

# 氯吡格雷抵抗的研究进展

张全胜, 裴一璇 综述, 王燕慧<sup>△</sup> 审校

(甘肃省第二人民医院重症医学科, 甘肃兰州 730000)

关键词: 氯吡格雷; 氯吡格雷抵抗; 综述

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.11.029

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)11-1412-03

阿司匹林和氯吡格雷双重抗血小板治疗已成为急性冠状动脉综合征(ACS)患者经皮冠状动脉介入(PCI)治疗的基石, 但临床不良事件仍不断出现, 这说明抗血小板治疗客观存在变异或抵抗<sup>[1]</sup>。本文通过讨论氯吡格雷的作用特点、氯吡格雷抵抗的定义与相关机制及实验室评估方法, 为氯吡格雷抵抗的临床处理提供指导, 现综述如下。

## 1 氯吡格雷的作用特点

自氯吡格雷于 1998 年 6 月在美国上市以来, Pena 等<sup>[2]</sup>估计每年全世界有 4 亿人服用氯吡格雷。氯吡格雷和阿司匹林双重抗血小板治疗是 ACS 和 PCI 治疗后预防支架内血栓有效策略和标准方法; 尽管经双重抗血小板治疗, 仍有患者发生心血管事件, 最严重的是支架内血栓形成<sup>[3]</sup>。研究发现氯吡格雷无反应与支架内血栓和临床不良事件有关<sup>[4]</sup>。

氯吡格雷是前体药物, 需要在肝脏转化为有活性的代谢产物以阻断 P2Y12 受体。氯吡格雷口服后能在小肠内迅速吸收, 在酯酶的作用下大约 85% 水解为无活性的羧酸代谢物(SR26334)。剩余氯吡格雷经过肝脏细胞色素 P450 同工酶 CYP3A4、3A5 和较小范围的 CYP2B6、1A2、2C9 和 2C19 作用首先转化为二氧氯吡格雷和无活性的巯基化合物 R-130964<sup>[5]</sup>。

## 2 氯吡格雷抵抗

**2.1 氯吡格雷抵抗的定义与发生率** 由于患者病情存在差异, 氯吡格雷抵抗确切发生率很难确定<sup>[4]</sup>。支架术后氯吡格雷抵抗的发生率在 5%~40%。研究认为氯吡格雷治疗的患者中有 4%~30% 未得到有效的抗血小板治疗。目前关于氯吡格雷抵抗的定义都是经验性的, 通常认为常规剂量的氯吡格雷未被预期抑制血小板聚集的效果, 即实验室检测的血小板活性或聚集性未达到有效地抑制<sup>[4]</sup>, 从而使临床上复发性血栓事件危险度增加, 称为氯吡格雷抵抗。氯吡格雷抵抗和氯吡格雷低反应性、氯吡格雷无反应及氯吡格雷变异属同义词。实际上氯吡格雷抵抗类似于阿司匹林抵抗, 有生化抵抗和临床抵抗两层含义。Gurbel 提出的氯吡格雷抵抗标准应用较为普遍, 以 5 μmol/L ADP 诱导的血小板聚集率的基线水平和用药后的差值小于或等于 10% 诊断为氯吡格雷抵抗。已经证实氯吡格雷抵抗者氯吡格雷治疗后仍然能检测到残余 P2Y12 受体活性和 ADP 诱导的血小板聚集。

**2.2 氯吡格雷抵抗的实验室评估方法** 迄今仍然缺乏诊断氯吡格雷抵抗的标准实验室方法, 主要依靠血小板聚集仪、流式细胞仪评估血小板聚集率和血小板活性标志物。测定氯吡格雷的反应性变异时, 广泛应用的一种方法是在 ADP 刺激后采用流式细胞仪, 可以测定 PG II b/III a 受体活性和 P-选择素表达。另外, 全血栓弹性描记法用来测定 ADP 诱导的血小板-

纤维素凝块强度, Verify Now P2Y12 受体分析法采用 ADP 作为激动剂测量氯吡格雷的无反应程度, 便携测定法和体外透光集合度测定相关性良好<sup>[5]</sup>。采用流式细胞仪检测经过氯吡格雷治疗的患者血液标本, 舒血管磷酸化蛋白的磷酸化状态是细胞内残余 P2Y12 受体反应性的特殊标志。通过血小板功能检测结果可以指导用药。Siller-Matula 等<sup>[6]</sup>研究证实以血小板功能测试为指导采用抗血小板治疗的 PCI 患者与对照组相比, 血栓风险下降近 8 倍, 用总血小板反应活性测试氯吡格雷反应性, 能够确定患者血栓事件的风险。联合几种特效的试验对依存性差或氯吡格雷抵抗的高危患者指导抗血小板治疗是有益的<sup>[7]</sup>。

**2.3 氯吡格雷无反应的时间与剂量的关系** 多数患者冠脉支架术后氯吡格雷治疗有变异。最近新发现氯吡格雷抵抗是 PCI 术中无血流的机制之一<sup>[8]</sup>, 早期研究证明对氯吡格雷抵抗的高峰期是支架术后 30 d 内, 尤其以术后 24 h 内为著。患者支架术后 2 h 氯吡格雷抵抗发生率为 53%~63%, 术后 1~5 d 氯吡格雷抵抗发生率为 31%~35%, 术后 30 d 氯吡格雷抵抗发生率为 13%~21%, 随后反应分布正常。药理学研究在选择性支架术期间给予氯吡格雷负荷量 600 mg 和 300 mg 相比较氯吡格雷抵抗发生率由 28%~32% 降低到 8%, 提示大剂量氯吡格雷治疗有良好的反应。

## 3 氯吡格雷抵抗的机制

氯吡格雷抵抗机制复杂, 与许多因素有关, 如胃肠吸收、肥胖、肝脏细胞色素 3A4 活性或 P450 基因多态性、肝脏代谢、肝脏细胞色素 P450 3A4 和其他代谢产物竞争性结合 P2Y12 血小板表面受体、P2Y12 基因多态性以及局部或全身其他血小板活化剂浓度增加等因素<sup>[9]</sup>。

**3.1 遗传与变异** 基因机制占氯吡格雷抵抗机制的 30%。主要表现为血小板 P2Y12 受体基因的多态性、受体数量的增加或受体信号传导障碍<sup>[10]</sup>。个体之间对抗血小板药物反应的差异源于遗传或获得性因素, 但遗传因素起决定性作用, 引起氯吡格雷抵抗的基础是肝脏细胞色素 CYP3A 基因变异。相关研究显示基于 PCR 技术加热电泳可快速检测检测 CYP2C19 I331V、CYP2C9 R144C 和 CYP2C9 I359L 基因多态性<sup>[11]</sup>。携带 CYP450 2C19 \* 2 或 3 等位基因突变者氯吡格雷活性代谢产物形成减少<sup>[12]</sup>, CYP3A5 基因的多态性也是影响氯吡格雷无反应的原因, 服用氯吡格雷的支架置入患者 CYP3A5 基因不表达与不良临床结局相关。小样本的研究证实 CYP2C19 基因和 CYP3A4 基因也导致氯吡格雷抵抗。PG II b/III a 基因的多态性和 P2Y12 受体也影响血小板功能, 但是否影响氯吡格雷反应尚无定论<sup>[13]</sup>。有研究不支持 CYP3A5 基因多态性导致氯吡格雷抵抗, 氯吡格雷抵抗受 CYP3A5 \* 3 基

因多态性影响较小。Kar 等<sup>[14]</sup>发现氯吡格雷抵抗与 P2Y1 和 P2Y12 基因多态性无关。

**3.2 药物之间的相互作用与肝脏 P450 活性的改变** 氯吡格雷主要经过肝脏 P450-3A4 酶 CYP3A4 的代谢,活性与氯吡格雷抵抗有关<sup>[15]</sup>。利福平刺激肝脏细胞色素 CYP3A4,增强氯吡格雷抑制血小板的作用;红霉素与氯吡格雷竞争肝脏细胞色素 CYP3A4,减弱氯吡格雷的抗血小板效果。另外,吸烟摄入的烟碱作为 CYP1A2 活性的诱导剂,St Johns Wort 也是 CYP3A4 的诱导剂,两者均与氯吡格雷无反应有关<sup>[16]</sup>。药理学研究发现同时服用亲脂的他汀类药物如阿托伐他汀、辛伐他汀与氯吡格雷竞争 CYP3A4 受体减弱氯吡格雷的血小板抑制作用。

**3.3 氯吡格雷吸收障碍** 研究提示药物吸收的个体差异是导致氯吡格雷反应变异的一个重要因素。小肠流出物运载 P-糖蛋白限制氯吡格雷的吸收。P-糖蛋白基因(MDR1)相关差异也是氯吡格雷反应变异的部分原因。有证据表明氯吡格雷无反应是药物活性代谢产物产生不足的药代动力学问题,受小肠吸收 P-糖蛋白及细胞色素 P450 功能和基因变异的影响。

**3.4 高胰岛素血症或胰岛素抵抗** 高胰岛素血症或胰岛素抵抗明显抑制血小板的聚集和活化,胰岛素抵抗与氯吡格雷无反应或低反应相关。胰岛素抵抗且肥胖者氯吡格雷的反应性更差。临床实践中发现糖尿病患者支架术时予以 600 mg 氯吡格雷的负荷量,血小板聚集和活化仍然活跃。

**3.5 基础血小板的反应性** 氯吡格雷对血小板的反应性取决于血小板的基础反应水平,血小板基础反应性高的患者在 PCI 后抗血小板治疗后效果较差,尤其在最初 24 h 内最为显著。有研究提示已存在血小板功能的变异导致氯吡格雷抵抗,这种差异不因口服氯吡格雷而增加。

#### 4 氯吡格雷抵抗与增加不良临床事件的关系

氯吡格雷抵抗和氯吡格雷治疗后血小板对 ADP 反应活跃同 PCI 后缺血事件之间有紧密联系。有研究证实血小板反应活跃与临床不良事件之间呈线性关系。支架术后心肌坏死的危险及炎症标志物释放增加和氯吡格雷治疗后血小板高反应性有关。选择性支架术的患者,在术前就开始长期氯吡格雷治疗,术前对 ADP 诱导血小板聚集反应活跃的患者 PCI 后 1 年缺血事件的发生率明显增高<sup>[17]</sup>。

#### 5 氯吡格雷抵抗的处理

**5.1 加大氯吡格雷剂量** 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。Collet 等<sup>[18]</sup>研究中 600 mg 氯吡格雷的负荷量早期抑制血小板功能优于 300 mg,并伴随心肌坏死标志物和炎症标志物释放减少。与标准的 300 mg 负荷量相比,900 mg 产生的抗血小板效果比 600 mg 更加明显,且未增加出血<sup>[18]</sup>。Mehta 等<sup>[19]</sup>研究发现:对于 ACS 患者,氯吡格雷高剂量组(600 mg 负荷量,150 mg 维持量)与标准剂量组相比,包括心血管病死亡、心肌梗死和脑卒中的主要结局事件无显著差异( $P=0.30$ )。在 PCI 亚组中支架内血栓和心肌梗死的危险,高剂量组比标准剂量组分别降低 31%和 23%,死亡、心肌梗死或脑卒中联合终点的相对危险性也明显降低 13%<sup>[20]</sup>。

**5.2 联合应用糖蛋白 II b/III a 受体拮抗剂** 关于糖蛋白 II b/III a 受体拮抗剂用于氯吡格雷抵抗的治疗尚无确切证据。研究显示:在非 ST 段抬高性 ACS 高危患者,行介入治疗时,同时予氯吡格雷 600 mg 负荷量,阿司匹林及阿昔单抗三联抗血小板治疗,30 d 和 1 年时死亡、心肌梗死或急诊靶血管重建均

明显低于双联抗血小板组。2009 年 ACC/AHA 的 ST 段抬高心肌梗死 PCI 指南更新中推荐对高危的 STEMI 患者(如大范围血栓负荷或术前未达噻吩并吡啶类药物负荷量)在直接 PCI 时考虑使用糖蛋白 II b/III a 受体拮抗剂<sup>[21]</sup>。

**5.3 换用新的 P2Y12 受体拮抗剂** 普拉格雷是第三代噻吩并吡啶,是可逆性的 P2Y12 抑制剂,比氯吡格雷的抗血小板作用更为快捷有效。证据表明普拉格雷具有和氯吡格雷相似的安全性,比氯吡格雷的变异和抵抗少。2010 年欧洲心脏学会/欧洲心胸外科协会(ESC/EACTS)心肌血运重建指南推荐 ACS 患者使用新型抗血小板药物普拉格雷和替卡格雷。用替卡格雷代替氯吡格雷不失为部分氯吡格雷抵抗患者的新选择<sup>[12]</sup>。Wallentin 等<sup>[22]</sup>研究结果显示,替卡格雷在降低心血管病死亡、心肌梗死或脑卒中联合终点发生率方面均优于氯吡格雷。

#### 6 小结

综上所述,大剂量氯吡格雷能增加氯吡格雷反应,新的 P2Y12 受体抑制剂是氯吡格雷抵抗的替代药物,应用第三代噻吩并吡啶能减少氯吡格雷抵抗。临床工作中建议对服用氯吡格雷的患者进行血小板反应性评估,以指导临床用药,同时对氯吡格雷抵抗者可考虑联合应用第三种抗血小板治疗药物。

#### 参考文献

- [1] Kim H, Lee HK, Han K, et al. Prevalence and risk factors for aspirin and clopidogrel resistance in patients with coronary artery disease or ischemic cerebrovascular disease[J]. *Ann Clinical Lab Sci*, 2009, 39(3): 289-294.
- [2] Pena A, Collet JP, Hulot JS, et al. Can we override clopidogrel resistance[J]. *Circulation*, 2009, 119(21): 2854-2857.
- [3] Vlachojannis GJ, Dimitropoulos G, Alexopoulos D. Clopidogrel resistance: current aspects and future directions[J]. *Hellenic J Cardiol*, 2011, 52(3): 236-245.
- [4] Pinto Slotow TL, Bonello L, Gavini R, et al. Prevalence of aspirin and clopidogrel resistance among patients with and without drug-eluting stent thrombosis[J]. *Am J Cardiol*, 2009, 104(4): 525-530.
- [5] Patti G, Nusca A, Mangiacapra F, et al. Point-of-care measurement of clopidogrel responsiveness predicts clinical outcome in patients undergoing percutaneous coronary intervention results of the AR-MYDA-PRO (Antiplatelet therapy for Reduction of MYocardial Damage during Angioplasty-Platelet Reactivity Predicts Outcome) study[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2008, 52(14): 1128-1133.
- [6] Siller-Matula JM, Francesconi M, Dechant C, et al. Personalized antiplatelet treatment after percutaneous coronary intervention: the MADONNA study[J]. *Int J Cardiol*, 2012.
- [7] Vidali M, Rolla R, Parrella M, et al. Role of the laboratory in monitoring patients receiving dual antiplatelet therapy[J]. *Int J Lab Hematol*, 2012, 34(5): 484-494.
- [8] Bozbeyoglu E, Satilmis S, Aksu H, et al. Impact of clopidogrel resistance on ST-segment resolution and no-reflow in acute myocardial infarction with ST-elevation patients treated with a primary percutaneous coronary intervention[J]. *Coron Artery Dis*, 2012, 23(8): 523-527.
- [9] Mega JL, Close SL, Wiviott SD, et al. Cytochrome p-450 polymorphisms and response to clopidogrel[J]. *N Engl J Med*, 2009, 360(4): 354-362.
- [10] Simon T, Verstuyft C, Mary-Krause M, et al. Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events[J]. *N*

Engl J Med, 2009, 360(4): 363-375.

[11] Minarik M, Kopeckova M, Gassman M, et al. Rapid testing of clopidogrel resistance by genotyping of CYP2C19 and CYP2C9 polymorphisms using denaturing on-chip capillary electrophoresis[J]. Electrophoresis, 2012, 33(8): 1306-1310.

[12] Costache II, Rusu C, Ivanov I, et al. Clopidogrel resistance—risk factor in patients with acute coronary syndromes[J]. Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi, 2012, 116(2): 383-388.

[13] Collet JP, Hulot JS, Pena A, et al. Cytochrome P450 2C19 polymorphism in young patients treated with clopidogrel after myocardial infarction: a cohort study[J]. Lancet, 2009, 373(9660): 309-317.

[14] Kar R, Meena A, Yadav BK, et al. Clopidogrel resistance in North Indian patients of coronary artery disease and lack of its association with platelet ADP receptors P2Y1 and P2Y12 gene polymorphisms[J]. Platelets, 2013, 24(4): 297-302.

[15] Lee JM, Park S, Shin DJ, et al. Relation of genetic polymorphisms in the cytochrome P450 gene with clopidogrel resistance after drug-eluting stent implantation in Koreans[J]. Am J Cardiol, 2009, 104(1): 46-51.

[16] Blieden KP, Dichiaro J, Lawal L, et al. The association of cigarette smoking with enhanced platelet inhibition by clopidogrel[J]. J Am Coll Cardiol, 2008, 52(7): 531-533.

[17] Bonello L, Camoin-Jau L, Arques S, et al. 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.

[18] Collet JP, Silvain J, Landivier A, et al. Dose effect of clopidogrel reloading in patients already on 75-mg maintenance dose: the Reload with Clopidogrel Before Coronary Angioplasty in Subjects Treated Long Term with Dual Antiplatelet Therapy (RELOAD) study[J]. Circulation, 2008, 118(12): 1225-1233.

[19] Mehta SR, Bassand JP, Chrolaviciu S, et al. Dose comparisons of clopidogrel and aspirin in acute coronary syndromes[J]. N Engl J Med, 2010, 363(10): 930-942.

[20] 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.

[21] Kushner FG, Hand M, Smith SC Jr, et al. 2009 focused updates: ACC/AHA guidelines for the management of patients with ST-elevation myocardial infarction (updating the 2004 guideline and 2007 focused update) and ACC/AHA/SCAI guidelines on percutaneous coronary intervention (updating the 2005 guideline and 2007 focused update) a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines[J]. J Am Coll Cardiol, 2009, 54(23): 2205-2241.

[22] Wallentin L, Becker RC, Budaj A, et al. Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes[J]. N Engl J Med, 2009, 361(11): 1045-1057.

(收稿日期: 2012-12-18)

• 综 述 •

# 冰冻红细胞技术及其应用的研究进展

李文静<sup>1</sup>综述, 沈 瑞<sup>2</sup>审校

(1. 海军总医院输血科, 北京 100048; 2. 91286 部队门诊部, 山东青岛 266043)

关键词: 冰冻红细胞; 海上救治; 综述

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2013. 11. 030

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)11-1414-02

冰冻红细胞保存期长、质量可靠, 经过洗涤后的生理形态及生化特性均与液体保存的红细胞相似, 是长期储存红细胞的有效方法, 也是军队及地方医疗机构应对突发事件时血液保障的重要手段。上世纪 80 年代初, 美国食品和药品管理局 (FDA) 批准以 40% 甘油冰冻的红细胞在 -80 ℃ 条件下保存期为 10 年, 主要用于战备血库中血液储存、突发事件下血液供应、稀有血型患者的输血及肿瘤化疗患者的自体血回输。科技发展为冰冻红细胞的制备和应用提供强有力的保障, 提升了中国军队海上卫勤保障能力。本文综述了国内外冰冻红细胞近年来的研究进展, 以及冰冻红细胞在海上救治方面的应用。

## 1 冰冻红细胞的制备方法

**1.1 羟乙基淀粉 (HES) 法** 加入 14% 羟乙基淀粉溶液作为细胞外防冻剂, 以液氮冷冻红细胞保存于 -150 ℃, 应用时不需要解冻洗涤。该方法虽然操作简单, 但临床应用疗效不佳, 目前已很少应用。

## 1.2 甘油法

**1.2.1 甘油化** (1) 高浓度甘油慢冻法: 采集 2~6 d 内的全血 1 U (国内规定为 200 mL), 经离心分离出血浆、白细胞及血小板, 向剩余浓缩红细胞内加入 57.1% 甘油溶液 160 mL (300 或 400 mL 全血可依此计算甘油的用量), 使甘油最终浓度为 40%, 加甘油的速度应先慢后快, 于 15~20 min 加毕, 同时不断振荡, 在室温平衡 30 min 后, 放入 -80 ℃ 低温冰箱保存。Lelkens 等<sup>[1]</sup>通过比较高浓度甘油法 (40%) 与低浓度甘油法 (19%) 对去甘油后在氯化钠-腺嘌呤-葡萄糖-甘露醇保养液 (SAGM) 中 4 ℃ 保存的冰冻红细胞体外质量的影响, 证实高浓度甘油慢冻法保存的红细胞质量更加稳定, 应用较为广泛。

(2) 低浓度甘油超速冷冻法: 在浓缩红细胞中加入甘油, 使甘油最终浓度在 20% 左右, 快速 (1.5~2 min) 冰冻并保存在 -196 ℃ 液氮罐中, 可保存 10 年以上。该方法未被广泛应用, 因为需要应用液氮保存来防止红细胞溶血, 价格昂贵且技术复杂。

**1.2.2 解冻** (1) 水浴解冻法 冰冻红细胞使用前放入 37~45 ℃ 水浴箱中缓慢摇动, 35 min 左右完全融化, 目前被广泛采