

急性缺血性脑卒中患者CYP2C19基因分型与临床预后的相关性分析

王东¹, 刘欣²

摘要 目的:探讨急性缺血性脑卒中患者CYP2C19基因分型与临床预后的相关性。**方法**:选取应用氯吡格雷治疗的急性缺血性脑卒中患者156例,进行CYP2C19*2和CYP2C19*3基因型检测,根据检测结果分为野生型组(GG)和突变型组(GA/AA)。对比2组的小血小板抑制率、氯吡格雷疗效及临床预后情况。**结果**:野生型组患者的平均血小板抑制率为(42.42±2.74)%,突变型组为(32.41±2.69)%,突变型组的平均血小板抑制率低于野生型组($P<0.05$)。突变型组的氯吡格雷抵抗发生率为26.32%,显著高于野生型组的1.25%($P<0.05$)。突变型组的预后不良发生率高于野生型组,卒中复发率及心脑血管不良事件总发生率也高于野生型组($P<0.05$)。与野生型组相比,突变型组患者随访期间累积无再发心脑血管不良事件的生存率明显更低($P<0.05$)。**结论**:急性缺血性脑卒中患者的CYP2C19基因分型与血小板抑制率、临床预后密切相关,携带CYP2C19突变型基因型的患者,血小板抑制率更低,氯吡格雷敏感性越差,预后不良风险越高。**关键词** CYP2C19基因;血小板抑制率;急性缺血性脑卒中;临床预后;氯吡格雷

中图分类号 R741;R743.3 **文献标识码** A **DOI** 10.16780/j.cnki.sjssgncj.20190609

本文引用格式:王东,刘欣.急性缺血性脑卒中患者CYP2C19基因分型与临床预后的相关性分析[J].神经损伤与功能重建,2020,15(5):285-287.

缺血性脑卒中具有高致残、致死风险,长期服用抗血小板药物是治疗本病的主要有效手段。但近年越来越多的报道指出^[1],部分卒中患者在长期规律性应用抗血小板药物后,再发卒中的几率仍较高,预后并不满意。一些患者在规律性应用氯吡格雷后并未产生抗血小板作用,这类患者发生了氯吡格雷抵抗^[2]。基因学研究指出^[3],人体内相关过程蛋白基因的多态性是诱发氯吡格雷抵抗的重要因素,氯吡格雷代谢基因的点位基因突变是影响氯吡格雷药效发挥的关键因素。CYP2C19是参与氯吡格雷代谢不可或缺的基因,若CYP2C19发生基因突变,将会对氯吡格雷代谢过程产生重大影响,进而影响到药物疗效。CYP2C19基因的突变等位基因多达25个,其中至少有10个点位基因突变会对酶活性表达产生影响,其中*2、*3是亚洲人CYP2C19基因突变频率较高的两个位点,CYP2C19*2和CYP2C19*3基因突变均为功能缺失型等位基因,即表现为降低药物浓度的弱代谢型。本研究旨在明确CYP2C19*2和CYP2C19*3基因突变对急性缺血性脑卒中患者临床预后的影响,以指导弱代谢型基因患者的临床用药,为缺血性脑卒中的抗血小板药物治疗提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2015年6月至2017年6月在本院神经内科住院治疗的急性缺血性脑卒中患者156例,纳入标准:符合《中国急性缺血性脑卒中诊治指南》^[4]制定的急性缺血性脑卒中诊断标准;经头颅MRI或

CT检查确诊;入院后口服氯吡格雷,剂量75 mg/d,持续用药时间>1周;发病时间<14 d;卒中发生后未酗酒或吸烟;非心源性因素引起的脑梗死。排除标准:合并恶性肿瘤、急性胃炎胃出血、癫痫、严重肝肾功能不全、免疫系统疾病、严重感染、急性心梗、房颤;合并脑肿瘤、颅内感染、脑梗死后出血、脑出血、神经变性疾病、短暂性脑缺血发作;近6月接受过重大手术或有重大外伤史者;接受透析治疗;凝血功能障碍,或正在应用抗凝血药物;脑静脉血栓性梗死;入院后应用过质子泵抑制剂。所有患者根据CYP2C19基因型检测结果分为2组:①野生型(GG)组80例,男36例,女44例;年龄42~83岁,平均(63.36±7.60)岁;合并高血压34例,糖尿病18例,高脂血症36例,缺血性心脏病12例,吸烟33例,饮酒41例;②突变型(GA/AA)组76例,男32例,女44例;年龄48~80岁,平均(64.69±8.56)岁;合并高血压30例,糖尿病17例,高脂血症27例,缺血性心脏病9例,吸烟34例,饮酒36例。2组的一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究通过医院伦理委员会批准,患者知情同意,并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 CYP2C19*2和CYP2C19*3基因型检测 采集患者的肘正中静脉血2 mL,以EDTA真空抗凝管保存,置于-20℃的冰箱中保存待检。选用德国GIAGEN公司生产的DNA提取试剂盒,严格按照试剂盒上的操作说明提取血液标本基因组的DNA。使用美国Sequenom公司生产的MassARRAYiPLEX基因型分析仪及配套软件系统

作者单位

1. 西安医学院第二附属医院神经内科
西安 710038
 2. 渭南职业技术学院生理教研室
陕西 渭南 714000
- 收稿日期** 2019-05-15
通讯作者 刘欣
262425078@qq.com

进行检测,并使用ABI公司生产的9700型PCR扩增仪,对CYP2C19*2和CYP2C19*3位点所在DNA片段进行扩增。引物设计使用AssayDesignSuite软件。CYP2C19*2(G681A)的引物为:F5'-ACCAGAGCTTGGCATATTGTATCT-3',R5'-GATTCTTGGTGTCTTTACTTTCT-3';CYP2C19*3(G636A)的引物为:F5'-TTTCATCCTGGGCTGTGCTC-3',R5'-TGTA CTTCAGGGCTTGGTCAAT-3'。

1.2.2 血小板抑制率测定 2组均在应用氯吡格雷1周后进行血小板抑制率检测,采集空腹肘静脉血3 mL,使用EDTA真空抗凝管保存,采血后2 h内完成血小板抑制率测定。检测方法选用血栓弹力图法,仪器选用Haemoscope公司生产的5000型血栓弹力图法凝血分析仪,试剂包括高岭土、激活剂F、ADP。检测通道包括高岭土、激活剂F、激活剂F+ADP共3个,使用血栓弹力图法软件计算出血小板抑制率。根据ADP诱导的血小板抑制率,分为氯吡格雷抵抗(血小板抑制率≤40%)和氯吡格雷敏感(血小板抑制率>40%)。

1.2.3 随访及预后 所有患者出院后均随访1年,随访方式包括门诊复查、再入院记录、电话询问等。随访过程中,使用改良Rankin量表^[5](modified Rankin scale, mRS)评估转归:完全无症状为0分;有症状但无明显残疾,可完成所有经常从事的工作与活动为1分;轻度残疾,不能完成所有以前从事的活动,但可独立处理个人事务为2分;中度残疾,处理个人事务需他人协助,但可独立行走为3分;重度残疾,行走需他人协作,不能照顾自己的身体需要为4分;严重残疾,卧床、大小便失禁,需要他人的持续照护为5分。mRS评分>2分为预后不良。记录2组在随访期间的心脑血管不良事件发生情况,包括卒中复发、短暂性脑缺血发作、心源性死亡、非致死性心肌梗死等。

1.3 统计学处理

采用SPSS 20.0软件处理数据,计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,t检验,计数资料以率(%)表示, χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CYP2C19突变等位基因频率及基因型频率分布

CYP2C19*2和CYP2C*3等位基因的分布频率符合Hardy-Weinberg平衡,见表1。

2.2 CYP2C19基因型与血小板抑制率、氯吡格雷抵抗的关系

野生型组患者的平均血小板抑制率为(42.42±2.74)%,突变型组为(32.41±2.69)%,突变型组的平均血小板抑制率显著低于野生型组($t=23.011, P<0.05$)。野生型组氯吡格雷抵抗1例

(1.25%),突变型组氯吡格雷抵抗20例(26.32%),突变型组的氯吡格雷抵抗发生率高于野生型组,差异有统计学意义($\chi^2=21.020, P<0.05$)。

2.3 CYP2C19基因型与临床预后的关系

突变型组的预后不良发生率显著高于野生型组,卒中复发率及心脑血管不良事件总发生率也显著高于野生型组($P<0.05$),见表2。KM生存曲线显示,随着随访时间的延长,2组累积无再发心脑血管不良事件的生存率均呈下降趋势;与野生型患者相比,突变型患者随访期间累积无再发心脑血管不良事件的生存率明显更低($P<0.05$),见图1。

3 讨论

缺血性脑卒中是由各种原因引起的脑部血供障碍而导致脑组织局部缺氧、缺血、坏死,并由此引发的一组神经功能缺损临床综合征^[6]。患者可表现为单侧肢体瘫痪、语言功能障碍、偏身感觉障碍等。近年来,随着我国人口老龄化进程的加剧,急性缺血性脑卒中的临床发病率也呈现明显的上升趋势。

动脉粥样硬化性血栓形成是急性缺血性脑卒中的主要病因,所以采取有效的抗血小板治疗是本病实施二级预防的关键。抗血小板药物的应用能极大地降低脑梗死的发病率、致残率,但仍有部分患者在应用抗血小板药物后,达不到理想的防治效果。研究认为^[7],抗血小板药物氯吡格雷药效的降低可能是急性缺血性脑卒中患者卒中再发的危险因素,氯吡格雷药效的降低主要与药物代谢抵抗的发生有关。由于氯吡格雷是一种前体药物,其在进入人体后有85%会被直接酯化为活性产物而排出体外,仅有15%可经肝细胞中的CYP代谢为活性产物发挥药效^[8]。在CYP系统中,CYP2C19参与氯吡格雷两步代谢过程,所以CYP2C19在氯吡格雷药物代谢过程中发挥至关重要的作用,其是氯吡格雷进行体内活化的关键因素。CYP2C19存在多种突变等位基因,其中*2和*3是亚洲人最常见的两个CYP2C19基因突变位点。研究证实,CYP2C19*2和CYP2C19*3均是无功能等位基因,携带CYP2C19*2或*3等位基因者,均为弱代谢型,氯吡格雷在其体内的血药浓度会明显降低,血小板聚集率会明显增加,发生脑血管不良事件的风险也会相应增加^[9]。美国

表1 CYP2C19突变等位基因频率及基因型频率分布

CYP2C19 突变位点	等位基因	基因型		
	分布频率	分布频率		
CYP2C19*2	G(0.72) A(0.28)	GG(0.54)	GA(0.36)	AA(0.10)
CYP2C19*3	G(0.91) A(0.09)	GG(0.82)	GA(0.18)	AA(0.00)

表2 不同CYP2C19基因分型患者的预后情况比较[例(%)]

组别	例数	预后不良	心脑血管不良事件				合计
			卒中复发	短暂性脑缺血发作	心源性死亡	非致死性心肌梗死	
野生型组	80	10(12.50)	1(1.25)	2(2.50)	1(1.25)	1(1.25)	5(6.25)
突变型组	76	33(43.42)	9(11.84)	7(9.21)	2(2.63)	2(2.63)	20(26.32)
χ^2 值		18.663	7.289	3.228	0.394	0.394	11.661
P值		<0.05	<0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05

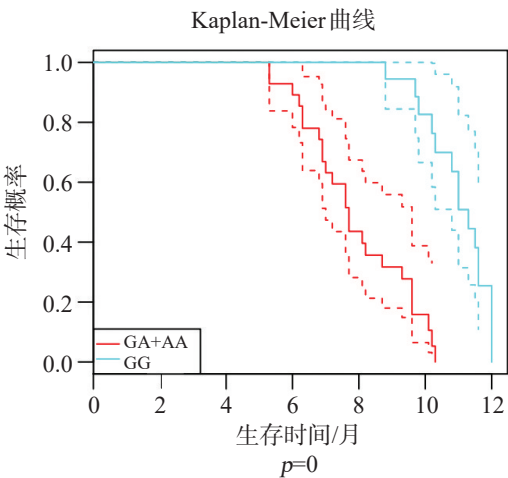


图1 CYP2C19不同基因型患者随访期间的无再发心脑血管不良事件的生存率

食品和药物管理局明确指出,氯吡格雷在弱代谢型(*2/*3、*2/*2、*3/*3)患者体内的药效将无法充分发挥,临床应通过测定CYP2C19基因型来判断患者是否为弱代谢型,以指导这类患者的抗血小板治疗方案^[10]。本研究结果显示,突变型组的平均血小板抑制率显著低于野生型组,而氯吡格雷抵抗显著高于野生型组。这与Wang等^[11]的报道结论相符,说明CYP2C19基因*2、*3位点突变,造成CYP2C19等位基因功能缺失,降低氯吡格雷的代谢效率,氯吡格雷的抗血小板聚集作用得不到充分发挥,引起氯吡格雷抵抗,所以突变型组的小血小板聚集抑制率明显降低。

国内有报道指出,CYP2C19基因的多态性与卒中、冠心病患者的预后显著相关^[12]。国外有学者对接受氯吡格雷治疗的千余名患者进行CYP2C19基因型检测,发现有1/3的患者都携带有CYP2C19功能缺失型等位基因,而这些患者的心血管病、心肌梗死、卒中风险要比非携带者高出50%以上,并且前者的支架内血栓形成风险超出后者2倍^[13]。郭朝群等^[14]对急性缺血性卒中患者的CYP2C19基因型及临床预后关系进行分析后发现,CYP2C19*2和CYP2C19*3等位基因携带者在发病后3月、6月的预后效果明显比非携带者更差。本研究结果也显示,突变型组的预后不良发生率、卒中复发率及心脑血管不良事件总发生率均显著高于野生型组,KM曲线显示,相比野生型患者,突变型患者随访期间累积无再发心脑血管不良事件的生存率明显更低。这一结果与前述几篇研究报道的结论相符,说明CYP2C19*2及*3等位基因突变与急性缺血性卒中患者的临床预后显著相关,其会增加急性缺血性卒中患者的心脑血管不良事件发生风险,导致患者预后不良。CYP2C19存在于肝脏微粒体中,由490个氨基酸残基组成,编码基因位于10p24染色

体,包括9个外显子和8个内含子。在CYP2C19*2和*3基因型的外显子发生突变时,终止密码会明显提前,从而提前终止蛋白质合成,促使CYP2C19失活^[15]。CYP2C19活性的丧失,会直接影响氯吡格雷的活化,从而削弱氯吡格雷对血小板聚集的抑制作用,影响卒中疗效,增加预后不良发生风险。另外,血小板的大量聚集,也会增加脑梗死再发、短暂性脑缺血发作、非致死性心肌梗死等不良心脑血管事件的发生风险,从而增加患者的死亡风险。

综上所述,急性缺血性卒中患者的CYP2C19基因分型与血小板抑制率、临床预后密切相关。携带CYP2C19突变型基因型的患者,血小板抑制率更低,氯吡格雷敏感性越差,其会降低氯吡格雷疗效,增加卒中复发及其他不良心脑血管事件发生风险,从而影响患者的临床预后。

参考文献

[1] 高峰. 抗血小板联合抗凝治疗在脑梗死急性期的应用研究[J]. 蚌埠医学院学报, 2016, 41: 1164-1167.
[2] 易兴阳, 刘勇, 林静, 等. 脑梗死患者氯吡格雷抵抗及其与90天脑血管事件的相关性[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2016, 18: 841-844.
[3] 彭文星, 冯频频, 石秀锦, 等. 氯吡格雷抵抗与基因多态性研究进展[J]. 中国医药, 2016, 11: 773-775.
[4] 邢岩. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南2010[J]. 中国临床医生, 2011, 2: 50-59.
[5] 袁俊亮, 张晓丹, 李海英, 等. smRSq量表在部分中国脑卒中人群中信度和效度的初步研究[J]. 临床神经病学杂志, 2016, 29: 161-163.
[6] 涂雪松. 缺血性脑卒中的流行病学研究[J]. 中国临床神经科学, 2016, 24: 594-599.
[7] 孙银香, 刘梓健, 张建萍. 某院氯吡格雷在脑梗死二级预防中的使用合理性分析[J]. 中国药房, 2016, 27: 1596-1599.
[8] 盛国太, 徐秀秀, 葛郁芝. 影响氯吡格雷药效及其代谢的相关因素[J]. 中国新药杂志, 2017, 26: 2794-2798.
[9] 刘伟, 谢东君, 郭琦. CYP2C19弱代谢型氯吡格雷抵抗致右冠状动脉支架内血栓形成[J]. 基层医学论坛, 2017, 21: 3044-3045.
[10] Roden DM, Shuldiner AR. Responding to the clopidogrel warning by the US food and drug administration: real life is complicated[J]. Circulation, 2010, 122: 445-448.
[11] Wang Y, Cai H, Zhou G, et al. Effect of CYP2C19*2 and *3 on clinical outcome in ischemic stroke patients treated with clopidogrel[J]. J Neurol Sci, 2016, 53: 216-219.
[12] 胡瑛, 谈红, 陈英剑, 等. 冠心病PCI患者CYP2C19基因多态性与氯吡格雷抵抗及预后关系[J]. 中国分子心脏病学杂志, 2015, 15: 1250-1255.
[13] Arya V, Mahajan P, Saraf A, et al. Association of CYP2C19, CYP3A5 and GPIIb/IIIa gene polymorphisms with Aspirin and Clopidogrel Resistance in a cohort of Indian patients with Coronary Artery Disease[J]. Int J Lab Hematol, 2016, 37: 809-818.
[14] 郭朝群, 孙建赞, 袁莉莉, 等. CYP2C19、PON1基因多态性与脑梗死患者氯吡格雷治疗预后的相关性研究[J]. 皖南医学院学报, 2017, 36: 329-332.
[15] 周红, 白文伟. 关于氯吡格雷CYP2C19基因多态性的综述[J]. 检验医学与临床, 2017, 14: 293-297.

(本文编辑:王晶)