

阿司匹林抵抗的基因多态性及个体化治疗^Δ

彭文星*,冯频频,石秀锦,仇琪,杜海燕,林阳[#](首都医科大学附属北京安贞医院药事部,北京 100029)

中图分类号 R968;R541 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)23-3172-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.23.02

摘要 目的:为阿司匹林用于心血管疾病的个体化治疗提供理论依据。方法:收集近年来国内外相关研究文献,进行归纳和总结。结果与结论:患者的基因多态性可显著影响血小板活性。GPⅢa PLA2、PEAR1和PTGS1等基因突变与阿司匹林抵抗有一定的相关性,不同的基因突变发生阿司匹林抵抗的比例和心血管事件发生率有显著性差异。根据临床基因型检测结果并结合其他因素合理调整给药方案实行个体化治疗,可以降低患者阿司匹林抵抗和心血管不良事件的发生率。

关键词 阿司匹林抵抗;基因多态性;个体化治疗

Gene Polymorphism of Aspirin Resistance and Individualized Treatment

PENG Wenxing, FENG Pinpin, SHI Xiujin, QIU Qi, DU Haiyan, LIN Yang (Dept. of Pharmaceutical Affairs, Beijing Anzhen Hospital, Capital Medical University, Beijing 100029, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To provide theoretical foundation for individualized treatment of aspirin in patients with cardiovascular disease. METHODS: Domestic and foreign literatures in recent years were collected and summarized. RESULTS & CONCLUSIONS: The gene polymorphism can significantly affect the platelet activity. GPIII a PLA2, PEAR1 and PTGS1 alleles are associated with aspirin resistance, and cardiovascular events have significant difference in different genotype patients. Adjusting reasonably dosage regimen and conducting individualized treatment according to the genetic testing result and other factors can reduce aspirin resistance and the incidence of cardiovascular adverse events in the patients.

KEYWORDS Aspirin resistance; Gene polymorphism; Individualized treatment

基因多态性会影响患者治疗方案的选择。近年来,基因多态性导致药物个体反应差异的现象得到了广泛关注,近期研究主要关注的是影响药物治疗效果的基因位点。在药物治疗之前检测基因型有助于为患者制订个体化治疗方案,以提高药物治疗效果,避免或减少药物不良事件的发生。阿司匹林抵抗在心血管疾病患者中十分常见,发生率约在5.5%~60%之间^[1]。研究表明,急性冠脉综合征的发生与环境因素和基因因素都有显著相关性^[2]。有阿司匹林抵抗的患者发生急性冠脉综合征和心血管缺血事件的风险会增加^[3]。本文通过对近年来国内外相关研究文献进行归纳和总结,为阿司匹林用于心血管疾病的个体化治疗提供理论依据。

1 阿司匹林抵抗的定义

阿司匹林抵抗通常是指阿司匹林不能发挥预期的生物学作用或者不能预防栓塞性疾病。欧洲心脏病学会(ESC)将阿司匹林抵抗分为临床抵抗和实验室抵抗。临床抵抗是指阿司匹林不能按预期预防患者发生心血管事件;实验室抵抗是指经体外血小板活性检测,阿司匹林不能有效抑制血小板聚集^[4-5]。

2 阿司匹林的药理作用机制与相关基因

2.1 药理作用机制

^Δ 基金项目:“重大新药创制”科技重大专项课题(No.2012ZX09303016-016)

* 药师,硕士。研究方向:临床药学。电话:010-66096265。E-mail:shouyipwx@163.com

通信作者:主任药师,硕士生导师,博士。研究方向:药事管理学、临床药学、药物I期临床试验。电话:010-64456609。E-mail:linyng3623@163.com

阿司匹林除具有解热镇痛和抗炎作用外,还具有抗血小板作用,其作用机制为直接并不可逆地抑制环氧酶1和2(COX-1和COX-2),减少前列腺素的合成,抑制血小板合成血栓素A₂(TXA₂),从而抑制血小板聚集。同时,阿司匹林也可抑制低浓度胶原、凝血酶、抗原-抗体复合物等所致的小血小板聚集和释放反应及自发性聚集,由此发挥预防血栓的作用。

2.2 相关基因

当血管内皮损伤时,机体通常会启动血小板的激活和聚集机制。首先,血小板内皮下的胶原蛋白被激活,血液流速变慢,血小板表面的糖蛋白受体与血管性血友病因子(vWF)结合,之后血小板上的胶原蛋白受体活化,导致细胞内Ca²⁺浓度升高,促进血小板的变形和脱颗粒,而后血小板释放花生四烯酸(AA)。此环节是由前列腺素内过氧化物合酶1(PTGS1)基因编码的COX-1催化AA的第一步反应,使其形成TXA₂,该过程可被阿司匹林不可逆地抑制。此后血小板脱颗粒释放二磷酸腺苷(ADP)、TXA₂等因子,通过ADP、TXA₂、凝血酶聚集并放大信号,召集周围血小板,激活血小板表面的凝血酶受体、TXA₂受体和ADP受体(P2Y1和P2Y12受体),使周围血小板聚集。P2Y12受体抑制剂(如氯吡格雷等)可抑制该过程的激活。这种瀑布反应会使血小板表面的糖蛋白(GP)Ⅱb/Ⅲa表达,通过纤维蛋白原的桥梁作用实现血小板聚集^[6]。研究显示,在整个过程中,编码AA通路的PTGS1基因、决定GPⅡb/Ⅲa活性的关键基因——GPⅢa血小板抗原2(PLA2)受体基因、还有血小板内皮细胞凝集素受体1(PEAR1)基因的多态性都可能与阿司匹林抗血小板治疗失败相关。各基因在人群中的突变频率见表1。

表1 阿司匹林抵抗相关基因在人群中的突变频率(%)

Tab 1 Mutation frequency of aspirin resistance related gene in crowd (%)

| 基因名称(位点) | 野生型 | | 突变杂合型 | | 突变纯合型 | |
|-------------------|-----|------|-------|-----|-------|----|
| | 基因型 | 频率 | 基因型 | 频率 | 基因型 | 频率 |
| GPⅢa PLA2(rs918) | TT | 97.6 | TC | 2.4 | CC | 0 |
| PEAR1(rs1204133) | GG | 22 | GA | 61 | AA | 17 |
| PTGS1(rs10306114) | AA | 87 | AG | 12 | GG | 1 |

3 导致阿司匹林抵抗的因素

3.1 基因多态性

3.1.1 GPⅢa PLA2 基因多态性 GPⅡb/Ⅲa 是血小板表面的受体蛋白,它与vWF和纤维蛋白原均可引发血小板的聚集,是血小板激活的最后环节。其中,GPⅢa是一种多型蛋白,其最常见的等位基因亚型是PLA1和PLA2。PLA2位点的外显子2位置的T突变为C,从而导致GPⅢa蛋白的第33个位点从脯氨酸变成了亮氨酸。体外研究表明,PLA2基因突变可增加血小板表面的GPⅡb/Ⅲa对纤维蛋白原的反应,从而增加血小板聚集。这是导致阿司匹林抵抗的主要基因^[7]。

Galasso G等^[8]的研究纳入400例行经皮冠状动脉介入治疗(PCI)术的冠心病患者,发现PLA2基因突变者心血管事件发生风险大大增加(13.1% vs. 1.5%, $P=0.0001$),心肌梗死风险增加(10.7% vs. 2.6%, $P=0.004$),PLA2基因突变是心源性死亡和主要心血管事件的独立危险因素,与血栓性心血管疾病的发生有显著关联。但临床研究结果并不完全相同,甚至相互矛盾^[9]。Floyd CN等^[10]纳入了16项研究共1650例患者进行Meta分析,以PFA-100值测定结果确定是否存在阿司匹林抵抗,结果并没有显示出PLA2基因与抗血小板药物抵抗的关联性。故该基因多态性与阿司匹林抵抗的相关性仍需要进一步的大型随机对照试验加以证实。

3.1.2 PEAR1 基因多态性 PEAR1是表达在血小板和内皮细胞上的I型膜蛋白,其功能尚不完全清楚。该受体的磷酸化可能促进 $\alpha II b \beta_3$ 信号的激活放大,使大量血小板脱颗粒,引起血小板之间不可逆的聚集反应^[11]。中国人群中PEAR1的野生G基因的基因频率为0.61,突变A基因的基因频率为0.39^[12]。突变基因型AA或AG的患者使用阿司匹林(或结合氯吡格雷)时的心肌梗死发生率和死亡率会增高^[13]。

Lewis JP等^[14]开展的一项包含1000例患者的研究发现,PEAR1基因与患者对抗血小板治疗的反应具有强烈的相关性($P=7.66 \times 10^{-9}$)。高加索人与美国黑人携带突变基因患者PCI术后比携带野生型基因患者有更高的心血管事件发生率和死亡率[风险比(HR)=2.62, $P=0.059$; HR=3.97, $P=0.035$]。在服用阿司匹林和氯吡格雷双抗治疗的患者中,携带突变基因患者比携带野生型基因患者心肌梗死的发生率更高[比值比(OR)=2.03, $P=0.048$]。Wurtz M等^[15]在985例稳定性冠心病患者服用阿司匹林单药治疗的研究中发现,PEAR1基因突变与血小板高活性具有相关性。

3.1.3 PTGS1 基因多态性 阿司匹林主要通过抑制COX-1和COX-2发挥药理作用,可使COX-1位点甲基化而使该酶失活,从而阻断血小板聚集反应^[16]。阿司匹林对COX-2的抑制作用远低于COX-1,且有研究表明主要是编码COX-1的PTGS1基因多态性与发生阿司匹林抵抗相关。该基因突变的多态性位点较多,如A842G、C22T、G128A、C644A等^[16-17],但其中A842G位点突变与阿司匹林抵抗关联性更密切,该突变在爱尔兰人群中频率为6%^[18],在中国人群中的频率较低,约为0.12%。

一项包含1327例ST段抬高型心肌梗死患者的队列研究发现,在PTGS1(-842A>G)、P2Y1(893C>T)、GPIa(807C>T)、GPⅢa(PLA1/PLA2)、CYP2C19(*2、*3和*17)、ABCBI(3435T>C)和PON1(576A>G)这9个基因位点中,只有PTGS1和CYP2C19*2的突变与心肌梗死的复发有显著关联性(HR=2.55, $P=0.001$; HR=2.03, $P=0.001$);联合分析后发现,携带两个以上风险基因突变的患者发生心血管事件的风险是正常人的2.5倍($P=6.9 \times 10^{-9}$)。上述二者是血栓并发症的决定因素,故建议对心血管事件复发风险高的ST段抬高型心肌梗死患者进行基因型检测^[19]。Lepántalo A等^[20]以血小板聚集率为标准定义阿司匹林抵抗,发现60%的阿司匹林抵抗患者均携带突变位点G,而无阿司匹林抵抗患者只有17%携带突变基因(OR=7.3, $P=0.017$)。但该研究人数过少,仍需要进一步大样本的研究证实。

3.1.4 其他相关基因 Fujiwara T等^[21]发现,110例健康男性受试者中血小板膜GPⅠb a多肽(GP1BA)基因型为CC型或CT型的受试者相比于TT型的受试者发生阿司匹林抵抗的风险增加。此外,阿司匹林的不良反应还与其他某些位点存在一定相关性。一项包含37例肠道出血患者和400例对照组(未发生肠道出血)患者的临床研究表明,谷胱甘肽巯基转移酶P1(GSTP-1)G位点可能与肠道出血的风险增加有关($P=0.04$),但经过其他因素校正后则不存在显著相关性^[22]。一项包含110例阿司匹林相关性荨麻疹患者和165例对照组(未发生荨麻疹)患者的研究证实,白三烯C4合酶(LTC4S)基因位点由A突变为C是引起荨麻疹发生的危险因素[OR=1.95, 95%CI(1.26, 3.03)],提示该基因位点可能为阿司匹林相关性荨麻疹的基因标志物^[23]。此外,催化合成TXA₂的血栓素合酶1(TBXAS1)等相关基因多态性也可能与阿司匹林抗血小板疗效相关,而且还可能存在一些尚未发现的基因位点,但由于研究较少,证据不足,尚未得出一致性结论。

3.2 影响阿司匹林抵抗的其他因素

除了基因因素,还有很多其他因素会导致患者发生阿司匹林抵抗。首先,患者的用药依从性较差可以使阿司匹林的抗血小板作用减弱甚至失效,这种现象成为假性阿司匹林抵抗^[24],但它已经成为引起阿司匹林抵抗十分常见的原因。一项包含50279例冠心病患者的荟萃分析显示,间断性使用阿司匹林可增加约3倍心脏不良事件风险(OR=3.14, $P=0.0001$)^[25]。其次,药物相互作用也会降低阿司匹林在体内的血药浓度,从而引起阿司匹林抵抗。例如,同时使用非甾体抗炎药(NSAIDs)或者COX-2抑制剂可减少与阿司匹林竞争的蛋白结合位点,并增加其代谢,从而降低阿司匹林的临床疗效;与质子泵抑制剂(PPIs)合用也可以使阿司匹林的生物利用度降低,并通过胃肠黏膜上的酯酶增加阿司匹林的灭活^[26]。再次,患者的合并症也有可能增加其发生阿司匹林抵抗的风险,如高脂血症、糖尿病、高血压和炎症性疾病都与阿司匹林抵抗的发生有关,特别是服用低剂量阿司匹林时,这些伴有并发症的患者更有可能出现阿司匹林抵抗。

4 阿司匹林个体化治疗

阿司匹林的基因型检测可为临床提供一定参考依据,帮助临床判断患者发生阿司匹林抵抗的风险,并通过采取一定的措施减少阿司匹林抵抗的发生,对患者心血管疾病的预后具有重要意义。若患者基因型均为野生型,可进行常规抗血小板治疗,并定期复查。若检测结果显示患者基因GPⅢa-PLA2、PEAR1、PTGS1发生突变,应结合患者具体情况和相关实验室检查指标,包括血小板功能检测和血栓弹力图等,判断

患者发生阿司匹林抵抗的风险程度。此类患者药学监护需注意:首先,应对患者进行用药教育,提高患者用药依从性,并为患者解释可能的不良反应,对于可耐受范围内的不良反应(如少量牙龈出血等),应坚持使用该药物,并定期进行监测(如便潜血试验等)。其次,应排查患者同时使用的药物,尽量避免同时使用有相互作用的NSAIDs类和PPIs类药物^[4]。再次,警惕合并高脂血症、糖尿病、高血压等疾病的患者,该类患者发生阿司匹林抵抗的概率更高,增加剂量又可能使不良反应的发生率增加。综合遗传因素和其他因素后,可考虑增加该类患者的阿司匹林用量,并应在增加剂量后检测血小板聚集率或血栓弹力图以综合评估其临床疗效,同时应密切关注患者有无出血倾向,以预防大出血事件发生。

5 结语

阿司匹林抵抗是造成抗血小板治疗失败的一个十分常见的原因,会使患者心血管不良事件的发生率大大增加。除了疾病因素和依从性因素以外,相关基因突变是造成阿司匹林抵抗的一个重要因素。而基因型检测可为临床提供患者与阿司匹林抵抗相关的遗传信息,结合临床实际情况和相关实验室检查结果,对实行个体化抗血小板治疗具有重要意义。

参考文献

[1] Gasparyan AY, Watson T, Lip GY. The role of aspirin in cardiovascular prevention: implications of aspirin resistance [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2008, 51(19):1 829.

[2] Leung Yinko SS, Thanassoulis G, Stark HD, et al. Omega-3 fatty acids and the genetic risk of early onset acute coronary syndrome[J]. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2014, 24(11):1 234.

[3] Pamukcu B, Oflaz H, Oncul A, et al. The role of aspirin resistance on outcome in patients with acute coronary syndrome and the effect of clopidogrel therapy in the prevention of major cardiovascular events[J]. *J Thromb Thrombolysis*, 2006, 2(22):103.

[4] Kasmeridis C, Apostolakis S, Lip GY. Aspirin and aspirin resistance in coronary artery disease[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2013, 13(2):242.

[5] Bishopric NH. Toward a genomic definition of aspirin resistance[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2013, 62(14):1 277.

[6] Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ. *Basic & clinical pharmacology: 11th edition*[EB/OL].[2015-05-04]. <http://www.accessmedicine.com>.

[7] Verschuren JJ, Trompet S, Wessels JA, et al. A systematic review on pharmacogenetics in cardiovascular disease: is it ready for clinical application? [J]. *Eur Heart J*, 2012, 33(2):165.

[8] Galasso G, Santulli G, Piscione F, et al. The GP III A PL-A2 polymorphism is associated with an increased risk of cardiovascular adverse events[J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2010, doi:10.1186/1471-2261-10-41.

[9] Szczeklik A, Undas A, Sanak M, et al. Relationship between bleeding time, aspirin and the PLA1/A2 polymorphism of platelet glycoprotein IIIa[J]. *Br J Haematol*, 2000, 110(4):965.

[10] Floyd CN, Ferro A. The PLA1/A2 polymorphism of glycoprotein IIIa in relation to efficacy of antiplatelet drugs: a systematic review and meta-analysis[J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2014, 77(3):446.

[11] Kauskot A, Di Michele M, Luyen S, et al. A novel mechanism of sustained platelet α IIb β 3 activation via PEAR1

[J]. *Blood*, 2012, 119(17):4 056.

[12] Allele Frequencies. rs12041331 at chr1:156869714 (hg38) in PEAR1[EB/OL].[2015-05-04].<https://www.pharmgkb.org/rsid/rs12041331>.

[13] Wurtz M, Nissen PH, Grove EL, et al. Genetic determinants of on-aspirin platelet reactivity: focus on the influence of PEAR1[J]. *PLoS One*, 2014, 9(10):e111 816.

[14] Lewis JP, Ryan KO, Connell JR, et al. Genetic variation in PEAR1 is associated with platelet aggregation and cardiovascular outcomes[J]. *Circ Cardiovasc Genet*, 2013, 6(2):184.

[15] Yerges-Armstrong LM, Ellero-Simatos S, Georgiades A, et al. Purine pathway implicated in mechanism of resistance to aspirin therapy: pharmacometabolomics-informed pharmacogenomics[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2013, 94(4):525.

[16] Lev EI, Patel RT, Guthikonda S, et al. Genetic polymorphisms of the platelet receptors P2Y (12), P2Y (1) and GP IIa and response to aspirin and clopidogrel[J]. *Thromb Res*, 2007, 119(3):355.

[17] Cao L, Zhang Z, Sun W, et al. Impacts of COX-1 gene polymorphisms on vascular outcomes in patients with ischemic stroke and treated with aspirin[J]. *Gene*, 2014, 546(2):172.

[18] Marec AO, Curtin RJ, Chubb A, et al. Cyclooxygenase-1 haplotype modulates platelet response to aspirin[J]. *J Thromb Haemost*, 2005, 3(10):2 340.

[19] Verschuren JJ, Boden H, Wessels JA, et al. Value of platelet pharmacogenetics in common clinical practice of patients with ST-segment elevation myocardial infarction[J]. *Int J Cardiol*, 2013, 167(6):2 882.

[20] Lepántalo A, Mikkelsen J, Reséndiz JC, et al. Polymorphisms of COX-1 and GP VI associate with the antiplatelet effect of aspirin in coronary artery disease patients[J]. *Thromb Haemost*, 2006, 95(2):253.

[21] 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.

[22] Shiotani A, Murao T, Fujita Y, et al. Novel single nucleotide polymorphism markers for low dose aspirin-associated small bowel bleeding[J]. *PLoS One*, 2013, 8(12):e84 244.

[23] Sánchez-Borges M, Acevedo N, Vergara C, et al. The A-444C polymorphism in the leukotriene C4 synthase gene is associated with aspirin-induced urticaria[J]. *J Invest Allergol Clin Immunol*, 2009, 19(5):375.

[24] Shantsila E, Lip GY. "Aspirin resistance" or treatment non-compliance: which is to blame for cardiovascular complications? [J]. *J Transl Med*, 2008, doi:10.1186/1149-5876-6-47.

[25] Gasparyan AY, Watson T, Lip GY. The role of aspirin in cardiovascular prevention: implications of aspirin resistance[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2008, 51(19):1 829.

[26] Patrono C, García Rodríguez LA, Landolfi R, et al. Low-dose aspirin for the prevention of atherothrombosis[J]. *N Engl J Med*, 2005, 353(22):2 373.

(收稿日期:2016-02-14 修回日期:2016-06-14)
(编辑:周 簪)