Misr University for Science and Technology
College of Biotechnology

Frequency of CYP2C19 Gene Polymorphism and Its Impact on Clinical Outcome among Ischemic Heart Disease Patients Taking Clopidogrel after Percutaneous Coronary Intervention

A Thesis
Submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master in
Medical and Pharmaceutical Biotechnology

By

Dr: Ahmed Shawky Abdelsattar

MD of Cardiovascular Disease-Cairo University (2013)
Lecturer of cardiovascular disease –Helwan University

Egypt

August/2020

Misr University for Science and Technology
College of Biotechnology

Frequency of CYP2C19 Gene Polymorphism and Its Impact on Clinical Outcome among Ischemic Heart Disease Patients Taking Clopidogrel after Percutaneous Coronary Intervention

A thesis
Submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master in Medical and Pharmaceutical Biotechnology

By
Dr: Ahmed Shawky abdelsattar
MD of Cardiovascular Disease-Cairo University (2013)
Lecturer of Cardiovascular Disease –Helwan University

Supervised by
Prof. Dr. Mokhtar Elzawhry
Professor of Molecular Medicine, Dean of College of Biotechnology, Vice President for Education & Student Affairs, Mir University for Science and Technology

Prof. Dr. Hussien Sabit
Professor of Molecular Genetics, College of Biotechnology,
Misr University for Science and Technology

Prof. Dr. Khaled Baraka
Professor of Cardiovascular Medicine, Faculty of Medicine, Minia University

Egypt
August/2020

ABSTRACT

Introduction : Clopidogrel is an oral thienopyridine derivative is capable of inhibiting platelet activation. Clopidogrel is a prodrug that is converted into an active drug by hepatic cytochrome CYP2C19, CYP2C19*2 and CYP2C19*3 polymorphic alleles are considered to be important loss-of-function alleles resulting in diminished response to clopidogrel.

Aim of the work :our study aimed to detect frequency of CYP2C19 gene polymorphisms and its impact on clinical outcome in ischemic heart disease patients treated by clopidogrel.

Patients and methods: blood samples were collected from 102 ischemic heart disease patients and the gene frequency was determined by PCR and all patients were followed by clinical assessment and invasive and non-invasive cardiac investigations.

Results: frequency of CYP2C19*1 was 50%, CYP2C19*2 was 15% and CYP2C19*3 was 1%, CYP2C19*17 was 34%, patients with recurrent ischemic attacks 37patients (35.8%),from those patients, 10 patients were normal metabolizer (27%),and 27 patients were abnormal metabolizers(73%) with p-value 0.047 to myocardial infarction and 0.020 to unstable angina.

Conclusion: A significance relation was found between CYP2C19 polymorphism and recurrent ischemic attacks in this study and multicenter studies are required to confirm this results.

Key words: clopidogrel, thienopyridine, cytochrome, metabolizer.

Table of Contents

Page

Abstract ..... --

Acknowledgement ..... --

List of Tables i

List of Figures ii

List of Abbreviations iv

Chapter 1: Introduction 1

Chapter 2: Review of Literature..... 5

2.1.Anatomy and Physiology of the Heart 5

2.1.1. Chamber and Valves of Heart 6

2.1.2 .Cardiac cell and Cardiac Muscles 7

2.1.3 .Coronary Arteries And Viens.....10

2.1.4 .Physiology of The heart 17

2.1.4.1 .Action Potential (AP) 17

2.1.4.2 .Mechanism of Excitation and Contraction Coupling of Cardiac Myocytes 21

2.1.5 .Physiology of Coronary Circulation 26

2.1.5.1. Coronary Collaterals.....27

2.2 .Overview of Coronary Artery Disease.....28

2.2.1 .Prevalence 28

2.2.2 .Pathophysiology.....30

2.2.3 .Clinical Features.....32

2.2.4 .Diagnosis.....36

2.2.5 .Management.....39

2.3 Common Variant for Cardiovascular Diseases 43

2.3.1. Common Variant for Cardiovascular Diseases 44

2.3.2.Motivation to Initaite Lipid –Lowering Therapy 46

Table of Contents (Cont.)

Page

2.4 .Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Clopidogrel ...47

2.4.1. Covarities that affect Clopidogrel Dose/Pk/PD 49

2.4.1.1 .Demographic factors.....49

2.4.1.2 .Genetic Polymorphism 52

2.4.1.2.1 .Genetic polymorphisms that affect clopidogrel PK...52

2.4.1.2.2 .Genetic Polymorphisms that affect clopidogrel PD .57

2.5 .Clopidogrel Pharmacogenetics.....59

Chapter 3: Aim of the Work & Objectives 69

3.1. Aim of the Work 69

3.2 .Specific objectives.....69

Chapter 4: Matrielas and Methods 70

4.1.Study design 70

4.2. Study population 70

4.3- Sample size 70

4.4. Ethical consideration 70

4.5. Inclusion criteria:.....70

4.6. Exclusion criteria: 70

4.7.Clinical Assessment 71

4.7.1 .Personal History 71

4.7.2.Full Cardiac examination. 71

4.8. Laboratory investigations:.....71

4.9. .Imaging investigations 71

4.10. PCI and clopidogrel managment 71

4.11.List of laboratory instruments 72

Table of Contents (Cont.)

Page

4.12. List of chemicals and reagents 73
4.13. Disposables 76
4.14 . Data collection 76
4.15 . Blood samples collection 76
4.16.Molecular analysis.....77
4.16.1. DNA extraction and purification.....77
4.16.2.Distribution of specific probe and master mix for PCR running: 77
4.16.2.1.Prepare 3 PCR tubes each tube contain 77
4.16.2.2.Preparation of master mix (buffer, Taq-polymeras) 77
4.17. Statistical analysis 80

Chapter 5: Results.....82

5.1.Demographic data characters of the studied group during the period from 1st of April 2017 to the 1st of April 2018. 83
5.2..Distribution of major Risk factors of Ischemic heart disease among studied group.....87
5.3. Follow up Major adverse cardiac events characters of the studied group. 87
5.4..Genotyping characters of the studied group.....88
5.6.Phenotyping characters of the study group 90
5.7. Comparison between normal metabolizer and abnormal metabolizer according to demographic data. 91
5.8. Comparison between normal metabolizer and abnormal metabolizer according to risk factors. 94

Table of Contents (Cont.)

Page

5.9.Comparison between normal metabolizer and abnormal metabolizer according to follow up (MACE). 96

5.10.Logistic regression of factors affecting normal metabolizer and abnormal metabolizer. 98

Chapter 6: Discussion 99

Chapter 7: Conclusion and Recomendation 106

7.1 .Conclusions 108

7.2 .Recommendations 109

Summary 108

References 110

A r a b i c s u m m a r y

الملخص العربى

مقدمة:

أمراض القلب والأوعية الدموية هي فئة من الأمراض التي تصيب القلب أو الأوعية الدموية. وتشمل الأمراض الواقعة تحت مظلة أمراض القلب أمراض الأوعية الدموية ، مثل مرض الشريان التاجي ، ومشاكل نظم القلب (عدم انتظام ضربات القلب) ، والتهابات القلب وعيوب القلب بما في ذلك عيوب القلب الخلقية.

مرض الشريان التاجي هو شكل شائع من الأمراض القلبية الوعائية وهو المصدر الرئيسي لأمراض القلب والوفيات في البلدان النامية والمتقدمة. وهو مسؤول عن ما يقدر بـ 17.3 مليون حالة وفاة سنويًا ، وهو رقم من المتوقع أن ينمو إلى أكثر من 23.6 مليون بحلول عام 2030.

مرض الشريان التاجي ناجم عن تصلب الشرايين الذي يقيد تدفق الدم إلى القلب وعندما ينقطع تدفق الدم تمامًا ، تكون النتيجة نوبة قلبية عبارة عن ذبحة صدرية غير مستقرة أو جلطة شريانة غير مكتملة أو جلطة مكتملة.

كلوبيدوجريل هو دواء أولي يتم تحويله إلى عقار نشط بواسطة السيتوكروم الكبدي CYP2C19 ، التنميط الجيني لـجين CYP2C19 مهم لتحديد فقدان CYP2C19 لوظيفة التمثيل الأيضي للإنزيم مثل 2 * / 1 * CYP2C19، 3 * / 1 *، / 2 * 17 * الذين يعبرون عن التمثيل المتوسط لعقار الكلوبيدوجريل ، و 2 * CYP2C19 2 * /، 3 * / 3 *، 3 * / 2 * الذين يعبرون عن التمثيل الأيضي الضعيف لعقار الكلوبيدوجريل مما يؤدي إلى ضعف الاستجابة للعقار.

الهدف من العمل:

تهدف هذه الدراسة إلى الكشف عن تواتر تعدد الأشكال الجينية CYP2C19 وتأثيرها على النتائج السريرية بين مرضى نقص تروية القلب الذين عولجوا بواسطة عقار كلوبيدوجريل مع أهداف محددة تشمل تحديد النمط الظاهري للمرضى وفقًا للتنميط الجيني CYP2C19 وتحديد المرضى الذين لديهم استجابة جيدة للكلوبيدوجريل والمرضى مع استجابة ضعيفة .

المرضى وطرق البحث:

تم جمع عينات الدم الوريدي من 102 مريض مصاب بأمراض الشرايين التاجية للقلب خضعوا لعمليات قسطرة تشخيصية وعلاجية مع تركيب دعامات دوائية، وتم تحديد آليات التكرار لـ CYP2C19 بواسطة تفاعل البوليميراز المتسلسل ومع تتبع جميع المرضى

والتقييم السريري لهؤلاء المرضى عن طريق ظهور الأعراض الإكلينيكية ونتائج الفحوصات الغير النافذة والتي تشمل رسم القلب والموجات الصوتية على القلب والفحوصات النافذة والتي تشمل القسطرة التشخيصية خلال عام واحد من المتابعة بدءًا من أبريل 2017 إلى أبريل 2018

النتائج:

تكرار CYP2C19 * 1 كان 50٪ ، CYP2C19 * 2 كان 15٪ و CYP2C19 * 3 كان 1٪ ، CYP2C19 * 1 / * 17 ، CYP2C19 * 2 / * 17 كان 34٪ ، المرضى الذين يعانون من نوبات قلبية متكررة 38 المرضى (35.8٪) ، من هؤلاء المرضى ، 11 مريضاً كانوا طبيعي التمثيل الأيضي للدواء (27٪) ، و 27 مريضاً كانوا غير طبعيين في التمثيل الأيض للدواء بنسبة (73٪) بقيمة p 0.047 ذلك للجلطات القلبية و 0.020 لذبحة صدرية غير مستقرة.

ومن النتائج السابقة نستنتج أن هناك علاقة ذات دلالة إحصائية بين التمثيل الأيضي غير الطبيعي للكلوبيدوجريل بسبب تعدد الأشكال الجيني لـ CYP2C19 والنوبات القلبية المتكررة خاصة في مرضى ارتفاع ضغط الدم والسكري.

الاستنتاجات والتوصيات:

يوجد حوالي 51٪ من العينة المدروسة لديها تمثيل أيضي غير طبيعي للكلوبيدوجريل بسبب تعدد الأشكال الجيني لـ CYP2C19 ، وهناك أيضًا علاقة مهمة بين التمثيل الأيضي غير الطبيعي للكلوبيدوجريل بسبب تعدد الأشكال الجينية لجين CYP2C19 والنوبات القلبية المتكررة.

ولكن نوصي بالمزيد من التجارب السريرية التي تحتوى على عدد أكبر من المرضى على أن تشمل هذه الدراسات مراكز متعددة ومتخصصة لأمراض القلب لتأكيد هذه النتائج.

كلمات مفتاحية: رأب الوعاء التاجي, النمط الجيني, كلوبيدوجريلح

المستخلص

مقدمة: عقار كلوبيدوجريل هو أحد مشتقات ثينوبيريدين عن طريق الفم قادر على تثبيط تنشيط الصفائح الدموية. كلوبيدوجريل هو دواء أولي يتم تحويله إلى عقار فعال عن طريق السيتوكروم الكبدي، CYP2C19 وتعتبر الأنماط الجينية CYP2C19*2 و CYP2C19 * 3 من الأنماط المهمة لفقدان وظيفة الجين مما يؤدي إلى انخفاض الاستجابة للكلوبيدوجريل.

هدف العمل: هدفت دراستنا إلى الكشف عن تكرار تعدد الأنماط الجينية في جين CYP2C19 وتأثيرها على النتائج السريرية في مرضى قصور الشريان التاجي للقلب المعالجين بعقار الكلوبيدوجريل.

المرضى وطرق البحث: تم جمع عينات الدم من 102 مريض بأمراض قصور الشرايين التاجية للقلب وتم تحديد تكرار الأنماط الجينية بواسطة تفاعل البوليميراز المتسلسل والتتبع السريري لجميع المرضى بواسطة الأعراض والفحوصات القلبية النافذة (القسطرة التشخيصية) أو الفحوصات غير النافذة (رسم القلب – الموجات الصوتية على القلب).

النتائج: تكرار CYP2C19 * 1 كان 50٪ ، CYP2C19 * 2 كان 15٪ و CYP2C19 * 3 كان 1٪ ، CYP2C19 * 2 / * 17 1٪ ، CYP2C19 * 1 / * 17 كان 34٪ ، المرضى الذين يعانون من نوبات قلبية متكررة 38 المرضى (35.8٪) ، من هؤلاء المرضى ، 11 مريضاً كانوا طبيعي التمثيل الأيضي للدواء (27٪) ، و 27 مريضاً كانوا غير طبعيين في التمثيل الأيض للدواء بنسبة (73٪) بقيمة p 0.047 ذلك للجلطات القلبية و 0.020 لذبحة صدرية غير مستقرة.

الخلاصة: يوجد حوالي 51٪ من العينة المدروسة لديها تمثيل أيضي غير طبيعي للكلوبيدوجريل بسبب تعدد الأشكال الجيني لـ CYP2C19 ، وهناك أيضًا علاقة مهمة بين التمثيل الأيضي غير الطبيعي للكلوبيدوجريل بسبب تعدد الأشكال الجينية لجين CYP2C19 والنوبات القلبية المتكررة.

الكلمات الرئيسية: كلوبيدوقرل ، ثينوبيريدين ، سيتوكروم ، مستقلب

جامعة مصر للعلوم والتكنولوجيا
كلية التكنولوجيا الحيوية

تعداد التحور الجيني لجين السيتوكروم ب CYP2C19 450 وتأثيرة على النتائج السريرية فى مرضى نقص تروية القلب الذين يتناولون عقار كلوبيدوجريل بعد التدخل وتركيب دعامات بالقسطرة العلاجية للشريان التاجي عن طريق الجلد

رسالة

مقدمة لكلية التكنولوجيا الحيوية جامعة مصر للاستيفاء الجزئي لمتطلبات درجة ماجستير في التكنولوجيا الحيوية الطبية

مقدمة من

د. أحمد شوقى عبدالستار
دكتوراه أمراض القلب- كلية الطب-جامعة القاهرة (2013)
مدرس امراض القلب –جامعة حلوان

تحت أشراف

أ.د. مختار الظواهرى
أستاذ الطب الجزيئي ,عميد كلية التكنولوجيا الحيوية
نائب رئيس الجامعة لشئون التعليم والطلاب
كلية التكنولوجيا الحيوية- جامعة مصر للعلوم والتكنولوجيا

أ.د. حسين ثابت
أستاذ الوراثة الجزيئية
كلية التكنولوجيا الحيوية- جامعة مصر للعلوم والتكنولوجيا

أ.د. خالد بركه
أستاذ طب القلب والأوعية الدموية –كلية الطب-جامعة المنيا

مصر
أغسطس 2020

جامعة مصر للعلوم والتكنولوجيا
كلية التكنولوجيا الحيوية

تعداد التحور الجيني لجين السيتوكروم ب450 CYP2C19 وتأثيرة على النتائج السريرية فى مرضى نقص تروية القلب الذين يتناولون عقار كلوبيدوجريل بعد التدخل وتركيب دعامات بالقسطرة العلاجية للشريان التاجي عن طريق الجلد

رسالة

مقدمة لكلية التكنولوجيا الحيوية جامعة مصر للاستيفاء الجزئي لمتطلبات درجة ماجستير في التكنولوجيا الحيوية الطبية

مقدمة من

د. أحمد شوقى عبدالستار

دكتوراه أمراض القلب-كلية الطب-جامعة القاهرة (2013)
مدرس امراض القلب –جامعة حلوان

مصر
أغسطس 2020