

· 药物与临床 ·

CYP2C19 基因多态性对 PCI 术后患者氯吡格雷血药浓度、血小板抑制率和安全性的影响

侯文洁^{1a,2}, 张 亮^{1a,2}, 李翔宇^{1b}, 王 洁^{1a,2} (1. 东南大学医学院附属南京胸科医院: a. 药学部, b. 心内科, 江苏 南京 210029; 2. 南京医科大学附属脑科医院药学部, 江苏 南京 210029)

[摘要] 目的 探讨 CYP2C19 基因多态性对氯吡格雷血药浓度、血小板抑制率和安全性的影响。方法 根据纳入和排除标准, 筛选我院使用氯吡格雷的经皮冠状动脉介入治疗 (PCI) 术后患者, 收集氯吡格雷用药后第 6 天的血样, 采用反相高效液相色谱 (RP-HPLC) 法测定氯吡格雷血药浓度, 非扩增免疫杂交技术检测患者 CYP2C19 基因型, 并通过血栓弹力图来评估血小板抑制率。应用 SPSS 20.0 对数据进行统计分析。结果 共纳入 87 例患者, 男性 46 例, 女性 41 例; 其中 34 例为快代谢型, 38 例中代谢型, 15 例慢代谢型; 结果显示, 快、中代谢型的药物浓度无显著性差异 ($P=0.667$), 而慢代谢型与快、中代谢型药物浓度有显著性差异 ($P<0.05$); 方差分析和卡方检验显示 CYP2C19 基因多态性对氯吡格雷的血小板抑制率和安全性的影响有显著性差异 ($P<0.05$)。结论 仅根据 CYP2C19 基因型指导氯吡格雷临床用药并不一定达到较好的治疗效果, 可联合 CYP2C19 基因型检测与血药浓度监测来指导氯吡格雷的临床个体化给药。

[关键词] 氯吡格雷; CYP2C19; 血药浓度; 疗效; 用药安全性

[中图分类号] R973

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2021)05-0472-04

[DOI] 10.12206/j.issn.1006-0111.202008029

Effect of CYP2C19 gene polymorphism on clopidogrel concentration, platelet inhibition rate and safety in patients after PCI

HOU Wenjie^{1a,2}, ZHANG Liang^{1a,2}, LI Xiangyu^{1b}, WANG Jie^{1a,2} (1. a. Department of Pharmacy, b. Department of Cardiology, Chest Hospital, School of Medicine, Southeast University, Nanjing 210029, China; 2. Department of Pharmacy, the Affiliated Brain Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective** To explore the effect of CYP2C19 gene polymorphism on clopidogrel plasma concentration, rate of platelet inhibition and safety. **Methods** We screen the patients who took clopidogrel after PCI in our hospital, according to the inclusion and exclusion criteria. Blood samples were collected on the 6th day after clopidogrel administration. Clopidogrel blood concentration was determined by RP-HPLC. The CYP2C19 genotype was detected by non-amplified immune hybridization. The rate of platelet inhibition was evaluated by the thromboelastogram. The results were analyzed by SPSS 20.0 software. **Results** A total of 87 patients were recruited, including 46 males and 41 females. Among them, 34 cases were fast metabolism. 38 cases were medium metabolism. 15 cases were slow metabolism. The result showed that there was no significant difference in drug concentration between fast and intermediate metabolism ($P=0.667$). There was a significant difference in drug concentration between slow metabolism and fast metabolism or medium metabolism ($P<0.05$). Analysis of variance and chi-square test showed that CYP2C19 gene polymorphism has a significant effect on clopidogrel platelet inhibition rate and safety ($P<0.05$). **Conclusion** Guiding clopidogrel clinical medication based on CYP2C19 genotype alone does not necessarily achieve better therapeutic effects. CYP2C19 genotype detection and blood concentration monitoring can be combined to guide the clinical individualized administration of clopidogrel.

[Key words] clopidogrel; CYP2C19; drug plasma concentration; efficacy; drug safety

氯吡格雷是一种前药, 其代谢产物是血小板聚集抑制剂, 可以选择性地抑制二磷酸腺苷 (ADP) 与

其血小板 P2Y₁₂ 受体的结合及继发的 ADP 介导的糖蛋白 GP II b/III a 复合物的活化。它是经皮冠状动脉介入治疗 (PCI) 术后治疗方案中的主要药物, 可以改善疾病的预后, 预防支架内再狭窄^[1]。但氯吡格雷作为前药, 需要经肝药酶代谢为活性产物才能发挥药效。此外, 还有其他因素会影响氯吡格雷的血药浓度和临床疗效, 包括基因多态性, 生理

[基金项目] 南京市医学科技发展一般项目 (编号: YKK16207)

[作者简介] 侯文洁, 硕士, 主管药师, 研究方向: 临床药学, Email: houwj121218@163.com

[通信作者] 王 洁, 学士, 主任药师, 研究方向: 临床药学与药事管理, Tel: 025-58619845

状况,肝肾功能、合用药物以及年龄等^[2]。研究表明,主要是编码 *CYP2C19* 酶的等位基因突变会导致氯吡格雷代谢减慢,使其对血小板的抑制作用减弱。已有报道认为在亚裔人群中,能导致 P450 酶活性下降或者丢失的等位基因有两个位点,一个是 *CYP2C19**2,另一个是 *CYP2C19**3,这两个等位基因的突变都会导致氯吡格雷疗效减弱^[3-5]。

由于氯吡格雷的疗效和不良反应存在个体差异,不同患者的剂量需求不一样^[6-7]。本研究通过实验对 PCI 术后患者的代谢酶基因型和体内血药浓度进行测定,探索基因多态性对血药浓度、血小板抑制率和安全性的影响,来指导临床实施个体化治疗,为 PCI 术后患者的合理治疗提供依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

LC-20AB 高效液相色谱系统(检测器为 SPD-M20A,日本岛津);TG1650-WS 高速离心机(上海卢湘仪);乙腈(色谱纯,德国 Merck);甲酸(分析纯,中国国药集团)。荧光检测仪(西安天龙科技有限公司);PHARM-GENE 01 SNP 分析保存液;PHARM-GENE 200 SNP 分析样本处理试剂;NH₄Cl 预处理液。氯吡格雷片(波立维,75mg,赛诺菲制药,批准文号:J20180029),阿司匹林肠溶片(拜阿司匹林,100mg,批准文号:H20130339)。

1.2 研究对象

纳入 2017 年 6 月至 2019 年 12 月心内科 87 例 PCI 术后服用氯吡格雷联合阿司匹林抗血小板治疗的患者(氯吡格雷 75mg,1 次/d;阿司匹林 100 mg,1 次/d)。

纳入标准如下:①接受氯吡格雷联合阿司匹林双抗治疗的患者,年龄<80 岁;②氯吡格雷用药时间应大于 5 d,以保证体内药物处于稳态。

排除标准如下:①使用了对药物代谢酶活性有影响的药物,包括细胞色素 P450 的诱导剂(如苯巴比妥、水合氯醛、苯妥英钠、利福平等)和活性抑制剂(如氯霉素、对氨基水杨酸、异烟肼、保泰松等);②治疗前或治疗中发生了肝或肾功能改变;③同一份样品,经多次测量,其血药浓度变异系数(CV)>25%。本研究经医院伦理委员会批准(批号:2017-KL002-03)。

1.3 血样采集与检测

1.3.1 血样采集

药物在体内经 4~5 个给药周期可以达到稳态,所以于氯吡格雷开始服药后第 6 天,在给药前

静脉采血。

1.3.2 氯吡格雷血药浓度监测

使用 RP-HPLC 法检测人血浆中氯吡格雷的药物浓度,血清样品 300 μ l 置于 1.5 ml 离心管中,加内标溶液 900 μ l,涡旋振荡 30 s,以 15000 r/min 转速,离心 3 min,取上清液 10 μ l,经 0.45 μ m 滤膜过滤后进样分析^[8]。

1.3.3 *CYP2C19* 基因型的检测

使用非扩增免疫杂交技术检测 *CYP2C19* 的基因型,操作步骤:①使用耀金保预处理标本,收集 DNA;②耀金分带有针对特定 SNP 位点的荧光染色原位杂交探针,使用耀金分对标本 DNA 进行原位杂交检测;③标本 DNA 中含有特定碱基时可以检测到荧光信号,判断目标碱基类型^[9]。

1.4 血小板抑制率的评估

血栓弹力图是一种检测方式,便于快速、准确地对血小板的活性以及抗血小板聚集的效果进行评价和分析。记录的参数包括:凝血反应时间(R)、凝血形成时间(K)、凝固角(α)、最大血凝块强度(MA)和综合凝血指数。

1.5 安全性评估

氯吡格雷最主要的不良反应包括呼吸困难以及出血。根据国际多中心、随机对照试验(PLATO)^[10],按照呼吸困难的程度划分:轻度,易于察觉到的轻微呼吸困难症状,但可以耐受,不影响正常体力活动;中度,呼吸困难影响了正常的体力活动,但可以耐受;重度,呼吸困难导致无法完成正常的体力活动。根据 PLATO 研究^[10]将出血事件分为:主要出血和次要出血。

1.6 统计分析

样本的基因频率经 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验,检验结果 $P>0.05$,表明收集的样本符合 H-W 平衡,具有群体代表性。所有数据采用 SPSS20.0 进行统计分析。率的比较选择双侧 χ^2 检验,各组之间的血药浓度比较采用方差分析或 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 样本基本特征

本研究中共纳入 87 名患者,均检测了 *CYP2C19* 的基因型和氯吡格雷的血药浓度测定。其中男性 46 名,女性 41 名,患者平均年龄为(66.2 $\pm$ 7.9)岁,平均体重(55.3 $\pm$ 12.3)kg。患者基本情况及检测结果见表 1。对样本 *CYP2C19* 的基因频率进行了 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验,计算结果 Chi-

square 为 1.12, $P>0.5$, 结果见表 2。结果表明, 收集的样本符合 H-W 平衡, 具有群体代表性。

表 1 患者的基本特征 ($n=87$)

项目	信息	值
人口学特征	性别(男/女)	46/41
	年龄($n\pm s$)	66.2 $\pm$ 7.9
	体重($n\pm s$)	55.3 $\pm$ 12.3
基因型	快(例)	34
	中(例)	38
	慢(例)	15
	R(min)	5.72 $\pm$ 1.51
血栓弹力图参数	K(min)	1.52 $\pm$ 0.33
	α 角(deg)	70.44 $\pm$ 7.02
	MA(mm)	65.58 $\pm$ 5.93
	综合凝血指数	1.01 $\pm$ 1.33
不良反应	血小板抑制率(%)	62.56 $\pm$ 31.22
	呼吸抑制(%)	10.34%(9/87)
	出血(%)	5.75%(5/87)

表 2 CYP2C19 基因型分布频率 ($n=87$)

基因表型	基因型	基因频率/%	Chi-square	H-W 平衡检验/ P
快	CYP2C19*1/*1	43.59(34/87)	1.12	>0.5
中	CYP2C19*1/*2	48.71(38/87)		
	CYP2C19*1/*3			
慢	CYP2C19*2/*2	7.69(15/87)		
	CYP2C19*3/*3			

2.2 氯吡格雷治疗后的血小板抑制率和安全性

87 例患者接受氯吡格雷治疗后, 血药浓度分布于 2~7 mg/L 之间, 血小板抑制率分布于 20%~90% 之间。常见的不良反应是呼吸抑制 [10.34%(9/87)] 和出血 [5.75%(5/87)]。

2.3 基因多态性对血药浓度、血小板抑制率和安全性的影响

在本研究中, 根据 CYP2C19 的基因型进行了分类(快、中、慢)。快、中和慢代谢型患者的平均血药浓度分别为 2.64 $\pm$ 1.03、2.88 $\pm$ 1.79 和 5.23 $\pm$ 3.23 mg/L, 使用 t 检验分析两两之间的血药浓度, 结果显示, 血药浓度在快、中代谢型之间没有显著性差异($P=0.667$), 但慢代谢型中的血药浓度在与快、中代谢型比较时有统计学差异($P<0.05$)。快、中、慢代谢型血小板抑制率分别是 (66.26 $\pm$ 24.71)%、(67.77 $\pm$ 22.32)% 和 (42.45 $\pm$ 17.88)%, 采用方差分析进行统计, 显示基因多态性对血小板抑

制率有显著性影响($P<0.05$)。不良反应发生率分别是 8.97%(7/87)、5.13%(4/87) 和 0%(0/87), 采用 Fisher 确切概率法对不良反应进行统计分析, 结果显示, 基因多态性对用药安全亦有显著性影响($P<0.05$), 见表 3。

表 3 CYP2C19 基因型与氯吡格雷血药浓度、血小板抑制率和不良反应发生率的关系

基因型	基因多态性	浓度(mg/L)	血小板抑制率(%)	不良反应(%)
快	CYP2C19*1/*1	2.64 $\pm$ 1.03	66.26 $\pm$ 24.71	8.97(7/87)
中	CYP2C19*1/*2	2.88 $\pm$ 1.79	67.77 $\pm$ 22.32	5.13(4/87)
	CYP2C19*1/*3			
慢	CYP2C19*2/*2	5.23 $\pm$ 3.23	42.45 $\pm$ 17.88	0(0/87)
	CYP2C19*3/*3			

3 讨论

氯吡格雷属于前药, 需要在体内经代谢后才能起效。因此, 不同患者之间存在明显的个体差异。有性别、体重、年龄、合并用药等非遗传因素, 但主要还是编码药物代谢酶及转运体的基因多态性。国内外对氯吡格雷在健康和患病人群中进行的一系列深入研究, 结果一致表明该药物的体内过程同时受多种因素的影响^[11]。对于不同个体、不一样的人群, 它的治疗效果和安全性存在较大的差异。所以, 我们应该关注基因多态性与血药浓度变化之间的关系。

氯吡格雷的血药浓度受 CYP2C19 基因型的影响, 在治疗前行基因检测可以预测初始疗效, 血药浓度监测结合基因检测技术的个体化给药可能有助于减少不良反应且提高疗效。近几年有许多关于 CYP2C19 基因多态性影响药物药动学参数的研究, 比较了 CYP2C19 突变型与野生型对氯吡格雷代谢的影响, 结果显示突变型的血清氯吡格雷浓度较高^[11]。这表明 CYP2C19 基因缺失影响了氯吡格雷的代谢。关于氯吡格雷的群体药动学模型参数的研究显示^[12], CYP2C19 基因型改变了氯吡格雷的药动学参数, CYP2C19 突变型的氯吡格雷原药体内浓度高于野生型, 且清除率也高于野生型, 不因性别, 年龄和体重等因素而改变。这表明 CYP2C19 发生突变不但可能使活性产物减少, 而且还会加快氯吡格雷的体内清除速度。

此外, 还有一些现象无法完全用基因型和血药浓度的差异来解释, 这可能需要考虑患者的个体差异。如 CYP2C19 为快代谢型, 血药浓度亦处于正常范围, 但患者出现了氯吡格雷相关的不良反应或

有胸痛等症状。应考虑是个体差异导致的,建议停药,并观察生命体征变化,还需要进一步随访来确证是否为氯吡格雷个体差异所致。

研究表明,氯吡格雷的血药浓度在 *CYP2C19* 快、中代谢型患者中并无差异,但慢代谢型患者的浓度与快、中代谢型患者比较差异较大;且不同 *CYP2C19* 基因型对氯吡格雷有效性及安全性的影响也有差异。但个别案例仅通过 *CYP2C19* 基因多态性无法解释氯吡格雷疗效的差异,这可能与影响氯吡格雷药效的因素众多有关,故仅根据 *CYP2C19* 基因型指导氯吡格雷临床用药并不一定达到较好的治疗效果,可联合 *CYP2C19* 基因型检测与血药浓度监测来指导氯吡格雷的临床个体化给药。

【参考文献】

- [1] OESTREICH J H, BEST L G, DOBESH P P. Prevalence of *CYP2C19* variant alleles and pharmacodynamic variability of aspirin and clopidogrel in Native Americans[J]. *Am Heart J*, 2014, 167(3): 413-418.
 - [2] TANTRAY J A, REDDY K P, JAMIL K, et al. Pharmacodynamic and cytogenetic evaluation in *CYP2C19*2* and *CYP2C19*3* allelomorphicism in South Indian population with clopidogrel therapy[J]. *Int J Cardiol*, 2017, 229: 113-118.
 - [3] XIE X, MA Y T, YANG Y N, et al. *CYP2C19* phenotype, stent thrombosis, myocardial infarction, and mortality in patients with coronary stent placement in a Chinese population[J]. *PLoS One*, 2013, 8(3): e59344.
 - [4] ZOU J J, XIE H G, CHEN S L, et al. Influence of *CYP2C19* loss-of-function variants on the antiplatelet effects and cardiovascular events in clopidogrel-treated Chinese patients undergoing percutaneous coronary intervention[J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2013, 69(4): 771-777.
 - [5] REHMAN K U, AKHTAR T, SABAR M F, et al. Allele frequency distribution of *CYP2C19*2* allelic variants associated with clopidogrel resistance in cardiac patients[J]. *Exp Ther Med*, 2015, 10(1): 309-315.
 - [6] ARADI D, KOMÓCSI A. Platelet function monitoring in patients on clopidogrel: What should we learn from GRAVITAS? *Platelets*, 2012, 23(3): 167-176.
 - [7] 周健, 吕虹, 康熙雄. 中国汉族人群不同性别、年龄、体重指数之间细胞色素氧化酶 *CYP2C19* 基因多态性的检测[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2007, 12(2): 208-213.
 - [8] 侯文洁, 张亮, 丁红梓, 等. 硫酸氢氯吡格雷片在PCI术后患者体内的药动学研究[J]. *现代药物与临床*, 2018, 33(3): 451-455.
 - [9] 曹津津, 周秋云, 钱智磊, 等. 利用基因检测技术指导氯吡格雷的合理应用[J]. *药学与临床研究*, 2017, 25(3): 251-252.
 - [10] HELD C, ASENBLAD N, BASSAND J P, et al. Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes undergoing coronary artery bypass surgery: results from the *PLATO* (Platelet Inhibition and Patient Outcomes) trial[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2011, 57(6): 672-684.
 - [11] JIA D M, CHEN Z B, ZHANG M J, et al. *CYP2C19* polymorphisms and antiplatelet effects of clopidogrel in acute ischemic stroke in China[J]. *Stroke*, 2013, 44(6): 1717-1719.
 - [12] SNOEP J D, HOVENS M M, EIKENBOOM J C, et al. Clopidogrel nonresponsiveness in patients undergoing percutaneous coronary intervention with stenting: a systematic review and meta-analysis[J]. *Am Heart J*, 2007, 154(2): 221-231.
- [收稿日期] 2020-08-10 [修回日期] 2021-06-15
[本文编辑] 陈盛新
-
- (上接第 467 页)
- [8] ROMUALDO G R, SILVA E D A, DA SILVA T C, et al. Burdock (*Arctium lappa*L.) root attenuates preneoplastic lesion development in a diet and thioacetamide-induced model of steatohepatitis-associated hepatocarcinogenesis[J]. *Environ Toxicol*, 2020, 35(4): 518-527.
 - [9] QI J, KIM J W, ZHOU Z X, et al. Ferroptosis affects the progression of nonalcoholic steatohepatitis via the modulation of lipid peroxidation-mediated cell death in mice[J]. *Am J Pathol*, 2020, 190(1): 68-81.
 - [10] 吴敏, 吴克芹. 还原型谷胱甘肽与硫普罗宁治疗药源性肝病的疗效研究[J]. *中国现代药物应用*, 2020, 14(8): 159-160.
 - [11] 董晋钢, 董晋瑛. 美他多辛联合硫普罗宁治疗酒精性肝病的疗效观察[J]. *中国药房*, 2017, 28(8): 1091-1094.
 - [12] YANG H, YANG T T, HENG C, et al. Quercetin improves non-alcoholic fatty liver by ameliorating inflammation, oxidative stress, and lipid metabolism in db/db mice[J]. *Phytother Res*, 2019, 33(12): 3140-3152.
 - [13] 刘俊英, 刘洋, 李涵, 等. 谷胱甘肽复方注射液对免疫性肝纤维化大鼠肝组织钙调素表达的影响[J]. *中华肝脏病杂志*, 2019, 27(8): 628-633.
 - [14] 庞红全, 王刚, 杨帆, 等. 还原型谷胱甘肽联合自拟降脂方对酒精性脂肪肝患者血清酶及脂质过氧化水平的影响[J]. *解放军医药杂志*, 2016, 28(7): 78-81.
 - [15] VALACHOVA K, SVIK K, BIRO C, et al. Skin wound healing with composite biomembranes loaded by tiopronin or captopril[J]. *J Biotechnol*, 2020, 310: 49-53.
- [收稿日期] 2021-01-13 [修回日期] 2021-05-16
[本文编辑] 陈盛新