

急性脑梗死患者氯吡格雷抵抗的相关因素研究

吴金龙 钟池 王磊 李文 王绍博

【摘要】 目的 探讨急性脑梗死患者氯吡格雷抵抗(clopidogrel resistance, CR)的相关因素。**方法** 收集急性脑梗死患者 100 例,入院后连续口服氯吡格雷 7 d 后空腹抽取肘静脉血,用血栓弹力图(thromboelastograms, TEG)测得二磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP)受体途径诱导的血小板抑制率,将患者分为氯吡格雷抵抗组(CR)和氯吡格雷敏感组(clopidogrel sensitivity, CS);根据 2 组患者的临床检测水平和 Logistic 回归分析引起 CR 的因素。**结果** 31 例患者出现氯吡格雷抵抗,发生率为 31%。单因素分析发现并发 2 型糖尿病、LDL-C 水平、空腹血糖水平(FPG)差异明显($P < 0.05$)。多因素 Logistic 回归分析发现,2 型糖尿病($OR = 13.198, P < 0.05$)、LDL-C 水平($OR = 0.349, P < 0.05$)是引起 CR 的独立危险因素。**结论** 部分急性脑梗死患者会出现氯吡格雷抵抗,2 型糖尿病、LDL-C 水平是其独立危险因素。

【关键词】 急性脑梗死 氯吡格雷抵抗 血栓弹力图(TEG)

【中图分类号】 R743.3 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1007-0478(2016)06-0395-04

【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2016.06.003

Relevant factors for clopidogrel resistance in patients with acute cerebral infarction Wu Jinlong*, Zhong Chi, Wang Lei, et al. * Department of Neurology, Weifang Medical University, Weifang 261053

【Abstract】 Objective To explore the relevant factors for clopidogrel resistance in patients with acute cerebral infarction. **Methods** One hundred patients with acute ischemic stroke were recruited. Whole blood

samples were collected after clopidogrel was administered for 7 days, the inhibitory rates of ADP receptor pathway in platelets were detected by TEG. Patients were divided into two groups: CR group and CS group. Clinical data in the two groups were compared and logistic regression analysis was performed for the factors of CR. **Results** There were 31 cases with CR and the occurrence rate of CR was 31%, Single factor analysis showed that the type 2 diabetes mellitus, LDL-C levels, FPG levels were obviously different between two groups ($P < 0.05$), Logistic regression analysis revealed that type 2 diabetes mellitus ($OR = 13.198, P < 0.05$) and the LDL-C level ($OR = 0.349, P < 0.05$) were independent risk factors of CR. **Conclusion** CR may occur in some patients with acute cerebral infarction, and type 2 diabetes mellitus, elevated LDL-C level were independent risk factors. Cerebrovascular adverse events are apt to recur in these patients.

【Key words】 Acute cerebral infarction Clopidogrel resistance TEG

脑血管病是当今严重威胁人类健康的疾病之一,循证医学证据表明抗血小板聚集药物可以降低心脑血管血栓病的发病率和病死率。氯吡格雷是国内外缺血性脑血管病二级预防指南推荐使用的抗血小板聚集药物^[1]。经临床试验证实长期使用氯吡格雷能有效减少主要不良心脑血管事件(major adverse cardiovascular and cerebrovascular event, MACCE)^[2]。虽然抗血小板药物可降低缺血性事件的发生率,但对其效果的“抵抗”持续出现。近些年来,国内外文献报道氯吡格雷抗血小板聚集作用存在个体的差异性,提出了氯吡格雷抵抗的概念^[3],本研究的目的旨在观察急性脑梗死患者氯吡格雷抵抗(clopidogrel resistance, CR)的影响因素,以指导患者的个体化用药,预防脑血管病的发生。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集2015年11月~2016年3月在山东省潍坊医学院附属潍坊市人民医院神经内科住院的急性脑梗死患者100例,其中男66例,女34例;年龄30~80岁,平均年龄(63.08 ± 10.50)岁。纳入标准:(1)所有患者符合全国第4届脑血管病学术会议修订的诊断标准^[4],经头颅计算机X射线断层扫描(CT)除外出血性脑血管病,经颅脑MRI平扫加DWI像示急性新发脑梗死;(2)NIHSS ≥ 3 分;(3)发病时间 < 24 h;(4)所有入选患者均知情同意并签署知情同意书。排除标准:(1)出血倾向。凝血酶时间超过对照1.5倍或血小板计数 $< 10 \times 10^9/L$;(2)中、重度贫血。血红蛋白(Hb) < 90 g/L;(3)并发症。并发恶性肿瘤、严重心力衰竭(NYHA IV级)、严重肝肾功能衰竭;(4)实验室检查。临床重要的实验室指标异常,包括转氨酶超过正常2倍以上、血肌酐 > 1.5 mg/L或肌酐清除率 < 50 ml/min;(5)入院前已规律服用氯吡格雷(波立维)或入院后需用低分子肝素抗凝者;

(6)院前应用阿司匹林、潘生丁等抗血小板聚集药物;(7)非动脉粥样硬化性疾病所致的脑梗死。

1.2 方法

1.2.1 药物治疗 (1)急性脑梗死患者入院后连续7 d服用氯吡格雷75 mg/d,于第8 d早晨留取静脉血;(2)入选患者同时给予他汀类药物治疗。瑞舒伐他汀钙片10 mg/d或阿托伐他汀钙片20 mg/d。(3)其他治疗包括。根据中国缺血性脑卒中治疗指南,治疗各种血管病危险因素包括血压、血糖控制、高同型半胱氨酸水平等,生活方式的调节如戒烟、限酒,低盐、低脂饮食等。

1.2.2 主要试剂及仪器 TEG血栓弹力图仪(CFMS™西芬斯)。配套试剂包括试剂1(高岭土)、试剂2(CaCl_2)、试剂A(巴曲酶、活化XIII因子)、试剂B(二磷酸腺苷)、 H_2O 。枸橼酸钠抗凝管和肝素钠抗凝管。药品:氯吡格雷。

1.2.3 血小板抑制率的监测方法 使用3个通道进行检测:(1)普通杯(无色);(2)巴曲酶杯(蓝色);(3)二磷酸腺苷杯(绿色);患者服用抗血小板聚集药物8 d早晨起空腹抽取静脉全血包括1个肝素化抗凝管和1个枸橼酸钠抗凝管,在取血后2 h内检测。枸橼酸钠抗凝管要 > 15 min后检测,第1通道,从枸橼酸钠管中抽1 mL血样加入到试剂1瓶中;再吸取340 μL 试剂1瓶中的血样注入已预热的蓝色试杯(事前加入0.2 mmol/L CaCl_2 20 μL),其余2通道吸10 μL 的试剂A到2,3通道的普通杯;加入10 μL 的ADP到通道3的小杯中;吸取360 μL 肝素化的全血注入通道到2,3通道的普通杯,反复吸取试杯中的血样3次使之混合;TEG软件根据检测水平自动计算出血小板ADP抑制率^[5]。

1.2.4 评定标准 ADP受体抑制率($\text{ADP}\%$) $\geq 75\%$ 为效果良好, $\geq 50\% \sim 70\%$ 为起效, $< 50\%$ 为效果欠佳。 $\geq 50\%$ 定义为药物敏感, $< 50\%$ 定义为药物不敏感。根据检测水平将患者分为氯吡格雷抵抗

组(CR)、氯吡格雷敏感组(clopidogrel sensitivity, CS)。比较两组患者临床资料的差异,分析引起 CR 的因素。

1.2.5 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件。计量资料采用均数±标准差表示,计量资料比较用独立样本的 *t* 检验,计数资料采用 χ^2 检验,组间比较用方差分析,所有显著检验均采用双侧检验,采用 Logistic 回归分析氯吡格雷抵抗的危险因素, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 CR 发生率

100 例患者均完成 1 周的氯吡格雷抗血小板聚集治疗,期间无死亡、脱失病例。其中 31 例患者出现 CR,均纳入氯吡格雷抵抗组,其余 69 例患者纳入对照组。

2.2 CR 的影响因素分析

氯吡格雷抵抗组患者 2 型糖尿病、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平、空腹血糖水平(FPG)显著高于对照组($P<0.05$)。2 组患者的年龄、性别、饮酒、吸烟、高血压病比例、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白水平(HDL-C)、糖化血红蛋白等无明显差异($P\geq 0.05$)(表 1)。

表 1 氯吡格雷抵抗组与对照组临床资料比较

项目	氯吡格雷抵抗组 (<i>n</i> = 31)	对照组 (<i>n</i> = 69)	<i>t</i> / χ^2	<i>P</i>
年龄(岁)	64.48±9.58	62.45±10.90	0.895	0.373
性别(男/女, <i>n</i>)	18/13	48/21	1.261	0.262
吸烟[<i>n</i> (%)]	10(32.3)	24(34.8)	0.061	0.805
饮酒[<i>n</i> (%)]	11(35.5)	21(30.4)	1.251	0.617
高血压病[<i>n</i> (%)]	17(54.8)	41(59.4)	0.184	0.668
2 型糖尿病[<i>n</i> (%)]	20(64.5)	7(10.1)	32.082	0.000
TG(mmol/L)	1.49±0.71	1.45±0.70	0.272	0.786
TC(mmol/L)	4.15±1.01	4.29±1.39	-0.519	0.605
LDL-C(mmol/L)	3.07±0.40	2.17±0.92	2.088	0.001
HDL-C(mmol/L)	1.28±0.31	1.24±0.40	0.507	0.613
FPG(mmol/L)	6.73±1.89	6.01±1.31	2.189	0.031
糖化血红蛋白(%)	6.59±1.10	6.15±1.02	1.953	0.054

注: TG 为甘油三酯(triglyceride, TG); TC 为总胆固醇(total cholesterol, TC); LDL-C 为低密度脂蛋白(low density lipoproteins, LDL-C); HDL-C 为高密度脂蛋白(high density lipoproteins, HDL-C); FPG 为空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)。

将上述有意义的单因素纳入多因素 Logistic 回归分析显示,2 型糖尿病($OR = 13.198, P<0.05$)、LDL-C 水平($OR = 0.349, P<0.05$)是引起 CR 的独立危险因素(表 2)。

表 2 氯吡格雷抵抗的多因素 Logistic 回归分析

指标	<i>B</i>	<i>S. E</i>	<i>Wald</i>	<i>df</i>	<i>P</i>	<i>OR</i>	95% <i>CI</i>
LDL-C	-1.052	0.532	3.908	1	0.048	0.349	0.123-0.991
2 型糖尿病	2.580	0.577	19.997	1	0.000	13.198	4.260-40.892
FPG	-0.190	0.180	1.110	1	0.292	0.827	0.581-1.178

3 讨论

血小板的激活在缺血性脑卒中的发病中起着重要作用,抗血小板聚集治疗抑制血小板的黏附、聚集和释放功能,从而阻抑血栓的形成。氯吡格雷是一种噻吩吡啶类抗血小板药物,其活性代谢产物与位于血小板上的 ADP 受体 P2Y12 不可逆性结合,直接抑制 ADP 与血小板表面的受体结合以及 ADP 介导的血小板糖蛋白 IIb/IIIa 复合物的活化而起到抑制血小板聚集的作用。虽然部分患者一直规律服用氯吡格雷,但仍有部分患者再发缺血性脑卒中,引起了人们对氯吡格雷抵抗的关注。Ang 等^[6]指出,糖尿病患者氯吡格雷低反应现象可能与纤维蛋白原的糖蛋白 II b/III a 受体增加密切相关。既往国内外文献报道指出氯吡格雷抵抗的临床发病率为 4%~38%,其波动范围与实验仪器、方法、采血时间及患者的基本情况、治疗药物有关^[7-8]。本研究发现急性脑梗死患者中氯吡格雷抵抗发生率约为 31%,与国内学者报道相符。氯吡格雷的抗血小板聚集作用受很多因素的影响,如 P2Y12 受体变异、个体差异、受体数量增加、ADP 释放增多或者其他引起血小板激活途径上调及胰岛素抵抗等。

大量研究证实,年龄、性别、吸烟、饮酒、高血压病、2 型糖尿病、高脂血症等均是脑梗死的危险因素,但这些因素是否会引起氯吡格雷抵抗,导致脑梗死事件的再发尚无统一认识。本研究通过单因素分析,发现氯吡格雷抵抗与 2 型糖尿病、LDL-C 水平、空腹血糖水平有关,而与年龄、性别、吸烟、饮酒、高血压病比例、甘油三酯、总胆固醇、高密度脂蛋白水平等无显著关系,这可能与本研究样本量小有关。进一步行多因素 Logistic 回归分析发现,2 型糖尿病($OR = 13.198, P<0.05$)、LDL-C 水平($OR = 0.349, P<0.05$)是引起氯吡格雷抵抗的独立危险因素,而空腹血糖($OR = 0.827, P>0.05$)影响较小,无统计学意义。且是否并发糖尿病这一自变量回归系数为正,OR 值为 13.198,为发生氯吡格雷抵抗的促进因素,也就是说糖尿病患者发生氯吡格雷抵抗的可能性更大。

越来越多的研究发现,糖尿病与氯吡格雷抵抗的发生存在一定的关系。Angiolillo 等^[9]发现,在糖尿病患者中 300 mg 氯吡格雷负荷量后续予 75 mg/d 的维持量与阿司匹林联合治疗方案,其血小板抑制率明显低于非糖尿病患者。应用 Lau 等^[10]的抵抗定义服药后 24 h 糖尿病与非糖尿病患者氯吡格雷半反应者的比例分别为 6%,14%,抵抗者的患者比例分别是 38%,8%,应用 Paul 等^[11]的抵抗定义,2 组患者氯吡格雷抵抗的发生率分别为 44%,17%。在同一作者的另一研究,观察到了同样的结果,给予糖尿病和非糖尿病的脑梗死患者同样剂量氯吡格雷治疗后 24 h 糖尿病患者和非糖尿病患者的氯吡格雷抵抗率分别为 44%和 17%,糖尿病可显著增加氯吡格雷抵抗的风险^[12]。本研究观察到氯吡格雷抵抗发生率为 31%,Ⅱ型糖尿病导致氯吡格雷抵抗的可能机制为(1)Ⅱ型糖尿病是一系列慢性炎症性疾病,慢性炎症刺激可使血管内皮细胞、单核—巨噬细胞等细胞的环氧化酶 2(cyclooxygenase-2, COX-2)表达上调,且糖尿病患者体内的氧化应激反应导致活性氧家族显著增加;(2)长期高血糖会导致血管内皮细胞的损伤,抑制前列环素合成并引起血栓素 A2 合成增加,从而提高血小板的聚集功能;(3)糖尿病患者的血小板表面膜蛋白糖基化水平较高,竞争性抑制膜蛋白的乙酰化,减弱氯吡格雷抗血小板聚集的效果。LDL-C 水平的升高也是氯吡格雷抵抗的危险因素,这可能与 LDL-C 可促进血小板、单核细胞的活化有关,高水平的 LDL-C 可刺激单核细胞与血小板的黏附,LDL-C 的代谢也可能和 P2Y12 基因多态性有关。有研究显示携带有缺陷性 CYP2C19 等位基因的患者表现出较低的氯吡格雷反应^[13],证实 CYP2C19 的突变与 CR 有关。而既往国内文献报道有糖尿病、LDL-C、血糖浓度异常的患者 CYP2C19 变异率高^[14],这些与国外文献报道一致^[15]。本研究显示,有无糖尿病、LDL-C、空腹血糖水平是氯吡格雷抵抗的独立危险因素,因此脂质代谢紊乱和长期高血糖可能通过 CYP2C19 基因突变导致氯吡格雷抵抗。

综上所述,本研究观察到Ⅱ型糖尿病,LDL-C 水平可影响急性脑梗死患者氯吡格雷发挥抗血小板聚集作用,导致氯吡格雷抵抗的发生,出现氯吡格雷抵抗的患者再发不良脑血管病事件的风险较高,临床上我们应该对发生急性脑梗死的患者进行抗血小板聚集药物疗效的监测,针对这部分患者制定个体

化的抗血小板聚集治疗方案。本研究的不足之处在于样本量较小,血小板抑制率的监测结果也会受其他因素的影响,尚需更长时间、大样本的临床观察来进一步研究明确,根据患者的临床特征及相关危险因素,及时发现氯吡格雷抵抗的患者,适时调整治疗方案,减少不良脑血管病事件的发生。

参 考 文 献

- [1] Shulga O, Bornstein N. Antiplatelets in secondary stroke prevention[J]. Front Neurol, 2011, 2(36): 1-6.
- [2] Chen ZM, Jiang LX, Chen YP, et al. Addition of clopidogrel to aspirin in 45,852 patients with acute myocardial infarction: randomised placebo-controlled trial [J]. Lancet, 2005, 366(9497): 1607-1621.
- [3] 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.
- [4] 中华医学会神经科学会. 全国第四届脑血管病学术会议各类脑血管疾病诊断要点[J]. 中华神经科杂志, 1996, 29(6): 376-380.
- [5] 刘玲, 侯华娟, 刘亚红, 等. 用血栓弹力图评价阿司匹林及氯吡格雷在缺血性卒中患者中血小板抑制效应的研究[J]. 中风与神经疾病杂志, 2012, 29(5): 446-449.
- [6] Ang L, Palakodeti V, Khalid A, et al. Elevated plasma fibrinogen and diabetes mellitus are associated with lower inhibition of platelet reactivity with clopidogrel[J]. J Am Coll Cardiol, 2008, 52(13): 1052-1059.
- [7] Feher G, Feher A, Pusch G, et al. Clinical importance of aspirin and clopidogrel resistance[J]. World J Cardiol, 2010, 2(7): 171-186.
- [8] 石红婷, 周伯荣, 王融, 等. 氯吡格雷抵抗在脑梗死患者中的动态观察[J]. 中国卒中杂志, 2012, 7(11): 852-857.
- [9] Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, et al. Platelet function profiles in patients with type 2 diabetes and coronary artery disease on combined aspirin and clopidogrel treatment [J]. Diabetes, 2005, 54(8): 2430-2435.
- [10] Lau WC, Gurbel PA, Watkins PB, et al. Contribution of hepatic cytochrome P450 3A4 metabolic activity to the phenomenon of clopidogrel resistance[J]. Circulation, 2004, 109(2): 166-171.
- [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] Liu XL, Wang ZJ, Yang Q, et al. Impact of CYP2C19 polymorphism and smoking on response to clopidogrel in patients with stable coronary artery disease[J]. Chin Med J, 2010, 123(22): 3178-3183.
- [13] 石红婷, 周伯荣, 王融, 等. 脑梗死患者 P2Y12 与 CYP2C19 基因突变的临床学特征及其氯吡格雷动态抵抗的相关性[J]. 中风与神经疾病杂志, 2014, 10(31): 871-875.
- [14] Wang Y, Wang Y, Zhao X, et al. Clopidogrel with aspirin in acute minor stroke or transient ischemic attack [J]. N Engl J Med, 2013, 369(1): 11-19.