

对氧磷酶1基因多态性与氯吡格雷抵抗的相关性研究进展[△]

陈艳^{1*}, 张秀芹¹, 黄红林¹, 毕津莲^{2#} (1. 南华大学药物药理研究所, 湖南衡阳 421001; 2. 南华大学附属第一医院, 湖南衡阳 421001)

中图分类号 R54.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)48-4603-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.48.34

摘要 目的:为抗血小板药物氯吡格雷的临床应用和个体化给药提供参考。方法:检索国内、外最新相关文献,对对氧磷酶1(PON1)基因多态性与氯吡格雷抵抗的相关性的研究进展进行分析、归纳和总结。结果与结论:PON1基因多态性与氯吡格雷抵抗相关性的研究可用于心血管事件的个体预防和发病机制探索。PON1是氯吡格雷生物活化的关键酶,PON1基因Q192R单核苷酸多态性可以调控PON1的活性;且PON1基因多态性可能是氯吡格雷抵抗发生的重要影响因素。由于不同种族人群、不同试验方法及样本量的限制都会干扰两者的相关性,因此应在试验条件允许的情况下适当增加样本量;对不同种族人群的研究要从多方面进行分析,减少环境、生活方式等因素对两者的相关性的干扰。

关键词 PON1;氯吡格雷抵抗;基因多态性;相关性

氯吡格雷是临床上常用的一种新型噻吩吡啶类抗血小板药物,其与阿司匹林联合双重抗血小板治疗已广泛应用于急性冠状动脉综合征(ACS)和经皮冠状动脉介入治疗(PCI)术后^[1],可显著减少心血管事件发生率,降低支架内血栓形成的发生率^[2]。但是,氯吡格雷的抗血小板聚集作用存在较大个体差异,部分患者尽管长期服用标准剂量的氯吡格雷,但仍不能有效预防心血管事件的发生,严重的甚至发生支架内血栓形成^[3-4],此现象称为氯吡格雷抵抗(Clopidogrel resistance, CR)^[5]。CR的机制目前尚不十分明确,可能包括药物间相互作用、高胰岛素血症或胰岛素抵抗、基因多态性^[6-8]等,其中分子遗传学因素被认为是最重要的因素之一,已成为当前研究热点之一。最近的研究^[9]发现,对氧磷酶1(Paraoxonase-1, PON1)是氯吡格雷生物活化的关键酶,PON1基因Q192R单核苷酸多态性可以调控PON1的活性。本文综合目前有关PON1基因多态性与CR的相关性的研究,分析、归纳和总结PON1基因Q192R单核苷酸多态性与CR的相关关系,以期为临床安全、有效地使用氯吡格雷,减少缺血性心血管事件的发生提供参考。

1 CR的定义

虽然多项研究已经证实CR的存在,但目前仍然缺乏明确、统一的定义。Wiviott SD等^[9]对CR的定义为:部分患者尽管长期服用常规剂量的氯吡格雷(300 mg 负荷量,维持量75 mg/d),但临床上仍不能有效地防止血栓事件的发生,且实验室检测血小板聚集功能未得到有效抑制。此描述得到多数人的认可,认为CR有临床和实验室两层含义:临床CR指虽给予氯吡格雷标准化治疗但不能达到预期的药理学作用,仍有心血管事件发生^[10];实验室CR指采用二磷酸腺苷(ADP)诱导的血小板聚集率为主要检测指标,在服药前和服药后测定由ADP诱导的血小板聚集率差值 $\leq 10\%$ ^[11],或者经氯吡格雷持续治疗后测定由ADP诱导残余有活性的血小板数量 $\geq 70\%$ ^[12]。

[△] 基金项目:湖南省卫生厅科研基金资助项目(No.B2012-052)

* 硕士研究生。研究方向:心血管药理与临床药学。电话:0734-8578928

通信作者:副主任药师,副教授。研究方向:药理学与临床药学。电话:0734-8578930

2 PON1与氯吡格雷代谢

氯吡格雷是前体药物,在人体内约15%经代谢成含巯基的活性产物,发挥抗血小板聚集作用^[13]。其生物活化需要两个步骤,第一是通过氧化作用形成中间代谢产物(2-氧基-氯吡格雷);第二是经过水解作用形成活性巯基代谢终产物。既往研究表明,CYP酶系是氯吡格雷肝脏代谢的主要酶系,而Bouman HJ等^[9]在欧美人中利用体外代谢谱技术,发现PON1是氯吡格雷生物活化的一种关键酶。氯吡格雷能否代谢为活性终产物而发挥抗血小板作用主要受CYP酶系和PON1的影响,其在肝脏代谢的第二步(由中间产物代谢为活性终产物)主要由PON1催化完成。因此,PON1可能是氯吡格雷临床抗血小板疗效的一个重要的决定因素。

3 PON1的基因多态性

PON1是由肝脏合成的分子质量约44 kD的糖蛋白,含355个氨基酸残基,广泛分布于许多组织,如肝脏、血液、肾脏、脾脏及脑组织等。目前的研究表明,PON1基因的编码区存在着两种常见的功能性单核苷酸多态性,即Q192R(编码区序列第192位谷氨酰胺残基突变为精氨酸R残基)和L55M(编码区序列第55位亮氨酸残基突变为甲硫氨酸残基),上述变化是个体间PON1酶活性不同的分子基础,可以影响血清中PON1浓度、活性及对多种底物的水解效率^[14-16]。PON1基因第192位氨基酸残基是影响PON1酶活性的重要部位^[17]。编码PON1的基因位于7q21-22,其在192位出现的谷氨酸(Glu)/精氨酸(Arg)多态性使PON1出现两种同型异构体,两者对氯吡格雷的水解具有不同的活性,PON1 QQ192基因型第192位点的氨基酸为Glu,PON1活性低;PON1 RR192基因型第192位点的氨基酸为Arg,PON1具有高酶活性。故PON1基因Q192R单核苷酸多态性对氯吡格雷的代谢活性可能产生重要影响。Oliveira SA等^[18]对服用氯吡格雷的PCI术后患者观察发现,携带有PON1 QQ192纯和子的患者比携带有PON1 RR192纯和子的患者具有较低的血小板抑制率和较高的支架内血栓发生率($P < 0.001$);而L55M单核苷酸多态性并不影响PON1与底物的相互作用。

4 PON1基因多态性与CR的相关性

有研究显示,遗传药理学上个体代谢的差异性可能导致了氯吡格雷药效作用的不同^[19]。Bouman HJ 等^[9]研究发现,氯吡格雷在肝脏代谢的第二步主要由 PON1 催化完成,Q192R 基因多态性决定活性巯基代谢产物的形成速率;并且通过对服用氯吡格雷的 PCI 术后患者观察(41 例支架内血栓形成患者和 71 例对照组患者)发现,Q 等位基因携带患者表现出较低的 PON1 活性,因此血浆中的氯吡格雷活性代谢物浓度较低,血小板抑制减少,从而使患者具有较高的支架内血栓形成的潜在风险。Topol EJ 等^[20]综合了 Bouman HJ 等近几年的研究,诠释了 PON1 基因 Q192R 单核苷酸多态性与氯吡格雷的生物学活性之间的可能相关性,即氯吡格雷的生物活化需要两个步骤,第一个步骤是通过 CYP 酶系氧化作用形成中间产物代谢(2-氧基-氯吡格雷),但 2-氧基-氯吡格雷是没有活性的;第二个步骤是由 PON1 介导的水解作用形成活性巯基代谢终产物。PON1 Q 等位基因可以减少氯吡格雷转化成活性巯基代谢终产物,从而使发生缺血性事件的风险增加。Tselepis AD 等^[21]对 74 例冠心病患者进行观察研究发现,PON1 基因多态性对冠心病患者使用氯吡格雷的抗血小板疗效发挥着重要的决定性作用,Q 等位基因型携带者表现出低 PON1 酶活性,这种活性可能会影响中间代谢产物(2-氧基-氯吡格雷)转化成活性巯基代谢产物,从而影响氯吡格雷的抗血小板疗效。Hassan MA 等^[22]对 121 例冠心病患者研究发现,与对照组相比,沙特人中的冠心病患者的 RR 基因型频率显著增加,Q192R 基因多态性可能在冠心病患者氯吡格雷抗血小板治疗中发挥了至关重要的作用。Park KW 等^[23]对 1 676 例已行 PCI 术并使用氯吡格雷抗血小板治疗的韩国患者进行观察发现,携带 PON1 QQ192 等位基因可以作为冠心病患者 PCI 术后不良事件的一个新的遗传危险因素。Duconge J 等^[24]认为,在 72% 的欧洲人群中,氯吡格雷的个体反应差异是由 PON1 基因 Q192R 单核苷酸多态性所导致的。

值得注意的是,一些研究发现在不同人群中,PON1 基因多态性与氯吡格雷的抗血小板活性以及临床预后并没有相关性^[25-28]。Trenk D 等^[27]通过对 760 例 PCI 术后患者给予 600 mg 负荷量的氯吡格雷,利用流式细胞仪对血小板功能进行监测,未发现 PON1 基因 Q192R 单核苷酸多态性与血小板的活性相关($P=0.728$),并且术后一年患者的 PON1 Q192R 两种基因型频率与患者的心肌梗死和死亡的发生率并无相关性。Kreutz RP 等^[29]对 151 名混合种族背景并且接受氯吡格雷治疗的冠心病受试者的血液样本进行了分析,结果显示,PON1 基因 Q192R 单核苷酸多态性并不影响氯吡格雷的抗血小板效应。一项荟萃分析收集了 17 项有关 PON1 基因多态性与氯吡格雷生物学效应的相关性的研究,结果发现,PON1 基因 Q192R 单核苷酸多态性与氯吡格雷的生物学效应并没有显著关联^[30]。当然,上述研究结果的差异可能是由样本设计、基因型测定方法、观察终点和种族不同所导致的。

5 结语

目前,针对 CR 相关的基因多态性的试验研究越来越多,同时也证实了基因多态性在 CR 的多种影响因素中的举足轻重的地位。PON1 基因多态性与 CR 相关性的研究可用于心血管事件的个体预防和发病机制探索,但目前相关的大规模临床试验较少,是单核苷酸多态性还是共存的基因多态性对氯吡格雷药效产生影响,还不得而知。另外,由于种族、试验方

法及样本量的差异性,现有的研究结果缺乏较高的一致性,因此需要更多更大规模的前瞻性研究和功能性试验来明确,在试验条件允许的情况下适当增加样本量,对不同环境、生活方式的各种族人群的研究要从多方面进行分析,以减少各种因素对 PON1 基因多态性与 CR 相关性的干扰,并可利用遗传学的工具进一步探索抗血小板药物产生个体差异的机制,以推动个体化抗血栓治疗的发展,减少或避免不良事件的发生。

参考文献

- [1] 张灏,米登海.抗血小板治疗[M].北京:人民卫生出版社,2011:231-289.
- [2] Price MJ, Angiolillo DJ, Teirstein PS, et al. Platelet reactivity and cardiovascular outcomes after percutaneous coronary intervention: a time-dependent analysis of the Gugging Responsiveness with a VerifyNow P2Y12 assay: Impact on Thrombosis and Safety (GRAVITAS) trial[J].*Circulation*, 2011, 124(10):1 132.
- [3] Vlachojannis GJ, Dimitropoulos G, Alexopoulos D. Clopidogrel resistance: current aspects and future directions [J].*Hellenic J Cardiol*, 2011, 52(3):236.
- [4] Wan WH, Qian XM. Clinical advances of new antiplatelets[J].*Chin J Pract Intern Med*, 2011, 31(10):796.
- [5] Wiviott SD, Antman EM. Clopidogrel resistance: a new chapter in a fast-moving story[J].*Circulation*, 2004, 109(25):3 064.
- [6] Singla A, Antonino MJ, Bliden KP, et al. The relation between platelet reactivity and glycemic control in diabetic patients with cardiovascular disease on maintenance aspirin and clopidogrel therapy[J].*Am Heart J*, 2009, 158(5):784. e1.
- [7] Sibbing D, Beckerath O, Schomig A, et al. Impact of body mass index on platelet aggregation after administration of a high loading dose of 600mg of clopidogrel before percutaneous coronary intervention[J].*Am J Cardiol*, 2007, 100(2):203.
- [8] Fontana P, Hulot JS, Moerloose P, et al. Influence of CYP2C19 and CYP3A4 gene polymorphisms on clopidogrel responsiveness in healthy subjects[J].*J Thromb Haemost*, 2007, 5(10):2 153.
- [9] Bouman HJ, Schömig E, van Werkum JW, et al. Paraoxonase-1 is a major determinant of clopidogrel efficacy[J].*Nat Med*, 2011, 17(1):110.
- [10] Angiolillo DJ. Variability in responsiveness to oral antiplatelet therapy[J].*Am J Cardiol*, 2009, 103(3 Suppl): 27A.
- [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):2 908.
- [12] Guisset T, Frere C, Quilici J, et al. Role of the T744C polymorphism of the P2Y12 gene on platelet response to a 600-mg loading dose of clopidogrel in 597 patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndrome[J].

- Thromb Res*, 2007,120(6):893.
- [13] Mullangi R, Srinivas NR. Clopidogrel review of bioanalytical methods, pharmacokinetics /pharmacodynamics and update on recent trends in drug-drug interaction studies[J]. *Biomed Chromatogr*, 2009,23(1):26.
- [14] Humbert R, Adler DA, Distechi CM, et al. The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism[J]. *Nat Genet*, 1993,3(1):73.
- [15] Leviev I, Deakin S, James RW. Decreased stability of the M54 isoform of paraoxonase as a contributory factor to variations in human serum paraoxonase concentrations [J]. *J Lipid Res*, 2001,42(4):528.
- [16] Agachan B, Yilmaz H, Karaali Z, et al. Paraoxonase 55 and 192 polymorphism and its relationship to serum paraoxonase activity and serum lipids in Turkish patients with non-insulin dependent diabetes mellitus[J]. *Cell Biochem Funct*, 2004,22(3):63.
- [17] Mackness B, Mackness MI, Arrol S, et al. Effect of the human serum paraoxonase 55 and 192 genetic polymorphisms on the protection by high density lipoprotein against low density lipoprotein oxidative modification[J]. *FEBS Lett*, 1998,423(1):57.
- [18] Oliveira SA, Mansur AP, Ribeiro CC, et al. PON1 M/L55 mutation protects high-risk patients against coronary artery disease[J]. *Int J Cardiol*, 2004,94(1):73.
- [19] Peters BJ, Harmsze AM, ten Berg JM, et al. CYP2C19 and ABCB1 genes and individualized treatment with clopidogrel[J]. *Pharmacogenomics*, 2011,12(2):141.
- [20] Topol EJ, Schork NJ. Catapulting clopidogrel pharmacogenomics forward[J]. *Nat Med*, 2011,17(1):40.
- [21] Tselepis AD, Tsoumani ME, Kalantzi KI, et al. Influence of high-density lipoprotein and paraoxonase-1 on platelet reactivity in patients with acute coronary syndromes receiving clopidogrel therapy[J]. *J Thromb Haemost*, 2011,9(12):2371.
- [22] Hassan MA, Al-Attas OS, Hussain T, et al. The Q192R polymorphism of the paraoxonase 1 gene is a risk factor for coronary artery disease in Saudi subjects[J]. *Mol Cell Biochem*, 2013,380(1/2):121.
- [23] Park KW, Park JJ, Kang J, et al. Paraoxonase 1 gene polymorphism does not affect clopidogrel response variability but is associated with clinical outcome after PCI [J]. *PLoS One*, 2013,8(2):e52779.
- [24] Duconge J, Escalera O, Korchela M, et al. Clinical Implications of Genetic Admixture in Hispanic Puerto Ricans: Impact on the Pharmacogenetics of CYP2C19 and PON1[J]. *Clinical Applications of Pharmacogenetics*, 2012,12(3):1412.
- [25] Sibbing D, Koch W, Massberg S, et al. No association of paraoxonase-1 Q192R genotypes with platelet response to clopidogrel and risk of stent thrombosis after coronary stenting[J]. *Eur Heart J*, 2011,32(13):1605.
- [26] Fontana P, James R, Barazer I, et al. Relationship between paraoxonase-1 activity, its Q192R genetic variant and clopidogrel responsiveness in the ADRIE study[J]. *J Thromb Haemost*, 2011,9(8):1664.
- [27] Trenk D, Hochholzer W, Fromm MF, et al. Paraoxonase-1 Q192R polymorphism and antiplatelet effects of clopidogrel in patients undergoing elective coronary stent placement[J]. *Circ Cardiovasc Genet*, 2011,4(4):429.
- [28] Rideg O, Komócsi A, Magyarlaci T, et al. Impact of genetic variants on post-clopidogrel platelet reactivity in patients after elective percutaneous coronary intervention[J]. *Pharmacogenomics*, 2011,12(9):1269.
- [29] Kreutz RP, Nystrom P, Kreutz Y, et al. Influence of paraoxonase-1 Q192R and cytochrome P450 2C19 polymorphisms on clopidogrel response[J]. *Clin Pharmacol*, 2012(4):13.
- [30] Reny JL, Combescure C, Daali Y, et al. Influence of the paraoxonase-1 Q192R genetic variant on clopidogrel responsiveness and recurrent cardiovascular events: a systematic review and meta-analysis[J]. *J Thromb Haemost*, 2012,10(7):1242.

(收稿日期:2013-09-11 修回日期:2013-11-04)

国家卫生和计划生育委员会主任李斌出席第六届中日韩卫生部部长会议

本刊讯 2013年11月24日,第六届中日韩卫生部部长会议在韩国首尔举行。国家卫生和计划生育委员会主任李斌、韩国保健福祉部代理部长李永燦和日本厚生劳动大臣田村宪久率团出席会议。

会议回顾了在中日韩机制下卫生领域的合作历程和取得的成果,讨论了在全民健康覆盖、人口老龄化、流感流行和新发再发传染病防控三个领域进一步加强合作的建议,取得了重要共识。

会议发布了《第六届中日韩卫生部长会议联合声明》,并续签了三国卫生部门关于共同应对流感流行和新发再发传染病的谅解备忘录和联合行动计划。根据备忘录和联合行动计

划,三方将通过信息分享、联合演练、举办高官会议等方式加强合作,联合应对流感流行和新发再发传染病,维护本区域卫生安全。

三国卫生部部长还共同出席了中日韩全民健康覆盖论坛的开幕式并致辞。

在韩国期间,李斌主任分别会见了韩国保健福祉部代理部长李永燦、日本厚生劳动大臣田村宪久和世界卫生组织西太区主任申英秀,就医药卫生体制改革、流感流行和人口老龄化等领域卫生合作交换了意见。李斌主任还访问了韩国国民健康保险公团、国民健康保险审查评估服务委员会和博巴斯老年护理医院等机构。