

· 学术探讨 ·

阿司匹林抵抗的研究进展及中西医结合研究方向

鹿小燕 徐 浩 陈可冀 廖文强

摘要 阿司匹林是最经典的抗血小板药物,以其优异的效价比,在人类心脑血管病防治方面发挥着重要作用,然而其抗血小板作用个体差异很大,约 25%~40% 存在阿司匹林抵抗(aspirin resistance, AR),严重影响了其干预效果,已成为一个备受关注的临床问题。笔者认为,从长期服用抗血小板剂量阿司匹林的心脑血管病患者中筛选 AR 患者,从线粒体基因组单核苷酸多态性(MtSNP)寻找其基因差异位点,可为临床及早预测 AR 并制定合理干预策略奠定基础;同时运用均匀设计优化方法,对 AR 患者的小血小板进行体外干预,探索防治 AR 抗血小板中药的最佳配伍组合和配比关系,发挥中药复方多靶点干预特点,可为临床研发防治 AR 的有效复方中药制剂提供新的思路。

关键词 阿司匹林抵抗;单核苷酸多态性;均匀设计;中药

Progress of Research on Aspirin Resistance and Its Related Course of Integrative Medical Research LU Xiao-yan, XU Hao, CHEN Ke-ji, et al *National Integrative Medicine Center for Cardiovascular Diseases, China-Japan Friendship Hospital, Beijing (100029)*

ABSTRACT Aspirin is the most classic anti-platelet drug, plays its important role in preventing and treating cardio- and cerebro-vascular diseases for its excellent potency ratio; however, there exists individual difference in its anti-platelet effect, aspirin resistance (AR) presented in about 25% - 40% of patients, which seriously influences the intervention effect of aspirin. So AR has become a clinical problem that attached more attention. In this paper, the authors put forward a new thinking for clinical studying and inventing new effective Chinese drugs on AR by means of screen out AR suffered from cardio/cerebro-vascular patients long-term received aspirin; find their gene difference sites from MtSNP to establish a foundation for AR predication and reasonable strategy formation; meantime, through platelet intervention *in vitro* adopting uniform design optimization method to explore the best compatibility and matching relationship of anti-platelet Chinese medicine for AR prevention and treatment, so as to fully display the multi-target intervening effects of Chinese drug-therapy.

KEYWORDS aspirin resistance; single nucleotide polymorphism; uniform design; Chinese medicine

阿司匹林(aspirin, ASP)作为最经典的抗血小板药物,经过百年的应用历史,越来越多的证据显示,ASP 对急性心肌梗死、不稳定心绞痛、心血管死亡事件及脑栓塞的一级、二级预防疗效确切,从而确立了其心脑血管病防治中的基石地位。大规模临床试验荟萃分析证实,ASP 应用于心脑血管疾病高危患者,可降低 25% 的心脑血管事件(如心肌梗死、脑卒中、死亡);降低 48% 的血管搭桥及动脉栓塞事件;减少肺栓塞事件 67%;减少深静脉血栓事件 67%^[1-4]。研究显示,患者在使用 ASP 过程中,其抗血栓作用是不一致的,有

些患者尽管服用 ASP,再发血管事件的危险度仍然较高,估计 2 年后为 8% ~ 18%^[5]。提示抗血小板治疗可能并非对所有患者都有效,从而导致阿司匹林抵抗(aspirin resistance, AR)概念的提出。

1 AR 是一个备受关注的临床问题 美国心脏病学会 2005 科学年会上公布的研究显示,有大约 27% 应用 ASP 的冠心病患者存在着 AR 现象^[6],最高的研究报道达 56.8%^[7]。国内研究报道为 32.3% 和 17.6%^[8,9]。考虑到心脑血管疾病的高发率和严重危害性,加上 ASP 以其价格便宜、疗效确切在心脑血管病高危患者中广泛应用的现实情况,AR 将会是一个潜在的有重要意义的临床问题。正确认识 AR 现象,早期预测 AR 的患者,并制定合理的干预策略,及时选择替代或合并治疗方法,可以更好地减少临床血栓再发事件,使更多的患者获益。最近研究显示,抗血小板

作者单位:中日友好医院全国中西医结合心血管病中心(北京 100029)

通讯作者:鹿小燕, Tel: 010 - 84205137, E-mail: deerxiaoyan@126.com

药物的抵抗广泛存在,包括氯吡格雷,而且各种药物抵抗的发生率是相近的^[10-12]。

2 AR 的发生机制 关于 AR 发生机制,目前普遍认为可能与以下因素有关^[13,14]:(1)与血小板膜糖蛋白、环氧合酶(COX)、ADP 受体基因多态性有关;(2)ASP 剂量不足或患者依从性差;(3)与血小板对胶原、腺苷二磷酸(ADP)等血小板聚集的诱导剂敏感性升高有关;(4)其他如吸烟、过度运动和精神紧张等能增加去甲肾上腺素的释放,导致血小板聚集性增加。其中,血小板膜糖蛋白的基因多态性是最重要的发生机制之一,目前在高加索人和日本人中已有研究报道^[15],但在我国人群中尚未见报道。

3 AR 的检测与治疗 目前,主要的临床检测方法有血小板聚集试验^[16],其中光学比浊法在临床中应用广泛。判定标准:在 10 mmol/L ADP 浓度下血小板平均聚集率 $\geq 70\%$;在 0.5 mg/mL AA 浓度下血小板聚集率 $\geq 20\%$,同时符合上述 2 项标准者称为 AR。血小板功能分析仪(PFA-100)通过模仿内膜受损血管,受检者服用 ASP 后的血浆流经黏附有胶原和肾上腺素或 ADP 的管道,测定管腔关闭和血流停止的时间,以此来测定血小板活性;简便、快速且敏感度高,与传统血小板聚集检测方法有很好的相关性;但由于检测花费比较昂贵,限制了其广泛应用。

治疗上多采用加大 ASP 用量、尽量不合用非甾体抗炎药或质子泵抑制剂、与其他抗血小板制剂合用等,但效果并不理想,AR 成为心脑血管病和血栓栓塞性血管疾病领域的一个难点和热点。

4 药物基因组学研究引发的思考 临床治疗时经常会发现,药物治疗时的疗效和不良反应常存在个体差异。人类基因组计划的研究表明,这些现象都是由于与药物相关的基因变异——即单核苷酸多态性(SNP)造成的,不同个体表型的差异就在于其 SNP,而基因的种类和数量并无差别。尽管任意两个不相关的人的 DNA 序列有 99.9%是一致的,但剩下的那 0.1%由于包含了遗传上的差异因素而显得尤为重要^[17],这些差异造成了人们罹患疾病的不同风险和对药物以及环境的不同反应。在这种理念指导下所形成的药物基因组学成为当代医学的研究热点,也为未来的个体化医学模式提供了利器。因此研究 SNP、发现这些与常见疾病相关的 DNA 多态位点,是阐释疾病发病机制、发现疾病诊断分子标记物、药物疗效和不良反应监测或药物作用靶标分析的重要方法。

AR 现象既然存在,就必定有其物质基础,即 AR 患者 DNA 的某些位点应当有别于非 AR 患者,国外研

究^[15]报道 924T 和 1018C 等位基因与 AR 有关,但在我国人群中进行 AR 的基因多态性研究尚未见报道。可以设想,如能发现 AR 患者的关键基因差异位点,将使得对需长期服用 ASP 患者预测 AR 成为可能,在此基础上及时调整治疗方案,一方面可以减少无效治疗和资源(药物、经济、治疗时间)浪费;另一方面可以更有效地防止心脑血管事件的发生,无疑具有重大的临床意义。

5 抗血小板中药的研究 近年来研究证明很多中药尤其是活血化瘀药和益气药的有效成分、单体或复方^[18-30],如人参皂苷、三七皂苷、丹参酚酸、红花色素、葛根黄酮、阿魏酸、川芎嗪、川芎酚、赤芍总甙、赤芍 801、银杏内酯、牡丹皮水提物、芍药酚、三棱、莪术提取物、姜黄素、蒲黄、当归、刺五加皂甙、灯盏花素、重组水蛭素、党参总皂甙、西洋参总皂甙、黄芪总皂苷、绞骨蓝总皂甙、芍药胶囊、血府逐瘀浓缩丸、通心络、心脑血管舒通、地奥心血康、黄芪当归药对等,可通过影响血小板活化聚集的不同环节即 AA 途径、ADP 途径、血小板活化因子途径,发挥抑制血小板功能的作用,显示有一定前景。AR 作为国内外研究热点,已引起中医药界的关注,目前仅有用通心络、三七皂苷改善 AR 的临床研究^[31-33],表明联合 ASP 和中药或单用中药对 AR 均有一定改善作用,但选择品种单一,复方研究也有待于进一步优化。

6 均匀设计方法在中药优化配伍研究中的应用 均匀设计(uniform design)是由我国数学家方开泰和王元创造的一种试验设计方法,让试验点在其试验范围内充分地“均匀分散”,使每一个试验点都有更好的代表性,从而试验点的数目大幅度减少,且因素的水平可以适当调整,避免高档次水平或低档次水平相遇,在寻找最佳实验条件、最佳配比等方面是选择优化条件的有力工具^[34-36]。它首先在我国飞航式导弹的设计中得到有效的应用,近年来,在中药制剂的提取工艺、成型工艺等方面的应用也迅速增多,并开始运用于方剂、药物配伍的研究。用均匀设计方法结合有关的药效学模型筛选药物之间的理论最佳配比,进行相应的研究,是中药新药开发的一个有利工具。国内有学者将阿魏酸和川芎嗪两药结构重组,观察其对 ADP 诱导的血小板体内聚集的抑制作用,结果明显优于单用川芎嗪组,鉴于中药复方多靶点干预的优势,有可能为 AR 提供一种有效的解决方法。如能在现有具有明确抗血小板作用中药单体/有效部位基础上,结合药效研究和均匀设计方法,进一步优化配伍组合和配比关系,无疑是一个可行的、具有良好前景的研究方向,对于开发研制防

治 AR 的有效中药具有重大意义。

因此,针对 AR 这一备受关注的临床问题,对长期服用抗血小板剂量 ASP 的心脑血管病患者,从线粒体基因组单核苷酸多态性 (MtSNP) 寻找其基因差异位点,可为临床及早预测 AR 并制定合理干预策略奠定基础。同时选用目前公认具有明确抗血小板作用的中药单体/有效部位进行体外干预,发挥中药复方多靶点干预特点,并引进均匀设计优化方法,探索防治 AR 抗血小板中药的最佳配伍组合和配比关系,将为临床研发防治 AR 的有效复方中药制剂提供新的思路。

参 考 文 献

- [1] Antiplatelet Trialists' Collaboration. Collaborative overview of randomized trial of antiplatelet therapy - I: prevention of death, myocardial infarction, and stroke by prolonged antiplatelet therapy in various categories of patients[J]. *BMJ*, 1994, 308(6921):81-106.
- [2] Antiplatelet Trialists' Collaboration. Collaborative overview of randomised trials of antiplatelet treatment - II: maintenance of vascular graft or arterial patency by antiplatelet therapy[J]. *BMJ*, 1994, 308(6922):159-168.
- [3] Antiplatelet Trialists' Collaboration. Collaborative overview of randomised trials of antiplatelet therapy-III: reduction in venous thrombosis and pulmonary embolism by antiplatelet prophylaxis among surgical and medical patients[J]. *BMJ*, 1994, 308(6923):235-246.
- [4] Hankey GJ, Eikelboom JW. Aspirin resistance[J]. *Lancet*, 2006, 367(9510):606-617.
- [5] Macchi L, Sorel N, Christiaens L. Aspirin resistance: definitions, mechanisms, prevalence, and clinical significance[J]. *Curr Pharm Des*, 2006, 12(2):251-258.
- [6] Pulcielli FM, Riondino S. More on aspirin resistance: position paper of the Working Group on Aspirin Resistance. Proposal for a Laboratory Test Guiding Algorithm[J]. *J Thromb Haemost*, 2006, 4(2):485-487.
- [7] Sanderson S, Emery J, Baglin T, et al. Narrative review: aspirin resistance and its clinical implications[J]. *Ann Intern Med*, 2005, 142(5):370-380.
- [8] 王春波,胡大一,史旭波,等.服用小剂量阿司匹林患者的阿司匹林抵抗[J].中国危重病急救医学,2006,18(4):219-223.
Wang CB, Hu DY, Shi XB, et al. Aspirin resistance in patients taking small dose of aspirin[J]. *Chin Crit Care Med*, 2006, 18(4):219-223.
- [9] 于扬,刘兆平,王新华,等.代谢综合征患者阿司匹林抵抗的临床研究[J].中国实用内科杂志,2006,26(16):1262-1265.
Yu Y, Liu ZP, Wang XH, et al. Clinical study of aspirin resistance in patients with metabolic syndrome[J]. 2006, 26(16):1262-1265.
- [10] Lev EI, Patel RT, Maresh KJ, et al. Aspirin and clopidogrel drug response in patients undergoing percutaneous coronary intervention: the role of dual drug resistance[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2006, 47(1):27-33.
- [11] Wang TH, Bhatt DL, Topol EJ. Aspirin and clopidogrel resistance: an emerging clinical entity[J]. *Eur Heart J*, 2006, 27(6):647-654.
- [12] Chen WH, Lee PY, Ng W, et al. Aspirin resistance is associated with a high incidence of myonecrosis after non-urgent percutaneous coronary intervention despite clopidogrel pretreatment[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2004, 43(6):1122-1126.
- [13] Kannan S. Pathophysiological impact of transcellular metabolism for the induction of clinical aspirin resistance[J]. *Med Hypotheses*, 2006, 66(6):1252-1253.
- [14] Harrison P. Measuring 'aspirin resistance': point-of-care platelet-function tests versus optical aggregometry[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2005, 2(7):327.
- [15] Fujiwara T, Ikeda M, Esumi K, et al. Exploratory aspirin resistance trial in healthy Japanese volunteers (J-ART) using platelet aggregation as a measure of thrombogenicity[J]. *Pharmacogenomics J*, 2007, 7(6):395-403.
- [16] Gum PA, Kotke-Marchant K, Poggio ED, et al. Profile and prevalence of aspirin resistance in patients with cardiovascular disease[J]. *Am J Cardiol*, 2001, 88(3):230-235.
- [17] The International HapMap Consortium. The international Hap Map project[J]. *Nature*, 2003, 426(6968):789-796.
- [18] 聂大年,尹松梅,谢双锋,等.人参皂甙-2A 体外抗血小板作用的研究[J].中国中西医结合杂志,2006,26(基础理论研究特集):83-85.
Nie DN, Yin SM, Xie SF, et al. Experimental study of anti-platelet effects of ginsenoside-2A *in vitro*[J]. *Chin J Integr Tradit West Med*, 2006, 26(basis theory research):83-85.
- [19] 武源,郭宏宝,王铁军,等.几种中药组分对家兔体外血小板聚集作用的比较[J].中国临床药理学与治疗学,2007,12(9):1047-1051.
Wu Y, Guo HB, Wang TJ, et al. Comparative study on effects of active ingredients of several traditional Chinese medicines on rabbit platelet aggregation *in vitro*[J]. *Chin J Clin Pharmacol Ther*, 2007, 12(9):1047-1051.
- [20] 邓润洁,寇俊平,余伯阳.中药有效成分抗血小板聚集作用研究进展[J].海峡药学,2006,18(4):7-10.
Deng RJ, Kou JP, Yu BY. Progress in mechanism of the active components of Chinese material medical on antiplatelet aggregation[J]. *Strait Pharm J*, 2006, 18(4):7-10.

- [21] 史秀丽,傅佳,李光武. 血小板靶向中药有效成分及单体研究进展[J]. 中国中药杂志, 2006, 23(5): 361-365.
- Shi XL, Fu J, Li GW. Advances in studies on active components and monomes of the traditional Chinese medicine targeted platelet[J]. China J Chin Mater Med, 2006, 23(5): 361-365.
- [22] 杜斌,何晓瑾,李春婷. 中药抗血小板活化在冠心病心绞痛治疗中的地位研究进展[J]. 国医论坛, 2004, 19(1): 51-53.
- Du B, He XJ, Li CT. Advance in studies on antiplatelet activating Chinese medicine in treating angina pectoris of coronary heart disease[J]. Forum Tradit Chin Med, 2004, 19(1): 51-53.
- [23] 刘剑刚,徐凤芹,史大卓,等. 川芎赤芍提取物不同配比关系活血化瘀作用的实验研究[J]. 中药新药与临床药理[J]. 2005, 16(5): 315-317.
- Liu JG, Xu FQ, Shi DZ, et al. Effect of the extracts from Rhizoma Chuanxiong and Radix Paeoniae Rubra in different proportions on promoting blood circulation and removing blood stasis[J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2005, 16(5): 315-317.
- [24] 刘婷,秦彩玲,张毅,等. 丹参、三七不同比例配伍对正常家兔血小板聚集性、黏附性的影响[J]. 中国中药杂志, 2002, 27(8): 609-611.
- Liu T, Qin CL, Zhang Y, et al. Effect of Dan-shen, Sanqi of different proportion on platelet aggregation and adhesion in normal rabbits[J]. China J Chin Mater Med, 2002, 27(8): 609-611.
- [25] 杨佳,秦彩玲,刘婷,等. 丹参、三七的有效部位对血瘀证大鼠血小板黏聚性及 TXA₂、PGI₂ 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2004, 10(6): 35-38.
- Yang J, Qin CL, Liu T, et al. Effects of active fractions of Danshen or Sanqi on platelet adhesion, aggregation and TXA₂, PGI₂ in rat model of blood stasis syndrome[J]. China J Exp Tradit Med Formulae, 2004, 10(6): 35-38.
- [26] 谭载友,江涛,唐春萍,等. 阿魏酸川芎嗪的抗血小板聚集作用[J]. 中国新药杂志, 2003, 12(7): 529-531.
- Tan ZY, Jiang T, Tang CP, et al. The inhibitory effect of totramethylpyrazine ferulate on platelet aggregation[J]. China J New Drugs, 2003, 12(7): 529-531.
- [27] 秦彩玲,刘婷,张毅,等. 复方丹参方对正常家兔血浆血小板黏聚性及 TXA₂、PGI₂ 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2002, 8(3): 18-20.
- Qin CL, Liu T, Zhang Y, et al. Effects on platelet aggregation and adhesion, TXA₂ and PGI₂ of plasma of compound Danshen formula in normal rabbits[J]. China J Exp Tradit Med Formulae, 2002, 8(3): 18-20.
- [28] 雷燕,陈可冀,刘剑刚,等. 血府逐瘀浓缩丸抗血小板活化的临床疗效与体外血清药理作用的相关性研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2002, 22(4): 270-273.
- Lei Y, Chen KJ, Liu JG, et al. Study on relationship of clinical effect of Xuefu Zhuyu concentrated pill and serum pharmacological antiplatelet activating effect *in vitro* [J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2002, 22(4): 270-273.
- [29] 徐先祥,刘青云,彭代银. 中药皂甙类成分抗血小板作用研究概况[J]. 中国中西医结合杂志, 2001, 21(2): 150-152.
- Xu XX, Liu QY, Peng DY. Survey of researches on antiplatelet effects of saponins contained in Chinese herbal medicine[J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2001, 21(2): 150-152.
- [30] 陈达理. 中药抑制血小板聚集及抗血栓形成作用的研究[J]. 血栓与止血学杂志, 1995, 2(4): 188-189.
- Chen DL. Researches on inhibiting anti-platelet aggregation and antithrombotic formation effects[J]. Chin J Thromb Hemast, 1995, 2(4): 188-189.
- [31] 李彬,毛静远,王强,等. 三七总苷对阿司匹林抵抗影响的临床观察[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2007, 5(7): 579-581.
- Li B, Mao JY, Wang Q, et al. The effect of Radix Notoginseng saponins on Aspirin resistance[J]. Chin J Integr Med Cardio-cerebrovascul Dis, 2007, 5(7): 579-581.
- [32] 张妍,梁静,周玉杰,等. 通心络有效干预阿司匹林抵抗现象的临床观察[J]. 中国综合临床, 2006, 22(9): 778-779.
- Zhang Y, Liang J, Zhou YJ, et al. Clinical study on interference of Tongxinluo for aspirin resistance[J]. Clin Med China, 2006, 22(9): 778-779.
- [33] 刘新灿,胡宇才,朱明军. 通心络胶囊对冠心病病人阿司匹林抵抗的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2006, 4(6): 545-546.
- Liu XC, Hu YC, Zhu MJ. The effect of Tongxinluo Capsule on aspirin resistance in patients with coronary heart disease[J]. 2006, 4(6): 545-546.
- [34] 曾昭均主编. 均匀设计及其应用[M]. 沈阳: 辽宁人民出版社, 1994: 5.
- Zeng ZJ, editor. Uniform design and its application[M]. Shenyang: Liaoning People's Publishing House, 1994: 5.
- [35] 马路,刘剑刚,史大卓. 均匀设计在中医药研究中的应用[J]. 中国中西医结合杂志, 2005, 25(3): 278-281.
- Ma L, Liu JG, Shi DZ. Application of uniform design in research of traditional Chinese medicine[J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2005, 25(3): 278-281.
- [36] 张瑞涛,王晖,陈丽. 均匀设计法筛选盐酸川芎嗪促透剂组方的最佳配比[J]. 中草药, 2007, 38(1): 50-52.
- Zhang RT, Wang H, Chen L. Uniform design method for optimizing proportion of transdermal penetration enhancers of lingustrazine hydrochloride[J]. Chin Tradit Herbal Drugs, 2007, 38(1): 50-52.

(收稿:2008-11-26 修回:2010-03-12)