

· 论 著 ·

cyp2c19 基因多态性、高水平 FIB 对氯吡格雷抗凝效应的相关性研究

李勤琴

(第三军医大学大坪医院野战外科研究所, 重庆 400010)

摘要:目的 研究冠心病患者中 cyp2c19 基因多态性、高水平纤维蛋白原(FIB)与氯吡格雷抗凝效应的关系。方法 选取 2015 年 5~11 月正在服用氯吡格雷的冠心病患者 611 例, 并对其 cyp2c19 基因特征和 FIB 水平进行分析。将患者分为 cyp2c19 基因纯合子强代谢型组($n=261$)、杂合子强代谢型组($n=272$)及弱代谢型组($n=78$); 611 例冠心病患者中有 408 例患者检测凝血项, 分为高水平 FIB 组($n=116$)、正常水平 FIB 组($n=224$)及低水平 FIB 组($n=68$); 再分为 cyp2c19 基因弱代谢型且高水平 FIB 组($n=24$)、cyp2c19 基因纯合子强代谢型且高水平 FIB 组($n=48$), cyp2c19 基因杂合子强代谢型且高水平 FIB 组($n=44$), 比较 3 组的凝血酶时间(TT)。结果 cyp2c19 基因型别有 $*1/*1$ 、 $*1/*2$ 、 $*1/*3$ 、 $*2/*2$ 、 $*2/*3$ 、 $*3/*3$ 。经基因芯片检测发现, 上述各型分别为 261 例(占 42.7%)、235 例(占 38.4%)、37 例(占 6.0%)、60 例(占 9.8%)、17 例(占 2.9%)、1 例(占 0.2%)。cyp2c19 $*1$ 、 $*2$ 和 $*3$ 等位基因频率分别为 65.0%(794/1 222)、30.5%(373/1 222)和 4.5%(55/1 222); 纯合子强代谢型组占 42.7%($n=261$), 杂合子强代谢型组占 44.4%($n=272$), 弱代谢型组占 12.9%($n=78$)。高水平 FIB 组的 TT 水平与正常水平 FIB 组比较差异无统计学意义($P=0.4008$); 无论是纯合子还是杂合子, cyp2c19 基因强代谢型均比 cyp2c19 基因弱代谢型对氯吡格雷抗凝效应更敏感($P<0.05$)。结论 高水平 FIB 对氯吡格雷抗凝效应并无显著影响; cyp2c19 基因多态性对氯吡格雷的抗凝效应有显著影响, 有助于临床指导用药, 降低冠状动脉血栓发生率。

关键词: cyp2c19 基因; 纤维蛋白原; 基因多态性; 冠心病; 氯吡格雷

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.22.011 文献标识码: A 文章编号: 1673-4130(2016)22-3123-03

Study on correlation between cyp2c19 gene polymorphisms and high concentration of fibrinogen with clopidogrel resistance

LI Qinlin

(Field surgery Research Institute, Daping Hospital of Third Military Medical University, Chongqing 400010, China)

Abstract: **Objective** To investigate the relationship between cyp2c19 gene polymorphisms and high concentration of fibrinogen with clopidogrel anticoagulation effect in the patients with coronary atherosclerotic heart disease(CAHD). **Methods** A total of 611 CAHD patients taking oral clopidogrel in our hospital from May 2015 to November 2015 were selected and their cyp2c19 gene characteristics and the fibrinogen(FIB) levels were analyzed. The patients were divided into the cyp2c19 gene homozygote strong metabolism group($n=261$), heterozygote strong metabolism group($n=272$) and weak metabolism group($n=78$). In all the cases, 408 cases were detected the coagulation indicators and divided into the high FIB level group($n=116$), normal FIB level group($n=224$) and low FIB level group($n=68$); then re-divided into the cyp2c19 gene weak metabolism and high FIB level group($n=24$), the cyp2c19 gene homozygote strong metabolism and high FIB level group($n=48$) and cyp2c19 gene heterozygote strong metabolism and high FIB level group($n=44$). The thrombin time(TT) was compared among 3 groups. **Results** cyp2c19 genotypes were $*1/*1$, $*1/*2$, $*1/*3$, $*2/*2$, $*2/*3$ and $*3/*3$. The gene chip detection found that the above genotypes had 261 cases(42.7%) of cyp2c19 $*1/*1$, 235 cases(38.4%) of cyp2c19 $*1/*2$, 37 cases(6.0%) of cyp2c19 $*1/*3$, 60 cases(9.8%) of cyp2c19 $*2/*2$, 17 cases(2.9%) of cyp2c19 $*2/*3$ and 1 case(0.2%) of cyp2c19 $*3/*3$. The cyp2c19 $*1$, $*2$ and $*3$ allele frequencies were 65.0%(794/1 222), 30.5%(373/1 222) and 4.5%(55/1 222) respectively; The homozygote strong metabolism group accounted for 42.7%($n=261$), the heterozygote strong metabolism group accounted for 44.4%($n=272$) and the weak metabolism group accounted for 12.9%($n=78$). The TT level had no statistical difference between the high FIB level group and the normal FIB level group($P=0.4008$); no matter homozygote or heterozygote, the cyp2c19 gene strong metabolism type had more sensitivity to the clopidogrel anticoagulation effect than the cyp2c19 gene weak metabolism type($P<0.05$). **Conclusion** The high FIB level has no influence to the clopidogrel anticoagulation effect; the cyp2c19 gene polymorphisms have significant influence on clopidogrel anticoagulation effect, which is conducive to clinical medication guidance and reduce the occurrence rate of coronary arterial thrombus.

Key words: cyp2c19; FIB; gene polymorphisms; coronary atherosclerotic heart disease; clopidogrel

冠状动脉粥样硬化性心脏病是冠状动脉血管发生动脉粥样硬化病变而引起血管腔狭窄或阻塞, 造成心肌缺血、缺氧或坏死而导致的心脏病, 常称为冠心病。为预防不良心血管事件的发生, 氯吡格雷与阿司匹林联合抗血小板治疗是目前推荐的

治疗药物^[1],但由于个体差异,氯吡格雷的抗血小板效应对于某些患者并没有发挥良好疗效,从而导致冠状动脉血栓的发生^[2]。随着生活水平的提高,冠心病的患病率在我国呈上升趋势^[3],冠心病患者日趋年轻化^[4],因此积极采取有效的抗血小板治疗是减少冠心病发病率的重要任务。除某些临床因素(如年龄、肥胖、糖尿病和肾衰竭等),有报道发现细胞色素 P450 (CYP450)与氯吡格雷的疗效有关^[5]。氯吡格雷是一种酯类前体药物,需要经过 CYP450 酶代谢为有活性的产物才能发挥抗血小板作用,而 cyp2c19 基因具有基因多态性,能直接影响氯吡格雷在临床中的疗效^[6]。此外,纤维蛋白原(FIB)作为冠心病的重要危险因素,近期备受关注。FIB 是凝血途径的重要环节,通过与血小板膜上受体相结合,导致急性冠状动脉血栓的形成。一般情况下,FIB 与凝血酶时间(TT)呈反比。氯吡格雷通过间接抑制 GPⅡ b/Ⅲ a 受体与 FIB 结合,从而阻止血小板聚集。本研究将探讨 cyp2c19 基因多态性、FIB 水平与氯吡格雷抗血小板效应的关系,以期为临床实施个体化用药提供依据。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集本院 2015 年 5~11 月经心电图和冠状动脉造影等检查确诊为冠心病、且正在服用氯吡格雷的患者 611 例,其中男 311 例,女 300 例;年龄 30~89 岁,平均(61.0±0.5)岁。入组患者均签署知情同意书。纳入标准:(1)成年人(大于 18 岁);(2)汉族;(3)长期服用氯吡格雷。排除标准:(1)严重心衰及肝肾功能损伤;(2)不能按医嘱服用氯吡格雷;(3)对氯吡格雷和阿司匹林耐药;(4)近期有创伤等具有抗血小板治疗禁忌证患者。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 cyp2c19 基因多态性检测用乙二醇四乙酸二钠抗凝,FIB 和 TT 检测用 3.2%枸橼酸钠抗凝。所有标本采集后送往本院分子生物实验室进行检测。

1.2.2 基因扩增与杂交显色 采用核酸提取试剂盒(试剂盒由上海百傲科技股份有限公司提供,产品编号 BST01051)提取 DNA;采用 cyp2c19 基因特异引物经聚合酶链式反应(PCR)扩增后,将带生物素标记的 PCR 产物与固定在醛基基片的 cyp2c19 基因型检测探针进行杂交反应[基因检测芯片试剂盒,国药药监械(准)字 2013 第 3400956 号]及显色反应,最后将芯片进行扫描得到图像(生物芯片识读仪,规格型号 BE-20,生产厂家为上海百傲生物技术有限公司),判断基因型别。

1.3 结果判断 cyp2c19 * 1/* 1 为野生型、cyp2c19 * 1/* 2 和 cyp2 c19 * 1/* 3 为突变杂合子、cyp2c19 * 2/* 2 和 cyp2c19 * 3/* 3 为突变纯合子。根据不同基因型别所编码的酶对氯吡格雷代谢速度,将 cyp2c19 * 1/* 1 归为快代谢型,cyp2c 19* 1/* 2 和 cyp2c19 * 1/* 3 为中间代谢型,cyp2c19 * 2/* 2和 cyp2c19 * 3/* 3 为慢代谢型。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计学软件分析数据,连续变量用 $\bar{x} \pm s$ 表示,分类变量描述使用频数和频率,计数资料用率表示,组间比较用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 cyp2c19 基因多态性的型别 cyp2c19 基因型别包括 * 1/* 1,* 1/* 2,* 1/* 3,* 2/* 2,* 2/* 3,* 3/* 3。经基因芯片检测发现各型别分布情况依次如下:261 例(占

42.7%)、235 例(占 38.4%)、37 例(占 6.0%)、60 例(占 9.8%)、17 例(占 2.9%)、1 例(占 0.2%)。cyp2c19 * 1,* 2 和 * 3 等位基因频率分布分别为 65.0%(794/1 222)、30.5%(373/1 222)和 4.5%(55/1 222)。其中,纯合子强代谢型组占 42.7%($n=261$)、杂合子强代谢型组占 44.4%($n=272$)及弱代谢型组占 12.9%($n=78$)。

2.2 不同 FIB 水平冠心病患者 FIB、TT 水平分析 分析高水平 FIB 对正在服用氯吡格雷冠心病患者的 TT 水平影响,发现高水平 FIB 组 TT 水平与正常水平 TT 水平比较差异无统计学意义($P=0.400\ 8$)。说明高水平 FIB 对氯吡格雷抗凝效应并无影响。见表 1。

表 1 不同 FIB 水平冠心病患者 FIB、TT 水平分析				
组别	<i>n</i>	构成比(%)	FIB(g/L)	TT(s)
高水平 FIB	116	28.4	5.17±0.48	13.89±0.28
正常水平 FIB	224	55.0	2.82±0.15*	15.23±0.36
低水平 FIB	68	16.6	1.21±0.12	26.08±3.35

注:与高水平 FIB 比较,* $P=0.018\ 2$ 。

表 2 纯合子强代谢型与弱代谢型 cyp2c19 基因型构成比及 TT 水平				
项目	<i>n</i>	构成比(%)	FIB(g/L)	TT(s)
纯合子强代谢型	48	41.4	4.62±0.24	16.22±0.32
弱代谢型	24	20.7	5.18±0.46	12.95±0.30
<i>P</i>			0.293 4	<0.05

表 3 杂合子强代谢型与弱代谢型 cyp2c19 基因型构成比及 TT 水平				
项目	<i>n</i>	构成比(%)	FIB(g/L)	TT(s)
杂合子强代谢型	44	37.9	4.47±0.17	15.44±0.40
弱代谢型	24	20.7	5.18±0.46	12.95±0.30
<i>P</i>			0.168 3	<0.05

表 4 强代谢型与弱代谢型 cyp2c19 基因型构成比及 TT 水平				
项目	<i>n</i>	构成比(%)	FIB(g/L)	TT(s)
强代谢型	92	79.3	4.54±0.14	15.83±0.26
弱代谢型	24	20.7	5.18±0.46	12.95±0.30
<i>P</i>			0.104 1	<0.05

2.3 cyp2c19 基因型频数、频率分布及对氯吡格雷抗凝效应的影响 对高水平 FIB 冠心病患者的 cyp2c19 基因型频数、频率分布对氯吡格雷抗凝效应的影响进行分析,发现 cyp2c19 基因纯合子强代谢型冠心病患者的 TT 水平[(16.22±0.32)s]高于 cyp2c19 基因弱代谢型冠心病患者[(12.95±0.30)s],差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。同样,cyp2c19 基因杂合子强代谢型冠心病患者的 TT 水平[(15.44±0.40)s]高于 cyp2c19 基因弱代谢型冠心病患者[(12.95±0.30)s],差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。总之,无论是 cyp2c19 基因

纯合子还是杂合子强代谢型均比 cyp2c19 基因弱代谢型对氯吡格雷抗凝效应敏感。见表 4。

3 讨 论

CYP450 同工酶被称为药酶,是一系列结构和功能相关酶组成的超家族,也是体内药物代谢的酶系。CYP450 酶代谢的药物中,12.0%是由 cyp2c19 基因负责代谢。氯吡格雷是一种血小板聚集抑制剂。作为一种药物前体,其需要通过氧化作用形成 2-氧基-氯吡格雷后再水解成有活性的代谢物^[7]。该氧化作用过程中,cyp2c19 基因具有一定调节作用。本研究结果表明,无论是纯合子还是杂合子强代谢型 cyp2c19 基因都有助于氯吡格雷的抗凝效应,虽然 TT 主要用于检测凝血、抗凝和显微蛋白溶解系统功能,对血小板聚集的反应并不完全,但其仍然能反应出 cyp2c19 基因多态性对氯吡格雷抗血小板效应的影响。

FIB 是冠心病的重要危险因素,其通过与血小板膜受体相结合,最终导致急性冠状动脉血栓的形成^[8]。已有研究发现,FIB 的关键作用是与活化的血小板相互作用^[9],而氯吡格雷是一种血小板聚集抑制剂,FIB 水平的高低是否对氯吡格雷抗血小板效应有影响还缺乏详细研究。本研究中,笔者将已检测凝血项的患者分为高水平 FIB 组、正常水平 FIB 组和低水平 FIB 组,并总结患者服用氯吡格雷后各组间 TT 的变化,发现高水平的 FIB 对氯吡格雷抗血小板效应并无影响,说明 TT 虽是检测纤维蛋白溶解系统功能的重要指标,但受到体内其他凝血因素及相关凝血因子等多因素的影响。虽然已有研究表明,高水平 FIB 与冠心病的病变程度相关^[10],但本研究所选患者病变程度可能并未达到 FIB 能影响的程度。

虽然既往研究报道 cyp2c19 基因多态性对氯吡格雷抗凝效应存在影响,但较少文献报道 cyp2c19 基因多态性与 FIB 联合影响氯吡格雷的抗凝效应,因此本研究献报道具有一定创新性。本研究发现,无论是 cyp2c19 基因纯合子还是杂合子强代谢型都比 cyp2c19 基因弱代谢型对氯吡格雷抗凝效应敏感,对冠心病患者进行 cyp2c19 基因型别检测有助于临床指导用药,减少冠状动脉血栓加重的风险。

参考文献

[1] Kushner FG, Hand M, Smith SC, et al. 2009 focused updates: ACC/AHA guidelines for the management of patients with ST-elevation myocardial infarction (updating the 2004 guideline and 2007 focused update) and ACC/AHA/SCAI guidelines on percutaneous coronary intervention (updating the 2005 guideline and 2007 focused up-

date) a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines[J]. J American College Cardiol, 2009, 54(23): 2205-2241.

[2] Serebruany V, Cherala G, Williams C, et al. Association of platelet responsiveness with clopidogrel metabolism: role of compliance in the assessment of resistance[J]. American Heart Journal, 2009, 158(6): 925-932.

[3] Wong ND. Epidemiological studies of CHD and the evolution of preventive cardiology[J]. Nature Rev Cardiol, 2014, 11(5): 276-289.

[4] Rubin JB, Borden WB. Coronary heart disease in young adults[J]. Current Atherosclerosis Reports, 2012, 14(2): 140-149.

[5] Yamamoto K, Hokimoto S, Chitose T, et al. Impact of CYP2C19 polymorphism on residual platelet reactivity in patients with coronary heart disease during antiplatelet therapy[J]. J Cardiol, 2011, 57(2): 194-201.

[6] Simon T, Verstuyt C, Mary-Krause M, et al. Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events[J]. New Engl J Med, 2009, 360(4): 363-375.

[7] Rothenbacher D, Hoffmann MM, Breitling LP, et al. Cytochrome P450 2C19 * 2 polymorphism in patients with stable coronary heart disease and risk for secondary cardiovascular disease events: results of a long-term follow-up study in routine clinical care[J]. BMC Cardiovasc Disord, 2013, 13: 61.

[8] Mikolasevic I, Orlic L, Zaputovic L, et al. Usefulness of liver test and controlled attenuation parameter in detection of nonalcoholic fatty liver disease in patients with chronic renal failure and coronary heart disease[J]. Wiener Klinische Wochenschrift, 2015, 127(11/12): 451-458.

[9] 刘颜梅, 胡大一. 高尿酸血症与高纤维蛋白原血症对冠状动脉风险的联合评估价值探讨[J]. 中华医学杂志, 2006, 86(10): 678-680.

[10] 耿捷, 陈树涛, 王林. 老年冠心病患者脂蛋白(a)与纤维蛋白原的相关性分析[J]. 中华医学杂志, 2013, 93(6): 436-439.

(收稿日期: 2016-02-01 修回日期: 2016-04-21)

什么是 LIS 系统

实验室信息系统(LIS)是指利用计算机技术及计算机网络,实现临床实验室的信息采集、存储、处理、传输、查询,并提供分析及诊断支持的计算机软件系统。其主要任务是协助检验医师对检验申请单及标本进行预处理,检验数据的自动采集或直接录入,检验数据处理、检验报告的审核,检验报告的查询、打印等。LIS 统计信息准确及时,能提高检验信息的准确性,为患者提供良好的医疗服务,可更有效地利用人力资源,节约成本,使整个检验科乃至整个医院的检验信息运行便捷,提高管理信息的质量。