

CYP2C19 基因多态性指导下的抗血小板个体化治疗 急性脑梗死的临床观察

柯光敏,何军,陈亦农,孔卫国

(宣城市人民医院神经内科,安徽 宣城 242000)

摘要:目的 探讨 CYP2C19 基因多态性指导下的抗血小板个体化治疗对急性脑梗死病人疗效的影响。**方法** 前瞻性纳入非心源性急性脑梗死的病人 100 例,根据 CYP2C19 基因多态性分为常规治疗组、慢代谢个体化治疗组和慢代谢常规治疗组,常规治疗组和慢代谢常规治疗组给予阿司匹林 + 氯吡格雷治疗,慢代谢个体化治疗组给予阿司匹林 + 氯吡格雷 + 西洛他唑治疗。三组病人疗程均为 15 d,比较各组病人疗效、美国国立卫生院卒中量表(NIHSS)评分及主要出血事件的发生率。**结果** 各组病人性别、年龄、原发性高血压、糖尿病、高脂血症等方面,均差异无统计学意义($P > 0.05$);常规治疗组与慢代谢个体化治疗组的有效率分别为 84.00% 和 76.67%,差异无统计学意义($P > 0.05$),两组的出血事件及其他不良反应均差异无统计学意义($P > 0.05$);慢代谢常规治疗组对血小板的抑制率低于慢代谢个体化治疗组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 联合使用西洛他唑可以克服氯吡格雷抵抗,根据基因指导抗血小板治疗急性脑梗死的疗效良好。

关键词:急性脑梗死;CYP2C19 基因多态性;氯吡格雷;西洛他唑;个体化治疗

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2017.08.016

Clinical observation on the treatment of patients with acute cerebral infarction by anti-platelet individual treatment guided by CYP2C19 polymorphism

KE Guangmin, HE Jun, CHEN Yinong, KONG Weiguo

(Department of Neurology, Xuancheng People's Hospital, Xuancheng, Anhui 242000, China)

Abstract: Objective To investigate the therapeutic efficacy of anti-platelet individual treatment guided by CYP2C19 polymorphism on patients with acute cerebral infarction. **Methods** 100 patients with acute cerebral infarction were chosen. All patients were randomly divided into routine group, slow metabolic individual treatment group and slow metabolic individual group by CYP2C19 polymorphism. The routine group and slow metabolic individual group were treated with aspirin + clopidogrel for anti-platelet treatment, and the slow metabolic individual group was treated with aspirin + clopidogrel + cilostazol for anti-platelet treatment. Treatment course of 3 groups lasted for 15 days. The clinical effects, NIHSS and the incidence of major bleeding events were compared between 3 groups before and after treatment. **Results** There were no statistical differences in sex, age, hypertension, diabetes and hyperlipidemia between these groups. The effective rates of the individual group and the routine were 76.67% and 84.00%. There was no statistical difference in major bleeding events and adverse effects between the two groups. The inhibition rate of slow metabolic routine treatment group on platelet was lower than those of the slow metabolic individual therapy group. **Conclusion** The use of combination therapy with clopidogrel and cilostazol may be one means of overcoming clopidogrel resistance. The anti-platelet individual treatment guided by polymorphism can increase curative effects of clopidogrel in patients with acute cerebral infarction.

Key words: Acute cerebral infarction; CYP2C19 polymorphism; Clopidogrel; Cilostazol; Individual treatment

急性脑梗死是最常见的卒中类型,其再发风险较高,而抗血小板药物是非心源性缺血性卒中二级预防的基石。目前循证医学证据充分的抗血小板药主要包括阿司匹林和氯吡格雷^[1]。氯吡格雷是一种不可逆的 P2Y₁₂ 受体拮抗剂,具有抑制血小板聚集的作用,能减少急性脑卒中复发的风险,广泛应用于临床。氯吡格雷对大多数病人是安全有效

的,但 4% ~ 30% 的病人尽管规律服用氯吡格雷,仍有缺血性血管事件的发生,这种现象称氯吡格雷抵抗(CR)^[2]。中国、日本及韩国的临床研究发现氯吡格雷抵抗在亚洲人群中的发生率高达 20% ~ 65%^[3],氯吡格雷抵抗的发生机制仍不清楚,目前认为与基因多态性有关。氯吡格雷是一种前体物质,需经过肝细胞色素 P450 酶系统(CYP450)代谢

才具有活性,其中,CYP2C19 酶蛋白在氯吡格雷的代谢活化中起主要作用,编码该酶蛋白的基因 CYP2C19 在人体中呈多态性表达,未携带 * 2, * 3 的等位基因,编码的酶活性最高,即 * 1/* 1,被定义为快代谢型;而携带两种无功能等位基因即 * 2/* 3, * 2/* 2, * 3/* 3 编码的酶的活性最低,被定义为慢代谢型^[4]。因此,美国食品药品监督管理局对氯吡格雷说明书发布黑框警告,允许临床医生根据病人的 CYP2C19 基因型调整治疗方案。

对于这些慢代谢型病人,即使给予高剂量的氯吡格雷仍不能改善其抗血小板活性,有研究显示西洛他唑可以改善氯吡格雷抵抗^[5],本研究针对上述 2 个基因型进行分组研究,对 CYP2C19 慢代谢型病人在常规双联抗血小板的基础上给予西洛他唑进行个体化治疗,旨在探讨根据 CYP2C19 基因多态性指导脑梗死后抗血小板治疗对病人临床疗效的影响,从而为临床治疗提供更多的循证医学证据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究选取 2015 年 1—12 月来宣城市人民医院就诊首次诊断为脑梗死的病人,以《中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2014》^[6] 中急性脑梗死诊断标准为诊断依据,共纳入 130 例病人,其中 12 例要求终止试验,18 例失访。纳入标准:(1)临床诊断为急性脑梗死;(2)年龄在 18~80 岁,性别不限;(3)发病在 48 h 以内;(4)初次口服氯吡格雷,或入组前至少自行停药 2 周。排除标准:(1)近期有活动性出血、有出血倾向或近期接受大手术者;(2)心源性脑梗死;(3)出血性脑梗死;(4)存在氯吡格雷使用禁忌证。本研究经宣城市人民医院医学伦理委员会批准,所有入组病人均签署书面知情同意书。

入组病例根据 CYP2C19 基因多态性分为慢代谢治疗组和常规治疗组,其中 CYP2C19 慢代谢治疗组又分为慢代谢个体化治疗组和慢代谢常规治疗组,CYP2C19 快代谢型为常规治疗组。20 例慢代谢常规治疗组和 50 例常规治疗组病人给予氯吡格雷 75 mg·d⁻¹联合阿司匹林肠溶片 100 mg·d⁻¹,30 例慢代谢个体化治疗组病人给予 75 mg·d⁻¹氯吡格雷+100 mg·d⁻¹阿司匹林肠溶片+100 mg·d⁻¹西洛他唑,三组病人服药时间均为 15 d,并对每例病人进行跟踪随访 3 个月。三组同时给予营养脑神经及对症治疗,对合并冠心病、原发性高血压、糖尿病者予相应治疗。

1.2 CYP2C19 基因多态性的检测 用乙二胺四乙酸二钠(EDTA)抗凝管采取静脉血 2 mL,按照血

液基因组 DNA 提取试剂盒说明书提取 DNA;用 Assay Design Software Version1. 0. 6 软件设计用于 CYP2C19 * 2 和 * 3 焦磷酸测序的引物,具体引物见表 1。引物均由上海生工生物工程技术有限公司合成。将提取的 DNA 进行 PCR 扩增,扩增条件为:95 ℃ 预变性 5 min;95 ℃ 变性 30 s,56 ℃ 退火 20 s,72 ℃ 延伸 2 min,共 40 个循环,最后延伸 5 min,4 ℃ 保存。将扩增产物使用 ABI 3730XL 测序仪(Applied Biosystems 公司,USA)进行测序,根据测得的碱基序列判断突变型。

表 1 引物信息

位点	引物
CYP2C19 * 2	上游 5'-ACCAGAGCTTGGCATATTGTATCT-3'
	下游 5'-GATTCTTGGTGTCTTTTACTTTCT-3'
CYP2C19 * 3	上游 5'-TTTCATCCTGGGCTGTGCTC-3'
	下游 5'-TGTAATTCAGGGCTTGGTCAAT-3'

1.3 观察指标 记录病人一般资料(年龄、性别)、脑梗死危险因素(原发性高血压、糖尿病、高脂血症、吸烟)、辅助检查结果(总胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、空腹血糖)。

1.4 神经功能缺损评价 于氯吡格雷口服治疗前及治疗后第 2 周分别应用美国国立卫生院卒中量表(NIHSS)对病人神经功能缺损进行评价。

1.5 血栓弹力图检测方法 采用血栓弹力图检测氯吡格雷对血小板聚集率的影响,于出院前 3 d 抽取病人静脉血 5 mL,将全血加入真空采血管中,按操作流程在 2 h 内进行检测,记录最大振幅(MA),根据凝血酶的 MA 值(MA_{Thrombin})、二磷酸腺苷(ADP)的 MA 值(MA_{ADP})和纤维蛋白的 MA 值(MA_{Fibrin})计算血小板抑制率,血小板抑制率(%)=(MA_{ADP}-MA_{Fibrin})/(MA_{Thrombin}-MA_{Fibrin})×100%。氯吡格雷抵抗定义为服用氯吡格雷后血小板聚集的抑制率≤50%。

1.6 疗效判定 按照 NIHSS 评分标准:治疗后较治疗前减少 90%~<100% 为基本痊愈,减少 45%~<90% 为显著进步,减少 18%~<45% 为进步,减少<18% 为无变化,转外科治疗或死亡为恶化。总有效率=(基本痊愈例数+显著进步例数+进步例数)/总例数×100%。同时记录两组病人治疗过程中药品不良反应发生情况。

1.7 统计学方法 应用 SPSS18.0 统计分析软件对数据进行处理。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间均数比较采用两独立样本 *t* 检验,多组间比较为单因素方差分析;计数资料以百分数表述,组间率的比

表2 两组病人临床基线资料的比较

组别	例数	年龄/ (岁, $\bar{x} \pm s$)	性别/例		吸烟/ 例	原发性高 血压/例	糖尿 病/例	高脂血 症/例	总胆固醇/ ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, $\bar{x} \pm s$)	低密度脂 蛋白胆固醇/ ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, $\bar{x} \pm s$)	空腹血糖/ ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, $\bar{x} \pm s$)
			男	女							
常规治疗组	50	62.06 $\pm$ 7.44	27	23	15	26	9	21	5.46 $\pm$ 0.94	3.26 $\pm$ 0.87	6.19 $\pm$ 1.39
慢代谢治疗组	50	61.68 $\pm$ 7.76	29	21	13	30	10	18	5.39 $\pm$ 1.07	3.12 $\pm$ 1.03	6.32 $\pm$ 1.11
P 值		0.810	0.690		0.656	0.420	0.799	0.539	0.730	0.460	0.590

较采用 χ^2 检验,疗效等级资料比较为秩和检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 病人的一般资料 病人入院确诊为急性脑梗死后,采血检测 CYP2C19 基因多态性,100 例病人中有 50 例为慢代谢型,纳入慢代谢治疗组,50 例为快代谢型,纳入常规治疗组。常规治疗组和慢代谢治疗组在性别构成、年龄、原发性高血压、糖尿病、高脂血症、吸烟、空腹血糖等临床基线资料方面差异无统计学意义($P > 0.05$),表 2。

2.2 病人治疗前后 NIHSS 评分的比较 治疗前,各组间 NIHSS 评分比较差异无统计学意义。与治疗前比较,3 组治疗后第 2 周 NIHSS 评分均显著降低(均 $P < 0.05$),常规治疗组和慢代谢个体化治疗组之间无显著性差异,但慢代谢个体化治疗组较慢代谢常规治疗组降低更明显(表 3)。

表3 三组病人治疗前后 NIHSS 评分比较/(分, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	NIHSS 评分	
		治疗前	治疗后
常规治疗组	50	7.6 $\pm$ 1.5	4.2 $\pm$ 1.3 ^a
慢代谢个体化治疗组	30	7.4 $\pm$ 1.8	4.0 $\pm$ 1.3 ^a
慢代谢常规治疗组	20	7.8 $\pm$ 2.2	5.1 $\pm$ 2.3 ^{ab}
方差分析 F 值		0.267	3.167
P 值		0.766	0.047

注:与治疗前比较,^a $P < 0.0001$;与慢代谢个体化治疗组比较,^b $P < 0.05$ 。

2.3 病人氯吡格雷抵抗的比较 于出院前 3 d,采用血栓弹力图检测两组病人的血小板抑制率,结果显示常规治疗组、慢代谢个体化治疗组及慢代谢常

规治疗组的小血小板抑制率分别为(86.85 $\pm$ 5.51)%、(74.56 $\pm$ 6.35)%和(46.85 $\pm$ 5.47)%,表明联合使用西洛他唑可显著提高氯吡格雷的血小板抑制率。

2.4 病人临床疗效比较 治疗 3 个月后,慢代谢个体化治疗组的总有效率为 76.67%,常规治疗组的总有效率为 84.00%,两组间无显著性差异($P > 0.05$),而慢代谢常规治疗组的总有效率为 60.00%,低于慢代谢个体化治疗组,但无显著性差异,见表 4。

2.5 不良反应 跟踪随访 3 个月,慢代谢个体化治疗组发生 1 例消化道出血,但与常规治疗组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。治疗期间复查头颅 CT,三组均无梗死后出血,治疗前后肝肾功能检查均无明显变化。

3 讨论

急性脑梗死是最常见的脑血管病类型,氯吡格雷是用于脑梗死二级预防的主要抗血小板药物,但氯吡格雷抵抗在我国的发生率较高。Liu 等^[7]研究发现 191 例脑梗死病人中有 36% 的病人存在氯吡格雷抵抗,引起这些氯吡格雷抵抗最主要的原因是携带 CYP2C19 * 2 基因型和原发性高血压。携带 CYP2C19 * 2、* 3 基因对氯吡格雷抗血小板的作用有很大影响,一项 Meta 分析发现 CYP2C19 * 2、* 3 基因携带者有较高的脑梗死再发风险,CYP2C19 * 2、* 3 基因携带者也是脑梗死预后不良的独立危险因素^[8]。本研究观察 CYP2C19 * 2、* 3 基因携带者联合使用西洛他唑可以改善氯吡格雷抵抗,改善氯吡格雷对血小板的抑制作用。

表4 三组病人临床疗效比较/例

组别	例数	基本痊愈	显著进步	进步	无变化	恶化	总有效率/%
常规治疗组	50	8	19	15	5	3	84.00
慢代谢个体化治疗组	30	5	10	8	5	2	76.67
慢代谢常规治疗组	20	3	5	4	7	1	60.00
P 值							0.426

目前已发现 CYP2C19 基因多态性在人群中至少涉及 25 个位点,其中可以导致氯吡格雷疗效减弱的 *2、*3 等位基因在亚洲人中最为常见。携带至少一个 CYP2C19 基因缺陷的病人即可表现为氯吡格雷活性代谢产物转化率下降,进而导致血小板抑制功能不足及主要心脑血管事件风险的增加。CYP2C19 *2、*3 基因携带者不能有效将氯吡格雷转化为活性产物,即使加大氯吡格雷的剂量也不能改善氯吡格雷抵抗^[9],有学者采用不受 CYP2C19 代谢酶影响的普拉格雷、替格瑞洛来代替氯吡格雷治疗冠脉综合征,可使病人长期获益,大大减少心血管不良事件的发生^[10],对于急性脑梗死的治疗,日本的临床研究发现联合使用西洛他唑可改善氯吡格雷抵抗^[11]。本研究同样发现联合使用西洛他唑可改善 CYP2C19 基因慢代谢型病人氯吡格雷的抗血小板活性,增加氯吡格雷的疗效,大大改善急性脑梗死病人的神经功能缺损,其疗效与 CYP2C19 基因快代谢相当。对病人进行跟踪随访 3 个月,联合使用西洛他唑并不增加出血的不良反应。对于药物洗脱支架植入的冠心病病人,长期联合给予西洛他唑可以减少不良心血管事件的发生,使病人获益,并不增加主要出血事件^[12]。我们的研究以及文献报道的研究都证明联合使用西洛他唑安全有效。西洛他唑降低氯吡格雷抵抗的机制,可能与西洛他唑选择性抑制磷酸二酯酶受体后,增加血小板内环磷酸腺苷的水平,阻止二磷酸腺苷的释放有关^[13]。

CYP2C19 基因多态性在我国人群中较为普遍,携带该功能丧失等位基因可导致氯吡格雷抗血小板作用减弱,根据基因型进行个体化的抗血小板治疗可能会降低病人再发脑梗死的概率,但本研究样本量较小,跟踪随访时间较短,仍需大型的临床试验来验证该结果。

参考文献

- [1] 王雷,袁良津,唐向阳. CYP2C19 基因多态性与急性脑梗死患者氯吡格雷疗效的相关性研究[J]. 临床神经病学杂志,2015,28(2):99-102.
- [2] ZHANG M, XU Y. Response to letter regarding article, "CYP2C19 polymorphisms and antiplatelet effects of clopidogrel in acute ischemic stroke in China" [J]. Stroke, 2013, 44(9):e108.
- [3] HASAN MS, BASRI HB, HIN LP, et al. Genetic polymorphisms and drug interactions leading to clopidogrel resistance: why the Asian population requires special attention [J]. Int J Neurosci, 2013, 123(3):143-154.
- [4] KIM HS, LIM Y, OH M, et al. The pharmacokinetic and pharmacodynamic interaction of clopidogrel and cilostazol in relation to CYP2C19 and CYP3A5 genotypes [J]. Br J Clin Pharmacol, 2016, 81(2):301-312.
- [5] KIM IS, JEONG YH, PARK Y, et al. Platelet inhibition by adjunctive cilostazol versus high maintenance-dose clopidogrel in patients with acute myocardial infarction according to cytochrome P450 2C19 genotype [J]. JACC Cardiovasc Interv, 2011, 4(4):381-391.
- [6] 中华医学会神经病学分会, 中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国急性期缺血性脑卒中诊治指南 2014 [J]. 中华神经科杂志, 2015, 48(4):246-257.
- [7] LIU R, ZHOU ZY, CHEN YB, et al. Associations of CYP3A4, NR1I2, CYP2C19 and P2RY12 polymorphisms with clopidogrel resistance in Chinese patients with ischemic stroke [J]. Acta Pharmacol Sin, 2016, 37(7):882-888.
- [8] QIU LN, SUN Y, WANG L, et al. Influence of CYP2C19 polymorphisms on platelet reactivity and clinical outcomes in ischemic stroke patients treated with clopidogrel [J]. Eur J Pharmacol, 2015, 747:29-35.
- [9] ZHANG L, YANG J, ZHU X, et al. Effect of high-dose clopidogrel according to CYP2C19 *2 genotype in patients undergoing percutaneous coronary intervention—a systematic review and meta-analysis [J]. Thromb Res, 2015, 135(3):449-458.
- [10] GURBEL PA, BERGMEIJER TO, TANTRY US, et al. The effect of CYP2C19 gene polymorphisms on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of prasugrel 5-mg, prasugrel 10-mg and clopidogrel 75-mg in patients with coronary artery disease [J]. Thromb Haemost, 2014, 112(3):589-597.
- [11] MARUYAMA H, FUKUOKA T, DEGUCHI I, et al. Dual antiplatelet therapy clopidogrel with low-dose cilostazol intensifies platelet inhibition in patients with ischemic stroke [J]. Intern Med, 2013, 52(10):1043-1047.
- [12] ZOU Y, HU C, YE W, et al. Long-term clinical efficacy and safety of adding cilostazol to dual antiplatelet therapy after drug-eluting stent implantation in coronary arteries: A meta-analysis of randomized controlled trials [J]. Thromb Res, 2015, 136(5):870-877.
- [13] 亓民成, 韩薇. 阿司匹林和氯吡格雷抵抗机制及应对方略 [J]. 安徽医药, 2015, 19(3):413-416.

(收稿日期:2016-09-23, 修回日期:2016-12-08)