

**Un dimorfism C1173T al genei VKORC1 determină
sensibilitate la cumarinice și risc de sângerare**
(A C1173T dimorphism in the VKORC1 gene determines
coumarin sensitivity and bleeding risk.)

Pieter H. Reitsma¹, Jeroen F. van der Heijden¹, Angelique P. Groot¹, Frits
R. Rosendaal², Harry R. Büller³

¹Laboratorul de Medicină Internă Experimentală, Centrul Medical
Academic, Universitatea din Amsterdam, Olanda; ²Departamentul de
Epidemiologie Clinică și Hematologie, Centrul Medical al Universității
Leiden, Olanda; ³Departamentul de Medicină Vasculară, Universitatea din
Amsterdam, Olanda.

PLoS Med 2(10): e312

plosmed2-e312-ro; V1, 18 iulie, 2006

traducere din limba engleză de Raluca Benga

Originalul se găsește la:

Public Library of Science Medicine

Traducerea se găsește la:

<http://anticoagulare.punct.info/plosmed2-e312-ro.pdf>

Tradus și repoduz aici în conformitate cu condițiile de licențiere din revistele 'Public
Library of Science'

Un dimorfism C1173T al genei VKORC1 determină sensibilitate la cumarinice și risc de sângerare

Pieter H. Reitsma¹, Jeroen F. van der Heijden¹, Angélique P. Groot¹, Frits R. Rosendaal², Harry R. Büller³

traducere de Raluca Benga

Rezumat. Un polimorfism al *C1173T* la intronul 1 al genei *VKORC1* a fost presupus a determina variabilitatea interindividuală la terapia cu antagoniști ai vitaminei K (VKA), dar nu se cunoaște dacă acesta influențează și riscul de sângerare. Ne-am propus să confirmăm relația între statusul *C1173T* și folosirea fenprocumonului sau a acenocumarolului, și să determinăm riscul de sângerări severe pentru diferite genotipuri.

Metode și rezultate. Am studiat aceste probleme într-un studiu caz-control pe 110 pacienți care au sângerat în timpul terapiei cu VKA și pe 220 de pacienți de control care nu au prezentat sângerări sub tratament cu VKA. Pentru a atinge același INR țintă, genotipul CT și genotipul TT la pacienții de control a necesitat mai puțin fenprocumon (genotipul CC 2.9 mg/d [95% intervalul de confidență (CI): 2.6–3.2], genotipul CT 2.6 mg/d [95% CI: 2.1–3.1], genotipul TT 1.4 mg/d [95% CI: 1.1–1.7]) sau acenocumarol (genotipul CC 3.2 mg/d [95% CI: 2.9–3.5], genotipul CT 2.3 mg/d [95% CI: 2.1–2.5], genotipul TT 1.7 mg/d [95% CI: 1.3–2.1]) decât genotipul CC la pacienții de control. Față de pacienții cu genotipul CC, cei care aveau cel puțin o alelă T au avut un risc crescut de sângerare în cursul tratamentului cu fenprocumon (crude odds ratio = 2.6, 95% CI: 1.2–5.7), pe când cei tratați cu acenocumarol nu au prezentat acest risc crescut de sângerare (crude odds ratio = 1.2, 95% CI: 0.6–2.3).

Concluzii. Aceste rezultate încurajează testarea genetică a *VKORC1*, pentru prevenția sângerărilor la cei care primesc antagoniști ai vitaminei K. *PLoS Med* 2(10): e312

1 Introducere

Antagoniștii vitaminei K, warfarina, acenocumarolul, fenprocumonul, sunt folosiți pentru prevenția și tratamentul trombozelor venoase și arteriale. Tinta moleculară a acestor anticoagulante este complexul epoxid-reductazei vitaminei K, a cărui compoziție exactă nu este cunoscută. Recent, o componentă a acestui complex, subunitatea 1 a complexului epoxid-reductazei vitaminei K (VKORC1), a fost identificată prin clonare pozițională[1]. Această genă, VKORC1, este mutantă la cei cu deficiență combinată a factorilor coagulării dependenți de vitamina K tip 2 sau cu rezistență la warfarină [1,2].

Doza de anticoagulant cumarinic necesară pentru atingerea nivelului țintă de anticoagulare este variabilă, în special între indivizi, dar și la același individ și depinde, de exemplu, de aportul exogen de vitamina K și de variațiile farmacocineticii. La începutul acestui an, polimorfismul genei VKORC1 a fost raportat a explica până la 30% din variabilitatea răspunsului farmacologic la VKA [3-5].

Sângerarea este o complicație importantă a tratamentului cu VKA. În Olanda, eforturile intense făcute de clinicile de anticoagulare au drept scop monitorizarea tratamentului cu fenprocumon și acenocumarol, cei doi antagoniști ai vitaminei K folosiți. Aceste eforturi sunt în special făcute pentru a menține nivelul anticoagulării, exprimat ca și international normalized ratio (INR), în intervalul terapeutic dorit. În cadrul acestor eforturi, caracteristicile individuale ale pacienților, cum ar fi de exemplu cele legate de determinanți înnașcuți ai răspunsului farmacologic, sunt luate în considerație doar indirect. Ne-am propus să estimăm contribuția polimorfismului *C1173T* în gena *VKORC1* la stabilirea dozelor necesare de acenocumarol și fenprocumon și la determinarea riscului de sângerare.

2 Metode

Pentru analizele actuale am folosit AND-ul dintr-un studiu caz-control precedent [6]. Acest studiu include 110 pacienți catalogați ca și “severe bleeders” și 220 “non-bleeders” (mai mult de 96% din pacienți sunt caucazieni), care au fost selectați din două clinici de anticoagulare. Sângerarea majoră a fost definită ca sângerarea clinic evidentă și care îndeplinește unul din următoarele criterii: se asociază cu o scădere a nivelului hemoglobinei de $\geq 20\text{g/l}$, cu spitalizare, transfuzii sangvine de mai mult de 2 unități de sânge, hemoragie intracraniană, intramusculară, intraarticulară sau intraoculară.

Cei care au sângerat și cei care nu au sângerat au fost vizitați la domiciliu, au completat un chestionar și s-a recoltat sânge pentru pregătirea plasmei și a

Tabelul 1. Relația între genotipul C1173T și dozele medii de anticoagulante cumarinice pentru controlul pacienților.

Genotipul C1173T al genei VKORC1	Acenocumarol mg/zi (int. conf. 95%; n)	Fenprocumon mg/zi (int. conf. 95%; n)
CC	3,2 (2,9–3,5; 55)	2,9 (2,6–3,2; 40)
CT	2,3 (2,1–2,5; 57)	2,6 (2,1–3,1; 29)
TT	1,7 (1,3–2,1; 23)	1,4 (1,1–1,7; 12)

AND-ului. Genotiparea polimorfismului C1173T în cadrul genei VKORC1 a fost făcută folosind o enzimă simplă de restricție a AND-ului amplificat prin PCR. Detaliile despre protocol pot fi luate prin corespondență de la unul dintre autori. Analize statistice au fost făcute separat și împreună pentru acenocumarol și fenprocumon. Am calculat odds ratios, ca și măsură a riscului relativ, din tabelul de contingență ca și exposure odds ratio (OR), cu 95% intervalul de confidență (CI), bazându-ne pe presupunerea unei distribuții Poisson, așa cum susține Woolf [7]. Comisia instituțională de revizie a Centrului Medical Academic și a Centrului Medical al Universității din Leiden a aprobat protocolul studiului și toți pacienții și-au dat consimțământul scris de participare la studiu.

3 Rezultate

Tabelul 1 prezintă dozele de acenocumarol și fenprocumon necesare pentru atingerea aceluiași INR țintă, categorisite după genotipurile diferite ale pacienților. Datele confirmă afirmațiile făcute în studiile anterioare [3-5]. Față de purtătorii genotipului CC, doza medie de acenocumarol și fenprocumon a fost cu 15%-30% mai mică la cei cu genotipul CT heterozigoți, și cu aproximativ 40 % mai mică decât la indivizii TT homozigoți. Nu s-au înregistrat diferențe semnificative între acenocumarol și fenprocumon.

Apoi am examinat dacă genotipul *C1173T* influențează riscul de sângerare (Tabelul 2). OR pentru sângerările majore pentru purtătorii a cel puțin o alelă T a fost de 1.7 (95% CI: 1.1–2.5). Când sunt analizate separate, fenprocumonul pare să modifice mai puternic riscul de sângerare al genotipului *C1173T* (OR = 2.6 [95% CI: 1.2–5.7 pentru purtătorii unei allele T]), pe când la cei tratați cu acenocumarol genotipul nu a avut mare efect (OR = 1.2 [95% CI: 0.6–2.3]). Dacă luăm în considerare toți pacienții din studiu la calcularea OR, pentru a obține rezultate semnificative statistic (lucru nor-

Tabelul 2. Numărul de cazuri și de pacienți de control pentru diferite genotipuri ale VKORC1 și OR pentru sângerarea sub tratament anticoagulant.

Genotipul VKORC1	Acenocumarol			Fenprocumon		
	Caz	Control	OR (i.c. 95%)	Caz	Control	OR (i.c. 95%)
CC	22	55	1	13	40	1
CT	26	57	1.1 (0.4–1.7)	25	29	2.7 (1.2–6.0)
TT	13	23	1.4 (0.6–3.2)	10	12	2.6 (0.9–7.3)
CT și TT	39	80	1.2 (0.6–2.3)	35	41	2.6 (1.2–5.7)
CT și TT (inclusiv cazurile de control)	39	121	1.4 (0.8–2.5)	35	121	2.1 (1.1–4.2)

mal de altfel, deoarece genotipul nu influențează prescripția medicală), OR pentru purtătorii unei allele T care au sângerat este de 1.4 (95 % CI: 0.8–2.5) pentru acenocumarol și de 2.1 (95% CI: 1.1–4.2) pentru fenprocumon.

Am examinat calitatea anticoagulării la diferite genotipuri și diferite anticoagulante orale. Procentul de timp cât pacienții au fost în intervalul terapeutic a fost considerabil mai mare la cei tratați cu fenprocumon (genotipul CC 60% în interval (95% CI: 45–75, genotipul CT/TT 66% în interval (95% CI: 62–71), decât la cei tratați cu acenocumarol (CC genotype 41% in range (95% CI: 35–47, CT/TT genotype 46% in range (95% CI: 42–51), cu toate că genotipul nu are un effect apreciabil asupra timpului de rămânere în intervalul therapeutic.

4 Discuții

Rezultatele, deși bazate pe un eșantion mic de pacienți cu sângerare, promovează idea că riscul de sângerare pentru purtătorii alelei T este mai mare la cei tratați cu fenprocumon, decât la cei tratați cu acenocumarol. Dacă această ipoteză este confirmată de studii adiționale și extinsă la cazurile mai frecvente și clinic relevante de sângerare nonmajoră, se poate să implice ca purtătorii de genotipuri CT și TT să fie tratați preferențial cu acenocumarol, în ciuda faptului că excesul de sângerare la pacienții aflați în tratament cu fenprocumon nu este mediată de instabilitatea valorilor INR. Aceste genotipuri

au fost asociate cu sângerarea, dar nu și cu valori instabile ale INR. De fapt, stabilitatea tratamentului este mai mare cu fenprocumon decât cu acenocumarol, ceea ce confirmă celelalte studii [8]. Acest paradox - control aparent bun al valorilor INR, dar risc mai mare de sângerare la pacienții tratați cu fenprocumon - a mai fost raportat până acum, în special în relație cu sângerările minore [8].

În prezent, nu avem o explicație clară privind diferența de risc dintre cele două anticoagulante cumarinice. Este puțin probabil ca aceste medicamente să aibă un efect diferit asupra statusului carboxilării factorilor coagulării dependenți de vitamina K. Pentru a întări această afirmație, nivelul de factor IX (care nu influențează INR-ul) este același între cele două grupuri de pacienți. Mai degrabă, această diferență în riscul de sângerare se explică prin vasta diferență de farmacocinetică a acenocumarolului (timp de înjumătățire de 11ore) și fenprocumonului (timp de înjumătățire de 140 de ore). Pacienții care primesc tratament cu anticoagulante sunt adesea persoane cu probleme grave de sănătate. Poate ca alterarea statusului lor de sănătate, care afectează sensibilitatea la cumarinice, nu este eficient controlată cu un produs cu timpul de înjumătățire atât de lung.

Riscul crescut de sângerare pledează spre faptul că genotipând pentru a determina polimorfismul în gena VKORC1, putem trece dincolo de interesul academic și acest lucru poate deveni standard pentru fiecare inițiere a tratamentului cu acenocumarol sau fenprocumon. Genotiparea poate ajuta la identificarea acelor indivizi la riscul cel mai mare de sângerare și care, din această cauză, trebuie monitorizați mai intens. O testare a genei VKORC1 poate necesita testarea complementară pentru polimorfismul Cyp2C9, care influențează de asemenea farmacocinetica VKAs și pentru care există dovezi ale asocierii între genotip și sângerare [9].

5 Mulțumiri

Mulțumim Dr. F.J.M van der Meer de la Centrul de Tromboză Leiden și Dr. M.G.H. Remkes de la Centrul de Tromboză Amsterdam pentru ca ne-au oferit accesul la pacienții aflați sub supravegherea lor. Studiul FACTORS a fost finanțat de Fundația Olandeză de Cardiologie (#99.165). Finanțatorii nu au avut nici un rol în proiectarea studiului, colectarea datelor sau a analizelor, decizia de publicare sau realizarea acestui manuscris. Autorul de corespondență are acces la toate datele studiului și are responsabilitatea pentru oferirea lor spre publicare.

6 Bibliografie

1. Rost S, Fregin A, Ivaskevicius V, Conzelmann E, Hortnagel K, et al. (2004) Mutations in VKORC1 cause warfarin resistance and multiple coagulation factor deficiency type 2. *Nature* 427: 537–541.
2. Li T, Chang CY, Jin DY, Lin PJ, Khvorova A, et al. (2004) Identification of the gene for vitamin K epoxide reductase. *Nature* 427: 541–544.
3. Bodin L, Verstuyft C, Tregouet DA, Robert A, Dubert L, et al. (2005) Cytochrome P450 2C9 (CYP2C9) and vitamin K epoxide reductase (VKORC1) genotypes as determinants of acenocoumarol sensitivity. *Blood* 106: 135–140.
4. D'Andrea G, D'Ambrosio RL, Di Perna P, Chetta M, Santacroce R, et al. (2005) A polymorphism in the VKORC1 gene is associated with an interindividual variability in the dose-anticoagulant effect of warfarin. *Blood* 105: 645–649.
5. Rieder MJ, Reiner AP, Gage BF, Nickerson DA, Eby CS, et al. (2005) Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose. *N Engl J Med* 352: 2285–2293.
6. van der Heijden JF, Rekke B, Hutten BA, van der Meer FJ, Remkes MG, et al. (2004) Non-fatal major bleeding during treatment with vitamin K antagonists: Influence of soluble thrombomodulin and mutations in the propeptide of coagulation factor IX. *J Thromb Haemost* 2: 1104–1109.
7. Woolf B (1955) On estimating the relation between blood group and disease. *Ann Hum Genet* 19: 251–253.
8. Gadisseur AP, van der Meer FJ, Adriaansen HJ, Fihn SD, Rosendaal FR (2002) Therapeutic quality control of oral anticoagulant therapy comparing the short-acting acenocoumarol and the long-acting phenprocoumon. *Br J Haematol* 117: 940–946.
9. Visser LE, van Schaik RH, van Vliet M, Trienekens PH, De Smet PA, et al. (2004) The risk of bleeding complications in patients with cytochrome P450 CYP2C9*2 or CYP2C9*3 alleles on acenocoumarol or phenprocoumon. *Thromb Haemost* 92: 61–66.