小板在胶原表面的聚集行为相似^[9,14]。

微通道芯片进行等离子处理后血小板在玻璃表面聚集程度降低,推测原因如下:等离子处理增加玻璃表面亲水性,从而减弱了玻璃表面对血浆中

蛋白的吸附能力,进而降低血小板在玻璃表面的聚集。微通道玻璃表面用胶原纤维蛋白修饰能支撑血小板聚集,BSA封闭后则血小板聚集被完全抑制。上述结果说明,流动条件下血小板聚集需要黏附蛋白,血小板在玻璃表面聚集依赖于玻璃表面吸附的相关血浆蛋白。

血小板在玻璃表面聚集与Hct相关。血小板聚

集随 Hct 降低而减弱,当 Hct 降低为 0 时,未见血小板聚集(见图 4)。微尺度流体动力学仿真研究显示,流动条件下血小板向壁面迁移能力随着 Hct 增加而增强,原因与红细胞碰撞力和细胞间排斥力有关^[17]。本研究与上述流体仿真结果相符,说明在流动条件下,血小板依赖红细胞的碰撞和排斥才能迁移到玻璃表面发生聚集。

血小板聚集由一系列受体通路调控,抗血小板药物通过抑制特定的受体通路实现抗血小板临床治疗目的。其中,GPIb-IX-vWF 抑制剂能够通过抑制 GPIb-IX 依赖的 vWF 与血小板结合抑制血小板黏附和聚集;阿司匹林通过不可逆抑制环氧合酶-1(cyclooxygenase-1, COX-1)活性,降低花生四烯酸(arachidonic acid, AA)向 TXA₂ 的转变,抑制血小板聚集^[18];替格瑞洛通过占领二磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP)与 P2Y₁₂受体结合位点的相邻位点引发 P2Y₁₂受体发生可逆性构型变化,抑制 ADP-P2Y₁₂受体途径的血小板聚集^[19];依替巴肽通过与血小板 GPIIb/IIIa 受体结合进而抑制血小板聚集^[10]。两种流动条件下,不同抗血小板制剂处理后血小板在玻璃表面的聚集结果显示,不同抗血小板抑制剂抑制血小板聚集的功效存在差异,且依赖于壁剪切率大小。本文认为,在 300、1 500 s⁻¹流动条件下,血小板在玻璃表面的聚集少部分由 GPIb-IX-vWF 和 TXA₂ 受体通路途径控制,大部分由 ADP-P2Y₁₂和 GPIIb/IIIa-Fg 受体通路途径控制。

糖尿病患者和健康人血小板在玻璃表面聚集行为显示,相比健康对照组,糖尿病组血小板在玻璃表面的聚集能力增强,且不依赖于流体剪切率(见图 6)。该结果与文献[20]报道相符,即糖尿病患者血小板活性增加,其原因可能与血小板膜上 GPIIb/IIIa 表达上调、ADP 受体 P2Y₁₂活性增加有关。本文认为,在流动条件下,血小板在玻璃表面聚集可反应糖尿病患者血小板的高活化状态。

4 结论

本文在两种生理性流动剪切率下研究了血小板在玻璃表面的聚集行为。结果显示:血小板在玻璃表面发生聚集形成三维血小板聚集体;血小板聚

集依赖于剪切率大小、玻璃表面亲疏水性质(血浆蛋白吸附)和血液样品中红细胞压积(碰撞和排斥使血小板迁移);血小板聚集主要受到 GPIIb/IIIa-Fg 和 ADP-P2Y₁₂受体通路调控;血小板在玻璃表面的聚集行为能够反映出糖尿病患者血小板的高活性状态。通过对本研究的实验方法进行标准化,以期后续能够建立无需额外黏附蛋白修饰的微流控血小板功能分析的新模型,用于临床血小板功能评估。

参考文献:

- [1] HOLINSTAT M. Normal platelet function [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2017, 36(2): 195-198.
- [2] RENDU F, BROHARD-BOHN B. The platelet release reaction: Granules' constituents, secretion and functions [J]. *Platelets*, 2001, 12(5): 261-273.
- [3] 高绪强,刘晓玲,吴建华,等.剪切流下 VWF-A1 介导的血小板钙响应[J]. *医用生物力学*, 2019, 34(1): 83-90. GAO XQ, LIU XL, WU JH, et al. VWF-A1-mediated calcium response of platelets under shear flow [J]. *J Med Biomech*, 2019, 34(1): 83-90.
- [4] 刘思璐,刘晓玲,吴建华,等.流体剪应力作用下 VWF-A1A2A3 介导的血小板 P-选择素的原位表达[J]. *医用生物力学*, 2017, 32(2): 188-193. LIU SL, LIU XL, WU JH, et al. VWF-A1A2A3-mediated expression of P-selectin in platelets under flow shear stress [J]. *J Med Biomech*, 2017, 32(2): 188-193.
- [5] SCAVONE M, BOZZI S, MENCARINI T, et al. Platelet adhesion and thrombus formation in microchannels: The effect of assay-dependent variables [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(3): 750-750.
- [6] TOVAR-LOPEZ FJ, ROSENGARTEN G, WESTEIN E, et al. A microfluidics device to monitor platelet aggregation dynamics in response to strain rate micro-gradients in flowing blood [J]. *Lab Chip*, 2010, 10(3): 291-302.
- [7] JAIN A, MEER AD, PAPA AL, et al. Assessment of whole blood thrombosis in a microfluidic device lined by fixed human endothelium [J]. *Biomed Microdevices*, 2016, 18(4): 73-80.
- [8] LI R, DIAMOND SL. Detection of platelet sensitivity to inhibitors of COX-1, P2Y₁, and P2Y₁₂ using a whole blood microfluidic flow assay [J]. *Thromb Res*, 2014, 133(2): 203-210.
- [9] 黎洋,丁玲,邓素容,等.在生理流动条件下分析血小板黏附聚集的简易微流控芯片技术[J]. *军事医学*, 2017, 41(7): 586-593.
- [10] RAHMAN SM, HLADY V. Microfluidic assay of antiplatelet agents for inhibition of shear-induced platelet adhesion and

- activation [J]. Lab Chip, 2021, 21(1): 174-183.
- [11] LUCITT MB, O'BRIEN S, COWMAN J, *et al.* Assaying the efficacy of dual-antiplatelet therapy: Use of a controlled-shear-rate microfluidic device with a well-defined collagen surface to track dynamic platelet adhesion [J]. Anal Bioanal Chem, 2013, 405(14): 4823-4834.
- [12] SORRELLS MG, NEEVES KB. Adsorption and absorption of collagen peptides to polydimethylsiloxane and its influence on platelet adhesion flow assays [J]. Micromachines, 2020, 11(1): 62-73.
- [13] PITTS KL, ABU-MALLOUH S, FENECH M. Contact angle study of blood dilutions on common microchip materials [J]. Mech Behav Biomed Mater, 2013, 17: 333-336.
- [14] DONATI A, GUPTA S, REVIKINE I. Subpopulations in purified platelets adhering on glass [J]. Biointerphases, 2016, 11(2): 029811-1-6.
- [15] WU Y, ZHANG M, HAUCH KD, *et al.* Effect of adsorbed von Willebrand factor and fibrinogen on platelet interactions with synthetic materials under flow conditions [J]. J Biomed Mater Res A, 2008, 85(3): 829-839.
- [16] 高振岳, 杨春, 庄逢源. 高剪切场诱导血小板活化和聚集机制的研究进展[J]. 医用生物力学, 2005, 20(4): 256-259.
GAO ZY, YANG C, ZHUANG FY. Progress on the mechanism of shear-induced platelet activation and aggregation [J]. J Med Biomech, 2005, 20(4): 256-259.
- [17] ALMOMANI T, UDAYKUMAR HS, MARSHALL JS, *et al.* Micro-scale dynamic simulation of erythrocyte-platelet interaction in blood flow [J]. Ann Biomed Eng, 2008, 36(6): 905-920.
- [18] 刘娟, 丁玲, 何翠, 等. 阿司匹林抑制血小板聚集行为的三维形态学分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2018, 26(6): 1757-1764.
- [19] YANG Y, CHEN W, PAN Y, *et al.* Effect of ticagrelor versus clopidogrel on platelet reactivity measured by thrombelastography in patients with minor stroke or TIA [J]. Aging, 2020, 12(20): 20085-20094.
- [20] ANGIOLILLO DJ, FEMANDEZ-ORTIZ A, BERNARDO E, *et al.* Platelet function profiles in patients with type 2 diabetes and coronary artery disease on combined aspirin and clopidogrel treatment [J]. Diabetes, 2005, 54(8): 2430-2435.