

# 氯吡格雷抵抗中基因多态性研究进展

邢 元 李为民

**【摘要】** 对急性冠脉综合征及冠脉支架术后患者采取阿司匹林及氯吡格雷双联抗血小板药物的治疗方针,以预防心血管不良事件的发生。然而临床观察发现,在此治疗过程中仍有心血管不良事件的发生。这可能与患者存在氯吡格雷药物抵抗(或称氯吡格雷无反应)相关。早期识别氯吡格雷抵抗对于预防高危心脏病患者心血管不良事件的发生有重要意义。细胞色素 P450 酶系统(CYP)中有多种酶参与氯吡格雷体内代谢过程,这些酶的多态性与氯吡格雷抵抗密切相关。

**【关键词】** 氯吡格雷抵抗;基因多态性;血小板反应性

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2014.02.009

冠状动脉内的粥样斑块破裂可使血小板激活并局部聚集形成血栓,导致血管腔进一步狭窄甚至闭塞,造成远端心肌供血急剧减少或中断,这是急性冠脉综合征(ACS)和心肌梗死等心肌缺血性疾病的主要发病机制。可见血小板的活化和聚集在心肌缺血性疾病中扮演着重要的角色。因此对于此类患者积极抗血小板治疗是必不可少的。氯吡格雷的抗血小板作用较强,然而其在不同个体之间的药效却存在差异。

## 1 氯吡格雷抵抗的发生机制

氯吡格雷在小肠的吸收受 ABCB1 基因编码的质子泵 P-糖蛋白(P-gp)调控,经肠道吸收后 85% 经羧酸酯酶(CES1)转化为无活性的代谢物排出体外,剩余 15% 的氯吡格雷主要经细胞色素 P450(CYP)家族中的 CYP2C19、CYP1A2、CYP2B6 酶转化为无活性中间产物二氧氯吡格雷(2-oxo-氯吡格雷)。大部分 2-oxo-氯吡格雷再以对氧磷酶(PON)1 为限速酶经 CYP2C19、CYP3A4、CYP2B6、CYP2C9 酶转化为氯吡格雷的活性代谢物,有活性的代谢产物不可逆地抑制血小板表面 ADP 受体(P2Y<sub>12</sub>),发挥抑制血小板活化聚集的作用;少部分 2-oxo 氯吡格雷也可被 CES1 水解代谢出体外<sup>[1]</sup>。可见氯吡格雷代谢过程有多种酶类参与,这些酶的基因多态性可能导致血浆氯吡格雷活性代谢产物浓度的变化,进而导致其抗血小板效应的不同,这是出现氯吡格雷

抵抗的重要原因之一。

## 2 基因多态性的影响

### 2.1 ABCB1

已知的多耐药蛋白,如 P-gp 是 ATP 能量依赖的转运蛋白,有外排药物的功能,它是由 ABCB1 基因编码的,因此 ABCB1 多态性可通过影响 P-gp 来影响氯吡格雷在肠道内吸收而影响其药效。既往针对 c. 3435C>T (rs1045642) 等位基因的研究显示 c. 3435T 纯合子(TT)较 c. 3435C 携带者的氯吡格雷血浆浓度低,因为 TT 基因型引起氯吡格雷在肠道内吸收减少,进而减低了药效。Meta 分析显示,ABCB1 表达 c. 3435T 与早期主要不良心血管事件发生风险有关,且即使给予患者口服 300 mg 负荷剂量的氯吡格雷,此基因多态性与其远期心血管不良事件发生风险也存在相关性<sup>[2]</sup>。TT 基因型携带者较 CC 携带者的临床出血事件有所减低。而另一项研究也证明携带两种 ABCB1 突变等位基因者较野生型携带者随访 1 年内发生心血管事件的概率高<sup>[3]</sup>。以上研究具有一致性,均提示 ABCB1 基因存在个体差异性且影响氯吡格雷的药效。

### 2.2 CES1

CES1 有 2 种不同错义突变基因,即 rs71647871 (c. 428G>A, G143E)、rs71647872 (D260fs)。G143E 为功能减弱基因,即携带此基因型者可能表现为将氯吡格雷水解代谢为无活性代谢产物的作用减弱,也就增加了体内氯吡格雷药物的浓度。G143G 则是功能正常基因。Joshua 等<sup>[4]</sup>对 PCI 术后患者进行 1 年的随访观察发现,G143E 携带者的血浆氯吡格雷活性代谢物水平高于 G143G 携带者,

基金项目:黑龙江省攻关项目(GC09C408-2)

作者单位:150001 哈尔滨医科大学附属第一医院内科五科

通信作者:李为民, Email: lwm@54dr.com

ADP 诱导的血小板聚集率在 G143E 等位基因携带者组下降到 29%, 而 G143G 等位基因携带者组聚集率为 43% ( $P = 0.003$ )。该研究提示此基因变异对血小板聚集率的影响是 CYP2C19 \* 2 的 2 倍。但两组间心血管事件发生率无统计学差异。另一体外研究也显示, G143E 和 D260fs 携带者体内氯吡格雷和 2-oxo-氯吡格雷水解为无活性物质的作用较弱, 进而增强了通过抑制 ADP 受体抑制血小板聚集的作用<sup>[5]</sup>。以上研究结果均证明 CES1 基因多态性对血浆氯吡格雷活性代谢物浓度、血小板聚集率有影响, 对心血管事件的发生率无显著影响。

### 2.3 CYP2C19

CYP2C19 基因多态性涉及多个位点 (CYP2C19 \* 2、\* 3、\* 4、\* 8、\* 17), 其中对氯吡格雷活性影响较大的是 \* 2、\* 3 突变位点 (功能缺失基因型, 即弱代谢型, 血浆氯吡格雷活性药物浓度降低) 和 \* 17 突变位点 (功能增强的基因型, 即强代谢型, 血浆氯吡格雷活性药物浓度增加)。对 2 208 例法国急性心肌梗死患者的 ABCB1、CYP3A5、CYP2C19、P2Y12、TIGB3 基因进行检测, 观察以上基因多态性与 1 年内的心血管事件发生及死亡风险之间的关系。结果显示, CYP3A5、P2Y12、TIGB3 与心血管不良事件的发生无关, 而 CYP2C19 任意 2 个功能缺失的等位基因 (如 \* 2、\* 3、\* 4、\* 5) 携带者比非携带者心血管事件的发生率更高。此研究中 1 535 例住院期间行 PCI 手术的患者中, 功能缺失等位基因携带者心血管事件发生率是非携带者的 3.58 倍<sup>[5]</sup>。然而这项研究并未分析 CYP2C19 基因多态性对体内氯吡格雷活性药物浓度的直接影响。但另一项研究对 162 名健康人 CYP2C19 多态性、血浆氯吡格雷活性药物水平及血小板抑制情况进行了测定, 发现携带 1 个 CYP2C19 功能缺失基因者较非携带者血浆氯吡格雷活性药物浓度降低 32.4% ( $P < 0.001$ ), 最大血小板聚集率减少 9% ( $P < 0.001$ )<sup>[6]</sup>。另一队列研究入选年龄  $< 45$  岁的 259 例首次罹患心肌梗死的患者, 比较携带 CYP2C19 \* 1/\* 2、CYP2C19 \* 2/\* 2 和非携带者之间临床终点事件的发生风险, 所有患者口服氯吡格雷治疗至少 1 个月。结果显示携带者较非携带者发生主要终点事件及支架内血栓形成均显著增高<sup>[7]</sup>。其他一些研究也提示了该基因多态性与支架内血栓形成的相关性。携带 \* 2 位点组 (即 CYP2C19 \* 1/\* 2 和 CYP2C19 \* 2/\* 2) 较非携带

组 PCI 术后 30 d 内支架内血栓发生率高, 且在纯合子 \* 2 位点 (即 CYP2C19 \* 2/\* 2) 携带者中更高<sup>[8]</sup>。行 PCI 治疗的 ACS 患者中氯吡格雷抵抗、阿司匹林抵抗及双抵抗发生率分别为 19.8%、12.8%、5.8%。其中糖尿病、女性和高血小板计数在氯吡格雷抵抗和双抵抗组出现更多。随访 30d 发现氯吡格雷抵抗组及双抵抗组早期支架内血栓发生率更高 (18.2% 对 1.3%, 40.0% 对 1.2%,  $P < 0.05$ )。双抵抗是早期支架内血栓形成的独立预测因素 (OR = 34.064, 95% CI: 1.919 ~ 604.656,  $P = 0.016$ )。因此检测 CYP2C19 基因型及血小板聚集率对于判断氯吡格雷抵抗及评价支架术后远期预后有重要意义。

CYP2C19 基因多态性在不同种族中表达频率不同, CYP2C19 \* 2 基因型在白种人及非洲人中占 15%, 在亚洲人中占 29%~35%。CYP2C19 \* 3 基因型在白种人中存在甚少, 被认为是独特存在于亚洲人的基因型, 约占 2%~9%。中国汉族中表现为弱代谢型者较哈萨克族和维吾尔族多。可见 CYP2C19 基因多态性研究对于患心血管疾病且需氯吡格雷抗血小板治疗的中国患者十分重要。对中国 1 050 例稳定性心脏病患者的研究证实, 只有极少部分患者 (2.6%) 携带纯合子 CYP2C19 \* 2/\* 2 等位基因, 且在长期随访中二次心血管事件发生较野生型多, 携带纯合子 CYP2C19 \* 2/\* 2 基因型是预测二次心血管事件发生的独立危险因素<sup>[10]</sup>。这可能与 CYP2C19 \* 2/\* 2 减弱氯吡格雷活性药物浓度, 因此未达到抗血小板治疗目的有关。Nasyuhana Sani 等<sup>[11]</sup> 利用 VerifyNow-P2Y12 检测马来西亚籍人健康志愿者血小板活性, 设定 PRU  $\geq 230$  为氯吡格雷无反应。研究发现, 服用氯吡格雷后 CYP2C19 \* 2/\* 2 携带组较 CYP2C19 \* 1/\* 1 和 CYP2C19 \* 1/\* 2 携带组的 PRU 平均值显著增高 ( $P < 0.001$ )。参与者中有 46.7% 为氯吡格雷无反应, 尽管其中 \* 2 携带者占多数, 但也存在 \* 1/\* 1 携带者, 而 CYP2C19 \* 2/\* 2 型者均表现为氯吡格雷无反应。由此可知检测出 CYP2C19 \* 1/\* 2 基因型不能准确预测氯吡格雷的反应情况, 但是检测出 CYP2C19 \* 2/\* 2 基因型可较准确地预测氯吡格雷抵抗。值得注意的是, 参与本研究的健康志愿者中中国人约占 1/2, 这对指导中国心血管病患者基因检测有所贡献。泰国人中 CYP2C19 基因多态性与氯吡格雷抵抗之间关系的研究也显示, 在氯

吡格雷抵抗者中携带  $CYP2C19 * 2 / * 2$  基因型,且表现为弱代谢型者较多( $P = 0.03$ )<sup>[12]</sup>。可见纯合子功能缺失基因携带者多表现为氯吡格雷抵抗,但氯吡格雷抵抗不一定是功能缺失基因携带者。因此检测出  $CYP2C19 * 2 / * 2$  基因型对于氯吡格雷抵抗及远期心血管事件发生有预测意义。

Xie 等<sup>[13]</sup>入选中国 1 068 例患非 ST 段抬高型 ACS 并行 PCI 术的患者,根据  $CYP2C19$  基因检测结果分为强代谢型(EMs,  $CYP2C19 * 1 / * 1$ )组、中间代谢型(IMs,  $CYP2C19 * 1 / * 2$ 、 $CYP2C19 * 1 / * 3$ )组和弱代谢型(PMs,  $CYP2C19 * 2 / * 2$ 、 $CYP2C19 * 3 / * 3$ 、 $CYP2C19 * 2 / * 3$ )组,随访 1 年显示 EMs、IMs、PMs 组支架内血栓发生率分别为 0.88%、4.67%、10.0% ( $P < 0.001$ )。多因素分析显示,PMs 型是 PCI 术后 1 年内发生支架内血栓的独立预测因子( $HR = 5.268$ , 95% CI: 1.528 ~ 18.164,  $P = 0.009$ )。3 组之间出血事件发生率无显著差异。Junbeom Park 等<sup>[14]</sup>通过光学相干成像术更直观地判定支架内血栓形成,研究支架内血栓形成与氯吡格雷及阿司匹林抵抗的关系。将氯吡格雷抵抗定义为  $PRU \geq 275$ ,阿司匹林抵抗定义为  $ARU \geq 550$ 。结果发现支架内血栓形成与是否存在阿司匹林或氯吡格雷抵抗无关。对于此研究结果是否与采用的实验室氯吡格雷抵抗定义值不同有关,尚不知晓。氯吡格雷抵抗的定义及实验室检测血小板反应性的正常值范围尚需统一。因此,评价患者是否存在氯吡格雷抵抗,需结合应用氯吡格雷后血小板反应性的生化检测结果、基因检测、基础疾病等综合评价。

## 2.4 PON1

PON1 酶是氯吡格雷转化为活性药物过程中的限速酶,PON1 酶在血浆中活性越低,血浆中氯吡格雷活性药物浓度越低,对血小板抑制越弱<sup>[15]</sup>。PON1 也存在基因多态性,其中纯合子 192Q 携带者较 192R 携带者支架内血栓形成风险高。然而对 17 项冠脉疾病研究进行的荟萃分析,并未发现 PON1 基因型与氯吡格雷治疗中血小板反应或心血管事件之间有联系<sup>[16]</sup>。

## 3 其他影响因素

氯吡格雷代谢过程中尚未发现的基因多态性、合用其他经细胞色素 P450 酶代谢的药物等均可能影响氯吡格雷活性药物水平,进而影响氯吡格雷的药效。临床常与双联抗血小板药物合用的有他汀

类降脂药物及质子泵抑制剂,其中奥美拉唑减低氯吡格雷药物活性的作用较明确,而他汀类药物对氯吡格雷药物活性的影响尚不统一。研究显示,合并高血压的稳定型心绞痛患者中氯吡格雷抵抗的发生率较无高血压组明显升高<sup>[17]</sup>。但研究未对患者血压的控制情况进行统计分析,同时合用降压药物是否会影响抗血小板药物疗效尚不清楚。

## 4 小结

双联抗血小板治疗在 ACS 及冠脉支架术后患者的治疗方案中是必不可少的,但是抗血小板药物抵抗现象影响患者的治疗效果并增加再次发生心血管事件的风险。早期识别患者氯吡格雷抵抗十分必要。氯吡格雷体内代谢过程中所涉及的酶都可能影响药物活性进而影响血小板的抑制情况。目前较明确的是  $CYP2C19 * 2$ 、 $CYP2C19 * 3$  与氯吡格雷抵抗相关,且被美国 FDA 提出黑框警告,需服用氯吡格雷者建议行  $CYP2C19$  基因型检测。中国  $CYP2C19$  功能缺失基因携带者较西方多,因此对我国患者开展基因检测研究及临床实践十分必要。目前检测血小板功能的方法不同,且定义氯吡格雷抵抗的实验室界定值也不同,因此评价患者临床预后需通过多种检测方法综合评价血小板反应情况,确定是否存在氯吡格雷抵抗。目前还需大规模临床研究统一不同种族间氯吡格雷抵抗的定义、血小板功能检测方法及其界定值,且氯吡格雷抵抗患者的抗血小板治疗策略尚需大量的循证医学证据来统一。

## 参 考 文 献

- [1] Urtane I, Aitullina A, Pukite K, et al. Clopidogrel and the possibility of drug-drug interaction in primary health care[J]. J Young Pharm, 2013, 5(1): 18-21.
- [2] Su J, Xu J, Li X, et al. ABCB1 C3435T Polymorphism and Response to clopidogrel treatment in coronary artery disease (CAD) patients: a meta-analysis[J]. PLoS ONE, 2012, 7(10): e46366.
- [3] 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.
- [4] Lewisa JP, Horensteina RB, Ryana K, et al. The functional G143E variant of carboxylesterase 1 is associated with increased clopidogrel active metabolite levels and greater clopidogrel response[J]. Pharmacogenet Genomics, 2013, 23(1): 1-8.
- [5] Zhu HJ, Wang X, Gawronski BE, et al. Carboxylesterase 1 as a determinant of clopidogrel metabolism and activation[J].

- Pharmacol Exp Ther, 2013, 344(3):665-672.
- [6] Mega JL, Close SL, Wixtiott SD, et al. Cytochrome-450 polymorphisms and response to clopidogrel[J]. N Engl J Med, 2009, 360(4):354-362.
- [7] Collet JP, Hulot JS, Pera A, et al. Cytochrome P450 2C19 polymorphism in young patients treated with clopidogrel after myocardial infarction; a cohort study[J]. Lancet, 2009, 373(9660): 309-317.
- [8] Sibbing D, Stegheer J, Latz W, et al. Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism coronary intervention. Eur Heart J, 2009, 30(8): 916-922.
- [9] Li L, Li HY, Qiao R, et al. Predictive value of antiplatelet resistance on early stent thrombosis in patients with acute coronary syndrome[J]. Chin Med J, 2013, 126(4): 626-633.
- [10] Rothenbacher D, Hoffmann MM, Breitling LP, et al. Cytochrome P450 2C19 \* 2 polymorphism in patients with stable coronary heart disease and risk for secondary cardiovascular disease events: results of a long-term follow-up study in routine clinical care. BMC Cardiovasc Disord, 2013, 13: 61.
- [11] Nasyuhana Sani Y, Sheau Chin L, Luen Hui L, et al. The CYP2C19 \* 1/\* 2 Genotype Does Not Adequately Predict Clopidogrel Response in Healthy Malaysian Volunteers[J]. Cardiol Res Pract, 2013, 2013: 128795.
- [12] Sukasem C, Tunthong R, Chamnanphon M, et al. CYP2C19 polymorphisms in the Thai population and the clinical response to clopidogrel in patients with atherothrombotic-risk factors[J]. Pharmacogenomics Pers Med, 2013, 6: 85-91.
- [13] Xie X, Ma YT, Yang YN, et al. CYP2C19 phenotype, stent thrombosis, myocardial infarction, and mortality in patients with coronary stent placement in a Chinese population[J]. PLoS One, 2013, 8(3): e59344.
- [14] Park J, Shin DH, Kim BK, et al. Relationship between aspirin/clopidogrel resistance and intra-stent thrombi assessed by follow-up optical coherence tomography after drug-eluting stent implantation [J]. Eur Heart J Cardiovasc Imaging, 2013, 14(12): 1181-1186.
- [15] Bouman HJ, Schömiq E, van Werkum JW, et al. Paraoxonase-1 is a major determinant of clopidogrel efficacy. Nat Med, 2011, 17(1): 110-116.
- [16] 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(1): 1242-1251.
- [17] Akturk IF, Caglar FN, Erturk M, et al. Hypertension as a Risk Factor for Aspirin and Clopidogrel Resistance in Patients With Stable Coronary Artery Disease[J]. Clin Appl Thromb Hemost, 2013, 14. [Epub ahead of print]

(收稿:2013-10-22 修回:2013-11-28)

(本文编辑:梁英超)

(上接第 74 页)

- [13] Gu J, Noe A, Chandra P, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of LCZ696, a novel dual-acting angiotensin receptor-neprilysin inhibitor (ARNi) [J]. J Clin Pharmacol, 2010, 50(4): 401-414.
- [14] Ruilope LM, Dukat A, Böhm M, et al. Blood-pressure reduction with LCZ696, a novel dual-acting inhibitor of the angiotensin II receptor and neprilysin: a randomised, double-blind, placebo-controlled, active comparator study [J]. Lancet, 2010, 375(9722): 1255-1266.
- [15] Solomon SD, Zile M, Pieske B, et al. The angiotensin receptor neprilysin inhibitor LCZ696 in heart failure with preserved ejection fraction: a phase 2 double-blind randomised controlled trial[J]. Lancet, 2012, 380(9851): 1387-1395.
- [16] Iwanaga Y, Nishi I, Furuichi S, et al. B-type natriuretic peptide strongly reflects diastolic wall stress in patients with chronic heart failure: comparison between systolic and diastolic heart failure[J]. J Am Coll Cardiol, 2006, 47(4): 742-748.
- [17] McMurray JJ, Packer M, Desai AS, et al. Dual angiotensin receptor and neprilysin inhibition as an alternative to angiotensin-converting enzyme inhibition in patients with chronic systolic heart failure: rationale for and design of the Prospective comparison of ARNI with ACEI to Determine Impact on Global Mortality and morbidity in Heart Failure trial (PARADIGM-HF) [J]. Eur J Heart Fail, 2013, 15(9): 1062-1073.
- [18] Feola M, Lombardo E, Taglieri C, et al. Effects of levosimendan/furosemide infusion on plasma brain natriuretic peptide, echocardiographic parameters and cardiac output in end-stage heart failure patients[J]. Med Sci Monit Int, 2011, 17(3): PI7-13.
- [19] Gheorghiadu M, Konstam MA, Burnett Jr JC, et al. Short-term clinical effects of tolvaptan, an oral vasopressin antagonist, in patients hospitalized for heart failure [J]. JAMA, 2007, 297(12): 1332-1343.
- [20] O'Connor CM, Starling RC, Hernandez AF, et al. Effect of nesiritide in patients with acute decompensated heart failure [J]. N Engl J Med, 2011, 365(1): 32-43.

(收稿:2013-08-19 修回:2013-12-30)

(本文编辑:金谷英)