

氯吡格雷抵抗的实验室诊断及临床价值

陈 韬 朱 荔 赵仙先 李 攀 马丽萍

【摘要】 氯吡格雷与阿司匹林双联抗血小板治疗可显著减少接受经皮冠状动脉介入(PCI)治疗冠心病患者的心血管事件。然而,氯吡格雷的疗效存在显著的个体差异,氯吡格雷抵抗是引起冠心病 PCI 患者血栓事件的重要原因之一。当前,针对氯吡格雷抵抗患者的管理策略尚未达成共识。临床是否应针对氯吡格雷抵抗进行常规血小板功能检测,以指导抗血小板药物的应用尚存在广泛争议。该文汇总了近年氯吡格雷抵抗的相关研究结果,主要介绍氯吡格雷抵抗的实验室诊断及临床价值。

【关键词】 血小板功能检测;氯吡格雷抵抗;氯吡格雷

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2015.04.004

氯吡格雷联合阿司匹林双联抗血小板治疗(dual antiplatelet therapy, DAPT)是接受经皮冠状动脉介入(percutaneous coronary intervention, PCI)治疗的冠心病患者药物治疗的基石,DAPT能显著降低PCI术后心血管事件发生率。DAPT在临床上已得到广泛应用且疗效明确,但是越来越多的证据表明,不同患者对氯吡格雷的反应存在异质性^[1-2]。体外血小板功能检测(platelet function testing, PFT)能反映氯吡格雷治疗反应性,即低反应、无反应(统称为氯吡格雷抵抗)或高反应,研究表明上述差异可能与支架内血栓形成、出血风险增加以及心血管死亡等不良事件密切相关^[3-6]。目前氯吡格雷抵抗的个体化治疗存在争议,一些学者主张加大氯吡格雷剂量^[7-8],而另一些学者则推荐更换普拉格雷或替格瑞洛,或在DAPT基础上加用西洛他唑^[9]。临床实践中,如何选择合适的PFT方法,实验室检查是否能真实反映血小板的生物学功能以及与临床预后的相关性等是当前临床医师面临的主要问题和挑战。

1 氯吡格雷抵抗

近年的临床研究显示,患者对于氯吡格雷治疗反应性存在显著个体差异。部分患者使用氯吡格雷后,血小板未得到充分抑制,可导致支架内血栓

形成等严重心血管事件的发生。通常认为常规剂量的氯吡格雷治疗,不能有效防止血栓性事件的发生,血小板聚集率不能有效地被抑制,这种现象称为氯吡格雷抵抗,也称氯吡格雷无反应或低反应。从定义中可以看出,氯吡格雷抵抗有实验室指标抵抗和临床抵抗两层含义。临床更倾向于使用实验室指标抵抗的概念进行及时、早期诊断,以最大限度减少血栓性事件的发生。

实验室指标抵抗是指通过实验室检测患者服用氯吡格雷后血小板活化或聚集率来诊断的氯吡格雷抵抗,目前尚缺乏统一标准。Muller等^[10]研究显示,给予600mg负荷剂量氯吡格雷后4h内,对二磷酸腺苷(ADP)诱导的血小板聚集抑制率>30%为反应良好,10%~29%为低反应,<10%为无反应。临床采用较多的是Gurbel标准,即5 μ mol/L ADP诱导的血小板聚集率较基线状态下下降幅度<10%可定义为氯吡格雷抵抗^[11]。

2 氯吡格雷抵抗的实验室诊断方法以及存在的问题

2.1 血小板聚集功能的测定

体外实验中,采用ADP诱导的光学比浊血小板聚集试验(LTA)法评估氯吡格雷反应性被认为是金标准。LTA的缺点是实验的可重现性差,标本制备复杂且检测时间较长。目前常用的方法包括VerifyNow、血栓弹力图(thrombelastogram, TEG)、Multiplate、PlateletWorks和PFA-100等。其中VerifyNow是目前应用最多、最实用的床边检测方法之一,需血量少,操作简便、迅速、重复性好。

基金项目:“十二五重大新药创制”专项课题(2011ZX09302-002-02)

作者单位:200433 上海,第二军医大学附属长海医院心内科

通信作者:马丽萍,Email:mlp-125@163.com

目前的实验室检测方法会受到多种因素的影响,包括抗凝剂、诱导剂及血小板计数等^[12]。血小板聚集功能测定的当前问题是缺乏统一标准。目前临床试验采用不同的方法和临界值(cut-off)来定义氯吡格雷治疗抵抗,因而检测结果一致性存在争论。

2.2 血小板活化功能的测定

应用流式细胞仪检测血管扩张剂刺激磷蛋白(vasodilator-stimulated phosphoprotein, VASP)的磷酸化程度、激活依赖的血小板表面膜受体的改变如血小板膜糖蛋白(glycoprotein, GP) II b/III a 受体和 P 选择素的表达^[13]。其中, VASP 是 P2Y₁₂ 受体激活的特异性生物标志物,且比血小板聚集测定更为稳定。利用前列腺素 E₁(PGE₁)和同时加入 ADP 后诱导 VASP 的不同磷酸化水平可用于体外评估 P2Y₁₂ 受体拮抗剂的作用。

流式细胞技术检测血小板活化功能的优点是采用全血检测、所需样本量小,但是价格昂贵且技术要求高,因此难以作为床旁快速检测方法。血小板活化功能检测同样也缺乏统一的标准。

2.3 血小板检测的应用受限

(1)血小板功能检测的是体外血小板功能,不能完全反映体内血小板的聚集功能和血小板活化水平,由此判定的氯吡格雷抵抗值得讨论^[14]。(2)目前部分体外检测方法使用枸橼酸钠抗凝,其钙离子浓度远低于体内正常水平。由于钙离子在凝血过程中的重要作用,部分使用枸橼酸抗凝的血小板检测方法不能真实反映抗血小板药物在体内的作用。(3)血小板在体外极易被活化,因此采血后标本储存时间对检测结果也有影响,理想的标本储存时间难以确定。

3 诊断氯吡格雷抵抗的临床价值

3.1 氯吡格雷抵抗患者血栓事件增多

多项前瞻性、观察性研究纳入大样本量患者,均已证实血小板高反应性是 PCI 术后缺血事件的独立危险因素。Parodi 等^[15]发现,与非氯吡格雷抵抗组相比,氯吡格雷抵抗组的不良血栓事件明显增多(3.2%, 95% CI: 0.4%~6.7%, $P = 0.01$),且血小板高反应性是主要不良事件的独立危险因素。评估药物洗脱支架后双重抗血小板疗法的 ADAPT-DES 研究共纳入 8 500 例患者,结果表明,经 VerifyNow 检测 ADP-P2Y₁₂ 反应单位(PRU),提示为高剩余血小板活性,即 $PRU > 208$,与支架栓

塞形成、心肌梗死和死亡有显著关联性($HR = 2.49$, 95% CI: 1.43~4.31, $P < 0.001$)^[16]。一项入选 9 187 例患者的荟萃分析总结了有关氯吡格雷抵抗和心血管事件相关性的多项研究结果,结果显示,血小板高反应高度提示心肌梗死($OR = 3.00$, 95% CI: 2.26~3.99, $P < 0.0001$)、支架内血栓($OR = 4.14$, 95% CI: 2.74~6.25, $P < 0.0001$)和缺血事件($OR = 4.95$, 95% CI: 3.34~7.34, $P < 0.0001$);高血小板反应组的心血管事件发生率是对照组的 3.4 倍^[17]。

3.2 氯吡格雷高反应患者出血事件增多

Sibbing 等^[18]应用 Multiplate analyzer 对 2 533 例接受抗血小板治疗并行 PCI 的患者进行的回顾性分析表明,血小板功能过度抑制患者的出血风险是对照组的 3 倍。值得注意的是,ADAPT-DES 研究发现,在 $PRU < 208$ 的患者中,血小板反应性是 PCI 术后出血事件的独立预测因素($HR = 1.37$, 95% CI: 1.12~1.64, $P = 0.002$)。就目前的临床研究结果建议,急性冠脉综合征(ACS)患者的出血临界预测值为 VerifyNow $PRU < 95$, Multiplate 值 < 19 U, VASP 检测血小板反应指数(platelet reactivity index, PRI) $< 10\%$ ^[19]。

4 氯吡格雷抵抗对治疗策略选择的影响

临床针对氯吡格雷反应性不同的患者分别采取不同的治疗措施,需避免药物的相互影响,更换药物或联合用药以达个体化治疗的目的,进一步改善患者预后。

4.1 避免药物间相互影响

经肝脏细胞色素 P450A₄ 代谢的他汀类药物、二氢吡啶类钙通道阻滞剂、质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)、免疫抑制剂、大环内酯类抗菌药、三唑类抗真菌药均与氯吡格雷之间存在相互作用,可能导致氯吡格雷抵抗^[20]。PPI 联用氯吡格雷的治疗方法存在争议。通过测定 VASP 发现,支架置入术后患者接受 DAPT 同时服用奥美拉唑,其抗血小板效应明显下降,从而显著增加再梗死风险。另有研究证实,ACS 患者联用氯吡格雷与 PPI 可能增加心血管事件风险。

COGENT 研究表明,联合应用氯吡格雷与 PPI 并未显著增加临床事件,且在 ACS 患者中,预防性应用 PPI 可以降低其胃肠道事件风险^[21]。Juurink 等^[22]发现,联合应用不同 PPI 对于氯吡格雷获益的影响不尽相同:联合应用奥美拉唑可增加服用氯吡

格雷的 ACS 患者的再发心肌梗死风险,但是联用泮托拉唑与再发心肌梗死无关。若与 PPI 联合应用以保护胃肠黏膜,应尽量选用对 CYP2C19 影响较小的雷贝拉唑、泮托拉唑以及胃黏膜保护剂米索前列醇、硫糖铝^[23];同时应避免联合应用其他与氯吡格雷有相互作用的药物。

4.2 增加氯吡格雷剂量

研究表明,高剂量的氯吡格雷对 ADP 诱导的血小板聚集的抑制效应更为显著。CURRENT-OASIS 7 研究共纳入 25 087 例 ACS 患者,发现对于接受 PCI 治疗的 ACS 患者,氯吡格雷双倍剂量可使主要心血管事件发生率下降 15%,使支架内血栓形成发生率降低 42%;且仅导致轻微出血的增加,而 TIMI 大出血、致死性出血、颅内出血和冠状动脉旁路移植术(CABG)相关出血方面与标准剂量治疗组无显著差异。GRAVITAS 研究纳入 2 214 例通过 Verifynow 检测证实具有高剩余血小板反应性、接受 PCI 治疗的患者,术后随机分为氯吡格雷高剂量组(600 mg 负荷量,150 mg/d)和常规剂量组(75 mg/d)。结果显示,高剂量组血小板活性明显降低,但 6 个月随访结果显示,两组的主要心血管不良事件(心源性死亡、非致死性心肌梗死和支架内血栓)发生率相似^[24]。

4.3 普拉格雷

普拉格雷是新一代强效噻吩吡啶类抗血小板药,它无活性前体药物,经肝脏 CYP3A4 代谢成活性产物后,能不可逆地抑制 P2Y12 受体^[25]。与氯吡格雷相比,普拉格雷的活性代谢产物产生更快、浓度更高。Aradi 等^[26]纳入 219 例 Multiplate 检测血小板反应性>46 U 的 ACS 患者,随机分为普拉格雷组和大剂量氯吡格雷组,结果显示普拉格雷组全因死亡、心肌梗死、血栓事件和休克与无氯吡格雷抵抗组相仿(HR = 0.90, 95% CI: 0.44~1.81, $P=0.76$);而大剂量氯吡格雷组则显著增高(HR = 2.27, 95% CI: 1.45~3.55, $P<0.0001$)。提示与大剂量氯吡格雷相比,普拉格雷能更显著地改善不良事件。

4.4 替格瑞洛

替格瑞洛属于环戊三唑嘧啶类化合物,它能可逆性地作用于 P2Y12 受体,对 ADP 引起的血小板聚集有明显的抑制作用。PLATO 研究表明,替格瑞洛发生主要联合终点事件的患者明显少于氯吡格雷,但总的大出血率和严重出血率均无差异^[27]。

Gurbel 等^[28]纳入 41 例氯吡格雷无反应患者,改用替格瑞洛后,患者的血小板反应性明显降低,提示替格瑞洛能显著改善氯吡格雷抵抗。

4.5 三联抗血小板治疗

血小板糖蛋白(GP) II b/III a 受体拮抗剂可阻断纤维蛋白原与 GP II b/III a 受体结合,抑制血小板的聚集。CLEAR PLATELETS 研究发现,PCI 术中联用氯吡格雷和依替巴肽较氯吡格雷单药可获得更大程度的血小板抑制,同时心肌坏死及炎症标志物明显下降。CLEAR PLATELETS-2 研究发现,比伐卢定联合依非巴肽可使血小板聚集迅速、显著降低,但研究未对出血事件作出评价。2012 年中国 PCI 指南建议,在拟行 PCI 的心肌梗死患者中,对于存在冠状动脉内高血栓负荷影像证据的患者,可以在术中应用替罗非班。因此,对于血栓负荷重而存在氯吡格雷抵抗的患者,三联抗血小板治疗也可作为选择。

5 结语

氯吡格雷抵抗概念的提出具有重要临床意义:(1)尽管目前血小板功能检测方法均存在不同程度的缺陷,但是大量的临床研究已经证实其与心血管事件的相关性,可在一定程度上指导临床治疗;(2)在抗血小板治疗中,应综合考虑患者是否存在氯吡格雷抵抗的因素,以进行个体化治疗;(3)氯吡格雷减少缺血事件的同时也增加了出血风险,在高出血风险的患者中应用需权衡利弊。

血小板功能检测是抗血小板个体化治疗的基石。随着临床检验技术的发展,在不久的将来有望通过测定血小板功能指导抗血小板治疗。

参 考 文 献

- [1] Sofi F, Marcucci R, Gori AM, et al. Clopidogrel non-responsiveness and risk of cardiovascular morbidity. An updated meta-analysis[J]. *Thromb Haemost*, 2010, 103(4): 841-848.
- [2] 邢元, 李为民. 氯吡格雷抵抗中基因多态性研究进展[J]. *国际心血管病杂志*, 2014, 41(2): 91-94.
- [3] Kalantzi KI, Dimitriou AA, Goudevenos JA, et al. The platelet hyporesponsiveness to clopidogrel in acute coronary syndrome patients treated with 75 mg/day clopidogrel may be overcome within 1 month of treatment[J]. *Platelets*, 2012, 23(2): 121-131.
- [4] Siller-Matula JM, Delle-Karth G, Christ G, et al. Dual non-responsiveness to antiplatelet treatment is a stronger predictor of cardiac adverse events than isolated non-responsiveness to clopidogrel or aspirin[J]. *Int J Cardiol*,

- 2013,167(2):430-435.
- [5] Aradi D, Storey RF, Komocsi A, et al. Expert position paper on the role of platelet function testing in patients undergoing percutaneous coronary intervention [J]. *Eur Heart J*, 2014,35(4):209-215.
- [6] Tantry US, Bonello L, Aradi D, et al. Consensus and update on the definition of on-treatment platelet reactivity to adenosine diphosphate associated with ischemia and bleeding [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2013,62(24):2261-2273.
- [7] Mehta SR, Bassand JP, Chrolavicius S, et al. Dose comparisons of clopidogrel and aspirin in acute coronary syndromes[J]. *N Engl J Med Overseas Ed*, 2010,363(10):930-942.
- [8] Mehta SR, Tanguay JF, Eikelboom JW, et al. Double-dose versus standard-dose clopidogrel and high-dose versus low-dose aspirin in individuals undergoing percutaneous coronary intervention for acute coronary syndromes (CURRENT-OASIS 7): a randomised factorial trial[J]. *Lancet*, 2010,376(9748):1233-1243.
- [9] Jeong YH, Hwang JY, Kim IS, et al. Adding cilostazol to dual antiplatelet therapy achieves greater platelet inhibition than high maintenance dose clopidogrel in patients with acute myocardial infarction: Results of the adjunctive cilostazol versus high maintenance dose clopidogrel in patients with AMI (ACCEL-AMI) study [J]. *Circ Cardiovasc Interv*, 2010,3(1):17-26.
- [10] Muller I, Besta F, Schulz C, et al. Prevalence of clopidogrel non-responders among patients with stable angina pectoris scheduled for elective coronary stent placement[J]. *Thromb Haemost*, 2003,89(5):783-787.
- [11] 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.
- [12] Johnston LR, Larsen PD, La Flamme AC, et al. Methodological considerations for the assessment of ADP induced platelet aggregation using the Multiplate(R) analyser [J]. *Platelets*, 2013,24(4):303-307.
- [13] Jeong YH, Bliden KP, Tantry US, et al. High on-treatment platelet reactivity assessed by various platelet function tests; is the consensus-defined cut-off of VASP-P platelet reactivity index too low? [J]. *J Thromb Haemost*, 2012, 10 (3):487-489.
- [14] Sibbing D, Byrne RA, Kastrati A. Role of platelet function testing in clinical practice; current concepts and future perspectives [J]. *Curr Drug Targets*, 2011, 12 (12):1836-1847.
- [15] Parodi G, Marcucci R, Valenti R, et al. High residual platelet reactivity after clopidogrel loading and long-term cardiovascular events among patients with acute coronary syndromes undergoing PCI[J]. *JAMA*, 2011,306(11):1215-1223.
- [16] Stone GW, Witzenbichler B, Weisz G, et al. Platelet reactivity and clinical outcomes after coronary artery implantation of drug-eluting stents (ADAPT-DES): a prospective multicentre registry study[J]. *Lancet*, 2013,382(9892):614-623.
- [17] Aradi D, Komocsi A, Vorobcsuk A, et al. Prognostic significance of high on-clopidogrel platelet reactivity after percutaneous coronary intervention: systematic review and meta-analysis[J]. *Am Heart J*, 2010,160(3):543-551.
- [18] Sibbing D, Schulz S, Braun S, et al. Antiplatelet effects of clopidogrel and bleeding in patients undergoing coronary stent placement[J]. *J Thromb Haemost*, 2010,8(2):250-256.
- [19] Cuisset T, Grosdidier C, Loundou AD, et al. Clinical implications of very low on-treatment platelet reactivity in patients treated with thienopyridine: the POBA study (predictor of bleedings with antiplatelet drugs) [J]. *JACC Cardiovasc Interv*, 2013,6(8):854-863.
- [20] 王燕慧,张 灏. 他汀类药物与氯吡格雷相互作用争议的现状 [J]. *国际心血管病杂志*, 2011,38(2):104-107.
- [21] Bhatt DL, Cryer BL, Contant CF, et al. Clopidogrel with or without omeprazole in coronary artery disease[J]. *N Engl J Med*, 2010,363(20):1909-1917.
- [22] Juurlink DN, Gomes T, Ko DT, et al. A population-based study of the drug interaction between proton pump inhibitors and clopidogrel[J]. *CMAJ*, 2009,180(7):713-718.
- [23] 孙育民,王 骏. 质子泵抑制剂对氯吡格雷抗血小板疗效的影响 [J]. *国际心血管病杂志*, 2011,38(1):27-29.
- [24] Price MJ, Berger PB, Teirstein PS, et al. Standard- vs high-dose clopidogrel based on platelet function testing after percutaneous coronary intervention: the GRAVITAS randomized trial[J]. *JAMA*, 2011,305(11):1097-1105.
- [25] 杨雅薇,李 攀,陈 韬,等. CYP2C19 基因型检测对 PCI 术后氯吡格雷应用的指导作用 [J]. *国际心血管病杂志*, 2015,42(1):13-15.
- [26] Aradi D, Tornoyos A, Pinter T, et al. Optimizing P2Y12 receptor inhibition in patients with acute coronary syndrome on the basis of platelet function testing; impact of prasugrel and high-dose clopidogrel[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2014,63(11):1061-1070.
- [27] Cannon CP, Harrington RA, James S, et al. Comparison of ticagrelor with clopidogrel in patients with a planned invasive strategy for acute coronary syndromes (PLATO): a randomised double-blind study [J]. *Lancet*, 2010, 375(9711):283-293.
- [28] Gurbel PA, Bliden KP, Butler K, et al. Response to ticagrelor in clopidogrel nonresponders and responders and effect of switching therapies; the RESPOND study [J]. *Circulation*, 2010,121(10):1188-1199.

(收稿:2014-10-11 修回:2015-03-30)

(本文编辑:孙 雯)