

MALDI-TOF MS 在氯吡格雷基因多态性检测中的应用*

邓 卿^{1,2}, 伊远学^{1△}

(1. 重庆医科大学, 重庆 400016; 2. 武警重庆总队医院检验科, 重庆 400061)

摘 要:目的 探讨基因多态性与氯吡格雷个体化用药的相关性及基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)在氯吡格雷基因多态性检测中的应用价值。方法 选取 2015—2017 年武警重庆总队医院住院的急性冠状动脉综合征(ACS)及拟进行经皮冠状动脉介入术(PCI)的患者 160 例,在氯吡格雷抗血小板治疗后第 5 天测定血小板聚集率;同时采用 MALDI-TOF MS 技术检测 CYP2C19 * 2 *、CYP2C19 * 3、CYP2C19 * 4、CYP2C19 * 5、CYP2C19 * 17 和 ABCBI、PON1、CES1 基因多态性。结果 根据血小板最大聚集率(MAR)将研究对象分为氯吡格雷抵抗(CR)组($n=75$)和非氯吡格雷抵抗(NCR)组($n=85$)。160 份样本等位基因检出率为 100%,两组均未发现 CYP2C19 * 4、CYP2C19 * 5、CYP2C19 * 17 突变;携带 CYP2C19 * 2 等位基因 A 及 CYP2C19 * 1/* 2、CYP2C19 * 1/* 3、CYP2C19 * 2/* 2、CYP2C19 * 2/* 3 代谢型发生氯吡格雷抵抗的风险较高,携带 ABCBI 等位基因 A 的 GA、AA 代谢型发生氯吡格雷抵抗风险较高,携带 PON1 等位基因 T 的 CT、TT 代谢型发生氯吡格雷抵抗的风险较高,携带 CES1 等位基因 T 的 CT、TT 代谢型发生氯吡格雷抵抗的风险较低,差异均有统计学意义($P<0.05$);携带 CYP2C19 * 3 等位基因 A 发生氯吡格雷抵抗风险较高,CYP2C19 * 3/* 3 型发生氯吡格雷的风险较低,差异均无统计学意义($P>0.05$)。结论 CYP2C19 * 2、ABCB1、PON1 基因突变增加氯吡格雷抵抗的风险,CES1 基因突变降低氯吡格雷抵抗风险;MALDI-TOF MS 具有准确性高、检测通量大、速度快、成本低等特点,适用于氯吡格雷基因多态性检测,指导临床个体化用药。

关键词:基质辅助激光解析电离飞行时间质谱; 氯吡格雷; 基因多态性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.05.008 **中图法分类号:**R-331;R394.6

文章编号:1673-4130(2018)05-0543-05 **文献标识码:**A

The application of MALDI-TOF MS in gene polymorphism of clopidogrel*

DENG Qing^{1,2}, YI Yuanxue^{1△}

(1. Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China; 2. Department of Clinical Laboratory, General Hospital of Chongqing Armed Police, Chongqing 400061, China)

Abstract: Objective To investigate the correlation of gene polymorphism with clopidogrel and the application value of matrix assisted laser resolution ionization flight time mass spectrometry(MALDI-TOF MS) in gene polymorphism of clopidogrel. **Methods** A total of 160 cases of inpatient of Armed Police Force Hospitals with acute coronary syndrome (ACS) prepared for treated with percutaneous coronary intervention (PCI) from 2015 to 2017 were selected, platelet aggregation rate at fifth days after clopidogrel antiplatelet therapy was determined and gene polymorphism of CYP2C19 * 2 *, * 3, * 4, * 5, * 17 and ABCBI, CES1, PON1 were analyzed by matrix assisted laser resolution ionization flight time mass spectrometry. **Results** All the inpatients were divided into the clopidogrel resistance(CR) group($n=75$) and NCR group($n=85$) according to the maximum aggregation rate of platelets (MAR). The detection rate of the 160 samples was 100%; neither group found CYP2C19 * 4, CYP2C19 * 5, CYP2C19 * 17 mutations; the risk of clopidogrel resistance in CYP2C19 * 2 allele A and * 1/* 2, * 1/* 3, * 2/* 2, * 2/* 3, ABCBI allele T and PON1 allele T were high, and the risk of clopidogrel resistance in CES1 allele T was low, all the differences were statistically significant ($P<0.05$). There was a high risk of clopidogrel resistance in CYP2C19 * 3 allele A and a low risk in CYP2C19 * 3/* 3, but there were no statistically significant differences ($P>0.05$). **Conclusion** CYP2C19 * 2, * 3, ABCBI and PON1 gene mutation increases the risk of clopidogrel resistance; CES1 mutation reduces

* 基金项目:重庆市卫生和计划生育委员会资助项目(2016MSXM211, 2015ZBXM072)。

作者简介:邓卿,女,检验技师,主要从事临床检验诊断学研究。△ 通信作者, E-mail: 96642@qq.com。

本文引用格式:邓卿,伊远学. MALDI-TOF MS 在氯吡格雷基因多态性检测中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(5): 543-547.

the risk of clopidogrel resistance; MALDI-TOF MS has the advantages of high accuracy, large flux, high speed, low cost, which is suitable for the detection of polymorphism of clopidogrel gene and helpful in guiding rational and individualized medicine.

Key words: MALDI-TOF MS; clopidogrel; gene polymorphism

氯吡格雷作为一种前体药物,需在肝脏内代谢为有活性的形式才能发挥其抗血小板聚集的作用。临床研究表明,氯吡格雷在急性冠状动脉综合征(ACS)及拟进行经皮冠状动脉介入术(PCI)抗血小板聚集治疗过程中,仍有部分患者没有达到抗凝效果而导致临床血栓事件的发生,临床称之为氯吡格雷抵抗(CR)^[1]。发生机制除了患者依从性、药物之间相互作用,肥胖、吸烟等冠心病危险因素外,遗传因素是导致氯吡格雷在体内吸收和代谢个体化差异的重要原因之一。美国食品药品监督管理局(FDA)宣布了氯吡格雷的“黑框警告”,提醒应用氯吡格雷后出现心血管不良事件与 CYP2C19 基因突变有关^[2]。CYP2C19 * 2 * 8 属于功能缺失型基因,突变易导致患者服用氯吡格雷后转化的活性成分减少,而 CYP2C19 * 17 属于功能获得型基因,突变可增加转录活性,降低临床心血管不良事件发生率^[3-5]。此外,有研究表明,其他基因位点与氯吡格雷抵抗也有密切关系,PON1Q192R 编码氯吡格雷代谢的另一关键酶,基因突变导致酶活性下降,使氯吡格雷抗血小板的疗效减弱^[6];CES1 能将 85%左右的氯吡格雷转换为非活性产物,是影响氯吡格雷吸收的重要因素^[7];ABCB1 C3435T 编码肠蛋白 P,基因多态性导致 P 蛋白在肠道的分布存在个体化差异,从而影响氯吡格雷在肠道的吸收,突变型患者出现心血管不良事件风险更高^[8]。但 ABCB1、PON1、CES1 等基因与氯吡格雷抵抗的关系研究较少,结论存在分歧,有待更深入的研究。

基因多态性检测结合血小板功能检测,可帮助临床合理应用抗血小板药物^[9]。目前临床检测基因多态性的方法很多,其中基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)具有高准确性、易自动化、低成本、无需信号转换便于结果分析、检测速度快等优点,逐渐成为一种单核苷酸多态性(SNPs)分析的重要方法^[10]。本研究利用 MALDI-TOF MS 技术检测氯吡格雷代谢相关 CYP2C19 * 2(rs4244285)、CYP2C19 * 3(rs4986893)、CYP2C19 * 4(rs28399504)、CYP2C19 * 5(Rs56337013)、CYP2C19 * 17(rs12248560)、及 ABCB1 C3435T(rs1045642)、CES1 c. 428G > A(rs71647871)、PON1 Q192R(rs662)等 8 个位点的基因多态性,设计包含了氯吡格雷代谢相关高频突变热点基因,同时配合全自动血小板聚集功能检测,旨在用于临床氯吡格雷个体化用药研究。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2015—2017 年在武警重庆总队医院心内科、老年科的住院患者 160 例临床资料,年龄 58~80 岁,平均年龄(66.31±7.76)岁。纳入标准:(1)无家族疾病史、脑血管意外史、外伤手术史;(2)无糖尿病、慢性肝病、肾脏疾病;(3)无妊娠、慢性感染性疾病、出血或血液系统疾病史;(4)无药物过敏史、1 个月内未服用抗血小板药物、非甾体抗炎药、质子泵抑制剂及具有活血化瘀功能的中成药者;(5)近 1 个月内未服用阿司匹林者。所有患者自愿接受检测并签署知情同意书。

1.2 仪器与试剂 基因组 DNA 提取使用芮宝生物医药科技有限公司 MagCore 全自动核酸仪器(配套 102 全血 DNA 提取试剂);DNA 浓度检测及 DNA 质检使用美国 Thermo NanoDrop 2000 型微量紫外分光光度计;血小板聚集率检测使用江苏神州英诺华医疗科技有限公司 PLT-16 全自动血小板聚集仪及其配套稀释液、溶血剂及 PLR-06 血小板诱聚剂(主要成分腺苷-5'-二磷酸二钠,ADP);MALDI-TOF MS 及配套氯吡格雷基因多态性检测试剂盒购自北京毅新博创生物科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 在常规治疗的基础上,给予氯吡格雷(初次 300 mg/d,之后改为 75 mg/d),每日清晨口服 1 次,连续治疗 5 d 后分别取 EDTA 抗凝全血和取枸橼酸钠抗凝全血各 1 管。

1.3.2 血小板最大聚集率(MAR)检测 枸橼酸钠抗凝全血在 2 h 内检测 MAR,通过血小板项目初始值(PLT-0)和平均血小板体积初始值(MPV-0)来监控血小板功能检测样本的质量,剔除无效数据,以 MAR 为氯吡格雷疗效指标,将 160 研究对象分为 2 组:MAR>55%为氯吡格雷抵抗组(CR 组),MAR≤55%为非氯吡格雷抵抗组(NCR 组)。

1.3.3 MALDI-TOF MS 检测氯吡格雷代谢相关基因多态性 采用 MagCore 全自动核酸仪器提取 EDTA 抗凝全血 DNA, Nanodrop 检测待检基因组 DNA 浓度,确保基因组 DNA 浓度控制在 10 ng/μL 以上,260、280 nm 处吸光度比值(A_{260}/A_{280})控制在 1.6~2.0,上样浓度为 5~100 ng/rxn。SNPs 分型严格按照 SOP 操作:8 个位点,经 PCR 扩增、SAP 酶消化、单碱基延伸反应、树脂纯化后将每个样品依次点样至芯片,室温晾干,将干燥后的靶托放置于 Clin-TOF II 进

行质谱检测,将点样后的 SpectroCHIP 芯片使用 MALDI-TOF MS 分析,检测结果使用 NucleicAcid 软件分析并输出结果。

1.4 统计学处理 一般资料中连续变量采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,分类变量使用频数、百分数表示,组间数据比较采用两独立样 t 检验。CR 组和 NCR 组间等位基因和基因型分布用基因计数法表示,根据基因分型结果,计算等位基因频率(MAF)并用 χ^2 检验验证是否符合 Hardy-Weinberg($H-W$)平衡,检测结果显示不平衡的位点不进行下一步分析。结果比较采用 χ^2 检验,以优势比(OR)及 95%可信区间(95% CI)表示 2 组间的相对危险度。统计学处理应用 SPSS 22.0 软件进行数据分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料比较 160 例研究对象,根据分组方法,最终 CR 组纳入 75 例(46.88%),MAR 为 64.96 ± 6.20 ;NCR 组纳入 85 例(53.12%),MAR 为 33.88 ± 9.21 ,2 组 MRA 差异有统计学意义($P < 0.05$),2 组其他临床资料差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

表 1 2 组一般资料比较				
临床资料	CR 组($n=75$)	NCR 组($n=85$)	χ^2/t	P
男/女(n/n)	40/35	43/42	0.120	0.729
吸烟史[$n(\%)$]	37(49.33)	52(61.18)	2.264	0.132
高血压史[$n(\%)$]	31(41.33)	48(56.47)	3.652	0.056
硝酸酯类禁忌[$n(\%)$]	20(26.67)	34(40.00)	0.119	0.730
他汀类禁忌[$n(\%)$]	28(37.33)	41(48.24)	1.931	0.165
年龄(岁)	65.25 ± 8.25	67.24 ± 7.22	1.607	0.110
BMI($\bar{x} \pm s, \text{kg/m}^2$)	27.19 ± 3.06	28.10 ± 4.00	1.592	0.113
PLT($\bar{x} \pm s, \times 10^9/\text{L}$)	201.65 ± 31.55	208.61 ± 23.63	1.179	0.240
TC($\bar{x} \pm s, \text{mmol/L}$)	4.94 ± 0.26	4.87 ± 0.32	1.456	0.147
TG($\bar{x} \pm s, \text{mmol/L}$)	1.73 ± 0.24	1.67 ± 0.21	1.720	0.087

注:BMI 表示体质量指数;PLT 表示血小板计数;TC 表示总胆固醇;TG 表示三酰甘油

2.2 MALDI-TOF MS 分型结果 160 例样本等位基因检出率为 100%,2 组均未发现 CYP2C19 * 4、CYP2C19 * 5、CYP2C19 * 17 基因突变。CYP2C19 * 2、CYP2C19 * 3、ABCB1、CES1、PON1 基因分布均达到了 $H-W$ 遗传平衡,见表 2。

2.3 各基因的等位基因在 CR 与 NCR 组中的分布情况 携带 CYP2C19 * 2 等位基因 A 的患者发生氯

吡格雷抵抗的风险为 11.93 倍(95% CI : 5.26 ~ 25.16),差异有统计学意义($P < 0.05$)。携带 CYP2C19 * 3 等位基因 A 的患者发生氯吡格雷抵抗的风险为 7.30 倍(95% CI : 1.61 ~ 33.13),差异无统计学意义($P > 0.05$)。携带 ABCB1 等位基因 A 的患者发生氯吡格雷抵抗的风险为 1.69 倍(95% CI : 1.07 ~ 2.67),差异有统计学意义($P < 0.05$)。携带 CES1 等位基因 T 的患者发生氯吡格雷抵抗的风险为 0.05 倍(95% CI : 0.01 ~ 0.40),说明 CES1 基因发生变异有利于提高氯吡格雷的药效,差异有统计学意义($P < 0.05$)。携带 PON1 等位基因 T 的患者发生氯吡格雷抵抗的风险为 2.16 倍(95% CI : 1.36 ~ 3.43),差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 3。

表 2 各 SNPs 位点 H-W 遗传平衡检测与 MAF				
SNP 位点	基因型及频数(n)	MAF	P	
CYP2C19 * 2(rs4244285)	GG(99)、GA(53)、AA(8)	0.216	0.966	
CYP2C19 * 3(rs4986893)	GG(147)、GA(12)、AA(1)	0.044	0.423	
ABCB1(rs1045642)	GG(60)、GA(82)、AA(18)	0.369	0.443	
CES1(rs71647871)	CC(143)、CT(15)、TT(2)	0.059	0.127	
PON1(rs662)	CC(63)、CT(75)、TT(22)	0.372	0.999	

2.4 基因代谢型与氯吡格雷抵抗的关系 参照遗传药理学和基因组药理学数据库,可将基因型与代谢类型或药效分为以下几种情况,各组别在 CR 组与 NCR 组的分布情况见表 4。结果显示携带 CYP2C19 基因 * 1/ * 2 型的患者发生氯吡格雷抵抗的风险是 22.47 (95% CI : 9.04 ~ 55.85),差异有统计学意义($P < 0.05$)。携带 CYP2C19 基因 * 1/ * 3 型的患者发生氯吡格雷抵抗的风险是 17.27 (95% CI : 3.26 ~ 91.41),差异有统计学意义($P < 0.05$)。携带 ABCB1 基因 GA 型的患者发生氯吡格雷抵抗的风险是 2.05 (95% CI : 1.03 ~ 4.06),差异有统计学意义($P < 0.05$)。携带 ABCB1 基因 AA 型的患者发生氯吡格雷抵抗的风险是 2.92(95% CI : 0.99 ~ 8.65),差异有统计学意义($P < 0.05$)。携带 CES1 基因 CT 型的患者发生氯吡格雷抵抗的风险是 0.06(95% CI : 0.01 ~ 0.48),差异有统计学意义($P < 0.05$)。携带 PON1 基因 CT 型的患者发生氯吡格雷抵抗的风险是 2.05 (95% CI : 1.03 ~ 4.10),差异有统计学意义($P < 0.05$)。携带 PON1 基因 TT 型的患者发生氯吡格雷抵抗的风险是 5.33(95% CI : 1.82 ~ 15.62),差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 3 2 组各基因位点等位基因分布情况						
基因名称	等位基因	CR[$n(\%)$]	NCR[$n(\%)$]	OR(95% CI)	χ^2	P
CYP2C19 * 2	G	90(60.0)	161(94.7)	Ref		
	A	60(40.0)	9(5.3)	11.93(5.65 ~ 25.16)	56.75	0.000

续表 3 2 组各基因位点等位基因分布情况

基因名称	等位基因	CR[n(%)]	NCR[n(%)]	OR(95%CI)	χ^2	P
CYP2C19 * 3	G	138(92.0)	168(98.8)	Ref		
	A	12(8.0)	2(1.2)	7.30(1.61~33.13)	0.093	0.76
ABCB1	G	85(56.7)	117(68.8)	Ref		
	A	65(43.3)	53(31.2)	1.69(1.07~2.67)	5.059	0.024
CES1	C	149(99.3)	151(88.8)	Ref		
	T	1(0.7)	19(11.2)	0.05(0.01~0.40)	15.022	0.000
PON1	C	80(53.3)	121(71.2)	Ref		
	T	70(46.7)	49(28.8)	2.16(1.36~3.43)	10.861	0.001

注:Ref 表示参照

表 4 2 组基因代谢类型比较

基因名称	代谢类型	基因型	CR[n(%)]	NCR[n(%)]	OR(95%CI)	χ^2	P
CYP2C19	正常代谢	* 1/ * 1	15(20.0)	74(87.0)	Ref		
	中等代谢	* 1/ * 2	41(54.7)	9(10.6)	22.47(9.04~55.85)	56.479	0.000
		* 1/ * 3	7(9.3)	2(2.4)	17.27(3.26~91.41)	14.102	0.000
	弱代谢	* 3/ * 3	1(1.3)	0(0)	—	0.718	0.397
		* 2/ * 2	8(10.7)	0(0)	—	23.645	0.000
		* 2/ * 3	3(4.0)	0(0)	—	8.013	0.005
ABCB1	正常利用度	GG	21(28.0)	39(45.9)	Ref		
	弱利用度	GA	43(57.3)	39(45.9)	2.05(1.03~4.06)	4.256	0.039
		AA	11(14.7)	7(8.2)	2.92(0.99~8.65)	3.902	0.048
CES1	正常	CC	74(98.7)	68(80.0)	Ref		
	提高	CT	1(1.3)	15(17.6)	0.06(0.01~0.48)	12.130	0.000
		TT	0(0)	2(2.4)	—	0.565	0.452
PON1	正常	CC	21(28.0)	42(49.4)	Ref		
	降低	CT	38(50.7)	37(43.5)	2.05(1.03~4.10)	4.203	0.040
		TT	16(21.3)	6(7.1)	5.33(1.82~15.62)	10.294	0.001

注:—表示无数据;Ref 表示参照

3 讨 论

个体化用药一直是临床实践中的热点,CYP2C19 功能缺失等位基因检测和血小板功能检测被美国心脏病学会和欧洲心脏学会非 ST 抬高的 ACS 指南推荐。氯吡格雷由于其经济、有效,而且有更低出血风险的优势^[11-12],在抗血小板聚集的作用中发挥着重要的作用,因此,研究氯吡格雷抵抗相关的遗传因素具有重要的意义。

基因检测技术中,测序检测耗时、成本高、操作繁琐、数据库庞大、难分析等问题,在临床上难以将其作为常规检测方法;单链构象多态性分析、限制性片段长度多态性检测、高效液相色谱分析等方法操作繁琐、检测时间长,不适于大样本筛查;近年来临床常用的 Q-PCR 方法,但存在探针的线性结构易产生荧光背景、相对通量小、假阳性、每个厂家生产的试剂盒位点数量及检测质量参差不齐等问题,随着研究的不断

深入,与疾病诊疗相关的基因位点逐渐被发现。本研究使用 MALDI-TOF MS 技术检测氯吡格雷基因多态性,总结具有以下优点。

3.1 准确性高 美国 FDA 特许飞行时间质谱平台作为测序仪“Illumina miseqDx”11 的验证平台,以弥补 Sanger 测序仪的灵敏度不足,并将该技术整合进入临床 NGS 工作流程;基于飞行时间质谱系统 IM-PACT DxTM 产品的基因检测技术也通过了美国 FDA 510K 认证。该技术可检测出一个碱基的差异,灵敏度高,特异度好,且越来越多的研究表明该技术用于基因多态性检测,结果与 Sanger 测序完全一致^[13]。

3.2 检测通量大、检测速度快、结果易判读 MALDI-TOF MS 技术可在 1 个孔里同时检测多个位点,每次检测只需要十余秒,可最多检测 96 例样本,极大缩短了检测时间;检测结果由软件自动化采集和分析,人为影响因素减少,给临床工作带来了极大的

方便。

3.3 检测成本低 目前大多数基因检测费用较高而难以普及, MALDI-TOF MS 技术不需设计特定的探针, 不需要荧光染料, 不受通道限制, 1 个孔可检测多个位点, 极大地降低了检测成本。

MALDI-TOF MS 技术具备成本低, 耗时短, 相对高通量, 操作简单, 易于标准化, 特异度好, 灵敏度高的优点, 适用于临床基因多态性检测, 对于推行个体化用药具有十分重要的意义。本次研究发现, 氯吡格雷抵抗与 CYP2C19 * 2/* 2、CYP2C19 * 2/* 3 弱代谢型及 CYP2C19 * 1/* 2、CYP2C19 * 1/* 3 中等代谢型存在密切联系, 与国内外文献报道结果一致^[14-15]。由于样本量偏小, 本次研究发现 CYP2C19 * 3 与氯吡格雷抵抗无关; CYP2C19 * 4、CYP2C19 * 5、CYP2C19 * 17 等 3 个位点由于样本量及人群突变频率低的原因, 本次研究均未检出, 有待进一步研究。ABCB1 C3435T 和 PON1 Q192R 基因突变型增加氯吡格雷抵抗风险, CES1 c. 428G>A 基因突变降低发生氯吡格雷抵抗的风险, 但目前关于这 3 个基因国内外的研究尚存在争议, 且本次研究为小样本研究, 故与氯吡格雷抵抗的关系还需进一步论证。此外, 以上 8 个位点均为野生型的病例, 依旧存在氯吡格雷抵抗, 这可能与患者临床背景、个体差异及其他基因突变有关。随着研究的不断深入, 越来越多的基因位点会被挖掘, 应用准确性强、灵敏度高、高通量、低成本的 MALDI-TOF MS 技术检测基因多态性, 同时配合血小板功能检测, 对于临床实施氯吡格雷个体化用药、减少不良心血管事件具有十分重要的意义。

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]. 中国实用内科杂志, 2015, 35(1): 38-41.
- [2] COLLET J P, HULOT J S, PENA A 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.
- [3] ZHU W Y, ZHAO T, XIONG X Y, et al. Association of CYP2C19 Polymorphisms with the Clinical Efficacy of Clopidogrel Therapy in Patients Undergoing Carotid Artery Stenting in Asia[J]. Sci Rep, 2016, 6: 25478.

- [4] SHIRASAKA Y, CHAUDHRY A S, MCDONALD M, et al. Interindividual variability of CYP2C19-catalyzed drug metabolism due to differences in gene diplotypes and cytochrome P450 oxidoreductase content[J]. Pharmacogenomics J, 2016, 16(4): 375-387.
- [5] SIASOS G, TOUSOULIS D, STEFANADIS C. CYP2C19 genotype and outcomes of clopidogrel treatment[J]. N Engl J Med, 2011, 364(5): 481-482.
- [6] BOUMAN H J, SCHÖMIG E, VAN WERKUM J W, et al. Paraoxonase-1 is a major determinant of clopidogrel efficacy[J]. Nat Med, 2011, 17(1): 110-116.
- [7] ZHU H J, WANG X, GAWRONSKI B E, et al. Carboxylesterase 1 as a determinant of clopidogrel metabolism and activation. [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2013, 344(3): 665-672.
- [8] 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.
- [9] 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. 抗血小板药物治疗反应多样性临床检测和处理的中国专家建议[J]. 中华心血管病杂志, 2014, 42(12): 986-991.
- [10] PANT S, WEINER R, MARTON M J. Navigating the rapids: the development of regulated next-generation sequencing-based clinical trial assays and companion diagnostics[J]. Front Oncol, 2014, 4: 78.
- [11] GROVE E L, WÜRTZ M, THOMAS M R, et al. Antiplatelet therapy in acute coronary syndromes[J]. Expert Opin Pharmacother, 2015, 16(14): 2133-2147.
- [12] 齐林. CYP2C19 基因多态性与冠心病患者氯吡格雷疗效的相关性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(4): 488-491.
- [13] 曾云, 姜丹, 冯大飞, 等. 飞行时间质谱检测技术在非综合征型耳聋基因检测中的应用[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2013, 48(12): 985-990.
- [14] 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.
- [15] HU Y, TAN H, CHEN Y J, 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: 2017-08-28 修回日期: 2017-11-12)