

论著·临床研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.10.019

网络首发 [http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200115.1326.012.html\(2020-01-16\)](http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200115.1326.012.html(2020-01-16))

华法林药物基因检测指导抗凝治疗 124 例临床分析*

胡学俊¹,方存明¹,黄政¹,后世祥²
(安徽省宣城市人民医院:1. 心内科;2. 药学部 242000)

[摘要] **目的** 评价药物基因检测指导华法林抗凝治疗的临床应用价值。**方法** 将 124 例患者分为基因型引导给药组和传统给药组,基因型引导给药组根据基因型、年龄、身高、体质量等因素接受定制剂量,传统给药组根据临床惯例使用华法林,主要观察华法林治疗后 12 周内,国际标准化比值(INR)在治疗范围 1.8~3.0 的时间百分比和过度抗凝发生率、过低 INR 值发生率、达到治疗 INR 值所需时间、达到稳定华法林剂量所需时间及血栓和出血事件的差异。**结果** 基因型引导给药组在治疗 3 个月内 INR 在 1.8~3.0 的时间百分比为(67.2±16.8)%,传统给药组为(59.3±17.8)%,有 7.9% 的差异(95%CI:4.9%~8.9%, $P<0.01$);基因型引导给药组出现 INR 值高于 3.5 的患者数和持续时间均低于传统给药组,INR 值低于 1.8 的持续时间低于传统给药组;基因型引导给药组达到治疗性 INR 的中位时间少于传统给药组,达到稳定 INR 时间少于传统给药组;两组间出血事件和血栓栓塞事件差异无统计学意义。**结论** 基因型引导给药组在主要观察指标和次要观察指标方面均优于传统给药组,可能使抗凝治疗更有效、更安全。

[关键词] 抗凝药;华法林;基因检测

[中图法分类号] R972 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2020)10-1631-04

Clinical analysis of Warfarin in guidance of gene testing on
124 cases of anticoagulation therapy*

HU Xuejun¹,FANG Cunming¹,HUANG Zheng¹,HOU Shixiang²
(1. Department of Cardiology;2. Department of Pharmacy,People's
Hospital of Xuancheng,Xuancheng,Anhui 242000,China)

[Abstract] **Objective** To evaluate the clinical application value of Warfarin therapy guided by gene testing. **Methods** A total of 124 patients were randomly divided into the genotype-guided group and the traditional group. In the genotype-guided group, Warfarin doses were prescribed according to the genotype, age, height, weight. In the traditional group, Warfarin doses were administered according to clinical practice. The difference on percentage of time in therapeutic range 1.8—3.0 for the international standardization ratio (INR), the incidence of excessive anticoagulation, the incidence of low INR, the time to achieve therapeutic INR, the time to achieve stable Warfarin dose, thrombosis and bleeding events were observed during 12 weeks after Warfarin therapy. **Results** The percentage of time in therapeutic range 1.8—3.0 for INR in the genotype-guided group was (67.2±16.8)%, and (59.3±17.8)% in the traditional group, with a difference of 7.9%(95%CI:4.9%—8.9%, $P<0.01$). The number of patients and duration with INR higher than 3.5 in the genotype-guided group were lower than those in the traditional group, and the duration of INR lower than 1.8 was lower than that in traditional group. The median time to reach therapeutic INR in the genotype-guided group was less than that in the traditional group, and the time to reach stable INR was less than that in the traditional group. There was no significant difference in bleeding events and thromboembolic events between the two groups. **Conclusion** The genotype-guided group is superior to the traditional group in terms of main and secondary observation indexes, and genotype-guided administration may make Warfarin therapy more effective and safe.

[Key words] anticoagulants; warfarin; genetic testing

华法林能有效治疗血栓栓塞症,但其治疗窗狭窄,患者每日所需剂量个体间差异较大,适度的过多

* 基金项目:安徽省宣城市级科技计划项目(1817)。 作者简介:胡学俊(1977—),副主任医师,硕士,主要从事冠心病介入治疗、心脏起搏治疗的研究。

或过少剂量可导致破坏性出血或血栓性并发症,且是患者再次住院的常见原因^[1]。目前需要经常监测国际标准化比值(INR)来指导药物剂量的调整,以确保患者获得足够的抗凝治疗,维持 INR 在治疗水平。但大多数患者无法在治疗范围内实现长期稳定的 INR^[2],这表明为每个患者确定最佳起始和维持剂量是很困难的。大量研究表明,年龄、种族、体质量、基因多态性与华法林的个体需求剂量差异有关;其中,华法林的代谢酶细胞色素 P450 2C9 (CYP2C9)及华法林的作用靶点维生素 K 环氧还原酶复合物 1 (VKORC1)的基因多态性可预测 40%~45%的华法林剂量个体差异^[3-5]。但目前基因检测能否改善华法林临床抗凝治疗仍存在争议^[6-9],尤其是针对中国汉族人群的研究较少。本研究通过 124 例汉族人群的临床抗凝过程,观察华法林药物基因检测指导抗凝治疗的临床价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2016 年 9 月 11 日至 2019 年 3 月 14 日在本院住院或门诊就诊的确诊为心房颤动、深静脉血栓(下肢静脉血栓)、肺栓塞的 124 例患者。所有患者完整记录年龄、性别、身高、体质量、民族、吸烟史及既往相关病史(糖尿病等)及服药史等,并排除未经控制的高血压、消化性溃疡、既往肝病史、吸收不良综合征或慢性腹泻,或任何根据临床医师判断认为不适合华法林治疗的其他疾病。采用计算机动态随机化方法将患者分到基因引导给药组或传统给药组。本研究符合医学伦理学标准,并经医院伦理委员会批准,所有患者在入组前均签署书面知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 基因检测方法

从外周血中分离 DNA,应用 Taqman 探针法对 CYP2C9 * 3(1075A>C)和 VKORC1 (1639G>A)等位基因进行检测分型。

1.2.2 华法林服用方法和凝血时间检测

基因引导给药组的患者第 1~3 天接受定制剂量,计算方法考虑 CYP2C9 * 3 (1075A > C)、VKORC1-1639G>A 基因型、年龄、身高和体质量等因素,根据 IWPC(国际华法林药物基因组学联合会)提出的华法林预测模型计算公式确定华法林给药剂量^[10]。传统给药组的患者第 1~3 天根据本院的临床惯例使用华法林(3 mg/d)。第 4 天开始两组均根据患者 INR 结果及临床经验调整华法林用药剂量。所有患者随访 3 个月,INR 分别于第 1、4、7、10、17、24、31、45、59、74、89 天测定,部分患者根据临床需要可进行额外的临床随访和 INR 检测,目标 INR 定义为 1.8~3.0。

1.2.3 观察指标

主要的观察指标是在华法林治疗开始后 12 周内,治疗 INR 范围在 1.8~3.0 的时间百分比。次要

观察指标包括 INR 值 3.5 或更高的时间百分比,INR<1.8 的时间百分比;达到治疗 INR 的时间,华法林剂量达到稳定的时间及根据国际血栓和止血学会(ISTH)^[11]定义的大出血事件、小出血事件和血栓栓塞事件。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 22.0 统计软件分析处理全部数据。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 *t* 检验;计数资料采用卡方检验,采用线性回归法对主要观察指标与其他次要观察指标进行组间比较,采用 Kaplan Meier 曲线显示事件发生时间结果,使用 Cox 回归比较各组间结果,遗传平衡检验采用 Hardy-Weinberg 平衡定律,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料比较

随机入基因型引导给药组 63 例、传统给药组 61 例,患者年龄 48~82 岁,58.9%患者是男性,所有患者均为汉族,两组的基线特征差异无统计学意义。本研究所有患者在华法林治疗前均可获得基因型信息。76.2%患者为 VKORC1 (rs9923231) 纯合子 AA,90.3%为 CYP2C9 野生纯合型,9.7%的患者携带 CYP2C9 变异基因,基因型分布经检测符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律,组间差异无统计学意义(*P*>0.05),见表 1。

表 1 一般临床资料			
项目	基因引导给药组	传统给药组	<i>P</i>
年龄($\bar{x} \pm s$,岁)	63.4±12.6	65.8±10.8	0.723
男[<i>n</i> (%)]	38(60.3)	35(57.4)	0.682
体质量($\bar{x} \pm s$,kg)	62.4±10.8	58.8±7.8	0.322
身高($\bar{x} \pm s$,cm)	164.4±2.5	162.4±3.5	0.613
基线 INR($\bar{x} \pm s$)	1.02±0.05	1.01±0.07	0.483
抗凝指征[<i>n</i> (%)]			0.162
心房颤动	45(71.5)	43(70.5)	
深静脉血栓	6(9.5)	8(13.1)	
肺栓塞	12(19.0)	10(16.3)	
合并用药[<i>n</i> (%)]			
服用胺碘酮	5(7.9)	3(4.9)	0.063
低分子肝素	3(5.7)	33(54.1)	0.562
既往史[<i>n</i> (%)]			
卒中	8(12.7)	6(9.8)	0.382
急性心肌梗死	6(9.5)	3(4.9)	0.053
深静脉血栓	8(12.7)	6(9.8)	0.124
肺栓塞	2(3.1)	2(3.2)	0.982
心力衰竭	9(14.2)	10(16.4)	0.765
2 型糖尿病	14(22.2)	12(19.6)	0.536
吸烟	13(20.6)	11(18.0)	0.472
CYP2C9 基因[<i>n</i> (%)]			0.243
AA	58(92.2)	54(88.6)	
CA	3(4.7)	4(6.5)	
CC	2(3.1)	3(4.9)	
VKORC1 基因[<i>n</i> (%)]			0.323
AA	48(76.2)	49(80.3)	
GA	13(20.6)	10(16.4)	
GG	2(3.2)	2(3.3)	

2.2 两组 INR 治疗范围内的时间百分比差异

基因型引导给药组在治疗 3 个月内 INR 在 1.8~3.0 的时间百分比为(67.2±16.8)%,传统给药组为(59.3±17.8)%,有 7.9% 的差异(95% CI 4.9%~8.9%, $P<0.01$),见表 2。抗凝起始,两组间的平均 INR 差异较大,在 3 个月的随访期间差异逐步减少(图 1)。在华法林治疗起始的第 1~4 周及第 5~8 周,两组 INR 在治疗范围内的平均时间百分比差异有统计学意义,但在第 9~12 周差异无统计学意义($P>0.05$),表 2。

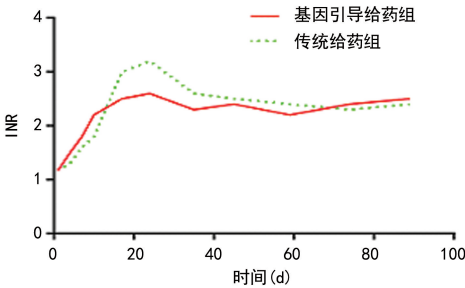


图 1 基因型引导给药组与传统给药组的平均 INR 差异

表 2 两组 INR 在治疗范围内的时间百分比 (%)

时间	基因引导给药组 ($\bar{x}\pm s$)	传统给药组 ($\bar{x}\pm s$)	均值差异 ^a (95%CI)	P
3 个月	67.2±16.8	59.3±17.8	7.9(4.9~8.9)	0.018
1~4 周	51.6±18.0	42.8±19.3	8.8(7.5~10.1)	0.002
5~8 周	69.9±26.2	61.5±23.1	8.4(4.4~16.0)	0.022
9~12 周	72.5±20.2	70.9±25.8	1.6(-4.0~7.2)	0.582

^a:百分比的差异(基因型引导给药组减去传统给药组)。

2.3 两组次要观察指标差异

基因型引导给药组出现 INR 值高于 3.5 的患者数和持续时间百分比均低于传统给药组,INR 值低于 1.8 的持续时间百分比低于传统给药组(表 3)。基因型引导给药组达到治疗性 INR 的时间(在治疗目标范围内至少间隔 1 周测量的两个 INR 值的中位时间)少于传统给药组(表 3,图 2)。基因型引导给药组达到稳定 INR 时间少于传统给药组(表 3,图 3)。根据 ISTH 分类,本研究两组均无大出血事件出现,基因引导给药组小出血事件(主要包括皮肤瘀斑、牙龈出血、鼻衄等)发生率偏高,差异无统计学意义($P>0.05$)。仅对照组发生 1 例血栓栓塞事件,差异无统计学意义($P=0.369$)。

表 3 次要观察指标

次要终点	基因引导给药组	传统给药组	P
INR>3.5 的患者数[n(%)]	6(9.5)	10(16.4)	0.042
INR>3.5 的时间百分比($\bar{x}\pm s$,%)	2.3±6.4	5.3±10.3	0.022
INR<1.8 的时间百分比($\bar{x}\pm s$,%)	22.0±13.9	28.9±14.9	0.034
达到治疗 INR 时间(中位数,d)	16	23	0.033
达到稳定 INR 时间(中位数,d)	28	42	0.028
小出血事件[n(%)]	8(12.6)	7(11.4)	0.823

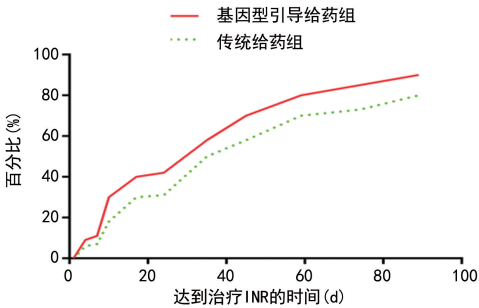


图 2 达到治疗 INR 的时间

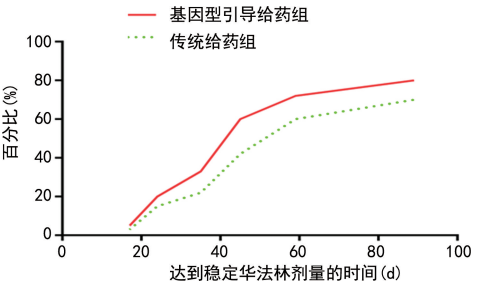


图 3 达到稳定 INR 的时间

3 讨 论

华法林是目前临床上最常见的抗凝血药物之一^[12],广泛用于治疗心房颤动、深静脉血栓、肺栓塞等,但个体间的剂量要求和抗凝效果存在很大差异。华法林制剂是 R-和 S-华法林的外消旋混合物,其中 S-华法林的抗凝活性是 R-华法林的 3~5 倍,起主要的抗凝作用,其通过抑制维生素 K 环氧还原酶亚单位 1(VKORC1)从而抑制维生素 K 的再生达到抗凝目的^[13]。在体内经 CYP2C9 代谢为 6-和 7-羟基代谢物后失活,VKORC1 和 CYP2C9 的基因多态性会影响酶的活性,从而影响华法林临床抗凝效果^[14]。在我国,从农村或郊区到专科医院或抗凝门诊的相对较远距离可能会影响到患者服用华法林的依从性,从而影响取得最佳抗凝治疗效果。所以,基于基因型的华法林抗凝方案是有积极临床意义的。

本研究表明,在基因引导给药组华法林治疗的起始剂量能增加 INR 在治疗范围内的时间百分比(7.9%),同时减少过度抗凝的发生率、过低 INR 值发生率,达到治疗性 INR 值所需的时间、达到稳定的华法林剂量所需的时间也缩短。本研究结果与相关观察性研究 VKORC1 和 CYP2C9 基因型对华法林剂量的影响一致^[8,15],与 ANDERSON 等^[16]的前瞻性、非随机、平行对照研究结论相近,与我国相关研究结果类似^[17-18]。提示基因检测能对华法林抗凝治疗策略的制定和调整能起到重要作用。

基因检测引导的华法林抗凝治疗策略减少过度抗凝(INR>3.5)的可能性,同时减少了达到治疗 INR 值所需要时间,表明基因型引导的服用剂量不仅是安全的,也可能避免了为缩短到达稳定剂量所需时间而采用负荷剂量的策略。两组的平均 INR 差异在研究开始时最大,这一发现与之前的研究结果一

致^[19],即基因型引导的服用剂量在华法林治疗的早期发挥的作用较显著,疗效可能更稳定,提示患者在华法林抗凝起始即通过基因检测来确定治疗策略可能获益更大。但两组的出血和血栓事件数量很少,未见明显差异,与相关系统回顾和荟萃分析结果类似^[20],也可能与本研究整体出血及血栓事件发生例数少及总体样本量不足有关。

本研究发现基因型引导的华法林给药方法的主要观察指标(在治疗 INR 范围内的时间百分比)和许多次要观察指标方面均优于传统给药方法。这些发现表明,基因型引导给药有可能使患者抗凝治疗更有效、更安全。

参考文献

- [1] LEVINE M N, RASKOB G, LANDEFELD S, et al. Hemorrhagic complications of anticoagulant treatment[J]. *Chest*, 2001, 119 (Suppl 1): S108-121.
- [2] POKORNEY S D, SIMON D N, THOMAS L, et al. Stability of international normalized ratios in patients taking long-term warfarin therapy [J]. *JAMA*, 2016, 316(6): 661-663.
- [3] GAGE B F, BASS A R, LIN H, et al. Effect of genotype-guided warfarin dosing on clinical events and anticoagulation control among patients undergoing hip or knee arthroplasty[J]. *JAMA*, 2017, 318(12): 1115-1124.
- [4] FARZAMIKIA N, SAKHINIA E, AFRASIABIR AD A. Pharmacogenetics-based Warfarin dosing in patients with cardiac valve replacement; the effects of CYP2C9 and VKORC1 gene polymorphisms [J]. *Lab Med*, 2017, 49(1): 25-34.
- [5] JU S, GAO Y, CAO X, et al. Association between the lower extremity deep venous thrombosis, the warfarin maintenance dose, and CYP2C9 * 3, CYP2D6 * 10, and CYP3A5 * 3 genetic polymorphisms; a case-control study [J]. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2017, 21(9): 539-546.
- [6] STERGIOPOULOS K, BROWN D L. Genotype-guided vs clinical dosing of warfarin and its analogues; meta-analysis of randomized clinical trials [J]. *JAMA Intern Med*, 2014, 174 (8): 1330-1338.
- [7] LIAO Z, FENG S, LING P, et al. Meta-analysis of randomized controlled trials reveals an improved clinical outcome of using genotype plus clinical algorithm for warfarin dosing [J]. *Thromb Thrombolysis*, 2015, 39(2): 228-234.
- [8] MAKAR-AUSPERGER K, KRISTINA K, LOVR IC BENCIC M, et al. Warfarin dosing according to the genotype-guided algorithm is most beneficial in patients with atrial fibrillation; a randomized parallel group trial [J]. *Ther Drug Monit*, 2018, 40(3): 362-368.
- [9] SYN N L, WONG A L, LEE S C, et al. Genotype-guided versus traditional clinical dosing of warfarin in patients of Asian ancestry; a randomized controlled trial [J]. *BMC Med*, 2018, 16 (1): 104.
- [10] KLEIN TE, ALTMAN RB, ERIKSSON N, et al. Estimation of the warfarin dose with clinical and pharmacogenetic data [J]. *N Engl J Med*, 2009, 360(8): 753-764.
- [11] SCHULMAN S, KEARON C. Definition of major bleeding in clinical investigations of antihemostatic medicinal products in non-surgical patients [J]. *J Thromb Haemost*, 2005, 3(4): 692-694.
- [12] 彭齐, 黄淑君, 余亚军, 等. CYP2C9 和 VKORC1 基因多态性与华人华法林用药量的关联 [J]. *医药导报*, 2015, 6(6): 775-779.
- [13] WEN M S, CHANG K C, LEE T H, et al. Pharmacogenetic dosing of warfarin in the Han-Chinese population: a randomized trial [J]. *Pharmacogenomics*, 2017, 18(3): 245-253.
- [14] PARK Y K, LEE M J, KIM J H, et al. Genetic and non-genetic factors affecting the quality of anticoagulation control and vascular events in atrial fibrillation [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2017, 26(6): 1383-1390.
- [15] YANG J, CHEN Y, LI X, et al. Influence of CYP2C9 and VKORC1 genotypes on the risk of hemorrhagic complications in warfarin-treated patients; a systematic review and meta-analysis [J]. *Int J Cardiol*, 2013, 168(4): 4234-4243.
- [16] ANDERSON J L, HORNE B D, STEVENS S M, et al. A randomized and clinical effectiveness trial comparing two pharmacogenetic algorithms and standard care for individualizing warfarin dosing (CoumaGen-II) [J]. *Circulation*, 2012, 125(16): 1997-2005.
- [17] 黄振勇, 毛振敏, 肖诚胤, 等. CYP2C9 和 VKORC1 基因多态性指导临床华法林初始抗凝的研究 [J]. *中国实用医药*, 2018, 10(13): 15-16.
- [18] WANG F, GUO J, ZHANG A. Efficacy and safety of genotype-guided warfarin dosing in the Chinese population; a Meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2019, 73(3): 127-135.

(下转第 1638 页)

- [6] TAYLOR S, SAKURAI R, HUSAIN M, et al. Inhaled vitamin d, a novel strategy to enhance neonatal lung maturation[J]. *J Invest Med*, 2014, 62(1):197.
- [7] HOLICK M F, BINKLEY N C, BISCHOFF-FERRARI H A, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011, 96(7):1911-1930.
- [8] 王卫平, 孙锟, 常立文. 儿科学[M]. 9 版. 北京: 人民卫生出版社, 2018.
- [9] 高敏, 朱影, 叶玉兰. 不同胎龄新生儿呼吸窘迫综合征的临床分析[J]. *中国妇幼保健*, 2018, 33(7):1545-1548.
- [10] HARRINGTON L B, MARCK B T, WIGGINS K L, et al. Cross-sectional association of endogenous steroid hormone, sex hormone-binding globulin, and precursor steroid levels with hemostatic factor levels in postmenopausal women[J]. *J Thromb Haemost*, 2017, 15(1):80-90.
- [11] 武琴, 陈书艳. 维生素 D 缺乏与老年相关疾病的研究进展[J]. *老年医学与保健*, 2019, 25(1):126-128.
- [12] SUN H Q, YAN D, WANG Q N, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ attenuates disease severity and induces synovocyte apoptosis in a concentration-dependent manner in rats with adjuvant-induced arthritis by inactivating the NF- κ B signaling pathway[J]. *J Bone Miner Metab*, 2019, 37(3):430-440.
- [13] SALDAÑA L, VALLÉS G, BENSIAMAR F, et al. Paracrine interactions between mesenchymal stem cells and macrophages are regulated by 1,25-dihydroxyvitamin D₃[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):14618.
- [14] SHIMIZU Y, ITO Y, YUI K, et al. Intake of 25-hydroxyvitamin D₃ reduces duration and severity of upper respiratory tract infection: A randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel group comparison study[J]. *J Nutr Health Aging*, 2018, 22(4):491-500.
- [15] WANG D, GU J H, FENG L L, et al. 1- α , 25-dihydroxyvitamin D-3 potentiates avian osteoclast activation by increasing the formation of zipper-like structure via Src/Rac1 signaling[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 501(2):576-583.
- [16] JIANG J, ZHANG Y, INDRA A K, et al. 1- α , 25-dihydroxyvitamin D-3-eluting nanofibrous dressings induce endogenous antimicrobial peptide expression[J]. *Nanomedicine*, 2018, 13(12):1417-1432.
- [17] 何焱志, 张辉. 维生素 D 与新生儿呼吸窘迫综合征的关系研究[J]. *实用心脑肺血管病杂志*, 2018, 9(5):194-197.
- [18] 余仁强, 陈道桢, 郝小清, 等. 早产儿出生时 25 羟基维生素 D 水平与呼吸窘迫综合征关系分析[J]. *中国当代儿科杂志*, 2017, 19(11):1134-1137.
- [19] 管利荣, 余静, 陈佳, 等. 住院新生儿维生素 D 水平调查及影响因素分析[J]. *重庆医学*, 2017, 46(13):1823-1824.
- [20] 邓娜, 范翠芳. 维生素 D 对子痫前期的影响及作用机制的研究进展[J]. *安徽医药*, 2018, 22(8):1441-1443.

(收稿日期:2019-11-18 修回日期:2020-02-26)

(上接第 1634 页)

- [19] HORNE B D, LENZINI P A, WADELIUS M, et al. Pharmacogenetic warfarin dose refinements remain significantly influenced by genetic factors after one week of therapy[J]. *Thromb Haemost*, 2012, 107(2):232-240.
- [20] TSE G, GONG M, LI G, et al. Genotype-guided

warfarin dosing *vs.* conventional dosing strategies: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials[J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2018, 84(9):1868-1882.

(收稿日期:2019-06-28 修回日期:2019-11-12)