

临床护理

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.000087

CYP2D6*10 遗传基因多态性对美托洛尔在围术期保护老年患者心脏功能的影响

刘芳, 张燕, 先小纲

(四川省内江市隆昌县人民医院麻醉科, 内江 642150)

【摘要】目的:探讨 CYP2D6*10 等位基因 C188T 单核苷酸多态性与美托洛尔(metoprolol, METO)在老年患者围术期心脏保护疗效的关系。**方法:**筛选 323 名应用 METO 预防围术期心血管风险的老年患者, 采用 PCR-RFLP 法分析 CYP2D6*10 基因 C188>T 位点的单核苷酸多态性。患者用药后进行围术期临床跟踪, 观测并评价 METO 治疗围术期血流动力学紊乱发生事件及个体服药后 3 h 肌钙蛋白的变化。**结果:**本研究人群中 CYP2D6*10 外显子 C188>T 位点的 C、T 等位基因频率分别为 48.76% 和 51.24%, CYP2D6*10 基因野生型纯合子 C/C、杂合子 C/T、突变型纯合子 T/T 基因型人群分布分别为 24.76%、47.98% 和 27.24%, 其频率分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡定律。统计结果显示基因型与心血管术后均有中等强度关联。对心肌梗死风险因子的散点图按照基因多态性分布情况进行分组后分析发现, 其心血管风险增高与 CYP2D6*10 遗传多态性存在相关的基因剂量效应。**结论:**CYP2D6*10 基因多态性(C188>T)可能导致 METO 在老年患者围术期中的心脏保护功能增强, 同时还可能带来心动过缓的副作用。CYP2D6*10 突变与 METO 疗效密切相关, 可致患者用药后收缩压显著改变, 临床应关注 CYP2D6 遗传多态性对 METO 疗效的影响。

【关键词】基因多态性; CYP2D6; 美托洛尔; 老年; 心血管**【中图分类号】**R969.1**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2013-04-02

Effects of CYP2D6*10 genetic polymorphism on the protection of metoprolol for the elder during perioperative period

Liu Fang, Zhang Yan, Xian Xiaogang

(Department of Anesthesiology, People's Hospital of Sichuan Longchang County)

【Abstract】Objective: To investigate the relationship between CYP2D6*10 gene C188T single nucleotide polymorphism and metoprolol efficacy in elderly patients in the perioperative cardiac protection. **Methods:** Totally 323 elderly patients were screened out before surgery and single nucleotide polymorphism of CYP2D6*10 gene C188>T site was analyzed by PCR-RFLP method. After metoprolol treatment, incidence of hemodynamic instability during perioperative period and changes in troponin levels at 3 h

作者介绍:刘芳, Email: ssdmx008163.com,

研究方向: 围术期老年生理功能调控、器官保护研究。

通信作者:张燕, Email: touyi2013cz@163.com。**优先出版:** <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyxh.000087.html>

一的营养支持途径使作者无法比较不同营养支持方式对临床结局的影响, 这方面还有待进一步深入研究。

参 考 文 献

- [1] Jie B, Jiang ZM, Nolan MT, et al. Impact of nutritional support on clinical outcome in patients at nutritional risk: a multicenter, prospective cohort study in Baltimore and Beijing teaching hospitals[J]. Nutrition, 2010, 26(11): 1088-1093.
- [2] Kondrup J, Rasmussen HH, Hamberg O, et al. Nutritional risk screening (NRS 2002): a new method based on an analysis of controlled clinical trials[J]. Clin Nutr, 2003, 22(3): 321-336.
- [3] 陈春明. 中国成人体重指数分类的推荐意见简[J]. 中华预防医学杂志, 2001, 35(5): 349-350.
- [4] 蒋朱明. 我国肠外肠内营养支持现状及推广合理应用的循证基础[J]. 临床外科杂志, 2008, 16(12): 793-794.
- [5] Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, et al. CDC definitions for nosocomial infections, 1988[J]. Am J Infect Control, 1988, 16(3): 128-140.
- [6] Fang S, Long J, Tan R, et al. A multicentre assessment of malnutrition, nutritional risk, and application of nutritional support among hospitalized patients in Guangzhou hospitals[J]. Asia Pac J Clin Nutr, 2013, 22(1): 54-59.
- [7] Yi F, Ge L, Zhao J, et al. Meta-analysis: total parenteral nutrition versus total enteral nutrition in predicted severe acute pancreatitis[J]. Intern Med, 2012, 51(6): 523-530.

(责任编辑: 唐宗顺)

after drug administration were observed. **Results:** C and T alleles frequencies were 48.76% and 51.24% in all patients, respectively. The wild-type homozygotes C/C, heterozygous C/T, mutant homozygous T/T genotype frequencies were 24.76%, 47.98%, 27.24%. All the frequency distribution was accord with the Hardy-Weinberg equilibrium. Statistical results showed that genotypes were moderately associated with postoperative cardiovascular surgery. CYP2D6*10 genetic polymorphisms showed that CYP2D6 genetic polymorphism were associated with increased cardiovascular risk in a dose depended manner. **Conclusion:** CYP2D6*10 gene polymorphism (C188>T) mutation may lead to reduced metabolism of metoprolol in elderly patients during the perioperative protection. CYP2D6*10 mutation and the efficacy of metoprolol is closely related, which can significantly change systolic blood pressure of patients after drug administration. Doctors should be concerned about the impact of CYP2D6 genetic polymorphism on the efficacy of metoprolol in the future.

【Key words】gene polymorphism; CYP2D6; metoprolol; elder; cardiovascular

药物代谢个体差异的一个重要因素是不同种族和个体间存在着遗传基因多态性。细胞色素酶 CYP2D6 在人体内介导催化一大批临床药物包括美托洛尔 (metoprolol, METO) 等药物的生物转化, 其遗传多态性主要表现为基因型多态性, 而且基因型决定表型即酶的代谢活性^[1-2]。METO 在人体内主要代谢途径中的去氧甲基化和羟基化部分完全由 CYP2D6 介导。据统计 METO 口服剂量的 70%~80% 通过 CYP2D6 代谢。因此, CYP2D6 酶活性是影响 METO 代谢的一个主要因素^[3]。而 CYP2D6 外显子 1 和外显子 9 分别发生 C188D6 和 G42686* 突变则导致了 CYP2D6*10 等位基因的产生。大量研究证实其 CYP2D6 外显子上 C188>T 的点突变引起酶第 34 位氨基酸改变; 研究还表明 C188>T 的突变, 可导致一个 Pro 34→丝氨酸的氨基酸取代, 形成空间结构不稳定的酶并同时降低酶的代谢活性^[4]。由于 METO 的有效性和副作用在个体间的差异较大, 在临床应用中无法预测其真实疗效, 若过度治疗, 易导致严重的副作用^[5-6]。当前, CYP2D6*10 中 C188>T 的多态性与 METO 的疗效关系已成为临床药物应用研究的热点问题。

1 对象与方法

1.1 研究对象

本研究筛选本院自 2007 年 1 月至 2012 年 12 月间的非心脏手术患者 (包括肺叶切除、食道癌、胃癌根治术等)。本研究所有病例按计算机随机抽样的方法, 合计共纳入 323 例。所以纳入病例民族为汉族且病例相互之间无血缘关系, 其中男 160 例, 女 163 例, 年龄范围 75~85 岁, 平均年龄 (79.1±6.3) 岁。排除符合 Framingham 心力衰竭诊断标准^[7]的心衰; 排除近 6 个月有同类的 β 受体阻滞剂用药史的患者或服用 METO 类药物有禁忌证的患者; 排除术前存在心率 (heart rate, HR)<55 次/min、重度房室传导阻滞、充血性心衰、

支气管痉挛的患者; 排除对 β 受体阻滞类药物不耐受或有过敏史的患者。所有患者均于麻醉前给予 METO 0.02 mg/kg 静脉缓慢注射, 并要求于 5 min 内注完。另外, 所有纳入患者的一般资料 [年龄、性别、体质量和美国麻醉医师协会 (American Society of Anesthesiology, ASA) 分级、术前心血管病史及治疗用药情况、手术种类及时间等] 经过比较, 个体相互之间的差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

1.2 基因分型

每名临床研究的受试者与试验前 3 d 抽取静脉血 3 ml, 乙二胺四乙酸 (EDTA) 抗凝用于基因测定。全血 DNA 抽提以酚氯提取-乙醇沉淀法进行。本方法从全血样本中提取基因组 DNA, 若 $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}}>1.6$, 表明 DNA 纯度符合要求。CYP2D6 基因的多态性基因分型按 PCR 限制性酶切方法 (PCR-RFLP 法) 进行。其中 G>T 基因分析上游引物: 5'-CCATTTGCTAGTGAGGCA GGTAT-3', 下游引物: 5'-CACCA-TCCATGTTTGCTTCTGGT-3'。PCR 反应条件如下, 94℃预变性 5 min, 然后每一循环 94℃变性 30 s, 57℃退火 30 s, 72℃延伸 30 s, 共 32 个循环, 最后 72℃延伸 6 min。PCR 完成后, 取 10 μl 产物用限制性酶切方法进行基因分型。电泳分析 PCR 扩增产物片段长度为 272 bp。由于研究使用的 Hph I 限制性内切酶在 272 bp 片段上本身就有个酶切位点, 如果出现突变, 在 T188 位点上会再出现酶切位点, 因此可以通过电泳直接鉴别。

1.3 疗效评价

所有患者的手术麻醉方式与麻醉用药情况均相同, 并在麻醉诱导前局麻下行桡动脉穿刺置管连续监测血压。疗效观察指标为用药后各组围术期血流动力学紊乱发生率 [包括 HR 和收缩压 (systolic blood pressure, SBP)] 和手术开始后 3 h (时间点) 血肌钙蛋白 T 的变化, 术中在一定的麻醉深度下使用 METO 调节 HR, 使心率控制于 50~80 次/min。本试验设立的血流动力学不稳定指标为 HR>90 次/min 或 <50 次/min, SBP>180 mmHg 或 <90 mmHg。采用心肌肌钙蛋白快速测定标准 ELISA 试剂盒 (南京强欣生物技术有限公司) 检测人体心肌肌钙蛋白, 具体方法详见说明书。

1.4 统计分析

采用 SPSS 19.0 统计软件进行统计学分析, 计量资料用均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用单因素方差分析。

计数资料用百分构成比表示,采用卡方检验。同时,卡方检验用于分析 CYP2D6*10 位点的基因多态性分布是否符合 Hardy-Weinberg 平衡。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

表 1 结果显示,在本研究所调查的 323 例患者中存在 CYP2D6*10 外显子 C>T 基因多态性,其中野生型纯合子(W/W)比例为 24.76%,杂合子(W/M)比例为 47.98%,突变型纯合子(M/M)的比例为 27.24%。C188>T 突变基因频率为 51.24%。其基因频率分布在男性和女性中无统计学差异($P>0.05$)。经 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律检验,C188>T 位点基因多态性在该人群分布符合遗传平衡,具有群体代表性。

表 1 323 例患者中 CYP2D6*10 等位基因和基因型频率

Tab.1 CYP2D6*10 allele and genotype frequencies in 323 patients

性别(n)	基因型			基因频率		χ^2	P 值
	W/W	W/M	M/M	W	M		
男(164)	42	76	46	48.78	51.22	0.86	0.35
女(159)	38	79	42	48.74	51.26	0.51	0.94
合计	80	155	88	48.76	51.24	0.50	0.48

血流动力学紊乱事件统计结果显示野生型纯合子(W/W)组 SBP>180 mmHg 发生率明显高于突变纯合子(M/M)组($P<0.05$)。SBP<90 mmHg 发生率各组间差异无统计学意义($P>0.05$)。但是,当 HR<50 次/min 时,突变纯合子(M/M)组和杂合子(W/M)组的发生率分别与野生型纯合子(W/W)组相比均显著降低($P<0.05$)且其发生率有增加的趋势(表 2)。

表 2 围术期血流动力学紊乱事件发生统计

Tab.2 Incidence of hemodynamic instability during perioperative period

血流动力学数据	心血管事件发生例数(%)				
	W/W (n=80)	W/M (n=155)	P 值	M/M (n=88)	P 值
HR>90次/min	31(38.75)	55(35.48)	0.72	28(31.81)	0.44
HR<50 次/min	9(11.25)	60(38.71) ^a	0.00	8(40.91)	0.83
SBP>180 mmHg	39(48.75)	66(42.58)	0.45	21(23.86) ^a	0.00
SBP<90 mmHg	19(23.75)	39(25.16)	0.93	25(28.41)	0.61

注:a, $P<0.05$

肌钙蛋白 T(car-diac troponin T, cTnT)可作为心脏手术中心肌梗死症状出现的指示物,cTnT 是目前诊断心肌损伤敏感性较高、且最具特异性的标志物之一。所有患者在麻醉前检测血清 cTnT 含量,其结果均<0.1 $\mu\text{g/L}$ 。研究还发现,随着各组患者中 CYP2D6*10 突变频率比例的增加,cTnT 水平逐渐降低,直至 M/M 组中部分患者围术期 cTnT 水平为阴性(<0.1 $\mu\text{g/L}$)。突变纯合子(M/M)组与野生型纯合子(W/W)组相比,患者 cTnT 水平显著性降低($P<0.01$)(图 1)。

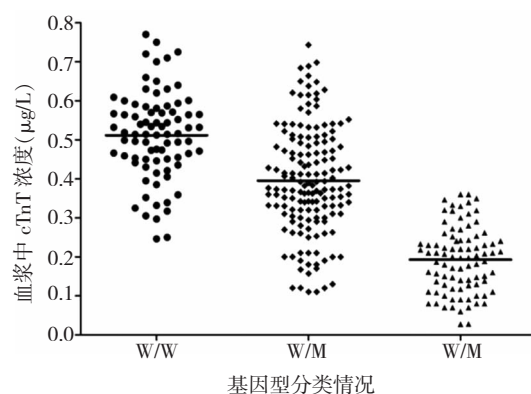


图 1 手术开始 3 h 后血清 cTnT 分布水平散点图

Fig.1 Distribution of serum levels of troponin T (cTnT) at 3 h after operation

表 3 cTnT 发生统计数据列表

Tab.3 Data of troponin T (cTnT)

组别	例数(n)	cTnT($\mu\text{g/L}$)	P 值	F 值
W/W	80	0.51 $\pm$ 0.11	0.00	241
W/M	155	0.40 $\pm$ 0.14	0.13	233
M/M	88	0.19 $\pm$ 0.08 ^a	0.00	166

注:a, $P<0.05$

3 讨论

与白种人群中的基因型分布情况不同,中国人群中最常见的 CYP2D6 基因型是 CYP2D6*10。CYP2D6*10 与野生型相比,其细胞色素酶 CYP2D6 外显子 1 上 C188D6 的点突变引起蛋白酶第 34 位 Pro(P)变成 Ser(S), (G4268)蛋的碱基突变使第 486 位 Ser(S)变为 Thr(T),形成活性低且不稳定的 CYP2D6 代谢酶^[8-9]。临床研究中一般将携带 2 个导致酶活性降低的等位基因(CYP2D6*10)者称为中强代谢者(intermediate meta-bolizer, IM)。C188>T 已被证实为引起功能改变的主要因素,CYP2D6*10 可致酶活性减弱及 METO 能力代谢减弱,体内滞留时间延长。

老年非心脏手术患者常并存有冠心病或具有其他冠心病的高危因素(吸烟、高胆固醇血症、高血压等),在围术期对手术和麻醉的应激反应常表现为高血流动力学反应(心动过速和血压急剧升高),容易发生心肌缺血和梗塞。METO 术前应用可以减少冠脉搭桥和老年非心脏手术患者术后心肌缺血、心肌梗塞和严重心律失常等心血管事件的发生。但是,目前对该 CYP2D6*10 突变与对 METO 保护老年患者在围术期心脏保护功能影响的相关性缺乏研究。本文通过观察老年非心脏手术患者围术期血流动

力学、血清心肌钙蛋白的变化,探讨围术期应用 METO 的心肌保护作用是否受到 CYP2D6*10 多态性的影响。

一些研究表明白种人与黄种人间 CYP2D6*10 等位基因突变频率存在差异^[9-10]。本文通过对我国汉族人群较大样本的临床研究表明,CYP2D6*10 中 C188>T 位点基因多态性在老年患者中的突变频率较高(51.24%),而白种人的 C188>T 位点突变频率约为 5%。Baudhuin 等^[2]调研结果显示:在 19 例应用 METO 治疗心力衰竭的白种人患者中,CYP2D6 和 UGT1A1 基因多态性与 METO 治疗心衰的疗效不具有相关性。笔者认为很可能是其样本量较小且其研究的人群中 CYP2D6 变异的比例较少或存在种族差异的缘故。而且,本研究结果与 Yuan 等^[12]人的系列研究结果一致,其研究表明在 300 例中国汉族中老年高血压患者中,相同剂量的 METO 因患者具有不同的 CYP2D6 和 β 肾上腺素受体基因多态性而具有不同疗效。另外,由于开胸手术创伤性和创伤面较大,围术期的相关应激反应强烈,老年患者虽然各系统器官基本功能尚能维持正常,但其身体的储备能力和对应激反应的代偿能力却在持续下降。一般临床中围术期应用 METO 可以控制合适心率有助患者保护心脏功能,降低心脏并发症的发生率;相对而言,老年患者预防性应用 METO 可能更优势,其可有效改善围手术期 HR、血压的变化,降低老年人自身因高血压、高血脂、动脉硬化等易发生心肌缺血、损伤的风险。

cTnT 是心肌所特有的肌肉收缩调节蛋白,其结构不同于其他肌肉组织,在心肌系统发病后血中浓度迅速升高,具有快速、灵敏检测心肌损伤等特点^[13-14]。根据文中的数据可以提出以下假设,即 CYP2D6*10 对 METO 的药代动力学及 cTnT 的调节(疗效)可能存在基因剂量效应。而 Fux 等^[15]人同样发现 METO 存在基因剂量效应^[14]。并且,CYP2D6*10 变异对心血管有保护作用,其内源性机制可能是通过减缓代谢,升高体内 METO 浓度来实现的。值得注意的是,METO 可产生镇静、镇痛和抗焦虑作用,并可减少吸入麻醉剂的最低肺泡有效浓度等,推测其可能发生深麻醉和严重低血压、心动过缓。本研究发现在 CYP2D6*10 变异人群中 METO 代谢减慢,其心动过缓的发生率显著上升,支持了以上推测。因此,通过对老年特殊患者建立药代动力学模型等定量药理学措施可以用来设计更加个性化的 METO 治疗剂量。综上所述,有待进一步扩大样本量及多中心的临床检验确认,CYP2D6*10 突变可能在将来成为指导

临床个体化治疗的标记基因之一。

参 考 文 献

- [1] Cohen M, Sadhasivam S, Vinks AA. Pharmacogenetics in perioperative medicine[J]. Curr Opin Anaesthesiol, 2012, 25(4): 419-427.
- [2] Baudhuin LM, Miller WL, Train L, et al. Relation of ADRB1, CYP2D6, and UGT1A1 polymorphisms with dose of, and response to, carvedilol or metoprolol therapy in patients with chronic heart failure[J]. Am J Cardiol, 2010, 106(3): 402-408.
- [3] Al-Hadidi HF, Irshaid YM, Rawashdeh NM. Metoprolol alpha-hydroxylation is a poor probe for debrisoquine oxidation (CYP2D6) polymorphism in Jordanians[J]. Eur J Clin Pharmacol, 1994, 47(4): 311-314.
- [4] Johansson I, Oscarson M, Yue QY, et al. Genetic analysis of the Chinese cytochrome P4502D locus: characterization of variant CYP2D6 genes present in subjects with diminished capacity for debrisoquine hydroxylation[J]. Mol Pharmacol, 1994, 46(3): 452-459.
- [5] Yuan H, Huang Z, Yang G, et al. Effects of polymorphism of the beta (1) adrenoreceptor and CYP2D6 on the therapeutic effects of metoprolol[J]. J Int Med Res, 2008, 36(6): 1354-1362.
- [6] Ismail R, Teh LK. The relevance of CYP2D6 genetic polymorphism on chronic metoprolol therapy in cardiovascular patients[J]. J Clin Pharm Ther, 2006, 31(1): 99-109.
- [7] Mahmood SS, Wang TJ. The epidemiology of congestive heart failure: Contributions from Framingham heart study[J]. Global Heart, 2013, 8(1): 77-82.
- [8] Veiga MI, Asimus S, Ferreira PE, et al. Pharmacogenomics of CYP2A6, CYP2B6, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4, CYP3A5 and MDR1 in Vietnam[J]. Eur J Clin Pharmacol, 2009, 65(4): 355-363.
- [9] Rau T, Wuttke H, Michels LM, et al. Impact of the CYP2D6 genotype on the clinical effects of metoprolol: a prospective longitudinal study[J]. Clin Pharmacol Ther, 2009, 85(3): 269-272.
- [10] Zhong Y, Zheng X, Miao Y, et al. Effect of CYP2D6*10 and APOE polymorphisms on the efficacy of donepezil in patients with Alzheimer's disease[J]. Am J Med Sci, 2013, 345(3): 222-226.
- [11] Zuo J, Xia D, Jia L, et al. Genetic polymorphisms of drug-metabolizing phase I enzymes CYP3A4, CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 in Han, Uighur, Hui and Mongolian Chinese populations[J]. Pharmazie, 2012, 67(7): 639-644.
- [12] Yuan H, Huang Z, Yang G, et al. Effects of polymorphism of the β 1 adrenoreceptor and CYP2D6 on the therapeutic effects of metoprolol[J]. J Int Med Res, 2008, 36(6): 1354-1362.
- [13] Nagarajan V, Hernandez AV, Tang WH. Prognostic value of cardiac troponin in chronic stable heart failure: a systematic review[J]. Heart, 2012, 98(24): 1778-1786.
- [14] Bingisser R, Cairns C, Christ M, et al. Cardiac troponin: a critical review of the case for point-of-care testing in the ED[J]. Am J Emerg Med, 2012, 30(8): 1639-1649.
- [15] Fux R, Morike K, Prohmer AM, et al. Impact of CYP2D6 genotype on adverse effects during treatment with metoprolol: a prospective clinical study[J]. Clin Pharmacol Ther, 2005, 78(4): 378-387.

(责任编辑:关蕴良)