氯吡格雷CYP2C19基因型检测在急性冠脉综合征(ACS)中的应用

赵莉

中日友好医院药学部

2012-4-14



流行病学与疾病负担

2007年的 统计数据

冠心病是美国第一位致死原因

406,351 死亡与冠心病相关，172,538死亡与 急性心肌梗死相关

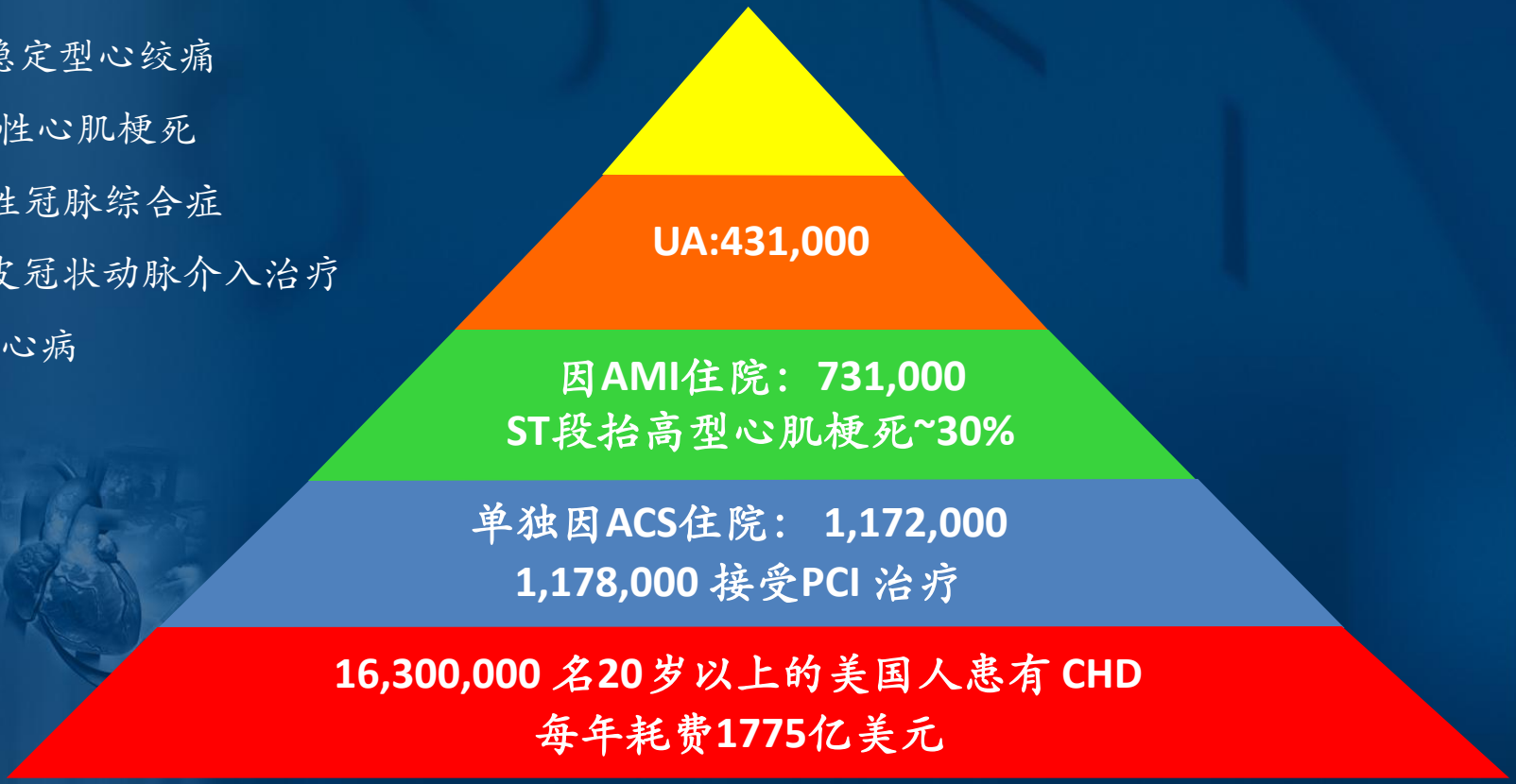
UA = 不稳定型心绞痛

AMI = 急性心肌梗死

ACS =急性冠脉综合症

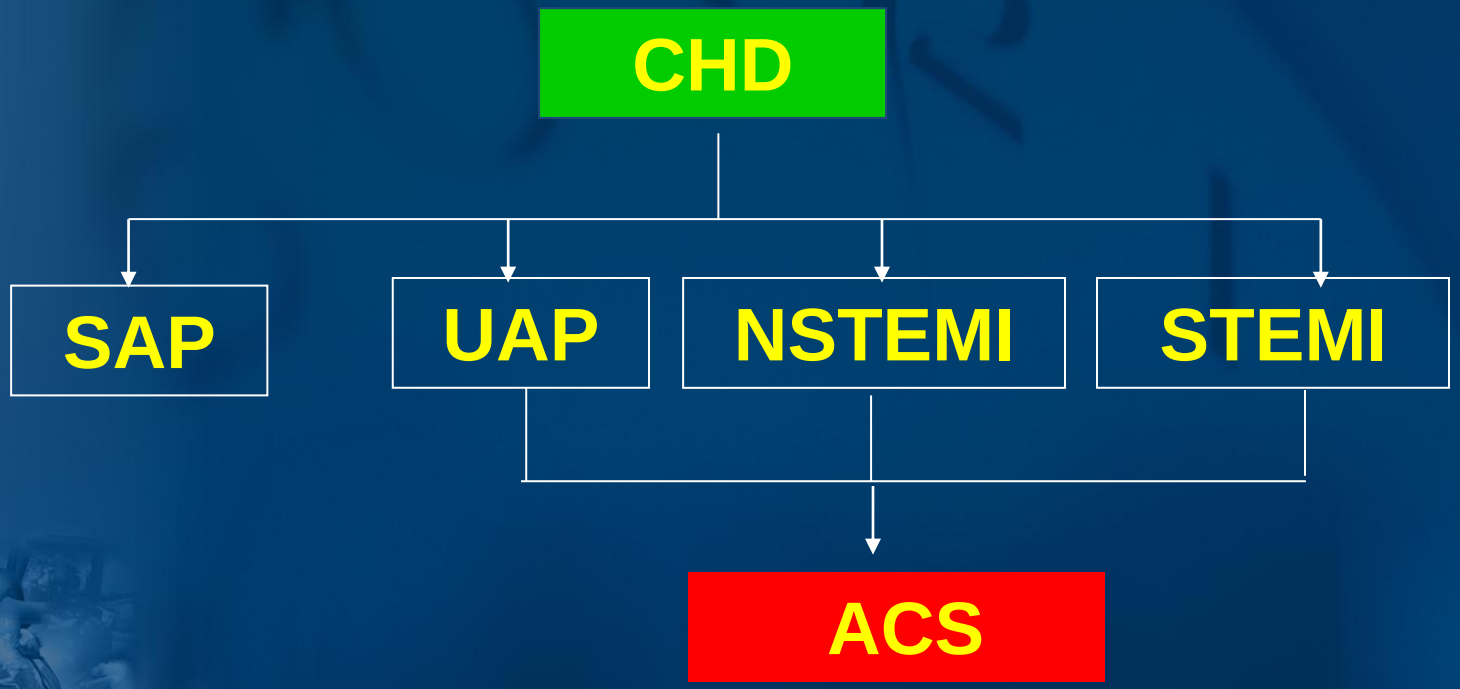
PCI = 经皮冠状动脉介入治疗

CHD = 冠心病



Heart Disease and Stroke Statistics 2011 Update. *Circulation* 2011; 123: e18-e209

冠心病（CHD)的分类



心脏病学里程碑式的进步
——介入性技术的应用和发展

冠心病介入治疗三部曲

- 单纯球囊扩张术（PTCA）
- 冠状动脉支架术（BMS）
- 药物洗脱支架的临床应用（DES）



如何应对？

- 完善支架设计
- 降解或去除多聚物
- 筛选、优化抗细胞增生药物
- **完善抗凝、抗血小板方案**：“单抗”“双抗”甚至“三抗”

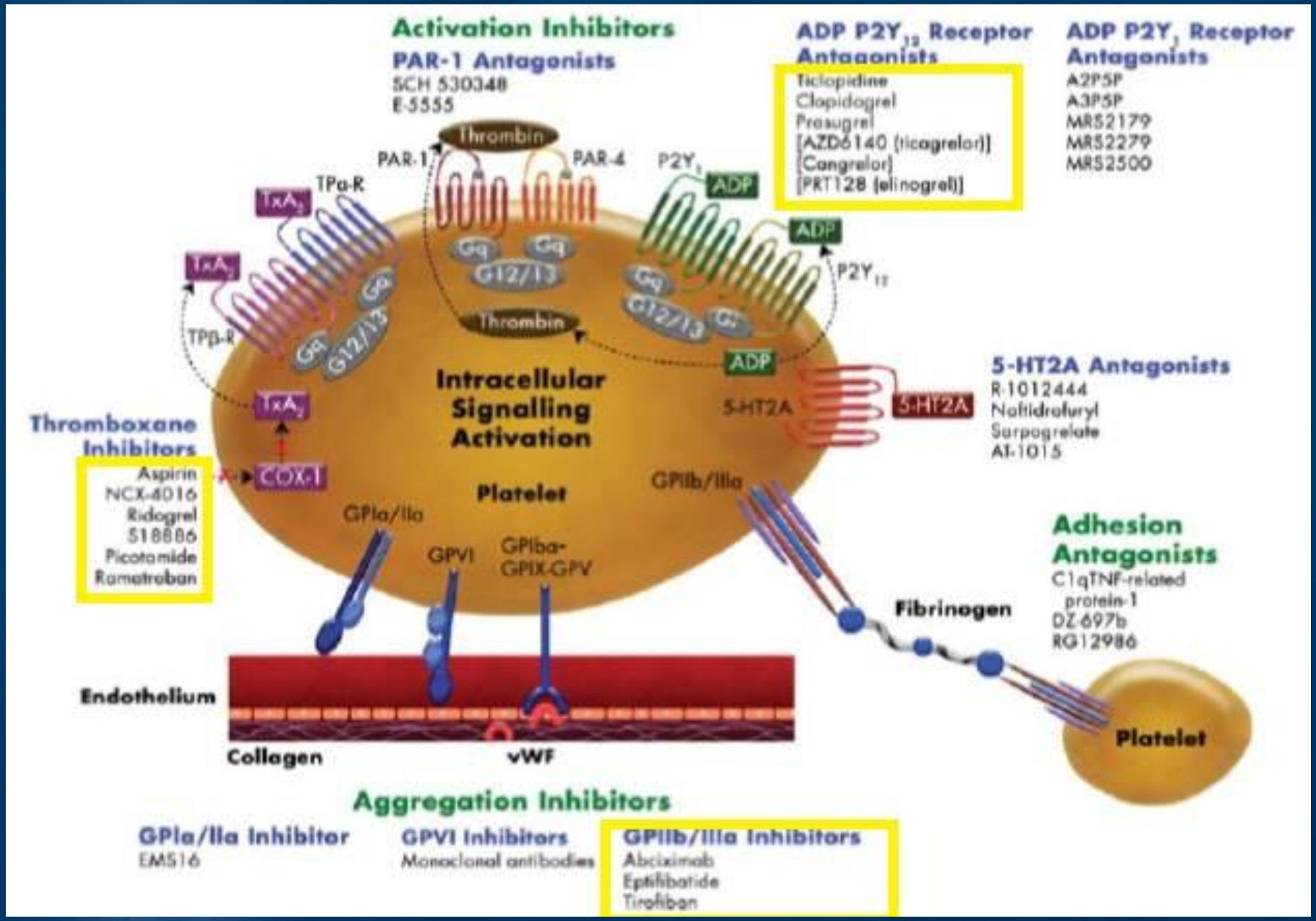


抗血小板药物治疗

- **阿司匹林**
- 噻吩并吡啶类
  - 噻氯匹定
  - **氯吡格雷**
  - 普拉格雷
- 糖蛋白IIb/IIIa 受体拮抗剂
  - 替罗非班
  - 依替巴肽
  - 阿昔单抗
- 环戊基-三唑并嘧啶类
  - 替卡格雷
  - 坎格雷洛

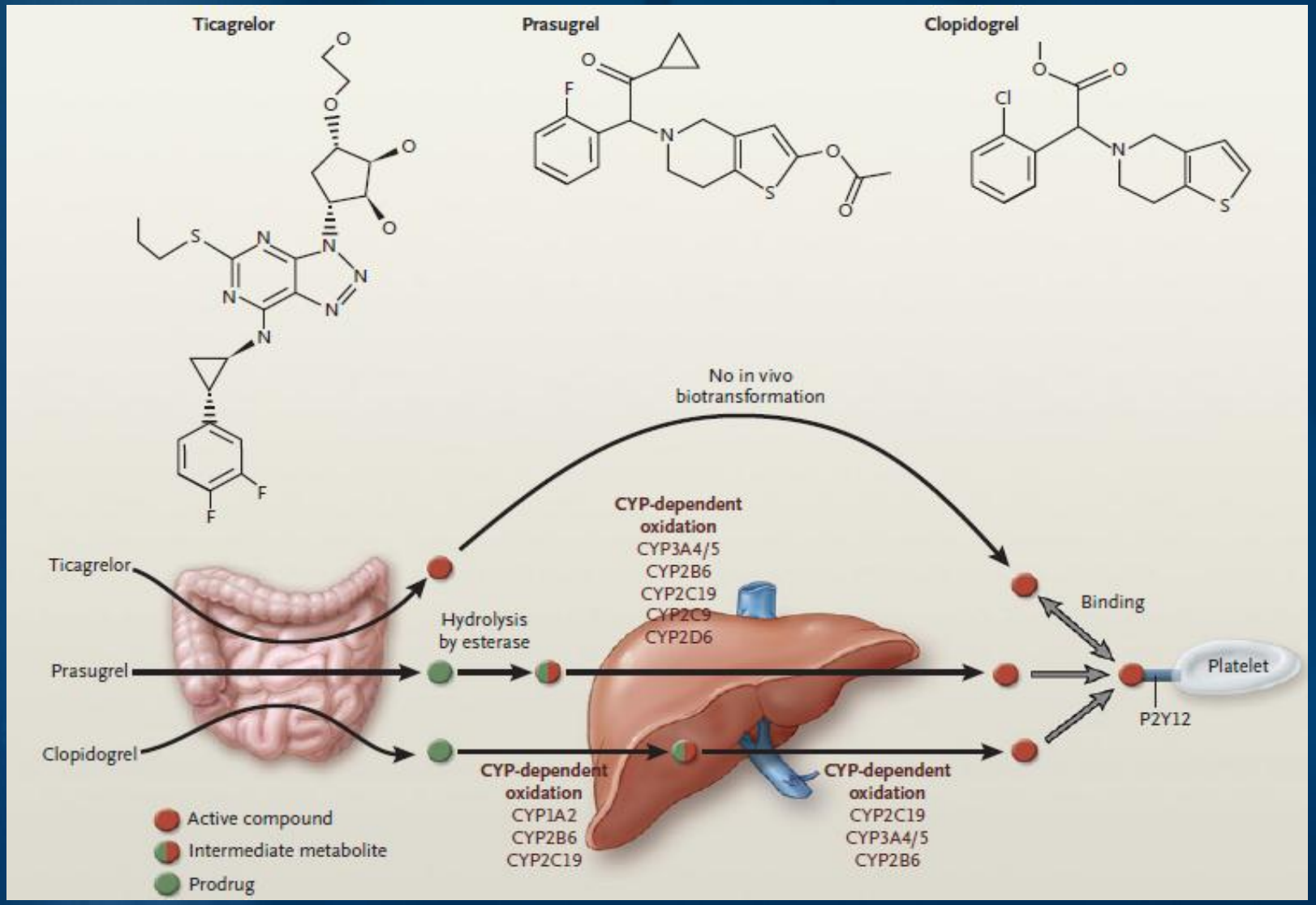
氯吡格雷

- P2Y12 受体拮抗剂
  - 不可逆的
- 前药 – 细胞色素 P450 活化
  - 2 步反应 (主要是 CYP 2C19)
  - 85% 由血清酯酶初步灭活
- 基因多态性影响活化
  - CYP 2C19 变异
- 患者间反应差异
- 起效时间: 2-6 小时
- 双联抗血小板治疗PCI
- 年销量额过90亿美元（2010）
- 效果不如新型噻吩并吡啶类



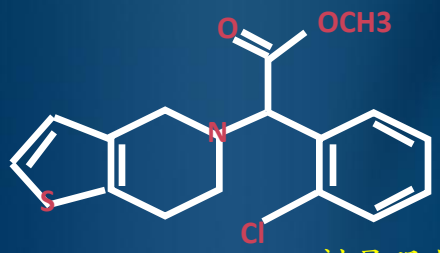
Angiolillo DJ et al. *Eur Heart J.* 2010; 31:17-2

氯吡格雷的活化



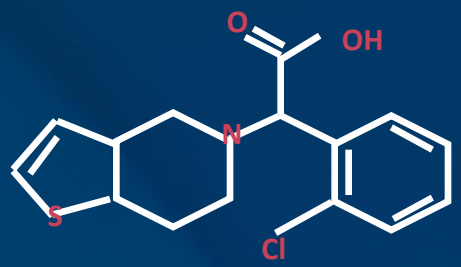
Schömig A. *N Engl J Med.* 2009; 361:1108-1

氯吡格雷代谢途径



肠道吸收

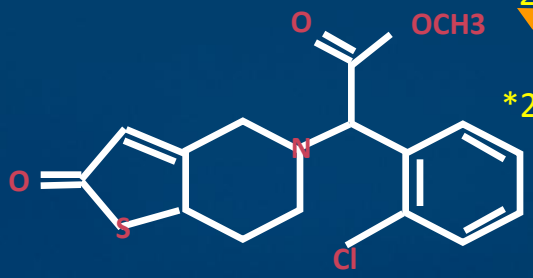
酯酶



剂量限制性吸收

P-糖蛋白
(ABCB1 基因多态性)

10-15%



2-氧基-氯吡格雷

2C19 1A2 2B6

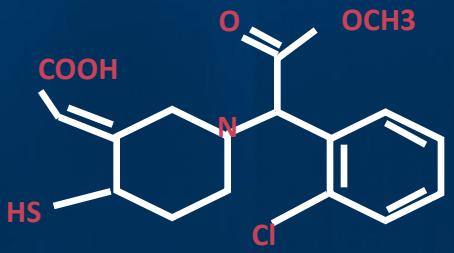
*2, *17

基因多态性和药物相互作用

肝脏

2-步 转化





活性巯基代谢物

*2, *17

2C19 2C9 3A4 2B6

Bonello L. *J Am Coll Cardiol.* 2010; 56 (12):919-3

氯吡格雷原型及代谢物

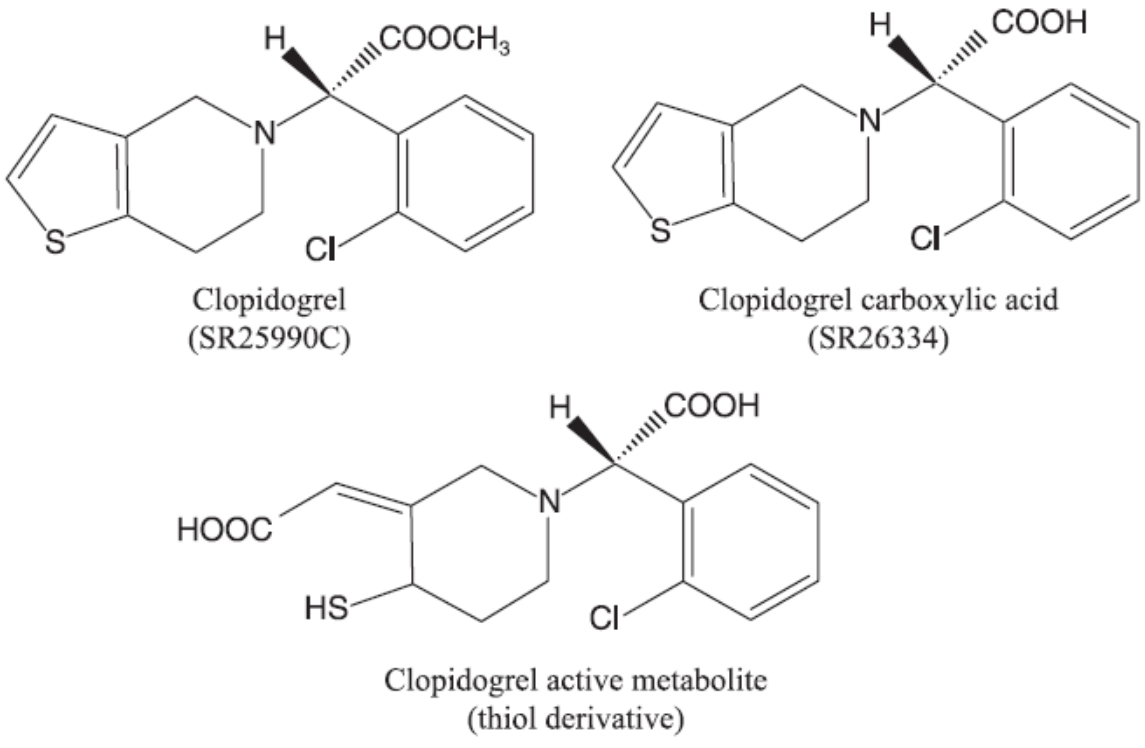


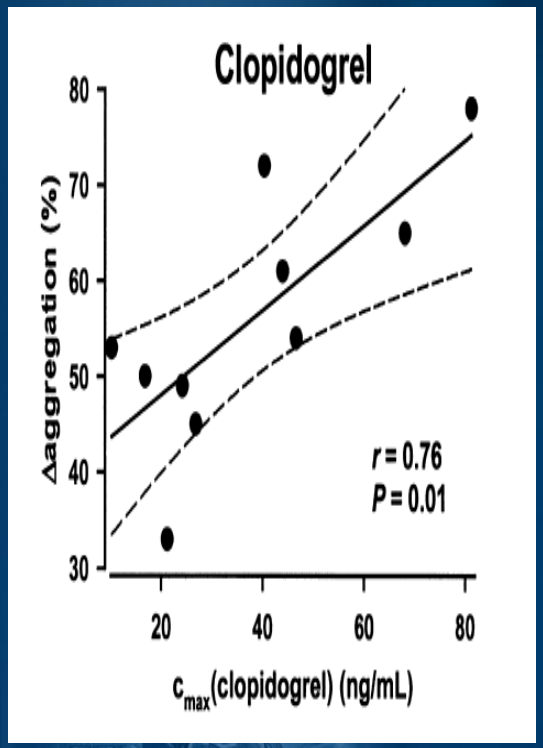
Figure 1. Strucural representation of clopidogrel, clopidogrel carboxylic acid metabolite and the active metabolite. [Correction made in the figure after initial online publication.]

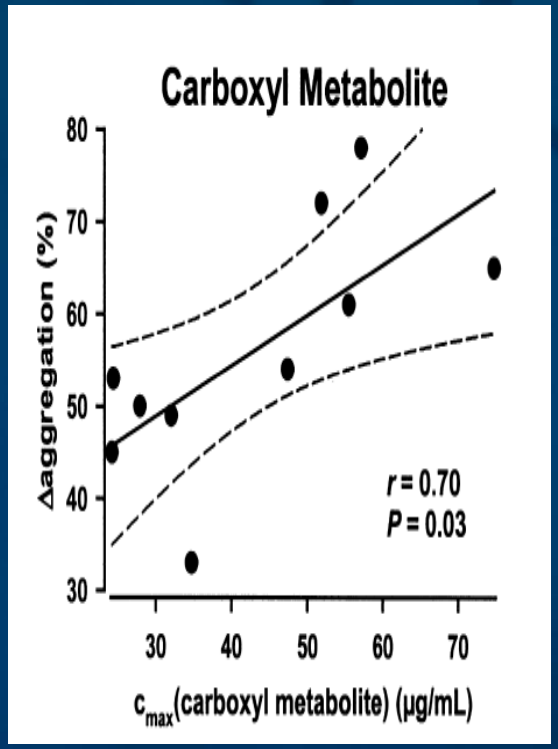
Plasma cokinetc plasma parameters of clopidogrel and its metabolites(n=10)

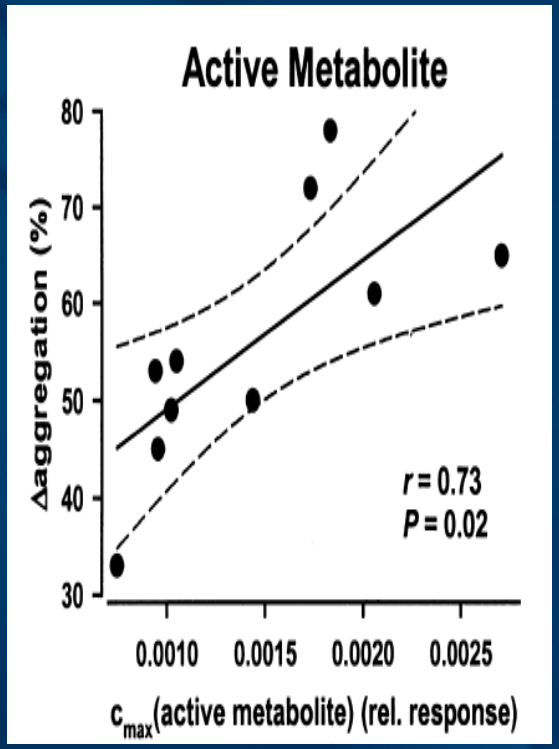
	C_{max}（ng/ml）	T_{max} (hours)	AUC(ng×h)/ml
Clopidogrel	38.0±22.9	1.4±0.7	125.5±60.0
Carboxyl metabolite	43000±16900	1.6±0.9	198600±52400
Active metabolite	(14.5±6.0) ×10-4	0.9±0.5	(32.9±13.4) ×10-4

Taubert Dirk, Thromb Haemost 2004; 92: 311–6

Linear regression of platelet inhibition against maximum plasma concentrations of clopidogrel and its metabolites

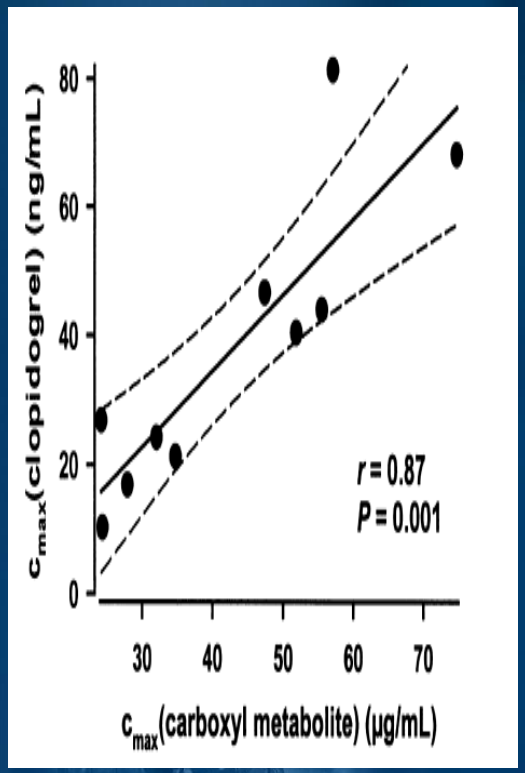


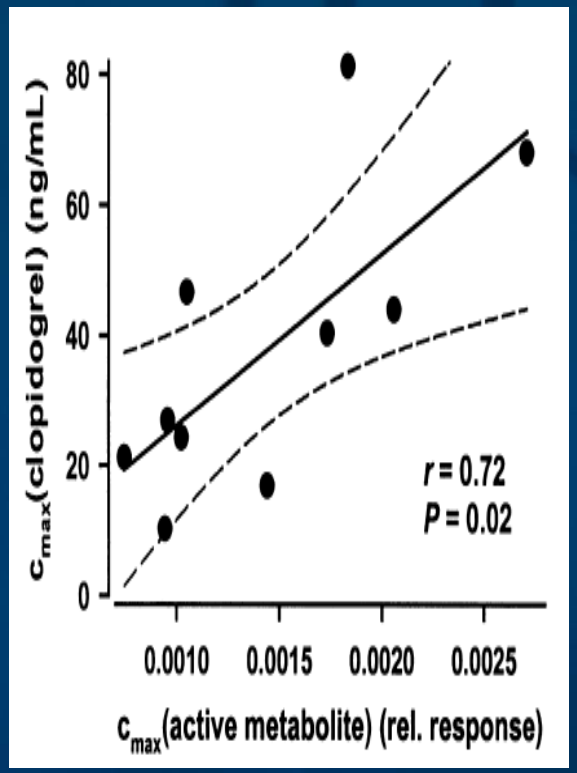


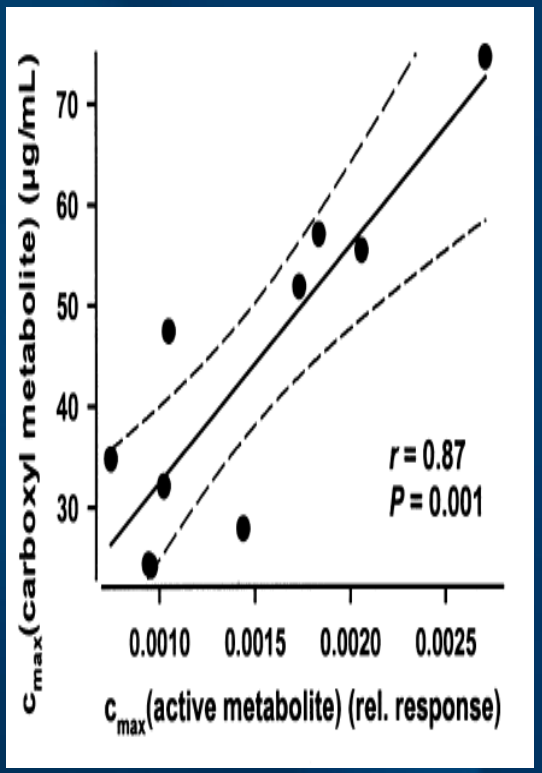


Taubert Dirk, Thromb Haemost 2004; 92: 311–6

Linear correlations of maximum plasma concentrations of clopidogrel and its metabolites







Taubert Dirk, Thromb Haemost 2004; 92: 311–6

基因多态性作用

- CYP 2C19*2 accounts for >90 % of poor clopidogrel metabolism
- Leads to reduced pharmacodynamic response
- Increase risk of thrombosis



Hulot JS et al. *J Am Coll Cardiol.* 2010; 56:134-43.
Shuldiner AR et al. *JAMA.* 2009; 302:849-57.

氯吡格雷基因突变位点

功能减弱等位基因 携带者与未携带者相比		基因型/ 特定等位基因	表现型/ 酶活性
细胞色素 P450 2C19	有功能减弱作用	*2/*2, *2/*3, *2/*4, *2/*5, *2/*8	慢代谢(PM)
		*1/*2, *1/*3, *1/*4, *1/*8	中间代谢(IM)
	无功能减弱作用	*1/*1	快代谢(EM)
		*17/*17, *1/*17	超快代谢(UM)

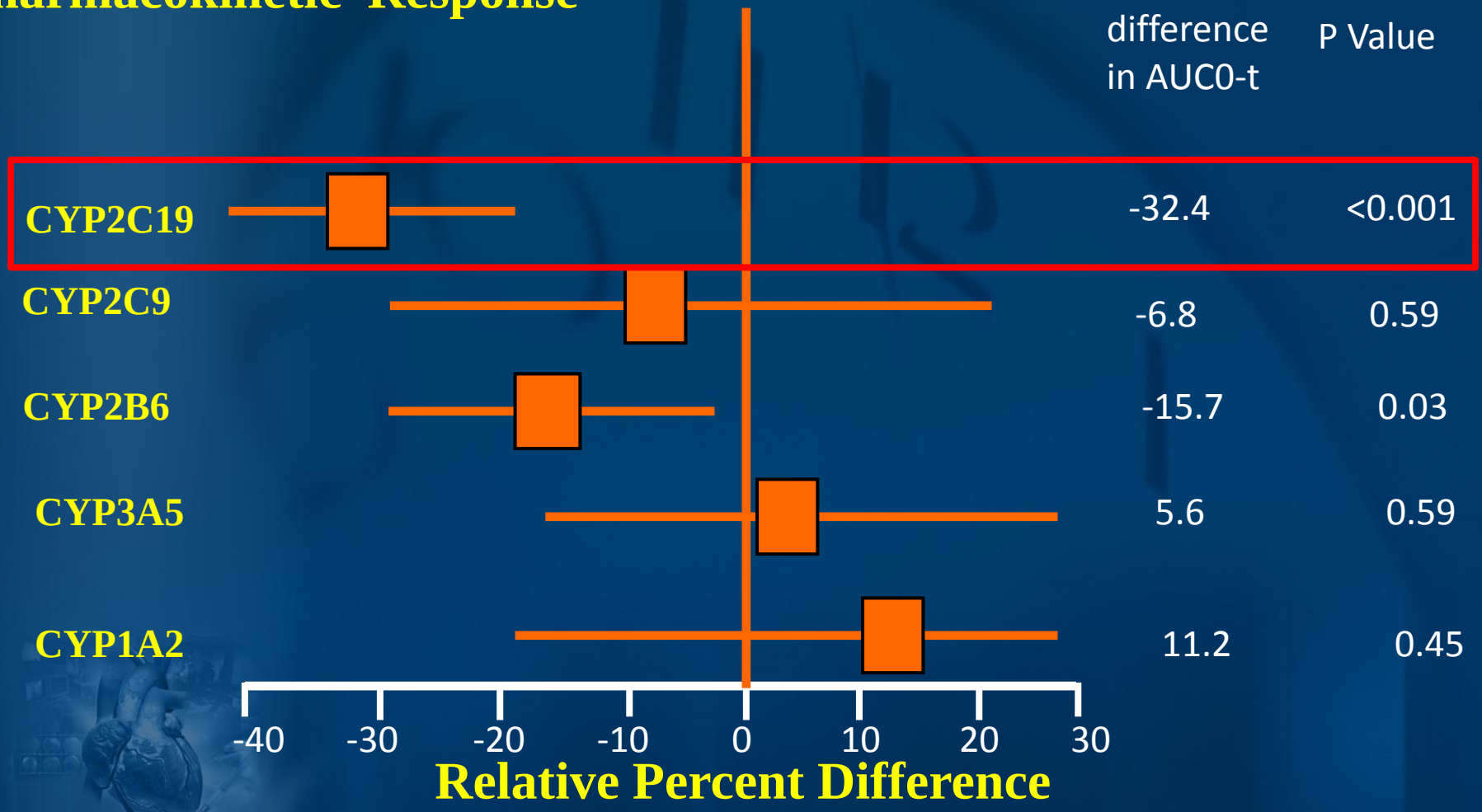
Mega JL et al. *N Engl J Med.* 2009; 360:354-62.

种族差异

	*2 等位基因	基因型	表现型
非裔黑人	17.3% (n=1932)	3.7% (n=966)	3.9% (n=922)
欧裔白人	14.7% (n=2712)	2.1% (n=1356)	2.8% (n=3990)
亚裔华人	30% (n=1146)	13.8% (n=573)	13.6% (n=1555)

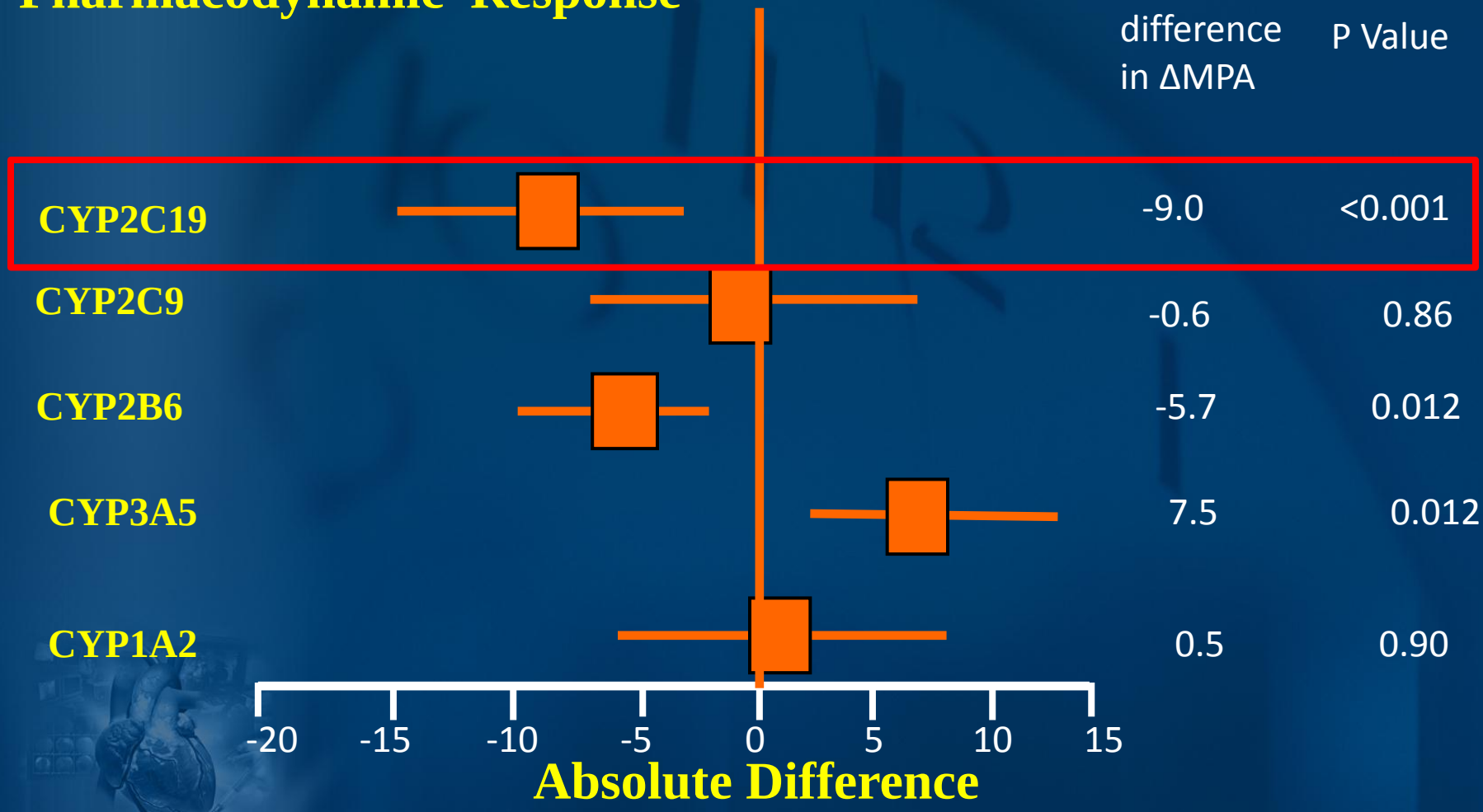
Xie HG et al. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2001; 41:815-50.

Pharmacokinetic Response

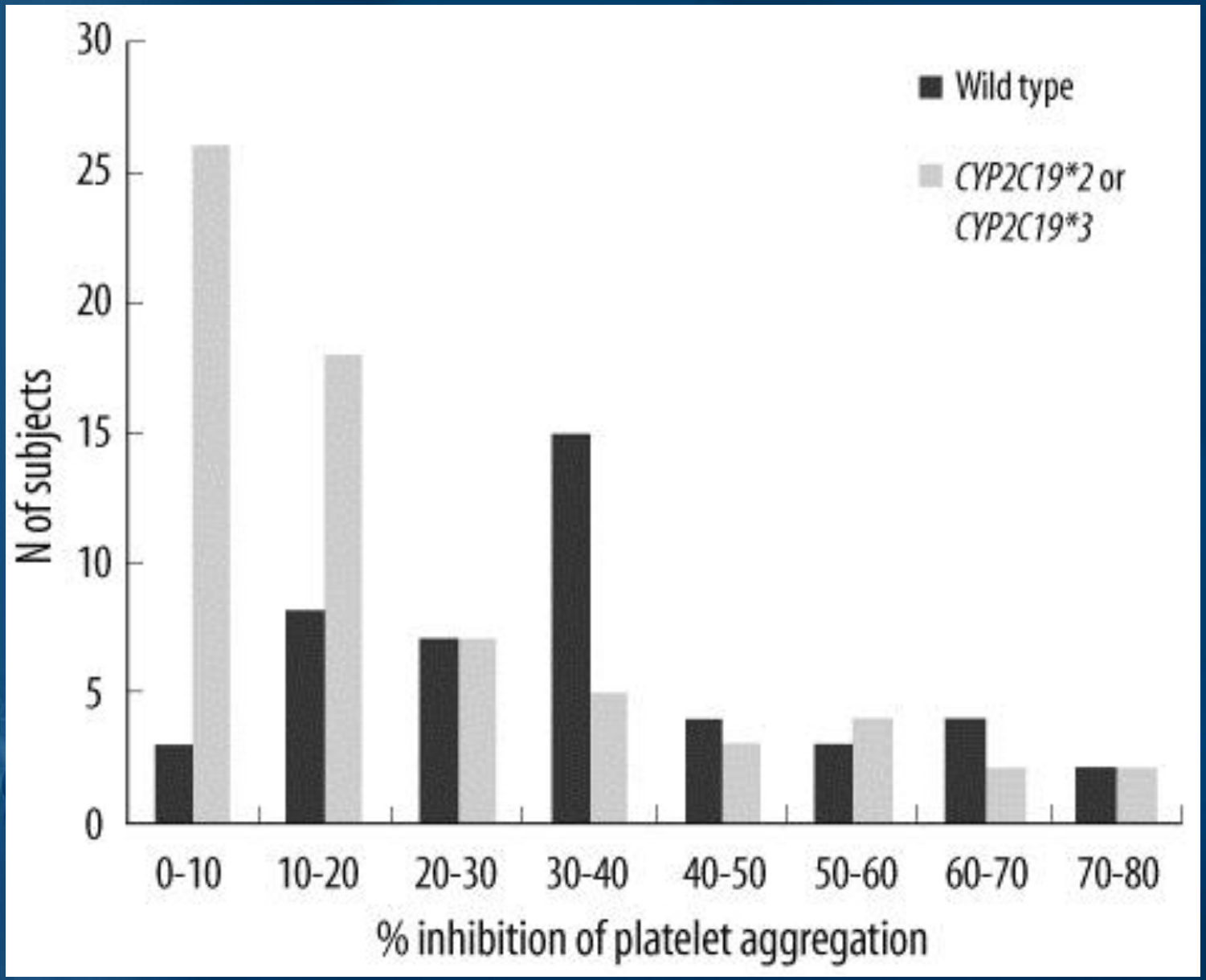


Mega JL et al. *N Engl J Med.* 2009; 360:354-62.

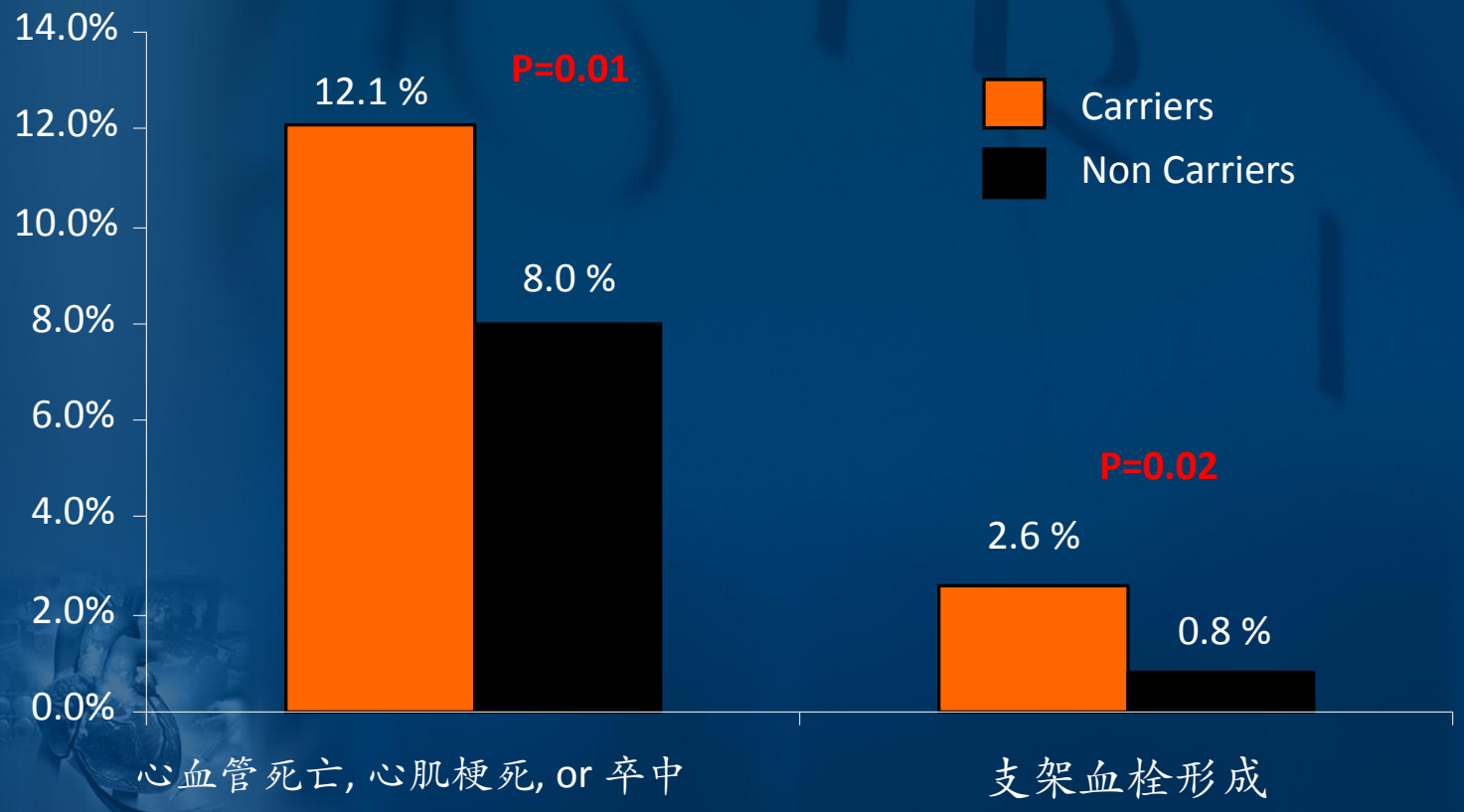
Pharmacodynamic Response



Mega JL et al. *N Engl J Med.* 2009; 360:354-62.


30
25
20
15
10
5
0
N of subjects
Wild type
CYP2C19*2 or
CYP2C19*3
0-10
10-20
20-30
30-40
40-50
50-60
60-70
70-80
% inhibition of platelet aggregation

CYP 2C19与临床治疗结果

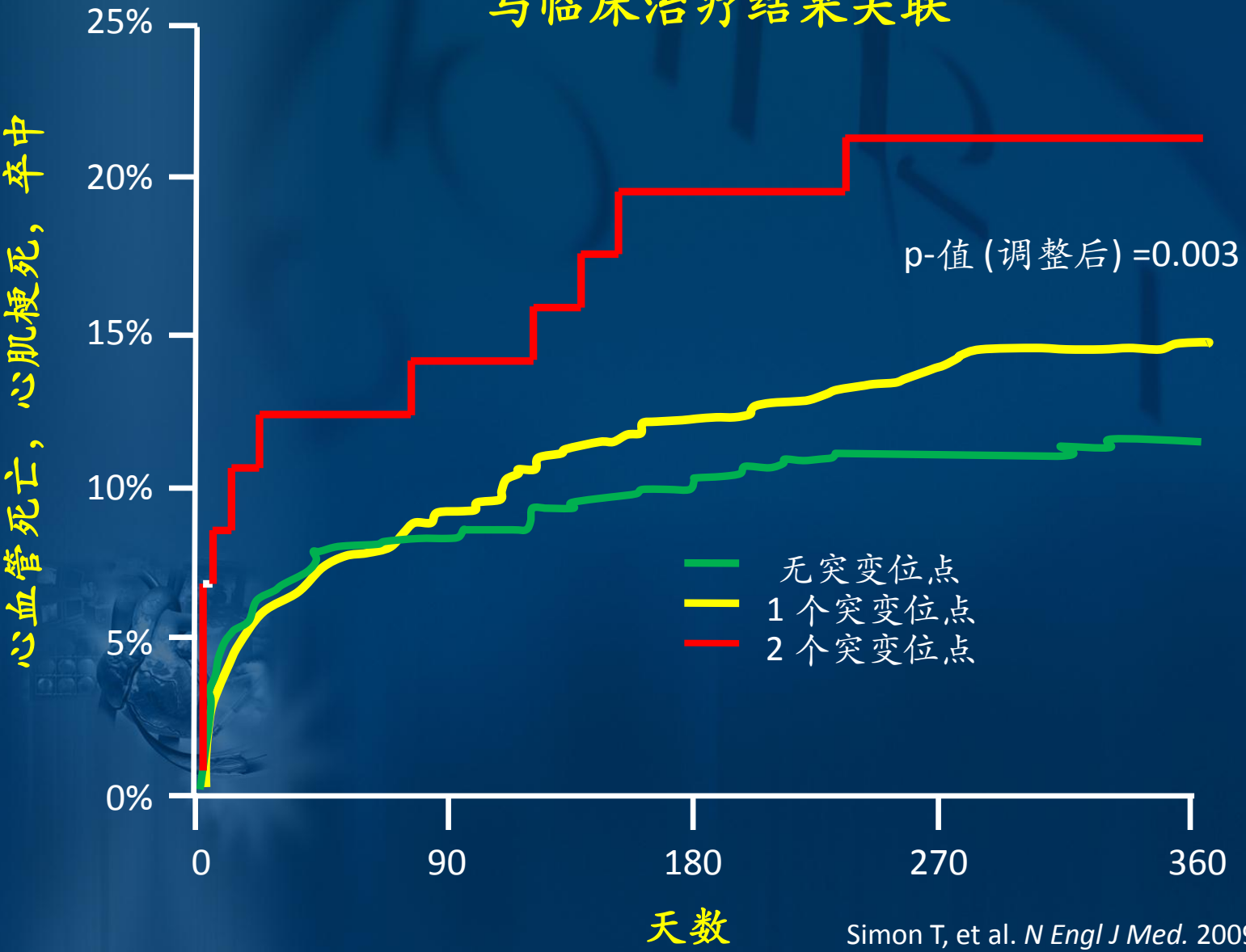


第15月主要不良心血管事件发生率

Mega JL et al. *N Engl J Med.* 2009; 360:354-62.

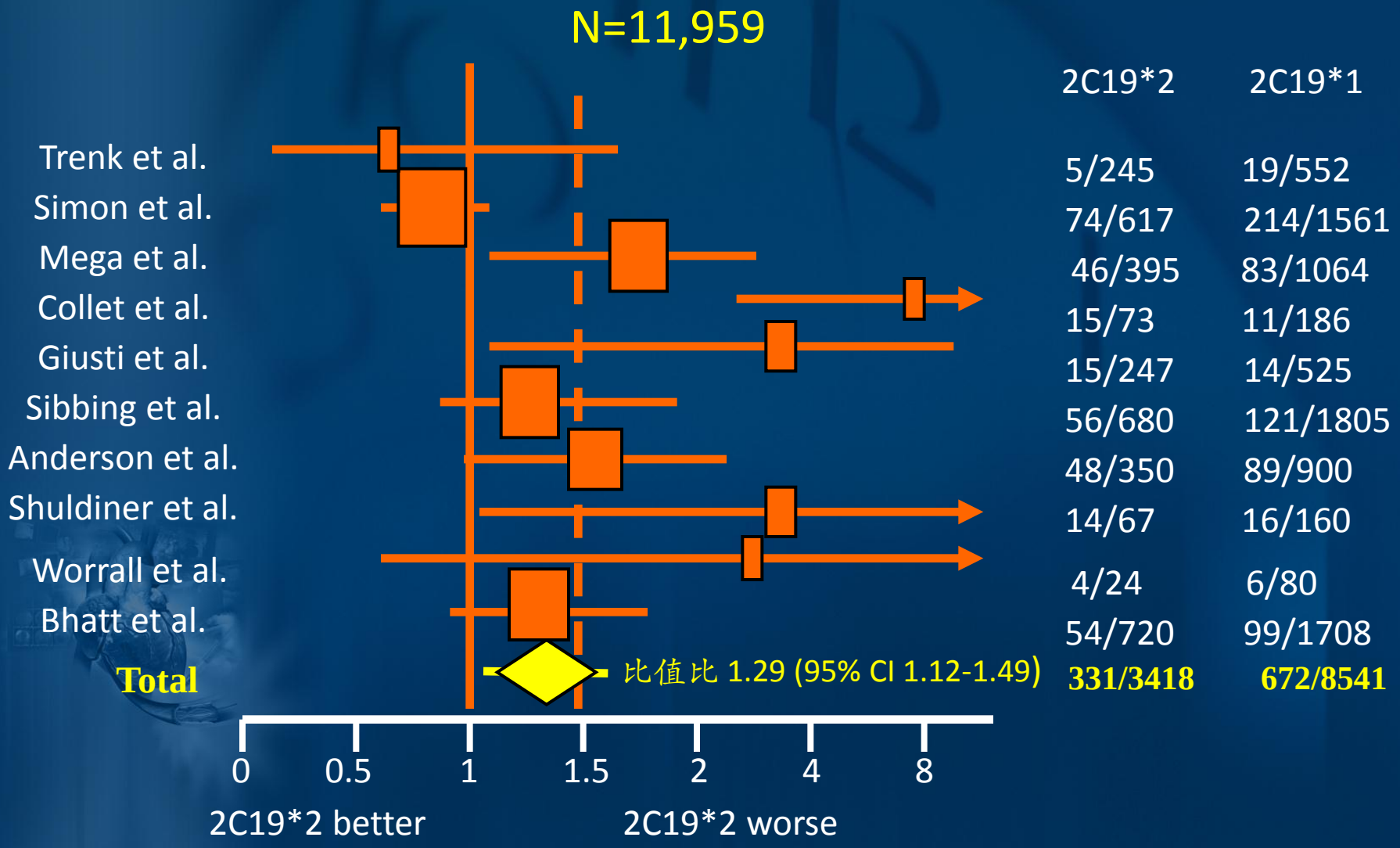
CYP 2C19 功能缺失型等位基因

与临床治疗结果关联



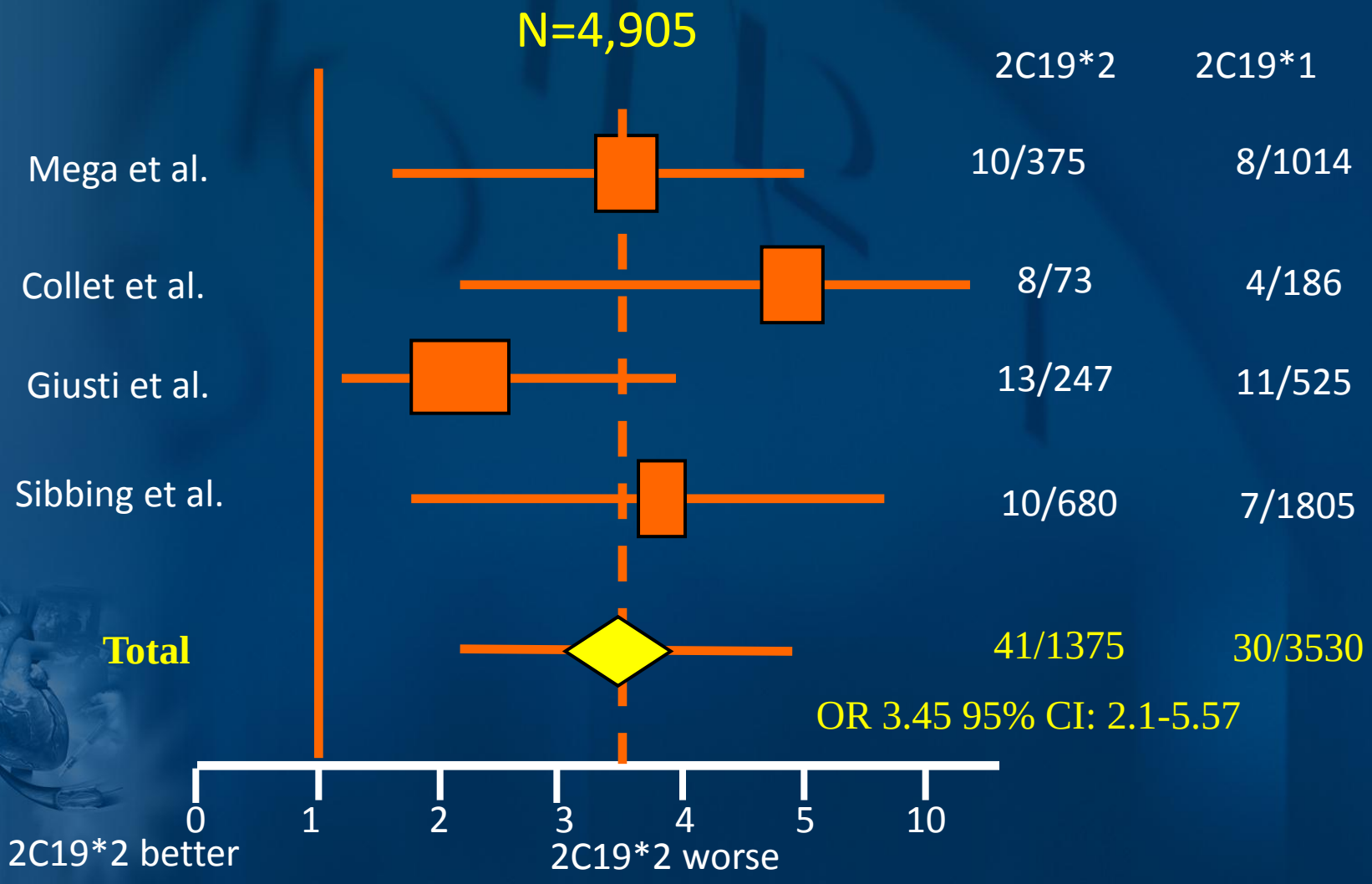
Simon T, et al. *N Engl J Med.* 2009; 360 (4):363-75.

CYP2C19 与主要不良心血管事件



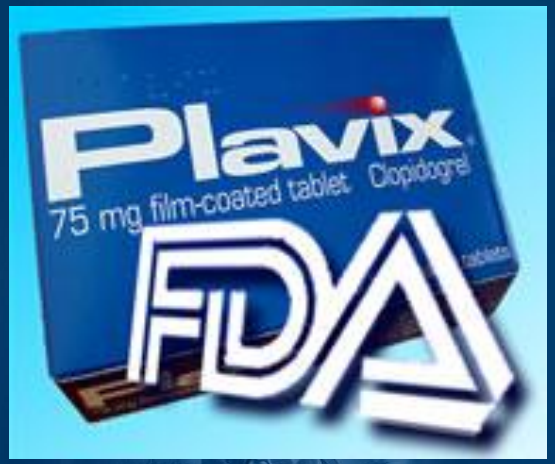
Hulot JS et al. *J Am Coll Cardiol.* 2010; 56:134-43.

CYP2C19 与支架内血栓



Hulot JS et al. *J Am Coll Cardiol.* 2010; 56:134-43.

2010年3月，美国FDA建议患者服用波立维前需检测CYP2C19基因型



HIGHLIGHTS OF PRESCRIBING INFORMATION

These highlights do not include all the information needed to use PLAVIX safely and effectively. See full prescribing information for PLAVIX.

PLAVIX (clopidogrel bisulfate) tablets
Initial U.S. Approval: 1997

WARNING: DIMINISHED EFFECTIVENESS IN POOR METABOLIZERS

See full prescribing information for complete boxed warning.

- Effectiveness of Plavix depends on activation to an active metabolite by the cytochrome P450 (CYP) system, principally CYP2C19. (5.1)
- Poor metabolizers treated with Plavix at recommended doses exhibit higher cardiovascular event rates following acute coronary syndrome (ACS) or percutaneous coronary intervention (PCI) than patients with normal CYP2C19 function. (12.5)
- Tests are available to identify a patient's CYP2C19 genotype and can be used as an aid in determining therapeutic strategy. (12.5)
- Consider alternative treatment or treatment strategies in patients identified as CYP2C19 poor metabolizers. (2.3, 5.1)

- Non-ST-segment elevation ACS (UA/NSTEMI): 300 mg loading dose followed by 75 mg once daily, in combination with aspirin (75-325 mg once daily)
- STEMI: 75 mg once daily, in combination with aspirin (75-325 mg once daily), with or without a loading dose and with or without thrombolytics
- Recent MI, recent stroke, or established peripheral arterial disease: 75 mg once daily (2.2)

----------DOSAGE FORMS AND STRENGTHS----------

Tablets: 75 mg, 300 mg (3)

----------CONTRAINDICATIONS----------

- Active pathological bleeding, such as peptic ulcer or intracranial hemorrhage (4.1)
- Hypersensitivity to clopidogrel or any component of the product (4.2)

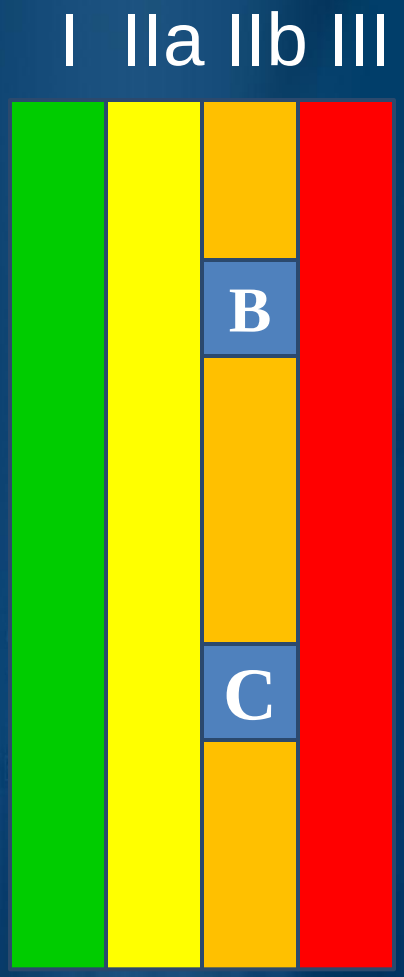
----------WARNINGS AND PRECAUTIONS----------

- Reduced effectiveness in impaired CYP2C19 function: Avoid concomitant use with drugs that inhibit CYP2C19 (e.g., omeprazole). (5.1)
- Bleeding: Plavix increases risk of bleeding. Discontinue 5 days prior to elective surgery. (5.2)
- Discontinuation of Plavix: Premature discontinuation increases risk of

- 氯吡格雷主要依赖于CYP2C19代谢生成活性代谢产物，发挥抗血小板疗效。
- 常规剂量的氯吡格雷在CYP2C19弱代谢型患者，体内活性代谢物生成减少，抑制血小板聚集功能下降
- 弱代谢型的ACS或接受PCI治疗的患者，常规剂量氯吡格雷治疗下心血管事件率较正常代谢型患者上升
- CYP2C19基因型是可以检测的，检测结果可作为医生调整治疗策略的参考标准
- 对于CYP2C19弱代谢型患者，建议考虑调整治疗方法或治疗策略

Recommendations for Additional Management of Antiplatelet and Anticoagulant Therapy （2011 ACCF/AHA）

New Recommendation



Platelet function testing to determine platelet inhibitory response in patients with UA/NSTEMI(or, after ACS and PCI) on thienopyridine therapy may be considered if results of resulting of testing may alter management

Genotyping for a CYP2C19 loss of function variant in patients with UA/NSTEMI(or, after ACS and with PCI) on clopidogrel therapy might be considered if results of testing may alter management

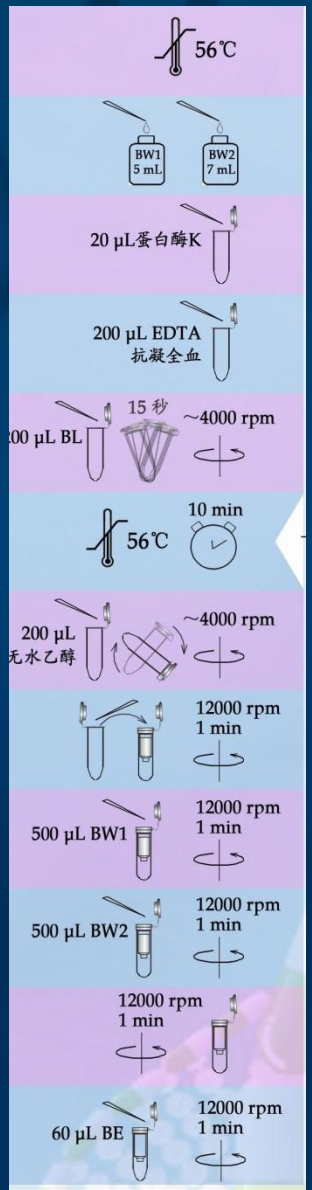
美国FDA批准的部分个体化用药基因诊断产品

产品名称	临床用途	FDA批准时间	申报企业	采用技术	备注
P450（2D6，2C19）基因型检测试剂盒	30种药物的剂量确定	2005-01	罗氏 Roche	基因芯片	样本须PCR扩增
UGT1A1基因型检测试剂盒	“依利替康”的适用人群	2005-08	Third Wave	Invader	样本须PCR扩增
细胞因子F2、F5及MTHFR基因型检测试剂盒	指导个体化抗凝治疗	2007-09	Nanosphere	基因芯片	采用信号放大，样本不需PCR
CYP2C9、VKORC1基因型检测试剂盒	华法林	2007-09	Nanosphere	基因芯片	采用信号放大，样本不需PCR
		2008-01	Autogenomics	基因芯片	样本须PCR扩增
		2008-04	PARAGONDX	基因芯片	样本须PCR扩增
		2008-07	OSMETECH	电传感器	样本须PCR扩增

CYP2C19基因型检测操作步骤

- 全血DNA抽提
- 样本PCR扩增
- 全自动杂交

CYP2C19程序				
Step	Tube	Mins	Rep	Temp
1	A	5	1	42
2	B	30	1	42
3	C	6	2	42
4	D	5	2	28
5	E	20	1	28
6	D	5	2	28
7	F	3	1	28
8	G	30	1	42
9	A	2	2	28



1、加样（25 μL反应体系）

CYP2C19		
扩增液1	19 μL	①
反应液A	1 μL	
DNA模板	5 μL	
扩增液2	19 μL	②
反应液A	1 μL	
DNA模板	5 μL	

2、瞬时离心混匀

3、运行扩增程序

CYP2C19

50 ℃，5 min
94 ℃，5 min
94 ℃，25 sec
48 ℃，40 sec
72 ℃，30 sec
35 个循环
72 ℃，5 min

质量控制

- **DNA抽提**：紫外分光光度计测，OD260/OD280比值1.5-2.0之间。DNA浓度10-60ng/ul为宜。

- **PCR产物**：阴、阳性对照，琼脂糖凝胶电泳检测

- **杂交产物**：阳性对照为*1/*3基因型。



报告解读

Microsoft Excel - CYP2C19基因检测试剂盒1

文件(F) 编辑(E) 视图(V) 插入(I) 格式(O) 工具(T) 数据(D) 窗口(W) 帮助(H)

宋体

A1

CYP2C19基因型检测报告

样本编号		姓名	
住院号		性别	
门诊科别		年龄	
病房科别		床位号	

CYP2C19基因检测结果

芯片图	CYP2C19基因型	代谢型	检测结果
	*1/*1(636 GG, 681 GG)	快	+
	*1/*2(636 GG, 681 GA)	快	–
	*1/*3(636 GA, 681 GG)	快	–
	*2/*2(636 GG, 681 AA)	慢	–
	*3/*3(636 AA, 681 GG)	慢	–
	*2/*3(636 GA, 681 GA)	慢	–

备注

以下内容供参考

经由CYP2C19代谢的药物，血药浓度会受CYP2C19代谢型影响，代谢快，则血药浓度低，药物的疗效下降，但前体药物的疗效增加，甚至出现毒副作用。药物在体内的过程非常复杂，影响药物疗效和毒副反应的因素也很多，具体到每个药物、每个患者，情况都不相同。医生必须根据患者的身体状况、临床表现、本检测结果及其它检测项目情况，结合自己的专业判断确定具体的用药方案。不能将本检测结果作为用药的唯一依据。

报告日期

病例报告

Case 1

- PCI术后服用氯吡格雷。术后4年间，多次发生血管狭窄和血栓等不良事件，并更换支架五次。
- 经检测，该患者CYP2C19 基因型为*2*2，为慢代谢型。
- 停用氯吡格雷，改用普拉格雷，再未发生不良事件。

Case 2

- PCI术后服用氯吡格雷。术后两年间发生缺血性胸痛和心肌梗死各一次。
- 经检测，该患者CYP2C19 基因型为*2*2，为慢代谢型。
- 冠状动脉搭桥手术，手术成功，术后一直服用阿司匹林。

Ronald J, Heart Lung and Circulation, 2011, 20:657-658

抗血小板治疗个体化

- 氯吡格雷标准剂量vs高剂量
- 基因多态性检测
  - 快代谢者和超快代谢者选择氯吡格雷
  - 中间代谢者合慢代谢者选择普拉格雷或者替卡格雷
- 血小板反应性检测
  - 血小板反应性正常者→ 氯吡格雷
  - 血小板高反应性者 →普拉格雷或者替卡格雷
- 完全避免
  - 可供选择:普拉格雷，替卡格雷

Thank you!

