



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ Development of pharmacogenetics-based warfarin
dosing algorithm in Thai patients

โดย อ.ดร. นิตย์สุภา วัฒนชัย

มิถุนายน 2560

สัญญาเลขที่ TRG5880001

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ Development of pharmacogenetic-based warfarin
dosing algorithm in Thai patients

อ.ดร. นิตยสุภา วัฒนชัย

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยและต้นสังกัด

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว.และต้นสังกัดไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอ)

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : TRG5880001

ชื่อโครงการ : การพัฒนาสูตรการคำนวณขนาดยา warfarin โดยอาศัยข้อมูลทางคลินิกและพันธุกรรมในผู้ป่วยชาวไทย

ชื่อหลักวิจัย และสถาบัน : อ.ดร. นิตยสุภา วัฒนชัย ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

E-mail Address : nitsupa@kku.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : 1 กรกฎาคม พ.ศ. 2558 – 30 มิถุนายน พ.ศ. 2560

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม ปัจจัยทางคลินิกและความแปรปรวนในการตอบสนองต่อยา warfarin และเพื่อสร้างสมการที่อาศัยข้อมูลทางคลินิกและข้อมูลทางพันธุกรรมเพื่อคำนวณขนาดยา warfarin ในผู้ป่วยชาวไทย การศึกษานี้คัดเลือกผู้ป่วยชาวไทยจำนวน 265 คน โดยเก็บข้อมูลทั่วไป และข้อมูลทางคลินิก เช่น อายุ ดัชนีมวลกาย ขอบ่งใช้ยา warfarin และยาที่ใช้ร่วม ซึ่งทำการศึกษากวาระพหุสัณฐานทางพันธุกรรมของยีน *VKORC1* -1639G>A, *CYP2C9* 1075A>C, *CYP4F2* 1347C>T และ *UGT1A1* -364C>T จาก gDNA ของผู้ป่วยด้วยวิธี TaqMan allelic discrimination assay ผลการศึกษาพบว่าผู้ป่วยที่มี variant แอลลีล A ของยีน *VKORC1*-1639G>A ต้องการยา warfarin ขนาดคงที่ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับจีโนไทป์แบบ wild-type GG อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$) ในทำนองเดียวกันกับผู้ป่วยที่มี variant แอลลีล C ของ *CYP2C9* 1075A>C มีความต้องการขนาดยา warfarin ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับจีโนไทป์แบบ AA (wild-type) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 0.01$) เมื่อวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้นพหุคูณพบว่าผู้ป่วยที่มีลักษณะจีโนไทป์แบบ TT ของยีน *CYP4F2* 1347C>T มีผลต่อความต้องการขนาดยา warfarin เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ป่วยที่มีจีโนไทป์แบบ CC (wild-type) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 0.012$) ในทางตรงข้ามไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของยา warfarin ขนาดคงที่ในผู้ป่วยที่มี variant แอลลีลของ *UGT1A1* -364C>T เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ป่วยที่แอลลีลแบบ CC (wild-type) สำหรับปัจจัยทางคลินิกที่พบว่ามีสัมพันธ์กับยา warfarin ในขนาดคงที่ได้แก่ อายุ ดัชนีมวลกาย การใช้ยาร่วม (ได้แก่ ยา amiodarone และยากลุ่ม antiplatelet) และการสูบบุหรี่ในปัจจุบัน จากการศึกษาสรุปได้ว่าทั้งปัจจัยทางพันธุกรรม ได้แก่ *VKORC1* -1639G>A, *CYP2C9* 1075A>C, *CYP4F2* 1347C>T และปัจจัยทางคลินิกได้แก่ อายุ ดัชนีมวลกาย การใช้ยาร่วม (ยา amiodarone และยากลุ่ม antiplatelet) และการสูบบุหรี่ในปัจจุบัน มีผลต่อความแปรปรวนในการตอบสนองต่อยา warfarin ขนาดคงที่ 51.9% นอกจากนี้ยังพบว่าสมการที่อาศัยข้อมูลทางคลินิกและข้อมูลทางพันธุกรรมในการศึกษานี้มีความถูกต้องยิ่งเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาที่ผ่านมาในคนไทย

Abstract

Project Code : TRG5880001

Project Title : Development of pharmacogenetics-based warfarin dosing algorithm in Thai patients

Investigator : Dr. Nitsupa Wattanachai

Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Khon Kaen University

E-mail Address : nitsupa@kku.ac.th

Project Period : 1st July 2015 – 30th June 2017

The aims of this study were to investigate the association between genetic factors, clinical factors and variability in warfarin response and develop pharmacogenetics-based warfarin dosing algorithm in Thai patients. A total of 265 Thai patients with stable warfarin doses were enrolled in the study. Demographics and clinical data e.g. age, body mass index, indications for warfarin and concomitant medications, were documented. Four single nucleotide polymorphisms in the *VKORC1* -1639G>A, *CYP2C9* 1075A>C, *CYP4F2* 1347C>T, and *UGT1A1* -364C>T genes were detected from gDNA using TaqMan allelic discrimination assays. The results showed that patients with variant allele of *VKORC1* -1636G>A required significantly lower warfarin stable dose when compared with wild-type GG ($P < 0.001$). Similarly, the patients with variant allele of *CYP2C9* 1075A>C required significantly lower warfarin stable dose than those with homozygous wild-type ($P < 0.001$). Multivariate analysis showed that patients with TT genotype of *CYP4F2* 1347C>T required significantly higher warfarin stable dose than those with homozygous wild-type genotype ($P = 0.012$). In contrast, there were no significant differences in the warfarin stable dose between the patients who carried variant alleles of *UGT1A1* -364C>T as compared to wild-type allele carriers. For clinical factors, age, BMI, current smoker status, and concomitant use of antiplatelet drugs and amiodarone were associated with warfarin dose requirements. In conclusion, *VKORC1* -1639G>A, *CYP2C9* 1075A>C, and *CYP4F2* 1347C>T polymorphisms together with age, body mass index, antiplatelet drug use, amiodarone use, and current smoker status explained 51.9% of individual variability in stable warfarin doses. Moreover, pharmacogenetics algorithm of the present study was more accurate prediction of warfarin stable doses than the previous studies in Thai patients.

เนื้อหางานวิจัยประกอบด้วย

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมของยีน *VKORC1* -1639G>A, *CYP2C9* 1075A>T, *CYP4F2* 1347C>T และ *UGT1A1* -364C>T รวมถึงปัจจัยทางคลินิกที่มีผลต่อการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา warfarin ขนาดคงที่
2. เพื่อสร้างสมการคำนวณขนาดยา warfarin ที่เหมาะสมสำหรับผู้ป่วยชาวไทย

วิธีทดลอง

1. รูปแบบการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการวิจัยแบบย้อนหลัง (retrospective study) โดยมีการเก็บข้อมูลในช่วงที่ผู้ป่วยได้รับยา warfarin ในขนาดคงที่ติดต่อกัน 2 ครั้งของการมาพบแพทย์ (clinical visit) รวมถึงเก็บข้อมูลอื่น ๆ ได้แก่ ข้อมูลทั่วไป และข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วย อีกทั้งเก็บตัวอย่างเลือด (blood sample) ของผู้ป่วย เพื่อนำไปศึกษาภาวะพหุสัณฐานทางพันธุกรรมของยีน *VKORC1* -1639G>A, *CYP2C9* 1075A>T, *CYP4F2* 1347C>T และ *UGT1A1* -364C>T

ข้อจำกัดของการศึกษานี้เนื่องจากการเป็นการศึกษาแบบย้อนหลัง จึงไม่สามารถควบคุมหรือเก็บข้อมูลได้ไม่ชัดเจน ได้แก่ ข้อมูลการรับประทานผัก การเจ็บป่วยในอดีต การเริ่มใช้ยา warfarin ครั้งแรก การเกิดผลข้างเคียงจากการใช้ยาในอดีต การดื่มแอลกอฮอล์และสูบบุหรี่ในอดีต

2. อาสาสมัครที่เข้าร่วมโครงการวิจัย

อาสาสมัครถูกคัดเลือกเข้าร่วมโครงการวิจัยตามเกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการและเกณฑ์การคัดอาสาสมัครออกจากโครงการวิจัยซึ่งได้ระบุในเอกสารที่ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรม มหาวิทยาลัยขอนแก่น (เลขที่ HE581068) ดังต่อไปนี้

2.1 เกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการวิจัย (inclusion criteria)

2.1.1 ผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาในศูนย์หัวใจสิริกิติ์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และโรงพยาบาลศรีนครินทร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น โดยผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยจากแพทย์เจ้าของไข้ว่ามีความเสี่ยงหรือเป็นโรคทางระบบหัวใจและหลอดเลือด

2.1.2 ผู้ป่วยได้รับการรักษาด้วยยา warfarin ขนาดคงที่ โดยยา warfarin ขนาดคงที่คือ ขนาดยาที่ผู้ป่วยได้รับในขนาดเดิมติดต่อกันอย่างน้อย 2 ครั้งของการรักษา (clinical visit) ซึ่งต้องมีเวลาไม่น้อยกว่า 4 สัปดาห์ และมีค่า INR อยู่ในช่วงการรักษา $2-3 \pm 0.2$ INR units

2.1.3 ผู้ป่วยชาวไทยอายุ 18 ปีขึ้นไป

2.1.4 ผู้ป่วยยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยด้วยความเต็มใจ และได้ลงนามในหนังสือแสดงความยินยอมแล้ว

2.2 เกณฑ์การคัดอาสาสมัครออกจากโครงการวิจัย (exclusion criteria)

2.2.1 ผู้ป่วยหญิงตั้งครรภ์

2.2.2 ผู้ป่วยที่มีการทำงานของตับผิดปกติ โดยค่าเอนไซม์ AST และ ALT สูงกว่าค่าสูงสุดของช่วงปกติ 3 เท่า

2.2.3 ผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของการทำงานของต่อมไทรอยด์ ได้แก่ ภาวะไทรอยด์เป็นพิษ และภาวะไทรอยด์ฮอร์โมนต่ำ

2.2.4 ผู้ป่วยได้ร่วมโครงการวิจัยอื่นที่ให้ยาทดลองหรือมีการทำหัตถการที่มีผลต่อการรักษาด้วย ยา warfarin

3. จำนวนอาสาสมัครที่เข้าร่วมโครงการวิจัย

การคำนวณขนาดอาสาสมัครโดยใช้โปรแกรม STATA รุ่น 10.1 ซึ่งคำนวณจากปัจจัยทั้งหมดที่ต้องการศึกษาครั้งนี้ (nvar) และปัจจัยที่ต้องการทดสอบ (ntest) โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเชิงพหุแบบ full model (r2f) และ reduced model (r2r) ที่ได้จากการทบทวนวรรณกรรม ดังนี้

$r2f = 0.561$ (การเกิดพหุสัณฐานของยีน *CYP2C9*, ยีน *VKORC1*, ยีน *CYP4F2*, อายุ, น้ำหนัก, และการใช้ยา amiodarone) (Cen et al., 2010)

$r2r = 0.538$ (การเกิดพหุสัณฐานของยีน *CYP2C9*, การเกิดพหุสัณฐานของยีน *VKORC1* และอายุ (Sangviroon et al., 2010)

$N = \text{powerreg}, r2f(0.561) \ r2r(0.538) \ nvar(8) \ ntest(6) \ \alpha(0.05)$

$N = 265$

กำหนดให้

$r2f$ คือ ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเชิงพหุแบบ full model ซึ่งเท่ากับ $r2 = 0.561$

$r2r$ คือ ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเชิงพหุแบบ reduced model ซึ่งเท่ากับ $r2 = 0.538$

α คือ ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมาะสมต่อความเชื่อมั่น (95%) ซึ่งเท่ากับ $\alpha = 0.05$

$Nvar$ คือ จำนวนปัจจัยทั้งหมดที่มีผลต่อการทดสอบซึ่งมีทั้งหมด 8 ปัจจัย $Nvar = 8$

จำนวนปัจจัยทั้งหมดที่มีผลต่อการทดสอบทั้งหมด 8 ปัจจัย ได้แก่ ภาวะพหุสัณฐานทางพันธุกรรมของยีน *VKORC1* -1639G>A, *CYP2C9* 1075A>C, *CYP4F2* 1347C>T และ *UGT1A1* -364C>T และปัจจัยทางคลินิก ได้แก่ อายุ ดัชนีมวลกาย การใช้ยาร่วม และการสูบบุหรี่

$Ntest$ คือ จำนวนปัจจัยที่ต้องการทดสอบ ซึ่งมีทั้งหมด 6 ปัจจัย $Ntest = 6$

จำนวนปัจจัยที่ต้องการทดสอบทั้งหมด 6 ปัจจัย ได้แก่ ภาวะพหุสัณฐานทางพันธุกรรมของยีน *CYP4F2* 1347C>T, *UGT1A1* -364C>T, ดัชนีมวลกาย, ข้อบ่งใช้ยา warfarin , การใช้ยาร่วม และการสูบบุหรี่

เมื่อแทนค่าต่างๆ ในสมการโดยคำนวณจากโปรแกรม STATA รุ่น 10.1 ได้จำนวนอาสาสมัครเท่ากับ 265 คน ดังนั้นต้องการอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการวิจัยจำนวน 265 คน

4. แผนการทดลอง

4.1 การเก็บและบันทึกข้อมูลทางการแพทย์

การเก็บข้อมูลโดยการซักประวัติ การสังเกตจากผู้ป่วย ดูจากแฟ้มประวัติผู้ป่วยและระบบฐานข้อมูลทางอิเล็กทรอนิกส์ของโรงพยาบาล

การบันทึกข้อมูล โดยบันทึกลงในแบบฟอร์มบันทึกข้อมูล (case report form; CRF) ได้แก่ ข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิก ได้แก่ อายุ เพศ น้ำหนัก ส่วนสูง ดัชนีมวลกาย ข้อบ่งใช้ยา warfarin โรคร่วมยาที่ใช้ร่วม การเกิดอาการไม่พึงประสงค์จากการใช้ยา warfarin การแพ้ยา การรับประทานสมุนไพรและอาหารเสริม การสูบบุหรี่ การดื่มแอลกอฮอล์ และค่าผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ ได้แก่ INR, AST และ ALT ซึ่งข้อมูลทั้งหมดของอาสาสมัครจะถูกเก็บเป็นความลับไม่มีการเปิดเผยข้อมูลที่ระบุตัวตนอาสาสมัคร

4.2 การเชิญอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการวิจัย

แพทย์ผู้รักษาเป็นผู้ให้ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับโครงการวิจัยแก่ประชากรกลุ่มเป้าหมาย จากนั้นผู้ป่วยรับฟังคำอธิบายในรายละเอียดและให้คำยินยอมการเข้าร่วมเป็นอาสาสมัครกับนักวิจัย

4.3 การเก็บตัวอย่างเพื่อนำมาสกัด genomic DNA (gDNA)

หลังจากอาสาสมัครให้ความยินยอมและลงนามเข้าร่วมโครงการวิจัย ทำการเก็บเลือดจากผู้ป่วย 1 ครั้ง จำนวน 3 มิลลิลิตร บริเวณหลอดเลือดดำที่แขน โดยเก็บเลือดลงในหลอดที่เคลือบด้วยสารต้านการแข็งตัวของเลือด (ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) vacutainer tubes) จากนั้นนำเลือดไปปั่นเหวี่ยงตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ Beckman Coulter รุ่น Allegra X-15R ด้วยความเร็ว 3,500 rpm นาน 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ซึ่งเกิดการแยกชั้นของเลือดเป็น 3 ส่วน ได้แก่ พลาสมาอยู่ชั้นบน เม็ดเลือดขาวอยู่ระหว่างพลาสมาและเม็ดเลือดแดง และเม็ดเลือดแดงอยู่ชั้นล่าง ทำการแยกเก็บส่วนที่มีเม็ดเลือดขาว (buffy coat) แล้วนำเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส (กรณีที่ยังไม่ได้นำไปสกัด gDNA ทันที) จากนั้นทำการสกัด gDNA จากเซลล์เม็ดเลือดขาว (white blood cell) โดยใช้ชุดสกัด QIAamp DNA blood mini kit ตามขั้นตอนมาตรฐานของบริษัทผู้ผลิต ซึ่ง gDNA ที่ได้นี้ไม่นำไปใช้ในประโยชน์อื่นนอกเหนือจากที่ระบุในเอกสารที่ได้รับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

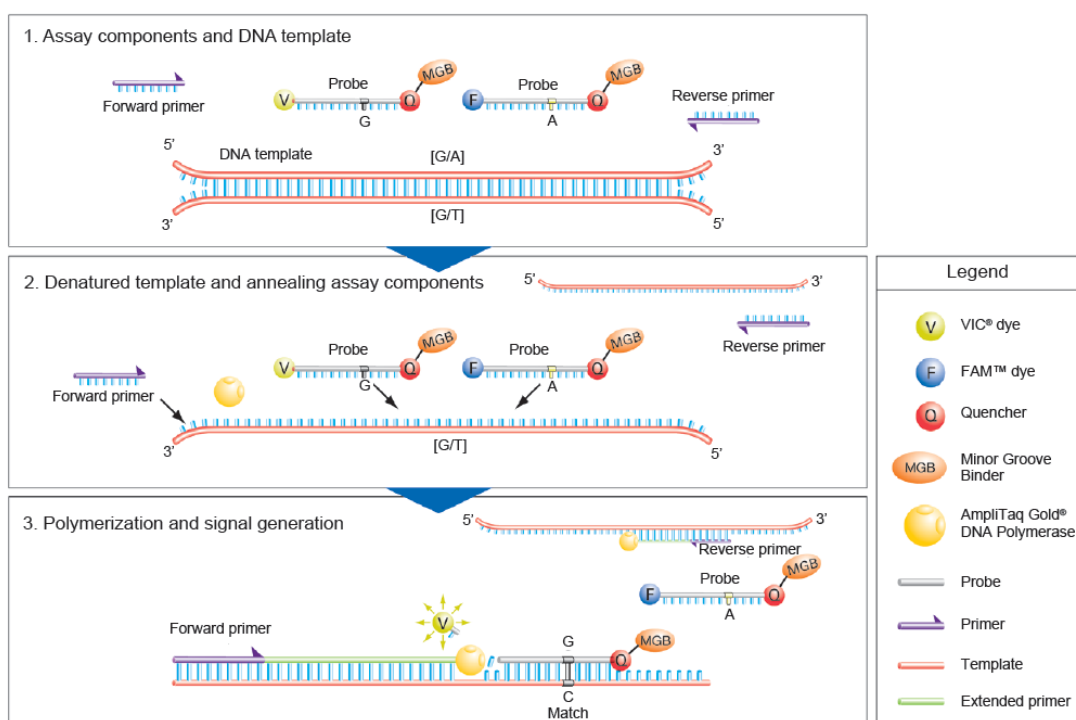
4.4 วิเคราะห์ภาวะพหุสัณฐานทางพันธุกรรมของยีน *VKORC1*, *CYP2C9* และ *CYP4F2* และ *UGT1A1*

การวิเคราะห์ภาวะพหุสัณฐานทางพันธุกรรมของยีน *VKORC1* -1639G>A (dbSNP ID: rs9923231; assay ID: C_30403261_20), *CYP2C9* 1075A>T (dbSNP ID: rs1057910; assay ID: C_27104892_10), *CYP4F2* 1347C>T (dbSNP ID: rs2108622; assay ID: C_16179493_40) และ *UGT1A1* -364C>T (dbSNP ID: rs887829; assay ID: C_2669357_10) เพื่อตรวจหาลักษณะจีโนไทป์ของผู้ป่วยโดย TaqMan[®] allelic discrimination assay ด้วยเครื่อง Applied Biosystems[®] 7500 fast Real-Time PCR ซึ่งอาศัยหลักการ real-time polymerase chain reaction (real time-PCR) (ภาพที่ 1) ซึ่งมีขั้นตอน ดังนี้

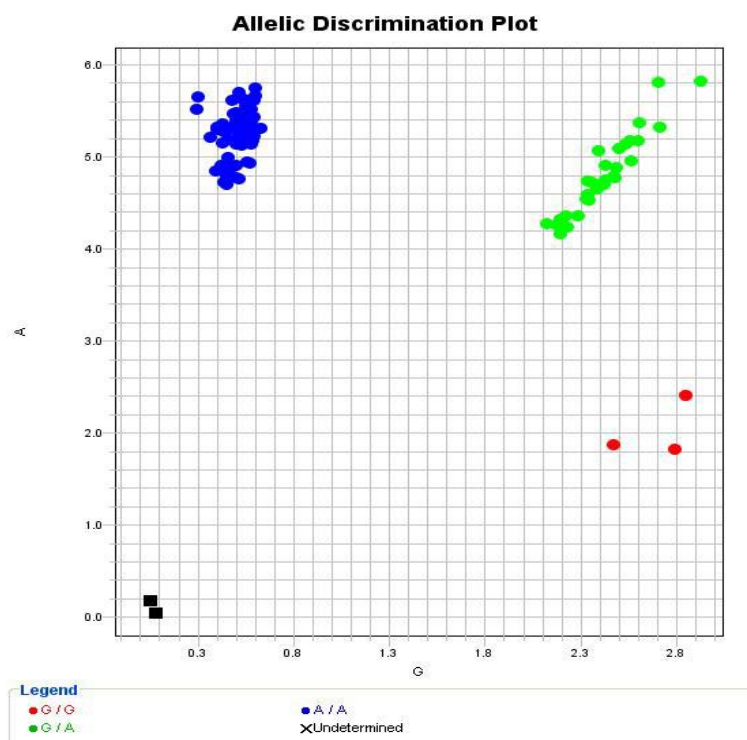
- หลังจากที่ได้ gDNA เกลี่ยวคู่แยกจากกัน ได้เป็น gDNA ต้นแบบ (gDNA template) สายเดี่ยว

- จากนั้น TaqMan[®] probe ซึ่งมีเบสคู่สม (complementary base) ที่เข้ากันได้กับตำแหน่งเบสของ single nucleotide polymorphism (SNP) ที่ต้องการศึกษาจะจับสาย gDNA ต้นแบบในขั้นตอน annealing ซึ่ง forward primer จับกับ gDNA ต้นแบบเช่นกัน โดย TaqMan[®] probe ทั้งสองเส้นที่ติดฉลากด้วย reporter dye สามารถปลดปล่อยพลังงานในรูปแบบของแสงที่มีความยาวคลื่นต่างกัน เช่น VIC[®], FAM[®] ซึ่งปลาย 3' ของ TaqMan[®] probe ทั้งสองเส้นจะถูกติดฉลากด้วย quencher dye ซึ่งทำให้ไม่สามารถปลดปล่อยพลังงานในรูปแบบแสงได้ โดยเชื่อมติดกับ minor groove binder

- จากนั้นเมื่อเข้าสู่ช่วงการสร้างดีเอ็นเอสายใหม่ (elongation) เอนไซม์ Taq DNA polymerase ซึ่งจะทำให้การย่อย fluorescent reporter dye ที่ติดฉลากไว้ที่ปลาย 5' ของ TaqMan[®] probe ที่เข้าคู่กันได้ดีกับ gDNA ต้นแบบ ทำให้ fluorescent reporter dye หลุดออกเป็นอิสระจาก quencher เกิดการปลดปล่อยพลังงานในรูปแบบของแสง ซึ่งวิเคราะห์ลักษณะจีโนไทป์ที่ได้หลังสิ้นสุดกระบวนการ PCR (end-point) โดยดูจากค่าของสัญญาณการเรืองแสง florescent จาก TaqMan[®] probe ที่จับกับ variant แอลลีลหรือ wild-type แอลลีล ซึ่งแสดงผลในรูปแบบ allelic discrimination plot (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 1 ขั้นตอนการตรวจหาลักษณะทางพันธุกรรมด้วย TaqMan[®] allelic discrimination assay



ภาพที่ 2 Allelic discrimination plot

4.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตัวแปรต้นในการศึกษานี้ คือ ปัจจัยทางพันธุกรรม ปัจจัยทางคลินิก และข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย

ตัวแปรตาม คือ ยา warfarin ขนาดคงที่ มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อสัปดาห์

เนื่องจากข้อมูลของยา warfarin ในขนาดคงที่แจกแจงแบบไม่ปกติ จึงใช้สถิติแบบสถิติไร้

พารามิเตอร์ (nonparametric statistics)

4.5.1 การทดสอบความกลมกลืนของความถี่แอลลีลและจีโนไทป์ของยีน ตามกฎสมดุลงของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก

โดยเปรียบเทียบระหว่างความถี่ที่คาดหวังและความถี่ที่สังเกต ใช้การทดสอบไคสแควร์ (chi-square test: χ^2 -test) เป็นการทดสอบความกลมกลืน (goodness of fit test) เพื่อศึกษาว่าการแจกแจงความถี่แอลลีลและจีโนไทป์ของยีน *VKORC1* -1639G>A, *CYP2C9* 1075A>C, *CYP4F2* 1347C>T และ *UGT1A1* -364C>T ในกลุ่มประชากรจากการศึกษานี้มีการแจกแจงความถี่เป็นไปตามกฎสมดุลงของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก หรือไม่ โดยหาค่า $P < 0.05$ ถือว่าเบี่ยงเบนจากกฎสมดุลงของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก

4.5.2 การเปรียบเทียบยา warfarin ขนาดคงที่กับข้อมูลทางคลินิกและข้อมูลทางพันธุกรรม โดยใช้การทดสอบสถิติสองตัวแปร (bivariate analysis) ได้แก่

4.5.2.1 การเปรียบเทียบความแตกต่างของยา warfarin ขนาดคงที่กับข้อมูลทางคลินิกและทางพันธุกรรม

ใช้การวิเคราะห์ Mann-Whitney U test เพื่อทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของยา warfarin ในขนาดคงที่ ระหว่างกลุ่มตัวอย่าง 2 กลุ่มที่เป็นอิสระต่อกัน ได้แก่ ข้อมูลทางคลินิกและค่าเฉลี่ยขนาดยา warfarin คงที่ระหว่าง 2 กลุ่ม เช่น เพศ (เพศหญิงและเพศชาย), อายุ (อายุ < 65 ปี และอายุ ≥ 65 ปี), ดัชนีมวลกาย (BMI < 30 และ BMI ≥ 30), ข้อบ่งใช้ยา warfarin (ผู้ที่มีและไม่มีข้อบ่งใช้ยา warfarin), โรคร่วม (ผู้ที่มีและไม่มีโรคร่วม), การใช้ยาร่วม (ผู้ใช้และไม่ได้ใช้ยาร่วม), การดื่มแอลกอฮอล์ในปัจจุบัน (ผู้ที่ดื่มและไม่ดื่มแอลกอฮอล์) และการสูบบุหรี่ในปัจจุบัน (ผู้ที่สูบและไม่สูบบุหรี่) เป็นต้น และข้อมูลทางพันธุกรรมและค่าเฉลี่ยขนาดยา warfarin คงที่ระหว่าง 2 กลุ่ม เช่น จีโนไทป์ของยีน *VKORC1* และของยีน *CYP2C9*

4.5.2.2 การเปรียบเทียบความแตกต่างของยา warfarin ขนาดคงที่และจีโนไทป์แบบต่าง ๆ

ใช้การวิเคราะห์ Kruskal-Wallis test เพื่อวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของยา warfarin ขนาดคงที่ตั้งแต่ 3 กลุ่มขึ้นไป เช่น ค่าเฉลี่ยขนาดยา warfarin ระหว่าง 3 กลุ่มผู้ป่วยที่มีลักษณะทางจีโนไทป์แตกต่างกัน ได้แก่ จีโนไทป์ GG, GA และ AA ของยีน *VKORC1* -1639G>A, จีโนไทป์ AA, AC และ CC ของยีน *CYP2C9* 1075A>C, จีโนไทป์ CC, CT และ TT ของยีน *CYP4F2* 1347C>T และยีน *UGT1A1* -364C>T

4.5.2.3 การหาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดยา warfarin และข้อมูลทางคลินิก

ใช้การวิเคราะห์ Spearman's rank correlation เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรต่อเนื่อง 2 ตัว ได้แก่ ยา warfarin ขนาดคงที่และข้อมูลทางคลินิกซึ่งเป็นข้อมูลแบบต่อเนื่อง เช่น อายุ ส่วนสูง น้ำหนักตัว ดัชนีมวลกาย และค่าเป้าหมาย INR โดยดูจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient)

4.5.3 ผลการวิเคราะห์ปัจจัยทางคลินิกและปัจจัยทางพันธุกรรมที่มีผลต่อยา warfarin ขนาดคงที่

โดยวิเคราะห์การถดถอยเชิงพหุคูณ (multiple linear regression analysis) เพื่อการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรต้นที่ทำหน้าที่พยากรณ์ตั้งแต่ 2 ตัวแปรขึ้นไปและตัวแปรตาม 1 ตัว โดยตัวแปรต้นที่นำเข้าวิเคราะห์การถดถอยเชิงพหุคูณต้องมีค่า $P < 0.05$ จากการวิเคราะห์สถิติสองตัวแปร (bivariate analysis) ได้แก่ ลักษณะพันธุกรรมของยีน *VKORC1* -1639G>A, *CYP2C9* 1075A>C, อายุ ดัชนีมวลกาย ภาวะ atrial fibrillation ภาวะ deep vein thrombosis/pulmonary embolism การใช้ยา amiodarone และการใช้ยากลุ่ม antiplatelet อีกทั้งนำตัวแปรที่มีค่า $P > 0.05$ จากการวิเคราะห์สถิติสองตัวแปร (bivariate analysis) บางตัวแปรเข้าวิเคราะห์การถดถอยเชิงพหุคูณ ได้แก่ *CYP4F2* 1347C>T และการสูบบุหรี่ในปัจจุบัน โดยใช้วิธีการคัดเลือกตัวแปรต้นแบบขั้นตอน (stepwise selection) ซึ่งทดสอบว่ามีตัวแปรใดบ้างเป็นตัวแปรพยากรณ์ด้วยวิธีการคัดเลือกแบบก้าวหน้า (forward selection) ที่ค่า $P < 0.05$ และขณะเดียวกันมีคัดเลือกตัวแปรออกแบบถอยหลัง (backward selection) ที่ค่า $P > 0.1$ โดยทำการคัดเลือกแบบผสมทั้งสองวิธีนี้ในทุกขั้นตอน กระบวนการยุติเมื่อไม่มีตัวแปรใดถูกนำเข้าสมการและไม่มีตัวแปรใดที่ถูกคัดออกจากสมการ ในขั้นตอนสุดท้ายได้สมการคำนวณขนาดยา warfarin จากข้อมูลทางพันธุกรรมและข้อมูลทางคลินิก (pharmacogenetics algorithm) ที่มีสัมประสิทธิ์การ

พยากรณ์สูงสุด และทำการวิเคราะห์สมการคำนวณขนาดยา warfarin จากข้อมูลทางคลินิก (clinical algorithm) ด้วยวิธีเดียวกับ pharmacogenetics algorithm แต่ไม่ได้นำปัจจัยทางพันธุกรรมมาวิเคราะห์ การถดถอยเชิงพหุคูณ

การวิเคราะห์ทางสถิติทั้งหมดใช้โปรแกรม SPSS รุ่น 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) โดยใช้ค่า P value น้อยกว่า 0.05 ถือว่ามีนัยสำคัญทางสถิติ

4.5.4 การประเมินความถูกต้องในการทำนายขนาดยา warfarin ของสมการ

คำนวณขนาดยา warfarin โดยการนำข้อมูลทั้งข้อมูลทางคลินิกและข้อมูลทางพันธุกรรมของผู้ป่วยทั้งหมด 265 คน แทนค่าในสมการที่ได้จากการศึกษานี้ และสมการจากการศึกษาอื่น (ตารางที่ 1 และ 2) เมื่อได้ขนาดยา warfarin ที่คำนวณได้จากสมการต่าง ๆ นำมาเปรียบเทียบกับความถูกต้องของสมการจากค่าต่อไปนี้

- Mean absolute error (MAE) คำนวณได้จากค่าเฉลี่ยผลต่างสัมบูรณ์ของขนาดยา warfarin ที่ผู้ป่วยได้รับจริง (observed dose) และขนาดยาที่คำนวณจากสมการ (predicted dose) หากมีค่า MAE มากแสดงว่าสมการมีค่าความถูกต้องต่ำ หากค่า MAE น้อยแสดงว่าสมการมีความถูกต้องสูง

- Ideal prediction หมายถึง ขนาดยา warfarin ที่คำนวณได้จากสมการในช่วง $\pm$ ร้อยละ 20 ของยา warfarin ที่ผู้ป่วยได้รับจริง

- Under prediction หมายถึง ขนาดยา warfarin ที่คำนวณได้จากสมการน้อยกว่าค่าลบร้อยละ 20 ของขนาดยาที่ผู้ป่วยได้รับจริง

- Over prediction หมายถึง ขนาดยา warfarin ที่คำนวณได้จากสมการมากกว่าค่าบวกร้อยละ 20 ของขนาดยาที่ผู้ป่วยได้รับจริง

วิเคราะห์ความแตกต่างของค่า MAE ของ pharmacogenetics algorithm ในการศึกษาและสมการอื่น ใช้การวิเคราะห์ Wilcoxon signed-rank test เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่าง 2 กลุ่มในประชากรเดียวกัน

วิเคราะห์ความแตกต่างของค่า ideal prediction (%) ของ pharmacogenetics algorithm ในการศึกษาและสมการอื่น ใช้การวิเคราะห์ McNemar's test เปรียบเทียบจำนวนร้อยละระหว่าง 2 กลุ่มในประชากรเดียวกัน

ตารางที่ 1 สมการคำนวณขนาดยา warfarin จากข้อมูลทางพันธุกรรมและข้อมูลทางคลินิก (pharmacogenetics algorithm)

การศึกษาอ้างอิง	สมการ
Sangviroon et al., 2010	Dose (mg/week) = $\exp[1.846 + (0.412 \times \text{VKORC1 AB}) + (0.559 \times \text{VKORC1 BB}) + (1.512 \times \text{CYP2C9}^*1/1) + (1.136 \times \text{CYP2C9}^*1/3) - (0.007 \times \text{age})]$ แทนค่าตัวแปร: age (years) and 1 or 0 if present or absent in terms of CYP2C9*1/1, CYP2C9*1/3, VKORC1 AB or VKORC1 BB
Sarapakdi et al., 2012	Dose (mg/day) = $2.075 - 0.028 \times (\text{age}) + 0.022 \times (\text{weight}) + 1.173 \times (\text{CYP2C9}^*3) + 1.788 \times \text{VKORC1 AB} + 3.705 \times \text{VKORC1 BB}$

แทนค่าตัวแปร : age (years), weight (kg), input 0 for CYP2C9*1/*3, 1 for CYP2C9*1/*1, input 1 for VKORC1 AB, 0 for otherwise; input 1 for VKORC1 BB, 0 for otherwise

IWPC

(Klein et al.,2009)

Square root of weekly warfarin dose (mg/week) = 5.6044 - 0.2614 x Age in decades + 0.0087 x Height (cm.) + 0.0128 x Weight (kg) - 0.8677 x (VKORC1 - 1639A/G) - 1.6974 x (VKORC1 - 1639A/A) - 0.4854 x VKORC1 genotype unknown - 0.5211 x CYP2C9*1/*2 - 0.9357 x CYP2C9*1/*3 - 1.0616 x CYP2C9*2/*2 - 1.9206 x CYP2C9*2/*3 - 2.3312 x CYP2C9*3/*3 - 0.2188 x CYP2C9 genotype unknown - 0.1092 x Asian race - 0.2760 x Black or African American - 0.1032 x Missing or Mixed race + 1.1816 x Enzyme inducer status - 0.5503 x Amiodarone status

แทนค่าตัวแปร : age (decades) (1 for 10-19, 2 for 20-29, etc...), VKORC1 G/A (1 if heterozygous for rs9923231; otherwise = 0), VKORC1 A/A (1 if homozygous for A at rs9923231; otherwise = 0), VKORC1 genotype unknown (1 if rs9923231 genotype missing or unknown; otherwise = 0), CYP2C9 *1/*2 (1 if CYP2C9 genotype is *1/*2; otherwise = 0), CYP2C9 *1/*3 (1 if CYP2C9 genotype is *1/*3; otherwise = 0), CYP2C9 *2/*2 (1 if homozygous for CYP2C9 *2 allele; otherwise = 0), CYP2C9 *2/*3 (1 if CYP2C9 genotype is *2/*3; otherwise = 0), CYP2C9 *3/*3 (1 if homozygous for CYP2C9 *3 allele; otherwise = 0), CYP2C9 genotype unknown (1 if CYP2C9 genotype unknown; otherwise = 0), Asian Race (1 if self-reported race is Asian; otherwise = 0), Black/African American (1 if self-reported race is Black or African American; otherwise = 0), Missing or Mixed race (1 if self-reported race is unspecified or mixed; otherwise = 0), Enzyme inducer status (1 if patient taking carbamazepine, phenytoin, rifampin or rifampicin; otherwise = 0), Amiodarone status (1 if patient taking amiodarone; otherwise = 0)

Gage et al 2008

Dose (mg/day) = $\exp[0.9751 - 0.3238 \times (\text{VKOR } 3673\text{G} > \text{A}) + 0.4317 \times \text{BSA} - 0.4008 \times \text{CYP2C9}^*3 - 0.00745 \times \text{age} - 0.2066 \times \text{CYP2C9}^*2 + 0.2029 \times \text{target INR} - 0.2538 \times \text{amiodarone} + 0.0922 \times \text{smokes} - 0.0901 \times \text{African-American race} + 0.0664 \times \text{DVT/PE}]$

แทนค่าตัวแปร : where the SNPs are coded 0 if absent, 1 if heterozygous, and 2 if homozygous, and race is coded as 1 if African American and 0 otherwise.

ตารางที่ 2 สมการคำนวณขนาดยา warfarin จากข้อมูลทางคลินิก (clinical algorithm)

การศึกษา	สมการ
IWPC (Klein et al.,2009)	Square root of weekly warfarin dose (mg/week) = 4.0376 – 0.2546 x Age in decades + 0.0118 x Height (cm.) + 0.0134 x Weight (kg) – 0.6752 x Asian race – 0.5695 x Amiodarone status แทนค่าตัวแปร : age (decades) (1 for 10-19, 2 for 20-29, etc...), Asian Race (1 if self-reported race is Asian; otherwise = 0), Black/African American (1 if self-reported

	race is Black or African American; otherwise = 0), Missing or Mixed race (1 if self-reported race is unspecified or mixed; otherwise = 0), Enzyme inducer status (1 if patient taking carbamazepine, phenytoin, rifampin or rifampicin; otherwise = 0), Amiodarone status (1 if patient taking amiodarone; otherwise = 0) หรือสามารถคำนวณจากทางโปรแกรม (ภาพที่ 6)
Gage et al 2008	warfarin dose (mg/day) = $\exp [0.613 + (0.425 \times \text{BSA}) - (0.0075 \times \text{age}) + (0.156 \times \text{African-American race}) + (0.216 \times \text{target INR}) - (0.257 \times \text{amiodarone}) + (0.108 \times \text{smokes}) + (0.0784 \times \text{DVT/PE})]$ แทนค่าตัวแปร : BSA (m^2), race is 1 if African American (0 = otherwise), target INR is the desired INR (e.g., 2.5), amiodarone is 1 if the patient is taking that drug (and 0 otherwise) and DVT/PE is 1 if the indication for warfarin is deep venous thrombosis (DVT) or pulmonary embolism (PE)

ผลการทดลอง

1. คุณลักษณะของข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วย

ข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วยจำนวน 265 รายแสดงในตารางที่ 3 โดยเป็นผู้ป่วยชาย 137 ราย (51.7%) อายุอยู่ในช่วง 22-87 ปี เป็นผู้สูงอายุ (อายุมากกว่าหรือเท่ากับ 65 ปี) 58.9% ดัชนีมวลกาย (body mass index; BMI) อยู่ในช่วง 14.7-43.3 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ผู้ป่วยได้รับยา warfarin ขนาดคงที่เฉลี่ยเท่ากับ 22.3 มิลลิกรัมต่อสัปดาห์ ข้อบ่งใช้ยา warfarin ที่พบบ่อยที่สุดคือภาวะ atrial fibrillation (67.2%) โรคร่วมอื่นที่พบบ่อยคิดเป็น 52.5% ได้แก่ ความดันโลหิตสูง เบาหวาน โรคหลอดเลือดในสมอง (stroke) ไขมันในเลือดสูง และหัวใจวาย ยาที่ใช้ร่วม ได้แก่ ยา amiodarone, ยากลุ่ม antiplatelet (ได้แก่ clopidogrel, ticagrelor และ beraprost), ยา aspirin, ยา aspirin ร่วมกับยา clopidogrel, ยากลุ่ม angiotensin converting enzyme inhibitor (ACE inhibitors), ยากลุ่ม angiotensin II receptor blocker (ARBs), ยากลุ่ม β blockers, ยากลุ่ม calcium channel blockers, ยา digoxin, ยาขับปัสสาวะ (diuretic drug), ยายับยั้งการหลั่งกรด (proton pump inhibitors, PPI) และยาลดไขมันกลุ่ม statins โดยพบว่ากลุ่มยาที่ใช้มากที่สุด ได้แก่ ยากลุ่ม β blockers (56.2%) รองมาคือยาขับปัสสาวะ (52.5%) และยาลดไขมันกลุ่ม statins (43.4%) สำหรับการดื่มแอลกอฮอล์และการสูบบุหรี่ในปัจจุบันพบ 7.9% และ 5.3% (ตารางที่ 3)

2. ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของยา warfarin ขนาดคงที่และข้อมูลทางคลินิก

ผู้ป่วยที่มีอายุน้อยกว่า 65 ปี มีความต้องการขนาดยา warfarin สูงกว่ากลุ่มอายุมากกว่าหรือเท่ากับ 65 ปี อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$) ผู้ป่วยที่มีดัชนีมวลกายน้อยกว่า 30 กิโลกรัมต่อตารางเมตรมีความต้องการขนาดยา warfarin ต่ำกว่ากลุ่มที่มีดัชนีมวลกายมากกว่าหรือเท่ากับ 30 กิโลกรัมต่อตารางเมตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 0.003$) ส่วนเพศชายและเพศหญิงพบมีความต้องการขนาดยา warfarin ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผู้ป่วยที่เป็น atrial fibrillation มี

ความต้องการขนาดยา warfarin ต่ำกว่าผู้ไม่เป็น atrial fibrillation อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 0.001$) ในทางตรงข้ามผู้ป่วยที่เป็น deep vein thrombosis หรือ pulmonary embolism มีความต้องการขนาดยา warfarin สูงกว่าผู้ที่ไม่ใช่ข้อบ่งใช้ดังกล่าวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 0.009$) ผู้ป่วยที่ใช้ยา amiodarone และ ยา กลุ่ม antiplatelet ต้องการยา warfarin ขนาดคงที่ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้ใช้ยา อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 0.03$) และ ($P = 0.001$) ตามลำดับ ผู้ป่วยที่ดื่มแอลกอฮอล์ในปัจจุบันต้องการยา warfarin ขนาดคงที่ไม่แตกต่างจากผู้ไม่ดื่มแอลกอฮอล์ ส่วนผู้สูบบุหรี่ในปัจจุบันต้องการขนาดยา warfarin สูงกว่าผู้ไม่สูบบุหรี่แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วยและยา warfarin ขนาดคงที่ (มิลลิกรัมต่อสัปดาห์)

คุณลักษณะ	จำนวน (%)	ยา warfarin ขนาดคงที่**	P value
เพศ			
ชาย	137 (51.7)	22.3 ± 9.5 (21.0, 5.3-55.0)	0.928
หญิง	128 (48.3)	22.3 ± 8.8 (21.0, 6.0-52.5)	
อายุ	61.0 ± 12.7 [22-87]*	22.3 ± 9.2 (21.0, 5.3-55.0)	
อายุ < 65 ปี	151 (57.0)	24.4 ± 9.2 (22.5, 6.0- 55.0)	< 0.001
อายุ ≥ 65 ปี	114 (43.0)	19.6 ± 8.4 (18.0, 5.3-43.8)	
ส่วนสูง	161.4 ± 8.3 [135-189]*	22.3 ± 9.2 (21.0, 5.3-55.0)	
น้ำหนักตัว	63.4 ± 13.5 [34.7-114.2]*	22.3 ± 9.2 (21.0, 5.3-55.0)	
ดัชนีมวลกาย	24.3 ± 4.6 [14.7-43.3]*	22.3 ± 9.2 (21.0, 5.3-55.0)	
ดัชนีมวลกาย < 30	239 (90.2)	21.8 ± 8.9 (21.0, 5.3-55.0)	0.003
ดัชนีมวลกาย ≥ 30	26 (9.8)	27.5 ± 9.8 (25.6, 10.5-52.5)	
เป้าหมาย INR	2.4 ± 0.3 [1.9-3.1]*	22.3 ± 9.2 (21.0, 5.3-55.0)	
ข้อบ่งใช้			
Atrial fibrillation			
มี	178 (67.2)	21.0 ± 8.5 (21.0, 5.3-5.0)	0.001
ไม่มี	87 (32.8)	24.9 ± 9.9 (24.0, 6.0-55.0)	
Valve replacement / valvular heart disease			
มี	46 (17.4)	24.3 ± 9.9 (24.0, 7.5-55.0)	0.103
ไม่มี	219 (82.6)	21.9 ± 9.0 (21.0, 5.3-52.5)	
Deep vein thrombosis / Pulmonary embolism			
มี	9 (3.4)	30.5 ± 9.2 (34.5, 16.5-44.0)	0.009
ไม่มี	256 (96.6)	22.0 ± 9.0 (21.0, 5.3-55.0)	

* ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน [ช่วง]

** ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ค่ามัธยฐาน, ช่วง), P value เปรียบเทียบยา warfarin ขนาดคงที่

ตารางที่ 3 ข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วยและยา warfarin ขนาดคงที่ (มิลลิกรัมต่อสัปดาห์) (ต่อ)

คุณลักษณะ	จำนวน (%)	ยา warfarin ขนาดคงที่*	P value
โรคร่วม			
ความดันโลหิตสูง			
มี	59 (22.3)	22.3 ± 8.8 (21.0, 9.0-42.5)	0.983
ไม่มี	206 (77.7)	22.3± 9.3 (21.0, 5.3-55.0)	
เบาหวาน			
มี	38 (14.3)	22.2 ± 8.7 (20.3, 10.5-43.8)	0.865
ไม่มี	227 (85.7)	22.3 ± 9.3 (21.0, 5.3-55.0)	
Stroke			
มี	19 (7.2)	19.0 ± 6.9 (17.5, 10.5-31.5)	0.089
ไม่มี	246 (92.8)	22.6 ± 9.3 (21.0, 5.3-55.0)	
ไขมันในเลือดสูง			
มี	17 (6.4)	23.3 ± 8.9 (21.0, 10.5-40.0)	0.654
ไม่มี	248 (93.6)	22.3 ± 9.2 (21.0, 5.3-55.0)	
ภาวะหัวใจวาย			
มี	6 (2.3)	21.9 ± 9.0 (21.0, 12.5-38.0)	0.925
ไม่มี	259 (97.7)	22.3 ± 9.2 (21.0, 5.3-55.0)	
ยาที่ใช้ร่วม			
ยา amiodarone			
ใช้	16 (6.0)	17.2 ± 7.6 (17.5, 6.0-35.0)	0.03
ไม่ใช้	249 (94.0)	22.7 ± 9.2 (21.0, 5.3-55.0)	
ยากลุ่ม antiplatelet (clopidogrel, ticagrelor และ beraprost)			
ใช้	27 (10.2)	17.5 ± 8.5 (17.5, 5.25-43.8)	0.001
ไม่ใช้	238 (89.8)	22.9 ± 9.1 (21.0, 6.0-55.0)	
ยา aspirin			
ใช้	39 (14.7)	21.1 ± 8.6 (20.0, 6.0-40.0)	0.328
ไม่ใช้	226 (85.3)	22.5 ± 9.3 (21.0, 5.3-55.0)	
ยา aspirin ร่วมกับยา clopidogrel**			
ใช้	14 (5.3)	18.2 ± 6.9 (17.5, 10.5-35.0)	0.055
ไม่ใช้	252 (94.7)	22.5 ± 9.2 (21.0, 5.3-55.0)	
ยากลุ่ม ACE inhibitors			
ใช้	43 (16.2)	21.0 ± 8.6 (18.0, 10.5-52.5)	0.206
ไม่ใช้	222 (83.8)	22.6 ± 9.3 (21.0, 5.3-55.0)	
ยากลุ่ม ARBs			
ใช้	44 (16.6)	24.5 ± 9.7 (21.0, 10.5-43.8)	0.148
ไม่ใช้	221 (83.4)	21.9 ± 9.0 (21.0, 5.3-55.0)	

* ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ค่ามัธยฐาน, ช่วง), P value เปรียบเทียบยา warfarin ขนาดคงที่

ตารางที่ 3 ข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วยและยา warfarin ขนาดคงที่ (มิลลิกรัมต่อสัปดาห์) (ต่อ)

คุณลักษณะ	จำนวน (%)	ยา warfarin ขนาดคงที่*	P value
ยากลุ่ม calcium channel blockers			
ใช้	38 (14.3)	22.2 ± 9.2 (20.8, 9.0-52.5)	0.711
ไม่ใช้	227 (85.7)	22.3 ± 9.2 (21.0, 5.3-55.0)	
ยา digoxin			
ใช้	73 (27.6)	20.6 ± 7.8 (21.0, 5.25-43.8)	0.175
ไม่ใช้	192 (72.5)	23.0 ± 9.6 (21.0, 6.0-55.0)	
ยาขับปัสสาวะ			
ใช้	139 (52.5)	22.6 ± 9.5 (21.0, 5.3-55.0)	0.599
ไม่ใช้	126 (47.6)	22.0 ± 8.8 (21.0, 6.0-45.0)	
ยากลุ่ม proton pump inhibitors			
ใช้	41 (15.5)	20.3 ± 8.1 (20.0, 9.0-35.0)	0.134
ไม่ใช้	224 (84.5)	22.7 ± 9.3 (21.0, 5.3-55.0)	
ยาลดไขมันกลุ่ม statins			
ใช้	115 (43.4)	21.4 ± 9.1 (21.0, 5.3-52.5)	0.129
ไม่ใช้	150 (56.6)	23.0 ± 9.2 (21.0, 7.5-55.0)	
การดื่มแอลกอฮอล์ในปัจจุบัน			
ดื่ม	21 (7.9)	23.7 ± 6.6 (24.0, 8.0-37.5)	0.128
ไม่ดื่ม	244 (92.1)	22.2 ± 9.4 (21.0, 5.3-55.0)	
การสูบบุหรี่ในปัจจุบัน			
สูบ	14 (5.3)	25.5 ± 13.3 (21.0, 6.0-55.0)	0.437
ไม่สูบ	251 (94.7)	22.1 ± 8.9 (21.0, 5.3-52.5)	

* ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ค่ามัธยฐาน, ช่วง), P value เปรียบเทียบยา warfarin ขนาดคงที่

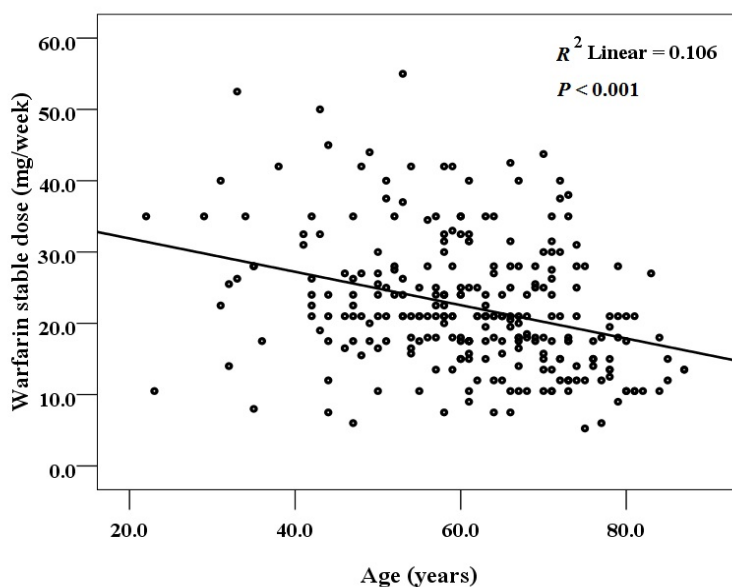
**ในยากลุ่ม antiplatelet ที่ใช้ร่วมกันพบเพียงยา aspirin ร่วมกับยา clopidogrel เท่านั้น

3. ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วยและยา warfarin ขนาดคงที่

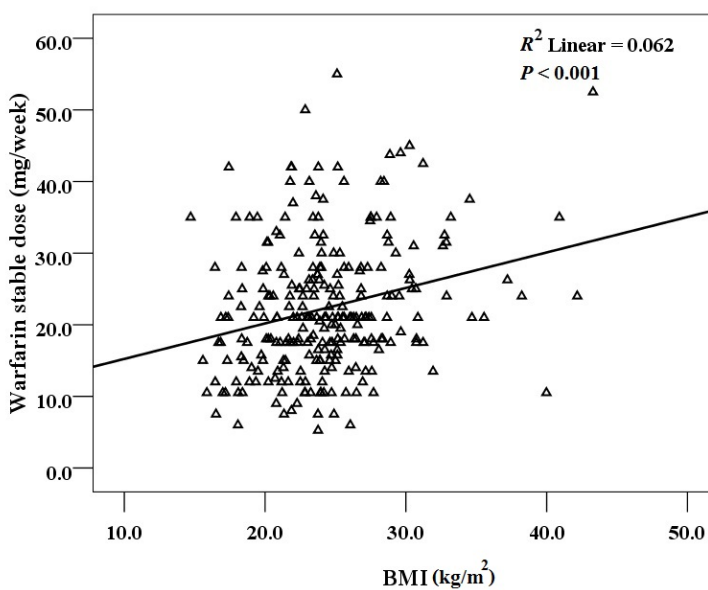
ความสัมพันธ์ของข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วยซึ่งเป็นข้อมูลแบบต่อเนื่องและยา warfarin ขนาดคงที่พบว่าอายุมีความสัมพันธ์เชิงลบต่อยา warfarin ขนาดคงที่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$) เมื่ออายุมากขึ้นผู้ป่วยมีความต้องการขนาดยา warfarin ลดลง (ภาพที่ 3) ส่วนน้ำหนักตัวและค่า BMI มีความสัมพันธ์เชิงบวกต่อยา warfarin ขนาดคงที่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$ และ $P < 0.001$) โดยเมื่อผู้ป่วยมีน้ำหนักตัวและ BMI เพิ่มขึ้น ผู้ป่วยมีความต้องการขนาดยา warfarin เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 4) ในทางตรงข้ามส่วนสูงและค่า INR เป้าหมายไม่มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับยา warfarin ขนาดคงที่ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ความสัมพันธ์ของข้อมูลทางคลินิกและยา warfarin ขนาดคงที่

ตัวแปร	สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient)	P value
อายุ (ปี)	-0.337	< 0.001
ส่วนสูง (เซนติเมตร)	0.095	0.124
น้ำหนักตัว (กิโลกรัม)	0.235	< 0.001
ดัชนีมวลกาย	0.225	< 0.001
ค่า INR เป้าหมาย	2.19×10^{-4}	0.997



ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ของอายุและยา warfarin ขนาดคงที่ (มิลลิกรัมต่อสัปดาห์)



ภาพที่ 4 ความสัมพันธ์ของดัชนีมวลกายและยา warfarin ขนาดคงที่ (มิลลิกรัมต่อสัปดาห์)

4. ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของยา warfarin ขนาดคงที่และกลุ่มอายุ

เมื่อแบ่งกลุ่มอายุผู้ป่วยออกเป็น 7 กลุ่ม ดังแสดงในตารางที่ 5 โดยเปรียบเทียบยา warfarin ขนาดคงที่ที่ผู้ป่วยได้รับในแต่ละกลุ่มอายุกับกลุ่มอายุ 20-39 ปี พบว่าผู้ป่วยในกลุ่มอายุ 60-69 ปี 70-79 ปี และ 80-89 ปี ต้องการขนาดยา warfarin ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอายุ 20-39 ปี อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยพบว่าค่า INR ของผู้ป่วยกลุ่มอายุดังกล่าวไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบเปรียบเทียบกับกลุ่มอายุ 20-39 ปี (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 การเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มอายุ (ปี) และยา warfarin ขนาดคงที่ (มิลลิกรัมต่อสัปดาห์)

กลุ่มอายุ	จำนวน (%)	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ค่ามัธยฐาน, ช่วง)			
		อายุ	ขนาดยา warfarin คงที่	ค่า INR	ขนาดยา warfarin คงที่ต่อ INR
20-39	15 (5.7)	32.1 $\pm$ 4.5	28.0 $\pm$ 12.4	2.5 $\pm$ 0.4	13.7 $\pm$ 6.3
		(33, 22-38)	(28.0, 8.0-52.5)	(2.5, 1.9-2.9)	(10.4, 3.2-27.7)
40-49	35 (13.2)	45.5 $\pm$ 2.6	24.8 $\pm$ 10.0	2.4 $\pm$ 0.2	10.2 $\pm$ 3.9
		(46, 41-49)	(22.5, 6.0-50.0)	(2.4, 2.0-2.9)	(9.3, 2.2-19.0)
50-59	59 (22.3)	55.0 $\pm$ 3.0	24.9 $\pm$ 8.9	2.4 $\pm$ 0.3	10.3 $\pm$ 3.8
		(55, 50-59)	(24, 7.5-55.0)	(2.4, 2.0-3.1)	(9.7, 2.7-21.9)
60-69	82 (30.9)	64.1 $\pm$ 2.9	21.4 $\pm$ 7.6 *	2.4 $\pm$ 0.3	9.1 $\pm$ 3.1 †
		(64, 60-69)	(21.0, 7.5-42.5)	(2.4, 1.9-3.1)	(8.6, 2.8-16.9)
70-79	59 (22.3)	73.8 $\pm$ 2.9	19.9 $\pm$ 9.0 **	2.4 $\pm$ 0.3	8.4 $\pm$ 4.4 ††
		(73, 70-79)	(17.5, 5.3-43.8)	(2.5, 1.9-3.0)	(7.0, 2.3-21.3)
80-89	15 (5.7)	82.6 $\pm$ 2.6	15.2 $\pm$ 6.0 ***	2.6 $\pm$ 0.3	6.0 $\pm$ 2.6 †††
		(81, 80-87)	(13.5, 10.5-28.0)	(2.5, 2.1-3.0)	(4.9, 3.5-12.6)

* P value = 0.032, ** P value = 0.021 และ *** P value = 0.004 โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มอายุ 20-39 ปี

† P value = 0.035, †† P value = 0.005 และ ††† P value = 0.001 โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มอายุ 20-39 ปี

ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ค่ามัธยฐาน, ช่วง)

5. ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของยา warfarin ขนาดคงที่และกลุ่มดัชนีมวลกาย

เมื่อแบ่งกลุ่มดัชนีมวลกายผู้ป่วยออกเป็น 5 กลุ่ม ตามเกณฑ์ขององค์การอนามัยโลกดังนี้ underweight (น้อยกว่า 18.5 กิโลกรัมต่อตารางเมตร), overweight (25-29.9 กิโลกรัมต่อตารางเมตร), obese class I and II (30-39.9 กิโลกรัมต่อตารางเมตร), และ obese class III (morbidly obese) (มากกว่าหรือเท่ากับ 40 กิโลกรัมต่อตารางเมตร) พบว่ากลุ่มผู้ป่วย obese class I และ II ต้องการขนาดยา warfarin สูงกว่ากลุ่ม normal weight คิดเป็น 29.1% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 0.002$) ส่วนผู้ป่วย underweight, overweight และ morbidly obese ไม่พบว่าต้องการขนาดยา warfarin แตกต่างจากกลุ่ม normal weight อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 การเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มดัชนีมวลกายและยา warfarin ขนาดคงที่ (มิลลิกรัมต่อสัปดาห์)

กลุ่มดัชนีมวลกาย	จำนวน (%)	ยา warfarin ขนาดคงที่ *	P value
Normal weight	133 (50.2)	21.3 ± 8.8 (21.0, 5.3-50.0)	-
Underweight	18 (6.8)	19.7 ± 9.8 (17.5, 7.5-42.0)	0.311
Overweight	86 (32.5)	22.5 ± 8.7 (21.0, 6.0-55.0)	0.326
Obese class I และ II	24 (9.1)	27.5 ± 8.6 (25.6, 13.5-45.0)	0.002
Morbidly obese	4 (1.5)	30.5 ± 17.8 (29.5, 10.5-52.5)	0.271

* ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ค่ามัธยฐาน, ช่วง)

P value เปรียบเทียบขนาดยา warfarin คงที่ของแต่ละกลุ่มดัชนีมวลกายกับกลุ่ม normal weight

6. ความถี่แอลลีลและจีโนไทป์ของยีน *VKORC1* -1639G>A, *CYP2C9* 1075A>C, *CYP4F2* 1347C>T และ *UGT1A1* -364C>T

การศึกษานี้คำนวณหาความถี่แอลลีลและจีโนไทป์ของยีน *VKORC1* -1639G>A, *CYP2C9* 1075A>C, *CYP4F2* 1347C>T และ *UGT1A1* -364C>T ตามกฎสมดุของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กดังแสดงในตารางที่ 7 โดยพบว่าความถี่จีโนไทป์ที่สังเกตของยีน *VKORC1* -1639G>A, *CYP4F2* 1347C>T และ *UGT1A1* -364C>T ไม่เบี่ยงเบนจากสมดุของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กที่ $P < 0.05$ แต่สำหรับความถี่จีโนไทป์ที่สังเกตของยีน *CYP2C9* 1075A>C เบี่ยงเบนจากสมดุของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กเล็กน้อย ($P = 0.03$) เนื่องจาก variant แอลลีลของยีน *CYP2C9* 1075A>C พบน้อยในประเทศไทย ดังนั้นจึงนำลักษณะภาวะพหุสัณฐานทางพันธุกรรมของยีน *CYP2C9* 1075A>C เข้าสู่การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติต่อไป (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 ความถี่แอลลีลและจีโนไทป์ของยีน *VKORC1* -1639G>A, *CYP2C9* 1075A>C, *CYP4F2* 1347C>T และ *UGT1A1* -364C>T

ยีน	ความถี่ แอลลีล	ความถี่ แอลลีล (%)	จีโน ไทป์	ความถี่ที่ คาดหวัง (%)	ความถี่ที่ สังเกต (%)	HWE (χ^2), <i>P</i> value
VKORC1 -1639G>A						
G	95	0.18 (17.9)	GG	8.5 (3.2)	8 (3.0)	$\chi^2 =$ 0.461, <i>P</i> = 0.83
A	435	0.82 (82.1)	GA	78.0 (29.4)	79 (29.8)	
			AA	178.5 (67.4)	178 (67.2)	
CYP2C9 1075A>C						
A	517	0.98 (97.6)	AA	252.2 (95.2)	253 (95.5)	$\chi^2 =$ 4.657,

C	13	0.02 (2.5)	AC	12.7 (4.8)	11 (4.2)	$P = 0.03$
			CC	0.2 (0.1)	1 (0.4)	
CYP4F2 1347C>T						
C	413	0.78 (77.9)	CC	160.9 (60.7)	164 (61.9)	$\chi^2 =$ 1.214,
T	117	0.22 (22.1)	CT	91.2 (34.4)	85 (32.1)	$P = 0.27$
			TT	12.9 (4.9)	16 (6.1)	
UGT1A1 -364C>T						
C	467	0.88 (88.1)	CC	205.7 (77.6)	204 (77.0)	$\chi^2 =$ 1.046,
T	63	0.12 (11.9)	CT	55.5 (21.0)	59 (22.3)	$P = 0.31$
			TT	3.7 (1.4)	2 (0.8)	

HWE = Hardy-Weinberg equilibrium, P value เปรียบเทียบความถี่ที่คาดหวังและความถี่ที่สังเกต

7. ผลการวิเคราะห์สถิติสองตัวแปรระหว่างยา warfarin ขนาดคงที่ในผู้ป่วยที่มีจีโนไทป์แบบต่าง ๆ

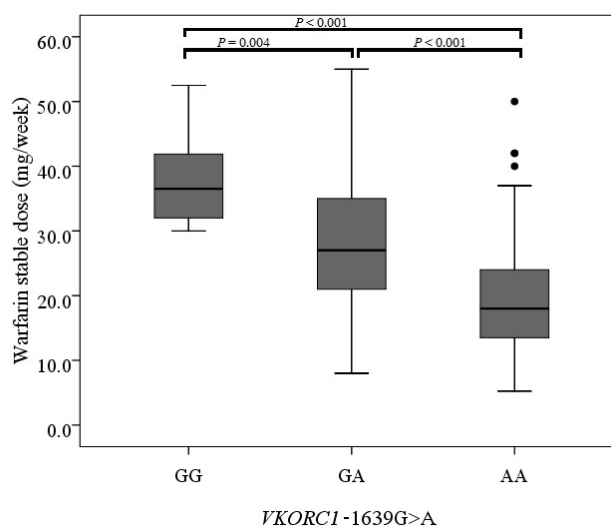
ผู้ป่วยที่มีจีโนไทป์แบบ AA และ GA ของยีน *VKORC1* -1639G>A ต้องการขนาดยา warfarin คงที่ต่ำกว่าจีโนไทป์แบบ GG (wild-type) 50.9% และ 27.2% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$) (ตารางที่ 8 และภาพที่ 5) ในทำนองเดียวกันผู้ป่วยที่มีจีโนไทป์แบบ CC และ AC ของยีน *CYP2C9* 1075A>C ต้องการขนาดยา warfarin ต่ำกว่าจีโนไทป์แบบ AA (wild-type) 64.8% และ 33.0% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 0.01$) (ตารางที่ 8) ในทางตรงข้ามไม่พบความแตกต่างของยา warfarin ขนาดคงที่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในผู้ป่วยที่มีจีโนไทป์ทั้ง 3 แบบของยีน *CYP4F2* 1347C>T (ตารางที่ 8 และภาพที่ 6) และยีน *UGT1A1* -364C>T (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 การเปรียบเทียบระหว่างยา warfarin ขนาดคงที่ (มิลลิกรัมต่อสัปดาห์) และจีโนไทป์แบบต่าง ๆ

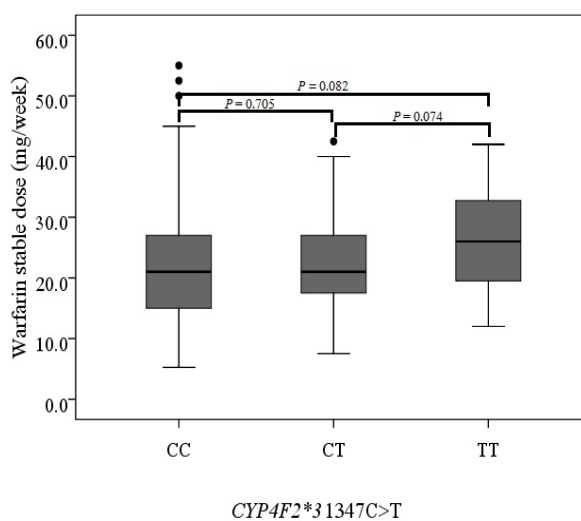
จีโนไทป์	จำนวน (%)	ยา warfarin ขนาดคงที่*	P value
VKORC1 -1639G>A			
GG	8 (3.0)	37.9 ± 7.7 (36.5, 30-52.5)	< 0.001
GA	79 (29.8)	27.6 ± 8.8 (27.0, 8.0-55.0)	
AA	178 (67.2)	19.3 ± 7.5 (18.0, 5.3-50.0)	
CYP2C9 1075A>C			
AA	253 (95.5)	22.7 ± 9.2 (21.0, 5.3-55.0)	0.01
AC	11 (4.2)	15.2 ± 5.1 (16.5, 7.5-22.5)	

CC	1 (0.4)	8.0	
CYP4F2 1347C>T			
CC	164 (61.9)	22.2 ± 10.0 (21.0, 5.3-55.0)	0.18
CT	85 (32.1)	21.9 ± 7.4 (21.0, 7.5-42.5)	
TT	16 (6.0)	25.8 ± 8.4 (26.0, 12.0-42.0)	
UGT1A1 -364C>T			
CC	204 (77.0)	22.1 ± 9.0 (21.0, 5.3-52.5)	0.89
CT	59 (22.3)	23.1 ± 9.6 (21.0, 10.5-55.0)	
TT	2 (0.8)	22.8± 17.3 (21.0, 10.5-35.0)	

*ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ค่ามัธยฐาน, ช่วง)



ภาพที่ 5 เปรียบเทียบยา warfarin ขนาดคงที่และจีโนไทป์แบบต่าง ๆ ของยีน *VKORC1* -1639G>A



ภาพที่ 6 เปรียบเทียบยา warfarin ขนาดคงที่และจีโนไทป์แบบต่าง ๆ ของยีน *CPY4F2* -364C>T

8. วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างยา warfarin ขนาดคงที่และจีโนไทป์ของยีน VKORC1 -1639G>A และ CYP2C9 1075A>C

เมื่อนำข้อมูลทางพันธุกรรมของยีน VKORC1 -1639G>A และ CYP2C9 1075A>C มาวิเคราะห์ร่วมกันเพื่อหาความสัมพันธ์ต่อขนาดยา warfarin พบว่าผู้ป่วยที่มีจีโนไทป์ของยีน VKORC1 -1639G>A แบบ GG และจีโนไทป์ของยีน CYP2C9 1075A>C แบบ AA มีความต้องการขนาดยา warfarin มากที่สุด ส่วนผู้ป่วยที่มีจีโนไทป์ของยีน VKORC1 -1639G>A แบบ GA และจีโนไทป์ของยีน CYP2C9 1075A>C แบบ CC มีความต้องการขนาดยา warfarin ต่ำสุด อย่างไรก็ตามมีผู้ป่วยเพียง 1 รายที่มีลักษณะทางพันธุกรรมดังกล่าว (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 ความสัมพันธ์ของลักษณะจีโนไทป์ของยีน VKORC1 -1639G>A และ CYP2C9 1075A>C ต่อยา warfarin ขนาดคงที่

VKORC1-1639G>A	ยา warfarin ขนาดคงที่ (มิลลิกรัมต่อวัน)*		
	CYP2C9 1075A>C	CYP2C9 1075A>C	CYP2C9 1075A>C
	(AA)	(AC)	(CC)
GG	5.4 ± 1.1 (5.2, 4.3-7.5)	-	-
GA	4.0 ± 1.2 (4.0, 1.7-7.9)	2.6 ± 0.4 (2.5, 2.3-3.2)	1.1
AA	2.8 ± 1.1 (2.6, 0.8-7.1)	1.9 ± 0.8 (1.7, 1.1-3.0)	-

* ยา warfarin ขนาดคงที่ แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ค่ามัธยฐาน, ช่วง)

9. ผลการวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลต่อยา warfarin ขนาดคงที่

9.1 ผลการวิเคราะห์ปัจจัยทางคลินิกและปัจจัยทางพันธุกรรมที่มีผลต่อยา warfarin ขนาดคงที่

จากการวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้นพหุคูณของความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางคลินิก ปัจจัยทางพันธุกรรมและยา warfarin ขนาดคงที่ พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อยา warfarin ขนาดคงที่ ได้แก่ ลักษณะพันธุกรรมของยีน VKORC1-1639G>A, อายุ, ลักษณะพันธุกรรมของยีน CYP2C9 1075A>C, การใช้ยา amiodarone, ดัชนีมวลกาย, การใช้ยากลุ่ม antiplatelet, ลักษณะพันธุกรรมของยีน CYP4F2 1347C>T และการสูบบุหรี่ในปัจจุบัน ซึ่งตัวแปรทั้งหมดสามารถอธิบายความแปรปรวนต่อยา warfarin ขนาดคงที่ได้ 51.9 % (ตารางที่ 10) โดยพบว่าปัจจัยจากลักษณะพันธุกรรมของยีน VKORC1-1639G>A จีโนไทป์แบบ AA สามารถอธิบายความแปรปรวนต่อยา warfarin ขนาดคงที่ได้สูงสุดคือ 22.4 % และพบว่าผู้ป่วยที่มีลักษณะทางพันธุกรรมของ VKORC1-1639G>A จีโนไทป์แบบ AA มีความต้องการขนาดยา warfarin ลดลง 17.6 มิลลิกรัมต่อสัปดาห์เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ป่วยที่มีจีโนไทป์แบบ GG (ตารางที่ 9) ส่วนปัจจัยจากลักษณะพันธุกรรมของยีน CYP4F2 1347C>T จีโนไทป์แบบ TT สามารถอธิบายความแปรปรวนต่อยา warfarin ขนาดคงที่ได้ 1.2 % ($P = 0.012$) โดยผู้ป่วยที่มีลักษณะทางพันธุกรรมของยีน

CYP4F2 1347C>T จีโนไทป์แบบ TT มีความต้องการยา warfarin ขนาดคงที่เพิ่มขึ้น 4.3 มิลลิกรัมต่อสัปดาห์ เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ป่วยที่มีจีโนไทป์แบบ CC (ตารางที่ 10)

ซึ่งจากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์พบว่าอายุมากขึ้น การใช้ยา amiodarone และยากลุ่ม antiplatelet ผู้ที่มีลักษณะทางพันธุกรรมของยีน *VKORC1*-1639G>A จีโนไทป์แบบ GA และแบบ AA และยีน *CYP2C9* 1075A>C จีโนไทป์แบบ AC และแบบ CC มีความสัมพันธ์ในเชิงลบต่อยา warfarin ขนาดคงที่ ในขณะที่ดัชนีมวลกายที่มากขึ้น ผู้ที่สูบบุหรี่ในปัจจุบัน ผู้ที่มีลักษณะทางพันธุกรรมของยีน *CYP4F2* 1347C>T จีโนไทป์แบบ TT มีความสัมพันธ์ในเชิงบวกต่อยา warfarin ขนาดคงที่ (ตารางที่ 10) จากข้อมูลดังกล่าวจึงสามารถแสดงเป็นสมการทำนายเพื่อคำนวณหาขนาดยา warfarin ได้ดังนี้

ยา warfarin ขนาดคงที่ (มิลลิกรัมต่อสัปดาห์) = $45.161 - (17.642 \times VKORC1 (AA)) - (0.254 \times \text{Age}) - (9.417 \times VKORC1 (GA)) - (25.872 \times CYP2C9 (CC)) - (7.826 \times CYP2C9 (AC)) - (7.166 \times \text{amiodarone use}) + (0.331 \times \text{BMI}) - (3.562 \times \text{antiplatelet drugs use}) + (4.255 \times CYP4F2 (TT)) + (3.747 \times \text{current smoking})$

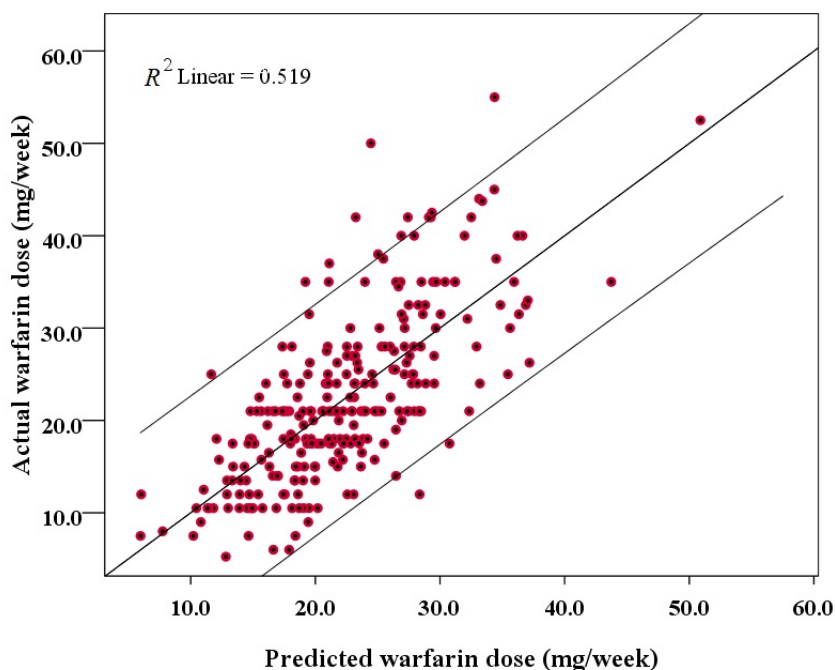
ตารางที่ 10 การวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้นพหุคูณ (multiple linear regression) ของตัวแปรทางคลินิกและตัวแปรทางพันธุกรรมที่มีผลต่อยา warfarin ขนาดคงที่ (มิลลิกรัมต่อสัปดาห์)

นำเข้าสู่	ตัวแปรพยากรณ์	Unstandardized	ผลรวม R^2	R^2	P value
สมการ		β coefficients (B)			
	Constant	45.161			< 0.001
1	<i>VKORC1</i> -1639G>A (AA)	-17.642	22.4	22.4	< 0.001
2	อายุ (ปี)	-0.254	34.1	11.7	< 0.001
3	<i>VKORC1</i> -1639G>A (GA)	-9.417	37.8	3.6	< 0.001
4	<i>CYP2C9</i> 1075A>C (CC)	-25.872	40.9	3.1	< 0.001
5	<i>CYP2C9</i> 1075A>C (AC)	-7.826	43.8	3.0	< 0.001
6	ใช้ยา amiodarone	-7.166	46.6	2.8	< 0.001
7	BMI	0.331	48.7	2.1	< 0.001
8	ใช้ยากลุ่ม antiplatelet	-3.562	49.9	1.2	0.008
9	<i>CYP4F2</i> 1347C>T (TT)	4.255	51.1	1.2	0.012
10	สูบบุหรี่ในปัจจุบัน	3.747	51.9	0.8	0.039

โดยกำหนดให้แทนค่าตัวแปรในสมการดังนี้ ลักษณะพันธุกรรมของ *VKORC1*-1639G>A จีโนไทป์ GA หรือ AA มีค่าเท่ากับ 1 ส่วน GG มีค่าเท่ากับ 0, *CYP2C9* 1075A>C จีโนไทป์แบบ CC และแบบ AC มีค่าเท่ากับ 1 ส่วนแบบ AA มีค่าเท่ากับ 0, *CYP4F2* 1347C>T จีโนไทป์ TT มีค่าเท่ากับ 1 ส่วนจีโนไทป์ CC หรือ CT มีค่าเท่ากับ 0, อายุ (ปี), ผู้ที่ใช้ยา amiodarone มีค่าเท่ากับ 1, ผู้ที่ใช้ยา

antiplatelet (ได้แก่ clopidogrel, ticagrelor และberaprost), มีค่าเท่ากับ 1, BMI (กิโลกรัมต่อตารางเมตร), ผู้ที่สูบบุหรี่ในปัจจุบันมีค่าเท่ากับ 1 ส่วนค่าตัวแปรที่อื่นมีค่าเท่ากับ 0

เมื่อนำสมการที่ได้มาคำนวณหาขนาดยา warfarin (predicted dose) เพื่อหาความสัมพันธ์กับขนาดยา warfarin ที่ผู้ป่วยได้รับจริง (observed dose) พบว่ามีค่า R^2 linear เท่ากับ 0.519 ดังแสดงในภาพที่ 6



ภาพที่ 6 ความสัมพันธ์ระหว่างขนาดยา warfarin ที่ผู้ป่วยได้รับจริงและที่คำนวณได้จากสมการ

9.2 วิเคราะห์ปัจจัยทางคลินิกที่มีผลต่อยา warfarin ขนาดคงที่

เมื่อนำเฉพาะข้อมูลทางคลินิกมาวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้นพหุคูณเพื่อหาความสัมพันธ์ต่อยา warfarin ขนาดคงที่ พบว่าปัจจัยทางคลินิกที่มีผลต่อขนาดยา warfarin คงที่ได้แก่ อายุ ดัชนีมวลกาย การใช้ยา amiodarone การใช้ยา antiplatelet และการสูบบุหรี่ในปัจจุบัน จากปัจจัยทางคลินิกทั้งหมดสามารถอธิบายความแปรปรวนของความต้องการขนาดยา warfarin ได้ 22.4% (ตารางที่ 11) โดยพบว่าอายุเป็นปัจจัยสำคัญที่สามารถอธิบายความแปรปรวนต่อยา warfarin ขนาดคงที่ได้มากที่สุดคือ 10.6 % และพบว่าเมื่ออายุ (ปี) เพิ่มขึ้นมีต้องการขนาดยา warfarin ลดลง 0.213 มิลลิกรัมต่อสัปดาห์ ขณะที่การสูบบุหรี่ในปัจจุบันสามารถอธิบายความแปรปรวนต่อยา warfarin ขนาดคงที่ได้ 1.4 % ผู้ที่สูบบุหรี่ในปัจจุบันมีความต้องการขนาดยา warfarin เพิ่มขึ้น 4.8 มิลลิกรัมต่อสัปดาห์เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ (ตารางที่ 11) จากข้อมูลดังกล่าวจึงสามารถแสดงเป็นสมการทำนายเพื่อคำนวณหาขนาดยา warfarin ได้ดังนี้

ยา warfarin ขนาดคงที่ (มิลลิกรัมต่อสัปดาห์) = $23.937 - (0.213 \times \text{Age}) + (0.496 \times \text{BMI}) - (7.812 \times \text{amiodarone drugs use}) - (4.508 \times \text{antiplatelet drugs use}) + (4.817 \times \text{current smoking})$

ตารางที่ 11 การวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้นพหุคูณ (multiple linear regression) ของตัวแปรทางคลินิกต่อยา warfarin ขนาดคงที่ (มิลลิกรัมต่อสัปดาห์)

นำเข้าสู่ สมการ	ตัวแปรพยากรณ์	Unstandardized β coefficients (B)	ผลรวม R^2	R^2	P value
	Constant	23.937			< 0.001
1	อายุ	-0.213	10.6	10.6	< 0.001
2	BMI	0.496	15.4	4.8	< 0.001
3	ใช้ยา amiodarone	-7.812	19.0	3.6	< 0.001
4	ใช้ยากลุ่ม antiplatelet	-4.508	21.0	2.0	0.007
5	สูบบุหรี่ในปัจจุบัน	4.817	22.4	1.4	0.025

โดยกำหนดให้แทนค่าตัวแปรในสมการดังนี้ อายุ (ปี), BMI (กิโลกรัมต่อตารางเมตร), ผู้ที่ใช้ยา amiodarone มีค่าเท่ากับ 1, ผู้ที่ใช้ยา antiplatelet (ได้แก่ clopidogrel, ticagrelor และ beraprost), มีค่าเท่ากับ 1, ผู้ที่สูบบุหรี่ในปัจจุบันมีค่าเท่ากับ 1, ส่วนผู้ที่ไม่ได้ใช้ยากลุ่มดังกล่าว ผู้ที่ไม่ได้สูบบุหรี่ในปัจจุบัน มีค่าเท่ากับ 0

10. การเปรียบเทียบสมการการทำนายขนาดยา warfarin

เมื่อนำสมการที่ได้จากการศึกษานี้เปรียบเทียบกับการศึกษาอื่นทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศ พบว่าสมการที่อาศัยข้อมูลทางคลินิกและข้อมูลทางพันธุกรรม (pharmacogenetics algorithm) มีค่าคลาดเคลื่อนสัมบูรณ์เฉลี่ย (mean absolute error; 95%CI) ต่ำกว่าสมการที่ศึกษาในคนไทย 2 การศึกษา (Sangviroon et al., 2010 และ Sarapakdi et al., 2012) และการศึกษาในต่างประเทศ (Gage et al., 2008) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) อีกทั้งพบว่าค่าคลาดเคลื่อนสัมบูรณ์เฉลี่ยจาก pharmacogenetics algorithm ของการศึกษานี้ มีค่าต่ำกว่าสมการที่อาศัยข้อมูลทางคลินิกของการศึกษานี้ (clinical algorithm) รวมถึงจาก IWPC clinical algorithm และสมการของ Gage et al., 2008 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$) อย่างไรก็ตามค่าคลาดเคลื่อนสัมบูรณ์เฉลี่ยของ pharmacogenetics algorithm จากการศึกษานี้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจาก IWPC pharmacogenetics algorithm (ตารางที่ 12)

เมื่อเปรียบเทียบร้อยละของขนาดยา warfarin ซึ่งคำนวณจากสมการจากการศึกษาต่าง ๆ ที่มีค่าอยู่ในช่วง $\pm$ ร้อยละ 20 จากขนาดที่ผู้ป่วยได้รับจริง (% ideal prediction) พบว่า % ideal prediction ที่ได้จาก pharmacogenetics algorithm ของการศึกษานี้ มีค่ามากกว่า pharmacogenetics algorithm ของการศึกษาในคนไทย (Sangviroon et al., 2010 และ Sarapakdi et al., 2012) แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามพบว่า % ideal prediction ที่ได้จาก pharmacogenetics algorithm ของการศึกษานี้มี % ideal prediction สูงกว่า clinical algorithm จาก

การศึกษานี้รวมถึงสมการจากการศึกษาในต่างประเทศ (IWPC clinical algorithm และสมการของ Gage et al., 2008) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 12)

ตารางที่ 12 เปรียบเทียบความถูกต้องของขนาดยา warfarin ที่คำนวณได้จากสมการต่าง ๆ

Prediction model	r^2 (%)	MAE (95%CI)	P value *	Under prediction (%)	Ideal prediction (%)	Over prediction (%)	P value **
<u>Pharmacogenetics</u>							
Algorithm of this study	51.9	4.90 (4.42-5.39)	-	17.4	53.6	29.1	-
Sangviroon et al., 2010	53.8	5.46 (4.92-6.01)	0.002	22.3	48.3	29.4	0.099
Sarapakdi et al., 2012	60.2	5.87 (5.29-6.45)	<0.001	10.2	47.9	41.9	0.064
IWPC algorithm	47	5.03 (4.50-5.56)	0.647	20.8	50.2	29.0	0.222
Gage et al., 2008	53.1	5.29 (4.78-5.81)	0.032	10.6	50.2	39.2	0.281
<u>Clinical</u>							
Algorithm of this study	22.4	6.22 (5.63-6.81)	<0.001	21.9	42.3	35.8	<0.001
IWPC algorithm	27	6.38 (5.69-7.07)	<0.001	27.2	43.4	29.4	0.012
Gage et al., 2008	21.5	9.04 (8.41-9.66)	<0.001	8.3	27.2	64.5	<0.001

MAE คือ Mean absolute error (มิลลิกรัมต่อสัปดาห์)

* เปรียบเทียบความแตกต่างของค่า MAE ของสมการต่าง ๆ และค่าที่ได้จาก pharmacogenetics algorithm ของการศึกษานี้

** เปรียบเทียบความแตกต่างของค่า Ideal prediction (%) ของสมการต่าง ๆ และค่าที่ได้จาก pharmacogenetics algorithm ของการศึกษานี้

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลองและข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยในอนาคต

การศึกษานี้พบว่าปัจจัยทางพันธุกรรมของยีน *VKORC1* -1639G>A, *CYP2C9* 1075A>C และ *CYP4F2* 1347C>T รวมถึงปัจจัยทางคลินิก ได้แก่ อายุ ดัชนีมวลกาย การใช้ยา amiodarone ยากลุ่ม antiplatelet ร่วม และการสูบบุหรี่ในปัจจุบันสามารถอธิบายความแปรปรวนต่อความต้องการยา warfarin ขนาดคงที่ได้ 51.9% การศึกษานี้ถือเป็นการศึกษาแรกในคนไทยที่ศึกษาถึงผลของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงยา warfarin (*CYP2C9* และ *UGT1A1*) ตำแหน่งออกฤทธิ์ของยา warfarin (*VKORC1*)

และการเปลี่ยนแปลงวิตามินเค (*CYP4F2*) ร่วมกัน นอกเหนือจากผลของยีน *VKORC1* และยีน *CYP2C9* แล้ว การศึกษานี้พบว่ายีน *CYP4F2* มีผลต่อความต้องการยา warfarin ขนาดคงที่ในระดับต่ำ ในขณะที่ยีน *UGT1A1* ไม่มีผลต่อยา warfarin ขนาดคงที่

ในการศึกษานี้พบว่าภาวะพหุสัณฐานทางพันธุกรรมของยีน *VKORC1* -1639G>A เป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดในการทำนายยา warfarin ขนาดคงที่ ซึ่งอธิบายความแปรปรวนต่อยา warfarin ขนาดคงที่ได้ 26% (ตารางที่ 10) โดยสอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาในชาวคอเคเซียนและเอเชีย (Limdi *et al.*, 2010; Wadelius *et al.*, 2005) อีกทั้งยังพบว่าภาวะพหุสัณฐานทางพันธุกรรมของยีน *VKORC1* -1639G>A ส่งผลต่อความแปรปรวนของขนาดยา warfarin มากกว่ายีน *CYP2C9* 1075A>C ซึ่งคล้ายคลึงกับการศึกษาที่ผ่านมา (Bourgeois *et al.*, 2016) ในการศึกษานี้พบว่าลักษณะจีโนไทป์ของยีน *CYP2C9* 1075A>C สามารถอธิบายความแปรปรวนต่อยา warfarin ขนาดคงที่ได้ 6.1% (ตารางที่ 10) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาอื่นในชาวเอเชียที่มีรายงานถึงผลของยีน *CYP2C9* 1075A>C ต่อความแปรปรวนต่อขนาดยา warfarin 1.7 - 5.4% (Miao *et al.*, 2007; Ohno *et al.*, 2009) โดยยีน *CYP2C9* มีผลต่อความแปรปรวนของขนาดยา warfarin ในชาวเอเชียนน้อยกว่าชาวคอเคเซียน ซึ่งการศึกษาก่อนหน้านี้ในชาวคอเคเซียนพบว่ายีน *CYP2C9* มีผลต่อความแปรปรวนของขนาดยา warfarin 16.7 % (12.9% จากยีน *CYP2C9* 1075A>C และ 3.8% จากยีน *CYP2C9* 430C>T) (Bourgeois *et al.*, 2016) อาจเป็นไปได้ว่าในชาวเอเชียนไม่พบ variant แอลลีลของยีน *CYP2C9* 430C>T และพบความถี่ variant แอลลีลของยีน *CYP2C9* 1075A>C น้อยกว่าชาวคอเคเซียน (Xie *et al.*, 2002) จึงทำให้อธิบายผลของยีน *CYP2C9* 1075A>C ที่พบได้น้อยกว่าชาวคอเคเซียน สำหรับภาวะพหุสัณฐานทางพันธุกรรมของยีน *CYP4F2* 1347C>T พบว่าเมื่อวิเคราะห์ตัวแปรแบบถดถอยเชิงเส้นพหุคูณพบว่า จีโนไทป์แบบ TT ของยีน *CYP4F2* 1347C>T สามารถอธิบายความแปรปรวนต่อยา warfarin ขนาดคงที่ได้ 1.2% (ตารางที่ 10) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ในชาวเอเชียนและคอเคเซียนที่พบว่าลักษณะพันธุกรรมของยีน *CYP4F2* 1347C>T จีโนไทป์ TT สามารถอธิบายความแปรปรวนต่อขนาดยา warfarin ได้ 1.4 – 4.0% (Bourgeois *et al.*, 2016; Cen *et al.*, 2010; Pautas *et al.*, 2010)

สำหรับผลของภาวะพหุสัณฐานทางพันธุกรรมของยีน *UGT1A1* -364C>T ไม่พบความสัมพันธ์ต่อความแปรปรวนของขนาดยา warfarin อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งผลการศึกษานี้ไม่สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาในชาวเกาหลีที่พบว่าผู้ป่วยที่มีลักษณะพันธุกรรมของยีน *UGT1A1* -364C>T จีโนไทป์แบบ CT และแบบ TT มีความต้องการขนาดยา warfarin สูงกว่าผู้มีจีโนไทป์แบบ CC อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (An *et al.*, 2015) ในการศึกษานี้พบว่าค่า MAF ของยีน *UGT1A1* -364C>T สอดคล้องกับชาวเกาหลี (11.9% และ 13%) (An *et al.*, 2015) อย่างไรก็ตามยังไม่สามารถอธิบายผลของ *UGT1A1* -364C>T ต่อความแปรปรวนของขนาดยา warfarin ที่แตกต่างกันระหว่างชาวเกาหลีและชาวไทย นอกจากนั้นยังพบว่าค่า MAF ของยีน *UGT1A1* -364C>T ในการศึกษานี้ต่ำกว่าชาวคอเคเซียน (31%) และชาวแอฟริกัน-อเมริกัน (43%) (Vardhanabhuti *et al.*, 2015)

ในการวิเคราะห์ผลของปัจจัยทางคลินิกพบว่ามีความสอดคล้องกับการศึกษาอื่นที่ผ่านมา (Bourgeois *et al.*, 2016; Miao *et al.*, 2007; Nathisuwan *et al.*, 2011) โดยพบว่า อายุ น้ำหนัก ดัชนีมวลกาย

มวลกาย การใช้ยา amiodarone การใช้ยากลุ่ม antiplatelet และการสูบบุหรี่ในปัจจุบันมีผลต่อขนาดยา warfarin สามารถอธิบายความแปรปรวนของยา warfarin ขนาดคงที่ได้ 22.4% ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมา (Bourgeois *et al.*, 2016; Miao *et al.*, 2007; Nathisuwan *et al.*, 2011) โดยอายุเป็นปัจจัยหลักทางคลินิกซึ่งสามารถอธิบายความแปรปรวนต่อยา warfarin ขนาดคงที่ได้ประมาณ 11-12% (ตารางที่ 10 และตารางที่ 11) เมื่อผู้ป่วยอายุมากขึ้นมีความต้องการขนาดยา warfarin ลดลงเนื่องจากในผู้สูงอายุอาจมีการเปลี่ยนแปลงยาลดลง จึงทำให้มีระดับยา warfarin ค้างในร่างกาย (Klotz, 2009) ปัจจัยทางคลินิกที่มีผลรองลงมาคือ ดัชนีมวลกาย พบว่าเมื่อดัชนีมวลกายเพิ่มขึ้นจะมีความต้องการขนาดยา warfarin เพิ่มขึ้น และพบว่าสามารถอธิบายความแปรปรวนต่อยา warfarin ขนาดคงที่ได้ประมาณ 2.1 – 4.8% (ตารางที่ 10 และตารางที่ 11) ส่วนการใช้ยา amiodarone หรือยา antiplatelet ร่วมกับยา warfarin สามารถอธิบายความแปรปรวนต่อยา warfarin ขนาดคงที่ได้ 3.9 – 5.6% (ตารางที่ 10 และตารางที่ 11) แม้พบว่าการใช้ยาร่วมดังกล่าวมีผลต่อความแปรปรวนต่อขนาดยา warfarin น้อย แต่ถือเป็นปัจจัยหนึ่งที่สามารถใช้ปรับขนาดยา warfarin ในกรณีที่ผู้ป่วยได้รับยา amiodarone และ/หรือยากลุ่ม antiplatelet ร่วมกับยา warfarin ในระยะยาว ซึ่งการใช้ ยา amiodarone และการใช้ยากลุ่ม antiplatelet มีผลทำให้ความต้องการขนาดยา warfarin ลดลงนั้น เป็นผลเนื่องมาจากเป็นยากลุ่มที่มีอันตรกิริยาต่อยา warfarin โดยยา amiodarone มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP2C9 ซึ่งเป็นเอนไซม์หลักที่ใช้เปลี่ยนแปลงยา warfarin ในรูป S-warfarin ส่วนการใช้ยากลุ่ม antiplatelet ร่วมกับยา warfarin อาจมีผลเพิ่มความเสี่ยงต่อภาวะเลือดออกง่าย สำหรับการสูบบุหรี่ในปัจจุบันนั้นพบว่าสามารถอธิบายความแปรปรวนต่อยา warfarin ขนาดคงที่ได้ 0.8% (ตารางที่ 10 และตารางที่ 11) ซึ่งเป็นผลมาจากการสูบบุหรี่มีผลเหนี่ยวนำเอนไซม์ CYP1A2 จึงทำให้ยา warfarin ในรูป R-warfarin ถูกเปลี่ยนแปลงมากขึ้น ดังนั้นผู้สูบบุหรี่ในปัจจุบันมีความต้องการขนาด warfarin สูงกว่าคนที่ไม่ได้สูบบุหรี่ (Nathisuwan *et al.*, 2011; Plowchalk and Rowland Yeo, 2012)

สรุปผลการศึกษานี้พบว่าทั้งปัจจัยทางคลินิกและปัจจัยทางพันธุกรรมมีผลต่อความแปรปรวนในการตอบสนองต่อยา warfarin ซึ่งพบว่า VKORC1-1639G>A และ CYP2C9 1075A>C เป็นปัจจัยทางพันธุกรรมหลักร่วมกับ CYP4F2 1347C>T ซึ่งมีบทบาทรองที่มีผลต่อการตอบสนองต่อยา warfarin ในผู้ป่วยชาวไทย ส่วนปัจจัยทางคลินิกได้แก่ อายุ ดัชนีมวลกาย การใช้ยาร่วม (ยา amiodarone และ/หรือยากลุ่ม antiplatelet) และการสูบบุหรี่ในปัจจุบันถือเป็นปัจจัยร่วมที่สำคัญในการอธิบายความแปรปรวนของยา warfarin ขนาดคงที่ ซึ่งความรู้ที่ได้จากการศึกษานี้สามารถนำไปใช้สร้างสมการเพื่อคำนวณขนาดยา warfarin ซึ่ง pharmacogenetics algorithm ที่ได้จากการศึกษานี้สามารถทำนายขนาดยา warfarin ได้ถูกต้องมากยิ่งขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาที่ผ่านมาในชาวไทย

อย่างไรก็ตามการศึกษานี้เป็นการศึกษาย้อนหลัง (retrospective study) เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อขนาดยา warfarin ในขนาดคงที่และนำข้อมูลที่ได้ไปใช้สร้างสมการเพื่อคำนวณขนาดยา warfarin ในผู้ป่วยชาวไทย ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาไปข้างหน้า (prospective study) เพื่อศึกษาว่ามีปัจจัยใดบ้างที่มีผลต่อผลทางคลินิก (clinical outcome) อื่นนอกเหนือจากยา warfarin ขนาดคงที่ อีกทั้งควรมีการศึกษา

ว่าสมการที่ถูกสร้างขึ้นในการศึกษานี้สามารถนำไปใช้ในกลุ่มประชากรไทยกลุ่มอื่นที่ไม่ได้อยู่ในการศึกษานี้

Keywords : Pharmacogenetics algorithm, *CYP2C9*, *CYP4F2*, *VKORC1*, *UGT1A1*, Warfarin

Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกว.

1. ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ (ระบุชื่อผู้แต่ง ชื่อเรื่อง ชื่อวารสาร ปี เล่มที่ เลขที่ และหน้า) หรือผลงานตามที่คาดไว้ในสัญญาโครงการ
 ผลงานวิจัยนี้ได้รับการพิจารณาให้ตีพิมพ์ในวารสาร European Journal of Clinical Pharmacology เมื่อ 9 พ.ค. 60 และได้รับ published online เมื่อ 26 พ.ค. 60 (impact factor : 2.902 (2016)), quartile 1 สำหรับฐานข้อมูล Scopus, quartile 2 สำหรับฐานข้อมูล Web of Science
Nitsupa Wattanachai Sutthida Kaewmoongkun Burabha Pussadhamma Pattarapong Makarawate Chaiyasith Wongvipaporn Songsak Kiatchoosakun Suda Vannaprasaht Wichitra Tassaneeyakul. The impact of non-genetic and genetic factors on a stable warfarin dose in Thai patients. (ตามเอกสารแนบในภาคผนวก)
2. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์
 ไม่มี
 - เชิงพาณิชย์ (มีการนำไปผลิต/ขาย/ก่อให้เกิดรายได้ หรือมีการนำไปประยุกต์ใช้โดยภาคธุรกิจ/บุคคลทั่วไป)
 - เชิงนโยบาย (มีการกำหนดนโยบายอิงงานวิจัย/เกิดมาตรการใหม่/เปลี่ยนแปลงระเบียบข้อบังคับหรือวิธีทำงาน)
 - เชิงสาธารณะ (มีเครือข่ายความร่วมมือ/สร้างกระแสมความสนใจในวงกว้าง)
 - เชิงวิชาการ (มีการพัฒนาการเรียนการสอน/สร้างนักวิจัยใหม่)
3. อื่นๆ (เช่น ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการในประเทศ การเสนอผลงานในที่ประชุมวิชาการ หนังสือ การจดสิทธิบัตร)
 ผลงานวิจัยนี้ได้ถูกนำเสนอในรูปแบบโปสเตอร์ในหัวข้อ DEVELOPMENT OF A PHARMACOGENETICS-BASED WARFARIN DOSING ALGORITHM FOR THAI PATIENTS ในงานประชุม 11th International ISSX Meeting เมือง Busan ประเทศเกาหลีใต้ เมื่อวันที่ 13-16 มิถุนายน 2559 (ตามเอกสารแนบในภาคผนวก)