

注射用丹参多酚酸联合双联抗血小板药物对CYP2C19基因变异的颈动脉支架术后患者的治疗作用研究

高灵利, 李晓晖*, 方建, 李香, 陈文武

河南大学第一附属医院, 河南 开封 475001

摘要: **目的** 分析注射用丹参多酚酸联合双联抗血小板药物对CYP2C19基因变异的颈动脉支架植入术后患者的治疗作用。**方法** 选取河南大学第一附属医院2014年1月—2017年8月96例CYP2C19基因突变且植入颈动脉支架的患者为研究对象, 抽签随机分为丹参多酚组与对照组, 每组48例。对照组患者术后接受双联抗血小板(阿司匹林100 mg qd+氯吡格雷75 mg qd)+降脂(阿托伐他汀钙片20 mg qn)治疗, 丹参多酚组除上述治疗外, 术前iv注射用丹参多酚酸0.13 g, 术后每日1次, 每次0.13 g, 共应用14 d。观察两组治疗前及治疗后超敏C反应蛋白(hs-CRP)、白介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、内皮素-1(ET-1)、丙二醛(MDA)、一氧化氮(NO)、超氧化物歧化酶(SOD)、亲环素A(CyPA)、8-异前列素F $_{2\alpha}$ (8-iso-PGF $_{2\alpha}$)水平。术后随访1年, 记录主要负性临床事件。**结果** 治疗前两组上述指标无统计学差异; 治疗后两组NO、SOD高于治疗前, hs-CRP、IL-6、TNF- α 、ET-1、MDA、CyPA、8-iso-PGF $_{2\alpha}$ 均低于治疗前, 同组治疗前后比较差异有统计学意义($P<0.05$); 且治疗后丹参多酚组NO、SOD高于对照组, hs-CRP、IL-6、TNF- α 、ET-1、MDA、CyPA、8-iso-PGF $_{2\alpha}$ 低于对照组, 组间差异有统计学意义($P<0.05$)。丹参多酚组随访期间主要负性临床事件显著低于对照组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 注射用丹参多酚酸联合双联抗血小板治疗能够为CYP2C19基因变异的颈动脉狭窄患者在颈动脉支架植入术后提供更好的内皮功能改善, 更大程度地缓解炎症及氧化应激状态, 降低主要负性临床事件发生风险。

关键词: 注射用丹参多酚酸; 支架植入术; CYP2C19; 炎症; 氧化应激; 内皮功能

中图分类号: R969 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2019)02-0245-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2019.02.004

Effect of Salvianolic Acids for Injection combined with dual antiplatelet therapy on patients with CYP2C19 gene mutation after percutaneous carotid artery stenting

GAO Lingli, LI Xiaohui, FANG Jian, LI Xiang, CHEN Wenwu

The First Affiliated Hospital of Henan University, Kaifeng 475001, China

Abstract: **Objective** To analyze the therapeutic effect of Salvianolic Acids for Injection combined with dual antiplatelet therapy on patients with CYP2C19 gene mutation after percutaneous carotid artery stenting. **Methods** A total of 96 cases with mutational CYP2C19 genotypes treated with percutaneous carotid artery stenting in our hospital from January 2014 to August 2017 were enrolled into our study, they were randomly divided into the salvianolate group and the control group, with 48 cases in each group. The level of hs-CRP, IL-6, TNF- α , ET-1, MDA, NO, SOD, CyPA, 8-iso-PGF $_{2\alpha}$ were observed before and after treatment in the two groups. The major adverse clinical events were recorded during the 1-year follow-up period. **Results** There was no statistical difference between the two groups before treatment. After treatment, level of NO and SOD were higher in both groups than pre-treatment, while level of hs-CRP, IL-6, TNF- α , ET-1, CyPA, 8-iso-PGF $_{2\alpha}$ and MDA were lower in both groups than pre-treatment ($P<0.05$). Level of NO and SOD were higher in the salvianolate group than in the control group, while level of hs-CRP, IL-6, TNF- α , ET-1, CyPA, 8-iso-PGF $_{2\alpha}$ and MDA were lower in the salvianolate group than in the control group ($P<0.05$). The major adverse clinical events were significantly higher in the salvianolate group than in the control group ($P=0.028$). **Conclusion** Salvianolic

收稿日期: 2018-10-20

基金项目: 河南省教育厅科学技术研究重点项目(18A310012)

*通信作者: 李晓晖 E-mail: lixiaohui7753@163.com

Acids for Injection combined with dual antiplatelet therapy can provide better endothelial function improvement in patients with CYP2C19 gene mutation after percutaneous carotid artery stenting, and relieve inflammation and oxidative stress better as well, reduce the risk of major adverse clinical events

Key words: Salvianolic Acids for Injection; percutaneous intracoronary implantation; CYP2C19; inflammation; oxidative stress; endothelial function

缺血性脑血管病发病率和致残率均较高,对患者及其家庭、社会经济等带来巨大的影响。在工业化国家,缺血性卒中是第三大最常见的致死原因,第二大引起痴呆的原因,以及最常见的成年期致残原因^[1]。注射用丹参多酚酸主要从丹参中提取而来,具有抗炎抗氧化、抗血小板聚集、保护内皮及抗动脉硬化的作用^[2]。携带 CYP2C19*2 等位基因的缺血性脑卒中患者氯吡格雷治疗效果差,卒中复发的风险增高^[3]。本研究拟研究注射用丹参多酚酸联合双联抗血小板药物对 CYP2C19 基因变异的颈动脉支架术后患者的治疗效果,以探索是否能给此类患者带来更多的临床获益。

1 材料与方法

1.1 对象选取

选取河南大学第一附属医院 2014 年 1 月—2017 年 8 月因严重颈动脉狭窄行颈动脉支架植入术的患者 96 例,采取 PCR-RFLP 法进行 CYP2C19 基因型检测,筛选突变杂合型(中间代谢型,*1/*2、*1/*3)及突变纯合型(慢代谢型,*2/*2、*2/*3、*3/*3)的患者共 96 例为研究对象,随机分为丹参多酚组(注射用丹参多酚酸+双联抗血小板,48 例)及对照组(双联抗血小板,48 例),所有入选患者均签署知情同意书,并经过伦理委员会批准,两组患者基线水平未见统计学差异。

1.2 治疗方法

所有患者术后均接受双联抗血小板(阿司匹林 100 mg qd+氯吡格雷 75 mg qd)+降脂(阿托伐他汀钙片 20 mg qn)治疗。丹参多酚组除上述治疗外,术前 iv 注射用丹参多酚酸(天津天士力之骄药业有限公司,规格:每支装 0.13 g,含丹参多酚酸 100 mg,批号 20130326、20150816)0.13 g,术后每日 1 次,每次 0.13 g,共应用 14 d。全部患者入院后均经脑血管造影(证实存在颈内动脉狭窄,符合手术指征,经术前评估及患者知情同意,予血管内支架成形术)。

1.3 观察指标

观察两组治疗前及治疗后超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)、白介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、内皮素-1(ET-1)、丙二醛(MDA)、一氧化氮(NO)、

超氧化物歧化酶(SOD)、亲环素 A(CyPA)、8 异前列腺素 F₂ α (8-iso-PGF₂ α)水平。

1.4 随访

术后电话和门诊随访 1 年,记录 2 组主要负性临床事件(死亡,短暂性脑缺血发作,脑梗死,颈动脉支架内再狭窄)。术后 1 年复查颈动脉造影或 CTA,管腔内径较 1 年前手术后管腔内径丧失 50% 以上定义为再狭窄。

1.5 统计学方法

选用统计学软件 SPSS 20.0 对研究数据进行分析和处理,计数资料采取率表示,计量资料行 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间对比进行 χ^2 检验和 t 值检验。

2 结果

2.1 两组 hs-CRP、IL-6、TNF- α 比较

两组治疗前 hs-CRP、IL-6、TNF- α 比较无统计学意义;治疗后两组 hs-CRP、IL-6、TNF- α 均低于治疗前,同组治疗前后比较差异有统计学意义($P < 0.05$);丹参多酚组 hs-CRP、IL-6、TNF- α 低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 两组 ET-1、MDA、NO、SOD 比较

两组治疗前 ET-1、MDA、NO、SOD 比较无统计学意义;治疗后两组 ET-1、MDA 低于治疗前,NO、SOD 高于治疗前,同组治疗前后比较差异有统计学意义($P < 0.05$);丹参多酚组 ET-1、MDA 低于对照组,NO、SOD 高于对照组,组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 两组 CyPA、8-iso-PGF₂ α 比较

两组治疗前 CyPA、8-iso-PGF₂ α 比较无统计学意义;治疗后两组 CyPA、8-iso-PGF₂ α 低于治疗前,同组治疗前后比较差异有统计学意义($P < 0.05$);丹参多酚组 CyPA、8-iso-PGF₂ α 低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 两组住院及随访期间负性临床事件比较

丹参多酚组住院及随访期间主要负性心血管事件显著低于对照组,差异有统计学意义($P = 0.028$)。见表 4。

3 讨论

动脉硬化可引起血管狭窄甚至闭塞,或者斑

表1 两组hs-CRP、IL-6、TNF-α比较

Table 1 Comparison on hs-CRP, IL-6 and TNF-α between two groups

组别	n/例	时间	hs-CRP/(mg·L ⁻¹)	IL-6/(μg·L ⁻¹)	TNF-α/(μg·L ⁻¹)
对照	48	治疗前	18.21±3.51	21.02±6.64	13.36±3.08
		治疗后	9.60±1.94*	15.35±2.08*	8.16±1.86*
丹参多酚	48	治疗前	19.95±3.67	22.84±6.61	14.10±3.40
		治疗后	5.78±3.30**	9.37±1.44**	5.51±2.04**

与同组治疗前比较: *P<0.05; 与对照组治疗后比较: #P<0.05

*P<0.05 vs same group before treatment; *P<0.05 vs control group after treatment

表2 两组MDA、SOD、NO、ET-1比较

Table 2 Comparison on MDA, SOD, NO and ET-1 between two groups

组别	n/例	时间	MDA/(mmol·L ⁻¹)	SOD/(μU·L ⁻¹)	NO/(μmol·L ⁻¹)	ET-1/(ng·L ⁻¹)
对照	48	治疗前	6.59±1.23	87.51±10.16	54.09±9.48	75.48±12.21
		治疗后	4.96±0.99*	107.87±8.59*	72.24±9.21*	57.33±6.63*
丹参多酚	48	治疗前	7.07±1.35	90.11±10.05	51.76±7.48	78.21±10.06
		治疗后	3.61±1.08**	144.24±10.40**	84.21±11.01**	42.00±6.96**

与同组治疗前比较: *P<0.05; 与对照组治疗后比较: #P<0.05

*P<0.05 vs same group before treatment; *P<0.05 vs control group after treatment

表3 两组CyPA、8-iso-PGF2α比较

Table 3 Comparison on CyPA and 8-iso-PGF2α between two groups

组别	n/例	时间	CyPA/(ng·mL ⁻¹)	8-iso-PGF2α/(pg·mL ⁻¹)
对照	48	治疗前	7.89±2.03	651.21±303.16
		治疗后	4.91±0.93*	309.35±158.12*
丹参多酚	48	治疗前	8.31±2.14	634.54±297.61
		治疗后	3.31±1.01**	222.57±112.34**

与同组治疗前比较: *P<0.05; 与对照组治疗后比较: #P<0.05

*P<0.05 vs same group before treatment; *P<0.05 vs control group after treatment

表4 两组住院及随访期间主要负性心血管事件比较

Table 4 Comparison on major negative cardiovascular events between two groups during hospitalization and follow-up

组别	n/例	主要负性临床事件				
		死亡/例	脑梗死/例	再狭窄/例	短暂性脑缺血发作/例	总发生率/%
对照	48	2	7	4	7	20
丹参多酚	48	1	3	2	4	10*

与对照组比较: *P<0.05

*P<0.05 vs control group

块脱落堵塞远端血管引起相应供血区域急性缺血。由颈部动脉硬化引起的卒中占到所有卒中的70%~80%。本研究发现注射用丹参多酚酸联合双联抗血小板治疗能够为CYP2C19基因变异的颈动脉狭窄患者在颈动脉支架植入术后提供更好的临床获益,改善内皮功能,缓解炎症及氧化应激状态,降低主要负性临床事件发生风险,值得临床推广。

本研究中除了传统的炎症氧化应激及内皮功

能指标,8-iso-PGF2α是因细胞膜上脂化花生四烯酸受自由基脂质过氧化反应而生成的终末产物,生成和释放相对较稳定,是反映机体内氧化程度的良好指标^[4]。CyPA属于亲环素家族,是免疫抑制剂环孢素A的胞内受体,其在细胞内信号传导、蛋白活性的调节等方面具有重要作用,而且还是一种氧化应激诱导因子,可在氧化应激环境下由血管平滑肌细胞等分泌至胞外^[5]。

CYP2C19*2基因位点的多态性可能是颈内动脉支架植入术后不良事件发生的危险因素^[6]。CYP2C19基因快代谢型的短暂性脑缺血发作的病人90 d内不易发生脑梗死,CYP2C19基因慢代谢型病人容易发生脑梗死;急性脑梗死CYP2C19基因慢代谢型病人容易发生进展,而CYP2C19基因快代谢型的病人不易发生进展。CYP2C19基因多态性可能与短暂性脑缺血发生脑梗死和脑梗死进展有相关性^[7],所以推荐对接受介入治疗的患者进行CYP2C19基因型检测。

注射用丹参多酚酸主要采用的分析方法有紫外分光光度法、近红外光谱法、一测多评法、比色法等,提取工艺主要为加热回流提取、温浸法、渗漉法、酶法提取等,纯化工艺为大孔吸附树脂纯化法、ZnCl₂沉淀法、超滤法等^[8]。注射用丹参多酚酸中主要活性成分:丹酚酸B、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸D、丹参素、原儿茶醛、丹酚酸Y等^[9-10]。丹参多酚酸是新一代的天然抗氧化剂,其以浓度相关的方式提升内皮细胞活性,增强体内抗氧化剂SOD的活性,并且能够促进内皮细胞释放NO^[11]。

本研究发现,注射用丹参多酚酸联合双联抗血小板治疗能够为CYP2C19基因变异的患者在颈动脉支架植入术后提供更好的内皮功能改善,更大幅度地缓解炎症及氧化应激状态,降低主要负性临床事件发生风险。既往基础研究也对丹参多酚酸抗炎抗氧化及保护内皮功能的作用进行了机制阐述。丹参多酚酸可以有效抑制大鼠颈动脉内膜损伤后内膜的增生,抑制炎症反应,其机制可能与下调增生内膜LOX-1表达有关^[12]。丹参多酚酸联合血栓通注射可以通过降低氧化应激程度^[13]及上调热休克蛋白表达水平^[14]来有效预防小鼠局部脑缺血再灌注损伤。通过观察丹参多酚酸对大鼠脑缺血再灌注损伤后线粒体ATP酶活性及形态学的影响,结果发现丹参多酚组神经细胞变性坏死程度、脑梗死面积较缺血再灌注组明显减轻;与缺血再灌注组相比,丹参多酚组线粒体丙二醛含量下降($P < 0.05$)和线粒体Na⁺/K⁺ ATP酶、Ca²⁺ ATP酶、Mg²⁺ ATP酶活性升高($P < 0.05$)^[15]。还有研究发现丹参多酚酸可以通过降低炎症反应及激活Nrf2/HO-1信号通路来保护大脑中动脉闭塞的1型糖尿病大鼠的脑缺血损伤^[16]。而且丹参多酚酸可以改善卒中模型大鼠后期的功能恢复情况,治疗脑部缺血损伤的机制可能与激活VEGF、BDNF-TrkB-CREB信号通路相关^[2]。丹参多酚酸还可以通过细胞因子水平调节炎

症反应来抑制动脉粥样硬化^[17]。

丹参多酚酸治疗合并2型糖尿病脑梗死,可明显提高患者抗氧化能力,改善血管内皮功能,并有效减轻神经功能损伤,促进患者生活能力提高^[18]。还有研究人员通过研究丹参多酚酸与阿司匹林联合应用抑制血小板聚集作用和对凝血功能的影响,发现丹参多酚酸联合阿司匹林可进一步增强阿司匹林抗二磷酸腺苷、胶原、花生四烯酸和凝血酶诱导血小板聚集的效果,且降低阿司匹林作用的凝血酶时间,即增强抗凝效果,并且不增加阿司匹林的出血风险^[19]。一项新近的荟萃分析发现急性脑梗死患者使用丹参多酚酸治疗,能够明显提高临床疗效,有效促进神经功能恢复,提高日常生活行为能力,并显著改善卒中后认知功能,值得临床推广。

综上所述,注射用丹参多酚酸联合双联抗血小板治疗能够为CYP2C19基因变异的患者在颈动脉支架植入术后提供更好的内皮功能改善,更大幅度地缓解炎症及氧化应激状态,降低主要负性临床事件发生风险。

参考文献

- [1] Saw J. Carotid artery stenting for stroke prevention [J]. Can J Cardiol, 2014, 30(1): 22-34.
- [2] Meng C, Zhuo X Q, Xu G H, et al. Protection of salvianolate against atherosclerosis via regulating the inflammation in rats [J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2014, 34(5): 646-651.
- [3] 张建平, 李志强, 贺显君, 等. CYP2C19基因多态性与氯吡格雷治疗缺血性卒中中复发风险的相关性研究 [J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2018, 32(2): 152-154.
- [4] Pop B, Niculae A Ş, Pop T L, et al. Individuals with autism have higher 8-Iso-PGF2 α levels than controls, but no correlation with quantitative assay of Paraoxonase 1 serum levels [J]. Metab Brain Dis, 2017, 32(6): 1943-1950.
- [5] Xue C, Sowden M, Berk B C. Extracellular cyclophilin A, especially acetylated, causes pulmonary hypertension by stimulating endothelial apoptosis, redox stress, and inflammation [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2017, 37(6): 1138-1146.
- [6] 董靖德, 靳凌, 张丽. CYP2C19基因多态性对颈动脉支架植入术后支架内血栓形成的影响[J]. 实用老年医学, 2016, 30(8): 676-678, 682.
- [7] 刘建, 山峰, 徐惠霞. CYP2C19基因多态性与急性缺血性脑血管病的关系 [J]. 青岛大学医学院学报, 2017, 53(04): 444-446, 450.
- [8] 王雨华, 周学谦, 李德坤, 等. 丹参多酚酸类分析方法及

- 制备工艺的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2017, 40(7): 1013-1018.
- [9] Chen X, Guo Y, Hu Y, et al. Quantitative analysis of highly similar salvianolic acids with ^1H qNMR for quality control of traditional Chinese medicinal preparation Salvianolate Lyophilized Injection [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2016, 124: 281-287.
- [10] 田介峰, 阎红, 王瑞静, 等. 丹参多酚酸提取物化学成分的分离与鉴定 [J]. 中草药, 2018, 49(21): 5024-5028.
- [10] Wang J, Xiong X, Feng B. Cardiovascular effects of Salvianolic acid B [J]. *Evid-Based Complement Altern Med*, 2013, 2013: 1-16.
- [11] 王书青, 邱明科, 代玉鑫, 等. 丹参多酚盐对动脉内膜增生的影响及其机制研究 [J]. 中国循证心血管医学杂志, 2016, 8(6): 749-752.
- [12] Wang F J, Wang S X, Chai L J, et al. Xueshuantong injection (lyophilized) combined with salvianolate lyophilized injection protects against focal cerebral ischemia/reperfusion injury in rats through attenuation of oxidative stress [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39(6): 998-1011.
- [13] Zhang J, Lu W, Lei Q, et al. Salvianolate increases heat shock protein expression in a cerebral ischemia-reperfusion injury model [J]. *Neural Regen Res*, 2013, 8(25): 2327-2335.
- [14] 李富强, 王伟, 尹金鹏, 等. 大鼠脑缺血再灌注后线粒体ATP酶活性、形态学变化及丹参多酚酸的保护作用 [J]. 中风与神经疾病杂志, 2018, 35(3): 238-241.
- [15] Wang F, He Q, Wang J, et al. Neuroprotective effect of salvianolate lyophilized injection against cerebral ischemia in type 1 diabetic rats [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2017, 17(1): 258.
- [16] He Q, Wang S, Liu X, et al. Salvianolate lyophilized injection promotes post-stroke functional recovery via the activation of VEGF and BDNF-TrkB-CREB signaling pathway [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(1): 108-22.
- [17] 张建娥. 丹参多酚酸对合并2型糖尿病脑梗死患者抗氧化能力、血管内皮功能及神经功能缺损评分的影响 [J]. 医药论坛杂志, 2018, 39(5): 45-47.
- [18] 耿诗涵, 许梦习, 刘晓光, 等. 注射用丹参多酚酸与阿司匹林联合应用对抗凝效果和出血风险的影响 [J]. 中国药理学杂志, 2018, 53(1): 35-39.
- [19] 刘施, 吴嘉瑞, 蔺梦娟, 等. 基于Meta分析的注射用丹参多酚酸治疗急性脑梗死临床评价 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(8): 202-207.