

基因组学个体化给药对心脏瓣膜术后华法林初始抗凝疗效的影响

刘俊^{1*}, 徐航², 葛卫红², 王东进²(1.皖南医学院弋矶山医院, 安徽芜湖 241001; 2.南京大学医学院附属南京鼓楼医院, 南京 210008)

中图分类号 R952 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)04-0330-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.04.12

摘要 目的:观察基因组学个体化给药对心脏瓣膜术后华法林初始抗凝疗效的影响。方法:将415例行心脏瓣膜手术患者按随机数字表法分为试验组(203例)和对照组(212例),试验组患者按基因组学个体化给予华法林治疗,对照组患者按体质量给予华法林治疗。记录所有患者CYP2C9*3和VKORC1-1639G/A基因检测结果;观察两组患者在华法林抗凝治疗7 d内每日国际标准化比值(INR)达标率、INR总达标率、INR首次达标时间、华法林累积剂量及不良反应发生情况。结果:CYP2C9*3和VKORC1-1639G/A基因类型的频率与等位基因的频率、两组患者华法林累积剂量及不良反应发生率比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);试验组患者INR总达标率显著高于对照组患者,INR首次达标时间显著短于对照组患者,差异均有统计学意义($P<0.05$)。结论:华法林基因组学个体化给药可提高抗凝初期INR达标率,缩短INR首次达标时间,提高初始抗凝疗效。
关键词 华法林;药物基因组学;基因多态性;心脏瓣膜术;个体化给药

Effects of Individualized Medication Based on Pharmacogenomics on the Initial Anticoagulation Response of Warfarin after Cardiac Valve Surgery

LIU Jun¹, XU Hang², GE Wei-hong², WANG Dong-jin²(1.Yijishan Hospital of Wannan Medical College, Anhui Wuhu 241001, China; 2.The Affiliated Drum Tower Hospital of Medical School of Nanjing University, Nanjing 210008, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To observe the effects of individualized medication based on pharmacogenetics on initial anticoagulation response of warfarin after cardiac valve surgery. METHODS: 415 patients underwent cardiac valve surgery were randomly divided into test group (203 cases) and control group (212 cases). Test group was given individual administration of warfarin based on pharmacogenomics, and control group was give warfarin based on body weight. CYP2C9*3 and VKORC1-1639G/A genetic polymorphisms were both detected. The INR target rate of warfarin in everyday, the total INR target rate of warfarin, the time of initial INR target, accumulative dose of warfarin as well as the occurrence of adverse drug reactions in 2 groups were observed within 7 days of warfarin anticoagulation. RESULTS: There were no statistical significance in gene frequency and allele frequency of CYP2C9*3 and VKORC1-1639G/A, accumulative dose of warfarin and the incidence of ADR ($P>0.05$). The total INR target rate of warfarin in test group was significantly higher than in control group, and the time of initial INR target was significantly shorter than in control group; there was statistical significance ($P<0.05$). CONCLUSIONS: The individualized medication based on pharmacogenetics can improve INR target rate of warfarin, shorten the time of initial INR target and promote anticoagulation response.

KEYWORDS Warfarin; Pharmacogenetic; Gene polymorphism; Cardiac valve replacement; Individualized medication

心脏瓣膜术后由于机体凝血系统激活,容易导致血栓的形成,需要给予抗凝治疗。目前,临床常用的抗凝药物为华法林(Warfarin),但其治疗窗窄,抗凝疗效存在个体差异,用药剂量不易掌握。华法林抗凝不足引起的栓塞及抗凝过量所致的出血占心脏瓣膜术后远期并发症的75%^[1]。因此,需要监测患者的国际标准化比值(INR),使其控制在适宜的抗凝强度范围内,从而达到抗血栓且不增加出血风险的目的。有研究表明,华法林抗凝疗效受基因多态性的影响^[2]。VKORC1和CYP2C9基因多态性是华法林个体剂量差异的两个主要影响因素^[3-4]。目前,基于患者基因型及临床特征来预测华法林稳态剂量的数学模型已逐步建立并得到相关的临床验证^[5]。但是,华法林抗凝治疗初期日剂量调整数学模型有待进一步研究,因此笔

者观察了基因组学个体化给药对心脏瓣膜术后华法林初始抗凝疗效的影响,以为临床提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择2012年4月—2013年3月南京大学医学院附属南京鼓楼医院行心脏瓣膜手术患者415例。本研究方案经南京大学医学院附属南京鼓楼医院伦理委员会批准通过,所有患者或其家属均知情同意且签署知情同意书。纳入标准:(1)年龄 ≥ 18 岁;(2)中国汉族人;(3)抗凝治疗 ≥ 7 d。排除标准:(1)心功能 \geq Ⅲ级;(2)肝功能不全,大于天冬氨酸氨基转移酶或丙氨酸氨基转移酶正常值的3倍或大于胆红素正常值的2倍;(3)肾功能不全,血清肌酐 $\geq 200 \mu\text{mol/L}$;(4)严重营养不良;(5)妊娠期妇女;(6)甲状腺功能异常者。按随机数字表法将患者分为试验组(203例)和对照组(212例)。两组患者性别、

* 主管药师。研究方向:临床药学。电话:0553-5739177。E-mail: Xiaoyu234561@sina.com

年龄、体质量等一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性,详见表1。

表1 两组患者一般资料比较($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Comparison of general information between 2 groups($\bar{x}\pm s$)

内容	试验组	对照组
男性/女性,例	95/108	97/105
年龄,岁	53.60±12.13	51.64±12.76
身高,cm	163.32±8.59	163.80±7.94
体质量,kg	61.57±11.27	62.28±11.54
体质量指数,kg/m ²	23.08±4.09	23.12±3.45
体表面积,m ²	1.63±0.18	1.64±0.18
瓣环植入,例(%)	46(22.66)	44(20.75)
生物瓣膜置换,例(%)	50(24.63)	47(22.17)
主动脉瓣机械瓣置换(AVR),例(%)	31(15.27)	36(16.98)
二尖瓣机械瓣置换(MVR),例(%)	39(19.21)	43(20.28)
主动脉瓣及二尖瓣双瓣机械瓣置换(DVR),例(%)	37(18.23)	42(19.81)

1.2 治疗方法

所有患者术后24~48 h内给予华法林(芬兰奥立安药业,规格:3.0 mg/片),瓣环植入、生物瓣膜置换需服用华法林6个月,国际标准化比值(INR)控制在1.6~2.2;AVR、MVR和DVR患者需终身服用华法林,其中AVR要求INR控制在1.6~2.2,MVR和DVR要求INR控制在1.8~2.5。对照组按照患者体质量确定华法林首次剂量为3.0~4.5 mg/d;试验组患者在华法林抗凝治疗前给予基因型检测,根据《基因检测报告》中患者基因型并结合美国食品与药品管理局(FDA)建议确定华法林首次剂量。瓣环植入、生物瓣膜置换、AVR患者采取就低原则,MVR、DVR患者采取就高原则(如根据《基因检测报告》结果建议的首次剂量为3.0~4.0 mg/d,瓣环植入、生物瓣膜置换、AVR患者服用3.0 mg/d,MVR、DVR患者服用3.75 mg/d),详见表2。对照组患者服用华法林第2天开始每日监测INR值,依据监测结果调整华法林至合适剂量;试验组患者服用华法林第2天开始按《基因检测报告》中的华法林预测剂量采用就近原则确定其维持剂量(《基因检测报告》结果预测剂量为3.15 mg/d,则患者维持剂量为3.0 mg/d),并每日监测INR值,根据INR值调整华法林至合适剂量。

表2 FDA依据基因型建议的华法林初始剂量(mg/d)

Tab 2 The initial doses of warfarin based on genotype recommended by FDA(mg/d)

VKORC1	CYP2C9					
	*1/*1	*1/*2	*1/*3	*2/*2	*2/*3	*3/*3
-1639GG	5.0~7.0	5.0~7.0	3.0~4.0	3.0~4.0	3.0~4.0	0.5~2.0
-1639GA	5.0~7.0	3.0~4.0	3.0~4.0	3.0~4.0	0.5~2.0	0.5~2.0
-1639AA	3.0~4.0	3.0~4.0	0.5~2.0	0.5~2.0	0.5~2.0	0.5~2.0

1.3 基因型检测

采用乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝真空采血管(江苏康健医疗用品有限公司)于治疗前采集患者外周静脉血2 ml,以离心半径为3 cm、2 000 r/min转速离心5 min,置-20℃冷冻保存。采用全血基因组抽提试剂盒(上海百傲科技有限公司)采集患者基因组DNA,置-20℃冷冻保存。将提取好的基因组DNA进行CYP2C9*3、VKORC1-1639G/A位点聚合酶链反应(PCR),对所需片段进行扩增,扩增引物分别为:CYP2C9*3上游引物(5'-TGCACGAGGTCCAGAGATGC-3'),下游引物(5'-AAACATGGAG-TTGCAGTGTAG-3');VKORC1-1639G/

A上游引物(5'-GCCAGCAGGAGAGGGAAATA-3'),下游引物(5'-AGTTTGGACTACAGGTGCCT-3')。采用限制性片段长度多态性(RFLP)方法和测序技术对患者进行基因检测,采用BE-2.0基因图像分析软件确定患者基因分型。

1.4 观察指标

记录所有患者CYP2C9*3和VKORC1-1639G/A基因检测结果;观察两组患者在华法林抗凝治疗7 d内每日INR达标率、INR总达标率、INR首次达标时间、华法林累积剂量及不良反应发生情况。

1.5 统计学方法

采用SPSS 11.5统计软件对所得数据进行分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 t 检验;计数资料以率表示,采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 试验组患者基因检测结果

CYP2C9*3和VKORC1-1639G/A基因类型的频率与等位基因的频率比较,差异无统计学意义($P>0.05$),详见表3。

表3 CYP2C9*3和VKORC1-1639G/A基因检测结果比较

Tab 3 Comparison of the detection of CYP2C9*3 and VKORC1-1639G/A

基因	基因类型	频率,例(%)	等位基因	频率,例(%)
CYP2C9*3	AA	193(95.07)	A	396(97.54)
	AC	10(4.93)	C	10(2.46)
VKORC1-1639G/A	AA	166(81.77)	A	367(90.39)
	GA	35(17.24)	G	39(9.61)
	GG	2(0.99)		

2.2 两组患者INR达标情况及华法林累积剂量比较

试验组患者INR总达标率显著高于对照组,INR首次达标时间显著短于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$);两组患者华法林累积剂量比较差异无统计学意义($P>0.05$),详见表4。

表4 两组患者INR达标情况及华法林累积剂量比较

Tab 4 Comparison of INR compliance and accumulative dose of warfarin between 2 groups

组别	n	INR达标率, %							INR总达标率, %	INR首次达标时间, d	华法林累积剂量, mg
		第1天	第2天	第3天	第4天	第5天	第6天	第7天			
试验组	203	2.04	10.31	42.78	46.11	52.06	53.45	50.00	35.86	3.73±1.35	20.38±5.97
对照组	212	1.50	12.12	24.23	42.93	44.19	51.46	50.32	31.07	4.04±1.52	19.88±4.86

2.3 不良反应

试验组患者发生1例皮下出血、1例鼻出血,不良反应发生率为0.99%;对照组患者发生3例鼻出血,不良反应发生率为1.42%,两组不良反应发生率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。治疗期间两组患者均未见血栓栓塞发生。

3 讨论

华法林主要通过肝脏CYP2C9代谢为无活性的6-和7-羟基化合物,负责编码CYP2C9的基因存在野生型CYP2C9*1和突变型CYP2C9*2~CYP2C9*13^[9],其中与华法林代谢关系最密切的突变型为CYP2C9*2和CYP2C9*3,基因突变后可改变代谢酶结构,导致酶活性降低,华法林代谢能力减弱,使华法林给药剂量明显减少。Sanderson S等^[7]研究证实,CYP2C9*3突变可使华法林日均剂量降低37%。VKORC1为华法林作用靶点,华法林通过特异性抑制VKORC1阻断凝血因子的活化

而发挥抗凝作用。VKORC1在其启动子区存在-1639G/A及-1173C/T位点多态性,这两个多态性位点与华法林剂量的个体差异有密切关系^[8]。Yuan HY等^[9]研究发现,VKORC1-1639G/A突变型可能导致VKORC1活性降低,凝血因子合成减少,从而导致华法林的维持剂量显著降低。Miao L等^[10]对中国人群研究认为,VKORC1-1639GG型和GA型华法林日均剂量为(3.32±1.02) mg/d,显著高于AA型华法林日均剂量(1.76±0.57) mg/d。

CYP2C9*2和CYP2C9*3等位基因突变频率在高加索人群中较高,分别达到8%~20%和6%~10%,而在亚洲人群中CYP2C9*2的突变型罕见,CYP2C9*3的突变型也仅有1%~4%^[11]。本研究结果显示,在中国汉族人群中,CYP2C9*3以野生型(AA型)为主,占总数的95.07%,CYP2C9*3基因突变型(AC型)为4.93%,未检测到CYP2C9*2的突变型。亚洲人VKORC1基因以-1639AA型为主。Yang L等^[12]研究显示,亚洲人群VKORC1-1639AA、GA、GG基因型频率分别为80.4%、18.3%和1.3%,而高加索人群分别为16.3%、48.9%和36.7%。顾强等^[13]研究发现,中国重庆地区汉族人VKORC1-1639AA基因型频率为86%,GA和GG型分别为12%和2%,与本研究VKORC1-1639AA型为81.77%、GA型为17.24%、GG型为0.99%的结果基本一致。

心脏瓣膜术后尤其是机械瓣膜置换术后早期凝血功能紊乱,机体由出血倾向发展为高凝状态,血栓栓塞危险性增加,尤其是缺血性脑卒中发生率显著增加,而华法林抗凝强度不足是导致缺血性脑卒中最主要的危险因素^[14]。华法林个体剂量差异可高达20倍,若采用固定的起始剂量给药,有的患者因实际用药量过高而引起出血,有的患者因实际用药量过低而引起血栓。因此,华法林抗凝治疗初期针对患者基因型选择不同的起始剂量对提高INR达标率以减少术后早期血栓栓塞及出血发生率具有重要意义。谢爽等^[15]研究了CYP2C9和VKORC1基因多态性对华法林初始抗凝疗效的影响,并建立了“阜华模型”,该模型预测准确率达73.7%。本研究显示,两组患者前2 d INR达标率均较低,用药3 d后试验组INR达标率明显增加,且随着治疗时间延长,用药4 d后对照组INR达标率亦明显增加,6 d后两组INR达标率均超过50%,这主要与华法林药理学特性有关。华法林阻断凝血因子的活化,对体内已存在的凝血因子无作用,需待凝血因子完全耗竭后才发挥作用,因此华法林起效缓慢,用药后3~5 d起效,5~7 d达到最大抗凝作用。此外,试验组INR总达标率显著高于对照组,尤其是用药3 d后INR达标率显著高于对照组,且试验组较对照组INR首次达标时间缩短,而两组患者华法林累积剂量及不良反应发生率比较差异无统计学意义。提示依据患者基因型确定的华法林首次剂量可减少传统给药所导致的盲目性和局限性,对于提高华法林抗凝初期临床疗效具有一定指导意义。

综上所述,华法林基因组学个体化给药可提高抗凝初期INR达标率,缩短INR首次达标时间,提高初始抗凝疗效。笔者后续拟结合患者基因型及临床特征建立华法林抗凝治疗初期剂量调整数学模型,并进行前瞻性临床验证,以为华法林个体化给药提供新的指导依据。

参考文献

- [1] Emery RW, Emery AM, Raikar GV, *et al.* Anticoagulation for mechanical heart valves: a role for patient based therapy[J]. *J Thromb Thrombolysis*, 2008, 25(1):18.
- [2] 强亚平,汪祥海,杨浩.基因多态性与华法林个体用药的关系[J].*医学综述*, 2012, 18(1):136.
- [3] Bodin L. Cytochrome P4502C9 (CYP2C9) and vitamin K epoxide reductase (VKORC1) genotypes as determinants of acenocoumarol sensitivity[J]. *Blood*, 2005, 106(1):135.
- [4] Reiner MJ, Reiner AP, Gage BF, *et al.* Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose [J]. *N Engl J Med*, 2005, 352(22):2 285.
- [5] Namazi S, Azarpira N, Hendijani T, *et al.* The impact of genetic polymorphisms and patient characteristic on warfarin dose requirements: a cross-sectional study in Iran[J]. *Clin Ther*, 2010, 32(6):1 050.
- [6] 娄莹,李一石.华法林的药物基因组学及其合理应用[J].*药物不良反应杂志*, 2011, 13(1):32.
- [7] Sanderson S, Emery J, Higgins J. CYP2C9 gene variants, drug dose, and bleeding risk in warfarin-treated patients: a HuGenet systematic review and meta-analysis[J]. *Genet Med*, 2005, 7(2):97.
- [8] 孟丽君,宋杰,王东进,等.VKORC1基因多个单核苷酸位点基因多态性对华法林维持剂量的影响[J].*江苏医药*, 2011, 37(2):185.
- [9] Yuan HY, Chen JJ, Lee MT, *et al.* A novel functional VKORC1 promoter polymorphism is associated with inter-individual and inter-ethnic differences in warfarin sensitivity[J]. *Hum Mol Genet*, 2005, 14(13):1 745.
- [10] Miao L, Yang J, Huang C, *et al.* Contribution of age, body weight, and CYP2C9 and VKORC1 genotype to the anticoagulant response to warfarin: proposal for a new dosing regimen in Chinese patients[J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2007, 63(12):1 135.
- [11] 郑红艳,宋杰. CYP2C9和VKORC1基因多态性对华法林剂量的影响[J].*医学综述*, 2011, 17(2):178.
- [12] Yang L, Ge W, Yu F, *et al.* Impact of VKORC1 gene polymorphism on inter-individual and interethnic warfarin dosage requirement-a systematic review and meta analysis [J]. *Thromb Res*, 2010, 125(4):e159.
- [13] 顾强,陈柏成,郝嘉,等.重庆地区人工机械瓣膜置换术后患者VKORC1-1639A/G遗传多态性与华法林剂量调整的研究[J].*第三军医大学学报*, 2009, 31(23):2 370.
- [14] 袁焯,董力,张太明,等.心脏机械瓣膜置换术后低强度抗凝治疗中的缺血性脑卒中[J].*中国胸心血管外科临床杂志*, 2009, 16(3):183.
- [15] 谢爽.VKORC1与CYP2C9基因多态性对中国人口服华法林起始抗凝效果影响的研究[D].北京:中国协和医科大学, 2009.

(收稿日期:2013-08-29 修回日期:2013-11-20)