

# 抗血小板藥物 (Thienopyridine) 效果的床邊檢驗

(亞東醫院臨床病理科) 李任光 醫師

雙重抗血小板藥物治療 (dual antiplatelet therapy) 在心血管病人的治療上具有相當重要的角色，跟單一使用 aspirin 比較起來，併用 aspirin 與 thienopyridine 在 ST 波段上升心肌梗塞與非 ST 波段上升的急性冠心症病人皆可以有效的改善臨床預後。此外，若接受藥物支架置放的病人提早停止使用雙重抗血小板藥物治療，可以發現與支架血栓有非常顯著的相關性，因此大大提升了雙重抗血小板藥物在心血管疾病治療的重要性。在台灣最常用的 thienopyridine 為 clopidogrel，雖然它的效果在許多研究上皆很顯著，但是它的藥物動力學在不同的病患上卻有相當的不同，更重要的是有越來越多的研究顯示，若在病人身上的藥物動力學效果不足，這將

與未來發生缺血性心血管事件息息相關。藉由這些發現，越來越多的研究關注於血小板功能的床邊檢驗 (point-of-care testing)，用來確認與治療心血管疾病高危險群的病人，目前有數種床邊檢驗的工具用來評估血小板功能 (Table 1)。這篇文章我們將簡單的介紹數種目前常見及重要的血小板功能床邊檢驗，以及它們的臨床應用。

## Platelet Function Assay-100

Platelet Function Assay-100 (PFA-100) 利用全血通過光圈後閉塞的時間來評估血小板功能；此儀器裏面有一個帶有薄膜的洞孔，膜上塗有 collagen/ADP 或是 collagen/epinephrine，全血流動時在高剪應力的狀況

Table 1. Platelet Function Assays for the Effect of Thienopyridines Currently Available in the United States

Assay	Components	Measurement	Assay Limitations	Clinical Data
PFA-100	Analyzer device, disposable cartridge	Time to occlusion of aperture in collagen/ADP-coated membrane under high shear stress conditions	Cannot distinguish thienopyridine effect	No
Plateletworks	ICHOR cell counter, EDTA tube, ADP tube	Difference in single platelet counts after stimulation with ADP vs baseline	Results highly dependent on time between sample collection and testing	No
VerifyNow P2Y12	Instrument, disposable cartridge	Agglutination of fibrinogen-coated beads by platelets in the presence of ADP and PGE <sub>1</sub>	Potential inaccuracy of surrogate measurement of percent inhibition without baseline preclopidogrel sample	Yes
TEG platelet mapping	Instrument, computer interface, software, reagents, disposable pin and cup	Platelet contribution to clot strength with ADP stimulation	Method requires substantial manual pipetting of several reagents and blood sample	Yes

TEG indicates thrombelastography.

下，血小板會逐漸凝集，並進一步導致洞孔閉塞，儀器會紀錄洞孔閉塞的時間為關閉時間（closure time）。PFA-100 的檢驗結果報告為 5 至 8 分鐘。雖然 PFA-100 使用的檢體為全血，因此不需要並不需要做檢體製備，但是檢體必須手動地用吸注器加至 PFA-100 儀器裡，使得 PFA-100 為近似床邊檢測的檢驗。PFA-100 可以用於檢測懷疑初級凝血功能異常的病人，然而在許多研究中發現 PFA-100 collagen/ADP 並無法正確偵測出病人服用 clopidogrel 後血小板功能抑制的不同程度；因此，目前的 PFA-100 並無法拿來用作檢測服用 thienopyridine 後抗血小板功能程度的儀器。

### Plateletworks

Plateletworks 利用血小板聚集的特性直接測量全血中血小板功能被抑制的百分比。首先，會從含 EDTA 的全血樣本中計算血小板計數測量。然後，為了評估 P2Y<sub>12</sub> 受體拮抗劑的效果，會再次測量第二個全血檢體，置在含有 20 mole ADP/sodium citrate；在有 ADP 的存在下，不被 thienopyridine 抑制的血小板會被活化，進而凝集成塊，接著再重新一次血小板技術測量，超過閾值大小（30FL）的血小板將不會被算作第二個樣本中的血小板；藉由比較第一與第二個樣本數量的差異，可以血小板凝集的測量，而彼此之間的比例就是血小板被抑制的比例。此儀器檢測結果與傳統測量血小板功能的黃金標

準：light transmitted aggregometry（LTA）具有高度相關性。然而，若檢驗於檢體採集十分鐘以後才進行，則檢驗結果會被高估，因為它和時間變化有高度相關性。由於時間的限制，並不容易拿來做臨床常規檢驗應用。除此之外，它的結果與已經在服用 thienopyridine 藥物的病人的心血管不良事件預後尚未被研究證實，因此目前此檢驗尚無證據被拿來做臨床服用 thienopyridine 藥物病人的血小板功能篩檢。

### VerifyNow P2Y<sub>12</sub> Assay

VerifyNow 是一套利用光學偵測檢體中濁度的程度來計算血小板造成的凝集。檢測設備包含塗有纖維蛋白原的磁珠、血小板活化劑和緩衝液。同樣是使用病人的全血，採血管裡面的血會自動分至檢驗儀器中，裡面含有 20 mol ADP 和 22 nmol prostaglandin E<sub>1</sub>（PGE<sub>1</sub>），可以減少經由刺激 P2Y<sub>1</sub> receptor 而造成的血小板凝集。VerifyNow 測量血小板凝集的方式是經由光線通透的增加程度來決定；儀器裡的第二的通道含有 isothrombin receptor-activating peptide（iso-TRAP），儘管在 clopidogrel 或 aspirin 等抗血小板藥物的使用下，仍然可以劇烈的活化血小板造成血液凝集，並將此視為血小板最大的凝集能力，如此一來藉由兩個 channel 的比較，就可以算出此病人血小板能力被 thienopyridine 藥物抑制的百分比。

VerifyNow 易於使用，被視為是一個簡

易的床邊檢驗 (point-of-care testing)，但要注意檢體上機的時間必須於檢體抽出後十分鐘，四小時內加以檢驗。此外要注意的是這個檢查方法是利用凝集珠上的纖維蛋白原造成血小板凝集，所以在有 IIb/IIIa 的狀況下無法檢驗 P2Y12 antagonist 的效力。VeriNow 與傳統檢驗血小板功能的 light transmitted aggregometry (LTA)，在檢驗服用 clopidogrel 之後的血小板功能凝集變化具有良好的相關性，但是他的動態檢驗範圍較 LTA 來的窄。有三個前瞻性的研究顯示 VerifyNow 的 ROC 曲線分析，Patti 等人檢視了 160 個接受冠狀動脈心導管治療 (PCI) 的病人，他們 VerifyNow 檢驗的血小板殘餘活性與 30 天重大心血管不良事件具有顯著的相關性，利用 ROC 曲線可以將病人分出會發生與不會發生 30 天重大心血管不良事件兩個族群，主要是 PCI 相關造成的心肌梗塞為主 (area under curve= 0.69, P=0.016)，若將 PRU 設為 240 被認為是最適當的分界線用來預測 30 天重大心血管不良事件，敏感度為 81%，特異度為 53%。除此之外，若將病人依 PRU 高低分為四個群組，也可發現不良事件與 PRU 有一個隨劑量增加的關係，發生率逐漸增加。Price 等人前瞻性地檢視了 380 個病人接受心導管治療併藥物塗置支架的置放，VerifyNow 亦可以有效地區分病人在六個月內是否發生死亡、非致命性心肌梗塞，與支架栓塞 (area under curve=0.72, P=0.02)，PRU 最適當的分界線是 235，敏

感度是 78%，特異度是 70%。Marcucci 等人則是檢視了 683 個急性冠心症接受心導管治療的病人，VerifyNow 利用 PRU240 分界可以預測 12 個月後的死亡與非致命性心肌梗塞，這與之前 Patti 和 Price 的發現一致 (Figure)，因此 VerifyNow 可以被認為是評估服用 clopidogrel 後檢驗血小板抑制功能的良好工具 (Table 2)。

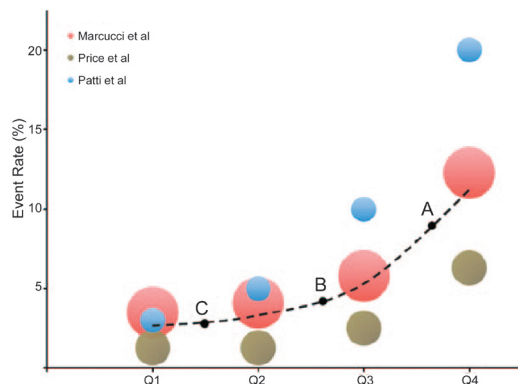


Figure. Relation between cardiovascular event rates and residual platelet reactivity after clopidogrel exposure stratified by quartile (Q) of PRU in 3 prospective observational studies using the Accumetrics VerifyNow P2Y12 assay (Patti et al [n=160], Price et al [n=380], and Marcucci et al [with additional data from personal communication; n=683]). Higher quartiles indicate greater residual platelet reactivity within the population. Bubble size reflects the relative size of the study. Dashed line indicates a hypothetical risk curve based on pooled event rates. The absolute risk reduction from driving platelet reactivity from point A to point B (from high residual reactivity to approximately the mean residual reactivity after clopidogrel exposure) may be large compared with point B to point C (from mean residual reactivity to more extreme P2Y12 inhibition). Therefore, if bleeding risk increases with increasing P2Y12 inhibition (as seen in trials of potent P2Y12 inhibitors), many patients on clopidogrel therapy may have little net benefit (or have net harm) from greater P2Y12 inhibition. This hypothesis must be examined in prospective clinical trials.

Table 2. Prospective Studies Examining the Relationship Between the VerifyNow P2Y12 Assay and Clinical Outcome After PCI

Study	n	Procedure Indication	Primary End Point	Duration of Follow-Up	Diagnostic Cutoff	Derivation of Cutoff
Buch et al <sup>36</sup>	330	Elective	Magnitude of CK-MB elevation	16 h	No correlation observed	NA
Cuisset et al <sup>37</sup>	122	Elective	Troponin I >3 times ULN	24 h	<15%*	Lowest quartile
Patti et al <sup>40</sup>	160	ACS in 54%	CV death, MI, TVR	30 d	PRU $\geq$ 240	ROC curve
Price et al <sup>41</sup>	380	Elective	CV death, MI, ST	6 mo	PRU $\geq$ 235	ROC curve
Marcucci et al <sup>42</sup>	683	ACS	CV death, MI	12 mo	PRU $\geq$ 240	ROC curve

CK-MB indicates creatine kinase-MB; ULN, upper limit of normal; CV, cardiovascular; TVR, target vessel revascularization; and ST, stent thrombosis.

\*Estimated inhibition provided by ratio of ADP and Iso-TRAP channels.

## 結論

儘管 clopidogrel 的臨床效益相當重要，但是許多地實驗室檢驗已經發現在不同的人身上，它的抗血小板功能也有顯著的不同，從以往的研究我們知道若對 clopidogrel 的反應不佳，或是殘餘血小板凝集功能很高的話，在做過心導管治療的人身上是一個重要的危險因子，有可能造成重大心血管不良事件。血小板的床邊檢驗提供了一個可能的工具，來幫助臨床醫師做許多治療上的決策。這些檢查最好是可以過往的研究所證實是可

以信賴的，並且有明確的數值分界，來改善病人的臨床預後，而目前的床邊檢驗工具還有待更多的大型研究來支持這樣的想法，一些觀察性的研究顯示，VerifyNow 的結果似乎可預測服用 clopidogrel 病人接受心導管手術的臨床預後，當然這需要更多更大型的臨床試驗來證明。除此之外，血小板功能的檢驗也可以提供心臟科醫師在未來有更多地抗血小板藥物時，臨床決策上選擇的客觀依據。

