

• 论 著 •

CYP2C19 基因多态性与冠心病患者氯吡格雷疗效的相关性研究

齐 林¹, 乔 辉¹, 韩静贤¹, 刘时武², 袁义强³

(1. 河南省郑州市第七人民医院检验科 450016; 2. 海南省人民医院心内科, 海口 570311;

3. 河南省郑州市第七人民医院心内科 450016)

摘 要:目的 对 CYP2C19 基因多态性与冠心病患者氯吡格雷疗效的相关性进行分析探讨, 为今后的临床工作, 提供有价值的参考信息。方法 选取 2015 年 1 月至 2016 年 1 月该院收治的, 拟接受经皮冠状动脉介入术(PCI)进行治疗的冠心病患者 128 例作为研究对象, 对其均开展氯吡格雷治疗, 负荷剂量为 300 mg, 维持剂量为 75 mg, 将受试者分成氯吡格雷抵抗组与反应组, 对比两组患者药物代谢 CYP2C19 基因型, 观察 CYP2C19 基因型对氯吡格雷反应性的影响。结果 该组受试者中, 氯吡格雷抵抗者 27 例, 检出 CYP2C19 慢代谢基因型携带者共计 16 例, 慢代谢基因型患者 VASP-PRI 与快代谢基因型、中间代谢基因型患者比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 氯吡格雷抵抗组与氯吡格雷反应组临床不良终点事件发生率比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 氯吡格雷抵抗的危险因素中, 包括 CYP2C19 慢代谢基因型, 氯吡格雷抵抗会使临床不良终点事件发生风险增加, 临床应对其给予足够的重视。

关键词: CYP2C19 基因多态性; 冠心病; 氯吡格雷; 临床分析

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.04.022

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)04-0488-03

Research on correlation between CYP2C19 gene polymorphism and clopidogrel curative effect in patients with coronary heart disease

QI Lin¹, QIAO Hui¹, HAN Jingxian¹, LIU Shiwu², YUAN Yiqiang³

(1. Department of Clinical Laboratory, Zhengzhou Municipal Seventh People's Hospital, Zhengzhou, Henan 450016, China; 2. Department of Cardiology, Hainan Provincial People's Hospital, Haikou, Hainan 570311, China;

3. Department of Cardiology, Zhengzhou Municipal Seventh People's Hospital, Zhengzhou, Henan 450016, China)

Abstract: Objective To analyze and investigate the correlation between the CYP2C19 gene polymorphism and clopidogrel curative effect in the patients with coronary heart disease (CHD) to provide valuable reference information for the future clinical work.

Methods A total of 128 cases of CHD undergoing PCI in our hospital from January 2015 to January 2016 were selected as the research subjects. All of them were treated with clopidogrel, the loading dose was 300mg, and the maintenance dose was 75mg. The subjects were divided into the clopidogrel resistance group and response group. The drug-metabolizing CYP2C19 genotype was compared between the two groups and the effect of CYP2C19 genotype on the clopidogrel response was observed. **Results** Among the subjects, 27 cases were clopidogrel resistance. A total of 16 cases of CYP2C19 slow metabolic gene carriers were detected. There was statistically significant difference between the patients with chronic metabolic genotype VASP-PRI with fast metabolic genotype and intermediate metabolic genotype ($P < 0.05$). The incidence rate of adverse end point events had statistical difference between the clopidogrel resistance group and clopidogrel response group ($P < 0.05$). **Conclusion** In the risk factors of clopidogrel resistance, slow metabolism CYP2C19 genotype and clopidogrel resistance will increase the risk of clinical adverse endpoint events occurrence, clinic should give adequate attention.

Key words: CYP2C19 gene polymorphism; coronary heart disease; clopidogrel; clinical analysis

在心脑血管疾病的防治中, 氯吡格雷是一种广泛应用的药物, 在对抗血小板聚集防止血栓形成方面起着十分重要的作用。但在临床实践中发现, 不同患者对氯吡格雷的反应性差异较大, 部分患者反应性较低或无反应, 称之为氯吡格雷低反应或氯吡格雷抵抗^[1]。有研究表明, 氯吡格雷低或无反应患者经皮冠状动脉介入术(PCI)后发生心肌梗死、心脏再缺血事件、冠状动脉支架内血栓等原因导致死亡的风险显著增高^[2-3]。参与氯吡格雷低反应或抵抗的因素有很多, 包括基因多态性、患者依从性、药物拮抗作用等, 但机制目前尚未完全清楚。有研究认为可能是因为基因变异或药物相互作用等降低了其活性代谢产物的生物利用率^[4]。而作为细胞色素 P450(CYP450)家族中一类重要亚型, CYP2C19 基因多态性在氯吡格雷的药

物代谢中体现出重要作用, 不同基因型患者对氯吡格雷的治疗反应性显著不同^[5-6]。本研究对 CYP2C19 基因多态性与冠心病患者氯吡格雷疗效的相关性进行探讨, 现对 128 例冠心病患者进行了观察分析, 结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 研究中资料来源于河南省郑州市第七人民医院收治的, 获得明确诊断, 拟接受经皮冠状动脉介入术(PCI)治疗的临床患者, 共计选择 128 例作为研究对象, 包括有男 69 例, 女 59 例, 年龄 34~76 岁, 平均(58.9±11.2)岁。剔除血小板计数超过 $450 \times 10^9/L$ 或者是不足 $100 \times 10^9/L$ 者; 剔除在 2 周之内, 应用华法林钠等对血小板聚集产生抑制作用的药物者; 剔除存在氯吡格雷禁忌证者; 剔除合并严重肝肾功能损伤、

恶性肿瘤者;剔除 48 h 内出现急性心肌梗死等各种血液系统疾病者。所有患者均符合临床诊断标准,自愿接受临床检查,并签署了知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 研究方法 选择 2015 年 1 月至 2016 年 1 月本院收治的拟接受 PCI 术进行治疗的冠心病患者 128 例作为研究对象,对其均开展氯吡格雷治疗,负荷剂量为 300 mg,维持剂量为 75 mg。5 d 后抽血检测并依据血小板反应指数(PRI)将受试者分成氯吡格雷抵抗组与反应组,对比两组患者药物代谢 CYP2C19 基因型,观察 CYP2C19 基因型对氯吡格雷反应性的影响。

1.2.2 检测方法 CYP2C19 基因多态性检测:采集受试者静脉血 2 mL,在 EDTA 抗凝管中充分混匀,避免出现凝血或者是溶血现象。血液标本采集后,及时处理。采用实时荧光定量聚合酶链反应进行 CYP2C19 基因多态性检测,其试剂盒[国药监械(准)字 2014 第 3400586 号]由苏州旷远生物分子技术有限公司提供。仪器是 ABI steponeplus 荧光定量 PCR 分析仪,其全部操作均严格按照说明书进行。血管扩张剂激发性磷蛋白磷酸化-血小板反应性指数(VASP-PRI)检测:受试者在应用氯吡格雷 5 d 后,采用浓度为 2%的 EDTA-Na₂ 真空采血管,采集受试者晨起静脉血 4 mL,在室温条件下保存,及时送检。

1.3 统计学处理 采取 SPSS18.0 统计学软件进行数据处理,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验,计数资料组间比较采用 χ^2 检验,*P*<0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CYP2C19 基因型分布情况 本次研究中,入选的 128 例受试者,检出 CYP2C19 基因型为慢代谢基因型者共计 16 例,所占比例为 12.5%,中间代谢基因型者共计 61 例,所占比例为 47.66%,快代谢基因型者共计 51 例,所占比例为 39.84%。

2.2 血小板反应性指数检测结果 本组受试者中,检出 VASP-PRI 不低于 50%者共计 27 例,定义为氯吡格雷抵抗组。VASP-PRI 不足 50%者共计 101 例,定义为氯吡格雷反应组。对比发现,氯吡格雷抵抗组 VASP-PRI 水平明显高于氯吡格雷反应组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 1。

表 1 氯吡格雷抵抗组与反应组 VASP-PRI 检测结果比较

组别	<i>n</i>	VASP-PRI
氯吡格雷抵抗组	27	56.05±2.88
氯吡格雷反应组	101	43.79±4.12
<i>P</i>		<0.05

2.3 不同基因型患者血小板反应性指数比较 慢代谢基因型(*2/*2、*2/*3、*3/*3)患者 VASP-PRI 与快代谢基因型(*1/*1)、中间代谢基因型(*1/*2、*1/*3)患者比较,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 2。

表 2 不同基因型患者 VASP-PRI 检测结果比较

CYP2C19 基因型	<i>n</i>	VASP-PRI
*2/*2、*2/*3、*3/*3	16	49.23±8.52
*1/*2、*1/*3	61	45.12±4.98
*1/*1	51	44.59±5.33

2.4 临床不良终点事件发生情况 经统计发现,抵抗组发生临床不良终点事件共计 2 例,发生率为 7.41%,反应组发生临床不良终点事件共计 3 例,发生率为 2.97%。显然,氯吡格雷抵抗组临床不良终点时间发生率高于氯吡格雷反应组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。

3 讨论

在临床上,冠心病属于一种世界范围的心血管疾病,其病死率极高,目前为我国主要死因之一。血小板在冠心病、急性冠状动脉综合征的发生中,发挥了十分重要的作用。抗血小板药物是对冠心病实施治疗的一个重要基石^[7]。目前临床上,开展抗血小板治疗多采取阿司匹林、氯吡格雷双联方式,这一治疗手段已经成为 PCI 术后、ACS 患者常规治疗方式^[8]。曾有研究指出,阿司匹林或者是氯吡格雷对血小板的抑制程度越低,则心血管事件的发生率便会越高^[9-11]。近几年,关于氯吡格雷抵抗的研究逐渐增多,其中 CYP2C19 基因多态性的影响日益受到人们的重视。

本研究通过对比发现,慢代谢基因型患者 VASP-PRI 与快代谢基因型、中间代谢基因型患者比较,存在明显差异,表现为慢代谢基因型患者的 VASP-PRI 水平高于其他两组;氯吡格雷抵抗组与氯吡格雷反应组临床不良终点事件发生率存在明显差异,表现为前者发生率高于后者。这一结果与相关文献报道结果相似^[12-13],由此证实,氯吡格雷抵抗的危险因素中,包括 CYP2C19 慢代谢基因型,氯吡格雷抵抗会使临床不良终点事件发生风险增加,临床应对其给予足够的重视。

参考文献

[1] 钟诗龙,韩雅玲,陈纪言,等.氯吡格雷抗血小板治疗个体化用药基因型检测指南解读[J].中国实用内科学杂志,2015,35(1):38-41.

[2] Aradi D,Komócsi A,Vorobcsuk A,et al. Prognostic significance of high on-clopidogrel platelet reactivity after percutaneous coronary intervention:systematic review and meta-analysis[J]. Am Heart J,2010,160(3):543-551.

[3] Brar SS,Ten Berg J,Marcucci R,et al. Impact of platelet reactivity on clinical outcomes after percutaneous coronary intervention. A collaborative meta-analysis of individual participant data[J]. J Am Coll Cardiol,2011,58(19):1945-1954.

[4] Vadász D,Sztrihai LK,Sas K,et al. Aspirin and clopidogrel resistance:possible mechanisms and clinical relevance. Part II:Potential causes and laboratory tests[J]. Deg,2013,66(1/2):15-22.

[5] Park KJ,Chung HS,Kim SR,et al. Clinical,pharmacokinetic,and pharmacogenetic determinants of clopidogrel resistance in Korean patients with acute coronary syndrome[J]. Korean J Lab Med,2011,31(2):91-94.

[6] Latkovskis G,Urtane I,Knipse A,et al. Role of genetic factors on the effect of additional loading doses and two maintenance doses used to overcome clopidogrel hyporesponsiveness[J]. Medicina (Kaunas),2014,50(1):19-27.

[7] Xing ZF,Cheng XW,Pan XY,et al. Effect of CYP2C19 gene polymorphism on clopidogrel resistance after PCI[J]. J Thro Hemo,2015,21(5):266-269. (下转第 492 页)

制抗菌药物接触细菌的屏障。由于能够形成生物膜,使肺炎克雷伯菌的感染出现急性发作期与静止期交替、容易复发、难以根治等一系列特点^[7-8]。因此为临床治疗提供准确的药敏结果给临床提供及时的用药参考具有非常重要的意义。生物膜内细菌生长环境极度拥挤及有毒的代谢物堆积,使许多细菌得不到充足的营养,再加上分泌的黏性多糖等物质阻滞其生长,因而生物膜内细菌生长速度大大减慢。K-B 法药敏试验要求 24 h 内报告结果,对于产生物膜细菌来说可能会有部分药敏纸片周围的细菌还未生长,错误地认为此种抗菌药物对细菌抑制作用非常强,而报告此抗菌药物敏感。在试验中 10 种抗菌药物的抑菌圈直径都有改变且 24 h 结果与 48、72 h 结果比较差异有统计学意义($P<0.05$)。为了解此菌黏液消失后,K-B 药敏法实验结果有无此种现象,将分离到的 16 株产生物膜的肺炎克雷伯菌反复传种数代,至生物膜消失,细菌生长速度恢复正常,再做 K-B 法药敏试验,其 24、48、72 h 的抑菌环直径比较差异无统计学意义($P>0.05$)。并与未转种前的产生物膜的肺炎克雷伯菌 48、72 h 结果相一致。这或许是患者体外 K-B 药敏法 24 h 报告的抗菌药物敏感,而体内细菌清除效果不好的原因之一,因而对于产生物膜的肺炎克雷伯菌体外 K-B 药敏法的结果宜 48 h 后报告,对于该菌的预防具有一定参考价值。

肺炎克雷伯菌产生物膜与其对碳青霉烯类药物、 β -内酰胺类药物的耐药密切相关,作用机制有抗菌药物被阻止进入生物膜;生物膜内的抗菌药物作用位点改变或者失效;生物膜中的低营养条件导致静止状态的细菌增多并长期存在,这使得仅杀伤分裂状态细菌的抗菌药物难以发挥作用等一系列机制^[9-11]。因此对产生物膜的肺炎克雷伯菌使用单一 β -内酰胺类、碳青霉烯类药物治疗将大大提高耐药风险。有研究表明大环内酯类药物与碳青霉烯类药物联合有较好的抑菌效果^[12],这可能与大环内酯类药物的作用机制有关,它能抑制细菌的蛋白质合成从而抑制生物膜的形成,使得碳青霉烯类、 β -内酰胺类等敏感药物可以接触到菌体并达到一定的药物浓度从而起到杀菌的作用。因而在日常的临床工作中需加强对肺炎克雷伯菌产生物膜现象的重视,在临床标本直接涂片镜检中或者纯培养后发现肺炎克雷伯菌产生物膜的现象,应在报告单上标识此菌产生

物膜,以提示临床医生需联合用药,使患者得到及时有效的治疗。

参考文献

[1] 李蓉,葛新. 抗生素对肺炎克雷伯菌生物膜的杀灭作用研究[J]. 预防医学论坛,2008,14(2):141-142.

[2] 李京宝,韩峰,于文功. 细菌生物膜研究技术[J]. 微生物学报,2007,47(3):558-561.

[3] 杨朵,张正. 两种检测肺炎克雷伯菌生物膜方法的比较[J]. 中国实验诊断学,2008,12(10):1297-1298.

[4] 沈定树,施致远. 克雷伯菌致病因子的研究进展[J]. 国外医学:临床生物化学与检验学分册,2005,26(1):57-59.

[5] 杨朵,张正. 肺炎克雷伯菌生物膜及黏附因子 mrkD 的测定[J]. 现代检验医学杂志,2008,23(3):24-26.

[6] 雷旭,谭华炳. 肺炎克雷伯菌 cAMP 受体蛋白基因缺失株的构建及其在生物膜形成中的作用[J]. 中华实验和临床感染病杂志,2014,8(2):153-157.

[7] 魏丹丹,刘洋,万腊根,等. 高毒力肺炎克雷伯菌新型变种感染病例分析及耐药机制研究[J]. 中华检验医学杂志,2015,38(6):392-396.

[8] 葛新,董小青,王玉祥. 肺炎克雷伯菌生物膜对消毒剂抵抗性研究[J]. 中国卫生检验杂志,2006,16(2):231-232.

[9] 乔晓戔,芦起. 肺炎克雷伯菌耐碳青霉烯类药物的机制[J]. 临床儿科杂志,2015,33(10):907-911.

[10] 尹辉,陈群. 肺炎克雷伯菌耐 β -内酰胺类抗生 素的研究进展[J]. 国外医学:流行病学传染病学分册,2003,30(1):39-42.

[11] 许春. 肺炎克雷伯杆菌对 β -内酰胺类抗生 素的耐药机制[J]. 中国热带医学,2006,6(9):1673-1675.

[12] 穆小萍,唐玲玲,纪存委,等. 阿奇霉素联合亚胺培南对肺炎克雷伯菌生物膜的抑制作用[J]. 中国抗生素杂志,2015,40(8):617-620.

(收稿日期:2016-09-16 修回日期:2016-11-07)

(上接第 489 页)

[8] Sabatine MS, Cannon CP, Gibson CM, et al. Addition of clopidogrel to aspirin and fibrinolytic therapy for myocardial infarction with ST-segment elevation[J]. N Engl J Med,2005,352(12):1179-1189.

[9] Fifi JT, Brockington C, Narang J, et al. Clopidogrel resistance is associated with thromboembolic complications in patients undergoing neurovascular stenting [J]. Ame J Neur,2013,34(4):716-720.

[10] Fu Z, Dong W, Shen M, et al. Relationship between hyporesponsiveness to clopidogrel measured by thrombelastography and in stent restenosis in patients undergoing percutaneous coronary intervention[J]. Clin Biochem,2014,

47(16/17):197-202.

[11] 张海涛,苟文,秦华迪,等. CYP2C19 基因多态性对氯吡格雷抵抗患者预后的影响[J]. 检验医学与临床,2014,11(13):1761-1763.

[12] 邢元,李为民. 氯吡格雷抵抗中基因多态性研究进展[J]. 国际心血管病杂志,2014,41(2):91-94.

[13] Hu Y, Tan H, Chen YJ, et al. Relationship of CYP2C19 gene polymorphisms, clopidogrel resistance and prognosis in patients with coronary heart disease after PCI[J]. Mol Car,2015,15(2):1250-1255.

(收稿日期:2016-10-29 修回日期:2016-12-20)