

冠状动脉支架术患者停用氯吡格雷后血小板功能的变化*

杨帆, 谭保平, 何柳平, 王红[△], 吴昊

(广西医科大学第四附属医院/柳州市工人医院心内科, 广西柳州 545005)

摘要:目的 观察经皮冠状动脉介入治疗(PCI)术患者氯吡格雷停用后血小板聚集率及血小板 CD41⁺CD62P⁺ 表达的变化。方法 对 52 例已服用氯吡格雷 12 个月但即将停药的 PCI 患者, 比较氯吡格雷治疗前(T₀)、治疗后 1 周(T₁)、停药前 1 周(T₂)、停药后 1 周(T₃)及停药后 1 个月(T₄)血小板聚集率和血小板 CD41⁺CD62P⁺ 阳性率。结果 与 T₀ 比较, T₁ 血小板聚集率及 CD41⁺CD62P⁺ 表达均显著下降, 差异有统计学意义(P<0.05); T₂ 仍维持较低水平; T₃ 血小板聚集率及 CD41⁺CD62P⁺ 表达升高, T₄ 血小板聚集率及 CD41⁺CD62P⁺ 恢复至 T₀ 水平, T₀、T₁、T₂、T₃、T₄ 各时间点血小板聚集率分别为(44.20±18.36)%、(25.38±12.10)%、(23.74±8.15)%、(51.79±10.55)%、(45.97±16.42)%, 血小板 CD41⁺CD62P⁺ 阳性率分别为(12.96±11.48)%、(3.93±3.33)%、(4.72±3.14)%、(13.90±10.38)%、(10.84±8.13)%。结论 PCI 术后已服用氯吡格雷 12 个月者, 停用氯吡格雷后 1 周时血小板聚集率、血小板 CD41⁺CD62P⁺ 阳性率轻度增加, 在停药后 1 个月时逐渐恢复至停药前水平。

关键词:经皮冠状动脉介入治疗; 血小板聚集; CD41⁺CD62P⁺; 氯吡格雷

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.12.010

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)12-1436-03

Changes of platelet function after clopidogrel discontinuation in patients with percutaneous coronary interventions*

Yang Fan, Tan Baoping, He Liuping, Wang Hong[△], Wu Hao(Department of Cardiology, Fourth Affiliated Hospital of Guangxi Medical University/
Liuzhou Workers Hospital, Liuzhou, Guangxi 545005, China)

Abstract: Objective To investigate the changes of platelet aggregation rate and platelet surface CD41⁺CD62P⁺ expression after clopidogrel discontinuation in the patients with percutaneous coronary interventions(PCI). **Methods** The platelet aggregation rates and platelet surface CD41⁺CD62P⁺ in 52 PCI patients with oral clopidogrel for near 12 months and discontinuation soon were measured before clopidogrel therapy(T₀), in 1 week after clopidogrel therapy(T₁), 1 week before clopidogrel discontinuation(T₂), 1 week(T₃) and 1 month after clopidogrel discontinuation(T₄). **Results** Compared with T₀, the platelet aggregation rate and the expression of platelet CD41⁺CD62P⁺ at T₁ were significantly decreased, the difference showing statistical significance(P<0.05), which at T₂ maintained the lower levels; which at T₃ were increased, which at T₄ were recovered to those at T₀. The platelet aggregation rates at various time points were(44.20±18.36)%、(25.38±12.10)%、(23.74±8.15)%、(51.79±10.55)% and(45.97±16.42)% respectively, and the positive rates of CD41⁺CD62P⁺ were(12.96±11.48)%、(3.93±3.33)%、(4.72±3.14)%、(13.90±10.38)% and(10.84±8.13)% respectively. **Conclusion** In the patients treated with 12-month clopidogrel after PCI, the platelet aggregation rate and the CD41⁺CD62P⁺ positive rate are mildly increased at 1 week after clopidogrel discontinuation and gradually returned to the level before discontinuation at 1 month after clopidogrel discontinuation.

Key words: percutaneous coronary intervention; platelet aggregation; CD41⁺CD62P⁺; clopidogrel

氯吡格雷联合阿司匹林是冠状动脉支架术后抗血小板聚集的标准治疗方案,可以减少术后患者主要心血管不良事件。近来研究表明,长期氯吡格雷治疗停用后可能诱发血小板活性的增加,从而增加血栓形成的风险^[1-4],并与不良临床事件相关^[5-6],血小板聚集率的增加是其中的可能机制之一。本研究拟采用比浊法与 FITC-CD41/PE-CD62P 双色流式细胞技术,检测拟计划停用氯吡格雷的患者血小板聚集率及血小板 CD41⁺CD62P⁺ 表达的变化,为探讨氯吡格雷停药后是否增加血小板活性,并为寻找治疗对策提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2011 年 9 月至 2012 年 1 月在本医院经冠状动脉造影检查确诊并行经皮冠状动脉介入治疗(percutaneous coronary intervention, PCI)术,按规定已完成 12 个月氯吡

格雷治疗,计划停用氯吡格雷的患者 52 例,男 37 例,女 15 例;年龄(65.80±11.40)岁。均能完成全部规定时间点血小板功能检测。排除合并有其他严重疾病或恶性肿瘤疾病者、同时应用华法林或肝素抗凝及非甾体类抗炎药物者、血小板计数小于 100×10⁹/L 者。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法 所有患者在 PCI 前至少 6 h 服用负荷剂量氯吡格雷 300 mg,给予 75 mg/d 及阿司匹林 100 mg/d,术后均给予规范冠心病二级预防治疗,包括 β 受体阻滞药、血管紧张素转化酶抑制剂(ACEI)及他汀类调脂药物等治疗,合并高血压和糖尿病者积极给予降压和降糖治疗。

1.2.2 采血时间及方法 研究对象于氯吡格雷治疗前(T₀)、治疗后 1 周(T₁)、停药前 1 周(T₂)、停药后 1 周(T₃)及停药后

表 1 各时点血小板聚集率及血小板 CD62P 的变化比较($\bar{x}\pm s, \%$)

指标	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄
血小板聚集率	44.20±18.36 ^a	25.38±12.10 ^b	23.74±8.15 ^b	51.79±10.55 ^c	45.97±16.42
血小板 CD62P	12.96±11.48 ^d	3.93±3.33 ^e	4.72±3.14 ^b	13.90±10.38 ^c	10.84±8.13

^a: $P<0.05$,与 T₁、T₂、T₃ 比较;^b: $P<0.05$,与 T₃、T₄ 比较比较;^c: $P<0.05$,与 T₄ 比较;^d: $P<0.05$,与 T₁、T₂ 比较;^e: $P<0.05$,与 T₂、T₃、T₄ 比较。

1 个月(T₄),清晨 8 点抽取肘静脉血,抽血时不扎止血带,采血后 30 min 立即送检。

1.2.3 血小板聚集率的测定 用比浊法,以二磷酸腺苷(ADP)10 $\mu\text{mol/L}$ 作为诱导剂检测血小板聚集率。

1.2.4 血小板 CD41⁺CD62P⁺ 表达 采用异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)标记的 CD41 单克隆抗体(FITC-CD41)和藻红蛋白(phycoerythrin, PE)标记 P 选择素单克隆抗体(PE-CD62P),以 FITC-IgG1 作阴性对照,所用试剂均购自美国 Biolegend 公司。标本在避光、室温下孵育 20 min。经 2% 多聚甲醛(北京索来宝公司)固定后,Beckman 公司 EP-ICS-XL 四色荧光流式细胞仪进行检测。用 System II-analysiss 软件获取结果,参照 Geiger 等^[7]的方法,在 CD62P 和侧向散射角(side scatter, SSC)双参数散点图中设门找血小板群。以 FITC-CD41 和 PE-CD62P 作双参数散点图分析,以共表达 CD41 和 CD62P(即 CD41⁺CD62P⁺)作为血小板 CD62P 阳性表达率。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,治疗前、后不同时点血小板聚集率、CD62P 的差异采用配对 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 血小板聚集率的变化 与 T₀ 比较, T₁ 血小板聚集率较 T₀ 明显下降,差异有统计学意义($P=0.000$); T₂ 仍维持较低水平,与 T₀ 比较差异有统计学意义($P<0.05$),与 T₁ 比较差异无统计学意义($P=0.082$);但 T₃ 血小板聚集率明显升高,与 T₀、T₁、T₂ 比较差异均有统计学意义($P<0.05$); T₄ 血小板聚集率较 T₃ 下降,差异有统计学意义($P=0.000$),但与 T₀ 比较差异无统计学意义($P=0.545$)。见表 1、图 1。

2.2 血小板 CD62P 表达的变化 与 T₀ 比较, T₁ 血小板 CD62P 明显下降,差异有统计学意义($P=0.000$); T₂ 仍维持较低水平, T₃ 血小板 CD62P 表达增加,与 T₁、T₂ 比较差异有统计学意义($P=0.000$),但与 T₀ 比较差异无统计学意义($P=0.235$); T₄ 血小板 CD62P 表达与 T₀ 比较差异无统计学意义($P=0.179$),各时间点血小板 CD62P 表达,见表 1、图 1。

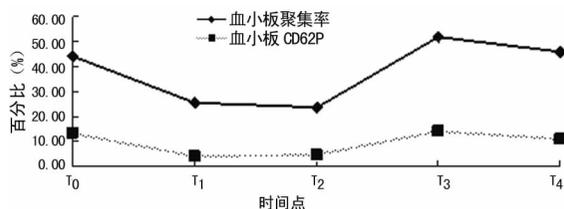


图 1 不同时点血小板聚集率及血小板 CD62P 的表达

3 讨 论

血栓形成是药物洗脱支架的一个重要问题,回顾性分析发现,血栓事件均发生在突然停用氯吡格雷时,而血小板聚集率的增加是其中的可能机制之一。血小板聚集率是反应血小板活性的重要指标,CD62P 存在于内皮细胞的 Weibel-Palade 小

体和血小板的颗粒中,当血小板被活化时表达明显升高,是血小板活化的重要标志,其水平的高低可以作为血栓疾病病情检测的有效指标^[8-9]。CD41 是血小板质膜表面变化的 GP II b/III a 糖蛋白表位,是血小板活化早期的标志物。本研究采用血小板聚集率及血小板 CD41⁺CD62P⁺ 双阳性表达的 CD62P 作为观察指标,动态检测氯吡格雷停药前后血小板聚集率及血小板 CD62P 的变化。结果显示,氯吡格雷服用 1 周后,血小板聚集率及 CD62P 表达较服药前显著下降,停药前 1 周仍维持较低水平。停药 1 周后血小板聚集率及 CD62P 表达升高,与服药前、服药后 1 周及停药前 1 周比较差异有统计学意义($P<0.05$),停用后 1 个月血小板聚集率及 CD62P 恢复至服药前水平,表明停用氯吡格雷导致血小板活性恢复至治疗前水平,但并不导致血小板活性反跳。

有研究显示,长期服用氯吡格雷者停药后缺血性事件增加,反跳性血小板高反应被认为是危险增加的原因,但尚未被确切证实,且有关停用氯吡格雷之后血小板的功能变化方面的研究结果并不一致。The Platelet Activity After Clopidogrel Termination 研究是一项前瞻性、随机、双盲、安慰剂交叉研究,15 例健康志愿者接受双重抗血小板治疗 14 d 后,应用全血流式细胞术及透光率集合度测定(light transmission aggregometry, LTA)检查血小板的活性^[10-11],直到停用 45 d,研究者并没有血小板活性的反跳。Diehl 等^[12]研究显示,服用 12 个月氯吡格雷者突然停药将导致停药后的 6 周内血小板聚集率增加。Yedidya 等^[13]观察了逐渐停用氯吡格雷方案对血小板活性的影响,20 例接受金属裸支架的冠心病患者在 3 个月的氯吡格雷疗程结束后,随机分为 2 组,突然停药组或减量后停药(隔日 1 次 75 mg 口服)组,在停药/减量 4 周时间内应用光学比浊法诱导测定基础值、停药/减量后 2、4、6 周测定 ADP 和胶原诱导的血小板聚集率。结果显示,在突然停药组,停药后 2 周可观察到血小板活性的轻度增高,而减量后停药组可抑制停药所导致的小血小板活性反跳。提示在接受裸支架治疗的冠心病患者,逐渐停用氯吡格雷将减轻突然停药后导致的小血小板聚集率的早期升高,且隔日 75 mg 氯吡格雷治疗可达到每日服用 75 mg 氯吡格雷的抗血小板效果。在另一项随机对照安慰剂研究中^[14],171 例冠心病或外周血管疾病的患者随机接受阿司匹林联合安慰剂或阿司匹林联合硫酸氢氯吡格雷片治疗,在治疗前及停药前,停药后 7、14、28 d 检测血小板活性。结果显示,硫酸氢氯吡格雷片治疗后 CD62P 的表达,及血小板聚集率均降低,但在停药后 1 周降至基础值。与本研究结果相似。产生这些研究结果差异的原因,可能与应用的血小板检测方法、试剂及氯吡格雷检测的时点不同等有关。

目前氯吡格雷停用后出现一系列临床不良事件的病理、生理机制均属推测,可能与氯吡格雷对 ADP 诱导的血小板聚集作用的丧失,导致血小板功能激活而出现促凝状态有关。此外,炎症介质的增加可导致促炎状态,并增加局部血管炎症从而促进血栓形成。尽管血小板对 ADP 的敏感性变化可以部分

解释冠心病患者停药氯吡格雷后出现缺血性事件,但血小板功能恢复的病理、生理过程需要更进一步的研究来证实。

参考文献:

- [1] Ho PM, Peterson ED, Wang L, et al. Incidence of death and acute myocardial infarction associated with stopping clopidogrel after acute coronary syndrome [J]. *JAMA*, 2008, 299(5):532-539.
- [2] Ho PM, Tsai TT, Wang TY, et al. Adverse Events After Stopping Clopidogrel in Post-Acute Coronary Syndrome Patients: Insights From a Large Integrated Healthcare Delivery System [J]. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*, 2010, 3(3):303-308.
- [3] Cundiff DK. Benefit of clopidogrel for acute coronary syndrome and percutaneous coronary interventions in doubt due to rebound adverse events [J]. *Am J Cardiol*, 2008, 102(2):248.
- [4] Lordkipanidze M, Diodati JG, Pharand C. Possibility of a rebound phenomenon following antiplatelet therapy withdrawal; a look at the clinical and pharmacological evidence [J]. *Pharmacol Ther*, 2009, 123(2):178-186.
- [5] Collet JP, Montalescot G, Steg PG, et al. Clinical outcomes according to permanent discontinuation of clopidogrel or placebo in the CHARISMA trial [J]. *Arch Cardiovasc Dis*, 2009, 102(6/7):485-496.
- [6] Kimura T, Morimoto T, Nakagawa Y, et al. Antiplatelet therapy and stent thrombosis after sirolimus-eluting stent implantation [J]. *Circulation*, 2009, 119(7):987-995.
- [7] Geiger J, Teichmann L, Grossmann R, et al. Monitoring of clopidogrel action: comparison of methods [J]. *Clin Chem*,

2005, 51(6):957-965.

- [8] Antonopoulos CN, Sfyroeras GS, Kakisis JD, et al. The role of soluble P selectin in the diagnosis of venous thromboembolism [J]. *Thromb Res*, 2013, 133(1):17-24.
- [9] Scialla JJ, Plantinga LC, Kao WH, et al. Soluble P-selectin levels are associated with cardiovascular mortality and sudden cardiac death in male dialysis patients [J]. *Am J Nephrol*, 2011, 33(3):224-230.
- [10] Frelinger AL 3rd, Barnard MR, Fox ML, et al. The platelet activity after clopidogrel termination (PACT) study [J]. *Circ Cardiovasc Interv*, 2010, 3(5):442-449.
- [11] Sibbing D, Stegherr J, Braun S, et al. A double-blind, randomized study on prevention and existence of a rebound phenomenon of platelets after cessation of clopidogrel treatment [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2010, 55(6):558-565.
- [12] Diehl P, Halscheid C, Olivier C, et al. Discontinuation of long term clopidogrel therapy induces platelet rebound hyperaggregability between 2 and 6 weeks post cessation [J]. *Clin Res Cardiol*, 2011, 100(9):765-771.
- [13] Yedidya I, Netzer A, Vaduganathan M, et al. Clopidogrel tapering as a strategy to attenuate platelet rebound phenomenon in patients with bare-metal stents [J]. *J Thromb Thrombolysis*, 2012, 33(1):16-21.
- [14] Ford I, Scott NW, Herd V, et al. A randomised controlled trial of platelet activity before and after cessation of clopidogrel therapy in patients with stable cardiovascular disease [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2014, 63(3):233-239.

(收稿日期:2013-09-18 修回日期:2013-12-22)

(上接第 1435 页)

参考文献:

- [1] 任兆瑞, 黄淑幀. 珠蛋白生成障碍性贫血的基因诊断 [J]. *诊断学理论与实践*, 2010, 9(5):405-408.
- [2] 刘贵建, 孙士鹏. 地中海贫血的实验诊断: 项目和方法的选择及临床应用评价 [J]. *中华检验医学杂志*, 2012, 35(5):385-389.
- [3] 蔡稔, 梁昕, 潘丽珍, 等. 血液学指标在育龄人群地贫筛查中的诊断价值 [J]. *中国优生与遗传杂志*, 2003, 11(1):129-132.
- [4] 伍曼仪, 黄绍良. 现代小儿血液病学 [M]. 福州: 福建科学技术出版社, 2003:244-250.
- [5] 林业辉, 范联, 张章, 等. 471 例儿童 α 地中海贫血缺失型基因谱分析 [J]. *中国当代儿科杂志*, 2012, 14(4):264-266.
- [6] Dasanu CA. Alpha-thalassemia genetic testing: an important anemia diagnostic tool in patients of African heritage [J]. *Conn Med*, 2010, 74(10):585-587.
- [7] 王辉林, 郭华, 熊礼宽. α 地中海贫血研究进展 [J]. *中国热带医学*, 2011, 11(9):1158-1160.

- [8] 李贵芳, 胡玫, 许吟, 等. 贵州地区 α 地中海贫血基因诊断 [J]. *中国妇幼保健*, 2011, 26(11):1667-1669.
- [9] 陈晨春, 仇小强. α -地中海贫血流行状况 [J]. *中国妇幼保健*, 2009, 24(6):858-860.
- [10] Thomas L. 临床实验诊断学 [M]. 吕元, 朱汉民, 沈霞, 译. 上海: 上海科学技术出版社, 2004:462-468.
- [11] Chui DH. Alpha-thalassemia: Hb H disease and Hb Barts hdrops fetalalis [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2005(1054):25-32.
- [12] Xu, XM, Zhou YQ, Luo GX, et al. The prevalence and spectrum of alpha and beta thalassaemia in Guangdong Province: implications for the future health burden and population screening [J]. *J Clin Pathol*, 2004, 57(5):517-519.
- [13] Pan HF, Long GF, Li Q, et al. Current status of thalassemia in minority populations in Guangxi [J]. *China Clin Genet*, 2007, 71(5):419-421.
- [14] 王莉, 徐西华. 重庆地区 α 地中海贫血基因型研究 [J]. *重庆医科大学学报*, 2009, 34(8):1051-1053.
- [15] 沈晓明, 王卫平. 儿科学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008:196-199.

(收稿日期:2013-10-08 修回日期:2013-12-10)