

氯吡格雷治疗急性脑梗死病人 CYP2C19 基因多态性检测的临床意义

骆 嵩¹, 杨丽娟², 屈洪党¹

[摘要] **目的:**探讨 CYP2C19 基因多态性检测指导急性脑梗死治疗的意义及其与脑梗死进展之间的关系。**方法:**急性脑梗死病人 206 例,入院后完善相关病史资料、体格检查、常规入院检验检查,以及 CYP2C19 基因检测等项目,按照临床症状进展与否,分为脑梗死进展组和非进展组,据此进一步分析 CYP2C19 基因检测中的快代谢型、中间代谢型和慢代谢型,其在常规联合抗血小板治疗中对于脑梗死病人临床转归的作用,并进行统计学分析。**结果:**2 组病人 CYP2C19 基因代谢类型分布差异有统计学意义($P < 0.01$),进展组病人 PM 型比例较高,EM 型比例较低。**结论:**CYP2C19 基因多态性可能与缺血性脑卒中病人氯吡格雷治疗后病情进展有关。

[关键词] 缺血性脑卒中;氯吡格雷;CYP2C19 基因;神经功能缺损

[中图分类号] R 743.3

[文献标志码] A

DOI: 10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2018.09.005

Clinical significance of the detection of CYP2C19 gene polymorphism in acute cerebral infarction patients treated with clopidogrel

LUO Song¹, YANG Li-juan², QU Hong-dang¹

(1. Department of Neurology, 2. Department of Pediatrics, The First Affiliated Hospital
of Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233004, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the significance of the detection of CYP2C19 gene polymorphism in guiding the treatment of acute cerebral infarction (ACI), and its correlation with the progress of ACI. **Methods:** The disease history, physical examination, routine admission test and CYP2C19 gene detection in 206 ACI patients were analyzed, and the patients were divided into the progressive cerebral infarction group and non-progressive group according to clinical symptoms. The fast metabolism, intermediate metabolism and slow metabolism in the detection of CYP2C19 gene were further analyzed, and the effects of which on the clinical outcome of ACI patients treated with conventional method combined with antiplatelet was statistically analyzed. **Results:** The difference of the metabolism type distribution of CYP2C19 gene between two groups was statistically significant ($P < 0.01$), and the ratios of PM and EM genotypes in progressive cerebral infarction group were higher and lower than those in non-progressive group, respectively. **Conclusions:** The CYP2C19 gene polymorphism may be related to the disease progress in ischemic stroke patients treated with clopidogrel.

[Key words] ischemic stroke; clopidogrel; CYP2C19 gene; neurological deficit

缺血性脑卒中是目前严重威胁人类健康甚至生命的主要疾病之一,具有高发病率、高复发率、高致残率和高死亡率的特点,给社会和家庭带来了沉重的负担。因此,缺血性脑卒中中的一级、二级预防和治疗具有重大的社会效益及经济效益。目前,抗血小板药物治疗是缺血性脑卒中二级预防的重要基石。阿司匹林和氯吡格雷就是缺血性脑卒中抗血小板治疗过程中最常用的两种药物。国内外关于缺血性脑卒中治疗的临床指南中均明确指出,对于非心源性

缺血性脑卒中病人的二级预防,建议大多数情况应给予抗血小板药物治疗,氯吡格雷和阿司匹林均可作为首选,有证据表明氯吡格雷优于阿司匹林,尤其是对于高危病人的获益更为显著^[1-2]。相比于阿司匹林,氯化格雷能更有效地预防动脉粥样硬化血栓事件的发生^[3]。实验和临床研究^[4-5]表明,氯化格雷抗血小板的作用在病人之间存在着明显的差异性。有部分病人服用氯化格雷后,抗血小板聚集作用降低或表现为无抗血小板聚集作用,这些动脉血栓事件再发的风险显著增加,这一现象被称为氯比格雷抵抗。氯比格雷抵抗现象的发生与多种因素有关,外在因素主要有:病人依从性差、生物利用度低、剂量过低、药物与药物相互作用等,内在因素主要有基因的多态性、ADP 释放的增加、血小板激活途径的增加等,其中基因的多态性是引起氯化格雷抵抗

[收稿日期] 2018-02-16 **[修回日期]** 2018-07-30

[基金项目] 蚌埠医学院自然科学基金面上项目(BYKY1790)

[作者单位] 蚌埠医学院第一附属医院 1. 神经内科, 2. 儿科, 安徽蚌埠 233004

[作者简介] 骆 嵩(1986-),男,主治医师。

内在因素中最重要的因素^[6]。因此,本次研究旨在观察缺血性脑卒中病人氯吡格雷治疗后,CYP2C19 基因多态性和脑梗死疾病进展的关系,进一步探索 CYP2C19 基因多态性检查对脑梗死治疗方案制定和选择的临床意义。

1 资料与方法

1.1 病例资料 (1)病例来源:2016 年 7 月至 2017 年 7 月就诊于我院神经内科确诊为脑梗死的病人。(2)入选标准:①本次发病在磁共振弥散成像 DWI 上证实有新发病灶,符合缺血性脑卒中诊断标准^[1];②缺血性脑卒中发病在 3 d 内,首次发病或既往发病的肢体偏瘫后遗症不会影响神经功能评分的再次发作;③年龄 18~75 岁,性别不限,NIHSS 评分在 4~20 分;④脑梗死发病 3 d 内入院治疗;⑤病人或家属对相关检查均知情并同意。(3)排除标准:短暂性脑缺血发作,严重心功能不全,肝肾功能不全,对氯吡格雷药物过敏,妊娠,凝血功能异常等其他出血性疾病,其他不能配合检查的心理精神疾病。

1.2 方法 206 例病人,采用双联抗血小板疗法,首次给予负荷剂量,即口服阿司匹林及氯吡格雷均为 300 mg/d,后改为阿司匹林 100 mg/d,氯吡格雷 75 mg/d 维持治疗剂量。对所有病人在入院和发病 7 d 分别进行 NIHSS 评分,根据评分结果分为脑梗死进展组(病人发病 7 d 时的 NIHSS 评分较入院时增加 ≥ 2 分)和非进展组(入院后神经功能缺损程度不再进展或 NIHSS 评分减小、不变或增加 < 2 分)。本研究得到蚌埠医学院医学伦理委员会相关机构的同意并且符合伦理标准。

1.3 CYP2C19 基因分型检测 病人于血管内治疗前静脉采血 1~2 mL(EDTA 管抽取,4℃ 存放),按照试剂盒说明书进行 DNA 提取和纯化及 PCR 扩增。将 PCR 产物在 BR-526-24 型全自动杂交仪上进行杂交及显色。采用 BE2.0 生物芯片识读仪及 V2.0 基因芯片图像分析软件进行图像扫描与数据分析,分别检测 CYP2C19 的 636G、636A、681G、681A 等位基因。根据分型检测结果,将 CYP2C19 野生纯合子 *1/*1(636GG/681GG)定义为快代谢型(正常代谢型 EM),单突变型 *1/*2 和 *1/*3 定义为中间代谢型(IM),纯合子突变型 *2/*2(636GG/681AA)、*3/*3(636AA/681GG)及杂合子双突变型 *2/*3(636GA/681GA)定义为慢代谢型(PM)。

1.4 统计学方法 采用 *t* 检验和 χ^2 检验。

2 结果

2.1 2 组病人基本特征比较 本次研究共包含 206 例符合缺血性脑卒中临床诊断标准的病人,男 128 例(62.14%),女 78 例(37.66%),年龄(50.37±6.44)岁;其中高血压 105 例(50.97%),糖尿病 69 例(33.50%),吸烟者 107 例(51.94%),饮酒者 89 例(43.20%),入院时 NIHSS 评分是(12.26±3.04)分。进展组和非进展组病人在年龄、性别、高血压、高血脂症、糖尿病、心房颤动、既往卒中史及吸烟方面差异无统计学意义($P > 0.05$),进展组饮酒显著低于非进展组,NIHSS 评分显著高于非进展组($P < 0.01$)。

表 1 2 组病人基本特征比较[n;百分率(%)]

| 分组 | n | 年龄($\bar{x} \pm s$)/岁 | 男性 | 高血压 | 高血脂症 | 糖尿病 | 心房颤动 | 既往卒中或 TIA 史 | 吸烟 | 饮酒 | NIHSS 评分($\bar{x} \pm s$)/分 |
|----------|-----|-------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------------|-----------|-----------|-------------------------------|
| 进展组 | 55 | 51.26±5.61 | 31(56.36) | 28(50.91) | 23(41.82) | 19(34.55) | 7(12.73) | 13(23.64) | 30(54.55) | 14(25.45) | 11.00±4.32 |
| 非进展组 | 151 | 52.00±9.32 | 97(64.24) | 77(50.99) | 64(42.38) | 50(33.11) | 19(12.58) | 29(19.21) | 77(50.99) | 75(49.67) | 8.27±3.29 |
| χ^2 | — | 0.69* | 1.06 | 0.37 | 0.01 | 0.04 | 0.29 | 0.49 | 0.20 | 9.63 | 4.26* |
| <i>P</i> | — | >0.05 | >0.05 | >0.05 | >0.05 | >0.05 | >0.05 | >0.05 | >0.05 | <0.01 | <0.01 |

*示 *t* 值

2.2 急性脑梗死病人 CYP2C19 基因分布 206 例急性脑梗死病人中,EM 所占比例最高(55.34%),而 IM 和 PM 所占比例较低,分别为 26.21% 和 18.45%(见表 2)。

2.3 脑梗死病人 CYP2C19 基因代谢类型情况的比较 2 组病人 CYP2C19 基因代谢类型分布差异有统计学意义($P < 0.01$),进展组病人 PM 型比例较

高,EM 型比例较低(见表 3)。

3 讨论

氯吡格雷是一种人工合成的抗血小板药物,目前广泛应用于心脑血管疾病预防及治疗。其本身为无药理作用的前体药物,口服后约 85% 的氯吡格雷被酯酶水解,只有 15% 的药物经肝脏的细胞色素

表2 急性脑梗死病人 CYP2C19 基因分布

| CYP2C19 基因类型 | 代谢类型 | n | 构成比/% |
|--------------|------|-----|-------|
| *1/*1 | EM | 114 | 55.34 |
| *1/*2 | IM | 42 | 20.39 |
| *1/*3 | IM | 12 | 5.83 |
| *2/*2 | PM | 16 | 7.77 |
| *3/*3 | PM | 10 | 4.85 |
| *2/*3 | PM | 12 | 5.83 |

表3 脑梗死病人 CYP2C19 基因代谢类型情况的比较
[n;百分率(%)]

| 分组 | n | EM型 | IM型 | PM型 | χ^2 | P |
|------|-----|------------|-----------|-----------|----------|-------|
| 进展组 | 55 | 13(23.64) | 17(30.91) | 25(45.45) | | |
| 非进展组 | 151 | 101(66.89) | 37(24.50) | 13(8.61) | 43.93 | <0.01 |
| 合计 | 206 | 114(55.34) | 54(26.21) | 38(18.45) | | |

P450 酶 (cytochrome P450, CYP) 转化为活性成分后发挥抗血小板聚集的药理作用^[7]。吸收后的氯吡格雷经 CYP 活化过程分为 2 步,其中细胞色素氧化酶 P450-2C19(CYP2C19)参与氯吡格雷的 2 步代谢过程,对氯吡格雷活化至关重要^[8]。因此,氯吡格雷活化及发挥抗血小板聚集临床效果都与 CYP2C19 功能存在与否具有紧密联系。人类全基因组关联分析研究证实 CYP2C19 是影响氯吡格雷疗效的最主要基因。在 MEGA 等^[9] 研究中进一步证实携带 CYP2C19 功能缺失等位基因的受试者与非携带者之间血液中具有活性成分的氯吡格雷浓度有差异。而目前大部分的研究也主要集中在 CYP2C19 基因多态性与氯吡格雷抗血小板作用方面,本次研究旨在探讨急性脑梗死病人的 CYP2C19 基因突变是否与卒中进展与否有关,进一步判断其临床意义。

CYP2C19 *2 和 CYP2C19 *3 是 CYP2C19 基因的主要突变体,能够导致 CYP 功能缺失,称为功能缺失性等位基因。不同种族的弱代谢型发生率存在很大的差异,尤其是在亚洲人(13%~30%)和白人(<5%)^[10]。其中 CYP2C19 *2 在亚洲、白人和非洲人的最主要的变异基因型,能解释 75%~85% 的弱代谢型,而 CYP2C19 *3 主要出现在亚洲人,能解释亚洲人除 CYP2C19 *2 外的余下大部分弱代谢者^[11],这一规律在本次研究中也发现同样的现象,即 CYP2C19 基因野生型即 *1/*1 EM 为主,而基因突变则以 2 和 3 突变最多,而超代谢型基因(UM)突变在本次研究中未发现。此外有研究^[12-15] 显示

CYP2C19 *2 和 *3 基因携带者由于基因突变,对氯吡格雷的代谢率低,具有药理作用的氯吡格雷活性低,无法发挥抗血小板作用,故而心脑血管内血小板活化和聚集率高,不良心血管事件发生风险增高。本次研究中对于脑梗死进展组病人,其 EM 相对要低于非进展组,而 IM (30.91%) 和 PM 类型 (45.45%) 所占比例明显要高于非进展组,因此,我们认为由于 IM 和 PM 的基因携带者对氯吡格雷代谢率低,其发生抗血小板聚集的作用也会减弱,导致脑梗死病人在临床治疗中出现氯吡格雷抵抗的概率增高,出现脑梗死病人在入院氯吡格雷抗血小板聚集治疗出现临床症状进展恶化的概率高的现象。基于此,药物基因组学发布了 CYP2C19 与氯吡格雷治疗的指南,建议 UM、EM 基因型病人可使用常规剂量氯吡格雷抗血小板治疗,对于 IM、PM 型病人建议更换为新型抗血小板药物如普拉格雷或替格瑞洛抗血小板治疗。鉴于大量的证据支持,美国 FDA 发布了氯吡格雷应用黑框警告提醒携带 CYP2C19 功能缺失等位基因的病人应用氯吡格雷后出现心血管不良事件风险显著增高,建议急性冠状动脉综合征病人特别是接受冠状动脉介入治疗的病人进行 CYP2C19 基因检测,虽然 FDA 主要指出心血管不良事件和 CYP2C19 功能基因突变有关,在本次研究,我们认为对于脑梗死高危人群进行 CYP2C19 基因检测,对于减少不适合氯吡格雷治疗的病人同样具有重要的临床意义和警示作用。

因此,检测 CYP2C19 对于急性脑梗死病人抗血小板药物选择,尤其是及早从基因层面,预判氯吡格雷抵抗,具有十分重要的临床意义。本次研究样本量较小,且为单中心,后面我们将进一步加大分组,进一步分析其对缺血性脑卒中病人治疗和预后的意义。通过本次研究我们认为对于急性脑梗死病人给予 CYP2C19 基因检测,对于病人临床治疗和药物选择具有重要的临床意义。

[参 考 文 献]

- [1] 中华医学会神经病学分会脑血管病学组缺血性脑卒中二级预防指南撰写组. 中国缺血性脑卒中和短暂性脑缺血发作二级预防指南 2010[J]. 中华神经科杂志, 2010, 43(2): 154.
- [2] KERNAN WN, OVBIAGELE B, BLACK HR, et al. Guidelines for the prevention of stroke in patients with stroke and transient ischemic attack: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association [J]. Stroke, 2014, 45(7): 2160.
- [3] ERIKSSON P. Creative cost-effectiveness analysis of CAPRIE data dust in our eyes [J]. Am J Med, 2005, 118: 199.
- [4] HO PM, MADDOX TM, WANG L, et al. Risk of adverse outcomes

associated with concomitant use of clopidogrel and proton pump inhibitors following acute coronary syndrome [J]. *JAMA*, 2009, 301:937.

- [5] SOFI F, MARCUCCI R, GORI AM, *et al.* Clopidogrel non-responsiveness and risk of cardiovascular morbidity. An updated meta-analysis[J]. *Thromb Haemost*, 2010, 103:841.
- [6] NGUYEN TA, DIODAT JQ, PHARAND C. Resistance to clopidogrel; a review of the evidence [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2005, 45:1157.
- [7] SCOTT SA, SANGKUHL K, GARDNER EE, *et al.* Clinical pharmacogenetics implementation consortium guidelines for cytochrome P450-2C19 (CYP2C19) genotype and clopidogrel therapy[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2011, 90(2):328.
- [8] KAZUI M, NISHIYA Y, ISHIZUKA T, *et al.* Identification of the human cytochrome P450 enzymes involved in the two oxidative steps in the bioactivation of clopidogrel to its pharmacologically active metabolite[J]. *Drug Metab Dispos*, 2009, 38(1):92.
- [9] MEGA JL, CLOSE SL, WIVIOTT SD, *et al.* Cytochrome P450 polymorphisms and response to clopidogrel[J]. *Curr Atheroscler Rep*, 2009, 360(3):2250.
- [10] MAN M, FARMEN M, DUMAUAL C, *et al.* Genetic variation in metabolizing enzyme and transporter genes: comprehensive assessment in 3 major East Asian subpopulations with comparison

to Caucasians and Africans[J]. *J Clin Pharmacol*, 2010, 50(8):929.

- [11] MORAIS SM, WILKINSON GR, BLAISDELL J, *et al.* The major genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin metabolism in humans[J]. *J Biol Chem*, 1994, 269(22):15419.
- [12] MEGA JL, CLOSE SL, WIVIOTT SD, *et al.* Cytochrome p450 polymorphisms and response to clopidogrel[J]. *N Engl J Med*, 2009, 360(4):3542.
- [13] MEGA JL, CLOSE SL, WIVIOTT SD, *et al.* Genetic variants in ABCB1 and CYP2C19 and cardiovascular outcomes after treatment with clopidogrel and prasugrel in the TRITON-TIMI 38 trial: a pharmacogenetic analysis[J]. *Lancet*, 2010, 376(9749):1312.
- [14] COLLET JP, HULOT JS, PENA 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.
- [15] SHULDINER AR, O'CONNELL JR, BLIDEN KP, *et al.* Association of cytochrome P450 2C19 genotype with the antiplatelet effect and clinical efficacy of clopidogrel therapy[J]. *JAMA*, 2009, 302(8):849.

(本文编辑 刘璐)

(上接第 1135 页)

破坏越严重,病人生活质量及病情预后越差。同时说明当破骨细胞处于活跃状态时,成骨细胞就会处于抑制状态,因此骨吸收和骨形成之间的动态平衡就会遭到破坏。

上述研究结果说明,骨代谢指标 PINP、 β -CTX 可以作为判断 MM 的发病程度及临床预后的指标,这 2 个指标临床检测方便、快速,可以敏感地反映出骨质的破坏情况,帮助临床医生评价 MM 病情程度具有重要的临床价值。

[参 考 文 献]

- [1] KRISTINSSON SY, MINTER AR, KORDE N, *et al.* Bone disease in multiple myeloma and precursor disease: novel diagnostic approaches and implications on clinical management[J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2011, 11(6):593.
- [2] ROODMAN GD. Pathogenesis of myeloma bone disease [J]. *Leukemia*, 2009, 23(3):435.
- [3] SEIBEL MJ. Clinical use of markers of bone turnover in metastatic bone disease[J]. *Nat Clin Pract Oncol*, 2005, 2(10):504.
- [4] WU ZX, GAO MX, SANG HX, *et al.* Surgical treatment of osteoporotic thoracolumbar compressive fractures with open vertebral cement augmentation of expandable pedicle screw fixation: a biomechanical study and a 2-year follow-up of 20

patients[J]. *J Surg Res*, 2012, 173(1):91.

- [5] YANG J, HE J, WANG J, *et al.* Constitutive activation of p38 mark in tumor cells contributes to osteolytic bone lesions in multiple myeloma[J]. *Leukemia*, 2012, 26(9):2114.
- [6] 褚彬, 陆敏秋, 吴梦青, 等. 多发性骨髓瘤骨病临床特点及监测骨代谢标志物的临床意义[J]. *中华医学杂志*, 2016, 96(18):1424.
- [7] 毛鑫萍, 吾为一, 黄宏, 等. 骨代谢生化指标与女性年龄及骨密度的相关性[J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2015, 35(6):478.
- [8] 王旭, 张会英, 娄路馨, 等. 脊柱退行性疾病需手术治疗患者骨代谢指标与骨密度关系的研究[J]. *中华检验医学志*, 2016, 39(4):267.
- [9] CHU B, LU MQ, WU MQ, *et al.* Clinical characteristics of bone disease in multiple myeloma and clinical significance of monitoring bone metabolic markers [J]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 2016, 96(18):1424.
- [10] MORGAN GJ, DAVIES FE, GREGORY WM, *et al.* Effects of induction and maintenance plus long-term bisphosphonates on bone disease--in patients with multiple myeloma: the medical research council myeloma IX Trial [J]. *Blood*, 2012, 119(23):5374.

(本文编辑 刘璐)