

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2021.10.027

❖ 临床研究 ❖

CHA₂DS₂-VASc 评分模型在中国肥厚型心肌病患者中的外部验证

鄢晓龙^{1,2}, 何森^{1,3}, 陈晓平^{1,3}

(四川大学华西医院, 1. 心导管室; 2. 放射科; 3. 心内科, 四川 成都 610041)

【摘要】目的: 通过外部验证来评估 CHA₂DS₂-VASc 评分模型在中国肥厚型心肌病 (HCM) 患者中的作用。**方法:** 回顾性分析 HCM 患者病历资料, 评估 CHA₂DS₂-VASc 评分模型对于 5 年血栓栓塞 (TE) 事件的预测。**结果:** 对于整体 HCM 人群, CHA₂DS₂-VASc 模型具有一定价值的 TE 事件区分能力, 校准能力较好; 在 HCM 非心房颤动人群中, CHA₂DS₂-VASc 模型具有一定价值的 TE 事件区分能力, 在 0~2 分组中, TE 事件的年发病率为 0.66%~1.15%, 而评分 ≥3 分组, TE 事件的年发病率升高, 波动约 2.60%; 对于 HCM 合并心房颤动人群, 无论患者的风险分层, TE 事件的风险均较高, CHA₂DS₂-VASc 评分模型校准能力较差, 低估实际观察到的 TE 事件。**结论:** HCM 非心房颤动患者在 CHA₂DS₂-VASc 评分 ≥3 分时, TE 事件发病率升高; 但 HCM 患者合并心房颤动时, 无论患者的风险分层, TE 事件的发病率均较高, 需要积极预防干预。

【关键词】 肥厚型心肌病; CHA₂DS₂-VASc; 心房颤动; 外部验证

【中图分类号】 R542.2; R541.7 **【文献标志码】** A

External validation of CHA₂DS₂-VASc scoring model in Chinese patients with hypertrophic cardiomyopathy

YAN Xiao-long^{1,2}, HE Sen^{1,3}, CHEN Xiao-ping^{1,3}

(1. Cardiac Catheterization Laboratory; 2. Department of Radiology; 3. Department of Cardiology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan, China)

【Abstract】Objective: The main aim of this study was to assess the role of CHA₂DS₂-VASc scoring model in Chinese patients with hypertrophic cardiomyopathy (HCM) through external verification. **Methods:** The medical records of patients with HCM were retrospectively analyzed, and the prediction of 5-year thromboembolic (TE) events by CHA₂DS₂-VASc scoring model were finally evaluated. **Results:** For the overall research population, CHA₂DS₂-VASc model had a certain value in TE event differentiation and good calibration ability. Among HCM non-atrial fibrillation population, CHA₂DS₂-VASc model had a certain value in TE event differentiation, and the annual incidence rate of TE events was 0.66%~1.15% in the 0~2 points group, and the annual incidence rate of TE events in score ≥3 points group was significantly increased, fluctuating around 2.60%. Among HCM patients with atrial fibrillation, the risk of TE events was high regardless of the risk stratification of patients, and CHA₂DS₂-VASc scoring model had poor calibration ability, which significantly underestimated the actual observed TE events. **Conclusion:** Among HCM patients without atrial fibrillation, the incidence rate of TE events is significantly increased when CHA₂DS₂-VASc score is ≥3 points. However, among HCM patients with atrial fibrillation, the incidence rate of TE events is higher regardless of the risk stratification of patients, thus active prevention and intervention are required.

【Key words】 Hypertrophic cardiomyopathy; CHA₂DS₂-VASc; Atrial fibrillation; External validation

肥厚型心肌病 (hypertrophic cardiomyopathy, HCM) 以心肌肥厚为特征, 常伴有心源性猝死 (sudden cardiac death, SCD)、心力衰竭及血栓栓塞 (thrombo-embolism, TE) 等并发症^[1]。其中 TE 事件可导致 HCM 患者预后不良及生存率降低, 在 HCM 患者中, TE 事件的年发病率约为 1.0%, 高于一般

人群^[2]。若患者合并心房颤动, 则 TE 事件年发病率更高^[3]。

在临床实践中, 通常使用风险预测模型辅助临床决策, 从而为患者做出更合理的治疗选择^[4]。CHA₂DS₂-VASc 评分模型主要用于非瓣膜性心房颤动患者 TE 事件的风险评估, 预测价值较可靠, 已在

临床实践中广泛应用^[5]。但目前该模型在 HCM 人群中的研究较少,尤其是对 HCM 合并心房颤动^[6-7]。因此,本研究拟通过外部验证来探讨 CHA₂DS₂-VASc 评分模型在中国 HCM 患者中的作用,特别是针对整体 HCM 人群以及 HCM 非心房颤动人,以期对 HCM 患者 TE 事件的风险预测提供有价值的信息。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集了 2010 年至 2015 年及 2017 年、2018 年在四川大学华西医院就诊的 HCM 患者病历资料进行回顾性分析。纳入标准:符合 2014 年欧洲心脏病学会指南^[8]中的 HCM 的诊断标准,具体标准如下:(1)成人,左心室舒张末期室壁厚度 ≥ 15 mm,或者有明确家族史者左心室舒张末期室壁厚度 ≥ 13 mm;(2)心室肌厚度通过经胸心脏彩超确定肥厚。排除标准:(1)使用华法林或肝素者;(2)年龄 < 18 岁;(3)二尖瓣狭窄或既往心脏瓣膜手术。本研究经四川大学华西医院生物医学研究伦理委员会批准(批准文号:2019-1147),由于研究的回顾性,伦理委员会批准知情同意豁免;同时本研究遵循《赫尔辛基宣言》的原则。目前本研究已在中国临床试验注册中心进行了注册(注册号:2000029352)。共计纳入 537 例 HCM 患者,根据 CHA₂DS₂-VASc 评分模型^[9],研究对象为非瓣膜性心房颤动成年患者。

1.2 随访及终点事件

随访通过病历查询及电话随访两种方式确认终点事件。随访从首次评估开始,一直到终点事件发生或死亡或研究拟定的评估日期(2019 年 12 月 31 日),如患者在随访过程中失访,则以能够联系到的最近一次随访纳入分析。终点事件定义为复合性 TE 事件,包括缺血性脑卒中、短暂性脑缺血发作及外周动脉栓塞。TE 事件则具体定义为:缺血性脑卒中及短暂性脑缺血发作定义为神经科医生诊断的局灶性突发性神经功能缺损,分别持续 > 24 h 和 < 2 h^[10];外周动脉栓塞定义为脑、心、眼、肺以外的血栓栓塞事件^[3,10]。

1.3 CHA₂DS₂-VASc 评分模型

CHA₂DS₂-VASc 评分模型包括 7 个变量,对每个变量进行评分赋值,最大分值为 9 分。0~9 分对应着不同的 TE 事件年发病率。见表 1 及表 2。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 24.0、GraphPad Prism 8 及 Empower-Stats 软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,而不符合正态分布的计量资料

则采用中位数+四分位间距表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验或秩和检验;计数资料用 $[n(\%)]$ 表示,组间比较采用 χ^2 检验,如分类变量有理论数 < 10 ,则采用 Fisher 精确检验。模型对于 TE 事件的区分能力采用 Harrell's C-指数进行评估。绘制 Kaplan-Meier 曲线进一步图形化预测模型对于 TE 事件的区分能力,组间比较使用 log-rank 检验。对于 CHA₂DS₂-VASc 评分模型的整体校准结果,使用预测值与实际值向比较。

表 1 CHA₂DS₂-VASc 评分模型的变量及分值

模型的变量	分值
心功能不全	1
高血压病史	1
年龄 ≥ 75 岁	2
糖尿病史	1
既往 TE 事件	2
血管疾病	1
年龄 65~74 岁	1
性别(即女性)	1
最大分值	9

表 2 CHA₂DS₂-VASc 分值对应的 TE 事件年发病率

CHA ₂ DS ₂ -VASc 分值	TE 事件年发病率/ 校准阿司匹林后*(%)	TE 事件年发病率/ 校准华法林后(%)
0	0.0	0.0
1	0.7	1.3
2	1.9	2.2
3	4.7	3.2
4	2.3	4.0
5	3.9	6.7
6	4.5	9.8
7	10.1	9.6
8	14.2	6.7
9	100.0	15.2

*在 CHA₂DS₂-VASc 评分模型的原始研究^[9]中,研究者未纳入使用华法林或肝素的心房颤动患者,因此患者最后校准了阿司匹林对于 TE 事件的影响。基于 ESC 房颤指南,研究者校准了抗凝药物对 TE 事件的影响。

2 结果

2.1 基线特征

537 例 HCM 患者中,最终纳入分析的有 463 例,整体研究人群的基线 CHA₂DS₂-VASc 评分为 1.39 ± 1.31 分,发生 TE 事件者 CHA₂DS₂-VASc 评分高于未发生 TE 事件者($P < 0.05$);且发生 TE 事件者年龄及既往 TE 事件、心房颤动发生率均高于未发生 TE 事件者($P < 0.05$)。见表 3。

2.2 TE 事件发生概况

32 例 TE 事件者中,缺血性脑卒中 27 例(84.38%),动脉栓塞 5 例(15.62%)。见图 1。

表 3 人群基线特征及有无 TE 事件患者基线对比 [n(%)]

变量	整体研究人群 (n=463)	无 TE 事件患者 (n=431)	TE 事件患者 (n=32)	P 值 [#]
年龄 (岁) *	57.00 (45.00 ~ 67.00)	57.00 (44.50 ~ 66.00)	65.50 (49.75 ~ 74.25)	0.009
性别 (男) *	258 (55.72)	245 (56.84)	13 (40.62)	0.075
HCM 家族史	38 (8.21)	33 (7.66)	5 (15.62)	0.169
SCD 家族史	14 (3.02)	14 (3.25)	0 (0.00)	0.613
合并疾病				
COPD	30 (6.48)	26 (6.03)	4 (12.50)	0.144
既往 TE 事件 *	19 (4.10)	15 (3.48)	4 (12.50)	0.035
血管疾病 *	34 (7.34)	30 (6.96)	4 (12.50)	0.280
高血压 *	149 (32.18)	139 (32.25)	10 (31.25)	0.907
糖尿病 *	35 (7.56)	31 (7.19)	4 (12.50)	0.289
心房颤动	49 (10.58)	37 (8.58)	12 (37.50)	<0.001
治疗				
阿司匹林	90 (19.44)	81 (18.79)	9 (28.12)	0.244
氯吡格雷	30 (6.48)	27 (6.26)	3 (9.38)	0.452
他汀	125 (27.00)	113 (26.22)	12 (37.50)	0.165
β-blockers	342 (73.87)	318 (73.78)	24 (75.00)	1.000
ACEI	40 (8.64)	38 (8.82)	2 (6.25)	1.000
ARB	51 (11.02)	47 (10.90)	4 (12.50)	0.769
非二氢吡啶类钙通道阻滞剂	27 (5.83)	26 (6.03)	1 (3.12)	1.000
ICD	34 (7.34)	32 (7.42)	2 (6.25)	0.144
普通起搏器	23 (4.97)	19 (4.41)	4 (12.50)	0.144
室间隔消融	48 (10.37)	46 (10.67)	2 (6.25)	0.693
外科干预梗阻	5 (1.08)	5 (1.16)	0 (0.00)	0.693
心脏彩超参数				
LVEF <40% *	6 (1.30)	6 (1.39)	0 (0.00)	1
LVOTO	207 (44.71)	197 (45.71)	10 (31.25)	0.112
CHA ₂ DS ₂ -VASc	1.39 ± 1.31	1.34 ± 1.27	2.06 ± 1.56	0.002

* CHA₂DS₂-VASc 评分模型的变量。#对比随访过程中发生 TE 及未发生 TE 患者的基线资料。

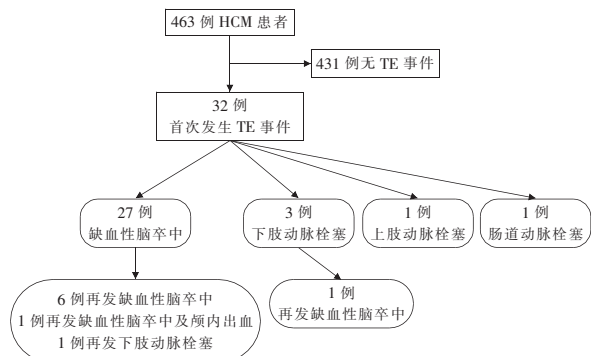


图 1 研究人群 TE 事件

2.3 整体研究人群的验证研究

随着 CHA₂DS₂-VASc 评分升高, TE 事件累积发病率逐步升高, 年发病率也逐步升高, 3 分组及 ≥4 分组的 TE 事件年发病率高于 0 ~ 2 分组。CHA₂DS₂-VASc 评分模型对于整体随访过程中的 TE 事件具有一定价值的区分能力, Harrell's C 指数为 0.651; Kaplan-Meier 曲线分析也提示 3 分及 ≥4 分组 TE 事件发病明显高于 0 ~ 2 分组 (P < 0.001)。校准阿司匹林使用对 TE 事件年发病率的影响, 发现当 CHA₂DS₂-VASc 评分用于 HCM 患者时, 校准能力较好, 但整体上稍高估 TE 事件的发生。见表 4 及图 2。

表 4 整体研究人群 TE 事件

	CHA ₂ DS ₂ -VASc 评分					
	0	1	2	3	≥4	
患者数目 (n)	463	137	150	84	54	38
TE 事件 (n)	32	7	7	3	8	7
发病率 (%) *	6.91	5.11	4.67	3.57	14.81	18.42
累积发病率 (%) #	15.76	11.52	14.85	10.13	25.14	35.27
年发病率 (%)	1.64	1.26	0.96	0.94	3.63	5.57
95% CI	1.08 ~ 2.21	0.33 ~ 2.18	0.25 ~ 1.68	0.00 ~ 2.00	1.16 ~ 6.10	1.56 ~ 9.59

* 二进事件率; #Kaplan-Meier 法估计的事件率。

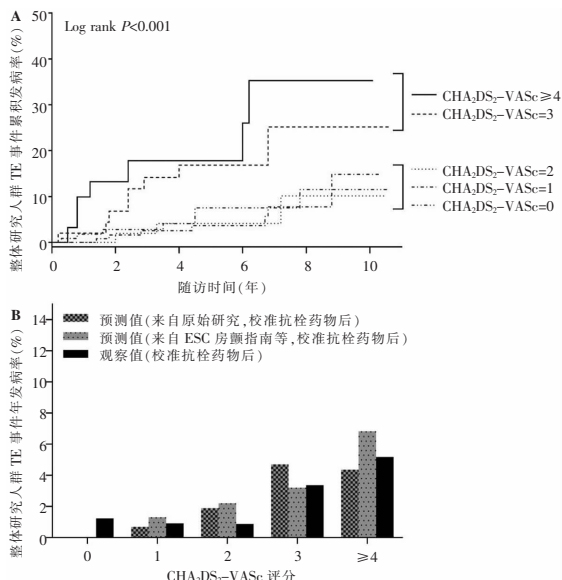


图 2 CHA₂DS₂-VASc 对整体研究人群的 TE 事件区分及校准能力

2.4 HCM 非心房颤动人群的验证研究

CHA₂DS₂-VASc 评分模型不能区分 5 组患者之间 TE 事件的发生 (Harrell's C 指数为 0.579, log-rank $P=0.129$)。进一步将患者划分为 0~2 分及 ≥ 3 分组, Kaplan-Meier 曲线分析提示在随访过程中该评分模型可以区分两组之间 TE 事件的发生情况 ($P=0.010$)。校准提示该评分模型对于该部分患者 TE 事件的校准能力较差,整体上高估了 TE 事件的发生。见表 5 及图 3。

表 5 HCM 非心房颤动人群 TE 事件

	CHA ₂ DS ₂ -VASc 评分					
	0	1	2	3	≥ 4	
患者数目 (n)	414	131	135	77	38	33
TE 事件 (n)	20	6	5	2	4	3
发病率 (%) *	4.83	4.58	3.70	2.60	10.53	9.09
累积发病率 (%) *	12.45	11.21	12.91	8.43	14.08	19.37
发病率 (%)	1.15	1.15	0.77	0.66	2.58	2.68
95% CI	0.65~1.65	0.23~2.06	0.10~1.44	0.00~1.56	0.08~5.08	0.00~5.68

* 二进事件率; #Kaplan-Meier 法估计的事件率。

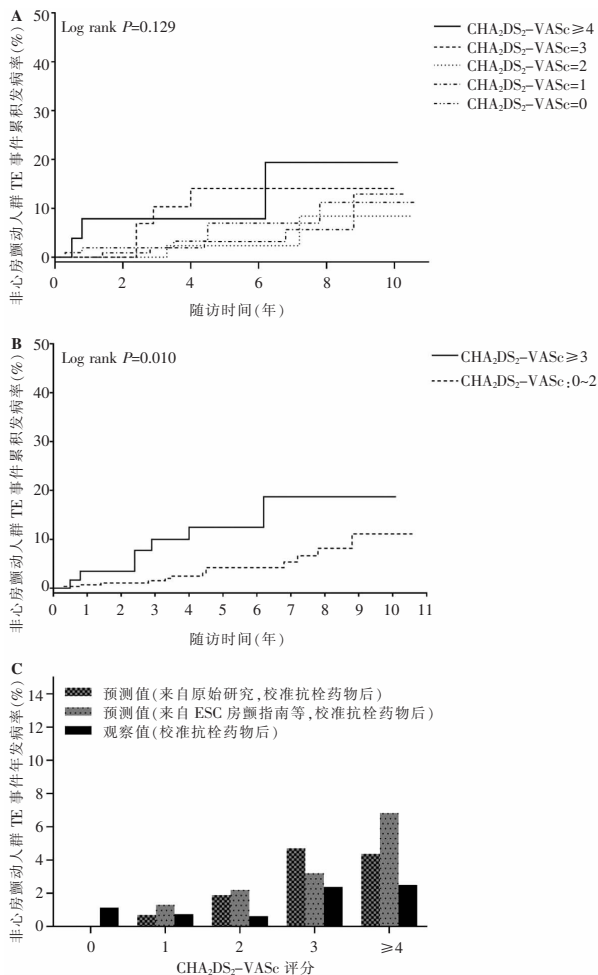


图 3 CHA₂DS₂-VASc 对非心房颤动人群的 TE 事件区分及校准能力

2.5 HCM 合并心房颤动人群的验证研究

心房颤动患者 49 人,在评估 CHA₂DS₂-VASc 评分模型对 TE 事件的区分能力时, Harrell's C 指数为 0.688,提示该评分模型能辅助区分 TE 事件的发

生; Kaplan-Meier 曲线分析也提示该评分模型可区分随访过程中 TE 事件的发生 ($P=0.016$)。校准提示该分模型对于该部分患者 TE 事件的校准能力较差,整体上低估了 TE 事件的发生。见图 4。

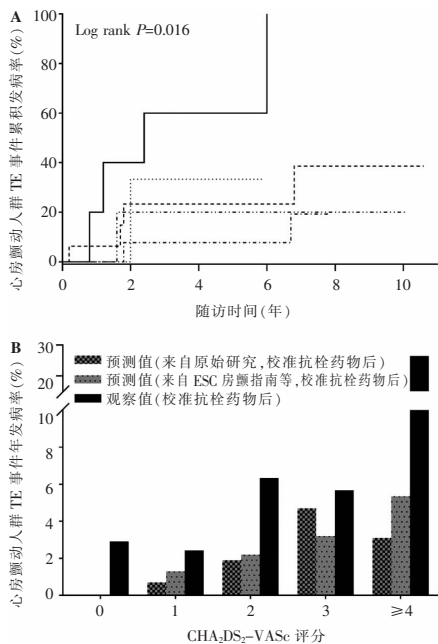


图 4 CHA₂DS₂-VASc 对心房颤动人群的 TE 事件区分及校准能力

3 讨论

HCM 患者 TE 事件的发病率约每年 1.0%, 当合并心房颤动时, TE 事件发病率明显升高^[10]。心房颤动在 HCM 患者中的患病率较高, 患病率波动 12%~28%, 且呈逐年上升趋势, 这也导致 HCM 患者 TE 事件患病率逐年升高^[11-12]。HCM 人群中, 识别具有发生 TE 事件的高风险患者, 在积极预防措施干预下, 可能在一定程度上避免 TE 事件发生。然而, 临床实际操作中, 对于风险的准确评估, 相当困难。

风险预测模型则整合多种预测因素, 应用价值较单因素风险评估高。对于 CHA₂DS₂-VASc 评分模型, 本研究提示在 HCM 患者中无论是否合并心房颤动, 均有一定的区分能力。心功能不全、年龄、既往 TE 病史、血管疾病及性别等也系 HCM 患者 TE 事件的危险因素^[13], 提示某些关键的风险因素在不同人群中往往是一致的。Mitchell 等^[14]提示缺血性中风及短暂性脑缺血的发生率随着 CHA₂DS₂-VASc 评分的增加而增加, 当 CHA₂DS₂-VASc ≥ 4 时, 绝对年发病率 $\geq 1\%$; Yang 等^[15]发现若患者合并心房颤动, 则 CHA₂DS₂-VASc 评分 ≥ 5 分时, 患者的死亡率明显升高; Renda 等^[16]发现无心房颤动患者当 CHA₂DS₂-VASc 评分 ≥ 4 时的缺血性卒中累计发病率与心房颤动患者 CHA₂DS₂-VASc 评分 = 2 相似。因此, CHA₂DS₂-VASc 评分模型可整合多项预测因子, 综合评估心脑血管疾病患者的预后, 但模型针对

不同患者的不同预后、临床价值及危险切点有所不同。相同 $\text{CHA}_2\text{DS}_2\text{-VASc}$ 评分时,合并心房颤动者预后更差,非心房颤动者在更高的 $\text{CHA}_2\text{DS}_2\text{-VASc}$ 评分时与合并心房颤动者预后相似。本研究也显示, $\text{CHA}_2\text{DS}_2\text{-VASc}$ 评分模型在 HCM 合并心房颤动及未合并心房颤动患者中存在一个较确切的分界点,分别为 ≥ 2 分及 ≥ 3 分,超过该切点,则 TE 事件的发病率明显升高。且 $\text{CHA}_2\text{DS}_2\text{-VASc}$ 模型在整体研究人群均具有一定价值的 TE 事件区分能力,校准能力较好,但 HCM 非心房颤动人群中,该评分模型整体上高估观察到的 TE 事件发病率,与 Lip 等^[9] 研究有些许差别,这可能是由于该模型的发病率等数据来自于心房颤动患者,且患者年龄偏大、既往 TE 事件、血管疾病及高血压、糖尿病的发病率均高于本研究人群。此外。本研究指出,在未合并心房颤动的患者中, $\text{CHA}_2\text{DS}_2\text{-VASc}$ 评分为 0 ~ 2 分时,TE 事件年发病率为 0.66 ~ 1.15%,发病率较低,故可结合临床特点及个人意愿进行个体化的抗栓;而当评分 ≥ 3 分时,TE 事件年发病率升高至 2.60%,应积极地推荐抗栓治疗,但对于具体药物的选择,仍需进一步的临床研究^[17]。

由于合并心房颤动的人群样本量较小,数据结果应当谨慎小心地解读;但由于合并心房颤动的患者具有较高 TE 事件风险,对于该部分人群进行风险分层的实际意义不大,正如目前指南推荐的^[8]: 建议所有 HCM 合并心房颤动的患者均应接受抗凝治疗。

本研究也存在一定的局限性:首先,本研究系单中心回顾性临床研究,且患者来自三级诊疗医院,在患者纳入方面可能存在固有的偏倚。因此,需要进一步的多中心研究来证实和扩展目前的发现。其次,本研究没有区分心源性栓塞性卒中与其他缺血性卒中亚型,这可能也是导致校准不完美的潜在原因。

综上所述, $\text{CHA}_2\text{DS}_2\text{-VASc}$ 评分模型对于中国 HCM 非心房颤动患者具有相对较好的临床应用价值,当 HCM 患者合并心房颤动时,无论患者的风险分层,TE 事件的发病率均较高,需积极预防干预。

参考文献

[1] Gersh BJ, Maron BJ, Bonow RO, et al. 2011 ACCF/AHA guideline for the diagnosis and treatment of hypertrophic cardiomyopathy: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines [J]. *Circulation*, 2011, 124(24): 783 - 831.

[2] 赵冬. 我国人群卒中发病率、死亡率的流行病学研究 [J]. *中华流行病学杂志*, 2003, 24(3): 236 - 239.

[3] Haruki S, Minami Y, Hagiwara N. Stroke and embolic events in hypertrophic cardiomyopathy: risk stratification in patients without atrial fibrillation [J]. *Stroke*, 2016, 47(4): 936 - 942.

[4] O'Mahony C, Jichi F, Pavlou M, et al. A novel clinical risk prediction model for sudden cardiac death in hypertrophic cardiomyopathy (HCM risk-SCD) [J]. *European Heart Journal*, 2014, 35(30): 2010 - 2020.

[5] Kirchhoff P, Benussi S, Kotecha D, et al. 2016 ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation developed in collaboration with EACTS [J]. *European Heart Journal*, 2016, 37(38): 2893 - 2962.

[6] Yang YJ, Yuan JQ, Fan CM, et al. Incidence of ischemic stroke and systemic embolism in patients with hypertrophic cardiomyopathy, nonvalvular atrial fibrillation, $\text{CHA}_2\text{DS}_2\text{-VASc}$ score of ≤ 1 and without anticoagulant therapy [J]. *Heart Vessels*, 2016, 31(7): 1148 - 1153.

[7] Kilic S, Kocabas U, Can LH, et al. Predictive value of $\text{CHA}_2\text{DS}_2\text{-VASc}$ and $\text{CHA}_2\text{DS}_2\text{-VASc-HS}$ scores for failed reperfusion after thrombolytic therapy in patients with ST-segment elevation myocardial infarction [J]. *Cardiology Journal*, 2019, 26(2): 169 - 175.

[8] Elliott PM, Anastasakis A, Borger MA, et al. 2014 ESC Guidelines on diagnosis and management of hypertrophic cardiomyopathy: the task force for the diagnosis and management of hypertrophic cardiomyopathy of the European society of cardiology (ESC) [J]. *European Heart Journal*, 2014, 35(39): 2733 - 2779.

[9] Lip GY, Nieuwlaat R, Pisters R, et al. Refining clinical risk stratification for predicting stroke and thromboembolism in atrial fibrillation using a novel risk factor-based approach: the euro heart survey on atrial fibrillation [J]. *Chest*, 2010, 137(2): 263 - 272.

[10] Maron BJ, Olivetto I, Bellone P, et al. Clinical profile of stroke in 900 patients with hypertrophic cardiomyopathy [J]. *Journal of the American College of Cardiology*, 2002, 39(2): 301 - 307.

[11] Camm CF, Camm AJ. Atrial fibrillation and anticoagulation in hypertrophic cardiomyopathy [J]. *Arrhythmia & Electrophysiology Review*, 2017, 6(2): 63 - 68.

[12] Guttman OP, Pavlou M, O'Mahony C, et al. Prediction of thromboembolic risk in patients with hypertrophic cardiomyopathy (HCM Risk-CVA) [J]. *European Journal of Heart Failure*, 2015, 17(8): 837 - 845.

[13] He S, Chen X, Cui K, et al. Validity evaluation of recently published diabetes risk scoring models in a general Chinese population [J]. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 2012, 95(2): 291 - 298.

[14] Mitchell LB, Southern DA, Galbraith D, et al. Prediction of stroke or TIA in patients without atrial fibrillation using CHADS2 and $\text{CHA}_2\text{DS}_2\text{-VASc}$ scores [J]. *Heart (British Cardiac Society)*, 2014, 100(19): 1524 - 1530.

[15] Yang HJ, Wang GJ, Shuai W, et al. The value of the CHADS2 and $\text{CHA}_2\text{DS}_2\text{-VASc}$ score for predicting the prognosis in lacunar stroke with or without atrial fibrillation patients [J]. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, 2019, 28(11): 104143.

[16] Renda G, Ricci F, Patti G, et al. $\text{CHA}_2\text{DS}_2\text{-VASc}$ score and adverse outcomes in middle-aged individuals without atrial fibrillation [J]. *European Journal of Preventive Cardiology*, 2019, 26(18): 1987 - 1997.

[17] Xing Y, Sun Y, Li H, et al. $\text{CHA}_2\text{DS}_2\text{-VASc}$ score as a predictor of long-term cardiac outcomes in elderly patients with or without atrial fibrillation [J]. *Clinical Interventions in Aging*, 2018, 13(3): 497 - 504.

(收稿日期: 2021 - 03 - 21

修回日期: 2021 - 05 - 25)