

论著·临床研究

光学比浊法与血栓弹力图法评价氯吡格雷疗效的一致性研究及氯吡格雷抵抗相关风险因素分析*

张丽敏^{1,2}, 许惠文^{1,2}, 李 斌^{1,2}, 孙越红^{1,2}, 王 丹^{1,2},

王 平^{1,2}, 赵 晖^{1,2}, 康熙雄^{1,2}, 张国军^{1,2△}

(1. 首都医科大学附属北京天坛医院检验科, 北京 100070;

2. 北京市免疫试剂临床工程技术研究中心, 北京 100070)

摘 要:目的 以血栓弹力图法(TEG)为比对方法,研究光学比浊法(LTA)检测血小板聚集率在氯吡格雷疗效评价方面的作用,观察二者是否具有良好的一致性,并根据 LTA 检测结果,对影响氯吡格雷疗效的可能风险因素进行评估。**方法** 收集 2018 年 11 月至 2019 年 5 月于北京天坛医院就诊的患者 67 例,均服用氯吡格雷(波立维)抗血小板药物治疗,分别采用 TEG 及 LTA 检测血小板功能,评价两种方法的一致性,并对相关参数进行相关分析。根据 LTA 检测结果将患者划分为氯吡格雷抵抗组和氯吡格雷非抵抗组,比较两组患者的临床资料及实验室指标,并采用 Logistic 回归分析氯吡格雷抵抗可能的风险因素。**结果** LTA 及 TEG 在评价血小板功能方面具有良好的一致性($P>0.05$),且 LTA 检测的由 ADP 诱导的血小板最大聚集率(PAg-ADP%)与 TEG 检测的血小板聚集抑制率(ADP%)存在直线相关关系($r=-0.493, P=0.000$)。与氯吡格雷非抵抗组比较,氯吡格雷抵抗患者年龄更大,平均血小板体积(MPV)较大,差异有统计学意义($P<0.05$)。多元 Logistic 回归分析显示年龄($OR=1.106, 95\%CI 1.038\sim1.178, P=0.002$)、MPV($OR=1.968, 95\%CI 1.079\sim3.588, P=0.027$)构成氯吡格雷抵抗的独立风险因素。**结论** LTA 可作为早期评价氯吡格雷疗效的有效可靠的检测方法。高龄、高水平 MPV 构成氯吡格雷抵抗的独立风险因素。

关键词:光学比浊法; 血小板聚集率; 血栓弹力图法; 氯吡格雷抵抗

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.24.003

中图法分类号:R541.4

文章编号:1673-4130(2019)24-2954-04

文献标识码:A

Study on the consistency of thromboelastography and light transmission aggregometry in monitoring clopidogrel efficacy and the risk factors of clopidogrel resistance*

ZHANG Limin^{1,2}, XU Huiwen^{1,2}, LI Xiao^{1,2}, SUN Yuehong^{1,2}, WANG Dan^{1,2},

WANG Ping^{1,2}, ZHAO Hui^{1,2}, KANG Xixiong^{1,2}, ZHANG Guojun^{1,2△}

(1. Department of Clinical Laboratory, Beijing Tiantan Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100070, China; 2. Beijing Engineering Research Center of Immunological Reagents Clinical Research, Beijing 100070, China)

Abstract: Objective To use thromboelastography (TEG) as comparison method, the effect of light transmission aggregometry (LTA) on the efficacy evaluation of clopidogrel is studied, and the consistency of the two methods is observed. The possible risk factors affecting the efficacy of clopidogrel were evaluated according to the results of LTA. **Methods** 67 patients taking antiplatelet drugs from Beijing Tiantan Hospital were enrolled from November 2018 to May 2019. Platelet function was measured using TEG and LTA. Correlation analysis were performed on related parameters. Patients were classified as clopidogrel resistant and non-resistant according to LTA results. The clinical and laboratory data of the two groups were compared. Risk factors related to clopidogrel resistance were analyzed using Logistic regression analysis. **Results** TEG and LTA were consistent in evaluating platelet function ($P>0.05$), and ADP-induced platelet aggregation (PAg-ADP%) and TEG platelet aggregation inhibition rate (ADP%) had linear correlation($r=-0.493, P=0.000$). Compared with the non-resistance group, the mean age of clopidogrel resistant patients was larger and the mean platelet volume (MPV) was larger, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The Logistic regres-

* 基金项目:北京天坛医院青年科学基金项目(2016-YQN-09);首都医科大学科研培育基金项目(PYZ2017067)。

作者简介:张丽敏,女,主治医师,主要从事神经系统疾病凝血及血小板功能检测研究。△ 通信作者, E-mail: tiantanzgj@163.com。

本文引用格式:张丽敏,许惠文,李斌,等.光学比浊法与血栓弹力图法评价氯吡格雷疗效的一致性研究及氯吡格雷抵抗相关风险因素分析[J].国际检验医学杂志,2019,40(24):2954-2957.

sion analysis showed the age ($OR=1.106, 95\%CI\ 1.038-1.178, P=0.002$) and MPV ($OR=1.968, 95\%CI\ 1.079-3.588, P=0.027$) were the independent risk factors of clopidogrel resistance. **Conclusion** LTA can be used as an effective and reliable test for evaluating the efficacy of clopidogrel at an early stage. Advanced age and high levels of MPV constitute independent risk factors for clopidogrel resistance.

Key words: light transmission aggregometry; platelet aggregation rate; thromboelastography; clopidogrel resistance

氯吡格雷作为常见的抗血小板药物已经成为心脑血管疾病患者预防不良血管事件发生的基础和一线用药。然而,其抗血小板作用在患者间存在很大的个体差异,部分患者缺乏对氯吡格雷的反应或反应降低,称为氯吡格雷抵抗,而部分患者服用氯吡格雷后血小板聚集功能下降明显,存在一定的出血风险^[1]。因此,早期、准确地通过检测血小板的功能来评价氯吡格雷药物疗效对个体化调整用药具有重要的指导价值。目前实验室检测方法主要包括血栓弹力图法(TEG)、维梵纳抗血小板监测系统及光学比浊法(LTA)等,其中 LTA 是最经典的检测血小板功能的方法,也是专家共识中推荐评价血小板功能的“金标准”^[2-5]。

北京天坛医院开展 TEG 检测已有十余年,检测方法相对成熟,但 TEG 仪器和耗材昂贵,自动化程度低,影响因素较多,因此应临床需求,为了寻找一种更简便、快捷地评价氯吡格雷疗效的指标,研究者新引进了全自动血小板聚集仪,对血小板聚集功能进行检测和评估。然而此项目的开展是否能够满足本院临床需求,与 TEG 一致性和相关性如何,尚需临床数据的验证。本院有丰富的脑血管病患者病例资源,故本研究拟以于北京天坛医院就诊的患者为研究人群,以 TEG 为对比方法,研究 LTA 检测血小板聚集功能在氯吡格雷疗效评价方面的作用,并根据 LTA 检测结果,对影响氯吡格雷疗效的可能风险因素进行评估,通过积极控制风险因素,降低不良血管事件的发生,从而提高患者生存质量,最终实现患者的获益。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究入选了 2018 年 11 月至 2019 年 5 月于北京天坛医院住院治疗并首次服用抗血小板药物治疗的患者 67 例,其中男 49 例,女 18 例,平均年龄为(57 ± 12)岁,包括脑梗死患者 39 例,颅内动脉瘤患者 8 例,短暂性脑缺血发作患者 7 例,颈内动脉动脉瘤患者 4 例,基底动脉狭窄患者 3 例,前交通动脉动脉瘤患者 2 例,基底动脉干动脉瘤患者 1 例,颈内动脉狭窄患者 1 例,锁骨下动脉狭窄患者 1 例和椎动脉动脉瘤患者 1 例。所有患者均首次入院,每天口服 75 mg 硫酸氢氯吡格雷片(波立维)和 100 mg 阿司匹林肠溶片进行双联抗血小板药物治疗。所有患者血小板计数在正常范围($100\sim300$) $\times10^9/L$ 。排除标准:(1)患有血液性疾病,恶性肿瘤或活动性出血者;(2)伴有心、肝、肾等脏器功能严重障碍者;(3)近 3

个月内有出血史或脑血管疾病相关事件者;(4)存在自身免疫性疾病或接受相关药物治疗者;(5)近期服用过甾体、非甾体抗炎药物者或服用质子泵抑制剂患者;(6)凝血功能障碍者;(7)检查依从性较差者。

1.2 仪器与试剂 Techlink Biomedical 全自动血小板聚集分析仪及配套诱导剂 150 $\mu\text{mol/L}$ 二磷酸腺苷(ADP);美国 Haemoscope 公司的 TEG 5000 及配套试剂盒,试剂包括高岭土、激活剂、二磷酸腺苷等。

1.3 方法

1.3.1 入组患者临床资料的采集与管理 患者服用氯吡格雷 5 d 后,空腹安静状态下抽取静脉血,分别采用 TEG 和 LTA 进行血小板功能检测。记录 TEG 相关参数:二磷酸腺苷诱导的血小板聚集抑制率(ADP%)、血凝块形成角(α)值及 TEG 最大振幅(MA 值)及全自动血小板聚集仪测得的 ADP 诱导的血小板最大聚集率(PAg-ADP%)。查询病历记录患者的一般情况,包括姓名、性别、身高、体质量[计算体质量指数(BMI)]、个人史(吸烟史、饮酒史)、既往史(高血压病史、糖尿病病史)。并记录患者就诊后在给予治疗前首次实验室指标:糖化血红蛋白(GHb)、血浆同型半胱氨酸(pHcy)、血小板计数(PC)、平均血小板体积(MPV)、血小板分布宽度(PDW)、D-二聚体、血浆纤维蛋白原(Fbg)、CYP2C19 基因型等用于氯吡格雷抵抗发生的风险因素分析。

1.3.2 氯吡格雷抵抗标准 TEG 参数 $ADP\%<30\%$ 的患者为氯吡格雷抵抗组, $ADP\%\geq30\%$ 的患者为氯吡格雷非抵抗组^[6-7];LTA 参数 $PAg-ADP\%\geq50\%$ 为氯吡格雷抵抗组, $PAg-ADP\%<50\%$ 为氯吡格雷非抵抗组^[7]。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行数据分析,计数资料以频数表示,组间比较采用 χ^2 检验。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,若符合正态分布,采用两组独立样本资料 t 检验;若不符合正态分布,采用 Mann-Whitney U 检验。PAg-ADP%与 TEG 参数间相关性分析采用 Pearson 相关分析。多因素分析采用 Logistic 回归分析。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 氯吡格雷疗效一致性评价 采用 TEG 患者的氯吡格雷抵抗率为 35.82%(24/67),采用 LTA 患者的氯吡格雷抵抗率为 47.76%(32/67),差异无统计学意义($P=0.152$),见表 1。PAg-ADP%和 TEG 参数

均符合正态分布, Pearson 相关分析结果显示 PAg-ADP% 与 TEG 参数 MA 和 α 值之间, 差异无统计学意义(r 分别为 0.068, -0.008 , 均 $P>0.05$); PAg-ADP% 与 ADP% 之间比较差异具有统计学意义($r=-0.493$, $P=0.000$), 二者呈负相关。

表 1 采用 LTA 与 TEG 检测氯吡格雷疗效的一致性(n)

LTA	TEG		合计
	氯吡格雷抵抗组	氯吡格雷非抵抗组	
氯吡格雷抵抗组	16	16	32
氯吡格雷非抵抗组	8	27	35
合计	24	43	67

2.2 两组患者一般情况比较 以 LTA 划分的氯吡格雷抵抗组和氯吡格雷非抵抗组患者, 二者年龄、性别、实验室指标等一般资料情况比较结果见表 2。与氯吡格雷非抵抗组比较, 氯吡格雷抵抗组患者年龄偏大, MPV 偏大, 差异有统计学意义($P<0.05$)。两组患者性别、BMI、吸烟饮酒史、既往病史及其他实验室指标比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 2 两组患者一般情况比较

项目	氯吡格雷抵抗组 (<i>n</i> =32)	氯吡格雷非抵抗组 (<i>n</i> =35)	<i>P</i>
基本情况			
性别(<i>n</i>)			
男	22	27	0.439
女	10	8	
年龄(岁, $\bar{x}\pm s$)	62.40±9.10	52.20±12.60	0.000
BMI(kg/m ² , $\bar{x}\pm s$)	26.48±4.75	27.01±5.88	0.694
既往史(<i>n</i>)			
吸烟史			
有	21	18	0.370
无	11	17	
饮酒			
有	14	15	0.868
无	18	20	
高血压			
有	24	24	0.560
无	8	11	
糖尿病			
有	14	9	0.097
无	18	26	
实验室指标			
GHb(%)	7.09±1.66	6.28±2.05	0.732
pHcy(μmol/L)	14.32±4.58	18.42±8.23	0.05
Fbg(g/L)	3.38±0.94	3.31±0.55	0.109
D-二聚体(μg/mL)	0.73±0.54	0.51±0.36	0.112
MPV(fL)	9.81±1.19	9.17±0.79	0.026
PDW(fL)	16.10±0.38	15.92±0.36	0.836
CYP2C19(<i>n</i>)			
快代谢型	9	11	0.254
中等代谢型	13	12	
慢代谢型	5	1	

2.3 氯吡格雷抵抗风险因素分析 Logistic 逐步回

归分析以氯吡格雷抵抗患者的 PAg-ADP% 为因变量, 将两组的年龄、GHb、pHcy、Fbg、D-二聚体、PC、MPV、PDW 及 CYP2C19 基因型等为自变量, Logistic 回归分析结果提示: 年龄和 MPV 构成氯吡格雷抵抗的独立风险因素, 其中年龄($OR=1.106$, 95% CI 1.038~1.178, $P=0.002$), MPV($OR=1.968$, 95% CI 1.079~3.588, $P=0.027$), 见表 3。

表 3 各因素与氯吡格雷抵抗的 Logistic 回归分析

指标	OR	95%CI	P
年龄	1.106	1.038~1.178	0.002
GHb	1.274	0.864~1.988	0.222
pHcy	0.905	0.813~1.008	0.069
Fbg	1.138	0.595~2.175	0.697
D-二聚体	3.201	0.670~15.296	0.145
MPV	1.968	1.079~3.588	0.027
PDW	0.773	0.812~17.537	0.090
CYP2C19	0.606	0.263~1.397	0.240

3 讨 论

氯吡格雷抵抗是增加心血管不良事件再发风险的重要因素之一。因此, 如果能够早期、准确地对氯吡格雷疗效进行评价, 可及时地通过个体化调整用药来减少不良事件的发生, 提高患者的生存质量。

LTA 作为血小板聚集功能检测的金标准^[5], 可以快速的为临床提供实验室的数据支持。目前 LTA 的主要问题在于加入诱导剂的水平未标准化, 但已有多个指南正努力将其操作进行规范^[8-10]。LTA 因其收费价格低廉, 开展范围广泛, 已成为血小板功能检测的常规基础手段。脑血管病患者占据了本院较大的患者人群, 尤其是缺血性脑卒中患者, 而氯吡格雷是此类患者的常规基础用药。因此为了更好地满足临床需求, 本院于 2018 年 11 月开展了此项目, 为了更好地服务于临床, 研究者需要评价项目短期内临床应用效果, 由此设计了此项研究。由于新项目开展初期同时开立 TEG 和 LTA 的患者例数较少, 因此本研究仅纳入了 67 例患者。随着项目开展的逐渐成熟及临床沟通和宣讲, 后期将进行进一步大样本病例的验证。目前数据显示, LTA 和 TEG 在评价氯吡格雷疗效方面具有良好的一致性($P>0.05$), 并且 PAg-ADP% 与 ADP% 呈负相关($r=-0.493$, $P=0.000$), 这证明了 LTA 在评价氯吡格雷疗效方面与 TEG 有同样的效果。

同时本研究对影响氯吡格雷疗效的相关风险因素也进行了分析。研究结果显示年龄和 MPV 构成了氯吡格雷抵抗的独立风险因素($P<0.05$)。一般来说随着年龄增长, 血管基础病变越明显, 可能会导致血小板功能异常; 另一方面, 氯吡格雷是一种前体药物, 随着年龄增加, 肝脏对药物代谢能力减弱, 也是容易

出现药物抵抗的原因之一。MPV 是反映机体血小板衰亡及生成的指标,在机体的凝血过程中,血栓形成后出现继发性纤溶亢进,使血小板破坏,从而加速血小板的数量急剧下降,同时刺激提高了巨核细胞的再生能力,产生大量年轻的血小板,导致 MPV 增加^[11]。人们普遍认为,血小板释放到血液直至死亡,它们的体积不会发生变化。MPV 增加提示血小板的破坏增多。研究表明,血小板的体积大小,一方面反映骨髓巨核细胞增生代谢和血小板的生成情况,另一方面也显示了循环中血小板的年龄,体积大的血小板含有较多的 α 颗粒,这些颗粒的 5-羟色胺和 β 血栓蛋白等物质的释放增多,血小板黏附功能增加,更易发生血小板聚集,破坏血脑屏障,加重缺血损伤,加速血栓形成^[12-14]。研究表明,高水平 pHcy 及 D-二聚体等均是不良血管事件发生的重要因素^[15-17],然而本研究结果显示上述指标并未构成氯吡格雷抵抗的独立风险因素,可能原因如下:(1)入组患者较少,结果存在一定偏倚;(2)研究人群均为慢性病患者,患者入院前可能已查出高同型半胱氨酸血症或血糖、凝血指标水平偏高,并接受过相关药物治疗,入院时的上述指标的水平已不能代表患者真实的水平,故研究结果差异不显著。另有研究发现,氯吡格雷抵抗组和氯吡格雷非抵抗组 CYP2C19 基因型分布存在差异,氯吡格雷抵抗组突变纯合型多于非抵抗组^[18],然而在本研究中并无相关结果体现,可能是由于本研究纳入病例有限,不同基因型在人群中分布频率差异较大,而基因型研究更适合对大样本人群的调研,因此后期可通过增加样本量来减少这种偏倚。

4 结 论

LTA 作为一种可靠有效的检测方法可以早期评价氯吡格雷疗效,实现个体化给药治疗。年龄和 MPV 作为氯吡格雷抵抗的独立风险因素,有助于早期识别氯吡格雷抵抗的高风险人群,通过积极干预,可减少临床不良血管事件的发生,提高患者生存质量。

参考文献

- [1] WIVIOTT S D, ANTMANN E M. Clopidogrel resistance—A new chapter in a fast-moving story[J]. *Circulation*, 2004, 109(25):3064-3067.
- [2] 赵勋,向倩,龚艳君,等. 3 种方法检测经皮冠状动脉介入治疗术后患者氯吡格雷的药效学[J]. *中国临床药理学杂志*, 2018, 34(7):875-877.
- [3] HOBSON A R, PETLEY G W, DAWKINS K D, et al. A novel fifteen minute test for assessment of individual time-dependent clotting responses to aspirin and clopidogrel using modified thrombelastography[J]. *Platelets*, 2007, 18(7):497-505.
- [4] TANG X F, HAN Y L, ZHANG J H, et al. Comparing of light transmittance aggregometry and modified throm-

- belastograph in predicting clinical outcomes in Chinese patients undergoing coronary stenting with clopidogrel[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2015, 128(6):774-779.
- [5] 世界华人检验与病理医师协会,中国医师协会检验医师分会心血管检验医学专业委员会. 血小板功能检测在急性冠脉综合征患者抗血小板治疗中的应用专家共识[J]. *中华医学杂志*, 2018, 98(22):1743-1751.
- [6] 刘淑静,方芳,陈柯霖,等. 氯吡格雷抵抗在急性脑梗死患者中的影响因素研究[J]. *中国综合临床*, 2017, 33(5):424-427.
- [7] 李广华,李阳华,范小斌,等. 血栓弹力图法和光学比浊法监测 PCI 术后氯吡格雷疗效的对比研究[J]. *临床输血与检验*, 2017, 46(1):59-63.
- [8] HARRISON P, MACKIE I, MUMFORD A, et al. Guidelines for the laboratory investigation of heritable disorders of platelet function[J]. *Br J Haematol*, 2011, 155(1):30-44.
- [9] HAYWARD C P, MOFFAT K A, RABY A A, et al. Development of North American consensus guidelines for medical laboratories that perform and interpret platelet function testing using light transmission aggregometry[J]. *Am J Clin Pathol*, 2010, 134(6):955-963.
- [10] CATTANEO M, CERLETTI C, HARRISON P, et al. Recommendations for the standardization of light transmission aggregometry: a consensus of the working party from the platelet physiology subcommittee of SSC/ISTH[J]. *J Thromb Haemost*, 2013, 11(6):1183-1189.
- [11] 薛静,吕丽霞,李巍,等. 平均血小板体积在健康及空腹血糖受损人群中分布水平的研究[J]. *中华检验医学杂志*, 2014, 37(6):451-454.
- [12] MARISO L, GÁLVEZ-MARTÍNEZ G, ALFRED O, et al. Mean platelet volume as a novel predictor of systematic inflammatory response in cirrhotic patients with culture-negative neutrocytic ascites[J]. *World J Hepatol*, 2015, 7(7):1001-1006.
- [13] GAO J B. Can mean platelet volume predict the prognosis of patients with community-acquired pneumonia[J]. *Am J Emerg Med*, 2015, 33(5):727.
- [14] 李梦云,孔祥勇,丁晓梅. 平均血小板体积与氯吡格雷抵抗的相关性[J]. *国际心血管病杂志*, 2017, 44(2):8-10.
- [15] 李晓霞. 血浆同型半胱氨酸水平与脑梗死的关系[J]. *山东医药*, 2014, 54(1):84-86.
- [16] 杨必清,番云华. 脑梗死患者血清同型半胱氨酸水平分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2016, 37(7):975-976.
- [17] KIM T W, SONG I U, CHUNG S W. Prognostic value of serum d-dimer in noncardioembolic ischemic stroke[J]. *Can J Neurol Sci*, 2017, 44(4):404-409.
- [18] ZHUO Z L, XIAN H P, LONG Y, et al. Association between CYP2C19 and ABCB1 polymorphisms and clopidogrel resistance in clopidogrel-treated Chinese patients[J]. *Anatol J Cardiol*, 2018, 19(2):123-129.