

## ارزیابی پلی مورفیسم‌های رایج ژن CYP2C19 در بیماران تحت درمان با داروی کلوییدوگرل

بهزاد پوپک<sup>۱</sup>، شهرام تقدیسی<sup>۲</sup>، معید حیدری<sup>۳</sup>، پرویز فلاح<sup>۴</sup>، گلاره خسروی پور<sup>۵</sup>، شیرین بلوری<sup>۶</sup>، طلوع گلکار<sup>۷</sup>

### چکیده

#### سابقه و هدف

کلوییدوگرل، یکی از رایج‌ترین داروهای ضد پلاکتی می‌باشد که در موارد متعددی از جمله جلوگیری از ایسکمی عروقی در بیماران آترواسکلروتیک، سندروم کرونری حاد و نیز پیشگیری از ترومبوز، مورد استفاده قرار می‌گیرد. اما کلوییدوگرل باید توسط آنزیم CYP2C19 به متابولیت فعال خود تبدیل شود تا اثرات خود را داشته باشد که با توجه به پلی مورفیسم آن، اثرات دارو در افراد مختلف متفاوت است. لذا هدف از این مطالعه، بررسی فراوانی پلی مورفیسم‌های رایج ژن CYP2C19 در جمعیت ایرانی به منظور تعیین دوز داروی کلوییدوگرل بود.

#### مواد و روش‌ها

مطالعه به روش مقطعی بر روی بیماران مبتلا به بیماری قلبی عروقی تحت درمان با کلوییدوگرل در تابستان ۱۳۹۲ در آزمایشگاه پیوند انجام شد. پلی مورفیسم‌های ژن CYP2C19 به روش PCR-RFLP مورد بررسی قرار گرفتند. یافته‌ها توسط آزمون کای‌دو و SPSS ۱۳، تجزیه و تحلیل شدند.

#### یافته‌ها

مطالعه روی ۱۵۴ بیمار انجام شد. محدوده سنی بیماران  $12/9 \pm 59$  سال بود که ۵۵/۲٪ آن‌ها مذکر بودند. ۷۲/۷٪ از بیماران ژنوتیپ نرمال، ۲۳/۴٪ موتاسیون به صورت هتروزیگوت و ۳/۹٪ موتاسیون به صورت هموزیگوت آلل ۲ داشتند.

#### نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق نشان می‌دهد که کاربرد توصیه‌های سازمان غذا و دارو در کشور ایران، بیش از کشورهای دیگر می‌تواند مفید باشد. پزشکان باید با شناسایی بیمارانی که خطر بالای پدیده‌های ترومبوز را با درمان داروی ضد پلاکتی پلاویکس دارند، به سمت استفاده از داروهای ضد پلاکتی دیگر و یا استفاده از دوزهای متغیر که دارای متابولیت‌های ضعیفی هستند، مشاوره دهند.

**کلمات کلیدی:** کلوییدوگرل، ژنتیک پلی مورفیسم، CYP2C19 انسانی، بیماری ایسکمیک قلبی

تاریخ دریافت: ۹۲/۶/۱۲

تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۲/۱۲

- ۱- مؤلف مسئول: PhD هماتولوژی و بانک خون - استادیار دانشگاه آزاد اسلامی - واحد پزشکی تهران - تهران - ایران - صندوق پستی: ۱۹۳۹۵/۱۴۹۵
- ۲- متخصص قلب و عروق - استادیار بخش قلب بیمارستان بوعلی دانشگاه آزاد اسلامی - واحد پزشکی تهران - تهران - ایران
- ۳- پزشک عمومی - دانشگاه آزاد اسلامی - واحد پزشکی تهران - تهران - ایران
- ۴- دانشجوی PhD هماتولوژی - دانشکده پیراپزشکی - دانشگاه علوم پزشکی البرز - کرج - ایران
- ۵- پزشک عمومی - مشاور بالینی - آزمایشگاه تشخیص طبی و تخصصی پیوند - تهران - ایران
- ۶- کارشناس ارشد بیوشیمی - آزمایشگاه تشخیص طبی و تخصصی پیوند - تهران - ایران
- ۷- کارشناس ارشد زیست‌شناسی سلولی مولکولی - آزمایشگاه تشخیص طبی و تخصصی پیوند - تهران - ایران

### مقدمه

بیماری‌های قلبی - عروقی، از مهم‌ترین عوامل مرگ و میر در ایران و جهان می‌باشند که شیوع آن‌ها نیز به صورت گسترده در حال افزایش است. لذا برای مقابله با این چالش، داروهای متعددی جهت پیشگیری و یا درمان بیماری‌های قلبی و عروقی پیشنهاد شده است که کلوییدوگرل به دلیل طیف وسیع مصرف و اثرات بالای درمانی، از پرمصرف‌ترین داروهای این گروه می‌باشد.

کلوییدوگرل (پلاویکس) یکی از رایج‌ترین داروهای ضد پلاکتی است که در موارد متعددی از جمله جلوگیری از ایسکمی عروقی در بیماران آترواسکلروتیک، سندروم کرونری حاد و نیز پیشگیری از ترومبوز پس از کارگذاری stent مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱، ۲). به هر حال ۳٪ تا ۴۰٪ بیمارانی که پلاویکس مصرف می‌کنند، پاسخ مناسبی به آن نمی‌دهند (۳). با توجه به میزان دوز مصرف پلاویکس و نوع روش مورد بررسی، مقاومت به پلاویکس در بیمارانی که قادر به مهار تجمع پلاکتی نیستند، تشخیص داده شده است (۴، ۳). اما این دارو به صورت پیش دارو (Pro-drug) است و تبدیل شدن به فرم فعال آن تحت تاثیر سیتوکروم P-450 (CYP2C19) می‌باشد. ژنوتیپ طبیعی CYP2C19 (1\*1) است، از جمله ژنوتیپ‌های جهش یافته هموزیگوت CYP2C19 (2\*2)، CYP2C19 (3\*3) و از جمله ژنوتیپ‌های جهش یافته هتروزیگوت، CYP2C19 (2\*3) می‌باشد. CYP2C19 در متابولیسم بسیاری از داروها نقش اساسی ایفا می‌کند و ظرفیت این سیستم از فرد به فرد متفاوت است که موجب سطوح مختلف سرمی یک دارو با دوز مشابه می‌شود به همین دلیل اثر بخشی و عوارض دارو بین افراد مختلف متفاوت است (۵، ۶). CYP2C19 نقش قابل توجهی در فعال کردن پلاویکس ایفا می‌کند (۷). CYP2C19 توسط ژن CYP2C19 که روی کروموزوم شماره ۱۰ قرار دارد کد می‌شود. تغییر در این ژن، باعث فقدان عملکرد آلل‌های CYP2C19\*2 و CYP2C19\*3 و در نتیجه کاهش این آنزیم می‌شود (۸). تغییرات ژنتیکی چه به صورت هموزیگوت و چه هتروزیگوت در ژن CYP2C19، از تبدیل شدن پلاویکس به متابولیت فعالش جلوگیری می‌کند که می‌تواند شاخص

خوبی برای نشان دادن عملکرد پلاویکس باشد (۹، ۱۰). میزان شیوع این دو آلل در جمعیت‌های مختلفی بررسی شده است اما چنین مطالعه‌ای برای جمعیت ایرانی گزارش نشده است. مطالعه‌هایی که انجام شده نشان می‌دهند که میزان شیوع آلل CYP2C19\*2 بین ۱۱٪ تا ۱۵٪ متغیر می‌باشد (۱۱). در مطالعه‌ای که در جمعیت هند انجام شده، میزان شیوع آلل‌های CYP2C19\*1/1\*1، CYP2C19\*1/2\*2، CYP2C19\*17/17\*17، CYP2C19\*2/2\*2 و CYP2C19\*2/17\*17 به ترتیب ۱۶/۱٪، ۳۱٪، ۱۸/۴٪، ۲۰/۷٪، ۱/۲٪ و ۱۲/۶٪ گزارش شده است. در این مطالعه هم چنین میزان شیوع آلل ناقص CYP2C19\*2 و فقدان آلل CYP2C19\*17 به ترتیب ۴۰/۲٪ و ۱۷/۹٪ گزارش شده است (۱۲).

با توجه به این که مناطق جغرافیایی مختلف، درصد‌های متنوعی از شیوع پلی‌مورفیسم را دارند و در افراد مختلف اثرات دارو با دوز یکسان متفاوت است، FDA خواستار تعیین ژنوتیپ CYP2C19 قبل از تجویز دارو شد. در کشور ما علی‌رغم مصرف بالای این دارو، هیچ آماری از شیوع پلی‌مورفیسم این ژن وجود ندارد، لذا هدف از این مطالعه بررسی فراوانی پلی‌مورفیسم‌های رایج ژن CYP2C19 به منظور تعیین دوز داروی کلوییدوگرل (پلاویکس) در جمعیت ایرانی و مقایسه آن با مطالعه‌های صورت گرفته در کشورهای دیگر بود.

### مواد و روش‌ها

این مطالعه با طراحی cross-sectional بر روی ۱۵۴ بیمار که به کلینیک قلب بیمارستان بوعلی یا مطب مراجعه کردند انجام شد. معیار ورود به این مطالعه مصرف پلاویکس بود. معیار خروج بیمارانی بود که در متابولیسم پلاویکس اختلال ایجاد می‌کنند. در ابتدای ورود، از بیماران فرم رضایت‌نامه کتبی گرفته شد. سپس پرسش‌نامه مطالعه توسط پژوهشگر با مصاحبه از بیمار و استفاده از اطلاعات پرونده تکمیل گردید. از ۱۵۴ بیمار، ۵ میلی‌لیتر خون در لوله‌های حاوی ضد انعقاد EDTA جمع‌آوری شد. لوله‌ها به آزمایشگاه منتقل شده و در آن جا لایه بافی کوت جدا شده و DNA با کیت شرکت فرمتاز

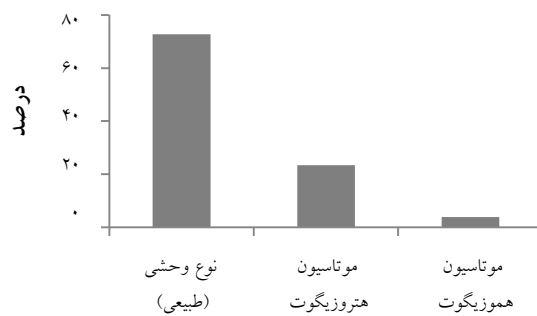


کای دو، ارتباط آماری معناداری بین جنسیت با مقاومت دارویی پلاویکس وجود نداشت. در بیمارانی که پلاویکس مصرف می‌کردند، از لحاظ تغییرات ژنی و مقاومت دارویی، بیمارانی که نرمال بودند ۷۸/۹٪ مرد و ۲۱/۱٪ زن بودند و ۱۰۰٪ بیماران هتروزیگوت، زن بودند.

### بحث

بیماری‌های قلبی عروقی از مهم‌ترین عوامل مرگ و میر در ایران و جهان می‌باشد که شیوع آن نیز به صورت گسترده در حال افزایش است. لذا برای مقابله با این چالش، داروهای متعددی جهت پیشگیری و یا درمان بیماری‌های قلبی و عروقی پیشنهاد شده است که کلوییدوگرل به دلیل طیف وسیع مصرف و اثرات بالای درمانی، از پرمصرف‌ترین داروهای این گروه می‌باشد. تاثیر تغییرات ژنتیکی CYP2C19 بر پاسخ ضد پلاکتی پلاویکس در تعدادی از مطالعه‌ها مشخص شده است. اهمیت ژنوتیپ CYP2C19\*2/\*3 در پلاویکس درمانی توسط اداره غذا و داروی آمریکا (FDA) تاکید شده است، آلل‌های با خطر زیاد برای داروی پلاویکس، CYP2C19\*2 و CYP2C19\*3 می‌باشند که افراد دارای این آلل‌ها مستعد مقاومت به این دارو هستند، مبنی بر این که پلاویکس در جمعیت‌هایی که شیوع بالای آلل‌های با خطر زیاد را دارند باید به دقت تجویز شود (۱۴، ۱۳). کاهش متابولیسم داروی پلاویکس توسط آنزیم موتاسیون یافته CYP2C19، منجر به کمبود غلظت ۳۰ تا ۵۰ درصدی متابولیت فعال و در نتیجه کاهش مهار پلاکت می‌شود (۱۵). در مارس ۲۰۱۰، FDA اعلام کرد که تجزیه کننده‌های ضعیف پلاویکس ممکن است به طور کامل، از حمله قلبی، سکته و مرگ قلبی - عروقی حفاظت نکنند. هم چنین، آزمایش‌هایی برای تعیین مشخصات ژنتیکی CYP2C19 در دسترس می‌باشد که می‌تواند ناکارآمدی بیمار برای تبدیل پلاویکس به فرم فعال آن را پیش‌بینی کند. در یک مطالعه متا-آنالیز که اخیراً توسط اسنوپ و همکارانش انجام شد، آن‌ها به این نتیجه رسیدند که در بیمارانی تحت مطالعه، از هر پنج نفر یک نفر به احتمال زیاد به درمان با پلاویکس پاسخی نمی‌دهد، که این افراد هشت برابر بیشتر دچار عوارض

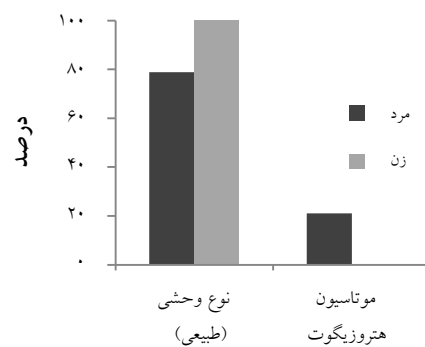
در این تحقیق از ۱۵۴ بیمار، ۱۱۶ نفر آسپرین مصرف می‌کرده‌اند که در ۹۷/۴٪ دوز مصرفی کمتر از ۱۰۰ میلی‌گرم و در ۲/۶٪ دوز مصرفی بیش از ۱۰۰ میلی‌گرم بوده است. در بیمارانی تحت مطالعه، ۷۲/۷٪ نرمال، ۲۳/۴٪ موتاسیون به صورت هتروزیگوت و ۳/۹٪ موتاسیون به صورت هموزیگوت آلل ۲ را داشتند (نمودار ۲).



CYP2C19\*2

نمودار ۲: درصد فراوانی نسبی تغییرات ژنی در بیمارانی تحت

مطالعه



CYP2C19\*2

نمودار ۳: درصد فراوانی میزان مقاومت به پلاویکس و جنسیت بیمارانی: از کل بیمارانی در این مطالعه ۱۰۰ درصد خانم‌ها و ۷۸/۹ درصد مردان ژنوتیپ نرمال داشته و به پلاویکس مقاوم نبودند اما ۲۱/۱ درصد مردان که جهش به صورت هتروزیگوت داشتند، به آن مقاوم بودند.

در بیمارانی تحت مطالعه ۲۴ بیمار مصرف‌کننده داروی پلاویکس بودند، در این بیمارانی ۸۳/۳٪ افراد از لحاظ تغییرات ژنی نرمال و ۱۶/۷٪ افراد برای آلل ۲ ژن CYP2C19 هتروزیگوت بودند (نمودار ۳). طبق آزمون

سازمان غذا و دارو (FDA) در کشور ما بیش از کشورهای دیگر می‌تواند مفید باشد. پزشکان باید با شناسایی بیمارانی که خطر بالای پدیده‌های ترومبوز را با درمان داروی ضد پلاکتی پلاویکس دارند، به استفاده از داروهای ضد پلاکت دیگر و یا استفاده از دوزهای متغیر که دارای متابولیت‌های ضعیفی هستند، مشاوره دهند.

در این مطالعه محدودیت‌هایی وجود داشت از جمله این که ما نتوانستیم سطح متابولیت فعال پلاویکس پلاسما را اندازه‌گیری کنیم و هم چنین ارتباط ژنتیکی با جنبه‌های فارماکوکینتیک این دارو مشخص نشد. هم چنین در این مطالعه ما به رابطه بین علائم کلینیکی و پلی مورفیسیم ژنتیکی CYP2C19 نپرداختیم که در آینده به مطالعه‌های دیگری با این هدف نیاز می‌باشد.

#### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری مستمر معاون پژوهش و فناوری و همکاران آن حوزه در دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی تهران، کارکنان بخش قلب بیمارستان بوعلی و آزمایشگاه تشخیص طبی و تخصصی پیوند که ما را در انجام امور یاری نمودند، تشکر می‌نمایم.

بالینی نامطلوب از جمله سکنه قلبی-عروقی و سندرم کرونری حاد می‌شوند(۴). به منظور این که بتوان به پزشکان در ایران تخمینی از این که داروی پلاویکس چقدر در بیماران تحت درمان با این دارو می‌تواند کارآمد باشد داد، در این مطالعه بر آن شدیم تا میزان شیوع آلل‌های پرخطر CYP2C19\*2/\*3 را در جمعیت ایرانی بررسی کنیم. در این مطالعه، ۷۳/۵٪ بیماران دو داروی ضد پلاکتی پلاویکس و آسپرین را مصرف می‌کردند. در نتایجی که از این مطالعه به دست آمد شیوع \*2 CYP2C19 به صورت هتروزیگوت ۲۳/۴٪ و به صورت هموزیگوت ۳/۹٪ بود که اینها خیلی بالاتر از میزانی است که در جمعیت‌های قفقازی گزارش شده است (میزان شیوع \*2 CYP2C19 ۰/۱۶٪ و \*3 CYP2C19 ۰/۰۷٪) (۱۶). در گزارش دیگری که در جمعیت مصر برای این دو آلل شده است \*2 CYP2C19 ۰/۱۱٪ و برای \*3 CYP2C19 ۰/۰۲٪ بود (۱۱). در جمعیت لبنان شیوع دو آلل \*2 CYP2C19 و \*3 CYP2C19 به ترتیب ۰/۱۳٪ و ۰/۰۳٪ گزارش شده است (۱۵).

#### نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که کاربرد توصیه‌های

#### References :

- 1- Patrono C, Bachmann F, Baigent C, Bode C, De Caterina R, Charbonnier B, *et al.* Expert consensus document on the use of antiplatelet agents. *Rev Esp Cardiol* 2004; 57(10): 963-80. [Article in Spanish]
- 2- Steinhubl SR, Berger PB, Mann JT 3rd, Fry ET, DeLago A, Wilmer C, *et al.* Early and sustained dual oral antiplatelet therapy following percutaneous coronary intervention: a randomized controlled trial. *JAMA* 2002; 288(19): 2411-20.
- 3- Nguyen TA, Diodati JG, Pharand C. Resistance to clopidogrel: a review of the evidence. *J Am Coll Cardiol*.2005; 45(8): 1157-64.
- 4- Snoep JD, Hovens MM, Eikenboom JC, van der Bom JG, Jukema JW, Huisman MV. Clopidogrel nonresponsiveness in patients undergoing percutaneous coronary intervention with stenting: a systematic review and meta-analysis. *Am Heart J* 2007; 154(2): 221-31.
- 5- Frere C, Cuisset T, Morange PE, Quilici J, Camoin-Jau L, Saut N, *et al.* Effect of cytochrome p450 polymorphisms on platelet reactivity after treatment with clopidogrel in acute coronary syndrome. *Am J Cardiol*. 2008; 101(8): 1088-93.
- 6- Pereillo JM, Maftouh M, Andrieu A, Uzabiaga MF, Fedeli O, Savi P, *et al.* Structure and stereochemistry of the active metabolite of clopidogrel. *Drug Metab Dispos* 2002; 30(11): 1288-95.
- 7- Giusti B, Gori AM, Marcucci R, Saracini C, Vestri A, Abbate R. Determinants to optimize response to clopidogrel in acute coronary syndrome. *Pharmacogenomics Pers Med* 2010; 3: 33-50.
- 8- Subraja K, Dkhar SA, Priyadharsini R, Ravindra BK, Shewade DG, Satheesh S, *et al.* Genetic polymorphisms of CYP2C19 influences the response to clopidogrel in ischemic heart disease patients in the South Indian Tamilian population. *Eur J Clin Pharmacol* 2013; 69(3): 415-22.
- 9- Hulot JS, Bura A, Villard E, Azizi M, Remones V, Goyenvalle C, *et al.* Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism is a major determinant of clopidogrel responsiveness in healthy subjects. *Blood* 2006; 108(7): 2244-7.

- 10- Shuldiner AR, O'Connell JR, Bliden KP, Gandhi A, Ryan K, Horenstein RB, *et al.* Association of cytochrome P450 2C19 genotype with the antiplatelet effect and clinical efficacy of clopidogrel therapy. *JAMA* 2009; 302(8): 849-57.
- 11- Sameer AE, Amany GM, Abdela AA, Fadel SA. CYP2C19 genotypes in a population of healthy volunteers and in children with hematological malignancies in Gaza Strip. *Can J Clin Pharmacol* 2009; 16(1): e156-62.
- 12- Anichavezhi D, Chakradhara Rao US, Shewade DG, Krishnamoorthy R, Adithan C. Distribution of CYP2C19\*17 allele and genotypes in an Indian population. *J Clin Pharm Ther* 2012; 37(3): 313-8.
- 13- Simon T, Verstuyft C, Mary-Krause M, Quteineh L, Drouet E, Méneveau N, *et al.* Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events. *N Engl J Med* 2009; 360(4): 363-75.
- 14- Hulot JS, Collet JP, Silvain J, Pena A, Bellemain-Appaix A, Barthélémy O, *et al.* Cardiovascular risk in clopidogrel-treated patients according to cytochrome P450 2C19\*2 loss-of-function allele or proton pump inhibitor coadministration: a systematic meta-analysis. *J Am Coll Cardiol* 2010; 56(2): 134-43.
- 15- Djaffar Jureidini I, Chamseddine N, Keleshian S, Naoufal R, Zahed L, Hakime N. Prevalence of CYP2C19 polymorphisms in the Lebanese population. *Mol Biol Rep* 2011; 38(8): 5449-52.
- 16- Rogan PK, Svojanovsky S, Leeder JS. Information theory-based analysis of CYP2C19, CYP2D6 and CYP3A5 splicing mutations. *Pharmacogenetics* 2003; 13(4): 207-18.

*Original Article*

## **Evaluation of common polymorphisms of CYP2C19 in Clopidogrel-treated patients**

**Poopak B.<sup>1</sup>, Taghdisi Sh.<sup>1</sup>, Heidari M.<sup>1</sup>, Fallah P.<sup>2</sup>, Khosravipour G.<sup>3</sup>, Bolouri Sh.<sup>3</sup>, Golkar T.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>*School of Paramedicine, Tehran Medical Branch of Islamic Azad University, Tehran, Iran*

<sup>2</sup>*School of Medicine, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran*

<sup>3</sup>*Peyvand Clinical & Specialty Laboratory, Tehran, Iran*

### **Abstract**

#### **Background and Objectives**

Clopidogrel is one of the most commonly prescribed drugs to prevent ischemic events following coronary syndromes or stent placement. The objective of this study was to evaluate the prevalence of the cytochrome P450 (CYP450) 2C19 enzyme (CYP2C19) genotypes in the Iranian population.

#### **Materials and Methods**

CYP2C19 (\*1/\*2/\*3) variants were analyzed using Polymerase Chain Reaction-Restriction Length Polymorphism (PCR-RFLP) assays in a representative sample of 154 Iranian patients with ischemic heart disease in Peyvand Laboratory.

#### **Results**

In this study, out of 154 Iranian patients the frequency rates of CYP2C19 \*2 were 36 (23.4%) in heterozygous and 6 (3.9%) in homozygous forms; 112 (72.7%) patients had the normal genotype.

#### **Conclusions**

FDA recommendations are more useful to be practiced in our country than other countries. Physicians should identify patients and advise them to consider other antiplatelet medications or alternative dosing strategies in poor metabolizers.

**Key words:** clopidogrel, Genetic Polymorphism, CYP2C19, human, Ischemic Heart Disease

*Received: 3 Sep 2013*

*Accepted: 3 Mar 2014*

*Correspondence:* Poopak B., PhD of Hematology. Assistant Professor of School of Paramedicine, Tehran Medical Branch of Islamic Azad University.  
P.O.Box: 19395-1495, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 22257438; Fax : (+9821) 22257438  
E-mail: [bpoopak@yahoo.com](mailto:bpoopak@yahoo.com)