

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.02.002

急性脑梗死患者 CYP2C19 基因多态性与纤维蛋白原及 D-二聚体相关性研究^{*}

杨小蓉,蔡祥胜,卢汉威,秦建川

广东药科大学附属第一医院检验科,广东广州 510080

摘要:目的 探讨急性脑梗死患者细胞色素 P450 酶等位基因(CYP2C19 基因)多态性与纤维蛋白原(FIB)及 D-二聚体相关性。**方法** 选取常规服用氯吡格雷超过 1 个月的急性脑梗死患者 112 例为研究对象,采用 RT-PCR 法检测脑梗死患者外周全血 CYP2C19 基因型,运用凝固法(Clauss 法)检测 FIB,透射比浊法检测血浆中 D-二聚体。**结果** 112 例急性脑梗死患者中快代谢型(快代谢组,CYP2C19 * 1/* 1)患者较多,为 46 例,占比 41.1%;中代谢型(中代谢组,CYP2C19 * 1/* 2、CYP2C19 * 1/* 3)为 41 例,占比 36.6%;慢代谢型(慢代谢组,CYP2C19 * 2/* 2、CYP2C19 * 2/* 3)最少,为 25 例,占比 22.3%。慢代谢组 FIB 及 D-二聚体水平高于快代谢组及中代谢组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。CYP2C19 基因型与 FIB 及 D-二聚体呈正相关($r = 0.129, 0.158, P < 0.05$)。**结论** CYP2C19 基因型与 FIB 和 D-二聚体具有一定相关性,使用常规剂量的氯吡格雷治疗 CYP2C19 基因慢代谢型急性脑梗死患者,可能增加血栓风险,可考虑更换新的药物或增加剂量进行治疗。

关键词:急性脑梗死; 细胞色素 P450 酶等位基因; 纤维蛋白原; D-二聚体

中图分类号:R446.9

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)02-0149-04

Correlation study between CYP2C19 gene polymorphisms and levels of FIB and D-Dimer in patients with acute cerebral infarction^{*}

YANG Xiaorong, CAI Xiangsheng, LU Hanwei, QIN Jianchuan

Department of Clinical Laboratory, The First Affiliated Hospital of Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou, Guangdong 510080, China

Abstract: Objective To explore association between cytochrome P450 enzyme allele (CYP2C19) gene polymorphisms and levels of fibrinogen (FIB) and D-Dimer in patients with acute cerebral infarction. **Methods** Totally 112 cases of patients with acute cerebral infarction who had taken clopidogrel regularly for more than 1 month were selected. Real time fluorescent quantitative PCR was used to detected CYP2C19 genotype. Clauss and transmission turbidimetry method were used to detected the plasm FIB and D-Dimer. **Results** Totally 46 patients were extensive metabolism type (EM group, CYP2C19 * 1/* 1), which accounted for 41.1%. And totally 41 patients were intermediate metabolism type (IM group, CYP2C19 * 1/* 2, CYP2C19 * 1/* 3), which accounted for 36.6%. There were only 25 patients with poor metabolism type (PM group, CYP2C19 * 2/* 2, CYP2C19 * 2/* 3), which accounted 22.3%. Levels of FIB and D-Dimer of PM group were significantly higher than that of IM and EM group ($P < 0.05$). It showed that there were positive correlations between CYP2C19 genotype with FIB and D-Dimer ($r = 0.129, 0.158, P < 0.05$). **Conclusion** CYP2C19 genotype has some correlation with FIB and D-Dimer, acute cerebral infarction patients with CYP2C19 poor metabolism type have an increased risk of thrombosis when treated with conventional clopidogrel doses. It could be considered to replace the new drugs or increase the dosage for treatment.

Key words: acute cerebral infarction; cytochrome P450 enzyme allele; fibrinogen; D-Dimer

急性脑梗死又称缺血性脑卒中,是临床上较为常见的脑血管疾病,在中老年群体中有较高的发病率、复发率及病死率^[1],且发病急骤,严重威胁到人们的身心健康,影响其生活质量。氯吡格雷是临床上急性

脑梗死患者常用的抗血小板聚集类药物之一,可以有效预防动脉粥样硬化患者发生缺血性脑血管事件,为国内外脑血管疾病二级预防指南推荐的药物^[2],但是有 4%~30%的脑梗死患者在接受治疗过程中会发生氯

* 基金项目:广东省广州市科技计划项目(201803040014)。

作者简介:杨小蓉,女,主任技师,主要从事 HBV 相关肝炎、肝硬化及肝癌宿主的易感基因方面的研究。

本文引用格式:杨小蓉,蔡祥胜,卢汉威,等.急性脑梗死患者 CYP2C19 基因多态性与纤维蛋白原及 D-二聚体相关性研究[J].检验医学与临床,2021,18(2):149-151.

吡格雷抵抗^[3],影响抗血小板聚集干预效果,影响患者的康复^[4],其原因可能与细胞色素 P450 酶等位基因(CYP2C19 基因)多态性有关。纤维蛋白原(FIB)是常见的凝血因子之一,与凝血、炎症等有着密切的联系,可能是脑梗死的独立危险因素之一。D-二聚体是机体活动性血栓形成的特异性分子标志物,是继发性纤溶亢进筛查的重要指标。CYP2C19 基因型与 FIB 及 D-二聚体之间的关系鲜有报道,本研究收集了 112 例急性脑梗死患者的血液标本,检测患者 CYP2C19 基因型,分析 CYP2C19 基因型与 FIB 及 D-二聚体之间的关系,旨在为急性脑梗死患者的诊疗提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2017 年 1 月至 2018 年 1 月在本院就诊的常规服用氯吡格雷超过 1 个月的 112 例急性脑梗死患者为研究对象,其中女 44 例,男 68 例;年龄 39~96 岁,平均(71.9±12.1)岁。患者的诊断以《中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2018》^[5]为依据。排除标准:(1)有氯吡格雷使用禁忌证者;(2)合并脑实质性出血者;(3)伴有心房颤动,凝血功能异常,血管畸形,严重心、肝、肾疾病史者;(4)过敏性体质的患者;(5)伴有血液病的患者。

1.2 方法

1.2.1 标本收集 抽取患者枸橼酸钠(1:9)抗凝血 2 mL,以 3 000 r/min 离心 10 min,分离血浆,用于 FIB 和 D-二聚体检测;抽取 EDTA-Na₂ 抗凝全血 2 mL,提取基因组 DNA 备用,用于检测人 CYP2C19 基因 * 1(野生型)、* 2(c681 G>A)和 * 3(c636 G>A)基因型。

1.2.2 RT-PCR 检测 CYP2C19 基因型 采用美国 ABI 公司 7500 实时荧光定量 PCR 仪检测 DNA,所用试剂为苏州旷远生物分子技术有限公司生产的人 CYP2C19 基因型检测试剂盒,按照使用说明书配制

相关试剂;每个反应孔内加反应液 23 μL,酶 1.0 μL,标本 1.0 μL,配制 * 2(c681 G>A)和 * 3(c636 G>A)反应体系,同时加空白对照,质控检测。扩增循环条件及荧光采集设置:预变性 95 ℃ 3 min;95 ℃ 30 s,56 ℃ 30 s,65 ℃ 45 s 扩增 10 个循环;95 ℃ 30 s,56 ℃ 30 s(采集荧光信号点),65 ℃ 45 s 扩增 30 个循环,设置 FAM 和 ROX 双通道采集荧光信号,程序运行结束后,观察扩增曲线,分析 CT 值数据。所提取的基因组 DNA 浓度在 10~100 ng/μL,DNA 的质量 A_{260 nm}/A_{280 nm} 值为 1.7~2.0。

1.2.3 血浆 FIB 及 D-二聚体的检测 采用凝固法上机检测 FIB,采用透射比浊法上机检测 D-二聚体,试剂批号为 PT 107081、APTT 106918、TT 107400,检测仪器为法国 STA-R Evolution 全自动凝血分析仪。FIB 参考范围:2~4 g/L;D-二聚体参考范围:0.0~0.5 μg/mL。

1.3 统计学处理 采用 SPSS16.0 统计软件对数据进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用方差分析,组间两两比较用 LSD-*t* 进行分析。相关性分析采用线性相关分析法。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组临床资料的比较 112 例急性脑梗死患者中,CYP2C19 基因分型为快代谢型(快代谢组,CYP2C19 * 1/ * 1)46 例,占 41.1%;中代谢型(中代谢组,CYP2C19 * 1/ * 2,CYP2C19 * 1/ * 3)为 41 例,占 36.6%;慢代谢型(慢代谢组,CYP2C19 * 2/ * 2,CYP2C19 * 2/ * 3)最少,为 25 例,占 22.3%。各组间患者的年龄、性别、吸烟史、饮酒史、高血压病史、冠心病病史、2 型糖尿病史、高脂血症病史等临床资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

2.2 各组 FIB 及 D-二聚体的比较 慢代谢组 FBI 及 D-二聚体水平高于快代谢组及中代谢组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

表 1 各组临床资料的比较

组别	<i>n</i>	年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)	男性 [<i>n</i> (%)]	吸烟 [<i>n</i> (%)]	饮酒 [<i>n</i> (%)]	高脂血症 [<i>n</i> (%)]	2 型糖尿病 [<i>n</i> (%)]	冠心病 [<i>n</i> (%)]	高血压 [<i>n</i> (%)]
快代谢组	46	70.57±12.16	29(63.0)	11(23.9)	5(10.9)	12(26.1)	17(37.0)	20(43.5)	36(78.3)
中代谢组	41	69.98±12.18	27(65.9)	11(26.8)	7(17.1)	11(26.8)	16(39.0)	17(41.5)	34(82.9)
慢代谢组	25	71.48±11.56	16(64.0)	6(24.0)	3(12.0)	5(20.0)	11(44.0)	10(40.0)	22(88.0)
<i>P</i>		0.104	0.481	0.542	0.350	0.712	0.538	0.607	0.563

表 2 各组 FBI 及 D-二聚体水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	FBI(g/L)	D-二聚体(μg/mL)
快代谢组	46	3.64±1.05	0.65±0.53
中代谢组	41	3.94±1.12	0.85±0.73
慢代谢型	25	4.32±1.32* [#]	0.97±0.08* [#]
<i>P</i>		0.018	0.026

注:与快代谢组比较,* $P < 0.05$;与中代谢组比较,[#] $P < 0.05$ 。

2.3 相关性分析 CYP2C19 基因型与 FBI 及 D-二

聚体呈正相关($r = 0.129, 0.158, P < 0.05$)。

3 讨论

急性脑梗死通常是由多种原因导致脑局部组织血液供应障碍,从而引起脑组织缺血、缺氧性坏死,进而引起相对应的神经功能缺失,如在脑动脉粥样硬化的基础上形成的脑血栓。血管内皮细胞损伤,血小板被活化,纤溶活性降低,血液凝固性和黏滞性增高,血流减慢或瘀滞,导致血管管腔狭窄闭塞,引起相关的

脑组织缺血、缺氧,甚至坏死或损伤;或因为身体其他部位的血栓脱落,随血流进入脑内,导致脑血管狭窄闭塞,引起相关脑组织损害^[6]。抗血小板治疗可使急性脑梗死患者复发的风险显著降低,是防治急性脑梗死重复发作的重要治疗方法。

氯吡格雷是临床继阿司匹林后心脑血管疾病患者常用的抗血小板聚集药物,其分子结构为噻吩吡啶类,为一种前体药物,在肝脏经 P450 酶作用后可氧化成 2-氧基-氯吡格雷,再水解为具有生物活性的物质^[7]。其可经多种途径抑制血小板的聚集,如对于因二磷酸腺苷(ADP)引起的血小板聚集,是通过阻断 ADP 和血小板受体 P2Y₁₂ 不可逆地结合,干扰 ADP、糖蛋白(GP) II b/III a 复合物的激活,从而发挥抑制血小板聚集的作用^[8],同时,对于非 ADP 引发的血小板聚集亦可形成良好的阻断作用^[9]。但是在临床中,存在应用常规剂量的氯吡格雷后,仍然发生缺血性脑血管事件的患者,即氯吡格雷抵抗,影响氯吡格雷药效的因素除了患者性别、年龄、吸烟、高血脂及糖尿病等相关因素外,遗传因素如患者 CYP2C19 基因的多态性起着非常重要的作用^[10]。CYP2C19 是肝脏内参与氯吡格雷生物转化的一种非常重要的催化酶,是细胞色素酶 P450 家族中的重要成员,是人体重要的药物代谢酶,基因座位于染色体区 10q24.2 上,由 9 个外显子构成。CYP2C19 基因的突变位点非常多,其中最主要的突变位点是 CYP2C19 * 2 和 CYP2C19 * 3 型,这种突变导致酶活力减弱,造成机体对氯吡格雷的代谢减弱,影响药物发挥正常的药效^[11]。我国人群发生 CYP2C19 * 2 型位点突变的比例较 CYP2C19 * 3 型高^[12]。

人的 FIB 是一种由肝脏产生的凝血因子,由 3 对多肽链 α 、 β 及 γ 链组成,由 4 号染色体的 q23~q32 基因编码,作为一种血浆蛋白质,在血小板聚集及血液黏度形成中起着非常重要的作用。有研究显示, γ -FIB 与总 FIB 之比与脑梗死的短期预后相关,即 γ -FIB 水平升高,提示急性脑梗死后早期预后较差^[13]。血浆 FIB 水平亦是急性脑梗死死亡的非特异性标志物,高 FIB 血症可预测急性脑梗死后长期死亡的风险,有研究表明,对于 40~79 岁的急性脑梗死患者,血浆 FIB 水平与脑梗死后的长期死亡风险有关^[14]。

D-二聚体为纤维蛋白单体与凝血酶活化剂Ⅻ交联后经过纤溶酶水解后产生的末端降解产物,为纤维蛋白溶解特异性标志物之一,其在健康人群外周血中水平极低,一旦出现血栓和继发性纤维蛋白溶解过程,D-二聚体水平会显著升高,而在原发性纤维蛋白溶解过程中水平较低,与健康人群相比较,急性脑梗死患者的血浆中 D-二聚体会出现急剧升高现象^[15],在多种血栓性疾病诊疗过程中起着极其重要的作用^[16-18]。

本研究 112 例患者检测的基因型包括野生型 CYP2C19 * 1/ * 1(快代谢型),占比为 41.1%,与国

内汉族人群 CYP2C19 基因多态性研究中的 42.4%相近^[19];突变杂合型 CYP2C19 * 1/ * 2、CYP2C19 * 1/ * 3(中代谢型)占比为 36.6%;突变纯合型 CYP2C19 * 2/ * 2、CYP2C19 * 2/ * 3(慢代谢型)占比为 22.3%,与文献[20]中的 14.83%相差比较大,可能是由于选取的相关患者标本有差异。在 FIB 及 D-二聚体的检测中发现,慢代谢组患者 FIB 及 D-二聚体水平显著高于快代谢及中代谢组,差异有统计学意义($P < 0.05$),提示临床在 CYP2C19 为慢代谢型的急性脑梗死患者诊疗用药方面,需要更加谨慎、持续地观察患者的疗效,随时准备更换氯吡格雷剂量,甚者更换其他药物,及早评估急性脑梗死患者出现心源性栓塞的可能性,并降低其发生下肢静脉血栓的风险。总之,检测急性脑梗死患者血液中 CYP2C19 基因多态性,并与血浆中 FIB 及 D-二聚体水平相结合,能够为患者评估预后及出血风险,以及为临床抢救患者提供思路 and 方向。

参考文献

- [1] 刘前君.急性脑梗死患者血纤维蛋白原水平检测及其与患者预后的相关性分析[J].山西医药杂志,2017,46(13):1580-1583.
- [2] 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].中国临床医生,2011,39(11):68-74.
- [3] 郑艳娥,黄敬,李菲,等.CYP2C19 基因多态性与脑梗死患者氯吡格雷临床疗效的相关性研究[J].同济大学学报(医学版),2017,38(2):60-64.
- [4] YI X Y, JING L, QIANG Z, et al. Clopidogrel resistance increases rate of recurrent stroke and other vascular events in Chinese population[J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2016, 25(5):1222-1228.
- [5] 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.中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2018[J].中华神经科杂志,2018,51(9):666-682.
- [6] 夏薇,陈婷梅.临床血液学检验技术[M].北京:人民卫生出版社,2015:337-338.
- [7] 李勤琴.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[J].国际检验医学杂志,2016,34(22):3123-3125.
- [8] 王豪,张晓,朱记法,等.CYP2C19 基因多态性与血小板抑制率及氯吡格雷低反应性的关系[J].实用医学杂志,2018,37(1):128-131.
- [9] 赵增英.氯吡格雷与阿司匹林联合应用在急性脑梗死治疗中的疗效分析[J].中国现代药物应用,2020,14(5):103-105.
- [10] 李嘉欣,刘凯旋,李岩,等.ABCB1、CES1 和 CYP2C19 基因多态性与氯吡格雷抵抗的相关性研究进展[J].药理学进展,2015,37(11):817-822.

(下转第 155 页)

正确评估 NAFLD 患者伴发 HUA 的病情,对心脑血管事件的防治具有重要意义。

综上所述,NAFLD 患者存在明显脂质代谢紊乱,而 HUA 可能参与并加重 AS 和血管内皮功能损伤,临床上加强 UA 水平的监测,积极调节脂质代谢紊乱可能有助于改善 NAFLD 病情及减少心脑血管事件的发生。鉴于本研究为回顾性研究,未对生化指标进行动态的监测分析,且未能排除随访期间饮食、运动等干扰因素的影响,故所得结论需要前瞻性的研究进一步论证。

参考文献

- [1] FRANCQUE S M, VAN DER GRAAFF D, KWANTEN W J. Non-alcoholic fatty liver disease and cardiovascular risk; pathophysiological mechanisms and implications[J]. J Hepatol, 2016, 65(2): 425-443.
- [2] NEJATINAMINI S, ATAIE-JAFARI A, QORBANI M, et al. Association between serum uric acid level and metabolic syndrome components[J]. J Diabetes Metab Disord, 2015, 14(3): 70-78.
- [3] 祝小燕, 许修健, 于明. 不同剂量阿托伐他汀对颈动脉粥样硬化合并脂肪肝患者血管内皮功能和炎症因子的影响[J]. 临床医学研究与实践, 2018, 3(23): 6-8.
- [4] NAGA C, ZOBAIR Y, JOEL E L, et al. The Diagnosis and Management of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Practice Guidance From the American Association for the Study of Liver Diseases[J]. Hepatology, 2018, 67(1): 328-357.
- [5] 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组, 中国医师协会脂肪性肝病专家委员会. 非酒精性脂肪性肝病防治指南(2018 更新版)[J]. 中华肝脏病杂志, 2018, 26(3): 195-203.
- [6] MALIK Z. Special Needs Dental Management of the Class 3

Obese Patient[J]. Case Rep Dent, 2019, 2019: 7976531.

- [7] LIU Z, QUE S, ZHOU L, et al. Dose-response relationship of serum uric acid with metabolic syndrome and non-alcoholic fatty liver disease incidence: a meta-analysis of prospective studies[J]. Sci Rep, 2015, 5(3): 14325-14330.
- [8] TARGHER G, LONARDO A, BYRNE C D. Nonalcoholic fatty liver disease and chronic vascular complications of diabetes mellitus[J]. Nat Rev Endocrinol, 2018, 14(2): 99-114.
- [9] PETTA S, CAMMÀ C, CABIBI D, et al. Hyperuricemia is associated with histological liver damage in patients with non-alcoholic fatty liver disease[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2011, 34(7): 757-766.
- [10] XU C, WAN X, XU L, et al. Xanthine oxidase in non-alcoholic fatty liver disease and hyperuricemia: one stone hits two birds[J]. J Hepatol, 2015, 62(6): 1412-1419.
- [11] YANG C, YANG S, XU W, et al. Association between the hyperuricemia and nonalcoholic fatty liver disease risk in a Chinese population: a retrospective cohort study[J]. PLoS One, 2017, 12(5): e0177249.
- [12] PASARÍN M, ABRALDES J G, LIGUORI E, et al. Intra-hepatic vascular changes in non-alcoholic fatty liver disease: potential role of insulin-resistance and endothelial dysfunction[J]. World J Gastroenterol, 2017, 23(37): 6777-6787.
- [13] 曾海城, 李斌, 肖旋, 等. 老年高血压患者高尿酸血症对内皮功能损伤及心脑血管事件发生的影响[J]. 重庆医学, 2016, 45(35): 4977-4979.
- [14] ZHENG H, LI N, DING Y, et al. Losartan alleviates hyperuricemia-induced atherosclerosis in a rabbit model[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(9): 10428-10435.

(收稿日期: 2020-05-10 修回日期: 2020-09-02)

(上接第 151 页)

- [11] BRANDT J T, CLOSE S L, ITURRIA S J, et al. Common polymorphisms of CYP2C19 and CYP2C9 affect the pharmacokinetic and pharmacodynamic response to clopidogrel but not prasugrel[J]. J Thromb Haemost, 2007, 5(12): 2429-2436.
- [12] 林牧, 马庆庆, 唐一锋, 等. 遵义地区缺血性脑卒中患者 CYP2C19 基因多态性与氯吡格雷疗效之间的关系[J]. 中国临床药理学杂志, 2018, 27(1): 24-27.
- [13] CHEUNG E, LAU L D, HERTOGE H D, et al. γ' /total fibrinogen ratio is associated with short-term outcome in ischaemic stroke[J]. Thromb Haemost, 2011, 105(3): 430-434.
- [14] AHMADI A R, LUBEN R N, WAREHAM N J, et al. Seventeen year risk of all-cause and cause specific mortality associated with C-reactive protein, fibrinogen and leukocyte count in men and women; the EPIC-Norfolk study[J]. Eur J Epidemiol, 2013, 28(7): 541-550.
- [15] MATSUMOTO M, SAKAGUCHI M, OKAZAKI S, et al. Relationship between plasma (D)-dimer level and cer-

ebral infarction volume in patients with nonvalvular atrial fibrillation[J]. Cerebrovasc Dis, 2013, 35(1): 64-72.

- [16] WEITZ J I, FREDENBURGH J C, EIKELBOOM J W. A test in context: D-Dimer[J]. J Am Coll Cardiol, 2017, 70(19): 2411-2420.
- [17] 安铁峰, 王文科, 赵宁. 血钙、D-二聚体、血糖对高甘油三酯血症急性胰腺炎预后的影响[J]. 内科急危重症杂志, 2019, 25(3): 213-215.
- [18] 黄书明. 血清 C 反应蛋白及 D-二聚体水平与社区获得性肺炎的相关性分析[J]. 内科急危重症杂志, 2018, 24(4): 316-317.
- [19] 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.
- [20] 殷勤, 黄庆, 罗中兰, 等. 重庆地区心脑血管疾病氯吡格雷抵抗与 CYP2C19 基因多态性等影响因素研究[J]. 中国药业, 2019, 28(21): 25-28.

(收稿日期: 2020-02-10 修回日期: 2020-05-02)