

冠心病患者阿司匹林与氯吡格雷抵抗发生情况的调查研究

孔德玉, 陈俊, 李春坚*, 朱甜甜, 张秋, 刘洁, 龚晓璇, 张定国, 贾恩志, 陈波, 陈磊磊, 贾庆哲, 戴振华, 杨志健

(南京医科大学第一附属医院心脏科, 江苏 南京 210029)

[摘要] 目的: 调查经皮冠状动脉介入治疗(PCI)术后冠心病患者阿司匹林与氯吡格雷抵抗的发生情况, 为个体化抗血小板治疗提供依据。方法: 入选确诊为冠心病并接受PCI的患者200例, 用光学血小板聚集仪(LTA)检测1 mmol/L花生四烯酸(AA)和5 μ mol/L二磷酸腺苷(ADP)诱导的血小板聚集率(PL_{AA} 和 PL_{ADP}), 将 $PL_{AA} > 20\%$ 、 $PL_{ADP} > 40\%$ 分别定义为阿司匹林抵抗和氯吡格雷抵抗。结果: 本研究未发现阿司匹林抵抗患者, 入选患者 PL_{AA} 均值为 $(2.63 \pm 2.40)\%$; 入选患者中氯吡格雷抵抗者44例(22.0%), 其 PL_{ADP} 均值为 $(47.16 \pm 5.82)\%$; 氯吡格雷非抵抗者156例(78.0%), 其 PL_{ADP} 均值为 $(25.62 \pm 8.71)\%$ 。结论: 冠心病患者阿司匹林抵抗发生率极低, 而氯吡格雷抵抗发生率较高, 提示应针对氯吡格雷抵抗者制定个体化抗血小板治疗方案。

[关键词] 冠心病; 阿司匹林抵抗; 氯吡格雷抵抗; 血小板聚集率

[中图分类号] R541.4

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2013)06-788-04

doi:10.7655/NYDXBNS20130614

Incidence of aspirin and clopidogrel resistance in patients with coronary artery disease

Kong Deyu, Chen Jun, Li Chunjian*, Zhu Tiantian, Zhang Qiu, Liu Jie, Gong Xiaoxuan, Zhang Dingguo, Jia Enzhi, Chen Bo, Chen Leilei, Jia Qingzhe, Dai Zhenhua, Yang Zhijian

(Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the incidence of aspirin and clopidogrel resistance in patients with coronary artery disease received percutaneous coronary intervention (PCI), and provide evidence for the individualized anti-platelet treatment. **Methods:** Two hundreds patients with defined coronary artery disease who have received PCI were recruited in this study. Platelet aggregations (PL_{AA} and PL_{ADP}) 1 mmol/L arachidonic acid (AA) and 5 μ mol/L adenosine diphosphate (ADP) were determined using the light transmission aggregometer (LTA). Aspirin and clopidogrel resistance were defined as $PL_{AA} > 20\%$ and $PL_{ADP} > 40\%$, respectively. **Results:** None of the patients was resistant to aspirin in the recruited subjects; the mean PL_{AA} of the recruited patients was $(2.63 \pm 2.40)\%$. Forty four patients (22.0%) were resistant to clopidogrel, and the mean PL_{ADP} of the non-responders was $(47.16 \pm 5.82)\%$; by contrast, 156 patients (78.0%) were sensitive to clopidogrel, and the mean PL_{ADP} of the responders was $(25.62 \pm 8.71)\%$. **Conclusion:** Aspirin resistance is rare, while clopidogrel resistance is much common in patients with coronary artery disease, which suggests that individualized anti-platelet treatment should be initiated targeting patients with clopidogrel resistance.

[Key words] coronary artery disease; aspirin resistance; clopidogrel resistance; platelet aggregation

[Acta Univ Med Nanjing, 2013, 33(6): 788-791]

近二十余年来,经皮冠状动脉介入治疗(percutaneous coronary intervention, PCI)术已成为冠心病治疗的重要手段。阿司匹林和氯吡格雷双联抗血小板治疗作为PCI术后常规的抗栓治疗方案,能有效

预防PCI术后动脉血栓事件的发生^[1-2]。然而即使在双联抗血小板治疗的情况下,冠心病患者血栓形成事件(包括支架内血栓)发生率仍高达10%^[2]。研究发现,在常规服用阿司匹林和氯吡格雷的情况下,部分冠心病患者仍残余较高的血小板聚集活性,这种现象称为“阿司匹林抵抗”^[3]和(或)“氯吡格雷抵抗”^[4]。国外报道其发生率分别为0.4%~35.0%^[5]和4%~

[基金项目] 国家自然科学基金资助(81170181)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: lijay@njmu.edu.cn

30%^[6],目前,国内有关阿司匹林和氯吡格雷抵抗的流行病学研究有少量报道,但样本量相对较小。

本研究通过光学血小板聚集仪(light transmission aggregometer, LTA)检测冠心病患者服用阿司匹林及氯吡格雷后的残余血小板聚集率,调查 PCI 术后双联抗血小板治疗的疗效,为指导个体化抗血小板治疗提供依据。

1 对象和方法

1.1 对象

采用队列研究设计,连续入选于 2012 年 3~7 月在南京医科大学第一附属医院心内科接受 PCI 术的冠心病患者 200 例,所有患者术前均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 药物治疗

所有患者入院时口服阿司匹林 100 mg、氯吡格雷 300 mg,然后分别予阿司匹林 100 mg/d 和氯吡格雷 75 mg/d 维持,入院患者常规服用其他冠心病治疗药物。

1.2.2 血标本采集

在患者服用阿司匹林和氯吡格雷治疗 5 d 后,取静脉血 4.5 ml,加至含 0.5 ml 枸橼酸钠溶液(1:9)的采样管中混匀,3 h 内检测血小板聚集功能。

1.2.3 血小板聚集功能检测

用 LTA(540 VS, Chronolog 公司,美国)检测血小板聚集功能。将待测血样经 200 r/min 离心 8 min,获取富血小板血浆(PRP),检测血小板计数;将剩余血样经 2 465 r/min 离心 10 min,获取去血小板血浆(PPP),用 PPP 将 PRP 的血小板计数稀释至 250×10^9 个/L。以 PPP 为空白对照,将校正的 PRP 样本置于光学血小板聚集仪的检测槽,分别加入 10 μ l 花生四烯酸(AA)、2.5 μ l 二磷酸腺苷(ADP),使 AA、ADP 终浓度分别至 1 mmol/L 和 5 μ mol/L,测定 8 min 最大血小板聚集率(platelet aggregations, PL)。

1.2.4 阿司匹林和氯吡格雷抵抗的定义

本研究将 1 mmol/L AA 诱导的残余血小板聚集率(PL_{AA})>20%定义为阿司匹林抵抗^[7];将 5 μ mol/L ADP 诱导的残余血小板聚集率(PL_{ADP})>40%定义为氯吡格雷抵抗^[8]。

2 结果

2.1 患者基本资料

200 例接受 PCI 术治疗的冠心病患者中,男 156

例(78.0%)、女 44 例(22.0%),平均年龄(66.4 ± 11.2)岁;入选患者中稳定性心绞痛 32 例(16.0%)、急性冠脉综合征 168 例(84.0%);合并高血压病 138 例(69.0%)、糖尿病 57 例(28.5%);吸烟者 92 例(46.0%)。

2.2 PL_{AA} 及阿司匹林抵抗发生率

图 1A 为 2 例患者 PL 率检测曲线,结果显示,加入 AA 后,根据光电信号描绘出的血小板聚集曲线无明显下降。提示血浆标本浊度和透光率无明显变化,说明标本中血小板环氧酶-1(COX-1)通道完全被阿司匹林抑制,加入诱导剂后未发生明显的血小板聚集。本研究以 8 min 内纵坐标显示的 PL 最大值作为检测结果,>20%定义为阿司匹林抵抗。图 1B 为 200 例患者 AA 诱导的 PL 分布散点图。结果未发现阿司匹林抵抗患者,入选患者平均 PL_{AA} 为(2.63 ± 2.40)%。

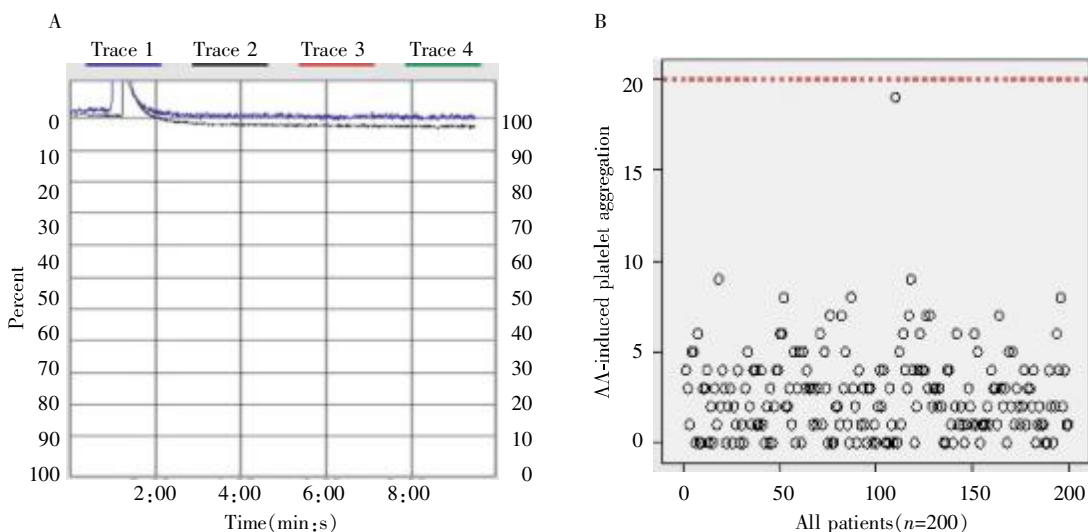
2.3 PL_{ADP} 及氯吡格雷抵抗发生率

图 2A 为 2 例患者 ADP 诱导的 PL 检测曲线,结果显示,加入 ADP 后,根据光电信号描绘出的血小板聚集曲线较快的下降至最大值,然后逐渐回复并接近基线水平。提示在加入 ADP 后血浆标本浊度有所增加,透光率发生一过性下降,说明标本中发生了部分血小板聚集。本研究以 8 min 内纵坐标显示的 PL 最大值作为检测结果,>40%定义为氯吡格雷抵抗。图 2B 为 200 例患者 ADP 诱导的 PL 分布散点图。结果显示氯吡格雷抵抗者 44 例(22.0%),平均 PL_{ADP} 为(47.16 ± 5.82)%;氯吡格雷非抵抗者 156 例(78.0%),平均 PL_{ADP} 为(25.62 ± 8.71)%。

3 讨论

本研究在冠心病患者中利用光学血小板聚集仪同时探讨阿司匹林和氯吡格雷抵抗的发生情况。结果发现在入选的 200 例冠心病患者中,阿司匹林抵抗发生率为 0%,而氯吡格雷抵抗者发生率为 22%。

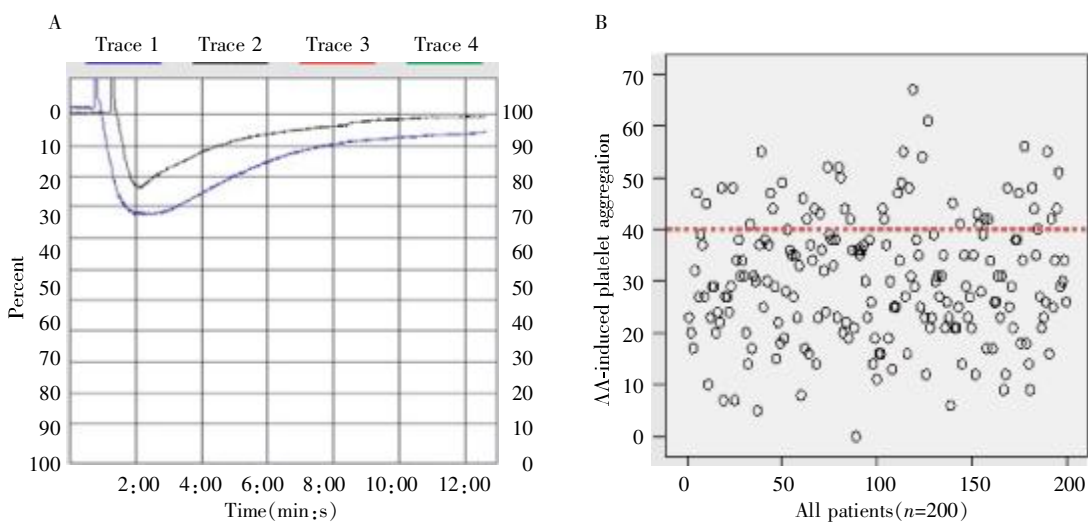
目前用于检测血小板聚集功能的仪器或方法有:LTA、VerifyNow P2Y12 仪、血栓弹力图(TEG)、血管扩张刺激磷蛋白(VASP)磷酸化检测等。文献报道^[9],采用不同的血小板功能检测方法测定的阿司匹林和氯吡格雷抵抗发生率有较大差异。LTA 是由 Born GV 于 1962 年最先应用于临床,其原理是通过在 PRP 中加入不同激活剂诱导血小板聚集,使血浆浊度和透光率发生变化,进而通过光电信号转化描绘出血小板聚集曲线,最后计算出 PL^[10]。氯吡格雷抵抗也是最先根据此方法的检测结果定义的^[4],且



A: 光学血小板聚集仪检测 AA 诱导的血小板聚集曲线; B: 200 例患者 AA 诱导的血小板聚集率分布散点图。

图 1 花生四烯酸(AA)诱导的血小板聚集率

Figure 1 Arachidonic acid (AA)-induced platelet aggregation



A: 光学血小板聚集仪检测 ADP 诱导的血小板聚集曲线; B: 200 例患者 ADP 诱导的血小板聚集率分布散点图。

图 2 二磷酸腺苷(ADP)诱导的血小板聚集率

Figure 2 Adenosine diphosphate (ADP)-induced platelet aggregation

据此定义的氯吡格雷抵抗与冠心病患者的临床预后相关^[11]。因此采用 LTA 检测 PL 目前被认为是“金标准”的血小板功能检测方法^[12]。

Tantry 等^[13]将 1 mmol/L AA 诱导的残余血小板聚集率 > 20% 定义为阿司匹林抵抗, 对 223 例接受阿司匹林 (325 mg/d) 治疗的高加索冠心病患者行血小板功能检测, 仅发现 1 例阿司匹林抵抗患者。李晓利等^[14]应用光学血小板聚集仪检测 431 例接受阿司匹林 (75~100 mg/d) 治疗的患者 (冠心病患者占 39.21%), 将 0.5 mmol/L PL_{AA} ≥ 20% 及 10 μmol/L PL_{ADP} ≥ 70% 定义为阿司匹林抵抗, 发现阿司匹林抵抗的发生率为 8.35%。本研究结果与 Tantry 等^[13]的

研究结果相近, 但低于李晓利等^[14]的研究结果, 可能与研究对象、阿司匹林抵抗的定义及实验室操作等因素不同有关。

Gurbel 等^[4]将基线状态与服用氯吡格雷 5 d 后 5 μmol/L ADP 诱导的 PL 差值 ≤ 10% 定义为氯吡格雷抵抗。通过对 96 例行 PCI 术的冠心病患者进行血小板功能检测, 发现高加索患者氯吡格雷抵抗的发生率为 31%。国内白艳艳等^[15]入选 103 例行 PCI 术的冠心病患者, 根据上述氯吡格雷抵抗的定义, 发现氯吡格雷抵抗的发生率为 24.3%。

目前国内外关于氯吡格雷抵抗的定义尚未完全统一。Gurbel 等^[12,16-18]对 3 项临床研究的结果进行

分析后发现:采用 LTA 检测 $5 \mu\text{mol/L PL}_{\text{ADP}} > 40\%$ 与缺血性事件显著相关。因此,本研究选择 $PL_{\text{ADP}} > 40\%$ 作为氯吡格雷抵抗与否的截断值,结果显示冠心病患者氯吡格雷抵抗发生率为 22.0%,与上述国内外报道相近。

本研究的价值在于,发现冠心病患者阿司匹林抵抗发生率极低,而氯吡格雷抵抗者发生率较高,提示应针对氯吡格雷抵抗者制定个体化抗血小板治疗方案。本研究的不足在于样本量尚较小,且未进行干预性治疗。在后续研究中,有必要进一步扩大样本量,并开展针对氯吡格雷抵抗的个体化抗血小板治疗研究。

[参考文献]

- [1] 沈明强,程庆璋,石冬敏. 不同抗血小板治疗对急性脑梗死患者血小板活化聚集状态的比较[J]. 南京医科大学学报:自然科学版,2013,33(2):21-216
- [2] Gurbel PA, Antonino MJ, Tantry US. Recent developments in clopidogrel pharmacology and their relation to clinical outcomes [J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2009, 5(8):989-1004
- [3] Pamukçu B, Oflaz H, Niçanci Y. A current problem in atherothrombotic diseases--aspirin resistance: definition, mechanisms, determination with laboratory tests and clinical implications [J]. *Anadolu Kardiyol Derg*, 2007, 7 (Suppl 2):20-26
- [4] Gurbel PA, Bliden KP, Hiatt BL, et al. Clopidogrel for coronary stenting: response variability, drug resistance, and the effect of pretreatment platelet reactivity [J]. *Circulation*, 2003, 107(23):2908-2913
- [5] Tantry US, Bliden KP, Gurbel PA, et al. Resistance to antiplatelet drugs: current status and future research [J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2005, 6(12):2027-2045
- [6] Nguyen TA, Diodati JG, Pharand C. Resistance to clopidogrel: a review of the evidence [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2005, 45(8):1157-1164
- [7] Li C, Hirsh J, Sloane D, et al. Aspirin response variability after major orthopedic surgery [J]. *Thromb Res*, 2012, 130(2):216-220
- [8] Bonello L, Tantry US, Marcucci R, et al. Consensus and future directions on the definition of high on-treatment platelet reactivity to adenosine diphosphate [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2010, 56(12):919-933
- [9] Woo KS, Kim BR, Kim JE, et al. Determination of the prevalence of aspirin and clopidogrel resistances in patients with coronary artery disease by using various platelet-function tests [J]. *Korean J Lab Med*, 2010, 30(5):460-468
- [10] Born GV. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal [J]. *Nature*, 1962, 194:927-929
- [11] Trenk D, Hochholzer W, Fromm MF, et al. Cytochrome P450 2C19 681G>A polymorphism and high on-clopidogrel platelet reactivity associated with adverse 1-year clinical outcome of elective percutaneous coronary intervention with drug-eluting or bare-metal stents [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2008, 51(20):1925-1934
- [12] Gurbel PA, Becker RC, Mann KG, et al. Platelet function monitoring in patients with coronary artery disease [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2007, 50(19):1822-1834
- [13] Tantry US, Bliden KP, Gurbel PA. Overestimation of platelet aspirin resistance detection by thrombelastograph platelet mapping and validation by conventional aggregometry using arachidonic acid stimulation [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2005, 46(9):1705-1709
- [14] 李晓利, 范利, 曹剑, 等. 不同实验方法调查 431 例老年患者阿司匹林抵抗患病率 [J]. *中南大学学报:医学版*, 2012, 37(4):338-342
- [15] 白艳艳, 王长谦, 周明成, 等. 冠心病患者介入治疗后氯吡格雷抵抗的发生率及相关因素 [J]. *心脏杂志*, 2008, 20(3):313-315
- [16] Gurbel PA, Bliden KP, Samara W, et al. Clopidogrel effect on platelet reactivity in patients with stent thrombosis: results of the CREST Study [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2005, 46(10):1827-1832
- [17] Gurbel PA, Bliden KP, Guyer K, et al. Platelet reactivity in patients and recurrent events post-stenting: results of the PREPARE POST-STENTING Study [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2005, 46(10):1820-1826
- [18] Bliden KP, DiChiara J, Tantry US, et al. Increased risk in patients with high platelet aggregation receiving chronic clopidogrel therapy undergoing percutaneous coronary intervention: is the current antiplatelet therapy adequate? [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2007, 49(6):657-666

[收稿日期] 2013-02-27