

· 综 述 ·

中西医结合抗血小板治疗与监测研究进展

王铭铭 薛梅 寇娜 史大卓

随着居民生活方式的变化,人口老龄化及城镇化的进程加速,心脑血管疾病患病率处于持续上升阶段。2013 年国家心血管病中心发布的《中国心血管病报告 2015》指出,全国心血管病患者 2.9 亿(比去年增长 28%),其中高血压病 2.66 亿,脑卒中至少 700 万,心肌梗死 250 万(全国年住院费 49.9 亿元),心力衰竭 450 万,目前心血管病死亡占到了居民总死亡的 41%,居各种原因之首^[1]。

抗血小板药物在心脑血管病患者中使用的疗效和安全性均已得到大规模循证医学研究的充分证实,在心脑血管病的一级和二级预防中的地位均非常重要。中华医学会心血管病学分会和中华心血管病杂志编辑委员会组织制定的“抗血小板治疗中国专家共识”^[2],对临床医师抗血小板治疗的规范化起到指导作用。针对血小板激活的其他途径是否有新的可供选择的抗血小板药物?如何更有效、迅速的监测评价抗血小板疗效,更好地权衡出血与血栓风险,实现个体化治疗?如何更好地降低血栓事件发生率,中医药有什么优势?本文将针对目前这些热点问题进行一次回顾与分析。

1 抗血小板药物种类及研究现状(表 1)

1.1 环氧合酶-1(Cyclooxygenase-1, COX-1)

抑制剂 阿司匹林(Aspirin)是目前临床应用最广泛的抗血小板药物。阿司匹林通过与血小板或内皮细胞内 COX-1 氨基酸序列第 529 位丝氨酸残基结合使之乙酰化,不可逆地抑制 COX-1 活性,从而抑制血小板和血管内膜血栓素 A₂(thromboxane, TXA₂)的合成。此外,阿司匹林能部分拮抗纤维蛋白原溶解导致的血小板激活,还可抑制组织纤溶酶原激活物(tissue type plasminogen activator, t-PA)的释放。阿司匹林作为抗血小板的标准用药在世界范围内广泛用于心血管疾病的一级和二级预防。循证医学表明,小剂量阿司匹林对无

心肌梗死病史患者有预防作用,但并不影响总体死亡率;对有冠状动脉疾病危险因素的中老年患者一级预防效果较为明显^[3]。在心血管血栓性疾病的二级预防中,阿司匹林一直作为基础用药。长期小剂量应用阿司匹林(75~150 mg/d)可以有效发挥抗血小板作用,用于病情稳定的心血管疾病(如稳定性心绞痛、非心源性缺血性卒中)的二级预防;对于急性冠状动脉综合征(acute coronary syndrome, ACS)、经皮冠状动脉介入术(percutaneous coronary intervention, PCI)术后并发症的预防,常常需要联合两种抗血小板药物以获得最佳的临床效果。阿司匹林个体反应性差异较大,阿司匹林抵抗的发生率约为 5%~40%^[4],其发生机制尚不清楚,单纯增加药物剂量并不能避免阿司匹林抵抗产生;此外,阿司匹林的胃肠道不良反应也严重限制了其在临床的广泛应用。

1.2 P2Y₁₂ 受体抑制剂 又分为噻吩吡啶类和非噻吩吡啶类药物。噻吩吡啶类代表药物包括:噻氯匹定(Ticlopidine)、氯吡格雷(Clopidogrel)、普拉格雷(Prasugrel)。其中噻氯匹定因其临床不良反应较大,疗效不及新生代药品已经退出指南推荐。氯吡格雷是目前临床常用药,以药物前体形式存在,经过肝酶 CYP450 代谢转化成活性代谢产物,不可逆地结合血小板表面二磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP)受体 P2Y₁₂,发挥其抗血小板作用。氯吡格雷与阿司匹林预防缺血事件比较(Clopidogrel versus Aspirin Patients at Risk of Ischemic Events, CAPRIE)结果表明,氯吡格雷在周围血管病的二级预防中效果优于阿司匹林,对于心梗、卒中的二级预防并未显示出优势^[11]。CURE 试验^[12]奠定了阿司匹林+氯吡格雷双联抗血小板模式在 ACS(包括不稳定心绞痛、非 ST 段抬高性心肌梗死)以及 PCI 术后患者的二级预防中的中心地位,双抗方案可以显著降低 ACS 或 PCI 术后患者的心血管事件发生率。CURRENT 试验^[13]则提示 PCI 患者接受双倍剂量氯吡格雷(600 mg 负荷剂量,第 1 周剂量 150 mg/d)可得到早期临床获益,且并不增加出血风险^[14]。2013 年发布的抗血小板治疗中国专家共识提出,对于接受早期介入治疗的高危患者,双倍剂量氯吡格雷维持 1 周后减

基金项目:国家自然科学基金青年基金项目(No. 81102722);国家自然科学基金面上项目(No. 81273933)

作者单位:中国中医科学院西苑医院心血管中心(北京 100091)

通讯作者:史大卓, Tel: 010 - 62875599, E-mail: heartmail@263.net

DOI: 10. 7661/CJIM. 2016. 11. 1400

表 1 常用抗血小板药物临床应用

类别	名称	原理	临床应用	临床试验	不良反应
COX-1 抑制剂	阿司匹林	抑制 TXA ₂ 合成	心血管疾病的一级、二级预防	BMD ^[5] , HOT ^[6] , PPP ^[7] , TPT ^[8] , PHS ^[9]	胃肠道损伤
P2Y12 阻滞剂	氯吡格雷	不可逆阻断 ADP 受体	冠心病、缺血性卒中二级预防	CHARISMA ^[10] , CAPRIE ^[11] , CURE ^[12] , CURRENT ^[13] , MATCH ^[14]	出血/胃肠道反应, 皮疹, 荨麻疹等
	普拉格雷	可逆性阻断 ADP 受体	尚未用于国内临床, 缺乏中国患者的临床证据	TRITON-TIMI38 ^[15]	无主要不良反应
	替格瑞洛			PLATO ^[16]	心动过缓, 呼吸困难
	坎格雷洛			CHAMPION ^[17]	ATP/腺苷类作用
	伊利格雷			ERASE-MI ^[18] , INNOVATE-PC I ^[19]	较少
GP II b/III a 抑制剂	阿伯西马	不可逆抑制 GP II b/III a	血栓性疾病的辅助治疗	INFUSE-AMI ^[20]	出血、血小板减少
	埃替非巴肽	可逆性抑制 GP II b/III a		ESPRIT ^[21]	出血, 此外无主要不良反应
	替罗非班			TARGET ^[22]	
PDE 抑制剂	双嘧达莫	抑制 PDE	卒中二级预防	ESPS ^[23] , ProFESS ^[24]	头痛, 头晕, 胃肠道不耐受, 荨麻疹等
	西洛他唑			CSPS II ^[25]	头痛, 头晕, 心悸, 胃肠道不耐受, 过敏, 白细胞减少等

为常规剂量的方案,能显著减少 30 天内心梗及支架内血栓的发生率^[2]。在卒中的二级预防方面,抗血小板用药方案与 ACS 二级预防方案不同。MATCH^[26]试验研究提示氯吡格雷 + 阿司匹林双联方案在预防近期 TIA 或缺血性卒中患者主要终点事件方面并不优于氯吡格雷单药治疗,但双联方案大出血事件的比例是氯吡格雷组的 2 倍^[16]。考虑安全因素,缺血性卒中的二级预防一般推荐单用阿司匹林或氯吡格雷,除非患者合并 ACS 或近期冠脉内支架置入;对于卒中高危患者,氯吡格雷优于阿司匹林。对于缺血性卒中再发的高危而无出血高风险的患者,小剂量阿司匹林(75 mg/d)联合氯吡格雷 75 mg/d 治疗 1 个月优于单用阿司匹林^[2]。氯吡格雷同样面临血小板反应多样性(variability of response, VOR)的问题,VOR 由多因素决定,肝酶基因多态性可能与 VOR 有关,其所致血小板反应差异对个体临床结果的影响还不能确定。对于氯吡格雷低反应的患者,增加剂量是一种可能有效的办法^[27],此外,新型 P2Y28 受体拮抗剂也可以提供更多的选择。普拉格雷属于新型噻吩吡啶类 P2Y12 受体拮抗剂,只需经肝脏转化后即可发挥抗血小板作用,与氯吡格雷相比,对肝脏依赖性小,不受 CYP2C19、ABCB1 基因多态性的影响,可用于氯吡格雷抵抗患者^[28]。TRITON-TIMI38^[10]研究提示,除了对年龄 >75 岁、体重 <60 kg 的 PCI 术后患者无明显临床获益,普拉格雷的临床净获益优于氯吡格雷。非噻吩吡啶类代表药物替格瑞洛(Ticagrelor),无需肝脏代谢,不受肝酶基因多态性影响,可逆性拮抗

P2Y12 受体。PLATO 研究提示^[29],与氯吡格雷相比,替格瑞洛对于 ACS 二级预防有更好的临床获益。新型 P2Y12 受体抑制剂普拉格雷和替格瑞洛在 ACS 有良好的应用前景,尚需进一步累积中国患者的证据。此外,新型 P2Y12 拮抗剂坎格雷洛(Cangrelor)和伊利格雷(Elinogrel)^[24],相关临床试验正在进行,尚未在国内应用。

1.3 GP II b/III a (α II bβ3) 拮抗剂 血小板 GP II b/III a 活化是血小板活化聚集的共同通路,GP II b/III a 拮抗剂因此有着强效的抗血小板作用。目前应用的 GP II b/III a 拮抗剂主要有 3 种^[30]:阿伯西马(Abciximab):针对 GP II b/III a 的鼠源性单克隆抗体,具备一定抗原性,对 GP II b/III a 有高度亲和力,几乎不可逆地占据 GP II b/III a,停药后血小板功能恢复较慢。埃替非巴肽(Eptifibatide):人工合成的肽类 GP II b/III a 拮抗剂,竞争性抑制 GP II b/III a,与 GP II b/III a 可逆性结合,无免疫原性。替罗非班(Tirofiban):小分子非肽类 GP II b/III a 受体拮抗剂,无免疫原性,起效快,停药后血小板功能恢复快。

现有 GP II b/III a 拮抗剂均为静脉输注药物,有潜在出血风险,因此在临床中并未广泛推荐使用,2013 年中国抗血小板治疗专家共识推荐,对于冠状动脉造影示有大量血栓,慢血流或无复流和新的血栓并发症;或拟行 PCI 的高危而出血风险较低的患者,可以给予 GP II b/III a 受体拮抗剂治疗。

1.4 磷酸二酯酶(Phosphodiesterase, PDE)抑制剂(表 1) 代表药物主要有双嘧达莫(Dipyri-

damole)、西洛他唑(Cilostazol),主要通过抑制磷酸二酯酶,升高血小板和血管平滑肌细胞内环磷酸腺苷(Cyclic adenosine monophosphate,cAMP)浓度,从而发挥抗血小板作用以及扩张血管效应。PDE 抑制剂对于卒中的二级预防有着充足的临床证据以及指南支持。第一个关于西洛他唑在卒中二级预防的临床试验 CSPS^[31]为西洛他唑在腔隙性脑梗死的二级预防提供了循证证据;2010 年发表的 CSPS II^[32]研究则显示,与阿司匹林比较,西洛他唑更能降低脑卒中的复发率,出血风险更低。双嘧达莫联合阿司匹林是目前有些国家卒中二级预防指南推荐药物,多项临床试验如 ESPS 研究^[33],以及 PROFESS 研究^[34]已证实阿司匹林+双嘧达莫对缺血性卒中二级预防优于阿司匹林单用。ESO 2008 年卒中二级预防指南则推荐优先考虑阿司匹林+双嘧达莫联合方案。ASA2011 年指南也提升了阿司匹林+双嘧达莫的证据级别^[35]。

以上是临床常用的抗血小板药物,消化不良反应是大部分抗血小板药物的共同特点,阿司匹林通过局部直接刺激作用以及抑制前列腺素(Prostaglandins, PG)生成双重机制引起消化道黏膜的损伤;P2Y₁₂拮抗剂则通过抑制血小板衍生的生长因子,阻碍新生血管的形成和溃疡的愈合,加重已存在的胃黏膜损伤^[36]。除了出血风险、消化道损伤等不良反应之外,每种具体药物也常常伴随其特有的不良反应。

此外还有许多新型药物正在研究中,它们有着与经典抗血小板药物不同的作用靶点,以下将几种正在研究中的新型抗血小板药物做一简单概述。

1.5 蛋白酶激活受体(protease activated receptor, PAR)拮抗剂 PAR 是凝血酶受体,人表达两种 PAR——PAR1 和 PAR4,研究发现 PAR1 介导病理性血栓形成而对正常止血影响不大,因此 PAR1 拮抗剂可以作为抗血小板药物应用于临床而不会伴有较高的出血风险。目前正在研究中的口服 PAR1 拮抗剂有 Vorapaxar 和 E5555。Vorapaxar 是高亲和性、低分子量,非肽类竞争性 PAR1 凝血酶受体拮抗剂。关于 Vorapaxar 的临床试验 TRA-2P-TIMI50^[37]研究表明 Vorapaxar 可以降低卒中,心肌梗死和心血管死亡的发生率,但出血风险增加,尚需进一步研究。E5555 是口服的强效 PAR1 拮抗剂,关于 E5555 的两项研究 LANCELOT201 和 202 正在进行中。

1.6 GP I b/vwF 拮抗剂 血小板表面糖蛋白复合物 GP I b/IX/V 和内皮表面暴露的血管性血友病因子(Von Willebrand factor, vwF)结合是血小板黏

附、活化以及血栓形成的始动环节,这一结合方式具体是由 GP I b α 与 vwF 的 A1 结构域结合^[38],高剪切力诱导的血小板黏附主要由 GP I b/IX/V-vwF 实现。目前针对该黏附机制的抑制剂是新型抗血小板药物的研究热点,通过阻断 GP I b α 或 vwF 来实现对血小板黏附的抑制。现有的 GP I b α 拮抗剂主要有 ALX-0081、SZ-2、OS-1、GPG-290、h6B4-Fab^[39]。vwFA1 拮抗剂有 AJW200^[40]。其中 ALX-0081、AJW200 已经进入临床 II 期试验阶段。Momi S 等^[41]在豚鼠模型中证实 GP I b 特异性抗体 ALX-0081 可以溶解新近形成的颈动脉血栓并减少脑梗死面积。在稳定性心绞痛行 PCI 的患者中进行的 ALX-0081 I 期临床试验也初步证实了 ALX-0081 的良好耐受性以及抗血栓的有效性^[42],II 期临床试验结果还未公布。从 ALX-0081 的作用原理上分析,预测它将会是一种极具潜力的新型抗血小板药物。

1.7 PI3K-p110 β 抑制剂 Jackson SP 等^[43] 在 vwF 包被的基质上观察不同剪切力下的血小板黏附、聚集和血栓形成,证实特异性阻断 PI3K-p110 β 亚型可以减弱甚至消除剪切力诱导的血小板黏附和聚集,并证实 PI3K-p110 β 对于剪切力环境下 α II b β 3 的活化、胞内钙动员以及 α II b β 3 稳定黏附的维持有着至关重要的作用。Straub A 等^[44]对健康志愿者进行替罗非班、TGX-221(特异性 PI3K-p110 β 抑制剂)以及安慰剂在体外循环(ECC)中保护血小板效应的临床研究,证实 TGX-221 可以减少 ECC 过程中血小板活化,且不增加术后出血风险,该研究提出, TGX-221 完全有可能取代 GP II b/III a 拮抗剂而成为 ECC 中保护血小板功能的主要药物。

1.8 Targ-CD39 CD39 是表达在内皮细胞表面的一种外生-核苷酸酶,通过水解 ADP,从而抑制 ADP 对血小板的活化作用。Hohmann DK^[45]将可溶性 CD39(sCD39)与活化血小板 α II b β 3 特异性的抗体片段 scFv 结合,获得融合产物为 Targ-CD39。Targ-CD39 只抑制 ADP 对血小板的活化作用,削弱血管损伤局部血小板的二次活化环节,抑制局部血栓形成,同时允许血管壁破损局部单层或双层血小板黏附的形成,不影响止血过程。

2 中药抗血小板研究现状 中药抗血小板的研究主要集中于中药对血小板聚集率、血小板膜糖蛋白、血小板花生四烯酸(arachidonic acid, AA)代谢途径、核苷酸代谢途径、磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)通路、血小板内 Ca²⁺ 浓度、血小板蛋白质组学等相关指标的影响。

2.1 降低血小板聚集率(表 2) 血小板聚集率作为衡量血小板功能的标准指标被广泛应用于中药抗血小板的研究。中成药或复方方面,王宝君等^[46]证实益气活血方对大鼠血小板聚集率有显著的抑制作用,益气活血方配伍双抗治疗可以显著缩短大鼠颈动脉血栓形成时间,减轻血栓重量。陈希伟等^[47]对 67 例诊断有明确冠状动脉疾病(coronary artery diseases, CAD),口服氯吡格雷 1 个月以上再发 ACS 入院的患者进行临床观察,发现复方丹参滴丸可以有效降低这类患者血小板聚集率。此外,尚有很多中药复方及中成药被证实具有抑制血小板聚集的作用,如养心通脉汤、补阳还五汤、佛手散、黄蛭口服液^[48-51]等。多种中药成分也被证实可以降低血小板聚集率。值得注意的是,不同中药成分对各种血小板激动剂的抑制效果并不同,提示不同中药成分的抗血小板机制存在差异,现将代表性的几种中药成分抑制血小板聚集性的特点进行归纳。

表 2 不同中药成分抑制血小板聚集的特点

中药成分	抗血小板聚集特点
人参皂苷 Rg3 ^[52]	对 AA、U46619 诱导的血小板聚集有抑制作用;对 ADP、胶原诱导的血小板聚集无影响
丹酚酸 A ^[53] 、莲心碱 ^[54] 、川芎嗪 ^[55,56]	对 ADP、胶原、凝血酶诱导的血小板聚集有抑制作用
三七总皂苷 ^[57]	对 ADP、胶原、AA 诱导的血小板聚集有抑制作用
银杏内酯 ^[58]	抑制血小板活化因子(PAF)、ADP 诱导的血小板聚集,对 AA 诱导的血小板聚集无作用
白藜芦醇 ^[59]	抑制 ADP 诱导的血小板聚集,尚无证据对其其他诱导剂诱导的血小板聚集无抑制作用

2.2 抑制血小板膜糖蛋白 表达血小板膜糖蛋白包括质膜糖蛋白如 GP II b/III a, GPIb/IX/V 以及 GPIa/II a 和颗粒膜糖蛋白如 GMP140, CD63, 其中 GP II b/III a 活化是血小板聚集的核心环节,也是血小板活化的标志之一^[60]。养心通脉汤、复方丹参滴丸、补阳还五汤、黄蛭口服液、佛手散等^[47-51]均证实具有抑制血小板膜糖蛋白 GP II b/III a 表达的作用。熊攀等^[61]研究血塞通软胶囊对心绞痛患者的临床作用,证实血塞通软胶囊可以有效降低患者 GMP140 水平。刘磊等^[62]通过对 ACS 患者进行临床对照观察,发现丹参多酚酸盐对 ACS 患者血小板膜表面 GP II b/III a 以及 GMP140 表达均有抑制作用。丹参酮 II A 磺酸钠呈剂量依赖性抑制凝血酶诱导的人血小板表面 GMP140 的表达^[63]。目前有关中药对 GPIb/IX/V、GPIa/II a 或 CD63 表达的影响尚缺乏相关报道。

2.3 影响 AA 代谢 AA 代谢产生 TXA₂,具有

强烈的活化血小板以及缩血管作用;同时内皮细胞通过 AA 代谢产生 PGI₂ (prostacyclin),产生与 TXA₂ 相反的作用。TXA₂/PGI₂ 的平衡一直被作为衡量血小板活性的指标应用于临床和实验研究。益气活血方^[46]被证明可以降低 TXB₂,升高 6-keto-PGI₂ 表达。川芎嗪、丹酚酸 A、绿原酸、咖啡酸、阿魏酸等均有研究提示可以通过影响 AA 代谢,抑制 TXA₂ 合成发挥抗血小板作用。

2.4 调节核苷酸代谢 环磷酸腺苷(cAMP)和环磷酸鸟苷(cGMP)均有抑制血小板活化的作用,很多研究都证实中药通过影响核苷酸代谢实现抗血小板的作用。人参皂苷衍生物 dihydro ginsenoside Rg3 (人参皂苷 Rg3)^[64]通过升高血小板 cAMP,而不影响 cGMP 发挥其抑制血小板的作用。白藜芦醇通过促进 NO-cGMP 通路发挥其抗血小板作用^[65]。银杏叶提取物、银杏内酯 B 则通过升高 cGMP 水平,抑制血小板聚集^[66]。

2.5 抑制 PI3K 通路 PI3K 在血小板活化的信号通路中占据重要作用,尤其在胶原、vwF 和 ADP-P2Y12 诱导的血小板活化通路中尤为重要,PI3K 通过激活 Akt/eNO/PKG 通路以及 PLC γ 通路最终促进血小板 TXA₂ 的合成、颗粒释放以及整合素活化^[67]。目前关于中药抑制 PI3K 的作用研究已有初步进展,黄张森等^[68]研究发现丹酚酸 A 可以抑制血小板在固定纤维蛋白原上的铺展,并最终证实丹酚酸 A 通过抑制 PI3K 通路抑制血小板的黏附及铺展,明确了丹酚酸 A 的作用靶点很可能是 PI3K β 亚型。

2.6 降低血小板内 Ca²⁺ 浓度 Ca²⁺ 对血小板活化有着不可替代的作用,血小板激动剂诱导的胞内 Ca²⁺ 升高一方面来自血小板胞内钙库的释放,一方面则来自胞外 Ca²⁺ 内流,升高的胞浆内游离钙可以激活多种信号通路及信号分子,如肌动蛋白-肌球蛋白反应、蛋白激酶 C(PKC)通路、Ca²⁺ 依赖的蛋白激酶活化、Rap1 活化以及 TXA₂ 合成等。中药川芎嗪被认为是良好的“钙拮抗剂”^[69]。此外,有研究提示三七皂甙 Rg1 可以抑制凝血酶刺激下的血小板胞内游离钙升高,并推测其机制可能与阻断血小板膜受体调控钙通道或抑制胞内钙库释放有关^[70]。

2.7 调节血小板蛋白质组学 蛋白质是血小板发挥其功能的重要载体,有关中药调节血小板蛋白质组学的研究也逐步开展。有研究证实三七总皂苷通过调节血小板蛋白质组学发挥抗血小板聚集作用,包括增加血小板生长因子受体结合蛋白(growth factor receptor-bound protein 2, Grb2)、凝血酶敏感蛋白

1 (thrombin sensitive protein-1, TSP-1)、微管蛋白-6 (tubulin alpha-6) 的表达;降低硫氧还蛋白(thioredoxin)、铜锌超氧化物歧化酶(CU-ZN superoxide dismutase)、DJ-1 蛋白、过氧化物还原酶 3(peroxiredoxin3)、类硫氧还蛋白 2(thioredoxin-like protein 2)、核糖核酸酶抑制剂(ribonuclease inhibitor)、肌球蛋白调节轻链 9(myosin light chain 9,MLC9)及层黏连蛋白受体 1(laminin receptor1)等蛋白质表达^[71]。丹酚酸 B 作用于大鼠血小板后调节血小板内 20 种蛋白质表达,包括热休克蛋白 70(heat shock protein 70,hsp70)、过氧化物还原酶 2(peroxiredoxin2)、冠蛋白 1B(coronin-1B)、CLP-36、copine1 等^[72]。刘玥^[73]实验证实赤芍总苷与川芎嗪体外联合应用通过降低活化后血小板凝溶胶蛋白(gelsolin)的含量实现对血小板活化的抑制作用。

3 抗血小板治疗效果 监测抗血小板治疗过程中对药物抗血小板效应进行检测,有利于及时调整用

药方案,实现抗血小板治疗的个体化,增加患者临床获益,减少出血风险。目前用于抗血小板药物血小板功能监测的方法主要为血小板聚集率测定、流式细胞术(flow cytometry,FCM)分析以及 ELISA 或放免法。

3.1 常用的血小板聚集率检测方法(表 3)

3.2 FCM 在血小板功能评估中的应用(表 4)

FCM 凭借其特异、灵敏的特点广泛应用于临床血小板功能的监测,在抗血小板治疗效果的评估中,常被用于 GMP-140、GP II b/III a、血小板-白细胞聚集物(platelet-leukocyte aggregate,PLA)、血管扩张刺激磷蛋白(vasodilator stimulated phosphoprotein,VASP)、GP I b/I X 的检测。

除了上述方法之外,血小板代谢产物血清 TXB₂、尿 11-脱氢-TXB₂以及血小板释放产物血小板因子 4(platelet factor 4,PF4)、β-血小板球蛋白(β-thromboglobulin,β-TG)也常用于血小板功能的监测,临床常应用 ELISA 或放射免疫方法检测。值得关

表 3 常用血小板聚集功能检测方法

名称	原理	优点	缺点
比浊法(light turbidimetry assay, LTA) ^[74]	血小板聚集影响血浆浊度、透光率	反应不同血小板激活剂诱导血小板聚集的特点;是目前血小板功能检测金标准	去除其他血细胞,与生理环境差别大;样本需要量较多,样本制备需离心,可能提前激活血小板;测定时间过长;对小血小板聚集物形成不敏感
全血电阻抗法 ^[75]	血小板聚集影响电极间电流或电阻	全血检测,无需离心	检测时间长,费用昂贵;电极维护繁琐
VerifyNow ^[76]	血小板聚集影响透光率	全血检测,简单快速,可用于监测 P2Y ₁₂ 拮抗剂效果	有血细胞压积和血小板数量限制
Plateletworks ^[77]	血小板聚集	全血检测,与 LTA 有良好的相关性	尚不能预测临床结果,相关临床研究较少
PFA-100 ^[78]	血小板聚集,闭塞网眼	全血检测,无需前处理,简单快速;可用于血小板功能障碍性疾病、阿司匹林抵抗的检测	对阿司匹林敏感,对氯吡格雷敏感性欠佳
Impact Cone and Platelet analyzer ^[79]	剪切力诱导的血小板聚集	全血检测,无需前处理,简单快速	血样制备较复杂,临床应用少
血栓弹力图(thromboela-stogram, TEG) ^[80]	血小板聚集、血栓形成	可提供凝血指标,反应凝血过程	操作较繁琐

表 4 FCM 检测血小板功能

FCM 检测指标	检测抗体、原理及意义
GP II b/III a	CD41 单克隆抗体,特异性识别活化血小板
P-选择素	CD62 单克隆抗体,特异性识别活化血小板
单核细胞-血小板聚集体(MPA)	CD14 单克隆抗体识别单核细胞,CD41 单克隆抗体识别血小板,双重抗体应用以识别 MPA
血管扩张刺激磷蛋白(VASP) ^[81]	16C2-FITC 特异识别磷酸化的 VASP (P-VASP),作为 P2Y ₁₂ 拮抗剂功能的监测评估
GP I b/I X	CD42b 单克隆抗体,特异性识别活化血小板。血小板活化时 GP I b/I X 表达减低,可用于评估血小板活化状态
GPIV	CD36 单克隆抗体,可用于评估血小板活化状态

注的是,近来关于血小板活化标志物有了新的发展,除了 GMP-140、GP II b/III a 这一类经典血小板活化标志物之外,血浆溶血磷脂酸(LPA)和 GPVI 也逐渐被应用于检测血小板功能、评估血栓风险^[82]。

4 小结

经典抗血小板药物的应用在带来临床获益的同时也伴随着再次血栓或出血风险,现有的临床血栓风险以及出血风险的评价标准结合药物机制的研究尚不足以实现抗血小板的规范化个体诊疗模式。而基于基因组学的遗传药理学研究可能会为将来的个体化用药提供有力的支持。随着血小板活化机制的深入研究,新型抗血小板药物的研究也朝着多方向进行。目前研究者着重寻找病理性血栓与生理性止血机制的不同点,并以此为切入点开展新型抗血小板药物的研究,如之前提到的 PAR1 抑制剂,PI3K-p110 β 抑制剂等。而如何增加疗效,同时降低出血风险也是这些研究的共同目标。

中药联合抗血小板西药是现阶段中医研究领域的主要模式,如之前所述王宝君等^[48]研究益气活血方联合阿司匹林-氯吡格雷双抗对大鼠颈动脉血栓形成的影响;陈希伟等^[49]研究服用氯吡格雷患者配合服用复方丹参滴丸可以增强血小板抑制率等,已经证实了抗血小板的有效性。但对于中西药合用的抗血小板方案我们并没有一个规范化的标准可以参照,不同中药与抗血小板西药合用的效果不同,除了深入探讨中药抗血小板的作用机制,鉴于中药药用成分的复杂性,如何证实中西药合用的安全性并得到公认,都是目前需要解决的问题。值得指出的是,有报道中药联合抗血小板西药能够同时发挥抗血小板和保护胃黏膜的作用^[83],这也是未来值得深入研究的领域。

血小板检测方法的多样化同样面临变异性较大的问题,由于操作人员和实验室的不同,很难将不同血小板检测方法结果进行比较。因此,建立统一的血小板检测规范标准是十分必要的。抗血小板治疗患者的出血风险和患者服用的抗血小板药物种类、剂量、频率等均有关,临床医生要对抗血小板治疗的患者进行及时的出血风险预测和评估,但临床尚缺乏公认的针对抗血小板治疗患者出血风险进行评估的系统和标准。

参 考 文 献

- [1] 陈伟伟,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告 2015》概要[J]. 中国循环杂志, 2016, 31(6): 624 - 632.
- [2] 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编辑

委员会.抗血小板治疗中国专家共识[J]. 中华心血管病杂志, 2013, 4(3): 183 - 194.

- [3] Eric van De G, Steven RS. Antiplatelet medications and their indications in preventing and treating coronary thrombosis[J]. Ann Med, 2000, 32(8): 561 - 571.
- [4] 范岚,张伟,周宏灏. 抗血小板药物的遗传药理学研究进展[J]. 中国药理学通报, 2010, 26(4): 421 - 423.
- [5] Peto R, Gray R, Collins R, et al. Randomised trial of prophylactic daily aspirin in British male doctors[J]. Br Med J (Clin Res Ed), 1988, 296(6630): 313 - 316.
- [6] Hansson L, Zanchetti A, Carruthers SG, et al. Effects of intensive blood-pressure lowering and low-dose aspirin in patients with hypertension: principal results of the Hypertension Optimal Treatment (HOT) randomised trial. HOT Study Group [J]. Lancet, 1998, 351(9118): 1755 - 1762.
- [7] Collaborative Group of the Primary Prevention Project. Low-dose aspirin and vitamin E in people at cardiovascular risk: a randomised trial in general practice[J]. Lancet, 2001, 357(9262): 89 - 95.
- [8] Tw M, Wilkes H, Kelleher C, et al. Thrombosis prevention trial: randomised trial of low-intensity oral anticoagulation with warfarin and low-dose aspirin in the primary prevention of ischaemic heart disease in men at increased risk. The Medical Research Council's General Practice Research Framework [J]. Lancet, 1998, 351(9098): 233 - 241.
- [9] Belanger C, Buring JE, Cook N, et al. Steering Committee of the Physicians' Health Study Research Group. Final report on the aspirin component of the ongoing Physicians' Health Study[J]. N Engl J Med, 1989, 321(3): 129 - 135.
- [10] Bhatt DL, Fox KAA, Hacke W, et al. Clopidogrel and aspirin versus aspirin alone for the prevention of atherothrombotic events [J]. N Engl J Med, 2006, 20(354): 1706 - 1717.
- [11] CAPRIE Steering Committee. A randomized, blinded trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE) [J]. Lancet, 1996, 348(9038): 1329 - 1339.
- [12] Fox KA, Mehta SR, Peters R, et al. Benefits and risks of the combination of clopidogrel and aspirin in patients undergoing surgical revascularization for non-ST-elevation acute coronary syndrome: the Clopidogrel in Unstable Angina to Prevent Recurrent Ischemic Events (CURE) Trial [J]. Circulation, 2004, 110(10): 1202 - 1208.

- [13] Mehta SR, Tanguay JF, Eikelboom JW. Double-dose *versus* standard-dose clopidogrel and high-dose *versus* low-dose aspirin in individuals undergoing percutaneous coronary intervention for acute coronary syndromes (CURRENT-OASIS 7): a randomized factorial trial [J]. *Lancet*, 2010, 376(9748): 1233–1243.
- [14] 国内外四专家共讨 ACS 抗栓治疗优化策略[A]. 北京: 第十届中国介入心脏病学会大会, 2012.
- [15] Montalescot G, Wiviott SD, Braunwald E, et al. Prasugrel compared with clopidogrel in patients undergoing percutaneous coronary intervention for ST-elevation myocardial infarction (TRITON-TIMI 38): double-blind, randomised controlled trial [J]. *Lancet*, 2009, 373(9665): 723–731.
- [16] 曹勇军. 重视卒中防治, 规范抗血小板治疗[J]. 中国实用内科杂志, 2011, 10(31): 807–809.
- [17] Steg PG, Bhatt DL, Hamm CW, et al. Effect of cangrelor on periprocedural outcomes in percutaneous coronary interventions: a pooled analysis of patient-level data [J]. *Lancet*, 2013, 382(9909): 1981–1992.
- [18] Berger JS, Roe MT, Gibson CM, et al. Safety and feasibility of adjunctive antiplatelet therapy with intravenous elinogrel, a direct-acting and reversible P2Y₁₂ ADP-receptor antagonist, before primary percutaneous intervention in patients with ST-elevation myocardial infarction: the Early Rapid Reversal of platelet thrombosis with intravenous Elinogrel before PCI to optimize reperfusion in acute Myocardial Infarction (ERASE MI) pilot trial [J]. *Am Heart J*, 2009, 158(6): 998–1004.
- [19] Welsh RC, Rao SV, Zeymer U, et al. A randomized, double-blind, active-controlled phase 2 trial to evaluate a novel selective and reversible intravenous and oral P2Y₁₂ inhibitor elinogrel versus clopidogrel in patients undergoing nonurgent percutaneous coronary intervention: the INNOVATE-PCI trial [J]. *Circ Cardiovasc Interv*, 2012, 5(3): 336–346.
- [20] Stone GW, Witzenbichler B, Godlewski J, et al. Intralesional abciximab and thrombus aspiration in patients with large anterior myocardial infarction: one-year results from the INFUSE-AMI trial [J]. *Circ Cardiovasc Interv*, 2013, 6(5): 527–534.
- [21] ESPRIT Investigators. Enhanced suppression of the platelet II b/III a receptor with Integrilin therapy. Novel dosing regimen of eptifibatide in planned coronary stent implantation (ESPRIT): a randomised, placebo-controlled trial [J]. *Lancet*, 2001, 357(9265): 1370.
- [22] Moliterno DJ, Yakubov SJ, DiBattiste PM, et al. Outcomes at 6 months for the direct comparison of tirofiban and abciximab during percutaneous coronary revascularization with stent placement: the TARGET follow-up study [J]. *Lancet*, 2002, 360(9330): 355–360.
- [23] Forbes CD. Secondary stroke prevention with low-dose aspirin, sustained release dipyridamole alone and in combination. ESPTS Investigators. European Stroke Prevention Study [J]. *Thromb Res*, 1998, 92(Suppl 1): S1–S6.
- [24] 周忠江, 侯玉清. 急性冠状动脉综合征新型抗血小板药物研究进展 [J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2012, 6(21): 6829–6831.
- [25] Shinohara Y, Katayama Y, Uchiyama S, et al. Cilostazol for prevention of secondary stroke (CSPTS 2): an aspirin-controlled, double-blind, randomised non-inferiority trial [J]. *Lancet Neurol*, 2010, 9(10): 959–968.
- [26] Diener HC, Bogousslavsky J, Brass LM. Aspirin and clopidogrel compared with clopidogrel alone after recent ischaemic stroke or transient ischaemic attack in high-risk patients (MATCH): randomized, double-blind, placebo-controlled trial [J]. *Lancet*, 2004, 364(9449): 331–337.
- [27] Simon T, Bhatt DL, Bergougnan L, et al. Genetic polymorphisms and the impact of a higher clopidogrel dose regimen on active metabolite exposure and antiplatelet response in healthy subjects [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2011, 90: 287–295.
- [28] 钱孝贤, 周彬. 心血管疾病抗血小板治疗进展 [J]. 岭南心血管病杂志, 2013, 19(5): 532–535.
- [29] Cannon CP, Harrington RA, James S. Comparison of ticagrelor with clopidogrel in patients with a planned invasive strategy for acute coronary syndromes (PLATO): a randomized double-blind study [J]. 2010, 375(9711): 283–293.
- [30] 李彦明, 王佩显. 抗血小板药物研究新进展 [J]. 中国综合临床, 2003, 19(11): 963–964.
- [31] 曹勇军. 重视卒中防治规范抗血小板治疗 [J]. 中国实用内科杂志, 2011, 31(10): 807–809.
- [32] Shinohara Y, Katayama Y, Uchiyama S. Cilostazol for prevention of secondary stroke (CSPTS 2): an aspirin-controlled, double-blind, randomised non-inferiority trial [J]. *Lancet Neurol*, 2010, 9(10): 959–968.
- [33] Forbes CD. Secondary stroke prevention with low-dose aspirin, sustained release dipyridamole

- alone and in combination. ESPS Investigators. European Stroke Prevention Study [J]. *Thromb Res*, 1998, 9(92): S1-S6.
- [34] Sacco RL, Diener HC, Yusuf S, et al. Aspirin and extended-release Dipyridamole versus Clopidogrel for recurrent stroke. The Prevention Regimen for Effectively Avoiding Second Strokes (PRoFESS) trial [J]. *N Engl J Med*, 2008, 359: 1238-1251.
- [35] 徐安定, 孙欣, 王拥军. 非心源性缺血性卒中及短暂性脑缺血发作患者的抗栓治疗 [J]. *中国卒中杂志*, 2011, 6(1): 39-45.
- [36] 抗血小板药物消化道损伤的预防和治疗中国专家共识组. 抗血小板药物消化道损伤的预防和治疗中国专家共识(2012 更新版) [J]. *中华内科杂志*, 2013, 52(3): 264-270.
- [37] Morrow DA, Braunwald E, Bonaca MP, et al. Vorapaxar in the secondary prevention of atherothrombotic events [J]. *N Engl J Med*, 2012, 366(15): 1404-1413.
- [38] Gitz E, Koopman CD, Giannas A, et al. Platelet interaction with von Willebrand factor is enhanced by shear-induced clustering of glycoprotein Ib α [J]. *Haematologica*, 2013, 98(11): 1810-1818.
- [39] 程彦, 胡厚源. 血小板膜糖蛋白 GP I b α 拮抗剂的研究进展 [J]. *心血管病学进展*, 2013, 34(1): 124-127.
- [40] Lapchak PA, Doyan S, Fan X, et al. Synergistic effect of AJW200, a von Willebrand factor neutralizing antibody with low dose (0.9 mg/mg) thrombolytic therapy following embolic stroke in rabbits [J]. *J Neurol Neurophysiol*, 2013, 12(6): 1-11.
- [41] Momi S, Tantucci M, Van Roy M, et al. Reperfusion of cerebral artery thrombosis by the GPIIb/IIIa blockade with the nanobody ALX-0081 reduces brain infarct size in guinea pigs [J]. *Blood*, 2013, 121(25): 5088-5097.
- [42] Bartunek J, Barbato E, Heyndrickx G, et al. Novel antiplatelet agents: ALX-0081, a nanobody directed towards von Willebrand factor [J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2013, 6(3): 355-363.
- [43] Jackson SP, Schoenwaelder SM, Goncalves I, et al. PI3-kinase p110 β : a new target for antithrombotic therapy [J]. *Nat Med*, 2005, 5(17): 507-514.
- [44] Straub A, Wendel HP, Dietz K, et al. Selective inhibition of the platelet phosphoinositide 3-kinase p110 β as promising new strategy for platelet protection during extracorporeal circulation [J]. *Thromb Haemost*, 2008, 99(3): 457-465.
- [45] Newman DK. CD39 target practice [J]. *Blood*, 2013, 121(16): 3061-3062.
- [46] 王宝君, 张庆翔, 张蕾, 等. 益气活血中药配合双联抗血小板治疗对急性心肌梗死大鼠血栓形成的影响 [J]. *中医杂志*, 2013, 54(14): 1225-1229.
- [47] 陈希伟, 吴同果, 韦建瑞, 等. 复方丹参滴丸对氯吡格雷抵抗患者血小板聚集功能的影响 [J]. *广州医药*, 2012, 43(2): 26-29.
- [48] 张本奇, 李振彬, 侯树兵. 养心通脉方对大鼠血液流变学和血小板聚集的影响 [J]. *华北国防医药*, 2008, 20(4): 12-13.
- [49] 宫丽, 张继平, 李齐欢, 等. 补阳还五汤家兔含药血清对 PAF 诱导的家兔血小板聚集的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2009, 15(7): 60-61.
- [50] 鲁建武, 宋金春, 曾俊芬. 佛手散对大鼠血液流变性的影响 [J]. *中国医院药学杂志*, 2009, 29(5): 356-358.
- [51] 高玉桥, 林慧, 梅全喜, 等. 黄蛭口服液对血小板聚集功能的影响研究 [J]. *中国药房*, 2008, 19(15): 1129-1130.
- [52] Lee JG, Lee YY, Kim SY, et al. Platelet anti-aggregating activity of ginsenosides isolated from processed ginseng [J]. *Pharmazie*, 2009, 64(9): 602-604.
- [53] Huang ZS, Zeng CL, Zhu LJ, et al. Salvianolic acid A inhibits platelet activation and arterial thrombosis via inhibition of PI3K [J]. *J Thromb Haemost*, 2010, 8(6): 1383-1393.
- [54] 王辉, 刘刚, 罗顺德, 等. 莲心碱对血小板聚集、凝血功能和血栓形成的影响 [J]. *中国药理学通报*, 2010, 26(6): 768-772.
- [55] 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.
- [56] 李家增. 中草药及其提取物对心血管系统血液粘性和血小板的作用 [A]. *全国血液病理生理学术会议论文汇编*, 1983: 2-4.
- [57] 苏雅, 赵益桂, 张宗鹏. 三七三醇皂甙对动物血小板功能及血栓形成的影响 [J]. *中草药*, 1996, 27(11): 666-669.
- [58] 刘洪, 潘苏华, 刘成鼎, 等. 甲磺酸胺银杏内酯 B 对 PAF 诱导家兔血小板聚集和释放产物的影响 [J]. *中成药*, 2010, 32(6): 914-918.
- [59] 杨雨民, 王兴祥, 王世君, 等. 白藜芦醇在体外对 ADP 诱导人血小板聚集的抑制作用及其机制 [J]. *药理学学报*, 2008, 43(4): 356-360.
- [60] Jennings LK. Mechanisms of platelet activation: Need for new strategies to protect against platelet-mediated atherothrombosis [J]. *Thromb Haemost*, 2009, 102(2): 248-257.
- [61] 熊攀, 王者宁, 李静明, 等. 血塞通软胶囊对心绞痛患者血浆内皮素和血小板 α 颗粒膜蛋白的影响 [J]. *中国药物与临床*, 2006, 6(11): 879-880.
- [62] 刘磊, 温志超, 罗心平. 丹参多酚酸抑制急性冠脉综合征血小板膜糖蛋白表达的临床研究 [J]. *中成药*,

2012, 34(12): 2290–2295.

- [63] 李晓静,周敏,李晓辉,等. 丹参酮 II a 对免疫性血管炎细胞因子和血小板的影响及其作用机制[J]. 中国实验血液学杂志, 2009, 17(1): 188–192.
- [64] Lee WM, Kim SD, Park MH, et al. Inhibitory mechanisms of dihydrogensenoside Rg₃ in platelet aggregation: critical roles of ERK2 and cAMP[J]. J Pharm Pharmacol, 2008, 60(11): 1531–1536.
- [65] Shen MY, Hisao G, Liu CL, et al. Inhibitory mechanisms of resveratrol in platelet activation: pivotal roles of p38 MAPK and NO/cyclic GMP[J]. Br J Haematol, 2007, 139(3): 475–485.
- [66] 衡亮, 宦梦蕾. 银杏叶提取物抗实验性血栓模型大鼠的作用及机制[J]. 现代生物医学进展, 2009, 9(10): 1835–1837.
- [67] Li Z, Delaney MK, O'Brien KA, et al. O'Brien signaling during platelet adhesion and activation[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2010, 30(12): 2341–2349.
- [68] 黄张森. 丹酚酸 A 通过抑制 3 羧基磷脂酰肌醇激酶 PI3K 途径降低血小板激活和动脉血栓形成[D]. 杭州: 浙江大学, 2011.
- [69] 徐浩. 川芎嗪的临床应用和药理作用[J]. 中国中西医结合杂志, 2003, 23(5): 376–377.
- [70] 徐皓亮, 季勇, 饶曼人. 三七皂甙 Rg₁ 对大鼠实验性血栓形成, 血小板聚集率及血小板内游离钙水平的影响[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 1998, 12(1): 40–42.
- [71] Yao Y, Wu WY, Guan SH, et al. Proteomic analysis of differential protein expression in rat platelets treated with notoginsenosides[J]. Phytomedicine, 2008, 15(10): 800–807.
- [72] Ma C, Yao Y, Yue QX, et al. Differential proteomic analysis of platelets suggested possible signal cascades network in platelets treated with salvianolic acid B[J]. PLoS One, 2011, 6(2): e14692.
- [73] 刘玥. 血小板骨架蛋白 Gelsolin 在冠心病血瘀证中的作用及赤芍川芎有效组分的干预效应研究[D]. 北京: 中国中医科学院, 2012.
- [74] Carr ME Jr. *In vitro* assessment of platelet function[J]. Transfus Med Rev, 1997, 11(2): 106–115.
- [75] Nicholson NS, Panzer-Knodle SG, Haes NF. Assessment of platelet function assays[J]. Am Heart J, 1998, 135(5 Pt 2 Su): 170.
- [76] Malinin A, Pokov A, Swaim L, et al. Validation of a verify now-P2Y₁₂ cartridge for monitoring platelet inhibition with clopidogrel[J]. Methods Find Exp Clin Pharmacol, 2006, 28(5): 315–322.
- [77] Campbell J, Ridgway H, Carville D. Plateletworks: a novel point of care platelet function screen[J]. Mol Diagn Ther, 2008, 12(4): 253–258.
- [78] Storey RF, Heptinstall S. Laboratory investigation of platelet function[J]. Clin Lab Haemat, 1999, 21(5): 317–329.
- [79] Savion N, Varon D. Impact – The Cone and Platelet Analyzer: Testing platelet function and antiplatelet drug response[J]. Pathophysiol Haemos Thromb, 2006, 35(1–2): 83–88.
- [80] Harrison P, Keeling D. Clinical test of platelet function[M]. 2nd ed. San Diego: Elsevier/Academic Press, 2007: 445–474.
- [81] Aleil B, Ravanat C, Cazenave JP, et al. Flow cytometric analysis of intraplatelet VASP phosphorylation for the detection of clopidogrel resistance in patients with ischemic cardiovascular diseases[J]. J Thromb Haemost, 2005, 3(1): 85–92.
- [82] 李忠民. 血小板膜糖蛋白 VI: 一种新的急性冠状动脉综合征生物学指标[J]. 心血管病学进展, 2011, 32(5): 684–687.
- [83] 张庆翔, 张蕾, 刘剑刚. 西洋参茎叶总皂苷对双联抗致大鼠胃黏膜损伤的修复作用[J]. 科学通报, 2014, 59(12): 1133–1139.

(收稿: 2014–08–13 修回: 2016–08–25)