·临床研究·

替格瑞洛和双倍剂量氯吡格雷对 *CYP2C19* 基因突变患者经皮冠状动脉介入术后心血管缺血事件发生率影响的比较

林乐健*,唐发宽,华宁,唐雪正,邸春霞,田玲,岳清如
(解放军第309医院心血管内科,北京 100091)

【摘 要】 **目的** 观察替格瑞洛和双倍剂量氯吡格雷对 *CYP2C19* 基因突变老年患者经皮冠状动脉介入(PCI)术后心血管缺血以及出血事件发生率的影响。**方法** 入选2014年3月至2017年3月在解放军第309医院心血管内科住院并择期行PCI手术的CYP2C19突变型患者,采用随机数字表法将入选患者分为2组:氯吡格雷组和替格瑞洛组,每组120例。氯吡格雷组服用阿司匹林及双倍剂量的硫酸氢氯吡格雷,替格瑞洛组服用阿司匹林以及替格瑞洛。观察患者住院期间和院外12个月随访期间主要不良心血管事件(MACEs)以及出血事件的发生情况。采用SPSS 17.0软件进行数据处理。依据数据类型,组间比较分别采用 t 检验或 χ^2 检验。**结果** 与氯吡格雷组相比,替格瑞洛组患者的反应时间[(24.2±2.8)*vs* (15.3±2.4)s]和血凝块形成时间[(13.4±2.6) *vs* (6.6±1.8)s]显著增高,而最大幅度[(46.2±2.1) *vs* (69.5±3.2)mm]显著降低,差异均具有统计学意义($P<0.01$)。替格瑞洛组患者MACEs发生率显著低于氯吡格雷组[13.3%(16/120) *vs* 32.5%(39/120),$P<0.01$];但2组患者出血事件发生率差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 对于 *CYP2C19* 基因突变患者,双倍剂量硫酸氢氯吡格雷可以使血小板抑制效果达标,但心血管缺血事件发生率仍然较高;替格瑞洛能够有效减低药物抵抗发生率,进一步改善血小板抑制效果,降低心血管缺血事件发生率。

【关键词】 替格瑞洛;硫酸氢氯吡格雷;血栓弹力图;经皮冠状动脉介入治疗;心血管缺血事件
【中图分类号】 R543.3 【文献标志码】 A 【DOI】 10.11915/j.issn.1671-5403.2018.09.149

Comparison study of the effects of ticagrelor and a double dose of clopidogrel on the incidence of cardiovascular ischemic events in patients with mutant *CYP2C19* after percutaneous coronary intervention

LIN Le-Jian*, TANG Fa-Kuan, HUA Ning, TANG Xue-Zheng, DI Chun-Xia, TIAN Ling, YUE Qing-Ru
(Department of Cardiology, Chinese PLA Hospital No.309, Beijing 100091, China)

【**Abstract**】 **Objective** To observe the effects of ticagrelor and a double dose of clopidogrel on the incidence of cardiovascular ischemia and bleeding after percutaneous coronary intervention (PCI) in the elderly patients with mutant CYP2C19. **Methods** Enrolled in this study were patients with mutant CYP2C19, who underwent PCI in the Department of Cardiology of Chinese PLA Hospital No.309. They were randomly divided into clopidogrel group and ticagrelor group, with 120 in each group. The former took aspirin and a double dose of clopidogrel and the latter aspirin and ticagrelor. Major adverse cardiovascular events (MACEs) and bleeding events were observed during the hospital stay and a follow-up of 12 months. Data were processed using SPSS statistics 17.0. Depending on data type, Student's t-test or Chi-square test was conducted for the comparison between two groups. **Results** Compared with the clopidogrel group, the ticagrelor group had significantly higher R-value [(24.2±2.8) *vs* (15.3±2.4)s] and K-value [(13.4±2.6) *vs* (6.6±1.8)s], but lower MA [(46.2±2.1) *vs* (69.5±3.2)mm], the differences being statistically significant ($P<0.01$). The incidence of MACEs in the ticagrelor group was significantly lower than that in the clopidogrel group [13.3%(16/120) *vs* 32.5%(39/120), $P<0.01$]; however, there was no significant difference in the incidence of bleeding events between two groups ($P>0.05$). **Conclusion** In the patients with mutant *CYP2C19*, a double dose of clopidogrel can be effective in platelet inhibition but with high cardiovascular ischemic events; ticagrelor can effectively reduce drug resistance, enhance platelet inhibition, and thus decrease the incidence of cardiovascular ischemic events.

收稿日期:2018-03-21;**修回日期**:2018-06-03
基金项目:解放军第309医院院立课题(2014MS-004)
通信作者:林乐健,E-mail:linlejian118@163.com

【Key words】 ticagrelor; clopidogrel; thrombelastogram; percutaneous coronary intervention; cardiovascular ischemic events
This work was supported by the Project of Chinese PLA Hospital No. 309 (2014MS-004).
Corresponding author: *LIN Le-Jian*, *E-mail*: *linlejian118@163.com*

经皮冠状动脉介入(percutaneous coronary intervention,PCI)治疗后再发心血管缺血事件的机制是由多种因素导致的,血小板高反应性导致的阿司匹林以及氯吡格雷抵抗在介导这一复杂机制中占有重要地位[1]。氯吡格雷是一种前体药物,必须经过肝脏内CYP2C19肝药酶的代谢,才能发挥抗血小板凝集作用[2]。*CYP2C19*基因多态性是导致发生硫酸氢氯吡格雷抵抗的重要因素,CYP2C19酶存在多种突变等位基因,中国人群的CYP2C19变异主要是CYP2C19*2和*CYP2C19*3两型,临床上*CYP2C19*基因分为野生型(CYP2C19*1/*1)、野生/突变型(CYP2C19*1/*2、CYP2C19*1/*3)和突变型(CYP2C19*2/*2、CYP2C19*2/*3和CYP2C19*3/*3),其中野生型也称为快代谢型,对氯吡格雷效果好;突变型也称为慢代谢型,可能会导致对氯吡格雷不敏感。根据不同基因型,个体化增加氯比格雷药物剂量或者加用其他抗血小板药物,可能是降低PCI术后心血管缺血事件发生率的有效办法[3,4]。本课题组的前期工作已经发现,通过长期负荷剂量氯吡格雷的应用,可以改善PCI术后抗血小板治疗效果,但心血管缺血事件发生率仍然较高,且出血风险也有所增加[5]。本研究通过快速基因检测,筛选*CYP2C19*基因突变患者,分别应用加倍剂量氯吡格雷以及使用替格瑞洛替换两种治疗方案,利用血栓弹力图仪检测患者血小板抑制效果,通过临床随访观察患者PCI术后主要不良心血管事件(major adverse cardiovascular events,MACEs)以及出血事件的发生率,对比研究两种方案的治疗效果,并进一步探讨其可能的作用机制,以期为临床提供可行的个体化治疗方案。

1 对象与方法

1.1 研究对象

入选2014年3月至2017年3月在解放军第309医院心血管内科住院并择期行PCI手术的CYP2C19突变型患者240例,其中不稳定心绞痛92例,急性心肌梗死64例,稳定性心绞痛84例。纳入标准:(1)入院后即刻静脉抽血,进行*CYP2C19*基因型测定,突变基因型为*CYP2C19**2/*2、*CYP2C19**2/*3或CYP2C19*3/*3;(2)60~70岁。排除标准:(1)2周内发生的急性心肌梗死;(2)对阿司匹林或硫酸氢氯吡格雷有禁忌;(3)凝血酶原时间(prothrombin time, PT)超过正常值的1.5倍;(4)血小板$<100\times10^9$/L;(5)有出血史;(6)贫血(血红蛋白<100 g/L);(7)肾功能不全(肌酐>221 μmol/L)。采用随机数字表法将入选患者分为2组:氯吡格雷组和替格瑞洛组,每组120例。本研究经解放军第309医院伦理委员会批准(批准文号2014MS-004)。

1.2 方法

入院患者常规抽取静脉血检查血常规、血液生化指标以及凝血指标。分别于PCI术前以及术后7 d,3、6、12个月抽取外周静脉血,通过血栓弹力图仪检测血小板抑制效果。氯吡格雷组术前至少提前12 h累计服用300 mg阿司匹林及300 mg硫酸氢氯吡格雷,PCI术后阿司匹林100 mg,1次/d,硫酸氢氯吡格雷150 mg,1次/d;替格瑞洛组术前至少提前12 h累计服用300 mg阿司匹林及180 mg替格瑞洛[7],PCI术后阿司匹林100 mg,1次/d,替格瑞洛90 mg,早晚各1次。

1.2.1 *CYP2C19*基因型测定 CYP2C19*2上游引物:5′-ATTACAACCAGAGCTTGGC-3′;下游引物:5′-AGCATTACTCCTTGACCTGTT-3′。CYP2C19*3上游引物:5′-CCATTATTTAACCAGCTAGGC-3′;下游引物:5′-AATGTACTTCAGGGCTTGG-3′。从外周全血中提取基因组全血DNA。将提取的DNA放于无菌蒸馏水中,在-20°C存储备用。提取的总DNA在0.8%琼脂糖凝胶上电泳检测,紫外检测其纯度与浓度。

1.2.2 血栓弹力图检测 5000型血栓弹力检测仪(Haemoscope公司,美国)检测血小板抑制效果。主要检测4项指标,包括:(1)反应时间(R值),即从血液样本放入小杯至第1块有意义的可检测到的血凝块形成所需要的时间,代表纤维蛋白开始形成的时间;(2)血凝块形成时间(K值),即从R时间终点至描记图幅度达20 mm所需的时间,即形成一稳固的血凝块所需要的时间,代表纤维蛋白形成和交连导致血栓形成后获得固定的弹性黏度所需时间;(3)Alpha角度(α°),即扫描图中从R到K值形成的斜角,代表固态血栓形成的速度;(4)最大幅度(maximum amplitude,MA),即描记图上的最大宽幅度,反映正在形成的血凝块的最大强度及血栓形成的

稳定性,直接反映纤维蛋白和血小板的最大动力性质。本研究使用4个通道检测MA值,分别是高岭土通道、激活剂A通道、花生四烯酸(arachidonic acid, AA)通道以及二磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP)通道[6,7]。血小板抑制率采用下列公式计算:

抑制率(%)=[($MA_{高岭土}$ - MA_{AA} or MA_{ADP})/($MA_{高岭土}$ - MA_{A})]×100%。

1.2.3 MACEs及出血事件观察 观察患者住院期间和院外12个月随访期间MACEs的发生。MACEs包括:因冠状动脉粥样硬化性心脏病导致的死亡、经冠脉造影术证实的冠脉支架内血栓再形成、再发的不稳定心绞痛、再发的急性心肌梗死及总发生率[8]。出血事件按照全球梗死相关动脉开通策略(global use of strategies to open occluded coronary arteries, GUSTO)标准分级:(1)严重或威胁生命的出血:颅内出血或血流动力学受损且需要干预的出血;(2)中度出血:需要输血,但不导致血流动力学受损的出血;(3)轻微出血:不符合严重和中度出血标准的出血。出现PCI术后出血的患者均使用质子泵抑制剂。

1.3 统计学处理

采用SPSS 17.0统计软件进行数据处理。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用t检验。计数资料以例数(百分率)表示,组间比较采用χ^2检验。$P<0.05$为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 2组患者基本情况比较

2组患者的临床基本资料间差异无统计学意义,心血管危险因素基本一致($P>0.05$;表1)。

2.2 2组患者PCI治疗情况比较

2组患者在冠脉病变部位、植入支架总数量、植入总长度、平均植入支架直径以及平均植入数量间差异均无统计学意义($P>0.05$;表2)。

表1 基线资料比较

Table 1 Comparison of baseline data between two groups ($n=120$)

Item	Clopidogrel group	Ticagrelor group	P value
Age(years, $\bar{x} \pm s$)	64±12	65±13	0.882
Male[n(%)]	65(54.2)	68(56.7)	0.781
BMI(kg/m^2, $\bar{x} \pm s$)	67.1±11.3	65.4±13.6	0.257
Diabetes mellitus[n(%)]	40(33.3)	45(37.5)	0.281
Hyperlipidemia[n(%)]	90(75.0)	87(72.5)	0.785
Hypertension[n(%)]	57(47.5)	64(53.3)	0.829
CHD family history[n(%)]	10(8.3)	12(10.0)	0.754
Smoking	50(41.7)	60(50.0)	0.827
Stable angina	40(33.3)	42(35.0)	0.396
Unstable angina	34(28.3)	45(37.5)	0.376
AMI	38(31.7)	29(24.2)	0.504
Drug[n(%)]			
β-blocker	99(82.5)	101(84.2)	0.701
ACEI	93(77.5)	102(85.0)	0.794
ARB	26(21.7)	30(25.0)	0.766
CCB	97(80.8)	101(84.2)	0.692
Nitrate	30(25.0)	32(26.7)	0.743

BMI: body mass index; CHD: coronary heart disease; AMI: acute myocardial infarction; ACEI: angiotensin converting enzyme inhibitor; ARB: angiotensin receptor blocker; CCB: calcium channel blocker

表2 2组患者PCI治疗情况比较

Table 2 Comparison of PCI treatment between two groups ($n=120$)

Item	Clopidogrel group	Ticagrelor group	P value
LAD[n(%)]	59(42.1)	64(44.4)	0.981
LCX[n(%)]	29(20.7)	27(18.8)	0.874
RCA[n(%)]	50(35.7)	48(33.3)	0.961
LMA[n(%)]	2(1.4)	5(3.5)	0.310
Total number of stents(n)	140	144	0.672
Average stent length(mm, $\bar{x} \pm s$)	27.5±15.4	28.5±19.3	0.653
Stent diameter(mm, $\bar{x} \pm s$)	3.1±0.4	3.0±0.3	0.879

PCI: percutaneous coronary intervention; LAD: left anterior descending coronary artery; LCX: left circumflex artery; RCA: right coronary artery; LMA: left main artery

2.3 2组患者血栓弹力图检测结果比较

与氯吡格雷组相比,替格瑞洛组患者的R值和K值显著增高,而MA值显著降低,差异均具有统计学意义($P<0.01$),2组间α角相比差异无统计学意义($P>0.05$;表3)。氯吡格雷组与替格瑞洛组AA药物抑制率分别为(92.9±3.7)%和(94.1±9.4)%,2组相比差异无统计学意义($P>0.05$);ADP药物抑制率分别为(62.5±5.1)%和(90.3±4.6)%,2组相比差异具有统计学意义($P<0.01$)。

表3 2组患者血栓弹力图检测结果比较

Table 3 Comparison of test results of thrombelastogram between two groups ($n=120$, $\bar{x}\pm s$)

Item	Clopidogrel group	Ticagrelor group
R(s)	15.3±2.4	24.2±2.8**
K(s)	6.6±1.8	13.4±2.6**
MA(mm)	69.5±3.2	46.2±2.1**
α angle(°)	55.7±2.4	56.2±3.4

R: reaction time; K: kinetics; MA: maximum amplitude. Compared with clopidogrel group, **$P<0.01$

2.4 2组患者MACEs及出血事件发生率比较

替格瑞洛组患者MACEs发生率显著低于氯吡格雷组(13.3% *vs* 32.5%,$P<0.01$);但2组患者出血事件发生率(16.7% *vs* 12.5%)间差异无统计学意义($P>0.05$;表4)。

表4 2组患者MACEs及出血事件发生率比较

Table 4 Comparison of major adverse cardiovascular and bleeding events between two groups [$n=120$, n(%)]

Item	Clopidogrel group	Ticagrelor group
MACEs		
Cardiovascular death	2(2.5)	0(0.0)
Stent thrombus	10(8.3)	4(3.3)
Unstable angina	20(16.7)	10(8.3)
Myocardial infarction	7(5.8)	2(1.7)
Total	39(32.5)	16(13.3)
Bleeding event		
Severe bleeding	0(0.0)	1(0.8)
Moderate bleeding	1(0.8)	2(1.7)
Minor bleeding	14(11.7)	17(14.2)
Total	15(12.5)	20(16.7)

MACEs: major adverse cardiovascular events

3 讨 论

由于个体差异性,相同剂量药物使用条件下,患者会产生不同的药物效果。本研究通过基因检测的方法,严格筛选*CYP2C19*基因突变的老年患者作为研究对象,有针对性地研究增加硫酸氢氯吡格雷药物剂量对血小板抑制效果的改善作用,并对比研究了替换替格瑞洛后的抗血小板效果,研究结果表明,*CYP2C19*基因型突变患者PCI术后加倍剂量(150 mg/d)服用硫酸氢氯吡格雷,药物抵抗发生率低,血小板抑制效果可以达标,但PCI术后心血管缺血事件发生率仍然偏高;而改为180 mg/d的替格瑞洛,可提高血小板抑制效果,有效降低MACEs发生率,同时并不影响患者出血事件的发生率。

氯吡格雷抵抗被认为是导致PCI术后支架内血栓再形成以及其他心血管缺血事件的重要原因[9]。有研究表明,75 mg/d硫酸氢氯吡格雷从服用后2 h开始产生抑制ADP受体介导的血小板聚集效果,但需要3~7 d才能够达到最大抑制效果[10]。因此,PCI术前常规一次性使用300 mg甚至是600 mg负荷量以便缩短这一药物延迟时间,进而获得更进一步的抗血小板效果。然而,即使使用上述这种标准化的指南性治疗方案,仍然不能完全抑制ADP受体介导的血小板聚集。硫酸氢氯吡格雷是一种前体药物,本身无活性,必须经过肝脏内的CYP2C19肝药酶的代谢,转化为具有药效的活性状态才具有抗血小板聚集的作用。而CYP2C19代谢活性的个体差异性较大,这也就意味着CYP2C19弱代谢型患者使用硫酸氢氯吡格雷无效或效果欠佳[11]。

替格瑞洛是新一代非噻吩吡啶类P2Y12受体拮抗剂,体内经肠道吸收后直接作用于P2Y12受体,发挥抗血小板作用,无需经肝酶激活,其代谢产物同样具有P2Y12抑制作用,半衰期更短,起效更快,并可与ADP受体可逆性结合。多项研究表明,与氯吡格雷相比,替格瑞洛可以显著降低严重MACEs发生率[12-14]。本研究结果表明,180 mg/d替格瑞洛能够显著改善血小板抑制效果,并减少MACEs的发生。

本研究结果表明,与氯吡格雷组相比,替格瑞洛组患者的R值和K值显著增高,而MA值显著降低,差异均具有统计学意义($P<0.01$)。这可能为解释*CYP2C19*基因型突变者使用替格瑞洛可以提高血小板抑制率提供新的突破口,但其具体作用机制尚有待进一步阐明。

本研究同时观察了2组患者出血事件发生率,结果表明,2组患者PCI术后12个月内出血事件发生率间差异无统计学意义。这可能与本研究纳入患者例数相对较少有关。

综上所述,筛选*CYP2C19*基因突变情况,根据结果指导PCI术后个体化用药具有一定的临床意

义。在*CYP2C19*基因慢代谢型患者中,150 mg/d硫酸氢氯吡格雷可以使血小板抑制效果达标,但MACEs发生率仍然较高;替格瑞洛能够有效减低药物抵抗发生率,进一步改善血小板抑制效果,且可降低MACEs发生率。本研究仅选择了年龄60~70岁的患者,试验结果是否适用于高龄患者仍有待进一步研究。

【参考文献】

[1] Flechtenmacher N, Kämmerer F, Dittmer R, *et al*. Clopidogrel resistance in neurovascular stenting: correlations between light transmission aggregometry, VerifyNow, and the multiplate[J]. AJNR Am J Neuroradiol, 2015, 36(10): 1953-1958. DOI: 10.3174/ajnr.A4388.

[2] Ray S. Clopidogrel resistance: the way forward[J]. Indian Heart J, 2014, 66(5): 530-534. DOI: 10.1016/j.ihj.2014.08.012.

[3] Qureshi Z, Hobson AR. Clopidogrel "resistance": where are we now?[J]. Cardiovasc Ther, 2013, 31(1): 3-11. DOI: 10.1016/j.ihj.2014.08.012.

[4] Corliss BM, Polifka AJ, Harris NS, *et al*. Laboratory assessments of therapeutic platelet inhibition in endovascular neurosurgery: comparing results of the VerifyNow P2Y12 assay to thromboelastography with platelet mapping[J]. J Neurosurg, 2017, 22(11): 1-6. DOI: 10.3171/2017.6.JNS17535.

[5] 林乐健, 唐发宽, 华宁, 等. 长期负荷量硫酸氢氯吡格雷显著降低血小板高反应性患者PCI术后心血管缺血事件发生率[J]. 心脏杂志, 2015, 27(6): 708-711. DOI: 10.13191/j.chj.2015.0193.
Lin LJ, Tang FK, Hua N, *et al*. Long-term loading dose of clopidogrel decreases recurrent cardiovascular ischemic events in patients undergoing percutaneous coronary intervention[J]. Chin Heart J, 2015, 27(6): 708-711. DOI: 10.13191/j.chj.2015.0193.

[6] Connelly CR, Yonge JD, McCully SP, *et al*. Assessment of three point-of-care platelet function assays in adult trauma patients[J]. J Surg Res, 2017, 15(212): 260-269. DOI: 10.1093/cid/cix641.

[7] Hobson AR, Qureshi Z, Banks P, *et al*. Effects of clopidogrel on "aspirin specific" pathways of platelet inhibition[J]. Platelets, 2009, 20(6): 386-390. DOI: 10.1080/09537100903003227.

[8] Pursnani A, Massaro JM, D'Agostino RB Sr, *et al*. Guideline-based statin eligibility, coronary artery calcification, and cardiovascular events[J]. JAMA, 2015, 14(314): 134-141. DOI: 10.1001/jama.2015.7515.

[9] Clavijo LC, Al-Asady N, Dhillon A, *et al*. Prevalence of high on-treatment (aspirin and clopidogrel) platelet reactivity in patients with critical limb ischemia[J]. Cardiovasc Revasc Med, 2018, 19(5 Pt A): 516-520. DOI: 10.1016/j.carrev.2017.10.013.

[10] Silva FB, Almeida Junior GL, Neno A, *et al*. Resistance to clopidogrel: prevalence and associate variables[J]. Arq Bras Cardiol, 2012, 99(6): 1135-1141. DOI: 10.1590/S0066-782X2012-005000107.

[11] Kim KA, Park PW, Hong SJ, *et al*. The effect of CYP2C19 polymorphism on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of clopidogrel: a possible mechanism for clopidogrel resistance[J]. Clin Pharmacol Ther, 2008, 84(2): 236-242. DOI: 10.1038/clpt.2008.20.

[12] Lindholm D, Varenhorst C, Cannon CP, *et al*. Ticagrelor *vs*. clopidogrel in patients with non-ST-elevation acute coronary syndrome with or without revascularization: results from the PLATO trial[J]. Eur Heart J, 2014, 35(31): 2083-2093. DOI: 10.1007/s00059-015-4359-3.

[13] Szymezak J, Gaussem P. Proton pump inhibitors and clopidogrel: a hazardous association?[J]. Rev Med Interne, 2013, 34(4): 99-104. DOI: 10.1016/j.revmed.2012.11.001.

[14] 黄莉, 王选琦, 吴晓鹏, 等. 急性冠状动脉综合征合并糖尿病患者经皮冠状动脉介入术后替格瑞洛与氯吡格雷抗血小板疗效及预后研究[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2017, 11(16): 846-849. DOI: 10.11915/j.issn.1671-5403.2017.11.196.
Huang L, Wang XQ, Wu XP, *et al*. Antiplatelet and prognostic effects of ticagrelor and clopidogrel in diabetes patients with acute coronary syndrome after percutaneous coronary intervention[J]. Chin J Mult Organ Dis Elderly, 2017, 11(16): 846-849. DOI: 10.11915/j.issn.1671-5403.2017.11.196.

(编辑:吕青远)