

冠心病高血压合并高血糖患者出现氯吡格雷抵抗:涉及血小板 ATP 含量增高及线粒体膜电位降低

黄婷婷¹, 苗立夫¹, 易军², 任艺虹²

(1.清华大学第一附属医院 北京华信医院心内科,北京市 100016;2.解放军总医院心内科,北京 100853)

[关键词] 血小板; 氯吡格雷抵抗; 高血糖; 三磷酸腺苷; 线粒体膜电位

[摘要] **目的** 从血小板能量代谢角度分析,以分子生物学指标检测为手段,分析高血糖诱发氯吡格雷抵抗(CR)的原因。**方法** 随机纳入确诊为冠心病(CAD)且伴有高血压(HPT)的患者 122 例,根据血栓弹力图(TEG)中 ADP 途径抑制率的 50%为界限,将患者分为氯吡格雷低反应组(LRG)和氯吡格雷反应组(RG)。成功取样进入实验的 LRG 中合并高血糖患者 19 例(合并高血糖组);RG 中无糖尿病并此次入院糖耐量试验正常者 20 例(无高血糖组)。采取荧光素/荧光素酶法检测新鲜血液血小板 ATP 含量及流式细胞仪技术测血小板线粒体膜电位($\Delta\psi_m$)。比较合并高血糖组与无高血糖组血小板 ATP 含量及 $\Delta\psi_m$ 差异,多元逐步回归分析其与各基线参数的相关性。**结果** 合并高血糖组患者血小板 ATP 含量明显高于无高血糖组(4.369 ± 2.174 比 1.628 ± 0.452 mmol/g, $P < 0.001$),而血小板线粒体膜电位($\Delta\psi_m$)前者则显著低于后者(0.484 ± 0.118 比 2.381 ± 0.194 , $P < 0.001$)。逐步回归分析显示,糖化血红蛋白(HbA1c)与血小板 ATP 含量呈正相关($\beta = 1.235$; $P = 0.000$),与 $\Delta\psi_m$ 呈负相关($\beta = -0.54$; $P = 0.000$)。患者年龄也列入回归方程($\beta = 0.03$; $P = 0.006$),但不如 HbA1c 与 $\Delta\psi_m$ 的相关性显著。**结论** 高血糖促使血小板产生更多的 ATP,导致血小板活性增高,使合并高血糖的冠心病高血压患者更易发生氯吡格雷抵抗。同时,高血糖使血小板 $\Delta\psi_m$ 降低,促进血小板提早凋亡,间接诱发 CR 可能。

[中图分类号] R541.4, R544.1

[文献标识码] A

Clopidogrel resistance in coronary artery disease and hypertension patients with high blood sugar: involving increased platelet ATP content and mitochondrial membrane potential decreased

HUANG Ting-Ting¹, MIAO Li-Fu¹, YI Jun², REN Yi-Hong²

(1. Department of Cardiology, the First Hospital of Tsinghua University, Beijing Huaxin Hospital, Beijing 100016, China; 2. Department of Cardiology, General Hospital of Chinese People's Liberation Army, Beijing 100853, China)

[KEY WORDS] Platelet; Clopidogrel resistance; High blood glucose; Adenosine triphosphate; Mitochondrial membrane potential

[ABSTRACT] **Aim** To find the causes of clopidogrel resistance caused by high blood glucose from the view of platelet energy metabolism by detection of molecular markers. **Methods** About 122 patients with coronary artery disease (CAD) accompanying hypertension (HPT) were randomly analyzed. The patients were divided into low response group (LRG) and response group (RG) according to the inhibition of their platelet through the way of ADP inhibition rate in thrombelastogram (TEG). 19 cases (hyperglycemia group) were randomly selected from the group of LRG with hyperglycemia, and 20 cases (no hyperglycemia group) were randomly selected from the group of RG without diabetes or with normal glucose tolerance test. Fresh platelets were isolated for ATP and mitochondrial membrane potential ($\Delta\psi_m$) analysis. ATP contents were determined by luciferin/luciferase luminometric method, and the flow cytometry technique was adopted to evaluate $\Delta\psi_m$. In all participants correlation between platelet ATP content, $\Delta\psi_m$ and other variables was analyzed by a multivariable stepwise regression. **Results** Platelet ATP contents were significantly higher in hyperglycemia group (4.369 ± 2.174 mmol/g) than in no hyperglycemia group (1.628 ± 0.452 mmol/g; $P < 0.001$). Interestingly, $\Delta\psi_m$

[收稿日期] 2017-06-08

[修回日期] 2017-07-05

[作者简介] 黄婷婷,硕士研究生,研究方向为冠心病抗血小板治疗,E-mail 为 christinehuang@126.com。通讯作者任艺虹,博士,主任医师、教授,博士研究生导师,研究方向为冠心病诊治,E-mail 为 rainbowren301@163.com。

was markedly decreased in patients of hyperglycemia group (0.484 ± 0.118) compared with no hyperglycemia group (2.381 ± 0.194 ; $P < 0.001$). For whole subjects, a liner stepwise regression showed that plasma glycated hemoglobin A1c (HbA1c) level was positively correlated to platelet ATP content ($\beta = 1.235$; $P = 0.000$), and negatively correlated to $\Delta\psi_m$ ($\beta = -0.54$; $P = 0.000$). Although, the age of the patients was involved in the regression equation, but significant correlation ($\beta = 0.03$; $P = 0.006$) was found between $\Delta\psi_m$ and HbA1c instead of age. **Conclusion** High blood glucose leads platelet to produce more ATP, resulting in increased platelet activity, making it easier for patients with high blood glucose to develop Clopidogrel resistance (CR). At the same time, high blood glucose reduces the $\Delta\psi_m$ of platelets, promoted early apoptosis, indirect CR may be induced.

抗血小板治疗是心血管疾病抗栓治疗的基石。阿司匹林联合氯吡格雷普遍应用于临床,明显减少心血管事件的发生率,降低支架内血栓形成的风险。然而,仍有部分患者在接受规范双联抗血小板治疗的同时,发生缺血或血栓事件。因此,抗血小板药物抵抗引起了人们的关注,而氯吡格雷抵抗(clopidogrel resistance, CR)在临床中尤为常见。氯吡格雷是噻吩吡啶类衍生物,本身无活性,体内吸收后经肝酶系统氧化代谢为活性产物,选择性、不可逆地抑制 ADP 与血小板膜表面的 P2Y₁₂ 受体结合,阻断 ADP 对腺苷酸环化酶的抑制作用,促进环磷酸腺苷(cAMP)依赖的舒血管物质刺激磷酸蛋白(VASP)的磷酸化,间接抑制膜糖蛋白 GP II b/III a 受体与纤维蛋白原结合,阻断了由释放的 ADP 引起的血小板活化的扩增,从而抑制血小板相互聚集^[1]。目前,有关氯吡格雷抵抗尚无明确且被普遍接受的标准,通常认为应该包括临床事件和实验室检查两方面含义。国际上多通过测定血小板聚集率来定义实验性氯吡格雷抵抗,不同研究者定义氯吡格雷抵抗的血小板抑制率略有差别。目前多采用 20 $\mu\text{mol/L}$ ADP 诱导的血小板聚集率基础值(用药前)与用药后差值 $< 10\%$ 为氯吡格雷抵抗, $10\% \sim 29\%$ 为不完全抵抗, $> 30\%$ 为敏感。但是,由于采用测量血小板聚集度的技术方法不同、致聚剂及浓度不同及比较时间不同等影响因素,在各个试验中报道的氯吡格雷抵抗发生率差异较大,一般在 $4\% \sim 44\%$ 之间^[2-3]。目前,用于检测血小板聚集率的实验室方法也是多种多样^[4]: 透光率集合度测定(LTA)、全血血小板聚集性测定(电阻抗法)、血小板功能分析仪(PFA-100)、流式细胞仪及 Verifynow P2Y₁₂ 分析、血栓弹力图(TEG)等,其中 LTA 测定的 ADP 诱导的最大血小板聚集率是最常用的方法。

当然,影响氯吡格雷抵抗的因素多种多样,至今也未形成统一的标准定义,其发生机制也尚不明确。研究证实,糖尿病患者的血小板聚集及活化增

强,可能与血栓烷素 A₂ 和过氧化脂质的过度合成及血小板活化因子的增多有关^[5],但其潜在的机制并不十分清楚。血小板的聚集、活化都依赖于 ATP 代谢的能量消耗过程,作为无核细胞的血小板,其能量的产生主要来源于线粒体的氧化呼吸,而血小板线粒体膜电位($\Delta\psi_m$)则是衡量血小板合成 ATP 储备能力的指标。对于糖尿病患者,其血小板的过度激活可能与血液中过多的葡萄糖进入到血小板内而合成大量 ATP 有关。所以,本研究大胆假设:糖尿病患者血小板活性升高与高血糖致血小板产生大量 ATP 有关,并因过度激活而致使血小板能量储备力降低,试图从能量代谢的角度来探讨合并高血糖患者血小板活性增强的可能机制。现报道如下。

1 资料和方法

1.1 病例选择

随机纳入 2015 年 10 月~2016 年 4 月收入解放军总医院心内科诊断为冠心病(coronary artery disease, CAD)且伴有高血压(hypertension, HPT)的 122 例患者(男 95 例,女 27 例)。根据血栓弹力图(thrombelastogram, TEG)中 ADP 途径抑制率的 50%为界限,将患者分为氯吡格雷低反应组(low response group, LRG)和氯吡格雷反应组(response group, RG)。最后成功取样进入实验的 LRG 中合并高血糖患者 19 例(合并高血糖组),男 13 例,女 6 例;RG 中无糖尿病并此次入院糖耐量试验正常者 20 例(无高血糖组),男 12 例,女 8 例。

合并高血糖组入选标准:血糖异常者包括已明确诊断为 2 型糖尿病、长期接受口服降糖药或胰岛素治疗的患者,及此次入院糖耐量实验结果示空腹血糖受损(空腹血糖 $\geq 6.1 \text{ mmol/L}$, 糖负荷后 2 h 血糖 $\leq 7.8 \text{ mmol/L}$)或糖耐量异常(空腹血糖 $\leq 6.1 \text{ mmol/L}$, 糖负荷后 2 h 血糖 $\geq 7.8 \text{ mmol/L}$)的患者。无高血糖组

患者空腹血糖、餐后血糖及糖化血红蛋白均处于正常范围内,即空腹血糖(fast plasma glucose, FBG) < 6.1 mmol/L,餐后血糖(postprandial plasma glucose, PPG) < 7.8 mmol/L,糖化血红蛋白(glycated hemoglobin A1c, HbA1c) < 6.0%。

排除标准:合并明显的糖尿病并发症:糖尿病神经病变,糖尿病视网膜病变,糖尿病肾病(每天尿排泄蛋白 > 30 mg),糖尿病足,合并感染等。

1.2 仪器、试剂及配剂

高速低温离心机(Sigma 3K-18,美国);核酸蛋白测定仪(Pharmacia, Amersham Biosciences, 瑞典);血细胞分析仪(BC-3000 Plus, 迈瑞, 中国);-80℃冰箱(MDF-U53V, SANYO Electric, 日本);恒温振荡器(H2S-H 水浴振荡器, 东联电子技术开发有限公司, 中国);生物发光检测仪(Centro/CentroXS3LB960, BERTHOLD, 德国);96孔板(Eppendorf 96, 德国);流式细胞仪(FACS Calibur, BD, 美国)。

血小板洗液:140 mmol/L NaCl 溶液, 15 mmol/L NaHEPES 缓冲液(pH 7.4), 0.1 mmol/L EDTA, 5 mmol/L 葡萄糖溶液。血小板孵育液:20 mmol/L NaHEPES 缓冲液(pH 7.4), 140 mmol/L NaCl 溶液, 5.0 mmol/L KCl 溶液, 2.5 mmol/L 磷酸钠缓冲液(pH 7.4)。线粒体染色剂:JC-1 (5, 5', 6, 6' - Tetra-chloro-1, 1', 3, 3'-tetraethyl-imidacarbocyanine iodide, Sigma, St. Louis, USA)用二甲基亚砜(DMSO)溶液配成 1 g/L 的浓度。ATP 检测试剂盒(ENLITEN ATP Assay System FF2000, Promega, 美国)。

1.3 标本采集

所有患者均于 PCI 术后第 2 日,使用 BD 公司 EDTA-K2 抗凝管(BD Franklin Lakes NJ, USA)采静脉血 6 mL,于常温下 2 h 内分离纯化血小板,即富血小板血浆(platelet rich plasma, PRP)保存于-80℃冰箱待用。

1.4 分离纯化血小板

常温下采取新鲜 EDTA 抗凝全血,置于 4℃ 低温离心机,150 g 离心 15 min,取上清于 4℃ 500 g 离心 15 min,弃上清;将所得沉淀用等量血小板洗液重悬,4℃ 500 g 离心 15 min,再次用等量血小板洗液重悬,取少量 PRP 测血小板计数及蛋白浓度^[6]。

1.5 维持血小板稳态

取约含 0.7~0.8 mg 蛋白的 PRP,加入一定量血小板孵育液使液体终体积为 1.5 mL,置于 37℃ 水浴恒温振荡器中,以 100 cycles/min 速度孵育 30 min。

置于-80℃冰箱保存待用(最多 1 周),待收集完足够样本量。

1.6 提取血小板 ATP

取 0.5 mL PRP 加入冰浴 EP 管,0℃ 12000 g 离心 1 min,取絮状沉淀加 0.1 mL 双蒸馏水重悬,沸水煮 3 min 去蛋白,再次 12000 g 离心 1 min,取上清测 ATP 含量。

1.7 生物发光法测血小板 ATP 含量(避光)

制备 ATP 标准曲线:加 10 μL 无 ATP 水到含 100 μL 荧光素酶的板孔测 ATP 背景值,再分别测 1×10^{-11} mol/L ~ 1×10^{-7} mol/L 浓度的 ATP 标准品(各 10 μL 加到含 100 μL 荧光素酶的板孔)对应的相对光强度值(RLU),绘制标准曲线^[7]。

测各样本血小板 ATP 对应的 RLU:取提取完 ATP 的各样本 10 μL 分别加入到含 100 μL 荧光素酶的板孔。

1.8 流式细胞仪测线粒体膜电位($\Delta\psi_m$)

暗室中,取 2 μL 浓度为 1 g/L JC-1 用 PBS 稀释,加入到一定量 PRP 中,使血小板计数调整为 1.6×10^{11} 个/L(终体积为 1.5 mL),常温孵育 20 min。流式细胞仪参数设置 FL1 PMT 为 525BP, FBL2 PMT 为 575BP^[8]。

1.9 数据分析

根据 ATP 标准品测定 RLU 绘制标准曲线,结合各样本所得 RLU 值计算各样本 ATP 含量。采用 FCS EXPRESS V3 软件对流式细胞仪测得数据分析:用左上象限与右下象限的比值来表示线粒体的去极化状态,即线粒体膜电位($\Delta\psi_m$)。采用 SPSS17.0 统计软件,对两组参数进行正态性检验,并对两样本计数资料采用 χ^2 检验,计量资料采用两独立样本 t 检验(计数资料采用率和百分比表示,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示)。采取多变量线性逐步回归分析血小板 ATP 含量及 $\Delta\psi_m$ 分别与其他变量之间的相关性。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 基线资料

两组患者在性别、年龄、体质指数、血脂、脂蛋白、血小板含量及其形态方面差异无显著性,而合并高血糖组患者虽长期接受口服降糖药或胰岛素治疗,空腹血糖及 HbA1c 均明显高于无高血糖组($P < 0.05$,表 1)。

表 1. 两组患者基线资料比较($\bar{x}\pm s$)

Table 1. The baseline data of the two groups were compared ($\bar{x}\pm s$)

指标	合并高血糖组 (n=19)	无高血糖组 (n=20)	P 值
男/女	13/6	12/8	0.595
年龄(岁)	59.05±8.41	61.65±7.99	0.329
BMI(kg/m ²)	25.89±3.24	25.15±3.40	0.492
FPG(mmol/L)	6.90±1.45	5.65±1.14	0.005
HbA1c(%)	7.72±1.31	5.35±1.14	0.000
TG(mmol/L)	1.49±0.43	1.56±0.83	0.776
TC(mmol/L)	3.70±1.07	3.87±0.89	0.592
HDLC(mmol/L)	0.93±0.22	1.04±0.29	0.217
LDLC(mmol/L)	2.26±0.94	2.31±0.67	0.848
PLT(×10 ⁹ 个/L)	205.89±82.73	188.65±32.93	0.406
MPV(fL)	10.11±1.61	9.9±1.44	0.685

2.2 计算血小板 ATP 含量和 $\Delta\psi_m$

根据检测试剂盒中 ATP 标准品测定对应荧光强度值绘制 ATP 标准曲线,由 SPSS17.0 统计软件计算出线性回归方程:Y(ATP 含量) = (9.986 × 10⁻¹⁴) × X(RLU)。将所测各标本 RLU 代入方程计算出 ATP 浓度值。血小板 $\Delta\psi_m$ 由流式细胞仪分析图的左上象限荧光百分比与右下象限荧光百分比的比值计算得出^[8],见图 1。

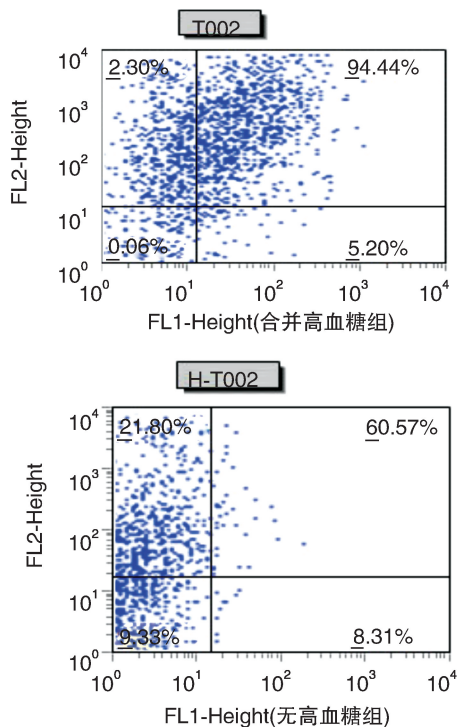


图 1. 两组流式细胞仪分析典型 $\Delta\psi_m$ 图
Figure 1. Two groups of cells in the analysis of typical $\Delta\psi_m$ figure

2.3 两组血小板 ATP 含量及 $\Delta\psi_m$ 差异性分析

从图 2 可见,合并高血糖组血小板较无高血糖组生产更多的 ATP(4.369±2.174 mmol/g 比 1.628±0.452 mmol/g; $P<0.001$);前者血小板线粒体膜电位明显低于后者(0.484±0.118 比 2.381±0.194; $P<0.001$)。

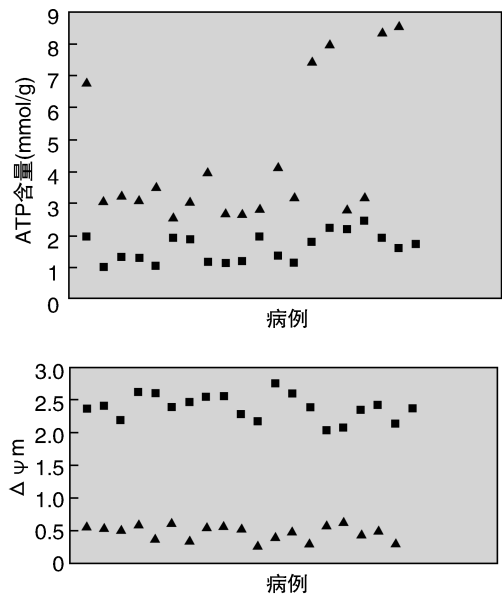


图 2. 两组血小板 ATP 含量和 $\Delta\psi_m$ 散点分布图 ■为无高血糖组;▲为合并高血糖组。
Figure 2. Scatter plot of platelet ATP content and $\Delta\psi_m$ in the two groups

2.4 血小板 ATP 含量及 $\Delta\psi_m$ 同各基线参数相关性分析

在性别、年龄、体质指数(BMI)、空腹血糖(FPG)、糖化血红蛋白(HbA1c)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白(HDLC)、低密度脂蛋白(LDLC)、血小板含量(PLT)及平均血小板体积(MPV)各参数中,HbA1c 与血小板 ATP 含量呈正相关($\beta = 1.235$; $P = 0.000$),与 $\Delta\psi_m$ 呈负相关($\beta = -0.54$; $P = 0.000$)。虽 $\Delta\psi_m$ 与患者年龄呈正相关($\beta = 0.03$; $P = 0.006$),但较 HbA1c 而言其相关性并非十分显著(表 2,表 3)。

3 讨论

与文献[9-10]研究结果一样,本研究并未发现合并高血糖的患者在血小板计数、血小板平均容积等形态学参数方面同血糖正常患者有显著性差异。也同样和文献[11-15]研究结果一样,高血糖患者更

表 2. 血小板 ATP 含量与各参数相关性多元逐步回归分析结果

Table 2. The content of platelet ATP was analyzed and the results were analyzed

项 目	β 值	标准化 β 值	t 值	P 值
常量	-5.066	—	-7.998	0.000
HbA1c	1.235	0.906	13.008	0.000

表 3. 血小板 Δψm 与各参数相关性多元逐步回归分析结果
Table 3. Platelet Δψm correlation between the parameters and multiple stepwise regression analysis results

项 目	β 值	标准化 β 值	t 值	P 值
常量	3.148	—	4.499	0.000
HbA1c	-0.540	-0.840	-9.587	0.000
年龄	0.030	0.253	2.891	0.006

易发生氯吡格雷抵抗。从本研究结果显示,高血糖对血小板活性的影响主要表现在高聚集、高活化等功能障碍方面。

线粒体是血小板产生能量的主要场所,也是血小板激活、黏附、聚集等实现活化的主要能量来源。因此,血糖在血小板内氧化磷酸化产生过量 ATP 可能与合并高血糖患者血小板的过度激活相关。本研究证实,合并高血糖患者较无高血糖组血小板内合成较多的 ATP,且仅与糖化血红蛋白呈正相关。因此,高血糖是血小板产生大量 ATP 的关键性因素。众所周知,葡萄糖在细胞胞浆内经糖酵解产生乙酰辅酶 A 进入线粒体内进行氧化磷酸化,最终产出大量 ATP 直接供能。Michno 等^[16]研究指出,血小板内乙酰辅酶 A 的大量蓄积可能会导致线粒体产生大量 ATP。Heptinstall 等^[17]报道,激活合成乙酰辅酶 A 的关键酶可使糖尿病患者血小板合成乙酰辅酶 A 增加近 86%。本研究合并高血糖组较无高血糖组血小板 ATP 含量增高 86.6%,接近于 Heptinstall 等^[17]报道的乙酰辅酶 A 增加的比例。由此推出,在合并高血糖的冠心病高血压患者身上表现出血小板高活性氯吡格雷抵抗现象的根本原因不是血脂或其他因素的影响,而是高血糖。

本研究采用 JC-1 染料,运用流式细胞技术来量化血小板线粒体膜电位,同血浆膜电位相比更具特异性。因为 JC-1 是反映线粒体膜蓄积电位的碱性阳离子染料,主要依据红绿荧光比计算线粒体膜电位,不受线粒体大小、形状及细胞内密度的影响^[18]。所以更能客观的反映血小板线粒体膜电位的变化。

线粒体是细胞的动力工厂,是促进细胞能量转

换的细胞器和中心,在氧化呼吸的过程中形成膜电位。线粒体膜电位由线粒体膜两侧质子梯度产生,ATP 合成酶则利用跨膜质子梯度能量合成 ATP^[19]。因此,正常的线粒体膜电位是维持线粒体氧化磷酸化、产生 ATP 的前提,是保持线粒体功能所必须的。

血小板线粒体膜电位的高低反映血小板能量储备力的大小。本研究中,虽然合并高血糖组血小板 ATP 含量较无高血糖组显著增加,但线粒体膜电位却显著低于无高血糖组,且与糖化血红蛋白呈显著负相关,而线粒体膜电位降低是细胞凋亡早期的不可逆事件^[20],为凋亡的特征性改变^[21]。说明高血糖患者血小板提前进入程序性凋亡期,寿命相对缩短。

由此推断,合并高血糖患者出现血小板提早凋亡的现象是否促进了骨髓生产大量血小板的代偿,而加剧了机体对抗血小板药物抵抗的发生?本研究单一,样本量小,需进一步大样本研究来明确此推断。

目前,随着普拉格雷、替格瑞洛等新一代 ADP 受体拮抗剂的出现,使患者血小板的反应性显著降低,明显减少心血管不良事件的发生率^[22]。因此,对于极易发生氯吡格雷抵抗的这部分合并高血糖的心血管病患者来说,可以选用药物抵抗发生率小的新一代 ADP 受体拮抗剂。

致谢

特在此向最尊敬的导师任艺虹教授给予我的悉心指导和帮助表示最真挚的感谢!此项研究是在恩师的亲切关怀和悉心指导下完成的。她严肃的科学态度,严谨的治学精神,精湛的医术和高尚的医德,深深地感染和激励着我。还要特别感谢易军老师在实验过程中对我的指导和帮助,我才能克服一个一个的困难和疑惑,直至本文的顺利完成。特此感谢!

[参考文献]

[1] 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.

[2] Dupont AG, Gabriel DA, Cohen MG. Antiplatelet therapies and the role of antiplatelet resistance in acute coronary syndrome[J]. Thromb Res, 2009, 124(1): 6-13.

[3] Gurbel PA, Tantry US. Clopidogrel resistance[J]? Thromb Res, 2007, 120(3): 311-321.

[4] 陈 韬, 朱 荔, 赵仙先, 等. 氯吡格雷抵抗的实验室诊断

- 及临床价值[J]. 国际心血管病杂志, 2015, 42(4): 225-228.
- [5] Wiviott SD, Antman EM. Clopidogrel resistance: a new chapter in a fast-moving story[J]. *Circulation*, 2004, 109(25): 3 064-067.
- [6] Michno A, Bielarczyk H, Pawelczyk T, et al. Alterations of adenine nucleotide metabolism and function of blood platelets in patients with diabetes[J]. *Diabetes*, 2007, 56(2): 462-467.
- [7] Mark W, Gorman, David R, et al. Measurement of adenine nucleotides in plasma[J]. *Luminescence*, 2003, 18(3): 173-181.
- [8] Perrotta PL, Perrotta CL, Snyder EL. Apoptotic activity in stored human platelets [J]. *Transfusion*, 2003, 43(4): 526-535.
- [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): 2 430-435.
- [10] Razmara M, Hjerdahl P, Ostenson CG, et al. Platelet hyperprocoagulant activity in Type 2 diabetes mellitus; attenuation by glycoprotein IIb/IIIa inhibition[J]. *J Thromb Haemost*, 2008, 6(12): 2 186-192.
- [11] 孟宪刚, 王 莉. 氯吡格雷抵抗对老年冠心病合并糖尿病患者冠脉介入治疗预后的影响及危险因素[J]. 中国老年学杂志, 2014, 34(9): 2 321-322.
- [12] 李晓峰, 徐 峰, 李 林, 等. 急诊经皮冠脉介入治疗后急性心肌梗死患者氯吡格雷抵抗的发生率及影响因素[J]. 中国医科大学学报, 2015, 44(7): 632-635.
- [13] 吴 琼, 张寒珏, 侯素云, 等. 老年冠心病患者 PCI 术后氯吡格雷抵抗的影响因素分析[J]. 医学与哲学, 2016, 37(24): 34-36.
- [14] 张 萍, 张 虹, 王贤良, 等. 老年急性冠脉综合征患者 PCI 术后氯吡格雷抵抗危险因素分析[J]. 山东医药, 2016, 56(34): 55-57.
- [15] 李东戈, 黄宇理, 康品方, 等. 2 型糖尿病合并急性冠脉综合征患者氯吡格雷抵抗及 PCI 术后不良预后分析[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(7): 1 637-640.
- [16] Michno A, Raszeja-Specht A, Jankowska-Kulawy A, et al. Effect of L-carnitine on acetyl-CoA content and activity of blood platelets in healthy and diabetic persons. *Clin Chem*, 2005, 51(9): 1 673-682.
- [17] Heptinstall S, Johnson A, Glenn JR, et al. Adenine nucleotide metabolism in human blood - important roles for leukocytes and erythrocytes [J]. *J Thromb Haemost*, 2005, 3(10): 2 331-339.
- [18] Verhoeven AJ, Verhaar R, Gouwerok EG, et al. The mitochondrial membrane potential in human platelets; a sensitive parameter for platelet quality [J]. *Transfusion*, 2005, 45(1): 82-89.
- [19] Green DR, Reed JC. Mitochondria and apoptosis[J]. *Science*, 1998, 281(5381): 1 309-312.
- [20] Kroemer G, Reed JC. Mitochondrial control of cell death [J]. *Nat Med*, 2000, 6(5): 513-519.
- [21] 石 静, 卿 晨. 线粒体膜电位改变与细胞凋亡[J]. 中国民族民间医药, 2011, 20(7): 20-21.
- [22] Aradi D, Tornyo A, Pinter T, et al. Optimizing P2Y₁₂ receptor inhibition in patients with acute syndrome on the basis of platelet function testing: impact of prasugrel and high-dose clopidogrel[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2014, 63(11): 1 061-070.
- (此文编辑 朱雯霞)