

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.15.012

氯吡格雷对急性冠脉综合征患者血小板聚集功能影响的实验室观察^{*}但刚¹,刘媛¹,江忠勇¹,胡莉娜¹,金静²,吴丽娟^{1△}(1. 成都军区总医院临床实验医学研究与保障中心检验科/高湿医学全军重点实验室,成都 610083;
2. 四川省人民医院干部治疗科,成都 610072)

[摘要] 目的 研究 138 例急性冠脉综合征患者服用氯吡格雷对血小板聚集功能的影响。方法 利用血小板聚集测试仪、流式细胞仪测定服用氯吡格雷前和服用 7 d 后患者二磷酸腺苷(ADP)诱导的血小板聚集率、P 选择素、活化 GP II b/III a 的变化。结果 连续服用氯吡格雷 7 d 后,血小板聚集率明显减少($P<0.01$);血小板表面表达的 P 选择素、活化 GP II b/III a 明显减少($P<0.01$)。结论 急性冠脉综合征患者在服用氯吡格雷治疗后能显著降低血小板聚集,起到抵抗血小板聚集的效果。

[关键词] 冠状动脉疾病;血小板聚集;P 选择素**[中图分类号]** R541.4**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2015)15-2051-02Laboratory observation on influence of clopidogrel on platelet aggregation function in patients with acute coronary syndrome^{*}Dan Gang¹, Liu Yuan¹, Jiang Zhongyong¹, Hu Lina¹, Jing Jing², Wu Lijuan^{1△}

(1. Division of Hematology Center of Laboratory Medicine, Chengdu Military General Hospital/Key Laboratory of High Humidity Medicine, PLA, Chengdu 610083, China; 2. Department of Geriatrics, Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610072, China)

[Abstract] **Objective** To study the effects of taking clopidogrel on relevant indicators of platelet aggregation function in 138 cases acute coronary syndrome(ACS). **Methods** The platelet function analyzer and flow cytometry were adopted to detect the ADP-induced platelet aggregation rate, P selectin and activated GP II b/III before medication and on 7 d after taking clopidogrel. **Results** The platelet aggregation rate after taking clopidogrel for 7 continuous d was decreased significantly ($P<0.01$); the P selectin level and activated GP II b/III a expressed on platelet surface were significantly reduced ($P<0.01$) as well. **Conclusion** Taking clopidogrel could reduce the platelet aggregation significantly in the patients with ACS and has the effect for inhibiting the platelet aggregation.

[Key words] coronary artery disease; platelet aggregation; p-selectin

氯吡格雷为新一代血小板高聚集抑制剂,能选择性地抑制二磷酸腺苷(ADP)与血小板受体的结合,随后抑制激活 ADP 与糖蛋白 GP II b/III a 复合物,从而抑制血小板的聚集,也可抑制非 ADP 引起的血小板聚集,不影响磷酸二酯酶的活性。在临床上能降低急性冠脉综合征(acute coronary syndrome, ACS)的发病率和病死率,在降低经皮冠状动脉介入治疗术后支架内微血栓形成发生率上起到确切的作用^[1]。本研究旨在观察采用标准剂量的氯吡格雷对患者进行治疗后,利用血小板聚集功能测试仪、流式细胞仪检测血小板聚集功能及 P 选择素、活化 GP II b/III a 的变化,研究该药物对血小板聚集功能及活化状态的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2013 年 1~12 月本院心内科住院患者,择期行经皮冠状动脉介入术(percutaneous transluminal coronary intervention, PCI)或接受药物治疗的 ACS 患者 138 例。所有患者均符合世界卫生组织(WHO)关于 ACS 的诊断标准,其中男 76 例,女 62 例,年龄 33~73 岁,平均(58.7±5.2)岁。排除条件:(1)前 10 d 内服用过氯吡格雷;(2)正在服用非甾体类抗炎药;(3)血小板计数小于 $100 \times 10^9/\text{mL}$;(4)肿瘤或血液系统疾病;(5)PCI 围术期给予血小板膜糖蛋白 GP II b/III a 受体阻滞剂治疗者。

1.2 方法 确定治疗的药物为口服氯吡格雷,由赛诺菲-圣德拉堡公司生产,每片 75 mg。患者每日在早餐前服用 1 片,患

者连续服用 7 d 后,在第 8 天清晨抽取患者卧位外周静脉血,与服药前 7 d 的数据进行对比分析。

1.3 检测指标

1.3.1 血小板聚集功能检测 采用美国 Helena Laboratories 公司生产的血小板聚集仪(AggRAM)进行检测,诱导剂为 ADP,ADP 最终诱导浓度 $5 \mu\text{mol/L}$,配套磁珠及反应试管。

1.3.2 流式细胞仪检测血小板活化指标 P 选择素、活化 GP II b/III a 选用美国 Beckman Coulter 公司生产的 Epics XL 流式细胞仪。试剂为单克隆抗体;CD62P PE 为藻红蛋白标记的抗 P-选择素的 McAb, PAC-1FIT C 为异硫氰酸荧光素标记的抗 GP II b/III a(即纤维蛋白原受体, Fib-R) McAb(均购自美国 BD 公司)。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 进行统计分析。以 $\bar{x} \pm s$ 来表示呈正态分布的计量资料,采用 t 检验;用中位数 MD 来表示呈非正态分布的计量资料(第 1 四分位数 QL 为 P25,第 3 四分位数 QU 为 P75),采用秩和检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

当患者服用药物后,血常规各项指标与服药前相比差异无统计学意义,这些指标包括红细胞、血小板计数、血红蛋白浓度等;患者治疗后,血小板聚集率(以 ADP 为诱导剂,诱导剂测定浓度 $5 \mu\text{mol/L}$)较治疗前显著降低,差异有统计学意义($P<0.01$);血小板膜 P 选择素与治疗前比较明显下降,差异有统计

学意义($P < 0.01$); GP II b/III a 表达率与治疗前比较明显下降, 差异有统计学意义($P < 0.01$), 见表 1。

表 1 服用氯吡格雷前后患者血小板聚集率, P 选择素和 GP II b/III a 表达变化($\bar{x} \pm s, \%$)

项目	治疗前($n=138$)	治疗后($n=138$)
血小板聚集率	74.6 \pm 6.6	32.7 \pm 10.7
P 选择素	61.7 \pm 11.6	30.2 \pm 7.9
GP II b/III a	82.4 \pm 10.2	45.2 \pm 8.3

3 讨 论

血小板活化、黏附及聚集在急性缺血性脑血管病的发生、发展中起着关键作用。抗血小板治疗是通过药物阻止血小板黏附、聚集和释放而起到预防血栓形成、减少缺血性卒中事件的发生^[2]。氯吡格雷能够抑制血小板 ADP 的生成, 同时它在发挥抑制作用时具有一定的自主选择性, 从而改变 GP II b/III a 受体的构象, 导致 GP II b/III a 受体不能有效地与纤维蛋白原结合起来, 这就是氯吡格雷抑制血小板聚集的基本原理, 这种抑制过程是不可逆的^[3]。目前来说, 无论是行 PCI 治疗的患者, 还是 ACS 患者, 氯吡格雷都能发挥有效作用, 从而导致了氯吡格雷被广泛应用。但是, 也有研究发现, 随着患者个体的不同, 抑制作用也存在一定的差异。所以, 后续的工作方向应该是找到一种鉴别方法, 能够快速准确地鉴别出患者对于氯吡格雷治疗的敏感性, 从而最大程度地减少发生血栓疾病的概率。

血小板聚集功能是血小板的重要生理特性, 是指血小板与血小板之间的黏附, 血小板参与止血和血栓形成过程的重要表现是活化的血小板相互作用聚集成团^[4]。血小板活化、聚集、血栓形成和斑块不稳定、斑块破裂及其附壁血栓的动态变化是 ACS 急性缺血性发作的病理基础^[5]。当血小板活化之后, 就会导致血小板膜糖蛋白 II b/III a 复合物产生变化, 于是就有利于 GP II b/III a 与纤维蛋白原之间更好地结合^[6]。所以说, 通过检测 GP II b/III a 的表达量, 可以更加精准、更加及时地发现血小板是否活化。另外一方面, 一旦血小板活化, 就会导致血小板中的质膜和 α 颗粒膜相互融合, 进一步就导致了 P 选择素在血小板质膜表面充分暴露出来, 这也是血小板活化的重要表现^[7-8]。在正常情况下, P 选择素表达水平较低, 甚至会不表达。P 选择素在多个病理生理过程中都发挥着重要的作用, 比如说血栓形成过程、动脉粥样硬化过程等^[9]。有研究表明, 在血栓前状态存在血小板活化, P 选择素可增高。P 选择素水平增高, 不仅反映血小板活化、内皮功能受损, 而且也反映了活动性炎症反应, 同时也是斑块不稳定的标志物^[10-11]。

患者连续服用氯吡格雷 1 周后, 不但 GP II b/III a 表达显著降低, 同时 P 选择素表达也显著降低, 与未服药时的状况相比, 差异有统计学意义。Dropinski 等^[12] 选择了 76 例冠心病患者为研究对象, 这些患者还有一个共同的特征就是正在服用阿司匹林, 治疗方法是让这些患者再加服氯吡格雷, 研究结果发现: 经过治疗后的患者, 作为血小板活化标志物的 ADP 诱导, 其表达明显降低; 用 ADP 分别激活阿司匹林敏感组和抵抗组后, 对其 P 选择素的表达率进行对比分析后可以看到, 前者显著低于后者。

Sbrana 等^[13] 通过研究发现, P 选择素和 GP II b/III a 是影响血小板聚集率的两个主要因素, 其中 P 选择素影响力更大。进一步研究后发现, 血小板聚集率和 P 选择素之间呈现的是

一种线性关系, 而血小板聚集率和 GP II b/III a 之间呈现的则是指数关系。本文的实验结果也恰好证明了这一点, 当患者服用氯吡格雷后, 很明显降低了血小板聚集率。氯吡格雷较强的抗血小板聚集的作用已被公认, 本研究中检测出在服用氯吡格雷后患者的血小板功能受到抑制。然而, 还有部分患者对于某些检测指标的反应较小, 甚至没有反应。目前来说, 当患者服药后血小板聚集率的下降幅度还未达到基础值的 1/10 时, 或 P 选择素阳性率在用药后降低不超过 10%, 这种情况即被称为氯吡格雷抵抗^[14]。在本实验中, 没有发现有氯吡格雷抵抗的病例。

本研究观察到氯吡格雷能有效降低血小板聚集功能, 抑制血小板聚集; 同时通过流式细胞仪技术测定反映血小板活化的分子标志物 P 选择素和血小板 GP II b/III a, 也反映氯吡格雷能抑制血小板聚集。在临床治疗中, 连续动态地对患者进行血小板聚集功能和血小板活化相关的分子标志物进行检测对治疗效果具有积极的提示作用。

参考文献

- [1] 敖强国, 张丽萍, 李健, 等. 氯吡格雷对高龄冠心病患者血小板功能的影响[J]. 中华保健医学杂志, 2008, 10(1): 21-23.
- [2] 韩雅玲, 王守力, 李毅, 等. 急性冠状动脉综合征患者冠状动脉支架术前高负荷氯吡格雷预治疗近期疗效[J]. 中国介入心脏病学杂志, 2005, 13(1): 9-12.
- [3] 张建维, 贾三庆, 曹树, 等. 不同负荷量的氯吡格雷对急性冠脉综合征患者血小板聚集功能及氯吡格雷抵抗发生率的影响[J]. 实用医学杂志, 2007, 23(21): 3359-3360.
- [4] 彭俊, 洪浪. 不同维持剂量氯吡格雷对急性冠脉综合征介入治疗术后血小板功能的影响[J]. 实用临床医学, 2009, 10(3): 10-13.
- [5] 何娟, 闫荣, 戴克胜. 血小板活化的分子标志物的探讨及在疾病中意义[J]. 血栓与止血学, 2014, 20(4): 207-210.
- [6] 崔同涛, 于汇民, 董太明. 二磷酸腺苷诱导血小板聚集率与急性冠状动脉综合征患者支架置入预后的关系[J]. 中国介入心脏病学杂志, 2012, 20(6): 301-306.
- [7] Ellis WC, Cassidy LK, Finney AS, et al. Thrombelastograph(TEG) analysis of platelet gel formed with different thrombin concentrations [J]. J Extra Corpor Technol, 2005, 37(1): 52-57.
- [8] Guthikonda S, Lev EI, Kleiman NS. Resistance to antiplatelet therapy[J]. Curr Cardiol Rep, 2005, 7(3): 242-248.
- [9] Angiolillo DJ, Shoemaker SB, Desai B, et al. Randomized comparison of a high clopidogrel maintenance dose in patients with diabetes mellitus and coronary artery disease: results of the Optimizing Antiplatelet Therapy in Diabetes Mellitus (OPTIMUS) study [J]. Circulation, 2007, 115(6): 708-716.
- [10] Alstrom U, Tyden H, Oldgren J, et al. The platelet inhibiting effect of a clopidogrel bolus dose in patients on long-term acetylsalicylic acid treatment [J]. Thromb Res, 2007, 120(3): 353-359.
- [11] Craft RM, Chavez JJ, Bresee SJ, et al. A novel modification of the Thrombelastograph assay, (下转第 2054 页)

常范围内,观察组 Apgar 评分小于 4 分有 2 例,4~7 分 7 例,8~10 分 4 例,没有评分 10 分者。观察组胎儿窒息发生率明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.3 妊娠合并因素 回顾分析所有入选孕妇的合并因素,不难发现,在脐动脉舒张期血流消失组,妊娠期高血压发生率明显高于对照组,其次还有胎盘老化、妊娠期肝内胆淤积症(ICP)、羊水过少、脐带绕颈等情况(表 1)。本文中 40 例胎儿产前超声检查均未见明显的结构异常。

表 1 妊娠合并因素分析(n)

组别	妊娠期高血压	ICP	羊水过少	脐带绕颈	胎盘老化
对照组	0	0	0	16	0
观察组	8	2	1	9	2

3 讨论

多普勒超声检查是评价胎儿宫内生长发育情况的重要手段之一^[2]。脐动脉血流监测是基于多普勒效应,利用现代数字信号处理技术和计算机成像技术,形成脐带血流的彩色声像图,并通过频谱多普勒计算出 S/D 值^[3]。脐动脉血流分析目前广泛应用于了解胎盘功能及监测胎儿预后^[4-5]。

脐动脉血流受胎盘功能影响,且脐带本身的异常也会导致脐血流异常,脐带异常包括过长、过短、绕颈等情况^[6]。胎儿胎盘血流障碍表现为脐动脉血流异常,有研究发现,妊娠高血压综合征患者胎盘三级绒毛下的小动脉减少,血管结构的改变导致单位时间注入绒毛间隙的血量减少,故而出现脐动脉血流异常^[7]。

正常妊娠时 S/D 值随孕周增加而逐渐下降,当胎盘血管阻力增大时,脐动脉血流阻力增大,彩色多普勒超声表现为 S/D 比值升高^[8]。有报道指出当 S/D>3.0 时,围生儿预后不良的发生率明显增加^[9-10],剖宫产率、新生儿低体质量发生率以及 Apgar<7 的发生率都较 S/D 值正常者显著增加^[11-14]。也有研究发现,胎儿宫内生长受限时脐动脉血流 S/D 值显著高于正常胎儿^[14]。

当血管阻力进一步增大,S/D 值进一步增高,严重时出现脐动脉舒张期血流消失甚至倒置。脐动脉舒张期血流消失是脐动脉血流异常中最严重的情况之一。彩色多普勒能够观察到脐动脉血流闪烁,血流信号于舒张期消失,收缩期再次出现,频谱多普勒则能够更直观地观察到这一现象。早孕期脐动脉舒张期血流消失可以是正常的,意义不大,但是在孕中、晚期,脐动脉舒张期血流消失就是不良妊娠结局的一个标志,越早出现就提示妊娠结局越差。反复出现的脐动脉舒张期血流消失提示更为严重的胎盘血管阻力增加,胎儿宫内缺氧严重,中晚孕长期慢性缺氧,导致胎儿生长发育受限,各项生长发育指标均小于其实际孕周,且出生时 Apgar 评分差,围生儿预后较差。

有研究发现,通过脐动脉的多普勒超声监测来了解胎盘血流灌注情况和胎儿宫内缺氧状况,可以有效降低围生期的发病率和病死率。当出现脐动脉血流消失时,严密的产前监护至关重要。胎盘血管灌注阻力增加以及脐动脉舒张期血流消失的病理生理变化有待进一步研究。

参考文献

- [1] 王彦,王涛,陈红. 脐动脉血流检测在胎儿生长受限预后中的应用[J]. 中国计划生育和妇产科,2013,5(4):43-46.
- [2] 乐杰. 妇产科学[M]. 北京:人民卫生出版社,2010:99-100.
- [3] 唐苏红. 胎儿超声多普勒脐带血流仪检测原理与使用维护[J]. 中国医疗器械信息,2012(12):69-70.
- [4] 李珍,范亚勤. 204 例脐血流 S/D 异常的临床分析[J]. 浙江临床医学,2012,14(4):425-426.
- [5] 张欣,赵金荣,李金凤. 胎儿脐血流监测在产科中的应用[J]. 临床合理用药,2012,5(4A):43.
- [6] 李笑天,庄依亮,张钰华,等. 高危妊娠儿血流速度波形与不同程度胎儿窘迫的关系[J]. 中国实用妇科与产科杂志,2007,13(4):219.
- [7] 黄丽萍,史铁梅,郭淑香,等. 妊高征患者胎盘床的血流动力学改变[J]. 中国超声医学杂志,2003,19(4):300-302.
- [8] 褚红女. 足月妊娠脐动脉血流 S/D 值介于 2.5~3.0 间的围产儿结局研究[J]. 中华围产医学杂志,2002,5(4):253-255.
- [9] 李维敏,周容,唐兰珍. 超声多普勒测定胎儿脐动脉血流与脐血血氧分析预测新生儿预后[J]. 实用妇产科杂志,1993,9(4):213-214.
- [10] 崔新红,钮彬,张淑红. 胎儿脐动脉 A/D 值与围产儿预后关系的研究[J]. 实用医药杂志,2014,31(1):42-43.
- [11] 陈冰,郭蕾,李春东. 彩色多普勒超声检测胎儿脐血流在宫内窘迫诊断中的临床价值[J]. 实用医院临床杂志,2013,10(4):64-66.
- [12] 吴淑玲,彭小莲,蔡名利. 胎心监护联合胎儿脐血流监测预测胎儿宫内窘迫的研究[J]. 临床研究,2011,49(34):47-48.
- [13] 张燕玲,梁叶梅. 监测胎儿脐血流对预测胎儿宫内缺氧及胎儿预后的观察[J]. 国际医药卫生导报,2013,19(4):504-506.
- [14] 杜少韵. 多普勒超声脐动脉血流分析与胎儿生长受限的关系及预后[J]. 中国医药指南,2013,11(34):313-314.

(收稿日期:2014-10-10 修回日期:2015-02-17)

(上接第 2052 页)

isolating platelet function, correlates with optical platelet aggregation[J]. J Lab Clin Med, 2004, 143(5):301-309.

- [12] Dropinski J, Jakiela B, Sanak M, et al. The additive anti-platelet action of clopidogrel in patients with coronary artery disease treated with aspirin[J]. Thromb Haemost, 2007, 98(1):201-209.

- [13] Sbrana S, Della Pina F, Rizza A, et al. Relationships between optical aggregometry (type born) and flow cytometry in evaluating ADP-induced platelet activation[J]. Cy-

tometry B Clin Cytom, 2008, 74(1):30-39.

- [14] Bonello L, Camoin-Jau L. Adjusted clopidogrel loading doses according to vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation index decrease rate of major adverse cardiovascular events in patients with clopidogrel resistance: a multicenter randomized prospective study[J]. J Am Coll Cardiol, 2008, 51(14):1404-1411.

(收稿日期:2014-12-08 修回日期:2015-02-23)