

Université de Montréal

Étude pharmacogénomique sur l'utilisation de la warfarine en pratique clinique réelle

par

Mélina Marin-Leblanc

Médicament et Santé des populations

Faculté de pharmacie

Mémoire présenté à la Faculté de pharmacie
en vue de l'obtention du grade de Maîtrise
en Sciences pharmaceutiques
option Médicament et Santé des populations

Décembre 2010

© Mélina Marin-Leblanc, 2010

Université de Montréal
Faculté des études supérieures et postdoctorales

Ce mémoire intitulé :

Étude pharmacogénomique sur l'utilisation de la warfarine en pratique clinique réelle

Présenté par :
Méline Marin-Leblanc

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Jean Lachaine, président-rapporteur
Sylvie Perreault, directeur de recherche
Simon De Denus, membre du jury

Résumé

Contexte: Bien que plusieurs algorithmes pharmacogénétiques de prédiction de doses de warfarine aient été publiés, peu d'études ont comparé la validité de ces algorithmes en pratique clinique réelle.

Objectif: Évaluer trois algorithmes pharmacogénomiques dans une population de patients qui initient un traitement à la warfarine et qui souffrent de fibrillation auriculaire ou de problèmes de valves cardiaques. Analyser la performance des algorithmes de Gage *et al.*, de Michaud *et al.* ainsi que de l'IWPC quant à la prédiction de la dose de warfarine permettant d'atteindre l'INR thérapeutique.

Méthodes: Un devis de cohorte rétrospectif fut utilisé afin d'évaluer la validité des algorithmes chez 605 patients ayant débuté une thérapie de warfarine à l'Institut de Cardiologie de Montréal. Le coefficient de corrélation de Pearson ainsi que l'erreur absolue moyenne ont été utilisés pour évaluer la précision des algorithmes. L'exactitude clinique des prédictions de doses fut évaluée en calculant le nombre de patients pour qui la dose prédite était sous-estimée, idéalement estimée ou surestimée. Enfin, la régression linéaire multiple a été utilisée pour évaluer la validité d'un modèle de prédiction de doses de warfarine obtenu en ajoutant de nouvelles covariables.

Résultats : L'algorithme de Gage a obtenu la proportion de variation expliquée la plus élevée (R^2 ajusté = 44 %) ainsi que la plus faible erreur absolue moyenne (MAE = 1.41 ± 0.06). De plus, la comparaison des proportions de patients ayant une dose prédite à moins de 20 % de la dose observée a confirmé que l'algorithme de Gage était également le plus performant.

Conclusion : Le modèle publié par Gage en 2008 est l'algorithme pharmacogénétique le plus exact dans notre population pour prédire des doses thérapeutiques de warfarine.

Mots-clés : Warfarine, Pharmacogénétique, Algorithmes, *CYP2C9*, *VKORC1*

Abstract

Background: Although numerous genotype-based warfarin dosing algorithms have been published, there is little data comparing the predictive ability of these algorithms in real clinical practice.

Objectives: Our goal was to evaluate the performance of pharmacogenetic algorithms in an unselected patient population initiating warfarin treatment for atrial fibrillation or valve disease in a real-world clinical setting. The principal objective of the analysis was to determine if Gage's, Michaud's, and IWPC algorithms could predict the dose achieving the therapeutic International normalized ratio (INR).

Methods: Data from a retrospective cohort study of 605 patients initiating warfarin therapy at the Montreal Heart Institute was used. We compared the dose predicted by the algorithms to the dose achieving the therapeutic INR. Pearson's correlation coefficient and mean absolute error (MAE) were used to evaluate the predictive accuracy of the algorithms. Clinical accuracy of the predictions was assessed by computing the proportion of patients in which the predicted dose was under-estimated, ideally estimated, or overestimated. Finally, we used multiple linear regression analysis to evaluate the accuracy of a predictive model obtained by adding additional covariables in predicting therapeutic warfarin doses.

Results: The proportion of variation explained (adjusted R^2) was the highest for Gage's algorithm ($R^2 = 44\%$) and the mean absolute error was the smallest for the predictions made by Gage's algorithm (MAE = 1.41 ± 0.06). Moreover, when we compared the proportion of patients whose predicted doses are within $\pm 20\%$ of the observed stable dose, Gage's algorithm also performed the best overall.

Conclusion: The algorithm published by Gage *et al.* in 2008 is the most accurate pharmacogenetically based equation in predicting therapeutic warfarin dose in our study population.

Keywords : Warfarin, Pharmacogenetics, Algorithms, *CYP2C9*, *VKORC1*

Table des matières

Liste des tableaux	v
Liste des figures	vi
Liste des sigles et des abréviations	vii
Remerciements	viii
Introduction	1
État des connaissances	4
1. Warfarine	5
1.1 Pharmacocinétique et pharmacodynamie détaillée de la warfarine	7
1.2 Indications de la warfarine	9
1.3 Variabilité interindividuelle des doses requises de warfarine	12
1.4 Suivi des patients et recommandations de l'ACCP	13
2. Effets indésirables liés à la warfarine	14
3. Facteurs influençant la réponse du patient à la warfarine	16
3.1 Âge	16
3.2 Sexe	16
3.3 Ethnicité	16
3.4 Comorbidités	18
3.5 Consommation de vitamine K	18
3.6 Médication courante	19
3.7 Habitudes de vie	20
4. Pharmacogénétique : définitions	21
5. Autres gènes ayant un impact sur la warfarine	24
5.1 Gènes de la superfamille des cytochromes P450s	24
5.2 Autres gènes	26
6. Algorithmes	28
7. Arguments en faveur du génotypage avant la prise de warfarine	34
7.1 Coût-efficacité	35

7.2 Pratique clinique actuelle	38
8. Les avantages de la pharmacogénétique pour les thérapies de warfarine	40
8.1 Essais cliniques randomisés	40
8.2 Essai COAG	41
8.3 EU-PACT	42
8.4 Études observationnelles	42
8.6 Autres alternatives thérapeutiques sur le marché	45
9. Conclusion	46
Méthodologie	48
1. Objectifs de l'étude	49
1.1 Hypothèses	49
2. Méthodes	49
2.1 Sources de données	50
2.2 Critères d'inclusion et d'exclusion	51
2.3 Génotypage	52
2.4 Devis	56
3. Mesures	56
3.1 Variable dépendante	56
3.2 Variable indépendante	57
4. Covariables	58
5. Analyses statistiques	59
6. Calcul de la taille d'échantillon	61
7. Considérations éthiques	62
Article	63
Discussion	98
Conclusion	116
Bibliographie	i
Annexes	vii
ANNEXE 1 : Classification de la médication concomitante	viii

Liste des tableaux

Tableau I : Résumé des paramètres pharmacocinétiques de la warfarine	9
Tableau II : Fréquence des polymorphismes génétiques dans différentes populations	17
Tableau III : Études pharmacogénétiques publiées utilisant la régression multiple pour prédire la dose de warfarine	33
Tableau IV : Liste des SNPs génotypés dans ce projet	54
Tableau V : Calculs de puissance pour la prédiction des doses de warfarine permettant d'atteindre l'INR thérapeutique	61

Liste des figures

Figure 1 : Métabolisme de la warfarine [6].....	6
Figure 2 : Pharmacocinétique et pharmacodynamique de la warfarine [17]	15
Figure 3 : Gènes impliqués dans le métabolisme de la warfarine.....	27
Figure 4 : Étapes du génotypage avec plateforme Sequenom.....	55

Liste des sigles et des abréviations

ACCP, American College of Chest Physician

ACV, Accident cérébro-vasculaire

ADN, Acide désoxyribonucléique

APOE, Apolipoprotéine E

AVK, Anti-vitamine K

BSA, Body surface area

CYP1A2, Cytochrome P450 1A2

CYP2C9, Cytochrome P450 2C9

CYP2C19, Cytochrome P450 2C19

CYP3A4, Cytochrome P450 3A4

CYP3A5, Cytochrome P450 3A5

CYP4F2, Cytochrome P450 4F2

DVT, Deep venous thrombosis

FA, Fibrillation auriculaire

F2, Coagulation factor II gene

F7, Coagulation factor VII gene

FDA, Food and Drug Administration

ICER, Incremental cost-effectiveness ratio

IMC, Indice de masse corporelle

INR, International Normalized Ratio

PE, Pulmonary embolism

PT, Prothrombin time

PT INR, Prothrombin time international normalised ratio

QALY, Quality-adjusted life year

SNP, Single Nucleotide Polymorphism

VKOR, Vitamine K époxyde réductase *VKORC1*, Vitamine K epoxide reductase complex subunit 1 gene

Remerciements

Je tiens à remercier dans un premier temps ma directrice de projet, Docteur Sylvie Perreault, pour m'avoir proposé ce sujet de recherche, ainsi que pour ses conseils scientifiques, ses encouragements et son encadrement qui m'ont permis de mener à bien ce travail. Merci pour son soutien, sa confiance, sa disponibilité ainsi que la liberté qu'elle m'a accordée tout au long de ma maîtrise.

Je tiens aussi à remercier chaleureusement Docteur Marie-Pierre Dubé pour avoir siégé à mon comité aviseur et pour m'avoir fourni l'accès aux données de l'Institut de Cardiologie de Montréal. Je suis également reconnaissante à l'ensemble des membres du laboratoire de Docteur Dubé pour m'avoir aussi bien accueillie, et plus particulièrement à Imen Bahroun, Sylvie Provost et Yassamin Feroz-Zada, pour leur patience, leurs nombreux conseils et leur appui dans ce projet. Merci Imen pour les superbes données que tu m'as permis d'utiliser!

Je tiens aussi à témoigner toute ma reconnaissance à Alice Dragomir, pour ses précieux conseils statistiques, son support constant et son amitié.

Un gros merci à Mathieu Lapointe pour sa collaboration dans la collecte de données à l'Institut de Cardiologie de Montréal, ainsi que pour ses encouragements.

J'aimerais également remercier sincèrement Docteur Jean Lachaine et Docteur Simon de Denus, pour avoir accepté de juger ce travail.

Je tiens à remercier du fond de mon cœur mes collègues du département de santé des populations à la faculté de Pharmacie. À Marie-Claude, Nour, Ghaya, Alice, Sarah, Marie-Christyne, vous me manquerez!

En terminant, je tiens à exprimer ma reconnaissance à ma famille. Tout d'abord à mes parents et à mon frère, pour leur support constant et leurs encouragements au cours de ces années d'études. J'ai eu le privilège d'avoir des parents qui ont toujours tout mis en œuvre pour que mes études soient mon unique préoccupation. Et aussi, à Jean-Sébastien, pour avoir toujours été à mes côtés afin de partager les moments de découragement et de réussite propres aux études supérieures. Merci pour ton soutien moral, ton humour, tes avis sincères et ton amitié exceptionnelle.

Introduction

Les médicaments, même lorsqu'ils sont prescrits selon les règles, sont une cause importante de morbidité et de mortalité. Ainsi, en 1999, un rapport de l'Institute of Medicine attribue aux médicaments 44 000 à 98 000 décès par an aux États-Unis[1]. Les effets indésirables des médicaments sont en effet responsables, annuellement, d'un plus grand nombre de décès que le sida, le cancer du sein ou les accidents de voiture. À l'inverse, des médicaments très utilisés sont inactifs chez certains patients. Une telle variabilité de la réponse aux médicaments dépend de facteurs environnementaux tels que l'alimentation, les interactions médicamenteuses et le tabagisme, de l'état du malade, d'erreurs thérapeutiques, mais aussi de déterminants génétiques[2]. La pharmacogénétique est l'étude des relations entre la variabilité du génome et la réponse thérapeutique. Elle a pour finalité d'optimiser les décisions thérapeutiques en fonction du génome de l'individu et de la molécule visée, ce qui devrait améliorer la prise en charge des malades et contribuer à diminuer les coûts croissants des dépenses en médicaments des systèmes de santé [3, 4].

En 2004 et en 2005, les effets secondaires de trois médicaments uniquement étaient responsables d'un tiers de toutes les visites à l'urgence aux États-Unis par des personnes âgées ayant des effets indésirables médicamenteux [5]. La warfarine était un de ces médicaments, comptabilisant au total 58 000 visites à l'urgence par année chez les personnes âgées de 65 ans et plus [5]. Ainsi, la Food and Drug Administration (FDA) a fourni des évidences démontrant que la warfarine se retrouve parmi les dix médicaments provoquant le plus grand nombre d'effets indésirables. Cet anticoagulant est couramment prescrit pour la prévention et le traitement de fibrillation auriculaire, de thrombose ainsi que d'embolie. Son usage risque d'augmenter puisque de plus en plus de gens souffrent de fibrillation auriculaire, une conséquence du vieillissement de la population. Un des problèmes liés à cet anticoagulant est le fait qu'il existe une grande variabilité interindividuelle des doses nécessaires pour l'obtention de l'International Normalized Ratio (INR) souhaité. Lors du traitement, l'incertitude quant à la dose à prescrire implique un

contrôle strict des valeurs d'INR avec une période parfois longue avant l'obtention des valeurs cible et un risque d'hémorragie ou d'événement thromboembolique potentiellement mortel. Les données de la pharmacogénomique, permettant d'établir un lien entre le génotype d'un patient et sa réponse à un médicament, pourraient contribuer à optimiser l'efficacité des traitements tout en limitant le risque d'effets secondaires [4]. Dans le cas de la warfarine, l'analyse pharmacogénétique du *CYP2C9*, impliqué dans le métabolisme, ainsi que du *VKORC1*, gène de l'enzyme cible, a confirmé l'influence de ces deux gènes sur la dose de warfarine nécessaire à un traitement optimal [6]. Les polymorphismes des gènes *VKORC1* et *CYP2C9* ainsi que certains déterminants comme l'âge, le poids, la taille et la comédication sont responsables de 50 à 60 pourcent de la variance des doses nécessaires de warfarine [7] [8] [9] [10].

Dans un contexte de ressources limitées où les coûts des soins de santé ne cessent d'augmenter, il serait souhaitable de pouvoir prédire de façon adéquate la dose optimale de warfarine pour l'obtention de l'INR thérapeutique, puisque les fluctuations d'INR peuvent conduire à des problèmes d'hémorragie ou de thrombose. En effet, des saignements sont observés chez 7,6-16,5 % des patients chaque année [11]. Ce phénomène est très préoccupant surtout lorsque l'on sait que des hémorragies sérieuses peuvent survenir si l'anticoagulation n'est pas optimisée. Par ailleurs, même si certains prônent l'efficacité des tests génétiques pour le dosage de la warfarine, très peu de données sur la validité d'algorithmes publiés qui utilisent la génétique sont actuellement disponibles pour une population non restreinte en situation réelle. Différents algorithmes ont été élaborés mais peu de données de validation ont été publiées; de plus, certaines variables ayant un impact important sur la prédiction de dose de warfarine ne sont pas considérées dans ces algorithmes. La présente étude s'est donc principalement intéressée à évaluer la validité de trois algorithmes pharmacogénétiques les plus performants permettant de prédire la dose de warfarine en situation clinique réelle.

État des connaissances

1. Warfarine

Découverte il y a 69 ans à l'Université du Wisconsin, la warfarine a été mise en marché en 1954. Cet anticoagulant oral est indiqué dans la fibrillation auriculaire, l'infarctus du myocarde, la thrombose veineuse profonde ou l'embolie pulmonaire, et chez les porteurs de certaines valves cardiaques. La warfarine est un dérivé synthétique du coumarin, une molécule retrouvée naturellement chez plusieurs plantes. Elle fait partie des anti-vitamines K (AVK), qui empêchent le mécanisme de réduction de la vitamine K, prévenant ainsi la synthèse des facteurs vitamine K dépendants. Une fois ingérées, les anti-vitamines K sont rapidement absorbées et ont une biodisponibilité élevée. Elles sont ensuite métabolisées par le système des cytochromes du foie, principalement par le CYP2C9 et secondairement par les CYP1A2 (warfarine et acénocoumarol), 2C19 (warfarine et acénocoumarol) et 3A4 (warfarine et phenprocoumone) [12]. L'excrétion se fait essentiellement sous forme de métabolites inactifs, dans l'urine et dans les selles. L'effet anticoagulant des AVK est obtenu via l'inhibition de la VKOR. La vitamine K, sous sa forme réduite et en collaboration avec la gamma-glutamylcarboxylase, permet d'activer les facteurs de coagulation II, VII, IX et X, ainsi que les protéines C et S [13]. Cette réaction s'accompagne d'une oxydation de la vitamine K. Pour pouvoir être réutilisée et poursuivre le cycle d'activation des facteurs de coagulation, la vitamine K oxydée doit être reconvertie en sa forme réduite. Ce rôle est assuré par la VKOR. Un blocage de la VKOR par la warfarine ou les autres AVK conduit donc à moins de vitamine K sous sa forme réduite et à une quantité diminuée de facteurs de coagulation sous leur état activé. L'étude de familles souffrant de deux rares maladies génétiques, le déficit combiné en facteurs vitamine K-dépendants ainsi que le syndrome de résistance aux dérivé synthétique du coumarin, a permis de localiser le gène de la VKOR, soit *VKORC1*, au chromosome 16 [14]. Il a été démontré par la suite que ce gène était aussi impliqué, dans la population générale, dans les différences de sensibilité aux AVK. Le métabolisme de la warfarine est illustré à la figure 1.

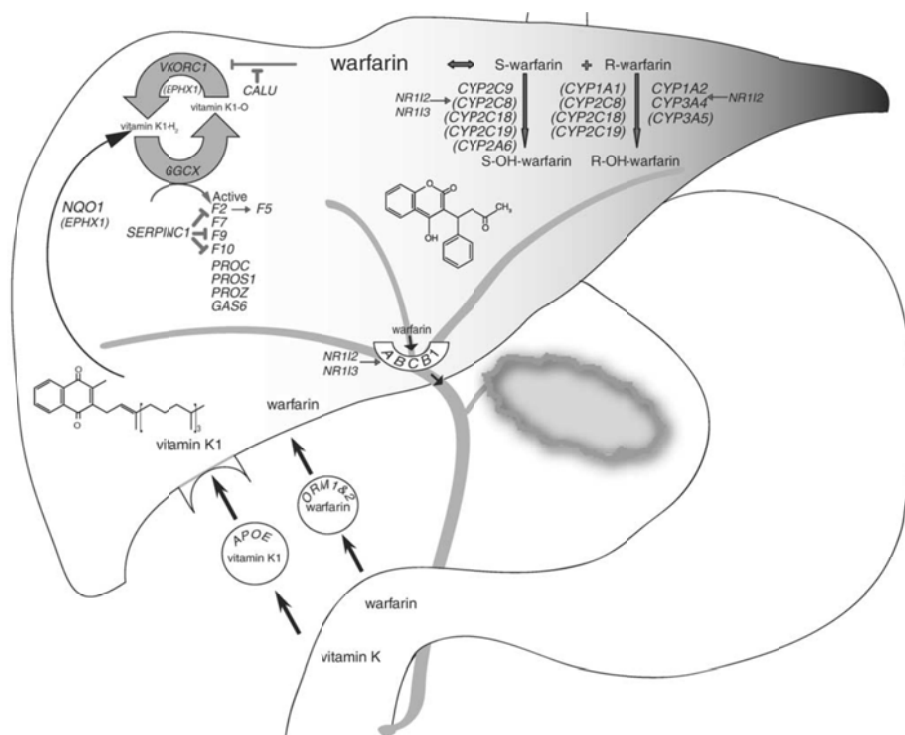


Figure 1 : Métabolisme de la warfarine [6]

L'effet maximum de la warfarine n'est pas observé avant trois à cinq jours suite au début de la thérapie. La warfarine, un mélange racémique des énantiomères R et S, affiche un métabolisme stéréosélectif et une puissance pharmacologique trois fois plus grande avec l'énantiomère S qu'avec l'énantiomère R [6]. La S-warfarine est métabolisée presque entièrement par le CYP2C9 en 7-hydroxywarfarine, alors que le CYP1A2, CYP2C19 et le CYP3A4 sont responsables du métabolisme oxydatif de l'énantiomère R (figure 1) [6]. Il faut noter que la warfarine s'administre par voie orale, en une seule dose quotidienne. L'anticoagulant peut être pris à n'importe quel moment de la journée, mais il est souvent recommandé aux patients de prendre leur anticoagulant oral en soirée afin de faciliter l'ajustement des doses.

1.1 Pharmacocinétique et pharmacodynamie détaillée de la warfarine

La warfarine réduit la coagulation en diminuant la synthèse des facteurs de coagulation II, VII, IX et X. À dose thérapeutique, la quantité totale des facteurs de coagulation synthétisés peut être diminuée de 30 à 50 %. Tel que mentionné précédemment, il est important de noter que la warfarine est un mélange racémique des énantiomères R et S. L'énantiomère S exerce une action anticoagulante de deux à cinq fois plus élevée que celle de l'énantiomère R, mais sa clairance est en général plus rapide. En ce qui concerne l'absorption, il faut savoir que la warfarine est presque entièrement absorbée après ingestion et les concentrations maximales sont habituellement atteintes dans les quatre heures suivantes. Par ailleurs, soulignons que la warfarine est aussi absorbée par la peau et que la vitesse d'absorption diffère d'un patient à l'autre.

En ce qui a trait à la distribution, il faut noter que les volumes apparents de distribution après l'administration intraveineuse et orale de doses uniques d'une solution de warfarine sont équivalents. Le volume de distribution de la warfarine est assez faible, soit d'environ 0,15 L/kg [15]. Par ailleurs, il n'y a pas de différence entre les taux d'absorption et la biodisponibilité pour la R- ou la S-warfarine [12]. On distingue une phase de distribution de six à douze heures après l'administration orale ou intraveineuse rapide d'une solution aqueuse [12]. De plus, il apparaît que le volume de distribution de la R-warfarine est semblable à celui de la S-warfarine et que ces volumes sont eux-mêmes semblables à celui du racémate. La warfarine se répartit dans le foie, les poumons, la rate, les reins et elle traverse le placenta. Soulignons qu'environ 99 % de la warfarine se lie aux protéines plasmatiques [15].

Par ailleurs, la vitesse du métabolisme de la warfarine varie considérablement d'un patient à l'autre. On peut considérer que l'élimination de la warfarine se fait presque entièrement par son métabolisme. Ainsi, cet antioagulant est métabolisé de façon stéréosélective par les enzymes microsomiques hépatiques (cytochrome P450) en métabolites hydroxylés inactifs et par les réductases en métabolites réduits (alcools de

warfarine). Les alcools de warfarine ont une action anticoagulante minime. Les métabolites sont principalement excrétés dans l'urine et, de façon moins importante, dans la bile [12]. Les métabolites de la warfarine sont la déshydrowarfarine, deux alcools diastéréoisomères et la 4', 6-, 7-, 8- et 10-hydroxywarfarine. Plusieurs membres de la superfamille des cytochromes P450 peuvent intervenir dans le métabolisme de la warfarine, incluant les CYP2C9, 2C19, 2C8, 2C18, 1A2 et 3A4 [6]. Le CYP2C9 est le principal responsable de l'activité anticoagulante observée chez les patients. Cette enzyme constitue la principale voie du métabolisme de la S warfarine et c'est pourquoi on peut s'attendre à ce que son inhibition totale *in vivo* se traduise par le besoin de recourir à une plus faible dose thérapeutique.

Enfin, en termes d'élimination, il faut savoir que la demi-vie terminale de la warfarine après l'administration d'une dose unique est d'environ une semaine. Cependant, la demi-vie effective se situe entre 30 et 60 heures, à raison d'une moyenne de 40 heures [12]. La clairance de la R warfarine est en général la moitié de celle de la S warfarine. La demi-vie de la R-warfarine est de 35 à 58 heures, alors que celle de la S-warfarine est de 24 à 33 heures [12]. Des études sur le médicament radiomarqué ont montré que jusqu'à 92 % de la dose administrée par voie orale est éliminée via l'urine [15]. On ne trouve qu'une très faible quantité de warfarine sous forme inchangée dans l'urine, ce médicament étant surtout excrété sous forme de métabolites.

En ce qui concerne la pharmacodynamique, rappelons que la warfarine agit au niveau du cycle d'oxydoréduction de la vitamine K au niveau hépatique. La vitamine K est un cofacteur essentiel à l'activation des facteurs de coagulation II, VII, IX et X et des protéines anticoagulantes C et S. Ces protéines subissent une γ -carboxylation post-translationnelle de résidus d'acide glutamique, essentielle à leur activation. De plus, la γ -carboxylation permet aux résidus d'acide glutamique de fixer des ions Ca^{2+} . Ainsi, on observe un changement conformationnel de la protéine augmentant son activité enzymatique. Cette réaction chimique active les précurseurs en facteurs de coagulation actifs, soit les facteurs II, VII, IX et X [16]. En outre, la warfarine ralentit le cycle d'oxydoréduction de la vitamine K en inhibant de manière compétitive les vitamine K

réductases. Pour pouvoir être utilisée et poursuivre le cycle d'activation des facteurs de coagulation, la vitamine K oxydée doit être reconvertie en sa forme réduite. Ce rôle est assuré par la VKOR. En bref, la warfarine réduit la coagulation en diminuant la synthèse des facteurs de coagulation II, VII, IX et X. Toutefois, la warfarine n'a pas d'effet sur les facteurs de coagulation déjà synthétisés.

Tableau I : Résumé des paramètres pharmacocinétiques de la warfarine

Biodisponibilité	Métabolisme	Élimination	Liaison protéique	T1/2	Début d'action
> 90 %	Hépatique; CYP2C9 et CYP2C19, CYP2C8, CYP2C18, CYP1A2, CYP3A4	Rénale; 92 %	99 %	20-60 heures	36-72 h

1.2 Indications de la warfarine

La warfarine est prescrite pour la prophylaxie et/ou le traitement de thrombose veineuse, d'embolie pulmonaire, des complications thromboemboliques associées avec la fibrillation auriculaire et/ou le remplacement de valves cardiaques. Elle est également prescrite pour réduire le risque d'infarctus du myocarde récurrent, des événements thromboemboliques comme les accidents cérébrovasculaires ou encore les embolies systémiques qui peuvent se produire suite aux infarctus du myocarde. L'efficacité de la warfarine pour le traitement et la prévention d'évènements thromboemboliques n'est plus contestée. En effet, plusieurs essais cliniques prospectifs ont démontré une efficacité sans équivoque pour plusieurs indications thromboemboliques. Par exemple, les patients qui souffrent de fibrillation auriculaire et qui ne sont pas traités ont un risque de décès 2.5 fois plus élevé que les patients qui sont traités à l'aide de la warfarine. La

warfarine réduit également le risque d'accident ischémique cérébral de 65 pour cent [17].

La majorité des patients qui consomment de la warfarine sont des patients qui souffrent de fibrillation auriculaire. La fibrillation auriculaire (FA) est l'une des arythmies les plus fréquentes, sa principale complication étant la survenue d'accidents thromboemboliques. En effet, il est incontestable que la FA est un facteur de risque indépendant de survenue d'accident vasculaire cérébral [18]. Par ailleurs, le risque de FA augmente avec l'âge, puisqu'on observe une augmentation de l'incidence de la FA avec le vieillissement tel que prouvé par l'étude épidémiologique de Framingham : augmentation de l'incidence qui passe de 0,05 % entre 25 et 35 ans, à 0,5 % entre 50 et 59 ans et atteint 8 % entre 80 et 89 ans [19]. Plusieurs études randomisées ont établi le fait que les antivitamines K sont les traitements les plus efficaces pour prévenir les complications thromboemboliques, permettant de réduire de 60 % l'incidence des accidents vasculaires, de diminuer le risque absolu de 3 % par an lorsqu'il s'agit d'une prévention primaire et de 8 % par an lorsqu'il s'agit d'une prévention secondaire [20]. En comparaison, l'aspirine ne diminue l'incidence des accidents vasculaires cérébraux que de 20 % [21]. Mais il ne faut pas oublier que les antivitamines K présentent un risque de complications hémorragiques. C'est pourquoi chaque décision de traitement doit être pondérée par l'évaluation individuelle du risque thromboembolique et hémorragique. Le score CHADS2 constitue un modèle de stratification du risque d'AVC chez les patients avec FA non valvulaire ; il a l'avantage d'être simple à utiliser, et c'est pourquoi il est actuellement le score le plus utilisé en clinique. Ce score qui est l'acronyme de Congestive heart failure, Hypertension, Age, Diabete, Stroke, est obtenu en additionnant les points attribués. Le taux d'AVC pour 100 patients-année sans traitement est augmenté d'un facteur de 1,5 pour chaque point additionnel du score CHADS2. La prévention des événements emboliques, soit par l'aspirine pour les risques faibles, soit par des AVK chez les patients à risque intermédiaire ou élevé, doit être considérée pour la majorité des patients avec FA chronique non valvulaire qui présentent les facteurs de risque du score CHADS2. Tous les cliniciens s'entendent pour dire que les patients à faible risque d'AVC (< 2% an) ne bénéficient pas de manière importante d'une anticoagulation et peuvent être traités avec de l'aspirine seulement. Les patients

avec un score de 1 sont considérés à risque moyen (entre 3 à 5 %) [22]. Ces patients peuvent être traités soit avec de l'aspirine, soit avec la warfarine : le choix dépend de plusieurs facteurs, comme le risque hémorragique, la possibilité d'assurer une surveillance acceptable de l'INR et le choix du patient. Les patients avec un score ≥ 2 sont à risque élevé d'AVC ($\geq 6\%$), et il est donc recommandé de leur prescrire de la warfarine [22]. Malgré leur efficacité prouvée, les AVK sont sous-utilisés chez les patients en FA non valvulaire et surtout chez les sujets qui sont considérés à haut risque thromboembolique [23, 24]. La fibrillation auriculaire est actuellement un problème de santé publique de premier plan, la charge médicale et économique du traitement de la fibrillation atriale étant croissante.

L'utilisation de warfarine est aussi très commune chez les patients présentant des pathologies des valves cardiaques. De plus, les valves cardiaques artificielles sont très utiles pour corriger les problèmes mécaniques associés aux valves cardiaques. Par contre, comme ces valves artificielles contiennent des matières étrangères au corps, des caillots peuvent se former à leur surface. Deux scénarios sont possibles lorsque de tels caillots se forment. D'une part, le caillot peut demeurer sur la valve du cœur, ce qui entraînera une diminution de la quantité de sang qui circule entre les cavités du cœur et ce qui peut causer un essoufflement. D'autre part, le caillot peut se détacher et réussir à bloquer une artère, ce qui pourrait causer un accident vasculaire cérébral ou encore une embolie pulmonaire. Un traitement anticoagulant par la warfarine ou par une combinaison de warfarine et d'aspirine en petite quantité est très efficace pour prévenir ce genre de thromboses.

1.3 Variabilité interindividuelle des doses requises de warfarine

Il est important de noter que la warfarine a une marge thérapeutique très mince et qu'une certaine dose a une grande variation interindividuelle. Une dose insuffisante peut ne pas prévenir une thromboembolie alors qu'une surdose augmente le risque d'hémorragie. La posologie de warfarine utilisée pour atteindre un INR cible est très variable selon les patients. Ce problème est illustré dans une étude comprenant 128 sujets qui consomment de la warfarine et qui ont un INR cible compris entre 2 et 3. Cette étude montre d'une part que la distribution des doses peut varier d'un facteur 16 et d'autre part, que 7 % des patients reçoivent des doses hebdomadaires inférieures à 15 mg, alors que 4 % reçoivent des doses supérieures à 60 mg [25]. Même s'il est bien connu que la moyenne des patients nécessitent environ 5 mg par jour de warfarine pour avoir une anticoagulation optimale, il n'en demeure pas moins qu'un certain nombre d'individus requièrent des doses extrêmes de warfarine, ce qui les met à risque d'effets indésirables médicamenteux si le profil génétique n'est pas pris en considération. Effectivement, la pharmacogénétique permet d'identifier les patients qui sont soit résistants, soit hypersensibles à la warfarine. Ainsi, la découverte du gène *VKORC1* a permis l'identification de facteurs génétiques qui influencent la réponse à la warfarine qui sont à l'origine de la variabilité interindividuelle. En effet, les variations génétiques de la VKOR peuvent conduire, selon leur nature et leur localisation sur le gène, soit à des cas de résistance, nécessitant des doses élevées, soit à une hypersensibilité, ce qui peut aboutir à des surdosages et des saignements potentiellement graves, conduisant à une réduction des doses ingérées. Par exemple, l'identification du gène *VKORC1* a initialement permis d'expliquer des cas de résistance à la warfarine chez des patients nécessitant des doses très élevées de cet anticoagulant (dose de plus de 15 mg par jour) [26]. Des mutations rares dans la région codante du gène *VKORC1* ont ainsi été associées à une résistance à la warfarine.

1.4 Suivi des patients et recommandations de l'ACCP

L'efficacité d'une thérapie d'anticoagulation avec warfarine est vérifiée régulièrement à l'aide de l'International Normalized Ratio (INR). L'INR a été développé en 1982 par l'Organisation Mondiale de la Santé en réponse aux variations de la sensibilité de thromboplastine ainsi qu'aux différentes façons de transmettre le temps de prothrombine dans le monde. Cette mesure est un ratio du temps requis pour la coagulation du sang du patient par rapport à un temps de coagulation standardisé. L'INR est calculé de la façon suivante :

$$\text{INR} = (\text{PT du patient} / \text{PT moyen normal}) \quad \text{ou encore;}$$

$\text{Log INR} = \text{ISI} (\text{log ratio PT observé})$ où ISI signifie le « International Sensitivity Index » de la thromboplastine utilisée dans le laboratoire local [27]. Le monitoring est donc indispensable puisqu'une gestion inappropriée des thérapies de warfarine peut mener à des valeurs d'INR sous-thérapeutique ou supra-thérapeutique, ce qui augmente le risque de thromboembolie ou de saignement, respectivement. Les patients qui ne prennent pas de warfarine ont un INR d'environ 1; la plupart des patients qui prennent de la warfarine pour une indication de fibrillation auriculaire doivent avoir un INR situé entre 2 et 3. Les patients qui portent une valve cardiaque mécanique doivent avoir un INR situé entre 2,5 et 3,5.

En ce qui concerne les recommandations de l'American College of Chest Physician, il faut noter que l'ACCP recommande d'initier l'anticoagulation orale avec des doses entre 5 et 10 mg pour les deux premiers jours, puis qu'ensuite les doses soient basées sur les INR obtenus [28]. Par contre, pour les patients âgés, les patients sous-alimentés, les patients qui souffrent d'insuffisance cardiaque, de maladies hépatiques, qui ont eu des chirurgies majeures récentes ou qui prennent des médicaments qui augmentent la sensibilité à la warfarine, l'ACCP recommande des doses de départ inférieures à 5 mg, avec bien sûr un dosage subséquent basé sur les INR [29]. Par ailleurs, chez les patients qui débutent une thérapie d'AVK, l'ACCP suggère que la prise d'INR commence après

les deux ou trois premières doses de l'anticoagulation [28]. Pour les sujets qui sont sous anticoagulation stable, il est suggéré de monitorer les INR à un intervalle de quatre semaines.

2. Effets indésirables liés à la warfarine

L'évaluation des risques associés au traitement par warfarine et son interaction avec d'autres médicaments représentent des défis méthodologiques importants. Les événements iatrogènes médicamenteux qui peuvent être attribués à la warfarine sont reconnus comme étant un problème global. Dans certains petits pays comme la Suède, environ 70 000 patients (~1 % de la population) consomment de la warfarine et l'usage de cet anticoagulant se classe parmi les principales causes d'événements indésirables liés aux médicaments [17]. Au Royaume-Uni, où environ 600 000 patients reçoivent de la warfarine, 10 à 24 épisodes d'hémorragie sont rapportés par 100 patients [17]. Par ailleurs, dans un comité consultatif, la FDA a récemment avisé que la warfarine était responsable de 3,6 pour cent de tous les événements indésirables causés par des médicaments et de 15,1 pour cent des événements indésirables graves, ce qui la place au deuxième rang, derrière le digoxin [17].

Ainsi, la complication la plus commune liée à une thérapie de warfarine correspond aux hémorragies, qui surviennent chez 6 à 39 pour cent des patients par année [30]. Garcia *et al.* ont déclaré que les hémorragies intracrâniennes se produisent à une incidence de 0.1 à 3 pour cent par année [31]. Le type d'hémorragie le plus commun correspond sans aucun doute aux saignements gastro-intestinaux, qui comprennent plus de 45 pour cent des saignements liés à la suranticoagulation. Il faut noter que le risque de saignements reliés à la prise d'anticoagulants est plus élevé au début de la thérapie. De plus, ce risque est plus élevé lorsque l'INR du patient est au-dessus de 3, mais des saignements peuvent se produire même si le patient détient un INR thérapeutique. En fait, un INR plus élevé que 3 place les patients à risque de saignements majeurs ce qui peut engendrer une hospitalisation, des chirurgies d'urgence ou encore des transfusions sanguines. Malheureusement, des études ont montré que les patients consommant de la

warfarine se trouvaient à l'extérieur de l'intervalle d'INR thérapeutique le tiers du temps [32]. En fait, selon la méta-analyse publiée par Reynolds *et al.*, les patients anticoagulés passaient en moyenne 61 % du temps dans l'intervalle d'INR thérapeutique, 13 % du temps au-dessus de l'intervalle et 26 % en-dessous de l'intervalle [33]. Ces fluctuations de l'INR peuvent contribuer à la survenue de complications à la fois hémorragiques et thromboemboliques.

Plusieurs facteurs de risque sont reconnus en ce qui a trait aux complications d'hémorragie des thérapies d'anticoagulation. Ces facteurs incluent l'âge supérieur à 65 ans, un passé de saignement gastro-intestinal, l'hypertension, les maladies cérébrovasculaires, l'anémie ainsi que l'insuffisance rénale. La crainte de complications hémorragiques incite souvent les médecins à ne pas prescrire de la warfarine à des patients qui pourraient en bénéficier considérablement. Le problème tient au fait qu'une multitude de facteurs agissent sur la réponse du patient à la warfarine, ce qui est expliqué plus en détail dans la section suivante et illustré à la figure 2.

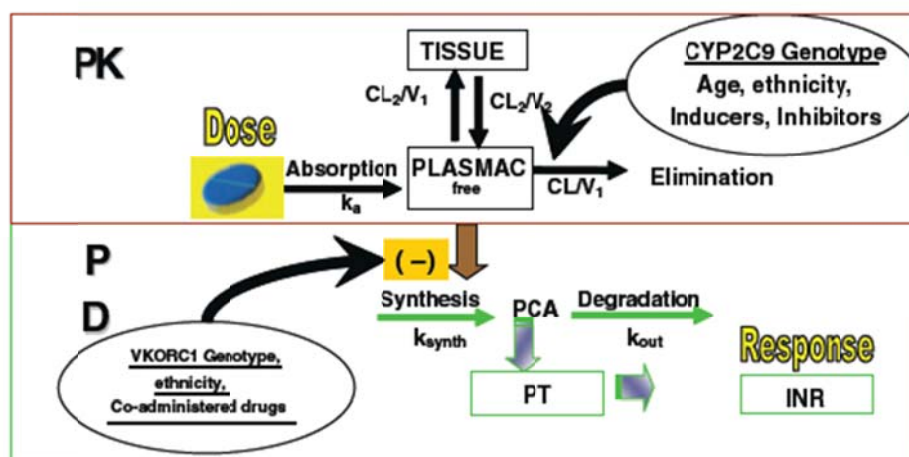


Figure 2 : Pharmacocinétique et pharmacodynamique de la warfarine [17]

3. Facteurs influençant la réponse du patient à la warfarine

3.1 Âge

La dose requise de warfarine a une relation inverse avec l'âge. Ainsi, chez des patients âgés de 50 ans, la dose quotidienne moyenne est de 6.3 mg alors que chez les patients de 70 ans cette dose est de 3.6 mg [30]. Kamali *et al.* ont montré que les doses nécessaires de warfarine diminuent en moyenne de 0.6 mg pour chaque décennie entre 55 ans et 85 ans et ce en faisant abstraction du polymorphisme *CYP2C9* [34]. En fait, le vieillissement des patients est associé avec une augmentation de la sensibilité pharmacodynamique à la warfarine, phénomène possiblement expliqué par une diminution de la masse hépatique due à l'âge. Ce phénomène ainsi qu'une possible diminution de la clairance de la warfarine entraînent des changements dans l'activité du système de la vitamine K epoxide reductase ainsi que dans l'affinité du système pour la warfarine chez les patients plus âgés [35].

3.2 Sexe

Les femmes nécessitent généralement une dose plus faible de warfarine que les hommes. Whitley *et al.* ont remarqué une différence (mais non-significative) de dose requise de warfarine entre les hommes et les femmes de 2.55 mg par semaine [36]. Cette conclusion est similaire à la conclusion d'autres études qui ont démontré que les femmes nécessitent en moyenne 4.5 mg de moins de warfarine par semaine [36]. En fait, peu importe l'ampleur de l'impact du sexe sur la posologie de warfarine, tous les auteurs s'entendent pour dire que les femmes ont besoin de plus faibles doses [37].

3.3 Ethnicité

Les patients asiatiques nécessitent une dose d'initiation ainsi qu'une dose de maintenance de warfarine plus faible que les autres patients. En fait, les fréquences alléliques des *CYP2C9*2* et *CYP2C9*3* sont considérablement différentes parmi les ethnies. Chez les Caucasiens, les fréquences alléliques de *CYP2C9*2* et *CYP2C9*3* sont d'environ 8 à 20 pour cent et 6 à 10 pour cent, respectivement. Ces variantes néfastes

sont moins prévalentes chez les populations asiatiques et afro-américaines. Le *CYP2C9*2* n'est pas présent chez la population asiatique, et seulement 2 à 4 pour cent des afro-américains portent l'allèle *CYP2C9*2*[38]. Le *CYP2C9*3* est présent chez 1 à 4 pour cent des asiatiques et chez 1 à 2 pour cent des afro-américains [38]. En ce qui concerne les variantes du *VKORC1*, il faut noter que l'haplotype du groupe A lié à une dose faible de warfarine est très présent dans les populations asiatiques (89 %) alors que l'haplotype du groupe B est plus élevé dans la population caucasienne (58 %) [38]. Une étude ayant examiné la combinaison des fréquences de *CYP2C9*2* et *CYP2C9*3* ainsi que les haplotypes de *VKORC1* chez des individus en santé provenant de différentes populations ethniques a montré que la population asiatique avait la plus grande fréquence du génotype de « faible dose » (86 %), alors que les afro-américains ont la plus faible fréquence (22 %) du phénotype « faible dose ». Ces données sont compatibles avec les observations montrant que les patients asiatiques nécessitent une dose de warfarine plus faible que les afro-américains pour parvenir à l'INR thérapeutique. Les fréquences des polymorphismes génétiques chez différentes ethnies sont présentées au tableau II.

Tableau II : Fréquence des polymorphismes génétiques dans différentes populations

Variant	Caucasien (%)	Asiatique (%)	Afro-américain (%)
<i>CYP2C9*1</i>	80	96	95
<i>CYP2C9*2</i>	13	0	1.1
<i>CYP2C9*3</i>	7	4	1.8
<i>VKORC1 (A)</i>	35-37	83-89	10-23
<i>VKORC1 (B)</i>	58-64	10-13	49-80

3.4 Comorbidités

Les maladies telles que l'insuffisance rénale, l'hypertension, les maladies cérébrovasculaires et les cardiopathies font partie des facteurs de risque des complications hémorragiques dans le cadre d'une thérapie d'anticoagulation. Des antécédents de saignements gastro-intestinaux représentent également un facteur de risque pour les hémorragies dans le cadre de thérapies avec warfarine. Vasquez *et al.* ont montré que les patients en dialyse présentent un pourcentage élevé de complications hémorragiques lorsqu'ils sont traités avec la warfarine. D'autre part, l'hypothyroïdisme diminue le catabolisme des facteurs de coagulation dépendants de la vitamine K - il peut donc être nécessaire de réduire la dose d'anticoagulant chez des hypothyroïdiens avérés. De plus, l'insuffisance cardiaque congestive peut causer la congestion hépatique du débit sanguin et inhiber le métabolisme de la warfarine [39]. Enfin, le patient atteint d'un cancer est à la fois plus à risque thrombotique et hémorragique qu'un patient sans cancer. Alors qu'il est sous traitement anticoagulant pour une pathologie thromboembolique, un patient avec cancer a deux à trois fois plus de risque de récidiver une thrombose et trois à six fois plus de risque d'avoir un événement hémorragique majeur qu'un patient sans cancer [40].

3.5 Consommation de vitamine K

La warfarine cible le complexe de la vitamine K époxyde réductase du foie, ce qui interfère avec le cycle de la vitamine K. Le régime alimentaire des patients est donc un des facteurs qui peut contribuer à la variabilité des réponses à la warfarine entre les individus. Ainsi, une grande consommation de vitamine K liposoluble (retrouvée dans les légumes verts) peut inverser l'action de la warfarine alors qu'une faible consommation de cette même vitamine peut être en partie responsable de l'instabilité du contrôle de la thérapie de warfarine [6]. Khan *et al.* ont montré que chez les patients qui prennent de la warfarine à long terme, l'INR baisse de 0.2 pour chaque augmentation de 100 µg dans l'apport en vitamine K dans les 4 jours précédents [41]. La vitamine K se retrouve généralement dans l'alimentation sous forme de phylloquinone.

Par ailleurs, certaines plantes médicinales ou suppléments diététiques peuvent avoir un impact sur le métabolisme de la warfarine. Plusieurs études ont montré que le

Ginseng [42], le Ginkgo biloba [43], l'ail et le Danshen [44] (*Salvia miltiorrhiza*) pouvaient interagir avec les thérapies de warfarine et entraîner une augmentation du risque d'hémorragies chez certains patients. Les patients doivent donc être mis au courant de ces interactions et rapporter à leur médecin tout changement dans leurs habitudes alimentaires. Enfin, les patients qui sont sous-alimentés devraient recevoir une dose de warfarine plus faible à cause de la plus faible concentration d'albumine sanguine ainsi que de la faible consommation de vitamine k.

3.6 Médication courante

Des interactions médicamenteuses de niveaux de sévérité différents ont été identifiées avec des traitements à la warfarine. Dans la plupart des cas, les médicaments agissent selon des mécanismes connus par les médecins. Ainsi, un médicament peut interférer avec le fonctionnement des plaquettes; l'agrégation des plaquettes étant une étape cruciale durant l'hémostase. L'équipe du Dr. Delaney a montré que les médicaments qui altèrent le fonctionnement des plaquettes, comme l'acide acétylsalicylique ou le clopidogrel, augmentent le risque d'hémorragies majeures chez les patients consommant de la warfarine, sans entraîner une augmentation de l'INR [45]. De plus, plusieurs études suggèrent que les antidépresseurs, plus particulièrement les inhibiteurs spécifiques du recaptage de la sérotonine, peuvent inhiber l'agrégation plaquettaire en entraînant une diminution des taux de sérotonine des plaquettes ce qui augmente le risque de saignement.

Un autre mécanisme qui peut expliquer les interactions médicamenteuses de la warfarine consiste en l'interruption du cycle de la vitamine K. L'acétaminophène est sans aucun doute le médicament le plus important de cette catégorie. Des données récentes suggèrent que cette interaction est causée par le N-acétyl(p)-benzoquinonimine, qui inhibe la carboxylase dépendante de la vitamine K, une enzyme clé du cycle de la vitamine K [46]. La consommation d'acétaminophène peut engendrer une élévation des INR chez des patients prenant de la warfarine.

L'interférence avec le métabolisme de la warfarine constitue un autre mécanisme expliquant les interactions avec la warfarine. La S-warfarine étant métabolisée principalement par le CYP2C9, les médicaments qui inhibent cette enzyme, tels que

l'amiodarone, le co-trimoxazole, le metronidazole et la fluvoxamine, potentialisent l'effet de la warfarine et entraînent donc une diminution de la dose requise chez les patients anticoagulés. Les médicaments, peu nombreux, qui induisent l'activité du CYP2C9 (comme le rifampin), auront l'effet contraire, c'est-à-dire qu'ils entraîneront une diminution de l'effet de la warfarine et donc une baisse de l'INR, d'où le besoin d'augmenter la dose de warfarine.

La plupart des statines, certains anticonvulsants ainsi que certains médicaments anti-inflammatoires non-stéroïdiens interagissent également avec la warfarine. Il faut donc porter une attention particulière aux patients qui utilisent ces classes de médicaments, mais il ne faut pas oublier que ne sont pas tous les agents d'une classe donnée qui induisent des interactions médicamenteuses. En réalité, des centaines de médicaments peuvent augmenter le risque d'hémorragie chez des patients consommant de la warfarine. Il ne faut pas oublier que les patients qui utilisent la warfarine sont en général des personnes âgées, qui prennent plusieurs autres médicaments et qui présentent des comorbidités qui augmentent le risque d'hémorragies. Une liste de la médication concomitante est présentée à l'annexe 1.

En ce qui concerne plus particulièrement l'amiodarone, il faut noter que cet anti-arrhythmique est censé interagir avec la warfarine en inhibant les cytochromes P450 et en empêchant ainsi la warfarine de s'attacher aux sites de liaison des protéines. Contrairement aux autres interactions médicamenteuses de la warfarine, l'interaction de l'amiodarone avec la warfarine concerne les deux isomères de l'anticoagulant [47]. Rappelons que la warfarine est métabolisée par les isoenzymes du cytochrome P450 1A2, 2C19, 2C9 et 3A4, alors que l'amiodarone inhibe les isoenzymes 1A2, 2C9, 2D6, 3A4, 3A5 et 3A7. C'est pour cette raison que l'amiodarone augmente l'INR des patients qui ont préalablement atteint une dose stable de warfarine, les prédisposant à des hémorragies sérieuses.

3.7 Habitudes de vie

Le tabagisme a un effet sur le foie ce qui influence la quantité d'enzymes hépatiques et a donc la possibilité d'interagir avec le métabolisme de la warfarine. Les études sur ce sujet sont basées sur des études de cas et semblent plutôt rares et contradictoires. Par

contre, la prise d'alcool est déconseillée; elle entraîne soit une diminution d'efficacité du traitement par induction enzymatique (en cas d'intoxication chronique), soit une augmentation de l'effet anticoagulant (en cas d'intoxication aigüe).

4. Pharmacogénétique : définitions

La pharmacogénétique est un domaine de recherche en pleine croissance qui met l'emphase sur les interactions entre la génétique et la pharmacothérapie. Cette science s'appuie essentiellement sur la recherche de changements ponctuels de nucléotides (Single Nucleotide Polymorphism ou SNP) qui correspondent à environ dix pour cent de la variabilité génétique du génome humain. En effet, les variations génétiques les mieux étudiées correspondent à ce type de polymorphisme, qui correspondent à des variations d'ADN localisées au niveau d'un nucléotide (ou base azotée) et qui apparaissent en moyenne à toutes les 300 paires de base. Ainsi, si l'on compare un gène chez deux personnes choisies aléatoirement dans la population, on observe une séquence d'ADN en grande partie identique mais avec des variations au niveau de ces polymorphismes, la première personne possédant par exemple un allèle thymine (T) alors que l'autre individu possède un allèle cytosine (C). L'intérêt des SNP est que la différence au niveau des nucléotides peut mener à une différence de structure ou de fonction dans la protéine codée par le gène, puisqu'un changement d'acide aminé est effectué. On considère habituellement l'existence d'un polymorphisme génétique pour un gène donné si les sujets présentant des mutations représentent plus de un pour cent de la population. Les déterminants génétiques des réponses médicamenteuses peuvent compléter l'information fournie par d'autres prédictors et présentent un avantage considérable de rester stables pour la vie entière du sujet, ce qui les rend potentiellement utiles pour des stratégies de prescriptions de diverses thérapies médicamenteuses.

Dans le cas de la warfarine, les gènes d'intérêt correspondent au *CYP2C9* ainsi qu'au *VKORC1*. Rappelons que l'enzyme du cytochrome P450 2C9 est impliquée dans le métabolisme de la S-warfarine, alors que la VKOR constitue l'enzyme inhibée par la

warfarine. Les variantes génétiques de ces gènes ont l'avantage d'offrir la possibilité d'une individualisation éventuelle de la thérapie avec warfarine. L'isoenzyme CYP2C9 est principalement responsable du métabolisme d'un grand nombre de médicaments, comme le phénytoïn, le losartan, la warfarine, le tolbutamide, le glipizide et le diclofénac. La clairance de la warfarine est presque entièrement le résultat de métabolisme hépatique, le CYP2C9 étant l'enzyme principalement responsable de cette activité. Le gène codant pour le CYP2C9 a été localisé au long bras du chromosome 10 (10q24.2), à l'intérieur d'un « cluster » de gènes du cytochrome P450 [48]. Environ douze variantes du *CYP2C9* ont été identifiées jusqu'à présent, le plus commun étant l'allèle sauvage *CYP2C9*1*. Deux variants sont reconnus pour leur pouvoir de réduction du métabolisme de la warfarine, c'est-à-dire le *CYP2C9*2* (rs1799853) et le *CYP2C9*3* (rs1057910). Le *CYP2C9*2* est présent lorsque l'arginine est remplacée par la cystéine sur l'exon 3 alors que si l'isoleucine est remplacée par la leucine sur l'exon 7, c'est le *CYP2C9*3* qui est créé [49]. Ces allèles causent une baisse de l'activité enzymatique, ce qui entraîne une hausse de la concentration de warfarine et donc un effet d'anticoagulation exacerbé [50]. De plus, il a été prouvé que le *CYP2C9*8* est prévalent chez les afro-américains et il serait donc important de l'incorporer dans les algorithmes de warfarine [51].

Évidemment, puisque les chromosomes autosomes sont toujours en paires, les patients peuvent être homozygotes pour chaque allèle ou hétérozygote. Les individus porteurs de ces allèles mutants ont des besoins diminués de warfarine lors d'anticoagulation orale car ils les métabolisent plus lentement. L'allèle le plus commun du gène correspond au *CYP2C9*1* et représente la référence, c'est-à-dire l'allèle actif normal. Les métaboliseurs rapides représentent la norme en ce qui concerne la capacité métabolique : ils détiennent deux copies de l'allèle actif *CYP2C9*1* et nécessitent ainsi la plus grande dose de maintenance de warfarine. Les patients qui sont hétérozygotes pour un allèle actif et un allèle déficient (par exemple *CYP2C9*1*3*) représentent une catégorie intermédiaire d'activité métabolique et sont classés comme des métaboliseurs intermédiaires. Enfin, les individus qui sont homozygotes (comme *CYP2C9*3*3*) ou hétérozygotes avec deux allèles déficients (*CYP2C9*2*3*) se rangent dans la catégorie des métaboliseurs lents – ils requièrent une dose plus faible de warfarine pour atteindre

les bénéfices thérapeutiques. En fait, ce sont les patients qui sont homozygotes pour le *CYP2C9*3* qui nécessitent la plus faible dose [52].

Dans un autre ordre d'idées, le gène *VKORC1* et ses polymorphismes, qui ont été récemment identifiés, ont également une influence sur la pharmacodynamique de la warfarine. Il faut savoir que la warfarine, ainsi que d'autres substances coumariniques, causent une anticoagulation en inhibant la VKOR, qui est responsable de la régénération de la vitamine K hydroquinone à partir de la vitamine K 2,3-époxyde dans le cycle de la vitamine K. La vitamine K hydroquinone est un cofacteur essentiel pour l'activation post-traductionnelle des protéines de coagulation dépendantes de la vitamine K, telles que les protéines II, VII, IX et X ainsi que des protéines d'anticoagulation C et S. Plusieurs polymorphismes ont été identifiés dans le gène *VKORC1*, ces derniers étant associés à une déficience des facteurs de coagulation dépendants de la vitamine K. Deux polymorphismes communs incluent le « switch » 1173C>T dans l'intron 1 ainsi que le « switch » -1639G>A dans la région du promoteur (aussi connu sous 3673G>A). Ces deux SNP, ainsi que trois autres SNP prévalents, définissent deux haplotypes chez les caucasiens. Plus spécifiquement, les polymorphismes rs7196161 (381T>C ou -4931T>C); rs9923231 (3673G>A ou -1639G>A); rs9934438 (6484C>T ou 1173C>T); rs8050894 (6853G>C ou 1542G>C) et rs2359612 C>T (7566C>T ou 2255C>T) ont été divisés en cinq catégories par Rieder *et al.*, soit H1, H2, H7, H8 et H9 [53]. Les haplotypes H1 et H2 sont groupés ensemble et nommés groupe A – ils sont associés avec une dose nécessaire de warfarine plus petite. En revanche, les haplotypes H7, H8 et H9 lorsque regroupés sont surnommés groupe B et sont associés avec un besoin en warfarine plus élevé. La dose de maintenance moyenne pour ces haplotypes est de 2.7 ± 0.2 mg par jour pour les patients A/A, 4.9 ± 0.2 mg par jour pour les sujets A/B et 6.2 ± 0.3 mg par jour pour les individus B/B [54]. Par ailleurs, plusieurs études cliniques évaluant l'impact du gène de *VKORC1* sur les doses de warfarine ont été publiées. Il a été démontré que les polymorphismes de *VKORC1* sont responsables de $25 \% \pm 8 \%$ de la variance des doses de warfarine, selon une étude analysant dix études indépendantes [55].

Limdi *et al.* ont déterminé que la dose quotidienne moyenne de warfarine est d'environ 6 mg pour les patients avec la forme 1173 CC, d'environ 5 mg pour les patients ayant la forme CT et d'environ 3 mg pour la forme TT du *VKORC1* [16].

En août 2007, la FDA a modifié la monographie de la warfarine en indiquant que les variants génétiques du *CYP2C9* et du *VKORC1* doivent être pris en considération lors de la détermination de la posologie initiale. Par contre, le recours systématique à ce type de test n'est pas recommandé par l'American College of Chest Physician [28]. Les tests de pharmacogénomique actuels sont en mesure de détecter les variantes *CYP2C9*2*, *CYP2C9*3* et certains SNP du *VKORC1*. Ces tests ont recours à l'amplification de séquences d'ADN par la réaction en chaîne de la polymérase.

5. Autres gènes ayant un impact sur la warfarine

Il a été estimé que plus de 30 gènes pouvaient avoir un impact sur les thérapies d'anticoagulation à l'aide de warfarine (figure 3). Ainsi, outre les gènes de *CYP2C9* et de *VKORC1*, d'autres gènes ont été évalués comme pouvant potentiellement contribuer à la variation des doses de warfarine. En général, l'évaluation de ces gènes montre qu'ils ont un impact minimal sur les doses nécessaires de warfarine. Soulignons que la plupart des études d'association génétique sur ces autres gènes avaient des tailles d'échantillons petites et inadéquates pour détecter de petits effets, et leurs résultats pourraient être simplement dus à la chance, étant donné qu'un grand nombre de comparaisons sont évaluées.

5.1 Gènes de la superfamille des cytochromes P450s

Des articles récemment publiés ont fait état de l'association entre le gène du cytochrome P450 4F2 (*CYP4F2*) et les doses de warfarine, détectée dans l'analyse de trois différentes cohortes de sujets blancs. L'enzyme codée par ce gène est responsable de la catalyse de la ω -hydroxylation de la vitamine K1. Le SNP rs2108622 situé sur l'exon 11 semble influencer la dose requise de warfarine. Une différence de un milligramme par jour a été remarquée entre les sujets homozygotes pour l'allèle sauvage

(CC) et les sujets homozygotes pour l'allèle variant (TT) [56]. Une étude italienne a confirmé l'association entre ce SNP du *CYP4F2* et les doses de warfarine, en signalant une plus grande différence de dose entre les différents types d'individus. En effet, les sujets CC nécessitaient en moyenne 2.93 mg par jour de warfarine contre 5,49 mg par jour pour les sujets TT [57]. Une étude plus récente publiée par Pautas *et al.* montre que les sujets CC ont une dose quotidienne moyenne de 2.8 ± 1.5 mg de warfarine, les patients CT ont une dose moyenne de 3.0 ± 1.5 mg par jour, et les sujets TT une dose de 3.3 ± 1.7 mg par jour [58].

Par ailleurs, les SNP du gène *CYP3A5* influencent également la dose de warfarine requise. La sous-famille des *CYP3A* (*CYP3A4*, *CYP3A5*, *CYP3A7* et *CYP3A43*) est une des classes les plus polyvalentes des systèmes de biotransformation facilitant l'élimination des médicaments chez les humains. Le *CYP3A4* et le *CYP3A5* représentent environ 30 pour cent du cytochrome P450 hépatique et environ la moitié des médicaments sont oxydés par des substrats du *CYP3A*. Les *CYP3A4* et *CYP3A5* sont tous deux exprimés dans le foie et dans l'intestin, mais le *CYP3A5* constitue la forme prédominante exprimée dans les tissus extrahépatiques. Le gène, situé sur le chromosome 7 (7q22.1), comprend neuf exons et code pour une protéine de 502 acides aminés qui métabolise la R-warfarine. Des études ont montré que la mutation rs776746 (*CYP3A5*3*) peut causer un épissage alternatif ainsi qu'un raccourcissement de protéine ce qui peut engendrer une absence de *CYP3A5* dans les tissus de certains patients.

Les gènes *CYP2C18* et *CYP2C19* font partie des voies métaboliques mineures de la warfarine. Dans l'article de Jorgensen *et al.*, le SNP rs3814637 du *CYP2C19* était associé de façon significative à la sensibilité à la warfarine ainsi qu'à un INR élevé durant la première semaine de traitement. De plus, cette même étude a montré que le SNP rs2901783 du gène *CYP2C18* était associé à la sensibilité puisque les patients qui étaient homozygotes pour l'allèle sauvage atteignaient l'INR thérapeutique plus rapidement que ceux qui étaient homozygotes pour l'allèle variant [59].

5.2 Autres gènes

Des SNP dans le gène codant pour la γ -glutamyl carboxylation (GGCX) ont démontré une certaine influence sur les besoins en warfarine dans certaines études, alors que cette influence était non-significative dans d'autres études lorsqu'un ajustement pour d'autres facteurs était fait dans la régression linéaire multiple. Dans l'étude de Rieder *et al.*, le SNP rs11676382 du gène GGCX (position 12790) a eu un petit effet statistiquement significatif sur la dose de maintenance de warfarine [60].

D'autres gènes qui semblent influencer de façon minime les doses de warfarine incluent les gènes de l'apolipoprotéine E (ApoE), la caluménine, la «microsomal epoxide hydrolase 1» (EPHX1) ainsi que le «multidrug resistance 1» (ABCB1). Des études antérieures ont rapporté des résultats contradictoires sur le lien entre l'ApoE et la dose de warfarine. Plus récemment, des chercheurs de l'étude IN-RANGE ont montré que les génotypes de l'apolipoprotéine E sont associés avec les doses hebdomadaires de warfarine chez les afro-américains (e2/e2 ou e2/e3 : 30.0 mg ; e3/e3 : 35.0 mg ; e3/e4 ou e4/e4 : 45.0 mg ; valeur p = 0.012) [61].

Des études ont identifié des variants du gène *ABCB1* (ou *MDR*), responsable du transport de la protéine P-glycoprotéine, qui pouvaient influencer la dose requise de warfarine. Dans l'article de Wadelius *et al.*, les chercheurs ont identifié sept haplotypes basés sur sept polymorphismes communs se trouvant dans les exons du gène *ABCB1*. Les auteurs ont remarqué que l'haplotype D était associé avec un besoin inférieur en warfarine. Par ailleurs, plusieurs protéines dépendantes de la vitamine K ont été impliquées dans la sensibilité à la warfarine. Il a été démontré qu'un polymorphisme dans le gène *F7* causant un remplacement de thréonine par la méthionine entraîne un effet sur la sensibilité à la warfarine. D'autre part, il a été suggéré que le SNP rs8178607 dans le gène de la protéine S peut affecter le temps avant d'atteindre la stabilité d'INR. Wadelius *et al.* ont trouvé que le gène *PROC* (protéine C) était associé de façon significative avec la dose de warfarine [6].

Enfin, le gène *EPHX1* semble également être associé à la dose de warfarine. Cet epoxide hydrolase est une enzyme critique de la biotransformation qui est impliquée dans l'activation et la détoxification des époxydes. Le SNP *EPHX1* rs1051740 a été

associé au nombre de jours passés au-dessus de l'INR thérapeutique lors de la phase d'initiation de la thérapie d'anticoagulation. Pautas *et al.* ont montré que le SNP rs2292566 du *EPHX1* était associé avec la dose de maintenance de warfarine ($p = 0.0153$) et était responsable de 1.7 % de la variabilité des doses. Dans une étude récente, Cooper *et al.* ont démontré une association significative entre le SNP rs360097 du *EPHX1* et la dose de maintenance de warfarine, mais seulement dans l'analyse univariée.

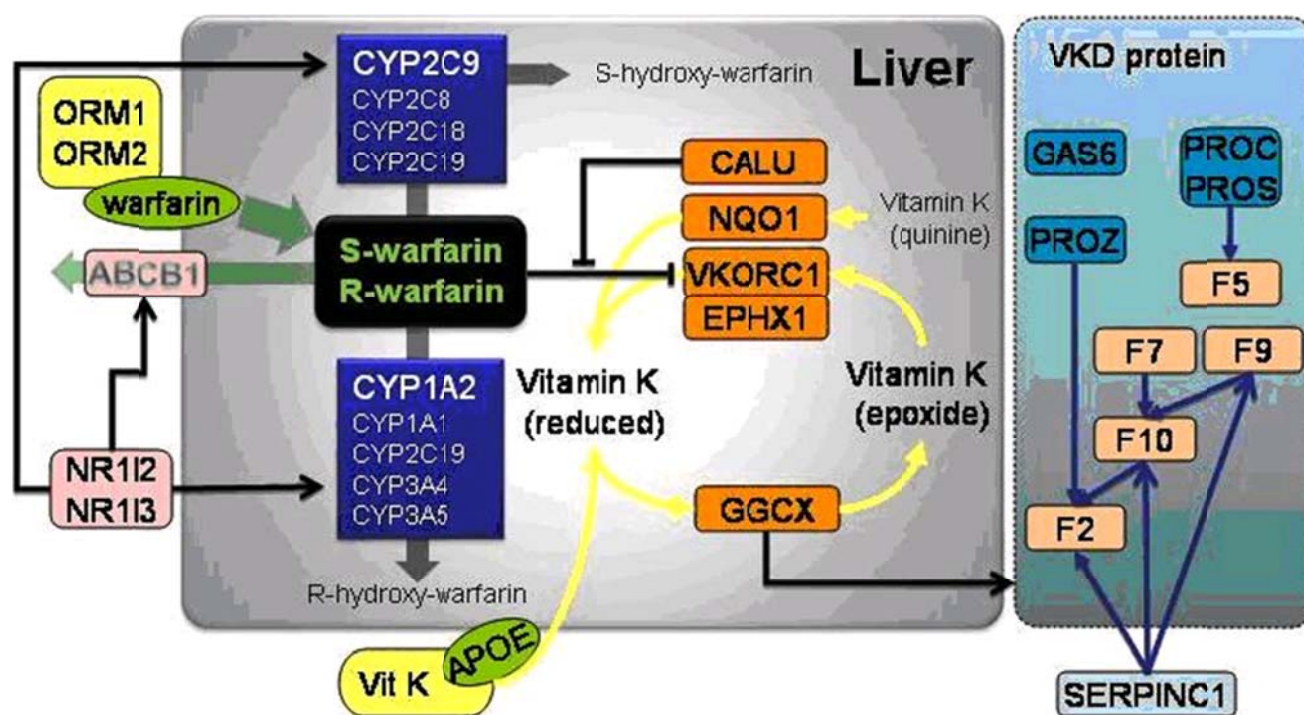


Figure 3 : Gènes impliqués dans le métabolisme de la warfarine

6. Algorithmes

L'estimation de la variance des doses de warfarine chez les sujets est issue d'études rétrospectives et prospectives, mais ces études reposent surtout sur des populations homogènes. Ainsi, on ignore comment une variance combinée de 50 à 60 pour cent se transposera en valeurs prédictives dans une population clinique variée. Plusieurs études récentes utilisant les analyses multivariées ont montré que le regroupement des caractéristiques cliniques du patient avec l'information génomique des *CYP2C9* et *VKORC1* pouvaient permettre d'expliquer 50 à 60 pour cent de la variabilité des doses de warfarine. Sconce *et al.* ont été les premiers à promouvoir l'utilisation d'une équation de régression publiée incluant les données de *CYP2C9* et *VKORC1* pour doser les thérapies de warfarine de façon innovatrice, puis ont été suivis par plusieurs autres chercheurs [7]. Le tableau III présente des études pharmacogénétiques publiées utilisant la régression multiple pour prédire la dose de warfarine.

Kamali *et al.* : En 2004, Kamali *et al.* ont publié un des premiers algorithmes permettant de modéliser la dose de warfarine en se basant sur l'âge ainsi que sur les génotypes du *CYP2C9*. Cet algorithme permettait d'expliquer 20,4 pour cent de la variabilité inter-patient [34].

Sconce *et al.* : Sconce *et al.* ont développé en 2005 un outil de posologie basé sur un modèle de régression qui combine l'âge, la taille, les SNP *CYP2C9**2 et *CYP2C9**3 ainsi que le SNP du *VKORC1* -1639G>A [7]. Ce modèle permet d'expliquer 55 % de la variance des doses de warfarine.

Sconce *et al.* : $\sqrt{\text{Dose (mg/jour)}} = 0.628 - (0.0135 \times \text{âge}) - (0.240 \times \text{CYP2C9*2}) - (0.370 \times \text{CYP2C9*3}) - (0.241 \times \text{VKORC1 -1639G/A [1 pour GG, 2 pour GA, 3 pour AA]}) + (0.0162 \times \text{taille en cm})$

Herman *et al.* : L'algorithme publié par Herman *et al.* en 2005 permet d'expliquer 37 pour cent de la variabilité inter-patient en ce qui concerne la dose nécessaire de warfarine. Cet algorithme contient en plus des facteurs génétiques les variables âge, médication concomitante ainsi que masse maigre. L'étude de cette équipe se base sur les données de 188 patients. Soulignons que cet algorithme ne contient que les

polymorphismes pour le gène du *CYP2C9* et non pas également pour le gène du *VKORC1* [62].

Herman *et al.* : $\ln(\text{Dose}(\text{mg/jour})) = 2.161 - 0.507 \times (*1/*x) - 1.018 \times (*x/*x) - 0.0173 \times \text{âge} + 0.577 \times \text{INDUC} + 0.000884 \times \text{Masse maigre moyenne}$

Tham *et al.* : Tham *et al.* ont publié en 2006 un algorithme dérivé de données provenant d'une population asiatique. Cet algorithme permet d'expliquer 60 % de la variance des doses de warfarine et inclut l'âge, le poids, la présence de l'allèle *CYP2C9*3* ainsi que les génotypes CC et TC du SNP du *VKORC1* de la position 381 [63].

Tham *et al.* : $\text{Dose (mg/jour)} = 10 \exp(0.838 - (0.005 \times \text{âge}) + (0.003 \times \text{poids en kg}) - (0.189 \times \text{CYP2C9*3}) - (0.283 \times \text{VKORC1 381 CC}) - (0.119 \times \text{VKORC1 381 TC}))$

Miao *et al.* : L'algorithme publié par Miao *et al.* en 2007 était issu des données de 178 patients chinois [64].

Miao *et al.* : $\text{Dose (mg/jour)} = 6.22 - (0.011 \times \text{âge}) + (0.017 \times \text{poids en kg}) - (0.775 \times \text{CYP2C9*3}) - (3,397 \times \text{VKORC1-1639 GA}) - (4.803 \times \text{VKORC1-1639 AA})$

Schelleman *et al.* : Dans cette étude, 259 sujets caucasiens et afro-américains qui étaient des nouveaux utilisateurs de warfarine ont été suivis pendant trois ans pour permettre de développer un algorithme de prédiction de dose [65].

Schelleman *et al.* : $\text{Dose (mg/jour)} = \exp(2,81 - (0,08 \times \text{afro-américain}) - (0,01 \times \text{âge}) - (0,39 \times \text{VKORC1 1173 CT}) - (0,82 \times \text{VKORC1 1173 TT}) - (0,11 \times \text{F7-401 GT}) - (0,19 \times \text{F7-401 TT}) - (0,16 \times \text{CYP2C9*2}) - (0,30 \times \text{CYP2C9*3}) - (0,18 \times \text{IMC <25}) - (0,23 \times \text{IMC 25-30}) - (0,08 \times \text{nombre de médicaments qui influencent la warfarine}) - (0,10 \times \text{femme}) + (0,06 \times \text{boissons alcoolisées}) - (0,03 \times \text{afro-américain} \times \text{boissons alcoolisées}) + (0,58 \times \text{DVT}) - (0,33 \times \text{afro-américain} \times \text{DVT}))$

Gage *et al.* : L'étude de Gage *et al.* publiée en 2008 a mené au développement d'un algorithme de dosage pharmacogénétique disponible aux médecins. Dans cette étude prospective, les auteurs ont démontré que la dose thérapeutique est fortement corrélée avec la dose prédite à l'aide des algorithmes pharmacogénétiques ($R^2=54\%$) alors qu'elle n'est que faiblement corrélée aux doses prédites par les cliniciens ($R^2=17\%$) [66]. Les interactions médicamenteuses entre la warfarine et l'amiodarone sont

particulièrement bien étudiées dans l'algorithme de Gage *et al.* L'étude de Gage *et al.* a mené au développement d'un algorithme pharmacogénétique populaire disponible aux cliniciens grâce au site www.warfarindosing.org.

Gage *et al.* : Dose (mg/jour) : $\exp[0.9751 - 0.3238 \times \text{VKOR3673G>A} + 0.4317 \times \text{BSA} - 0.4008 \times \text{CYP2C9*3} - 0.00745 \times \text{âge} - 0.2066 \times \text{CYP2C9*2} + 0.2029 \times \text{INR cible} - 0.2538 \times \text{amiodarone} + 0.0922 \times \text{fumeur} - 0.0901 \times \text{afro-américain} + 0.0664 \times \text{DVT/PE}]$

Michaud *et al.* : Dr. Michaud, sous la supervision de Dr. Turgeon, a publié en 2008 un algorithme qui inclut les variantes génétiques, les mesures cliniques ainsi que l'INR au jour 4 suite à l'initiation de la thérapie de warfarine. Dans leur étude, une approche innovatrice a été utilisée puisque les chercheurs ont combiné l'évaluation phénotypique et la détermination génotypique des polymorphismes *CYP2C9* et *VKORC1*. L'algorithme issu de cette combinaison explique 51 pour cent de la variabilité inter-sujet en ce qui concerne la dose de warfarine [67]. Pour l'INR au jour 4, l'INR est divisé par la dose moyenne de warfarine calculée pour les trois premiers jours puisque différents protocoles d'initiation étaient utilisés. Cette valeur (INR J4/dose) est utilisée comme marqueur phénotypique pour prédire la dose de warfarine. La dernière variable de l'algorithme correspond à la valeur observée de l'INR au jour 14.

Michaud *et al.* : Dose (mg/jour) : $4.438 - 0.046 \times \text{âge (années)} + 1.400 \times \text{BSA (M}^2) - 3.223 \times \text{INR (jour 4)/dose} - 0.599 \times \text{CYP2C9*1*x} - 1.443 \times \text{CYP2C9*x*x} + 0.282 \times \text{VKORC1 9041 G/A} + 1.284 \times \text{VKORC 1 9041 A/A} - 0.107 \times \text{au moins un allèle VKORC1 3673 A} + 0.279 \times \text{INR}$

Huang *et al.* : L'équipe du Dr. Huang a publié en 2009 un algorithme qui inclut l'âge, l'aire corporelle ainsi que les génotypes du *VKORC1* et du *CYP2C9*. Ce modèle de régression linéaire corrèle avec 54.1 pour cent de la variance des doses de warfarine mais a été développé à l'aide de données de patients chinois uniquement [68].

Huang *et al.* : Dose prédite (mg/jour) = $\exp(0.727 - 0.007 \times \text{âge} + 0.384 \times \text{BSA} + 0.403 \times \text{VKORC1 648TC} + 0.554 \times \text{VKORC1 648CC} - 0.482 \times \text{CYP2C9*1/*3} - 1.583 \times \text{CYP2C9*3/*3})$

Wadelius *et al.* : Wadelius *et al.* ont publié en 2009 un algorithme permettant de prédire la dose de warfarine grâce aux données provenant de 1496 patients suédois. Cet algorithme permet d'expliquer 59 pour cent de la variabilité des doses de warfarine parmi les patients [69]. Les chercheurs ont génotypé 183 polymorphismes se trouvant dans 29 gènes candidats chez les patients suédois dans le but de tester l'association avec la dose de warfarine. Ils ont trouvé que le *CYP2C9**2 et *3 expliquent 12 pour cent ($P = 6.63 \times 10^{-34}$) de la variation des doses de warfarine alors qu'un seul SNP du *VKORC1* explique 30 pour cent ($P = 9.82 \times 10^{-100}$) de la variation. De plus, ils ont déterminé qu'aucun polymorphisme à l'extérieur du cluster de gène *CYP2C9* ou de la région du *VKORC1* étaient associés significativement avec la dose suite à la correction pour les tests multiples.

Wadelius *et al.* : Dose prédite (mg/semaine) = $9.46832 - (0.90112 \text{ pour rs9923231 A/G}) - (2.01863 \text{ pour rs9923231 A/A}) - (0.50836 \text{ pour } *1/*2) - (0.97546 \text{ pour } *1/*3) - (1.10204 \text{ pour } *2/*2) - (1.74761 \text{ pour } *2/*3) - (3.40061 \text{ pour } *3/*3) - (0.03686 \times \text{âge}) - (0.27698 \text{ pour femmes}) - (0.06992 \times \text{nombre de médicaments qui augmentent l'INR})$

Wells *et al.* : À la clinique de thrombose de l'hôpital d'Ottawa, une étude intéressante a été réalisée chez 249 patients pour développer un algorithme pharmacogénétique de prédiction de dose. Cette étude a confirmé l'importance des polymorphismes du *CYP4F2*. Les variables incluses dans le modèle final permettaient d'expliquer 57.8 % de la variabilité des doses de warfarine [70].

Wells *et al.* : Dose = $1.85 - 0.048(\hat{\text{Age}}) + 0.041(\text{IMC}) + 0.05(\text{Taille}) - 0.73(\text{Moins d'exercice physique}) - 1.13(2C9*2 \text{ Hetero}) - 2.09(2C9*2 \text{ Homo}) - 1.51(2C9*3 \text{ Hetero}) - 1.43(\text{VKORC1 GA}) - 2.86(\text{VKORC1 AA}) - 1.33(4F2CC) - 1.24(4F2CT) - 1.46(\text{Antagonistes du récepteur de l'Angiotensine II}) - 0.84(\beta\text{-Bloqueurs})$.

International Warfarin Pharmacogenetics Consortium : En 2009, le International Warfarin Pharmacogenetics Consortium (IWPC) a présenté les résultats d'une grande étude qui combinait les données de 4043 patients qui a permis de développer un algorithme qui a été validé chez 1009 sujets. La cohorte de dérivation était constituée de 55.2 % sujets de race blanche, 30.4 % de patients asiatiques, 8.7 % d'individus noirs et

5.6 % d'autres ethnies. Il a été démontré que ce modèle permet d'identifier une plus grande proportion de patients qui nécessitent de faibles (< 3 mg/jour) ou de fortes (>7 mg/jour) doses de warfarine, versus les stratégies cliniques habituelles. Cette équation pharmacogénétique permettait d'expliquer 47 % de la variabilité des doses de warfarine [71].

IWPC : Dose (mg/semaine) = [5.6044 - 0.2614(âge) + 0.0087(taille) + 0.0128(poids) - 0.8677(VKORC1 A/G) - 1.6974(VKORC1 A/A) - 0.4854 (VKORC1 inconnu) - 0.5211(*1/*2) - 0.9357(*1/*3) - 1.0616(*2/*2) - 1.9206(*2/*3) - 2.3312(*3/*3) - 0.2188 (CYP2C9 inconnu) - 0.1092(Asiatique) - 0.2760(Afro-Américain) - 0.1032 (race inconnue ou mixte) + 1.1816(phénytoïne, carbamazépine ou rifampicine) - 0.5503(amiodarone)]².

Il faut noter qu'au moment où le protocole de cette étude a été écrit et lorsque le projet a été lancé, aucune étude n'avait jusqu'à ce jour comparé les doses prédites par ces algorithmes dans un environnement clinique réel.

Tableau III : Études pharmacogénétiques publiées utilisant la régression multiple pour prédire la dose de warfarine

Algorithme	Données génétiques	% de variation expliqué	Population	Référence
Kamali	CYP2C9	20	Caucasienne	34
Sconce	CYP2C9 et VKORC1	55	Caucasienne	7
Herman	CYP2C9	37	Caucasienne	62
Tham	CYP2C9 et VKORC1	60	Asiatique	63
Miao	CYP2C9 et VKORC1	63	Chinoise	64
Schelleman	CYP2C9 et VKORC1 et F7	43	Caucasienne	65
Gage	CYP2C9 et VKORC1	54	Caucasienne et afro-américaine	66
Michaud	CYP2C9 et VKORC1	51	Caucasienne	67
Huang	CYP2C9 et VKORC1	54	Chinoise	68
Wadelius (WARG)	CYP2C9 et VKORC1	59	Suédoise en majorité	69
Wells	CYP2C9 et VKORC1 et CYP4F2	58	Caucasienne	70
IWPC	CYP2C9 et VKORC1	47	Mixte	71

7. Arguments en faveur du génotypage avant la prise de warfarine

Malgré le manque de preuves des essais cliniques en faveur de l'utilisation de tests pharmacogénétiques pour la gestion des thérapies de warfarine, plusieurs arguments soutiennent son incorporation dans la pratique clinique actuelle. Tout d'abord, même si plusieurs facteurs connus doivent être considérés dans la gestion des doses de warfarine (comme l'âge, le sexe, l'ethnie, l'IMC, *etc.*), les données pharmacogénétiques constituent une variable supplémentaire pour les cliniciens qui permet de mieux estimer la dose initiale de warfarine [49]. Il est important de souligner que les données de tests pharmacogénomiques ne doivent pas remplacer le jugement des médecins ou être utilisés indépendamment en ignorant les variables cliniques importantes (âge, sexe, IMC, race, *etc.*).

Ensuite, même si les tests pharmacogénétiques peuvent être très chers, il ne faut pas oublier que les conséquences d'un mauvais usage de la warfarine peuvent être très coûteuses également. En effet, la warfarine entraîne souvent des complications hémorragiques qui donnent lieu à des visites aux urgences et donc à une augmentation de l'utilisation des ressources hospitalières. Selon une étude, le nombre annuel de ces visites dans la période de 1999 à 2003 aux États-Unis s'élève à 29 000 [49]. De plus, 9 766 incidents hémorragiques attribuables à la warfarine, dont 10 pour cent ont été mortels, ont été signalés dans la période de 1993 à 2006 [72]. En conséquence, ces situations entraînent une augmentation des coûts de santé liés à la prise de warfarine. Déterminer les doses de warfarine à l'aide des données de la pharmacogénétique pourrait ainsi contribuer à diminuer la fréquence des saignements chez les patients, ce qui pourrait potentiellement compenser pour l'augmentation des coûts médicaux liés aux tests de génotypage. Dans cette optique, une étude de coût-efficacité a été réalisée en 2003 et a estimé qu'un minimum de 44 patients devra être testé (NNS ou Number needed to screen) pour les polymorphismes du *CYP2C9* avant que les avantages de réduire les effets adverses d'un patient surpassent le coût des tests pharmacogénétiques [73]. En fait, très peu de publications sur les évidences du ratio coût efficacité incrémental de l'administration pharmacogénétique de la warfarine sont disponibles.

7.1 Coût-efficacité

You *et al.* ont présenté en 2004 un modèle de décision analytique qui visait à approfondir les coûts et l'efficacité du génotypage du *CYP2C9* en comparaison avec la pratique clinique standard en anticoagulation. L'étude a utilisé une perspective du fournisseur de soins de santé américain et s'est déroulée pendant un an. Les auteurs ont trouvé un coût marginal par saignement majeur évité de 5778 dollars américains pour une administration de warfarine à l'aide de génotypage du *CYP2C9* [74]. En 2009, les mêmes auteurs ont réalisé une étude de coût-efficacité qui a permis de déterminer un ICER de 347 059 \$ par QALY. Les données du modèle d'arbre décisionnel étaient obtenues de la littérature. Le résultat de 10 000 simulations de Monte Carlo a montré que l'ICER par QALY gagné était plus grand que 50 000 \$ 62.1 % du temps. Ces résultats montrent clairement que les rapports obtenus sont au-delà des seuils considérés comme acceptables; ainsi, le ratio coût-efficacité incrémental calculé de l'administration de warfarine basée sur le génotypage versus sans génotypage ne semble pas favoriser la pharmacogénétique pour l'instant. Il faut noter que peu d'études de coût-efficacité avec des données réelles ont été réalisées.

Par ailleurs, en 2009, Patrick *et al.* ont utilisé des modèles de Markov pour évaluer si l'utilisation de la génétique pour déterminer les doses de warfarine chez les patients souffrant de fibrillation auriculaire était coût-efficace. Les estimés des taux d'évènements cliniques, des coûts ainsi que des utilités pour les états de santé ont été obtenus de la littérature. La perspective utilisée était sociétale et l'horizon temporel correspondait à la vie entière des patients. Cette étude a démontré que le ratio coût-efficacité incrémental du dosage pharmacogénétique de la warfarine était fortement dépendant de l'efficacité présumée du pouvoir de la génétique à augmenter le nombre de jours pendant lesquels les patients sont anticoagulés de façon adéquate (INR cible). Si le génotypage permet d'augmenter le temps passé dans l'intervalle d'INR thérapeutique de plus de 9 pour cent, il s'avère que le ratio incrémental de coût-efficacité est de moins de 50 000\$ par QALY [75]. Bien sûr, les résultats obtenus étaient très sensibles aux

hypothèses quant aux taux d'hémorragie majeure durant l'initiation de la thérapie de warfarine.

Higashi *et al.* ont de leur côté déterminé que le coût marginal par saignement évité lors des traitements de warfarine était de 5900 dollars américains [73], en assumant que le coût de génotypage était de 135 \$ par patient. Seul le gène *CYP2C9* était pris en considération dans les analyses. Pour calculer le coût marginal, les auteurs ont divisé le NNT (« Number needed to treat ») par la prévalence du variant génétique et ont multiplié ce résultat par le coût du test génétique. Cela ne constitue donc pas une véritable étude de coût-efficacité en tant que tel.

Une étude publiée par les économistes de la FDA montre que l'intégration de tests génétiques pour le *CYP2C9* et le *VKORC1* dans la pratique clinique permettrait d'éviter 85 000 saignements et 17 000 ACV par année aux États-Unis.[76] Cela entraînerait une réduction de coûts de santé de 1.1 milliard de dollars par année pour les américains selon les auteurs. Or, cette étude comporte quelques lacunes, comme le fait qu'elle assume que cinq pour cent de toutes les attaques d'apoplexie thromboemboliques serait évité grâce au génotypage, ce qui n'est pas basé sur des évidences scientifiques. De plus, le risque de 17.5 % de saignement majeur utilisé dans l'étude est beaucoup plus haut que celui qui a été observé dans des études prospectives. Soulignons qu'en général la plupart des études économiques publiées à ce jour utilisent un horizon temporel trop court ce qui ne permet pas d'analyser convenablement l'incidence des évènements thromboemboliques, des hémorragies et des décès à long terme. Seules les études publiées par Eckman *et al.* et par Patrick *et al.* considéraient la vie entière des patients pour l'horizon temporel [75, 77].

Une étude réalisée par Dr. Eckman *et al.* a montré que le coût par QALY dépassait les 170 000 \$ en ce qui concerne la détermination de la posologie de warfarine à l'aide des données de génotypage. La perspective de l'étude était sociétale et l'horizon temporel correspondait à la vie entière du patient. Un modèle de Markov de décision

d'états de transitions était utilisé [77]. Les résultats de cette étude étaient donc plutôt semblables à l'étude publiée par You *et al.* en 2009.

Une autre étude américaine publiée en 2010 par Meckley *et al.* a tenté de développer un modèle pour évaluer le ratio coût efficacité incrémental des tests pharmacogénétiques utilisés pour les thérapies de warfarine. La perspective utilisée était celle d'un tiers payeur américain. Les coûts et les utilités des états de santé ont été obtenus à partir de la littérature alors que les estimés des effets cliniques ont été extraits d'un essai clinique randomisé. Selon le modèle développé, l'amélioration en terme de QALY était faible (0.003) et l'augmentation des coûts totaux était de 162 dollars américains [78]. Le ICER calculé était inférieur à 50 000 par QALY pour 46 pour cent des simulations [78].

Enfin, une autre étude pharmacoéconomique doit être mentionnée en lien avec les stratégies pharmacogénétiques de la warfarine : celle de Leey *et al.*, qui a utilisé une perspective de tiers payeur et qui incluait les saignements majeurs ainsi que les ACV emboliques. Dans cette étude, aucune donnée pour l'efficacité n'a été utilisée puisque les chercheurs ont utilisé un seuil du risque de saignement pour lequel le génotypage ne serait plus coût-efficace. La conclusion de cette étude indique que les tests pharmacogénétiques pourraient réduire les coûts médicaux seulement s'ils entraînaient une réduction du risque des saignements majeurs [79]. Aucune valeur spécifique concernant les coûts sont donnés dans cet article.

En conclusion, il est impossible pour l'instant de déterminer si l'utilisation des données génétiques pour prescrire la warfarine est coût-efficace. Un nombre insuffisant d'études a été réalisé et les résultats publiés jusqu'à ce jour sont insuffisants et ne s'appuient pas sur des données robustes recueillies à long terme. Plusieurs incertitudes demeurent, telles que le coût précis du génotypage et son efficacité réelle quant à la survenue d'effets indésirables. Une revue systématique d'intérêt a été publiée par Verhoef *et al.* en 2010 à ce sujet. Les auteurs de cette étude concluent également que

davantage d'informations sur l'efficacité et le coût des tests pharmacogénétiques doivent être disponibles avant de pouvoir établir des recommandations sur la mise en application de ces tests [80].

Le génotypage des variants de *CYP2C9* ou de *VKORC1* est possible à partir d'un prélèvement de salive ou de sang. Aux États-Unis, le délai habituel d'obtention des résultats est en moyenne de 24 à 48 heures. Il existe des tests rapides d'une heure qui permettent de modifier la dose lors du rendez-vous médical, mais pour l'instant ces tests rapides ne sont pas effectués au Canada. Le prix de certains des tests sur le marché américain varie de 100 dollars américains à 450 dollars américains.[81] Au Canada, les tests pharmacogénomiques destinés à des fins diagnostiques et de prise en charge thérapeutique font partie des dispositifs médicaux de la classe III, et leur commercialisation doit être autorisée par Santé Canada. Mais avant d'instaurer ces pratiques dans les cliniques, d'autres évaluations tenant compte de l'influence de l'analyse pharmacogénomique déterminée selon des estimations fiables des effets indésirables attribuables à la warfarine devront en confirmer l'avantage économique par rapport à la pratique standard.

7.2 Pratique clinique actuelle

Il est recommandé que la thérapie de warfarine soit initiée avec une dose de cinq milligrammes par jour avec des ajustements de doses basés sur les résultats des tests d'INR. Des essais cliniques randomisés ont montré que les patients qui débutent leur traitement avec une dose de 5 mg ont plus de chances d'avoir un INR thérapeutique dans les cinq premiers jours de thérapie que les patients qui prennent une dose de 10 mg [82]. De plus, une dose de 10 mg entraîne plus fréquemment des valeurs d'INR supra thérapeutiques. Cependant, une dose de départ plus faible est recommandée pour les patients plus âgés, pour les personnes de petit poids ou qui ont des faibles taux d'albumine, des patients qui ont des maladies hépatiques ou encore qui prennent certains

médicaments qui augmentent l'effet de la warfarine [39]. Suite à l'initiation de la thérapie de warfarine, la vérification de l'INR à chaque jour, ou aux deux jours, est nécessaire pour établir le niveau d'anticoagulation souhaité. Quand l'effet anticoagulant et la dose de warfarine sont stables pendant au moins une à deux semaines, la surveillance de l'INR s'effectue en moyenne aux quatre à huit semaines pendant tout le traitement. En général, l'INR cible se situe entre 2 et 3 pour les patients atteints de fibrillation auriculaire et entre 2.5 et 3.5 pour les porteurs de valves cardiaques.

En résumé, la dose de warfarine doit être adaptée suivant la sensibilité de chaque patient au médicament, déterminée à l'aide de l'INR. En général, les cliniciens utilisent des doses de warfarine initiales allant de 2 à 5 mg/jour, mais il est préconisé d'administrer des doses initiales faibles en présence de certaines variantes génétiques, de patients âgés, de malnutrition, d'insuffisance rénale ou d'insuffisance hépatique. En outre, plusieurs facteurs doivent être considérés pour déterminer la dose de départ de la warfarine lors de l'amorce du traitement, tels que l'âge, le poids, la fonction hépatique, la fonction thyroïdienne, la fonction cardiaque, la fièvre, l'apport alimentaire en vitamine K et les comédications. Certains algorithmes cliniques de prédiction de doses ont été développés, tels que celui de l'IWPC [71], mais ceux-ci demeurent peu utilisés par les cliniciens :

$$\text{Dose (mg/semaine)} = [4.0376 - 0.2546 \times \text{âge} + 0.0118 \times \text{taille} + 0.0134 \times \text{poids} - 0.6752 \times \text{asiatique} + 0.4060 \times \text{afro-américain} + 0.0443 \times \text{race inconnue ou mixte} + 1.2799 \times \text{phénytoïne, carbamazépine ou rifampicine} - 0.5695 \times \text{amiodarone}]^2$$

8. Les avantages de la pharmacogénétique pour les thérapies de warfarine

8.1 Essais cliniques randomisés

Trois essais cliniques ont été effectués pour comparer l'utilisation de la pharmacogénétique pour doser la warfarine à la pratique clinique standard. L'étude de Caraco *et al.*, basée sur les données de 191 patients, s'est penchée sur les saignements et le temps précédent l'atteinte de l'INR thérapeutique. Le premier INR thérapeutique ainsi qu'une anticoagulation stable ont été atteints 2,73 et 18,1 jours plus tôt lorsqu'un algorithme incluant le *CYP2C9* était utilisé. Les patients dont la posologie avait été déterminée à l'aide d'algorithmes incluant le *CYP2C9* passaient plus de temps avec un INR cible (80,4 % versus 63,4 %), et subissaient moins de saignements mineurs (3,2 % versus 12,5 %) [83]. L'équipe a démontré que la détermination de doses de warfarine à l'aide des données de génotypes réduisait le temps du premier INR thérapeutique et accélérail la réalisation d'une thérapie d'anticoagulation stable. De plus, les saignements mineurs étaient moins présents dans le groupe d'étude mais aucune différence dans les taux d'hémorragie majeure n'a été observée.

Anderson *et al.* (essai clinique CoumaGen) ont suivi 206 patients jusqu'à trois mois. Cette équipe a démontré la faisabilité des essais cliniques dans le but de tester des algorithmes basés sur la pharmacogénétique. Les chercheurs ont conclu qu'un algorithme incluant la pharmacogénétique et les facteurs cliniques améliorait l'exactitude et l'efficacité de la dose de warfarine lors de l'initiation du traitement. De plus, les patients porteurs de multiples allèles variants étaient plus à risque d'avoir un INR plus grand ou égal à 4. Par contre, l'essai clinique n'a pas démontré une réduction dans le nombre d'INR hors de l'intervalle thérapeutique dans le groupe randomisé à un dosage basé sur la pharmacogénétique [84].

L'essai clinique réalisé par Hillman *et al.* qui n'utilisait que les données reliées au *CYP2C9* avait permis de démontrer en 2005 que l'application prospective du dosage de

la warfarine en utilisant un modèle multivarié qui incorpore le *CYP2C9* était réalisable. [85]. Dans cette étude qui comportait 38 sujets, six évènements indésirables se sont produits dans le groupe de dosage standard de warfarine alors que deux évènements indésirables se sont produits dans le groupe dont les doses étaient prédites à l'aide de l'algorithme pharmacogénétique. En fait, durant leur étude il n'y a pas eu d'évènement de saignements parmi les 18 patients qui ont été aléatoirement assignés au dosage pharmacogénétique. Par contre, un saignement a été rapporté parmi les 20 participants du groupe contrôle.

8.2 Essai COAG

L'essai Clarification of Optimal Anticoagulation through Genetics (COAG) est le plus grand essai clinique prospectif, multicentrique et randomisé aux États-Unis qui étudie l'option d'utiliser une stratégie basée sur la génétique pour prescrire la dose initiale de warfarine et pour aider les médecins à déterminer la dose la plus efficace de warfarine. L'étude est subventionnée par le National Heart, Lung, and Blood Institute, une division du National Institutes of Health (NIH). Ce projet inclut plus de 1200 individus dans 12 centres américains. L'algorithme développé par le « International Warfarin Pharmacogenetics Consortium » sera évalué dans cette grande étude prospective randomisée. Cet essai de phase III interventionnel se déroulera sur une période de quatre ans et les patients seront suivis de façon prospective pendant six mois. Les chercheurs espèrent que cette étude permettra de déterminer si l'information génétique fournit des bénéfices supplémentaires pour la pratique clinique. Par contre, l'étude COAG est définie de façon à évaluer la valeur des algorithmes de prédiction de dose, et même si elle peut permettre de rapporter une indication de la réduction des évènements cliniques dans les premiers six mois de thérapie, le devis est impuissant pour déterminer avec certitude une telle réduction et ne permettra pas l'évaluation des évènements dans la période de post-stabilisation.

8.3 EU-PACT

L'essai européen EU-PACT (European Pharmacogenetics of Anticoagulant Therapy) est réalisé par 13 centres de recherche à travers sept pays de l'Europe qui conduisent un essai clinique randomisé de plus de 2000 nouveaux patients dans le but d'évaluer le dosage génétique de la warfarine. Cet essai débute en octobre 2009 et sera publié dans le *New England Journal of Medicine*. Cet essai est appuyé par le programme cadre EU FP7. L'essai EU-PACT utilise une plateforme rapide et bon marché pour génotyper les *CYP2C9* et *VKORC1*, c'est-à-dire le HyBeacon® technology. C'est un essai randomisé réalisé en simple aveugle. L'issue primaire mesurée consiste en le pourcentage de temps passé dans l'intervalle des INR thérapeutiques[86].

8.4 Études observationnelles

Plusieurs études rétrospectives ont étudié l'influence du génotype de *CYP2C9* sur la dose de warfarine et le risque d'hémorragies. Une méta-analyse qui regroupait neuf études comptant au total 2 775 patients (en majorité de race blanche) a permis d'évaluer que la différence moyenne de la dose quotidienne entre le génotype *CYP2C9*1*1* et le génotype *CYP2C9*2*2* est de 0,85 mg (IC de 95 % : 0,6 à 1,11; réduction relative de 17 %), entre le génotype *CYP2C9*1*1* et le génotype *CYP2C9*2*3* de 1,47 mg (IC de 95 % : 1,24 à 1,71; réduction relative de 27 %) et entre le génotype *CYP2C9*1*1* et le génotype *CYP2C9*3*3* de 1,92 mg (IC de 95 % : 1,37 à 2,47; réduction relative de 37 %) [48]. Par ailleurs, les résultats de trois études (n=1 757) indiquent que le risque relatif de saignement du génotype *CYP2C9*2*2* est de 1,91 (IC de 95 % : 1,16 à 3,17), du génotype *CYP2C9*2*3* de 2,26 (IC de 95 % : 1,36 à 3,75) et de 1,77 (IC de 95 % : 1,07 à 2,91) pour le génotype *CYP2C9*3*3* [48]. D'autre part, en 2005, une revue systématique de onze études incluant 3029 sujets a indiqué que 20 pour cent des patients étaient porteurs d'un allèle variant du *CYP2C9* (12.2% *2 et 7.9% *3) [48]. De plus, une méta-analyse de 39 études comprenant 7907 sujets a démontré que 72.7 pour cent des sujets étaient homozygotes pour l'allèle de type sauvage, 15.4 pour cent était

*CYP2C9*1*2*, 9.6 pour cent était *CYP2C9*1*3*, 1 pour cent était *CYP2C9*2*2*, 1 pour cent était *CYP2C9*2*3* et 0.3 pour cent était *CYP2C9*3*3* [87].

En ce qui concerne les polymorphismes du *VKORC1*, plusieurs articles publiés ont montré qu'ils exercent eux aussi une influence sur la dose de warfarine. Les polymorphismes 1173C>T et -1639G>A commandent une dose basse de warfarine. Toutefois, leur effet sur le risque de saignement au début du traitement n'a pas été évalué. Sconce *et al.* ont montré que les patients qui sont homozygotes -1639 GG nécessitent en moyenne 4.5 mg par jour de warfarine, une quantité significativement plus élevée que les sujets hétérozygotes GA, qui nécessitent 3.8 mg par jour ou encore les individus AA homozygotes qui ne requièrent que 2.2 mg par jour de warfarine [7]. *In vitro*, l'allèle A était associé à une activité réduite du promoteur, donc à la synthèse de moins d'ARN et par conséquent à la production de l'enzyme *VKORC1* en quantité diminuée. En 2005, Wadelius *et al.* ont génotypé 201 patients consommant de la warfarine pour des polymorphismes communs dans le gène de la *VKORC1*. Tous les SNPs ont covarié de façon significative avec la dose de warfarine, et ont permis d'expliquer 30 pourcent de la variance des doses. Aussi, dans cette même étude, le gène de *VKORC1* avait un plus grand impact que le *CYP2C9*, qui expliquait 12 pour cent de la variance des doses de warfarine [8].

L'étude WARG (Warfarin Genetics) est une étude cas-témoin prospective suédoise nationale qui a été réalisée avec des patients sous thérapie de warfarine. Cette étude est coordonnée par le Centre Régional de Pharmacovigilance du Huddinge University Hospital (Suède) et s'est déroulée pendant quatre ans entre 2001 et 2005. Ses objectifs principaux étaient de déterminer l'incidence véritable des hémorragies sérieuses et fatales durant les thérapies de warfarine ainsi que d'estimer l'influence des facteurs génétiques sur les traitements avec cet anticoagulant. Au total, 1523 utilisateurs incidents de warfarine âgés de 18 à 92 ans ont été recrutés.[69] Les chercheurs ont évalué l'association avec la sensibilité à la warfarine avec 183 polymorphismes dans 29

gènes candidats. Ils ont trouvé que seuls le *CYP2C9**2 et *CYP2C9**3 ainsi que le *VKORC1* -1639G>A étaient associés avec les doses requises de warfarine.[69]

Le «International Warfarin Pharmacogenetics Consortium» (2009) a trouvé qu'un algorithme pharmacogénétique calculant les doses de warfarine à l'aide des génotypes du *VKORC1* et du *CYP2C9* permettaient d'identifier des plus grandes proportions de patients qui nécessitaient moins de 21 mg de warfarine par semaine ou qui nécessitaient plus de 49 mg par semaine, pour pouvoir atteindre l'INR thérapeutique, contrairement à un algorithme clinique (49.4 % vs 33.3%, $p < 0.001$, parmi les patients nécessitant 21 mg ou moins par semaine; et 24.8% vs 7.2%, $p < 0.001$, parmi ceux qui requièrent 49 mg ou plus par semaine). Les auteurs ont donc conclu que l'utilisation d'algorithmes pharmacogénétiques pour estimer la dose initiale adéquate de warfarine permet d'obtenir des indications de doses beaucoup plus près des doses thérapeutiques stables, contrairement aux doses des algorithmes cliniques ou des approches de doses fixes. Les plus grands avantages sont observés chez les 46.2 pour cent de la population qui nécessitent moins de 21 mg de warfarine par semaine ou plus de 49 mg par semaine pour parvenir à une anticoagulation thérapeutique [71]. Or certaines interactions médicamenteuses ont été sous estimées dans cette étude et l'imputation des données pour le polymorphisme du *VKORC1* a pu mener à un biais. En effet, certains sujets n'ont pas pu être génotypés pour le SNP -1639 ce qui a obligé les chercheurs à imputer la mutation selon la race et selon d'autres SNPs du *VKORC1* qui sont en déséquilibre de liaison avec le rs9923231.

En août 2007, la FDA a approuvé l'ajout d'information sur la pharmacogénomique dans la monographie de la warfarine. Même si les variantes génétiques de *CYP2C9* et de *VKORC1* figurent désormais sur la liste des aspects à prendre en considération dans la prescription de warfarine, les recommandations précises sur la posologie n'ont pas changé. Le médecin n'est pas tenu de prescrire une analyse génétique avant d'instaurer

le traitement par la warfarine, et l'analyse génétique ne saurait retarder le début du traitement. La FDA a également ajouté un complément d'information génétique à la monographie du 6-mercaptopurine, de l'azathioprine, de l'irinotécan et de l'atomoxetine.

8.6 Autres alternatives thérapeutiques sur le marché

Plusieurs nouveaux anticoagulants sont soit en cours de développement ou ont été récemment mis sur le marché. Ainsi, le rivaroxaban (inhibiteur du facteur Xa) et le dabigatran (antagoniste du récepteur de la thrombine) [88] étaient à l'étude dans des essais cliniques de phase trois en thromboprophylaxie postopératoire dans l'arthroplastie totale du genou ou de la hanche, dans la prévention et le traitement de la thromboembolie veineuse et en prévention de l'accident vasculaire cérébral en présence de fibrillation auriculaire. Le point important à souligner, en ce qui concerne ces nouveaux médicaments, est qu'il n'y a pas de participation du CYP 450. Santé Canada a approuvé en 2010 la commercialisation de PRADAX (dabigatran etexilate) pour la prévention de l'AVC et de l'embolie systémique chez les adultes souffrant de fibrillation auriculaire pouvant recevoir une anticoagulothérapie. Le dabigatran est un inhibiteur direct oral et réversible de la thrombine qui exerce un effet anticoagulant en bloquant l'activité de la thrombine de façon spécifique et sélective. L'approbation au Canada de ce médicament pour la prévention de l'AVC dû à la fibrillation auriculaire est fondée sur les données obtenues grâce à l'étude RE-LY (Randomized Evaluation of Long term anticoagulant therapy) publiée en 2009 dans le New England Journal of Medicine [89]. Par ailleurs, ce médicament a été approuvé depuis juin 2008 par Santé Canada comme solution de rechange pour la thromboprophylaxie post arthroplasties électives de la hanche et du genou, mais il n'est pas remboursé par la RAMQ. La commercialisation de ce type de médicament a plusieurs impacts sur la warfarine, car il y a plusieurs avantages potentiels de l'utilisation du dabigatran ou du rivaroxaban versus celle de la warfarine : moins d'interactions médicamenteuses, suivi sanguin non nécessaire,

meilleure compliance, moins de cessation de traitement, index thérapeutique plus large et moins de variabilité interindividuelle. Par contre, il ne faut pas oublier que le dabigatran coûte beaucoup plus cher que la warfarine. Le dabigatran (220 mg) coûte environ 250 \$ pour 30 jours alors que la warfarine coûte seulement 5 \$ pour la même période. Bien sûr, il faut rajouter au prix de la warfarine les coûts liés au suivi du patient et des prises d'INR. Enfin, soulignons que le rivaroxaban est également commercialisé au Canada depuis 2008.

9. Conclusion

Au total, selon les dernières études, l'analyse combinée des polymorphismes de *CYP2C9* et de *VKORC1* permet d'expliquer 30 à 40 pour cent de la variabilité individuelle de la dose à l'équilibre de warfarine, et donc de la réponse au traitement. En prenant également en compte l'âge et la taille du patient, il est alors possible d'expliquer plus de 50 pour cent de la variabilité de cette réponse. Des modèles de prédiction de dose de warfarine à l'équilibre intégrant ces paramètres sont actuellement proposés. Avec un génotypage rapide de *VKORC1* et du *CYP2C9* avant l'instauration du traitement d'anticoagulation avec warfarine, et la prise en compte des facteurs démographiques et cliniques, la dose de warfarine requise pourrait être a priori déterminée, ce qui éviterait les surdosages dangereux durant la période de stabilisation. Étant donné le risque accru de surdosage chez les patients porteurs d'allèles mutés du *VKORC1* ou du *CYP2C9*, ces patients à risque pourraient bénéficier d'une prise en charge plus étroite avec une surveillance accrue de leur INR lors de la période de stabilisation. Mais avant d'instaurer l'individualisation des thérapies de warfarine dans la pratique clinique, il est essentiel de démontrer la justesse des algorithmes pharmacogénétiques de prédiction des doses de warfarine. Pour le moment, très peu de données sur la validité d'algorithmes publiés qui utilisent la génétique sont actuellement disponibles pour une population non restreinte. Notre projet de recherche avait donc pour but de valider des algorithmes pharmacogénétiques visant à prédire les doses de warfarine, plus particulièrement de valider les algorithmes de Gage [66], de Michaud

[67] et de l'IWPC [71]. Nous avons effectué une évaluation réaliste de la précision de ces trois algorithmes génétiques de warfarine, ainsi qu'une étude sur la pertinence d'ajouter des covariables additionnelles dans le but d'augmenter la précision du dosage de warfarine chez les patients nouvellement anticoagulés. Notre étude est, à notre connaissance, l'une des premières à évaluer la validité réelle des algorithmes pharmacogénétiques de prédiction de doses de warfarine dans une population canadienne.

Méthodologie

1. Objectifs de l'étude

Les objectifs de cette étude de validation étaient d'évaluer la corrélation entre la dose prédite par les algorithmes pharmacogénétiques et la dose thérapeutique observée de warfarine dans une population de patients non-sélectionnée qui initie une thérapie de warfarine. Les algorithmes évalués sont les algorithmes de Gage *et al.*,[66] de Michaud *et al.*,[67] et de l'International Warfarin Pharmacogenetics Consortium (IWPC).[71] L'objectif secondaire consistait à évaluer la précision d'un modèle prédictif contenant des covariables additionnelles dans le but de prédire la dose de warfarine.

1.1 Hypothèses

Nous avons émis l'hypothèse selon laquelle un algorithme publié qui inclut les prédicteurs génotypiques et phénotypiques va surclasser les algorithmes existants en ce qui concerne la prédiction des doses nécessaires de warfarine dans une population réelle non-sélectionnée.

2. Méthodes

Nous avons effectué une étude de cohorte rétrospective sur les thérapies de warfarine dans le but d'évaluer le pouvoir de prédiction des doses nécessaires de trois algorithmes pharmacogénétiques publiés dans la littérature. 605 patients qui ont débuté un traitement d'anticoagulation à la clinique de warfarine de l'Institut de Cardiologie de Montréal ont été sélectionnés. Ces patients ont été suivis de façon rétrospective jusqu'à la fin de la période de stabilisation, qui correspond au moment où l'INR thérapeutique est atteint. Il faut noter que dans le cadre de ce projet, la période de stabilisation était définie comme étant les trois premières mesures consécutives d'INR qui sont dans l'intervalle

de l'INR cible du patient et qui couvrent un minimum de 14 jours avec au minimum 3 jours entre les prises d'INR. Nous avons obtenu les données démographiques et cliniques des patients, les données d'INR des sujets, les informations quant à la raison de prise de warfarine, la date de début de consommation de warfarine, les doses de départ et de stabilisation de warfarine, ainsi que l'intervalle d'INR cible des patients. Soulignons que la principale cause de consommation de warfarine est la fibrillation auriculaire (63.9 %) et le remplacement de valve mécanique (16.4 %). L'intervalle d'INR cible était fixé entre 2 et 3 pour 82 pour cent des patients. La collecte des données fut effectuée grâce à l'évaluation des dossiers médicaux et des dossiers de la clinique d'anticoagulothérapie entre janvier et juillet 2010. La prédiction des doses nécessaires pour obtenir l'INR thérapeutique fut obtenue d'après les méthodes de Gage *et al.*, de Michaud *et al.* ainsi que de l'IWPC.

2.1 Sources de données

Nous avons utilisé les données provenant de 605 patients pour lesquels nous détenons les prises d'INR, les doses de warfarine, les données génétiques et les données démographiques dans le cadre d'une étude rétrospective à l'Institut de Cardiologie de Montréal. Ces 605 patients incluent 336 patients qui ont été recrutés dans le cadre du projet de cohorte hospitalière (biobanque) de l'Institut, ainsi que 269 patients qui ont été recrutés dans le cadre d'un projet sur la fibrillation auriculaire et la prise d'amiodarone d'une autre étudiante à la maîtrise. Nous ferons référence à ce dernier groupe de patients en tant que cohorte de fibrillation auriculaire (FA). Pour les patients de la cohorte hospitalière, les données démographiques et cliniques étaient recueillies grâce à des questionnaires. Les patients qui acceptaient de faire partie de la cohorte hospitalière rencontraient une infirmière pour une entrevue de une à deux heures. Pendant cette entrevue, l'infirmière remplissait le questionnaire à l'aide des réponses du patient, du dossier médical ainsi que de données médicales informatisées. Les informations qui étaient recueillies incluent des informations sur la taille, le poids, les caractéristiques

sociodémographiques, les habitudes de vie, les histoires familiales de maladies cardiovasculaires, l'histoire médicale personnelle telle que les allergies, les cancers et les maladies cardiovasculaires, et finalement les examens et tests réalisés. Pour les patients de la cohorte hospitalière, les données sur les comédications ont été obtenues en faisant une revue exhaustive des dossiers médicaux. En ce qui a trait aux données d'INR et de prise de warfarine, elles ont été recueillies en révisant les dossiers de la clinique d'anticoagulothérapie de l'Institut de Cardiologie de Montréal. En ce qui concerne les patients de la cohorte de fibrillation auriculaire, il faut noter que leurs informations démographiques et cliniques ont été obtenues grâce à la revue des dossiers médicaux, réalisée par une étudiante de l'équipe de Dr. Marie-Pierre Dubé. Les informations sur la thérapie de warfarine et sur les INR ont été recueillies en révisant les dossiers de la clinique d'anticoagulothérapie de l'Institut de Cardiologie de Montréal.

2.2 Critères d'inclusion et d'exclusion

Les patients de la clinique de warfarine de l'Institut de Cardiologie de Montréal qui se présentent pour leur première visite au jour 4 suite à l'initiation de traitements ou qui se présentent pour un suivi régulier étaient éligibles à l'entrée dans le groupe de population source de l'étude. Les patients n'ont pas été exclus pour des raisons de médication concomitante ou pour la durée attendue du traitement. Par contre, les patients ont été exclus s'ils n'ont pas eu de suivi à l'Institut de Cardiologie de Montréal dans les six derniers mois. Tous les patients sont traités pour des maladies artérielles cardiovasculaires et nécessitent une mesure d'INR cible entre 2 et 4. Les patients doivent être âgés de 18 ans ou plus. Soulignons que les patients avaient déjà accepté de donner 15 ml de sang pour les analyses génétiques pour lesquels l'ADN avait été isolé. Les suivis cliniques correspondent au monitoring standard selon le protocole de thérapie d'anticoagulation de l'Institut de Cardiologie de Montréal. En ce qui concerne les patients de la biobanque, toutes les personnes ayant eu recours aux services de l'ICM sont éligibles pour faire partie de la biobanque de la cohorte hospitalière. Pour ce

qui est de la cohorte de fibrillation auriculaire, les patients devaient avoir un diagnostic validé de fibrillation auriculaire ou de flutter, avoir débuté la thérapie de warfarine avant le 1^{er} août 2005, avoir un suivi d'au moins 36 mois et être âgé de moins de 68 ans. Ces patients ont été recrutés entre janvier 2007 et février 2008. Les patients qui souffraient d'insuffisance hépatique chronique étaient exclus de l'étude.

2.3 Génotypage

Le génotypage fut effectué sous la supervision du Dr. Phillips au Centre de Pharmacogénomique à l'aide d'une plateforme Sequenom (figure 4). Son équipe a une grande expertise dans le développement d'essais de génotypage pour différents types de plateaux de génotypage. En ce qui concerne les SNP du *CYP2C9*, il faut noter qu'un nombre important de polymorphismes ont été identifiés, dont les plus importants sont le *CYP2C9*2* (rs1799853) et le *CYP2C9*3* (rs1057910). Ces allèles causent une baisse de l'activité enzymatique ce qui entraîne une hausse de la concentration de warfarine et donc un effet d'anticoagulation exacerbé. L'allèle le plus commun correspond au *CYP2C9*1* et représente la référence, c'est-à-dire l'allèle actif normal. En ce qui a trait au *VKORC1*, il est important de souligner que plusieurs polymorphismes ont été identifiés dans ce gène, ces derniers étant associés à une déficience des facteurs de coagulation dépendants de la vitamine K. Nous avons sélectionné 52 SNPs dans 30 gènes candidats pour le génotypage des patients de ce projet. Les SNP rs1799853 et rs1057910 du *CYP2C9* ont été génotypés, ainsi que six SNP du *VKORC1* et des SNP de gènes qui ont la possibilité d'avoir un impact sur le métabolisme de la warfarine ou sur la réponse du patient à ce médicament. Une liste des variants génotypés lors de ce projet est présentée au tableau IV. Les étapes du génotypage sont illustrées à la figure 4. La méthode de génotypage à l'aide de la plateforme MassARRAY de Sequenom permet d'obtenir des données de haute qualité basées sur la détection de masse spécifique et est idéale pour interroger environ 40 SNP sur jusqu'à 384 échantillons. La technologie iPLEX Gold repose sur la technique biochimique d'extension d'amorce à base unique, et les essais peuvent être multiplexés, ce qui permet un rendement allant jusqu'à 150000

génotypes par jour, par instrument. Le processus débute avec la liste de SNP qui est soumise au logiciel de conception d'essais. Des amplicons entre 80 et 100 nt sont ensuite ciblés, et une liste d'amorces pour la réaction PCR est créée, puis la réaction d'extension iPLEX est effectuée. Cette étape est suivie du traitement SAP («shrimp alkaline phosphatase») pour permettre la déphosphorylation des dNTP et des amorces PCR non utilisés. Viennent ensuite la réaction iPLEX, qui correspond à une réaction d'extension d'une base des différentes amorces de masse multiplexées adjacente à chaque SNP avec un cocktail universel, et le nettoyage à la résine. Les produits finaux, une solution d'ADN contenant les produits de la réaction iPLEX, sont transférés de la microplaque à une micropuce en silicone à l'aide du nanodispenser MassARRAY. La masse des allèles de chaque SNP est déterminée par spectrométrie de masse sur le MassARRAY et les résultats sont analysés avec un logiciel. Il est important de spécifier que dans ce projet tous les SNPs ont été testés pour l'équilibre Hardy-Weinberg.

Tableau IV : Liste des SNPs génotypés dans ce projet

Gène	SNP	Gène	SNP
ABCB1	rs1128503 rs1045642 rs2229109	NR1I2	rs12714145 rs13059232 rs10934498 rs1357459 rs4440154 rs6772976 rs2461823 rs6771638 rs7643645
APOE	rs405509 rs440446 rs7412 rs429358 rs449647	NR1I3	rs2307424 rs2502815 rs2501873 rs3003596
CACNA1C	rs216013	PROC	rs2069919 rs973760 rs2069901 rs2069921 rs1799809
CYP3A5	rs10264272 rs776746	PROS1	rs8178607 rs13062355
CYP4F2	rs12609820 rs2108622	STX4	rs10871454
EPHX1	rs1051740 rs2234922 rs2292566 rs4653436 rs10915878 rs2260863 rs4559463	VKORC1	rs9923231 rs9934438 rs7294 rs17708472 rs2359612 rs7200749
F2	rs3136447 rs5896	GGCX	rs12714145
CYP2C9	rs1799853 rs1057910		

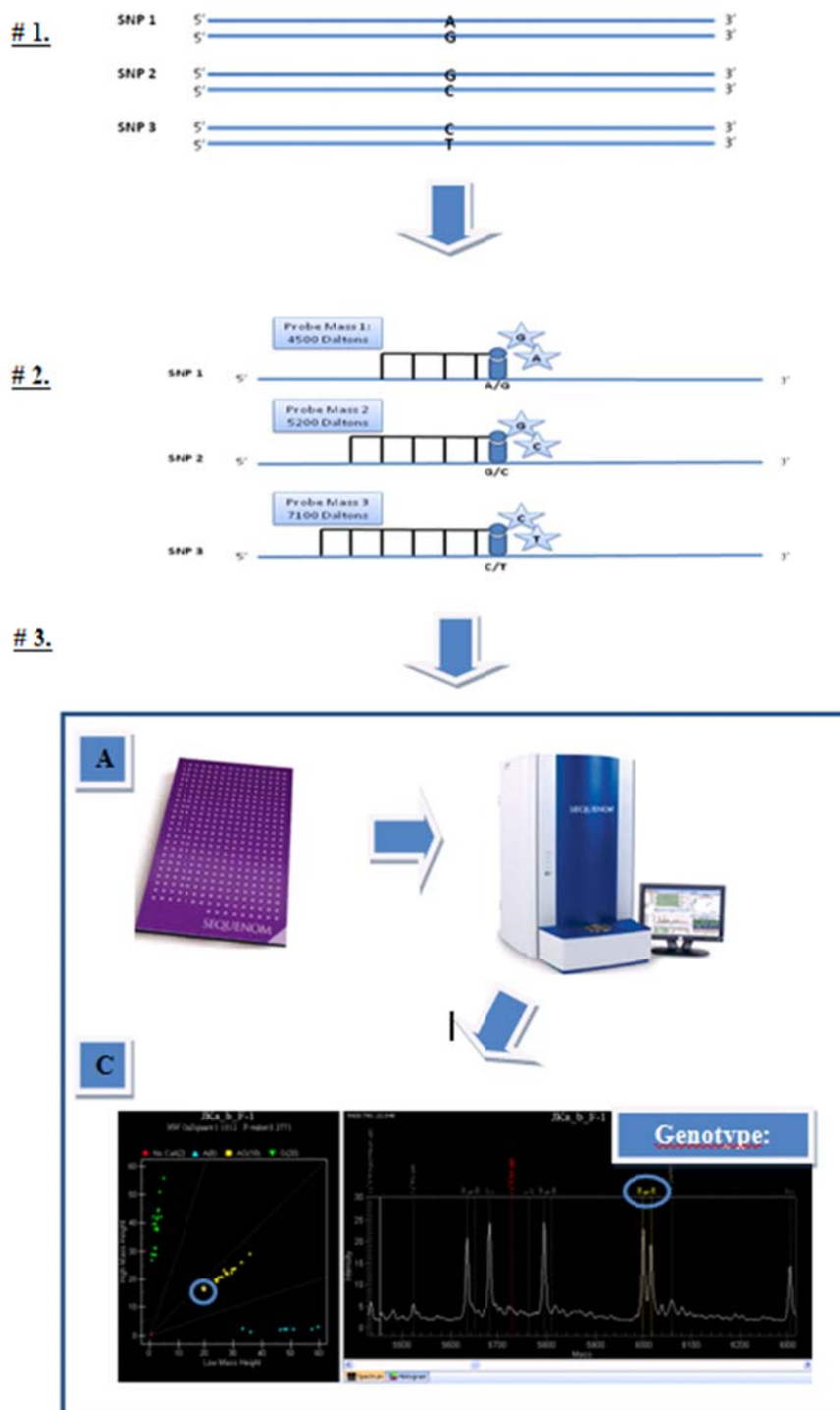


Figure 4 : Étapes du génotypage avec plateforme Sequenom

2.4 Devis

Nous avons utilisé un devis de cohorte rétrospective. Les études de cohorte rétrospectives peuvent généralement être effectuées beaucoup plus rapidement et de façon plus économique que les études prospectives, puisque tous les évènements pertinents se sont déjà produits au commencement de l'étude. Par contre, puisque les études de cohorte rétrospective évaluent habituellement des expositions qui se sont produites plusieurs années auparavant, elles sont dépendantes de la disponibilité des données adéquates d'exposition provenant de dossiers préexistants. De surcroît, ces données sont souvent récoltées à des fins autres que l'examen des hypothèses d'intérêt, ce qui peut donner lieu à des informations incomplètes ou non comparables pour les sujets de l'étude. Or, dans notre cas, les données sur les facteurs confondants potentiels tels que le statut de fumeur, la comédication, les comorbidités ainsi que d'autres données importantes étaient disponibles pour tous les sujets puisque les dossiers de l'ICM étaient à notre disposition.

3. Mesures

3.1 Variable dépendante

La prédiction à l'aide d'algorithmes génétiques de la dose de warfarine requise est l'issue principale de l'étude. Rappelons que la dose de warfarine requise pour atteindre l'INR thérapeutique varie énormément entre les patients [71]. La stabilité thérapeutique fut définie par les trois premières mesures consécutives d'INR se trouvant dans l'intervalle cible du patient et couvrant au minimum 14 jours avec au moins trois jours entre les relevés. La période stable débute à la première mesure de cette série et la première dose stable correspond à la dose quotidienne consommée à la visite de la troisième mesure d'INR mentionnée précédemment. La moyenne de toutes les doses administrées au patient lors de l'anticoagulation stable constitue la dose de stabilisation.

Nous avons analysé la capacité de détermination de la dose de warfarine de trois algorithmes publiés en pharmacogénomique.

3.2 Variable indépendante

La variable indépendante correspond aux algorithmes pharmacogénétiques de prédiction de la dose. Dans le but d'évaluer la performance des algorithmes pharmacogénétiques dans une population de patients non-sélectionnée qui consomment de la warfarine, nous avons utilisé les prédictions obtenues grâce à l'étude de Gage *et al.* Cette étude a une grande importance car elle fournit un algorithme basé sur une grande cohorte et validé dans une étude prospective. Les interactions médicamenteuses entre la warfarine et l'amiodarone sont particulièrement bien étudiées dans l'algorithme de Gage *et al.*

Nous avons également évalué l'algorithme de Michaud *et al.* L'équipe du Dr. Michaud a publié un algorithme qui inclut les variantes génétiques, les mesures cliniques ainsi que l'INR au jour 4 suite à l'initiation de la thérapie de warfarine. Dans l'étude de Michaud *et al.*, une approche innovatrice a été utilisée puisque les chercheurs ont combiné l'évaluation phénotypique et la détermination génotypique des polymorphismes *CYP2C9* et *VKORC1*. L'algorithme issu de cette combinaison explique 51 pour cent de la variabilité inter-sujet en ce qui concerne la dose de warfarine. Pour l'INR au jour 4, l'INR est divisé par la dose moyenne de warfarine calculée pour les trois premiers jours puisque différents protocoles d'initiation étaient utilisés. Cette valeur (INR au jour 4/dose) est utilisée comme marqueur phénotypique pour prédire la dose de warfarine. La dernière variable de l'algorithme correspond à la valeur observée de l'INR au jour 14.

Par ailleurs, l'algorithme publié par l'International Warfarin Pharmacogenetics Consortium a permis de développer un algorithme de prédictions de doses chez des

patients provenant de cinq continents. Cette équation permet d'expliquer 47 % de la variabilité des doses de warfarine.

Dans cette étude, nous avons comparé le pouvoir de prédiction des doses des trois algorithmes à la prédiction des pratiques cliniques actuelles. Les algorithmes étudiés sont les suivants :

Gage *et al.* : Dose (mg/jour): $\exp[0.9751 - 0.3238 \times \text{VKOR3673G>A} + 0.4317 \times \text{BSA} - 0.4008 \times \text{CYP2C9}^*3 - 0.00745 \times \text{âge} - 0.2066 \times \text{CYP2C9}^*2 + 0.2029 \times \text{INR cible} - 0.2538 \times \text{amiodarone} + 0.0922 \times \text{fumeur} - 0.0901 \times \text{race Afro-Américaine} + 0.0664 \times \text{DVT/PE}]$

Michaud *et al.* : Dose (mg/jour): $4.438 - 0.046 \times \text{âge (années)} + 1.400 \times \text{BSA (M}^2) - 3.223 \times \text{INR (jour 4)/dose} - 0.599 \times \text{CYP2C9}^*1^*x - 1.443 \times \text{CYP2C9}^*x^*x + 0.282 \times \text{VKORC1 9041 G/A} + 1.284 \times \text{VKORC 1 9041 A/A} - 0.107 \times \text{au moins un allèle VKORC1 3673 A} + 0.279 \times \text{INR (jour 14)}$

IWPC : Dose (mg/semaine) = $[5.6044 - 0.2614(\text{âge}) + 0.0087(\text{taille}) + 0.0128(\text{poids}) - 0.8677(\text{VKORC1 A/G}) - 1.6974(\text{VKORC1 A/A}) - 0.4854 (\text{VKORC1 inconnu}) - 0.5211(*1/*2) - 0.9357(*1/*3) - 1.0616(*2/*2) - 1.9206(*2/*3) - 2.3312(*3/*3) - 0.2188 (\text{CYP2C9 inconnu}) - 0.1092(\text{Asiatique}) - 0.2760(\text{Noir ou afro-américain}) - 0.1032 (\text{race inconnue ou mixte}) + 1.1816(\text{phénytoïne, carbamazépine ou rifampicine}) - 0.5503(\text{amiodarone})]^2$

4. Covariables

Les variables qui ont été prises en considération lors des analyses incluent l'intensité du traitement d'anticoagulation, l'âge, le sexe, les variables génétiques (les 52 SNPs), les variables phénotypiques, les raisons du traitement, les comorbidités (hypertension, accident cérébrovasculaire/accident ischémique transitoire, antécédents de saignement gastro-intestinal, infarctus du myocarde récent, anémie avec hémocrite

< 0.30, insuffisance rénale, diabète, cancer), l'utilisation concomitante d'aspirine et l'utilisation d'autres médicaments ayant des interactions avec la warfarine (annexe 1).

5. Analyses statistiques

Les analyses portaient dans un premier temps sur les statistiques descriptives de la cohorte. Les moyennes ont été utilisées pour les variables continues et les proportions pour les variables dichotomiques ou catégorielles. Les données sont présentées comme des moyennes avec intervalles de confiance ou comme un pourcentage des variables continues ou catégorielles, respectivement. Nous avons comparé la prédiction des doses des trois algorithmes à la prédiction observée en pratique clinique actuelle. De plus, nous avons également comparé les algorithmes pharmacogénétiques à l'approche à dose fixe, c'est-à-dire à la stratégie de débiter la thérapie d'anticoagulation avec 5 mg de warfarine par jour pour tous les patients. Les deux approches principales pour valider les algorithmes correspondent au coefficient de corrélation de Pearson et à l'erreur absolue moyenne. L'erreur absolue moyenne consiste en la différence entre la dose prédite par les algorithmes et la dose observée thérapeutique du patient à l'ICM. Les coefficients de corrélation de Pearson ont été utilisés pour évaluer la corrélation entre la dose prédite de warfarine des trois algorithmes et la dose permettant d'atteindre l'INR thérapeutique dans l'environnement clinique réel.

Pour établir une validité clinique des algorithmes pharmacogénétiques, nous avons calculé la proportion de patients pour lesquels la dose prédite se situait entre 80 % et 120 % de la dose observée, ce qui correspond à une dose prédite idéale. De plus, nous avons également calculé la proportion de patients pour lesquels la dose prédite était inférieure de 20 % ou plus de la dose observée (sous-estimation) ou encore supérieure à 20 % ou plus de la dose observée (surestimation). Par ailleurs, pour comparer la performance des algorithmes plus en profondeur, nous avons divisé les sujets de l'étude en groupe de patients nécessitant moins de 21 mg de warfarine par semaine (faible

dose), entre 21 et 49 mg par semaine (dose intermédiaire) et plus de 49 mg par semaine (haute dose). Cette stratégie a été utilisée car le International Warfarin Pharmacogenetics Consortium a montré que la pharmacogénétique était la plus utile pour prédire les doses de warfarin chez les patients nécessitant de faible ou haute doses de warfarine.

Enfin, la régression linéaire multiple a été utilisée pour évaluer si d'autres covariables non incluses dans les algorithmes actuels pouvaient améliorer la précision des modèles pharmacogénétiques de prédiction de doses de warfarine. Les variables incluses dans la régression linéaire multiple incluent l'âge, l'INR cible, les variants génétiques, l'aire de surface corporelle, l'état de fumeur, les comorbidités ainsi que les comédications. En ce qui concerne les comédications, nous avons identifié les patients qui prennent des médicaments qui peuvent affecter le métabolisme de la warfarine (appendice 1). Nous avons regroupé ces médicaments selon leur effet sur l'INR (augmentation ou diminution). Plus particulièrement, les médicaments ont été rassemblés en huit variables pour la régression linéaire multiple et codé 0 si absent ou 1 si présent. Les groupes de médicaments sont : 1) médicaments qui diminuent l'effet de la warfarine (rifampin, phénytoin, carbamazépine, phenobarbital et cyclosporine); médicaments qui augmentent l'effet de la warfarine, tels que 2) inhibiteurs de la pompe à proton (omeprazole, lansoprazole, esomeprazole, *etc.*); 3) statines (simvastatine, fluvastatine, rosuvastatine, *etc.*); 4) propafénone ou amiodarone; 5) antibiotiques (amoxicilline, triméthoprim, érythromycine, ciprofloxacine, *etc.*); 6) médicaments pour le système nerveux (quetiapine, clomipramine, paracétamol, disulfiram); médicaments qui ont un effet à part sur l'INR, tels que 7) aspirine ou codéine ou AINS (indométacine, ibuprofène, naproxen, *etc.*); et 8) inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (citalopram, paroxétine, sertraline, *etc.*).

Soulignons le fait que des analyses de sensibilité ont été réalisées afin de s'assurer que les différences entre les patients de la cohorte hospitalière et de la cohorte de fibrillation auriculaire n'affectaient pas nos résultats. Toutes les analyses ont été

réalisées avec le logiciel SAS version 9.1 (SA Institute, Cary, North Carolina, USA) et avec un niveau α de 0,05 comme seuil de signification statistique.

6. Calcul de la taille d'échantillon

Nous avons réalisé une étude comprenant 605 patients qui ont débuté une thérapie de warfarine à l'Institut de Cardiologie de Montréal. Des tailles d'échantillons de 407 dans chaque groupe d'étude (par algorithme pharmacogénétique) permettent d'atteindre une puissance de 80 pour cent pour détecter une différence de 10 pour cent des doses prédites sous l'hypothèse nulle que les proportions des groupes sont de 50 pour cent (algorithme 1) et sous l'hypothèse alternative que la proportion du groupe 2 est de 60 pour cent (algorithme 2) et ce en utilisant un test du chi-deux bilatéral avec correction continue et un seuil de 0.05.

Tableau V : Calculs de puissance pour la prédiction des doses de warfarine permettant d'atteindre l'INR thérapeutique

Puissance	Taille d'échantillon	Taille d'échantillon	Proportion des doses prédites par Gage <i>et al.</i>	Proportion des doses prédites par Michaud <i>et al.</i>	Alpha
0.80046	186	186	45 %	60 %	0.05
0.80067	407	407	50 %	60 %	0.05
0.80160	183	183	50 %	65 %	0.05

7. Considérations éthiques

Toutes les données qui ont été utilisées pour la réalisation de ce projet sont et demeureront confidentielles. Le protocole a été soumis et approuvé par le comité d'éthique de l'Institut de Cardiologie de Montréal et de l'Université de Montréal.

Article

ACCORD DES COAUTEURS

Déclaration des coauteurs d'un article

1. Identification de l'étudiant et du programme

Mélina Marin-Leblanc

Msc. Sciences Pharmaceutiques
Médicaments et Santé des Populations

2. Description de l'article

M Marin-Leblanc, S Perreault, I Bahroun, M Lapointe, I Mongrain, S Provost, J Turgeon, M Talajic, R Brugada, M Phillips, J-C Tardif, and M-P Dubé

Validation of warfarin pharmacogenetic algorithms in real clinical practice

L'article a été soumis à Clinical Pharmacology & Therapeutics.

3. Déclaration de tous les coauteurs autres que l'étudiant

À titre de coauteur de l'article identifié ci-dessus, je suis d'accord pour que *Mélina Marin-Leblanc* inclut cet article dans son mémoire de maîtrise qui a pour titre *Étude pharmacogénomique de la warfarine en situation clinique réelle*.

Sylvie Perreault

Coauteur	Signature	Date
----------	-----------	------

Imen Bahroun

Coauteur	Signature	Date
----------	-----------	------

Mathieu Lapointe

Coauteur	Signature	Date
----------	-----------	------

Ian Mongrain

Coauteur	Signature	Date
----------	-----------	------

ACCORD DES COAUTEURS (SUITE)**Sylvie Provost**

Coauteur	Signature	Date
----------	-----------	------

Jacques Turgeon

Coauteur	Signature	Date
----------	-----------	------

Mario Talajic

Coauteur	Signature	Date
----------	-----------	------

Ramon Brugada

Coauteur	Signature	Date
----------	-----------	------

Michael Philipps

Coauteur	Signature	Date
----------	-----------	------

Jean-Claude Tardif

Coauteur	Signature	Date
----------	-----------	------

Marie-Pierre Dubé

Coauteur	Signature	Date
----------	-----------	------

Validation of warfarin pharmacogenetic algorithms in real clinical practice

M Marin-Leblanc¹, S Perreault¹, I Bahroun^{2,3}, M Lapointe¹, I
Mongrain⁴, S Provost², J Turgeon^{1,5}, M Talajic^{2,6}, R Brugada², M
Phillips^{2,4,6}, J-C Tardif^{2,4,6}, and M-P Dubé^{2,6}

1. Faculté de Pharmacie, Université de Montréal, Montreal, Quebec, Canada
2. Montreal Heart Institute, Montreal, Quebec, Canada
3. Département de Pharmacologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal, Montreal, Quebec, Canada
4. Beaulieu-Saucier Université de Montréal Pharmacogenomics Centre, Montreal, Quebec, Canada
5. CRCHUM, Research Center, Centre Hospitalier Université de Montréal, Montreal, Quebec, Canada
6. Département de Médecine, Faculté de Médecine, Université de Montréal, Montreal, Quebec, Canada

Correspondence should be addressed to:

Marie-Pierre Dubé, PhD
Montreal Heart Institute, Research Centre
5000, Belanger
Montreal, Qc, H1T 1C8
Phone: (514) 376-3330, ext 2298
Fax: (514) 376-1355

ABSTRACT

The goal of this study was to evaluate the performance of three warfarin pharmacogenetic algorithms in a real clinical setting, namely the algorithms of Gage *et al.*, Michaud *et al.*, and the IWPC algorithm. Data was obtained retrospectively for 605 patients who had initiated warfarin therapy at the Montreal Heart Institute. Warfarin dosing and INR history were obtained from hospital charts and CYP2C9 and VKORC1 polymorphisms were genotyped. Mean absolute error (MAE) and Pearson correlation between predicted and observed doses (R) were used to validate and compare the algorithms. The Gage algorithm explained most of the variation (adjusted $R^2=44\%$ and $MAE=1.41 \pm 0.06$) and predicted 43.8% of patients within $\pm 20\%$ of their observed stable warfarin dose. Michaud's and the IWPC algorithms respectively had a MAE of 1.37 and 1.48 mg/day and a coefficient of determination of 45% and 43%. Gage's algorithm was the most accurate for predicting stable warfarin dose in our study population.

Keywords: Warfarin, Pharmacogenetics, Algorithms, Genotypes, Dose

Word count: 3756

Number of Tables: 4

Number of Figures: 3

Conflict of interest: None

INTRODUCTION

Warfarin is the most widely used oral anticoagulant to treat and prevent thromboembolism. It has a narrow therapeutic range, and small dose variations may result in haemorrhage or thrombosis. The effectiveness and safety of warfarin is highly dependent on maintaining the prothrombin time, expressed as the international normalized ratio (INR), within the therapeutic range. The recent identification of genetic variants that influence the metabolism of the drug has attracted considerable attention for the potential use of pharmacogenetics to personalize warfarin therapy. CYP2C9 metabolises the most pharmacologically active enantiomer of warfarin, S-warfarin, while vitamin K epoxide reductase (VKORC1) is the enzyme inhibited by warfarin.[1, 2]

In addition, non-genetic factors such as age, body surface area (BSA), concomitant drug use, weight, gender, comorbidities, and dietary intake of vitamin K, might also influence patient's response to warfarin. Genotype-guided warfarin dosing has been the focus of much attention as an example of pharmacogenetics in clinical practice. In the mean time, warfarin ranks among the top ten medications associated with adverse events, particularly bleeding. For each year of exposure, bleeding at any level of severity is observed in 7.6% to 16.5% of warfarin users and serious haemorrhages are observed at a rate of 1.3 to 4.2 per 100 patients.[3, 4] These observations lead the Food and Drug Administration to update the prescribing information for Coumadin® (warfarin) in 2007 to

reflect the impact of polymorphisms of the CYP2C9 and VKORC1 genes on warfarin metabolism and required dose.[5, 6]

The relative contribution of polymorphisms in the CYP2C9 and VKORC1 genes to warfarin dosing has been studied extensively in various patient populations.[7, 8] Among those studies, several investigations demonstrated the benefits of using VKORC1 and CYP2C9 in predicting patients' stable warfarin dose. The study of Gage *et al.* [9] led to the development of a popular algorithm that has been made available online and can be freely used by clinicians. In their prospective study, the pharmacogenetic model explained 54% of the variability in the stable therapeutic warfarin dose, while the clinical equation explained only 17%. Unfortunately, all concomitant medications were not ascertained in this study. Michaud *et al.* [10] published an algorithm that could explain 51% of variability in short term warfarin dose requirements (day 14) in heavily medicated hospitalized patients which included genetic variants, clinical measures and INR measurement at day-4 after initiation of therapy. In 2009, the International Warfarin Pharmacogenetics Consortium developed a warfarin dosing algorithm based on data from 4043 patients. The greatest benefits obtained with this algorithm were observed in the 46.2 % of the patients that required 21 mg or less of warfarin per week or 49 mg or more per week of warfarin for therapeutic anticoagulation.[11]

Despite the publication of numerous pharmacogenetic warfarin dosing algorithms [12] [13] [14] [15], very few studies compared the performance of these algorithms in a real clinical setting. In order to establish genetic strategies of warfarin therapy into

common practice, it is essential to demonstrate the validity of warfarin dosing algorithms in real clinical practice. We here evaluate the correlation between the predicted dose of three pharmacogenetic algorithms and the observed stable therapeutic dose, in an unselected patient population initiating warfarin treatment. The algorithms evaluated in this study were the International Warfarin Pharmacogenetics Consortium (IWPC) algorithm[11] and Gage's algorithm[9] for predicted warfarin dose regimens at first stable therapeutic INR as well as Michaud's algorithm[10] for predicted warfarin dose at day 14 of treatment.

RESULTS

Demographics

All 605 study participants consented for this project. Demographic and clinical data of the final 605 subjects included in the data analysis are summarized in Table 1. The study included 414 men (68.43%) and 191 women (31.57%), and mean age (\pm SD) was 66.6 ± 10.6 with a range of 24 to 93 years. Subjects from the atrial fibrillation (AF) group were slightly younger and had a higher proportion of men. The primary indications for warfarin therapy were atrial fibrillation (63.9%) (chronic, paroxysmic or post-operative included), mechanical valve replacement (16.4%) and flutter (8.9%). The INR target range was 2-3 in 82.03% of patients and 2.5-3.5 for others.

The mean therapeutic warfarin dose was 5.18 ± 2.48 mg per day in the study population. In our cohort, 63.4% of patients suffered from hypertension, 66.7% from dyslipidemia, 7.4% from renal failure and 5.6% from hyperthyroidism. A large proportion of patients were receiving concurrent medication known to potentially alter warfarin pharmacokinetics or pharmacodynamics, such as: amiodarone (20.8%); aspirin (42.7%); proton-pump inhibitors (3.2%); and statins (10.3%). All patients were genotyped. CYP2C9 and VKORC1 genotype frequencies are presented in Table 1. Allele frequencies for CYP2C9*1, CYP2C9*2, and CYP2C9*3 were 0.812, 0.122, and 0.066, respectively. These allele frequencies are similar to the 12.2 % and 7.9 % reported in the European white population.[16] All genotypes were in Hardy-Weinberg equilibrium.

Maintenance dose vs. number of variants

A study by Anderson *et al.* suggested that the number of variant alleles carried by a patient, not considering the type of mutation, can have a linear association with the therapeutic warfarin dose.[15] This trend was confirmed in our study (Figure 2) for the observed stable warfarin dose of each patient with respect to the number of variants in CYP2C9 and VKORC1. The average observed daily therapeutic dose for the wild-type group was 7.21 ± 2.94 mg, while the average observed daily therapeutic dose for patients carrying four variants was 1.3 ± 1.01 mg.

Validation of pharmacogenetic algorithms

We calculated the predicted dose for each patient with all three algorithms. Comparison of the validity of each algorithm in our cohort is summarized in Figure 3. Results show that all models produced similar correlation between the predicted dose and the dose observed in real clinical practice. The stable therapeutic dose was predicted with similar accuracy for the algorithms of Gage *et al.*[9] with MAE of 1.41 (SE=0.06) mg per day and R^2 of 44% and the IWPC algorithm [11] with MAE of 1.48 (SE=0.06) mg per day and R^2 of 43%. Michaud's algorithm when applied to stable therapeutic dose instead of dose at day-14 as originally intended by the authors, presented a higher mean absolute error of MAE=2.06 (SE=0.08) mg per day with R^2 of 28%. However, when we compared the dose predicted by Michaud's algorithm and dose at day-14 of each patient, the MAE showed good accuracy with MAE of 1.37 (SE=0.05) mg per day and R^2 of 45%.

Clinical accuracy

Table 2 shows the proportion of patients whose predicted dose was underestimated (below 20% of observed dose), ideal (within 20% of observed dose) or overestimated (above 20% of observed dose). Results show that Michaud's algorithm produced the most underestimated dose predictions (61.6%), compared to Gage's algorithm (39.1%) and IWPC algorithm (44.1%). Using a fixed routine dose of 5 mg would lead to a smaller proportion of underestimated warfarin doses than the pharmacogenetic strategy. Gage's algorithm was found to predict the highest proportion of patients within 20% of their actual stable therapeutic warfarin dose (43.8%), versus IWPC (40.8%) and Michaud (30.0% to predict dose at day-14 and 23.7% to predict therapeutic dose). Finally, we note that the use of all three pharmacogenetic algorithms created less dose overestimation than would a fixed 5 mg dose approach.

Comparison of algorithms in patient sub-groups

Results of the validation analysis performed in sub-groups of patients with low (less than 21 mg weekly), medium, and high (more than 49 mg weekly) therapeutic dose requirements of warfarin are summarized in Table 3. Overall, all algorithms tended to overestimate the dose for patients that required low amounts of warfarin and underestimate the dose for individuals requiring high doses of warfarin at therapeutic INR. For patients requiring low or high doses, Gage's algorithm provided the highest proportion of patients having an ideal dose (38.2% and 17.9%, respectively).

Prediction model

We proceeded to conduct a multiple linear regression analysis to identify the most relevant predicting variables available from our study population. All 605 patients were included in the analysis. Twelve variables were retained in the final model for association with observed therapeutic warfarin dose (Table 4). The five most important factors were the presence of polymorphic VKORC1 alleles, body surface area, target INR, and the presence of CYP2C9*2 or CYP2C9*3 alleles. These five factors alone explained a proportion of 43.3% of the total variation observed in our data, while other factors increased this proportion with an additional 10%. Those included the use of amiodarone or propafenone, CYP4F2 variants, ABCB1 variants, patients' age, EPHX1 variants, hyperthyroidism and diabetes. However, these additional variables did not pass the significance threshold for association after Bonferroni correction for multiple comparisons. Smoking was not a significant factor for warfarin dose prediction in our model.

Sensitivity analyses to evaluate possible differences in regression analysis results between the AF cohort and the hospital cohort found no significant difference between the multivariate linear regression analysis performed either in one of the cohorts or in all patients of the study (n=605). The sensitivity analyses also showed that Pearson's correlation coefficient, mean absolute error and clinical validation were not different between our two cohorts.

DISCUSSION

The field of medicine has evolved tremendously over the past few decades, and genetics has proven to be the cornerstone of personalized medicine. In the last years, several genotype-based warfarin dosing algorithms have been published. In this retrospective cohort study, we confirmed the accuracy of warfarin pharmacogenetic algorithms in a typical patient population at the Montreal Heart Institute in Canada. The algorithm proposed by Gage *et al.* performed well in our patient population. This algorithm produced a high level of correlation between the observed therapeutic dose and the predicted dose, and was able to predict the highest proportion of doses within 20% of the observed dose in our cohort, even in the low or high dose group. The R^2 obtained for Gage's algorithm in our study (adjusted R^2 of 44%) is similar to the coefficient of determination obtained in other observational studies. Shaw *et al.* obtained an R^2 of 43% [17] while Roper *et al.* obtained 45.8% for confirmation in the IWPC validation dataset [18]. Our independent validation of warfarin dosing algorithms adds support to the use of Gage's algorithm for use in clinical practice. This algorithm has already gained popularity in the community with a convenient web-based interface that makes it easily accessible to clinicians. Although Gage's algorithm generally fared better in predicting therapeutic dose, the IWPC algorithm also performed quite well, with an R^2 of 0.43 versus 0.44 with Gage's algorithm. The IWPC algorithm had 40.8% of patients within 20% of their target dose versus 43.8% for Gage's algorithm and had a tendency to underestimate the stable therapeutic dose.

Michaud's algorithm tended to underestimate warfarin doses both stable therapeutic dose and for the dose at day-14 as intended for this algorithm, with a predicted dose that was below 20% of more of the observed dose at day-14 in 61.6% of patients. The algorithm was developed by the authors using hospitalized and heavily medicated patients and this could explain the poorer performance of the algorithm in our patient population. Nonetheless, the algorithm could explain up to 45% of the variation in the observed warfarin dose at day-14.

Although much of the variance can be explained by INR, body surface area, age, and CYP2C9 and VKORC1 genotypes, other variables also affect warfarin dose. Our multiple linear regression analysis showed that three other SNPs as well as the use of amiodarone or propafenone, history of diabetes and hyperthyroidism could have an impact on warfarin dosing. We observed that diabetes and hyperthyroidism were markers of lower warfarin requirements, in concordance with prior literature.[19] Three additional SNPs were found of interest as a result of our multiple regression analysis located in the CYP4F2, EPHX1 and ABCB1 genes. CYP4F2 codes for a vitamin K1 oxidase and some SNPs of this gene lead to higher levels of vitamin K1 in the liver, resulting in a need for higher warfarin doses. The ABCB1 gene encodes P-glycoprotein and EPHX1 is a hepatic epoxide hydrolase in the endoplasmic reticulum that may be linked to VKORC1. Pautas *et al.* had previously reported genetic variants of VKORC1, CYP2C9, CYP4F2, and EPHX1 to be significant predictors of the maintenance dose of warfarin.[20] Despite the key roles of

these factors, there remains 47 % of dose variability that is unexplained in our patient population.

Our study benefits from a thorough data collection that includes important known covariates such as smoking status, concomitant medications, comorbidities and additional genetic factors. Indeed, we genotyped all patients for SNPs in CYP2C9 and VKORC1 genes as well as an additional set of 52 SNPs selected from candidate genes hypothesised to affect warfarin metabolism. We were able to account for many factors impacting on warfarin doses, while these factors were not considered in other studies such as the IWPC or the Gage study. We did an extensive data collection for the concomitant medication of patients in the medical files for the period of warfarin therapy initiation up to dose stability. What is more, our study is strengthened by a large sample size (n=605) compared to other previous similar studies.

It should be noted that the retrospective nature of our study, although unlikely, could potentially underestimate the effect of covariates and overestimate the genetic contribution. Our results are based on a mostly Caucasian and French-Canadian population, which could impact generalizability of our results. It was also not possible to control for dietary vitamin K intake nor to adjust accurately for alcohol consumption, which may alter warfarin dose requirements, or other variables that may be confounders such as the use of natural products.

It is imperative to conduct studies investigating the role of pharmacogenetics with respect to warfarin dose requirement and INR control before implementing such methods

in clinical practice. Very few studies, generally with many limitations and not realized in a real clinical setting, have evaluated the accuracy of published pharmacogenetic algorithms. Prospective clinical trials will ideally provide direct evidence of the benefits, disadvantages, and costs associated with pharmacogenetic testing for initiation of warfarin dosing. Our validation warrants such efforts by demonstrating that published pharmacogenetic warfarin dosing algorithms account for almost 50% of the observed variance in warfarin dose requirements in a real clinical-practice environment.

METHODS

Patients

Subjects for this project were selected from two existing retrospective cohort datasets. First, we included 336 subjects selected from over 6000 taking part in the ongoing Montreal Heart Institute Hospital Cohort study. This is an observational study of unselected patients of the Montreal Heart Institute (<http://www.icm-mhi.org/en/biobanque2.html>). Subjects were selected from the cohort population based on warfarin initiation after 2001 at the Montreal Heart Institute. We had access to cohort data from case report forms filled by a nurse and self-administered questionnaires, which encompass patients' information on: vital signs; socio-demographic characteristics; family ancestry; life style habits; familial history of cardiovascular diseases; personal medical history, including allergies, cancers or tumors, and cardiovascular diseases; and cardiovascular exams and tests. Data for medication use was obtained by reviewing medical records. These data were complemented by computerized INR results and their corresponding dates available since December 2001. INR results dating before December 2001 as well as target INR range, primary indication and target duration of warfarin therapy, along with warfarin start date, formula, and dosage were collected from the MHI warfarin clinical medical charts (Figure 1).

We also selected 269 subjects from an existing retrospective cohort study of 1604 patients recruited at the warfarin clinic of the Montreal Heart Institute. The 1604 patients were initially recruited as part of an unselected collection of patients attending the

warfarin clinic and who consented to participate in a genetic study between January 1st 2007 and February 28th 2008. Clinical and genetic data were collected. The 269 patients were selected out of the 1604 patient collection based on history of atrial fibrillation or flutter documented by electrocardiogram (ECG) documented and based on therapy initiation prior to August 1st 2005, with a follow up of 36 months or more and with at most 67 years of age. Subjects with chronic liver failure were excluded. Clinical data for these patients was collected from medical records, including age, sex, weight, height, medications, comorbidity factors, reason for anticoagulation, therapeutic target range expressed as an INR, initial INR, and maintenance warfarin doses (Figure 1).

All patients provided written informed consent for the study. This study was approved by the Montreal Heart Institute Research and Ethics Committee.

Genotyping

We used DNA samples collected as part of the Montreal Heart Institute biobank and samples from the retrospective coumadin clinic study to conduct genotyping for the main variants, VKORC1 (rs9923231) and CYP2C9 (rs1799853 and rs1057910). Genotypes used in the present study were genotyped jointly with 52 SNPs in 30 candidate genes selected following a literature review on warfarin genetics and pharmacokinetics. Those are ABCB1: rs1128503, rs1045642, rs2229109; APOE: rs405509, rs440446, rs7412, rs429358, rs449647; CACNA1C: rs216013; CYP3A5: rs10264272, rs776746; CYP4F2: rs12609820, rs2108622; EPHX1: rs1051740, rs2234922, rs2292566, rs4653436, rs10915878, rs2260863, rs4559463; F2: rs3136447, rs5896; CYP2C9: rs1799853, rs1057910; NR1H2: rs12714145,

rs13059232, rs10934498, rs1357459, rs4440154, rs6772976, rs2461823, rs6771638, rs7643645; NR1I3: rs2307424, rs2502815, rs2501873, rs3003596; PROC: rs2069919, rs973760, rs2069901, rs2069921, rs1799809; PROS1: rs8178607, rs13062355; STX4: rs10871454; VKORC1: rs9923231, rs9934438, rs7294, rs17708472, rs2359612, rs7200749; GGCX: rs12714145. All variants were genotyped on a validated Sequenom platform at the Beaulieu-Saucier Pharmacogenomics centre of the Montreal Heart Institute. Genotypes were subjected to data quality check procedures that ensured SNP and sample completion rates of 98% or more, absence of plate-bias effects, absence of sample duplicates and related individuals based on IBD estimates and Hardy-Weinberg equilibrium.

Published algorithms

We tested the accuracy of three published dosing algorithms as well as a 5 mg fixed dose algorithm for comparison. The Gage *et al.* study [9] has played an essential role by providing a warfarin dosing algorithm based on a large cohort and validated in a prospective study. In Gage's algorithm, drug-drug interactions with amiodarone are specifically considered. The Gage equation is shown below:

$$\text{Dose (mg/day)} = \exp[0.9751 - 0.3238 \times \text{VKOR3673G>A} + 0.4317 \times \text{BSA} - 0.4008 \times \text{CYP2C9}^*3 - 0.00745 \times \text{age} - 0.2066 \times \text{CYP2C9}^*2 + 0.2029 \times \text{target INR} - 0.2538 \times \text{amiodarone} + 0.0922 \times \text{smokes} - 0.0901 \times \text{African-American race} + 0.0664 \times \text{DVT/PE}],$$

where BSA refers to body surface area and DVT/PE refers to deep vein thrombosis and pulmonary embolism.

In the study by Michaud *et al.* [10], a rather innovative approach was used by combining phenotypic assessments and genotypic determinations of the CYP2C9*3,

CYP2C9*2, VKORC1/3673 and VKORC1/9041 polymorphisms. The algorithm derived explained 51% of intersubject variability in the dose at day-14 of warfarin in a heavily medicated hospitalized patient population. Drug-drug interactions along with unknown factors impacting dose requirements are considered in the algorithm of Michaud *et al.* by introducing the INR measurement taken at day 4 into the model. They have shown that including INR measured at day 4 provides a good model that performs as well as one including the S/R-warfarin ratio. The Michaud algorithm is shown below [10]:

$$\text{Dose (mg/day)} = 4.438 - 0.046 \times \text{age} + 1.400 \times \text{BSA (M}^2) - 3.223 \times \text{INR (day 4)/dose} - 0.599 \times \text{CYP2C9}^*1^*x - 1.443 \times \text{CYP2C9}^*x^*x + 0.282 \times \text{VKORC1 9041 G/A} + 1.284 \times \text{VKORC1 9041 A/A} - 0.107 \times \text{at least one allele VKORC1 3673 A} + 0.279 \times \text{INR (day 14)},$$

where BSA refers to body surface area.

Recently, the International Warfarin Pharmacogenetics Consortium presented the results of a large study combining 4043 patients used to create a dosing algorithm which was validated in 1009 subjects. This pharmacogenetic equation explained 47 % of the variability in the warfarin dose in the derivation cohort. The IWPC model is shown below [11]:

$$\begin{aligned} \text{Dose (mg/week)} = & [5.6044 - 0.2614(\text{age}) + 0.0087(\text{height}) + 0.0128(\text{weight}) - \\ & 0.8677(\text{VKORC1 A/G}) - 1.6974(\text{VKORC1 A/A}) - 0.4854 (\text{VKORC1 unknown}) - 0.5211(*1/*2) - \\ & 0.9357(*1/*3) - 1.0616(*2/*2) - 1.9206(*2/*3) - 2.3312(*3/*3) - 0.2188 (\text{CYP2C9} \\ & \text{unknown}) - 0.1092(\text{Asian race}) - 0.2760(\text{Black or African-American}) - 0.1032 (\text{missing or} \\ & \text{mixed race}) + 1.1816(\text{enzyme inducer}) - 0.5503(\text{amiodarone})]^2. \end{aligned}$$

Statistical analysis

We compared dose prediction of the three algorithms to the observed warfarin therapeutic dose in the real clinical setting. Therapeutic stability was defined based on the first three consecutive INR measures within the patient's target range covering a minimum of 14 days and with at least 3 days between measurements. In addition, we also included a 5 mg fixed dose for comparison. The two metrics used to evaluate the predictive accuracy of the three algorithms are i) the mean absolute error (MAE) and ii) the coefficient of determination (R^2) calculated as the square of the Pearson correlation between the observed therapeutic dose and the dose predicted by the evaluated algorithm.

To evaluate the clinical validity of the algorithm predictions, we calculated the proportion of patients in which the predicted dose was below 20 % of the actual dose (under-estimation), within 20 % of the actual dose (ideally dosed), or above 20% the actual dose (overestimation). To further compare the performance of the algorithms, we divided the patients into low-dose group (less than 21 mg weekly), intermediate-dose group (21 to 49 mg weekly), and high-dose group (more than 49 mg weekly). We analyzed the predicted dose and the observed therapeutic and then determined the proportion of patients for whom the dose was underestimated, ideal, and overestimated.

Finally, we used multiple linear regression analysis to evaluate whether additional covariates would increase the accuracy of a pharmacogenetic model in predicting therapeutic warfarin doses in our patient population. The covariates that were taken into

consideration in the regression analysis include intensity of anticoagulant treatment, age, gender, genetic variables, body surface area, smoking status, treatment indications, comorbidities (hypertension, previous stroke or transient ischemic attack, history of gastrointestinal bleeding, recent myocardial infarction, anaemia, renal insufficiency, diabetes, malignancy), concomitant use of amiodarone, aspirin, and other potentially interfering drugs. We identified patients using concomitant medication that may affect the metabolism of warfarin and we grouped them according to those that potentially increase and those that decrease the INR. The concomitant drugs were assembled into eight groups and coded as 1 if the patient was taking these drugs and 0 otherwise. The medication groups are: 1) drugs that potentially decrease warfarin effect (such as rifampin, phenytoin, carbamazepine, phenobarbital, and cyclosporine); drugs that potentially increase warfarin effect such as 2) proton-pump inhibitors (omeprazole, lansoprazole, esomeprazole); 3) statins (simvastatin, fluvastatin, rosuvastatin); 4) propafenone or amiodarone; 5) antibiotics (amoxicillin, trimethoprim, erythromycin, ciprofloxacin); 6) nervous systems drugs (quetiapine, clomipramine, paracetamol, disulfiram); drugs that have other inhibition of clotting such as 7) aspirin or codeine or NSAIDs (indomethacin, ibuprofen, naproxen); and 8) SSRIs (citalopram, paroxetine, sertraline). The forward stepwise method was used to select variables to retain in the final model. A second approach used to select variables was the best subset selection containing three to twelve variables. Akaike's information criterion was used to select the model. A robust regression analysis was performed using the M-estimation technique. The

estimate parameters were similar to those obtained from the ordinary least squares estimates.

A sensitivity analysis was conducted where we compared results obtained with patients recruited as part of the two cohorts separately.

All data were analyzed using the SAS statistical package (SAS 9.1 for Windows, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). The level of statistical significance was set at 0.05, and 95% confidence intervals were used to assess the statistical uncertainty of the estimates.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was funded in part by the Groupe de recherche universitaire sur le médicament (GRUM) and by the Centre for Excellence in Personalised medicine (CepMED). Sylvie Perreault is a Fonds de recherche en santé du Québec (FRSQ) national researcher and Marie-Pierre Dubé receives a Junior 2 researcher award by the FRSQ.

REFERENCES

1. Wadelius, M. and M. Pirmohamed, Pharmacogenetics of warfarin: current status and future challenges. *Pharmacogenomics J*, 2007. 7(2): p. 99-111.
2. Rieder, M.J., et al., Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose. *N Engl J Med*, 2005. 352(22): p. 2285-93.
3. Aithal, G.P., et al., Association of polymorphisms in the cytochrome P450 CYP2C9 with warfarin dose requirement and risk of bleeding complications. *Lancet*, 1999. 353(9154): p. 717-9.
4. Taube, J., D. Halsall, and T. Baglin, Influence of cytochrome P-450 CYP2C9 polymorphisms on warfarin sensitivity and risk of over-anticoagulation in patients on long-term treatment. *Blood*, 2000. 96(5): p. 1816-9.
5. Bristol-Meyers-Squibb. Warfarin (Coumadin) Prescribing Information. Accessible at: <<http://www.fda.gov/cder/foi/label/2007/009218s105lblv2.pdf>>. 2007.
6. Administration, FDA, <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/2007/ucm108967.htm>. FDA NEWS RELEASE 2007, cited 2010.
7. Aquilante, C.L., et al., Influence of coagulation factor, vitamin K epoxide reductase complex subunit 1, and cytochrome P450 2C9 gene polymorphisms on warfarin dose requirements. *Clin Pharmacol Ther*, 2006. 79(4): p. 291-302.
8. Limdi, N.A., et al., VKORC1 polymorphisms, haplotypes and haplotype groups on warfarin dose among African-Americans and European-Americans. *Pharmacogenomics*, 2008. 9(10): p. 1445-58.
9. Gage, B.F., et al., Use of pharmacogenetic and clinical factors to predict the therapeutic dose of warfarin. *Clin Pharmacol Ther*, 2008. 84(3): p. 326-31.
10. Michaud, V., et al., Combination of phenotype assessments and CYP2C9-VKORC1 polymorphisms in the determination of warfarin dose requirements in heavily medicated patients. *Clin Pharmacol Ther*, 2008. 83(5): p. 740-8.

11. Klein, T.E., et al., Estimation of the warfarin dose with clinical and pharmacogenetic data. *N Engl J Med*, 2009. 360(8): p. 753-64.
12. Sconce, E.A., et al., The impact of CYP2C9 and VKORC1 genetic polymorphism and patient characteristics upon warfarin dose requirements: proposal for a new dosing regimen. *Blood*, 2005. 106(7): p. 2329-33.
13. Voora, D., et al., Prospective dosing of warfarin based on cytochrome P-450 2C9 genotype. *Thromb Haemost*, 2005. 93(4): p. 700-5.
14. Hillman, M.A., et al., A prospective, randomized pilot trial of model-based warfarin dose initiation using CYP2C9 genotype and clinical data. *Clin Med Res*, 2005. 3(3): p. 137-
15. Anderson, J.L., et al., Randomized trial of genotype-guided versus standard warfarin dosing in patients initiating oral anticoagulation. *Circulation*, 2007. 116(22): p. 2563-70.
16. Sanderson, S., J. Emery, and J. Higgins, CYP2C9 gene variants, drug dose, and bleeding risk in warfarin-treated patients: a HuGenet systematic review and meta-analysis. *Genet Med*, 2005. 7(2): p. 97-104.
17. Shaw, P.B., et al., Accuracy assessment of pharmacogenetically predictive warfarin dosing algorithms in patients of an academic medical center anticoagulation clinic. *J Thromb Thrombolysis*. 30(2): p. 220-5.
18. Roper, N., et al., Validation and comparison of pharmacogenetics-based warfarin dosing algorithms for application of pharmacogenetic testing. *J Mol Diagn*. 12(3): p. 283-
19. Hillman, M.A., et al., Relative impact of covariates in prescribing warfarin according to CYP2C9 genotype. *Pharmacogenetics*, 2004. 14(8): p. 539-47.
20. Pautas, E., et al., Genetic factors (VKORC1, CYP2C9, EPHX1, and CYP4F2) are predictor variables for warfarin response in very elderly, frail inpatients. *Clin Pharmacol Ther*. 87(1): p. 57-64.

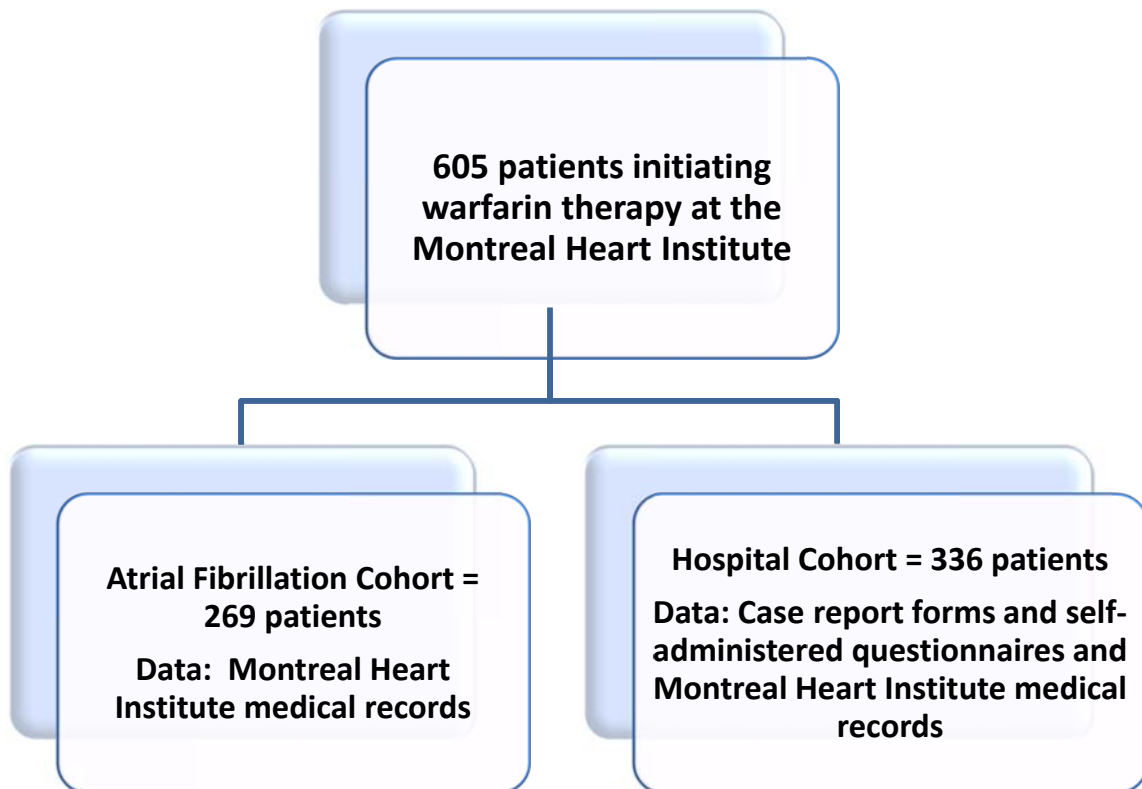


Figure 1: Flow chart of cohorts included in the study

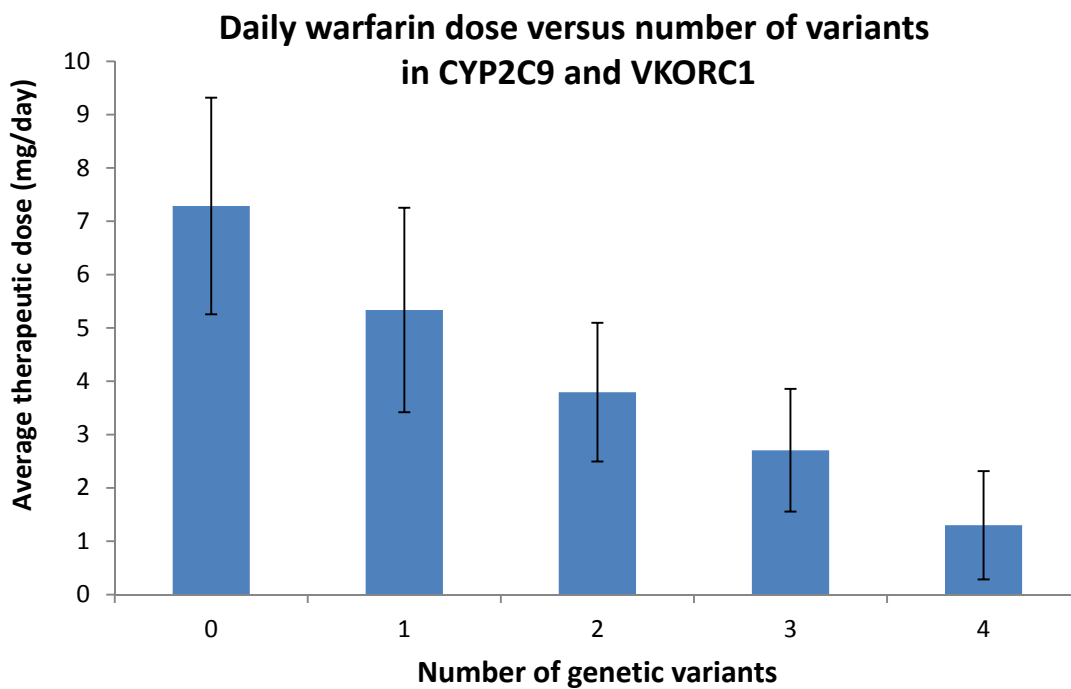


Figure 2: Therapeutic warfarin dose requirements by genotype
Proportion of patients in each group: wild-type (0 variant), 22.6%;
1 variant, 43.4%; 2 variants, 28.3%; 3 variants, 5.0%; and 4 variants, 0.7%.

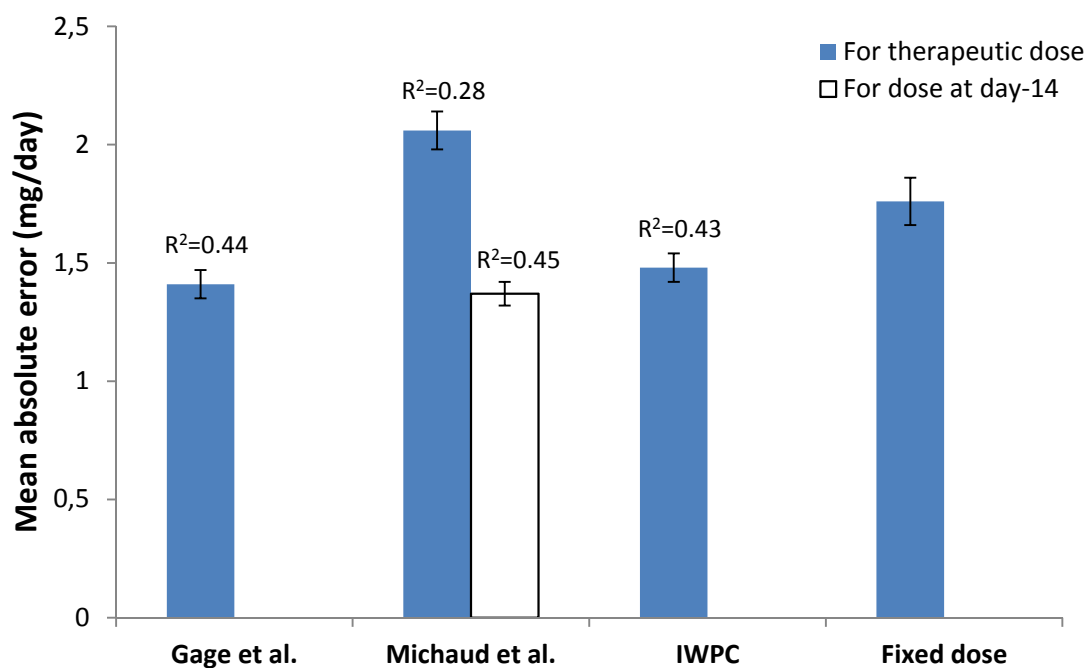


Figure 3: Validation and comparison of published dosing algorithms. The mean absolute error is reported \pm the standard error. The coefficient of determination (R^2) obtained with each algorithm is expressed with adjustment for the explanatory terms in the model.

Table 1: Demographic, Genetic, and Clinical Characteristics of Patients

a) Demographic and clinical data

Variables	Atrial fibrillation cohort N = 269	Hospital cohort N = 336	All patients N = 605
Age ^a	62.3 (25.4, 71.1)	68.9 (24.1, 92.5)†	66.6 (24.1, 92.5)
Gender :			
Male	78.4 %	64.1 %*	68.4 %
Female	21.6 %	36.0 %*	31.6 %
Weight (kg) ^a	87.9 (44.5, 168)	79.7 (50, 137.7)†	82.2 (44.5, 168)
Height (cm) ^a	171.0 (129, 196)	168.1 (145, 188)†	169.0 (129, 196)
Therapeutic dose (mg) ^a	5.62 (0.2, 19.2)	4.9 (1.2, 11.7)	5.2 (0.2, 19.2)
Warfarin indication;			
Atrial fibrillation	70.3 %	58.7 %	63.9 %
Valve replacement	0.03 %	23.5 %	16.4 %
Flutter	7.6 %	9.3 %	8.9 %
INR at day 14 ^a	2.47 (1, 6.71)	2.69 (0.95, 7.29)	2.61 (0.95, 7.29)
Body surface area ^a	1.99 (1.44, 2.81)	1.89 (1.05, 2.57)†	1.92 (1.05, 2.81)
Dose after 14 days (mg) ^a	4.90 (1, 11.67)	4.36 (1, 10)*	4.55 (1, 11.67)
Current smokers ^b	21.9 %	6.2 %†	11.4 %
Taking amiodarone ^b	47.0 %	9.3 %†	20.8 %
Hypertension ^b	57.2 %	66.8 %	63.4 %
Diabetes ^b	15.1 %	21.1 %	19.0 %
Dyslipidemia ^b	60.5 %	69.5 %	66.7 %

Stroke / Transient ischemic attack ^b	5.9 %	14.3 %*	11.3 %
Hyperthyroidism ^b	5.3 %	5.7 %	5.6 %
Renal failure ^b	4.6 %	8.9 %	7.4 %
Heart failure ^b	20.3 %	24.3 %	23.0 %
Aspirin ^b	59.2 %	33.5 %†	42.7 %
Proton pump inhibitors ^b	2.6 %	3.6 %	3.2 %
Statins ^b	7.6 %	11.7 %	10.3 %
Antibiotics ^b	1.3 %	3.9 %	2.5 %

^a Mean (95% IC)

^b Yes/no

* Statistically different from the atrial fibrillation cohort (p<0.05)

† Statistically different from the atrial fibrillation cohort (p<0.001)

b) Genotype frequencies for CYP2C9 and VKORC1

SNP	Atrial fibrillation cohort N = 269	Hospital cohort N = 336	All patients N = 605
CYP2C9*2 (rs1799853) :			
CC	76.2 %	76.4 %	76.4 %
CT	23.2 %	22.6 %	22.8 %
TT	0.5 %	1.0 %	0.8 %
CYP2C9*3 (rs1057910) :			
AA	88.1 %	86.7 %	87.1 %
AC	11.9 %	13.1 %	12.7 %
CC	0 %	0.2 %	0.2 %
VKORC1 3673 (rs9923231) :			
GG	32.4 %	37.1 %	35.7 %
GA	49.7 %	47.1 %	47.9 %
AA	17.8 %	15.7 %	16.4 %
VKORC1 9041 (rs7294) :			
GG	39.5 %	38.8 %	39.0 %
GA	46.5 %	45.2 %	45.7 %
AA	14.0 %	16.0 %	15.3 %

Table 2: Clinical evaluation of algorithms validity

Algorithm	Under-estimation^a	Ideal^b	Overestimation^c
N = 605			
Gage <i>et al.</i> (2008)	39.1 %	43.8 %	17.1 %
Michaud <i>et al.</i> (2008)			
Dose at day-14	61.6 %	30.0 %	8.4 %
Therapeutic dose	69.0 %	23.7 %	7.3 %
IWPC (2009)	44.1 %	40.8 %	15.1 %
Fixed dose (5 mg)	28.8 %	32.6 %	38.6 %

^a Under-estimation: predicted dose was 20 % or more below the actual dose

^b Ideal: predicted dose was within 20 % of the actual dose

^c Overestimation: predicted dose was 20 % or greater above the actual dose

Table 3: Comparison of Algorithm Performance Based on Dosing Ranges

Algorithm	Actual dose < 21 mg LOW GROUP N = 112			Actual dose : 21 to 49 mg MEDIUM GROUP N = 395			Actual dose > 49 mg HIGH GROUP N = 98		
	Under	Ideal	Over	Under	Ideal	Over	Under	Ideal	Over
Gage <i>et al.</i> (2008)	6.6	38.2	55.3	37.6	51.6	10.8	82.1	17.9	0
Michaud <i>et al.</i> (2008)	42.7*	26.7*	30.7*	69.3*	28.1*	2.6*	98.4*	1.6*	0
IWPC (2009)	10.6*	35.5	54.0	42.9*	48.9	8.2	86.8	13.2*	0
Fixed dose (5 mg)	0*	0*	100*	19.3*	49.3	31.4*	100*	0*	0

All results are in %

* Significantly different ($p < 0.05$) from Gage's algorithm.

Table 4: Multiple regression analysis for therapeutic warfarin dose

Entry into model	Variable	R² after entry	P value	Parameter Estimate
1	VKORC1	20.94	< 0.0001	-1.45481
2	Body surface area	27.36	< 0.0001	2.76489
3	Target INR	33.63	< 0.0001	1.78571
4	CYP2C9*3	39.42	< 0.0001	-1.36135
5	CYP2C9*2	43.29	< 0.0001	-0.83421
6	Amiodarone / Propafenone	45.81	0.0005	-0.75275
7	CYP4F2 rs2108622	47.78	0.0016	0.47773
8	ABCB1 rs1128503	49.31	0.0048	0.37154
9	Current age	50.70	0.0064	-0.02075
10	EPHX1 rs1051740	51.69	0.02	-1.06201
11	Hyperthyroidism	52.53	0.0306	-0.79406
12	Diabetes	53.32	0.0347	-0.52022

Discussion

La difficulté de la gestion des thérapies de warfarine est liée à une marge thérapeutique étroite ainsi qu'à une grande variabilité inter- et intra-individuelle de la réponse au traitement. Jusqu'à tout récemment, les facteurs environnementaux ont été mis au premier plan pour expliquer les variations de la réponse inter- et intra-individuelle au traitement. Parmi ces facteurs, notons par exemple les données démographiques du patient, les apports alimentaires en vitamine K, les comorbidités, les maladies aiguës ainsi que les comédications. Par ailleurs, parallèlement aux facteurs démographiques et environnementaux, des polymorphismes génétiques ont été identifiés expliquant une part de la variabilité individuelle de la réponse au traitement. Ainsi, dans la prise en charge thérapeutique des patients qui consomment de la warfarine, les génotypes du *CYP2C9* et du *VKORC1* peuvent être utilisés pour évaluer si un patient se retrouve dans une catégorie d'individus nécessitant des doses plus ou moins élevées de warfarine. Depuis l'identification de ces variants génétiques ayant un impact sur la dose de warfarine des patients, de nombreuses équipes de recherche se sont afférees à développer des modèles de prédiction de doses, en utilisant non seulement les données cliniques et démographiques traditionnelles, mais également des données génétiques. En effet, plusieurs algorithmes permettant la prédiction de la dose d'initiation du traitement ont été publiés; ces algorithmes prennent en compte entre autres l'âge, le poids, le génotype *VKORC1* ainsi que celui du cytochrome P450 2C9 qui est la principale enzyme responsable de l'élimination de la warfarine [66] [67] [71] [7]. Par contre, le génotypage systématique des patients anticoagulés est loin d'être chose courante en pratique clinique réelle.

Malgré les nombreuses preuves démontrant l'efficacité des traitements d'anticoagulation orale pour réduire la morbidité et la mortalité liées aux maladies telles que la fibrillation auriculaire, les ACV et les remplacements de valves cardiaques, la gestion actuelle des patients suivant une thérapie de warfarine est souvent non optimale et peut mettre les patients à risque de souffrir d'évènements indésirables graves. Une gestion inappropriée des thérapies de warfarine peut mener à des valeurs d'INR sous-thérapeutique ou supra-thérapeutique, ce qui augmente le risque de thromboembolie ou

de saignement, respectivement. En effet, des saignements sont observés chez 7.6-16.5 pour cent des patients chaque année [11]. En outre, les patients qui sont considérés comme pouvant présenter un risque élevé de développer des effets indésirables ou des fluctuations d'INR à la suite d'un traitement à la warfarine pourraient être mieux ciblés grâce à la pharmacogénomique.

Très peu de données sur la validité d'algorithmes publiés qui utilisent la génétique sont actuellement disponibles pour une population non restreinte. Il est primordial de démontrer la justesse des algorithmes pharmacogénétiques de prédiction des doses de warfarine avant que l'individualisation des traitements de warfarine soit mise en œuvre dans la pratique clinique. Notre projet de recherche avait pour but de valider les bénéfices d'une thérapie personnalisée de warfarine, plus particulièrement de valider trois algorithmes pharmacogénétiques de prédiction de doses de warfarine. Nous avons effectué une évaluation réaliste de la précision de trois algorithmes génétiques de warfarine, ainsi qu'une étude sur la pertinence d'ajouter des covariables additionnelles dans le but d'augmenter la précision du dosage de warfarine chez les patients nouvellement anticoagulés. Notre étude est, à notre connaissance, l'une des premières à évaluer la validité réelle des algorithmes pharmacogénétiques de prédiction de doses de warfarine dans une population canadienne.

Tout d'abord, notre étude a démontré que l'algorithme développé par Gage *et al.* en 2008 constitue l'algorithme le plus exact parmi les trois algorithmes pharmacogénétiques étudiés. Ainsi, cette équation qui est disponible sur internet a engendré un coefficient de détermination (R^2) de 44 %. De plus, l'algorithme de Gage avait la plus faible erreur absolue moyenne chez nos patients, c'est-à-dire une erreur absolue moyenne de 1.41 ± 0.06 mg par jour. Une faible erreur absolue moyenne, qui correspond à la différence entre la dose prédite par les algorithmes et la dose observée réelle du patient, indique que le modèle de prédiction entraîne des valeurs proches de la dose actuelle du patient. En comparaison à l'algorithme de Gage, l'algorithme développé par l'International Warfarin Pharmacogenetics Consortium a obtenu un coefficient de

détermination de 43 % dans notre cohorte ainsi qu'une erreur absolue moyenne de 1.48 ± 0.06 mg par jour. Enfin, l'algorithme de Michaud qui a été développé au Québec, a quant à lui obtenu les moins bons résultats lors de la validation, soit un R^2 de 28 % et une erreur absolue moyenne de 2.06 ± 0.08 .

L'algorithme de Michaud a été le moins performant dans notre étude de validation. Il avait tendance en générale à sous-estimer la dose des patients anticoagulés. Une explication possible à cette observation vient du fait que l'équipe de Dr. Michaud a développé un algorithme permettant de prédire la dose de warfarine à 14 jours suite au début de la thérapie, et non pas la dose de stabilisation du patient. En considérant le fait que les patients ont généralement une dose plus faible de warfarine au jour 14 que lorsqu'ils atteignent la stabilisation, il est logique d'avoir observé une moins bonne corrélation entre la dose prédite par Michaud et la dose de stabilisation. Lorsque nous avons étudié la corrélation entre la dose prédite par cet algorithme et la dose à 14 jours, le coefficient de détermination était de 45 %, ce qui démontre une bonne corrélation. Bref, l'algorithme de Michaud pourrait constituer une approche intéressante pour prédire la dose de warfarine des patients à court terme, mais l'algorithme de Gage demeure la stratégie la plus pertinente pour une application de la pharmacogénétique en pratique clinique.

Pour avoir une meilleure idée de la validité clinique des algorithmes étudiés lors de ce projet, nous avons décidé d'évaluer la proportion de sujets pour lesquels les doses prédites étaient soit sous-estimées, idéales ou surestimées, par rapport aux vraies doses thérapeutiques des patients. Ainsi, en ce qui a trait à la catégorie des doses sous-estimées, il semble que ce soit l'algorithme de Michaud qui produit le plus grand nombre de doses prédites sous estimées (69.0 %), contrairement à l'algorithme de Gage (39.1 %) ou de l'IWPC (44.1 %). De plus, en ce qui concerne les doses prédites idéales de warfarine, on observe que c'est l'algorithme de Gage qui entraîne la plus grande proportion d'individus ayant une dose prédite de warfarine idéale, c'est-à-dire se situant dans un intervalle de 80 % à 120 % de la dose observée thérapeutique du patient. En effet, l'application de l'algorithme de Gage dans notre cohorte permet de prédire une dose idéale chez 43.8 % des

patients, contre 23.8 % pour Michaud ou encore 40.8 % pour l'IWPC. Dans un autre ordre d'idées, pour comparer l'utilisation des données génétiques aux pratiques cliniques usuelles dans la gestion des thérapies de warfarine, nous avons également évalué la justesse de l'utilisation d'une dose de 5 mg de départ pour tous les patients, étant donné que cette stratégie est fréquemment utilisée dans le système de santé canadien. Notre étude soulève un point particulièrement intéressant vis-à-vis cette comparaison, soit le fait que l'utilisation de la pharmacogénétique pour prédire les doses de warfarine entraîne beaucoup moins de surestimations de doses, par rapport à l'approche à dose fixe. En effet, l'approche à dose fixe entraîne une surestimation de doses chez 38.6 % des patients, contre 7.3 % lors de l'utilisation de l'équation de Michaud, ou encore 15.1 % lors de l'application du modèle de l'IWPC. Rappelons que la surestimation des doses de warfarine peut mener à des INR supratherapeutiques, et possiblement à des effets indésirables graves tels que des saignements gastro-intestinaux ou intracrâniens. Par contre, il semble que l'augmentation des coûts dus aux tests génétiques est encore loin d'être justifiée par cette réduction des surestimations des doses. De plus, même s'il y avait moins de surestimations de doses chez les patients anticoagulés à l'aide de la pharmacogénétique, il n'en demeure pas moins que cela ne signifie pas nécessairement que les sujets vont connaître moins d'événements indésirables, tels que les hémorragies.

Une stratégie intéressante pour analyser la pertinence de la pharmacogénétique pour prédire les doses de warfarine avait été développée par Klein *et al.* et consistait à évaluer la performance de la pharmacogénétique dans des sous-groupes de patients [71]. Pour faire suite à cette technique utilisée dans l'article publié par le International Warfarin Pharmacogenetics Consortium, nous avons tenu à valider les trois algorithmes chez des patients nécessitant de faibles doses de warfarine, des doses intermédiaires ou encore de fortes doses. Les résultats de la présente thèse ont démontré que tous les modèles prédictifs ainsi que l'approche à dose fixe entraînent généralement une surestimation de doses pour les patients qui sont dans le groupe de faible dose, c'est-à-dire de moins de 21 mg par semaine. Dans le même ordre d'idées, toutes les équations évaluées ont tendance à sous-estimer la dose requise pour les sujets nécessitant de fortes doses de warfarine (plus de 49

mg par semaine). Par contre, il n'en demeure pas moins que l'utilisation des données génétiques dans ces sous-groupes de patients représente une avenue sensiblement plus intéressante que l'approche à dose fixe. Ainsi, l'approche à dose fixe ne permet jamais de prédire des doses idéales pour les patients de ces sous-groupes, alors que les algorithmes étudiés lors de ce projet le font en partie. Enfin, à la lumière de nos résultats, l'algorithme qui serait le plus juste et le plus intéressant pour améliorer la prédiction de doses des patients nécessitant de faibles ou fortes doses de warfarine est sans aucun doute l'algorithme de Gage; ce dernier fournit la plus grande proportion de patients ayant des doses idéales, soit 38.2 % pour les patients du groupe faible doses, et 17.9 % pour les patients du groupe fortes doses de warfarine. Il faudrait également souligner le fait que l'utilisation des algorithmes génétiques pour les patients du groupe de doses intermédiaires ne constitue pas une approche intéressante et pertinente face aux prescriptions de 5 mg de départ. Étant donné que cette catégorie d'individus représente la majorité des patients anticoagulés, la pertinence des stratégies pharmacogénétiques reste donc à démontrer.

Le dernier axe de notre projet de recherche consistait à estimer la pertinence de covariables qui ne sont pas considérées dans les algorithmes actuels pour évaluer si d'autres facteurs pourraient être considérés lors de la prédiction des doses de warfarine. Ces covariables n'étaient pas considérées dans les études antérieures soit parce que les chercheurs n'avaient pas recueillies de données à leur sujet, ou encore parce qu'elles n'étaient pas statistiquement significatives lors des analyses de régression linéaire réalisées pour développer les algorithmes. Les résultats de la régression linéaire multiple réalisée dans notre étude ont montré que douze variables sont associées à la dose de warfarine et forment notre modèle de prédiction. Les facteurs les plus importants sont le SNP rs9923231 du *VKORC1*, l'aire de surface corporelle, l'INR cible ainsi que les SNP *CYP2C9*2* et *CYP2C9*3*. Ces cinq variables permettent d'expliquer 43.3 % de la variation de doses dans notre cohorte. Les autres facteurs retenus dans le modèle étaient d'une part, des SNPs des gènes *CYP4F2*, *ABCB1* et *EPHX1*, et d'autre part, l'utilisation d'amiodarone ou de propafenone, le diabète ainsi que l'hyperthyroïdisme.

Enfin, étant donné que nous avons rassemblé des patients provenant de deux cohortes distinctes, il était important de réaliser des analyses de sensibilité pour pouvoir évaluer l'impact du recrutement des patients et des différences des collectes de données sur nos résultats. Rappelons que notre cohorte entière était constituée de sujets provenant de la cohorte hospitalière (biobanque) de l'Institut de Cardiologie de Montréal ainsi que d'une cohorte de patients souffrant de fibrillation auriculaire recrutés dans le cadre d'un projet sur l'interaction entre l'amiodarone et la génétique sur la dose de warfarine. Les résultats des analyses de sensibilité que nous avons effectuées montrent que les résultats globaux obtenus pour la cohorte totale ne sont pas différents des résultats obtenus pour la validation et le développement du modèle prédictif dans chacune des deux cohortes mentionnées précédemment. Ainsi, nous pouvons affirmer que même si les critères d'inclusion et d'exclusion étaient différents pour les patients des deux cohortes, et que la collecte de données n'était pas identique pour tous les patients, il reste que nos résultats sont robustes et peuvent être interprétés en toute confiance.

En somme, notre étude a permis de mettre en relief la validité de l'algorithme développé par Gage en 2008. Il faut noter que depuis le démarrage de ce projet, deux équipes ont publié des articles traitant de la validation d'algorithmes pharmacogénétiques de prédiction de doses de warfarine. Ces deux articles ont démontré que les algorithmes de Gage *et al.* ainsi que de l'IWPC semblaient avoir la meilleure valeur prédictive en ce qui concerne les doses thérapeutiques de warfarine pour atteindre des INR stables. Les études publiées par Roper *et al.* [90] et Shaw *et al.* [91] en 2010 ont démontré des coefficients de variation de 45.8 % et de 43 % respectivement pour l'algorithme de Gage, ce qui est très semblable au R^2 calculé de 44 % obtenu dans notre étude. Par contre, ces études comportent des lacunes face au projet que nous avons réalisé. Ainsi, l'étude de Shaw *et al.* ne comptait que 71 patients, ce qui est relativement faible par rapport à notre propre taille d'échantillon. Effectivement, une force majeure de notre étude consiste au fait que nous avons une bonne taille d'échantillon, c'est-à-dire 605 patients suivis à la clinique

d'anticoagulation de l'ICM. Aussi, dans l'article de Shaw, la définition de thérapie et dose stable de warfarine était plus permissive que la notre, soit au moins deux INR thérapeutiques consécutifs ayant au moins 7 jours qui les séparent sans changement de doses. Par ailleurs, l'étude réalisée par Roper n'avait pas permis de faire une collecte exhaustive de facteurs importants tels que la comédication, le statut de fumeur et les comorbidités. Ainsi, notre étude a permis d'effectuer une analyse supplémentaire sur l'association entre la dose de warfarine et des variables additionnelles telles que la comédication, les comorbidités et des SNPs se situant dans des gènes autres que le *CYP2C9* et le *VKORC1*. Malgré ces différences, il n'en demeure pas moins que nos résultats vont dans le sens de résultats obtenus par d'autres études de validation. De plus, même si la population québécoise utilisée dans ce projet est différente des cohortes utilisées dans les autres études de validation, il n'en reste pas moins que c'est l'algorithme de Gage qui offre la meilleure possibilité pour une application éventuelle de la pharmacogénétique en pratique clinique.

Nous allons maintenant discuter des forces et des limites rencontrés dans notre étude, de la validité interne et externe du projet, des moyens utilisés pour améliorer l'étude ainsi que des travaux futurs qui devront être menés afin d'évaluer en détails la pertinence de la pharmacogénétique en ce qui concerne les doses de warfarine.

FORCES ET LIMITES

Validité interne

Certains biais peuvent affecter les études pharmacoépidémiologiques. Ainsi, les *biais d'information* sont dus à la qualité de la collecte de l'information en ce qui a trait aux variables colligées dans l'étude. Un biais d'information a pu être présent dans notre projet, malgré le fait que notre recherche de validation comporte plusieurs forces. En premier lieu, nous avons colligé des données pour de multiples variables, facteurs qui n'étaient souvent pas pris en considération (comédication, statut de fumeur et comorbidités) dans d'autres études publiées sur la pharmacogénétique de la warfarine. Ainsi, non seulement avons nous les données démographiques et cliniques habituelles tels que l'âge, le sexe, le poids, la taille et le statut de fumeur, mais nous avons également les informations sur toutes les comorbidités et comédications du patient anticoagulé. Étant donné que les données sur les médicaments concomitants ont été recueillis à partir des dossiers médicaux de l'Institut de Cardiologie de Montréal, nous avons pu nous assurer d'avoir tous les médicaments pris par les sujets de notre cohorte au moment même où le traitement de warfarine était débuté. Ceci constitue une force majeure face aux autres études qui n'ont soit aucunes données sur les médications des patients, soit uniquement des données colligées à l'aide de questionnaires ou soit les médicaments consommés suite au début du traitement d'anticoagulation. Cela nous a donc permis d'étudier en profondeur l'impact des interactions médicamenteuses sur la dose de stabilisation de warfarine.

Par ailleurs, nous avons également beaucoup d'information sur les comorbidités des patients de l'ICM, ce qui a rendu possible une évaluation exhaustive de l'association entre les comorbidités du patient et la dose de warfarine. Par contre, un biais d'information a pu être introduit dans nos analyses étant donné que certaines données telles que les informations sur le statut de fumeur et autres habitudes de vie étaient récoltées à l'aide de questionnaires (pour les patients de la cohorte hospitalière). Un

biais de désirabilité sociale pourrait être également lié à ces données. En outre, pour les patients de la cohorte de fibrillation auriculaire, certaines données sur la comédication ou les comorbidités étaient parfois manquantes. Il est assez fréquent que le médecin questionne le patient sur certains points mais qu'il ne le note pas automatiquement dans le dossier médical. Puisque la plupart des données de nos cohortes proviennent du dossier médical, il est normal que nous ayons parfois eu de la difficulté à retracer certaines informations.

Enfin, un point particulièrement important consiste au fait que les doses de warfarine qui sont inscrites au dossier du patient à l'ICM et que nous avons recueillies ne correspondent peut-être pas parfaitement aux doses réellement consommées par les individus étudiés. En fait, nous n'avons pas d'information quant aux comprimés qui auraient pu être oubliés, à l'adhésion des patients ou aux modifications de la posologie qui auraient pu être réalisées en dehors de la clinique d'anticoagulation de l'Institut. En conséquence, des patients auraient pu par exemple être classifiés dans la catégorie dose intermédiaire alors qu'en réalité cette personne aurait plutôt dû faire partie du groupe « faible dose » de warfarine. Il est important de souligner que l'adhérence du patient face à la prise de warfarine a un impact direct sur l'estimation de la dose cible. Puisque notre étude n'était pas de nature prospective et que nous n'avons aucune façon de contrôler l'adhérence des patients ou encore de savoir si ces derniers prenaient tous leurs comprimés de warfarine, il se peut fort bien que notre estimation de la dose thérapeutique soit erronée. Comme l'objectif même du projet était de comparer la prédiction de doses des algorithmes pharmacogénétiques à cette estimation de dose thérapeutique, cette lacune constitue sans aucun doute un aspect important à considérer lors de l'interprétation des résultats. Cette limite de notre étude est considérable et ne peut malheureusement pas être corrigée, étant donné la nature rétrospective du projet effectué.

En deuxième lieu, un autre point qui concerne la validité interne de notre projet concerne le fait que nous avons génotypé tous les patients pour 52 SNPs, non seulement pour les polymorphismes du *CYP2C9* et du *VKORC1*. Ainsi, nous avons évalué l'association entre des variants de gènes candidats tels qu'*ABCB1*, *APOE*, *CYP3A5*, *CYP4F2*, *EPHX1*, *GGCX*, *NR1H2* et *PROC* sur la dose de maintenance de warfarine. Nous avons réalisé une revue de littérature détaillée pour choisir les polymorphismes qui pourraient être associés à la dose de warfarine. Le génotypage a été réalisé au Centre de Pharmacogénétique Beaulieu-Saucier. Il faut souligner le fait que le « panel » final de génotypage avait été validé chez 190 échantillons provenant de trois populations et deux contrôles. Le but de cette validation était de comparer les résultats avec les données du HapMap pour vérifier la concordance entre les différentes technologies et pour examiner la distribution dans une population multiple. Le taux final obtenu pour cette validation était de 99.96 % avec 98.5 % de concordance entre nos résultats et les données du HapMap.

Par contre, il aurait été intéressant de considérer l'impact potentiel des variants rares du *CYP2C9* sur la dose de warfarine. Ainsi, mis à part les *CYP2C9**2 et *CYP2C9**3, plusieurs autres polymorphismes existent et pourraient influencer les doses requises de ce médicament. Une étude publiée par Sagrieya *et al.*, montre qu'en regroupant les variants rares du *CYP2C9*, il semble que les individus qui varient à un des SNPs rares avaient une dose thérapeutique de warfarine plus faible qu'un individu qui n'a aucune mutation dans ces polymorphismes [92]. Les variants rares qui étaient considérés dans cet article correspondaient aux *CYP2C9* *6, *7, *9, *11, *12, et *18. Par ailleurs, il s'avère que l'effet des variants rares n'est pas relié au déséquilibre de liaison avec les *CYP2C9**2 et *3. De plus, Sagrieya *et al.* démontre que le fait de regrouper et d'ajouter les variants rares lorsqu'on analyse les variations de doses de warfarine augmente le R^2 du *CYP2C9* : variants rares; $P=0.0065$, $R^2 = 6\%$; variants communs; $P= 0.0034$, $R^2 = 7\%$; variants rares et communs; $P =0.00018$; $R^2 = 12\%$ [92]. Cela signifie que certains variants rares qui ne sont pas génotypés dans plusieurs études pharmacogénétiques portant sur la warfarine

pourraient jouer un rôle non-négligeable sur les doses nécessaires pour une anticoagulation optimale.

Parmi les rares lacunes de notre recherche, mentionnons-le fait que le projet consistait en une étude de cohorte rétrospective. Puisque les études de cohorte rétrospective évaluent habituellement des expositions qui se sont produites dans le passé, elles sont dépendantes de la disponibilité des données adéquates d'exposition provenant de dossiers préexistants. De surcroît, ces données sont souvent récoltées à des fins autres que l'examen des hypothèses d'intérêt, ce qui peut donner lieu à des informations incomplètes ou non comparables pour les sujets de l'étude. Dans notre projet, nous avons dû éliminer des patients qui avaient été recrutés pour le projet mais pour lesquels les données de poids ou de taille étaient manquantes (environ 15 % des patients recrutés). Par ailleurs, le fait que nous avons conduit une étude rétrospective peut entraîner une sous-estimation de la contribution environnementale et une surestimation de la contribution génétique dans la problématique du dosage de la warfarine. Une étude prospective devrait donc être réalisée pour palier à ces lacunes.

De plus, nous aurions pu inclure un algorithme de prédiction de dose de warfarine qui n'inclut pas de données génétiques, dans le but de le comparer aux algorithmes pharmacogénétiques. Ce genre d'algorithme clinique étant plus précis que l'approche à dose fixe (5 mg), il aurait été intéressant de voir à quel point la pharmacogénétique améliore les thérapies avec warfarine chez les patients nouvellement anticoagulés.

Par ailleurs, soulignons le fait que la consommation de vitamine K dans la diète des patients n'a pas été prise en compte. Le régime alimentaire des patients est un des facteurs qui peut contribuer à la variabilité des réponses à la warfarine entre les individus. Ainsi, une grande consommation de vitamine K liposoluble peut inverser l'action de la warfarine alors qu'une faible consommation de cette même vitamine peut être en partie responsable de l'instabilité du contrôle de la thérapie de warfarine. Nous n'avons pas d'information sur la consommation de vitamine K des patients de la cohorte.

Finalement, n'oublions pas de rappeler que l'utilisation des algorithmes pharmacogénétiques permet seulement d'expliquer 50 % de la variabilité des doses requises de warfarine, ce qui indique que même avec l'utilisation de ces tests, les cliniciens pourraient tout de même prescrire une dose inadéquate pour l'anticoagulation. Les génotypes des patients pour le *CYP2C9* ou *VKORC1*, ne représentent qu'une fraction de la variance observée des doses de warfarine. En clair, indépendamment de la stratégie posologique de la warfarine et du régime thérapeutique concomitant, la mesure de l'INR demeure le marqueur phénotypique principal pour déterminer la dose de warfarine requise pour un patient. La détermination d'un génotype pour l'isoenzyme *CYP2C9* ou la *VKOR* n'ajoute qu'une partie de l'explication de cette variance en présence d'une polythérapie médicamenteuse.

Validité externe

La validité externe de cette étude est limitée par les caractéristiques de la population dans laquelle nous avons validé les algorithmes pharmacogénétiques. En effet, puisque la grande majorité des sujets de cette étude sont Caucasiens, nous n'avons pas pu évaluer adéquatement l'impact de l'ethnie sur les doses de warfarine requises. Le fait que la majorité des patients qui fréquentent la clinique d'anticoagulation de l'ICM soit caucasienne limite donc la généralisabilité de nos résultats. Ainsi, la généralisabilité de nos résultats peut se limiter uniquement aux individus ayant des caractéristiques semblables aux 605 patients de notre étude. En conséquence, les résultats peuvent se limiter aux sujets ayant des polymorphismes génétiques et fréquences alléliques comparables à notre population. Nous pouvons donc affirmer que l'algorithme de Gage est le plus valide dans une population caucasienne, mais nous ne pouvons affirmer la même chose pour une population asiatique ou afro-américaine.

La proportion estimée des effets génétiques dans la population spécifique peut, en principe, varier entre différentes populations. Ceci souligne aussi le fait que dans les pathologies complexes, l'action des gènes responsables de la pathologie étudiée pourrait se manifester à travers plusieurs phénotypes intermédiaires. Ces phénotypes intermédiaires peuvent à leurs tours être modifiés par plusieurs facteurs environnementaux. Par conséquent, afin d'identifier les gènes associés à certaines maladies ou aux réponses des patients à des thérapies précises, il faudra des études incluant de très grands échantillons de population.

TRAVAUX FUTURS ET SUGGESTION D'AMÉLIORATION POUR L'ÉTUDE

La pharmacogénétique ouvre de nouveaux horizons dans la médecine individualisée, permettant aux cliniciens de prescrire des traitements plus efficaces en fonction des profils génétiques des patients, augmentant ainsi leur efficacité tout en réduisant les risques d'effets secondaires adverses. La génétique n'explique toutefois pas tout. Dans le cas de la warfarine, même si la pharmacogénétique améliore grandement la prescription des comprimés de warfarine, il reste qu'environ 50 à 60 % de la variabilité des doses demeure inconnue. D'autres études d'association devront être réalisées pour déterminer s'il existe d'autres facteurs prédictifs des doses de warfarine. De plus en plus de cliniciens et de chercheurs affirment que la médecine personnalisée représente la voie d'avenir pour l'approche efficace et sécuritaire de certaines thérapies dont on attend une action très spécifique. Mais dans le cas de la warfarine, avec une proportion d'environ 50 pour cent de la variation des doses qui demeure inexpliquée, on peut affirmer sans crainte que la pharmacogénétique ne devrait pas être recommandée pour être utilisée de façon régulière en pratique clinique d'anticoagulation.

Des études prospectives devront être effectuées pour mieux analyser l'impact de la pharmacogénétique sur le dosage de la warfarine. De plus, malgré le fait que plusieurs études montrent que la génétique améliore l'exactitude des doses prédites à l'initiation des thérapies de warfarine, il reste que le but final de l'optimisation du traitement est d'anticoaguler le patient tout en évitant la survenue d'évènements indésirables tels que les hémorragies. Ainsi, les essais cliniques randomisés devront évaluer si l'utilisation des données pharmacogénétiques permet non seulement de bien prédire la dose de warfarine, mais surtout d'identifier les patients qui vont subir des saignements, des thromboses ou des fluctuations d'INR, par rapport à l'approche clinique standard. Il est beaucoup plus pertinent d'utiliser la pharmacogénétique en période de post-stabilisation pour permettre éventuellement de diminuer le taux d'hémorragies ou de thromboses, que de préconiser l'utilisation de la génétique pour trouver la dose idéale dans la période pré-stabilisation du patient. À ce sujet, mentionnons qu'un projet de recherche est présentement en cours à l'ICM et dans d'autres hôpitaux du Québec pour réaliser une étude de cohorte prospective qui s'intéresse à l'impact de la pharmacogénomique sur les fluctuations d'INR, les thromboses et les saignements.

La médecine personnalisée repose sur de d'énormes enjeux. Mais il faut se demander si celle-ci peut être rentable. Dans le cas de la warfarine, certains affirment que des tests génétiques efficaces permettraient d'économiser 1,1 milliard de dollars américains par an aux États-Unis. Ceux-ci mentionneront que les accidents vasculaires cérébraux, dus à de trop faibles doses de warfarine, ainsi que les hémorragies, causées par de trop fortes doses, coûteraient 1,83 milliard de dollars. De cette somme que l'on pourrait économiser, il faudrait soustraire 0,7 milliard pour le prix des tests. L'économie nette atteindrait environ 550 dollars par patient. Mais d'autres sont loin de garantir la rentabilité économique de la pharmacogénétique en ce qui concerne le dosage de la warfarine.

L'accès aux tests pharmacogénétiques dépend directement de la couverture de celle-ci par le système de santé et les assureurs privés. Ainsi, il apparaît évident que le remboursement joue un rôle déterminant dans le futur de la pharmacogénétique. Le remboursement d'un test génétique incite l'industrie à commercialiser son produit, les cliniciens à les adopter plus rapidement et les patients à y avoir accès et à vouloir y avoir recours. Une des raisons suggérées par certaines personnes pour attirer l'industrie vers la médecine personnalisée serait le fait qu'il y ait des stratégies de remboursement favorables [93]. Selon ces dernières, des investissements pour développer les tests pharmacogénétiques se feront uniquement s'il y a espoir d'obtenir un retour intéressant sur l'investissement ou encore un retour proportionnel au coût investi [93]. Par ailleurs, il ne faut pas oublier que tout comme dans le développement des médicaments, le remboursement doit supporter les coûts des essais cliniques, ceux-ci étant très élevés dans le cas de la pharmacogénétique.

Plusieurs tests génétiques ont été commercialisés dans les dernières années pour prédire les doses de warfarine. Les tests analysent généralement les deux génotypes les plus importants, soit les *CYP2C9* et *VKORC1* et les résultats peuvent être délivrés assez rapidement. Voici quelques uns de ces tests :

- Verigene Warfarin metabolism IVD, par Nanosphere
- INFINITI Warfarin Assay, par Autogenomics
- Rapid Genotyping Assay, par ParagonDx
- eSensor Warfarin Sensivity Test, par Osmetech
- eQ-PCR LightCycler Warfarin Kit, par TrimGen
- Warfarin Dosing Panel XP, par Iverson Genetic Diagnostics

Certains de ces tests proposent des coûts intéressants, mais même aujourd'hui, les défis économiques face à l'application des tests génétiques demeurent énormes. Ainsi, même si un test a été évalué pour sa validité analytique et clinique et qu'il est approuvé

par les organisations réglementaires, il n'est pas automatiquement couvert et remboursé par les tiers payeurs. Une preuve de son efficacité clinique demeure essentielle pour convaincre les sociétés que le test aura un impact réel pour mieux choisir les médicaments appropriés et pour améliorer les résultats cliniques. Avant d'offrir un remboursement pour ce type de produit, les compagnies d'assurance exigent donc que des études prospectives soient effectuées sur des larges populations dans le but de mesurer l'efficacité clinique.

Par ailleurs, il faut noter que les décisions concernant le remboursement d'un test génétique dépendent beaucoup de l'impact sur les coûts entiers du système de santé [93]. Il est bien connu que les assureurs publics et privés ont des budgets limités et doivent faire des choix parmi différentes options présentées. Les décisions d'inscription et de remboursement de médicaments ou de procédures des gouvernements se basent sur les rapports de bénéfices et de risques ainsi que sur le coût-efficacité des produits évalués. Comme l'évaluation du rapport coût efficacité incrémental est souvent obligatoire pour inscrire des médicaments sur les listes, des études de coût-efficacité des traitements ciblés sont soumises par l'industrie au gouvernement afin de réaliser des évaluations. En outre, il serait aussi très important de connaître l'impact sociétal à long terme de la pharmacogénétique ainsi que son impact global sur le système de santé.

Enfin, tous ces éléments suggèrent que des études de coût-efficacité sont nécessaires afin d'évaluer les coûts réels ou les bénéfices économiques de l'utilisation des tests pharmacogénomiques dans la pratique clinique. Une fois que l'efficacité de la pharmacogénétique sera démontrée chez les patients nouvellement anticoagulés, des études pharmacoéconomiques devront se pencher sur le sujet pour permettre aux décideurs publics de prendre les décisions adéquates en ce qui concerne l'avenir des thérapies de warfarine. Les études du futur devront se pencher spécifiquement sur la collecte de données sur les paramètres qui ont la plus grande influence sur les incertitudes en ce qui concerne la rentabilité économique du génotypage. Ces paramètres

incluent l'efficacité du génotypage sur la survenue d'évènements thromboemboliques, l'efficacité du génotypage sur la survenue de saignements ainsi que les coûts associés aux tests génétiques réalisés pour le dosage de la warfarine. En conclusion, il est clair que plusieurs incertitudes demeurent quant à l'utilisation des tests pharmacogénétiques pour prescrire la warfarine. De plus, plusieurs barrières scientifiques, législatives, professionnelles, économiques et éthiques non résolues font en sorte que la concrétisation de la médecine personnalisée demeure pour l'instant une approche médicale qui tarde à venir.

Conclusion

Notre étude a mis en évidence la validité de l'algorithme pharmacogénétique de Gage en ce qui concerne la prédiction des doses de warfarine en situation clinique réelle. Notre étude possède des qualités indiscutables concernant la précision statistique et l'ampleur des données recueillies. Et malgré qu'elle soit sujette à certains biais potentiels reliés à la collecte de données, nous pensons que les conclusions obtenues sont crédibles, au regard de la concordance de nos résultats avec ceux d'autres études.

L'étude réalisée visait à évaluer les déterminants génotypiques et phénotypiques qui peuvent influencer l'obtention de la dose optimale de warfarine en situation réelle. Les recherches visant l'impact de l'usage non-optimal des médicaments doivent devenir une priorité pour la gestion des systèmes de santé. Il est impératif de pouvoir identifier toutes déficiences dans nos pratiques cliniques actuelles et d'appliquer des stratégies pour les contrer. Certains affirment que la pharmacogénétique représente l'avenir de la recherche pharmaceutique. En effet, l'introduction des données pharmacogénétiques est un enjeu crucial pour mieux définir les populations à risque qui répondront davantage à des nouveaux traitements qui seront ciblés et coûteux, tels que le dabigatran. En identifiant les gènes qui ont un impact sur la prédiction de l'efficacité des médicaments, des conseils pourront être fournis aux cliniciens en vue d'aider au dosage appropriés d'un médicament, ce qui contribuera à l'amélioration ainsi qu'à l'usage optimal de l'utilisation des soins de santé. Or, le rôle exact de la pharmacogénétique n'est pas tout à fait clair encore, et les données probantes sur son utilité clinique et économique, qui émergeront à l'avenir, préciseront sa place dans l'adaptation posologique de la warfarine. Des essais cliniques randomisés seront indispensables pour évaluer l'intérêt thérapeutique de ces tests génétiques. Leurs retombées éthiques, sociales et psychologiques méritent une attention particulière. Même si la médecine personnalisée est un domaine d'actualité, pour l'instant aucun cabinet de médecin ne dispose de tests génétiques pour les thérapies cardiovasculaires. Avant d'offrir ces analyses à grande échelle, plusieurs questions à résoudre. Par exemple, quelle importance accorder aux gènes qui ne sont, en fait, responsables que d'une partie de l'effet d'un médicament? Dans le cas de la warfarine, les

deux principaux gènes concernés, le *CYP2C9* et le *VKORC1*, ne sont pas les seules variables qui influencent la dose du patient. Même associés à des facteurs comme l'âge, l'IMC, les comédications, ils ne prédisent qu'entre 50 et 60 % les différents besoins en warfarine. Si le patient est âgé, obèse, prend d'autres médicaments ou de la nourriture riche en vitamine K, tout change. À la lumière des résultats obtenus dans cette étude, nous affirmons donc que la pharmacogénétique n'a pas encore fourni assez de preuves pour que les tests génétiques deviennent chose courante avant de débiter une thérapie d'anticoagulation avec la warfarine.

Bibliographie

1. Kohn, L.T., J. Corrigan, and M.S. Donaldson, *To err is human : building a safer health system* 2000, Washington, D.C.: National Academy Press. xxi, 287 p.
2. Wilkinson, G.R., *Drug metabolism and variability among patients in drug response*. N Engl J Med, 2005. **352**(21): p. 2211-21.
3. Wilffert, B., et al., *From evidence based medicine to mechanism based medicine. Reviewing the role of pharmacogenetics*. International journal of clinical pharmacy, 2011. **33**(1): p. 3-9.
4. Gage, B.F., *Pharmacogenetics-based coumarin therapy*. Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology. American Society of Hematology. Education Program, 2006: p. 467-73.
5. Budnitz, D.S., et al., *Medication use leading to emergency department visits for adverse drug events in older adults*. Ann Intern Med, 2007. **147**(11): p. 755-65.
6. Wadelius, M. and M. Pirmohamed, *Pharmacogenetics of warfarin: current status and future challenges*. Pharmacogenomics J, 2007. **7**(2): p. 99-111.
7. Sconce, E.A., et al., *The impact of CYP2C9 and VKORC1 genetic polymorphism and patient characteristics upon warfarin dose requirements: proposal for a new dosing regimen*. Blood, 2005. **106**(7): p. 2329-33.
8. Wadelius, M., et al., *Common VKORC1 and GGCX polymorphisms associated with warfarin dose*. Pharmacogenomics J, 2005. **5**(4): p. 262-70.
9. Veenstra, D.L., et al., *Association of Vitamin K epoxide reductase complex 1 (VKORC1) variants with warfarin dose in a Hong Kong Chinese patient population*. Pharmacogenet Genomics, 2005. **15**(10): p. 687-91.
10. Takahashi, H., et al., *Different contributions of polymorphisms in VKORC1 and CYP2C9 to intra- and inter-population differences in maintenance dose of warfarin in Japanese, Caucasians and African-Americans*. Pharmacogenet Genomics, 2006. **16**(2): p. 101-10.
11. Taube, J., D. Halsall, and T. Baglin, *Influence of cytochrome P-450 CYP2C9 polymorphisms on warfarin sensitivity and risk of over-anticoagulation in patients on long-term treatment*. Blood, 2000. **96**(5): p. 1816-9.
12. Stehle, S., et al., *Pharmacogenetics of oral anticoagulants: a basis for dose individualization*. Clinical pharmacokinetics, 2008. **47**(9): p. 565-94.
13. Gage, B.F. and L.J. Lesko, *Pharmacogenetics of warfarin: regulatory, scientific, and clinical issues*. J Thromb Thrombolysis, 2008. **25**(1): p. 45-51.
14. Rost, S., et al., *Mutations in VKORC1 cause warfarin resistance and multiple coagulation factor deficiency type 2*. Nature, 2004. **427**(6974): p. 537-41.
15. Katzung, B., *Chapter 34: Drugs Used in Disorders of Coagulation*. Basic and Clinical Pharmacology, 10th ed. , 2007. **The McGraw-Hill Companies, Inc**(New York): p. 542-559.
16. Limdi, N.A. and D.L. Veenstra, *Warfarin pharmacogenetics*. Pharmacotherapy, 2008. **28**(9): p. 1084-97.
17. Kim, M.J., et al., *A regulatory science perspective on warfarin therapy: a pharmacogenetic opportunity*. J Clin Pharmacol, 2009. **49**(2): p. 138-46.

18. Lip, G.Y., R.G. Hart, and D.S. Conway, *Antithrombotic therapy for atrial fibrillation*. BMJ, 2002. **325**(7371): p. 1022-5.
19. Wolf, P.A., R.D. Abbott, and W.B. Kannel, *Atrial fibrillation as an independent risk factor for stroke: the Framingham Study*. Stroke; a journal of cerebral circulation, 1991. **22**(8): p. 983-8.
20. *Risk factors for stroke and efficacy of antithrombotic therapy in atrial fibrillation. Analysis of pooled data from five randomized controlled trials*. Arch Intern Med, 1994. **154**(13): p. 1449-57.
21. Petersen, P., et al., *Placebo-controlled, randomised trial of warfarin and aspirin for prevention of thromboembolic complications in chronic atrial fibrillation. The Copenhagen AFASAK study*. Lancet, 1989. **1**(8631): p. 175-9.
22. Despotovic, S.F., S. Siewe, and A. Keta, [*Which patients with atrial fibrillation need anticoagulation?*]. Revue medicale suisse, 2010. **6**(264): p. 1816-8, 1820.
23. Cohen, N., et al., *Warfarin for stroke prevention still underused in atrial fibrillation: patterns of omission*. Stroke, 2000. **31**(6): p. 1217-22.
24. Buckingham, T.A. and R. Hatala, *Anticoagulants for atrial fibrillation: why is the treatment rate so low?* Clin Cardiol, 2002. **25**(10): p. 447-54.
25. Linder, M.W. and R. Valdes, Jr., *Genetic mechanisms for variability in drug response and toxicity*. Journal of analytical toxicology, 2001. **25**(5): p. 405-13.
26. Lorient, M.A. and P. Beaune, [*Vitamin K epoxide reductase: Fresh blood for oral anticoagulant therapies*]. La Revue de medecine interne / fondee ... par la Societe nationale francaise de medecine interne, 2006. **27**(12): p. 979-82.
27. Hirsh, J., et al., *American Heart Association/American College of Cardiology Foundation guide to warfarin therapy*. J Am Coll Cardiol, 2003. **41**(9): p. 1633-52.
28. Hirsh, J., et al., *Executive summary: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition)*. Chest, 2008. **133**(6 Suppl): p. 71S-109S.
29. Hirsh, J., et al., *Antithrombotic and thrombolytic therapy: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition)*. Chest, 2008. **133**(6 Suppl): p. 110S-112S.
30. Horton, J.D. and B.M. Bushwick, *Warfarin therapy: evolving strategies in anticoagulation*. Am Fam Physician, 1999. **59**(3): p. 635-46.
31. Garcia, D.A., et al., *The risk of hemorrhage among patients with warfarin-associated coagulopathy*. J Am Coll Cardiol, 2006. **47**(4): p. 804-8.
32. Jones, M., et al., *Evaluation of the pattern of treatment, level of anticoagulation control, and outcome of treatment with warfarin in patients with non-valvar atrial fibrillation: a record linkage study in a large British population*. Heart, 2005. **91**(4): p. 472-7.
33. Reynolds, M.W., et al., *Warfarin anticoagulation and outcomes in patients with atrial fibrillation: a systematic review and metaanalysis*. Chest, 2004. **126**(6): p. 1938-45.
34. Kamali, F., et al., *Contribution of age, body size, and CYP2C9 genotype to anticoagulant response to warfarin*. Clin Pharmacol Ther, 2004. **75**(3): p. 204-12.

35. Loebstein, R., et al., *Interindividual variability in sensitivity to warfarin--Nature or nurture?* Clin Pharmacol Ther, 2001. **70**(2): p. 159-64.
36. Ansell, J., et al., *The pharmacology and management of the vitamin K antagonists: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy.* Chest, 2004. **126**(3 Suppl): p. 204S-233S.
37. Whitley, H.P., et al., *Effect of patient-specific factors on weekly warfarin dose.* Ther Clin Risk Manag, 2007. **3**(3): p. 499-504.
38. Yin, T. and T. Miyata, *Warfarin dose and the pharmacogenomics of CYP2C9 and VKORC1 - rationale and perspectives.* Thromb Res, 2007. **120**(1): p. 1-10.
39. Jaffer, A. and L. Bragg, *Practical tips for warfarin dosing and monitoring.* Cleve Clin J Med, 2003. **70**(4): p. 361-71.
40. Prandoni, P., et al., *Recurrent venous thromboembolism and bleeding complications during anticoagulant treatment in patients with cancer and venous thrombosis.* Blood, 2002. **100**(10): p. 3484-8.
41. Khan, T., et al., *Dietary vitamin K influences intra-individual variability in anticoagulant response to warfarin.* Br J Haematol, 2004. **124**(3): p. 348-54.
42. Janetzky, K. and A.P. Morreale, *Probable interaction between warfarin and ginseng.* Am J Health Syst Pharm, 1997. **54**(6): p. 692-3.
43. Matthews, M.K., Jr., *Association of Ginkgo biloba with intracerebral hemorrhage.* Neurology, 1998. **50**(6): p. 1933-4.
44. Yu, C.M., J.C. Chan, and J.E. Sanderson, *Chinese herbs and warfarin potentiation by 'danshen'.* J Intern Med, 1997. **241**(4): p. 337-9.
45. Delaney, J.A., et al., *Drug drug interactions between antithrombotic medications and the risk of gastrointestinal bleeding.* CMAJ, 2007. **177**(4): p. 347-51.
46. Thijssen, H.H., et al., *Paracetamol (acetaminophen) warfarin interaction: NAPQI, the toxic metabolite of paracetamol, is an inhibitor of enzymes in the vitamin K cycle.* Thromb Haemost, 2004. **92**(4): p. 797-802.
47. Lu, Y., et al., *Characteristics of the amiodarone-warfarin interaction during long-term follow-up.* Am J Health Syst Pharm, 2008. **65**(10): p. 947-52.
48. Sanderson, S., J. Emery, and J. Higgins, *CYP2C9 gene variants, drug dose, and bleeding risk in warfarin-treated patients: a HuGENet systematic review and meta-analysis.* Genet Med, 2005. **7**(2): p. 97-104.
49. Gulseth, M.P., G.R. Grice, and W.E. Dager, *Pharmacogenomics of warfarin: uncovering a piece of the warfarin mystery.* Am J Health Syst Pharm, 2009. **66**(2): p. 123-33.
50. Francis, C.W., *New issues in oral anticoagulants.* Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2008: p. 259-65.
51. Scott, S.A., et al., *CYP2C9*8 is prevalent among African-Americans: implications for pharmacogenetic dosing.* Pharmacogenomics, 2009. **10**(8): p. 1243-55.
52. Kamali, F. and M. Pirmohamed, *The future prospects of pharmacogenetics in oral anticoagulation therapy.* Br J Clin Pharmacol, 2006. **61**(6): p. 746-51.
53. Rieder, M.J., et al., *Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose.* N Engl J Med, 2005. **352**(22): p. 2285-93.
54. Kamali, F. and H. Wynne, *Pharmacogenetics of Warfarin.* Annu Rev Med, 2009.

55. Au, N. and A.E. Rettie, *Pharmacogenomics of 4-hydroxycoumarin anticoagulants*. Drug Metab Rev, 2008. **40**(2): p. 355-75.
56. Caldwell, M.D., et al., *CYP4F2 genetic variant alters required warfarin dose*. Blood, 2008. **111**(8): p. 4106-12.
57. Borgiani, P., et al., *CYP4F2 genetic variant (rs2108622) significantly contributes to warfarin dosing variability in the Italian population*. Pharmacogenomics, 2009. **10**(2): p. 261-6.
58. Pautas, E., et al., *Genetic factors (VKORC1, CYP2C9, EPHX1, and CYP4F2) are predictor variables for warfarin response in very elderly, frail inpatients*. Clin Pharmacol Ther. **87**(1): p. 57-64.
59. Jorgensen, A.L., et al., *Genetic and environmental factors determining clinical outcomes and cost of warfarin therapy: a prospective study*. Pharmacogenet Genomics, 2009.
60. Rieder, M.J., A.P. Reiner, and A.E. Rettie, *Gamma-glutamyl carboxylase (GGCX) tagSNPs have limited utility for predicting warfarin maintenance dose*. J Thromb Haemost, 2007. **5**(11): p. 2227-34.
61. Kimmel, S.E., et al., *Apolipoprotein E genotype and warfarin dosing among Caucasians and African Americans*. Pharmacogenomics J, 2008. **8**(1): p. 53-60.
62. Herman, D., et al., *Influence of CYP2C9 polymorphisms, demographic factors and concomitant drug therapy on warfarin metabolism and maintenance dose*. Pharmacogenomics J, 2005. **5**(3): p. 193-202.
63. Tham, L.S., et al., *A warfarin-dosing model in Asians that uses single-nucleotide polymorphisms in vitamin K epoxide reductase complex and cytochrome P450 2C9*. Clin Pharmacol Ther, 2006. **80**(4): p. 346-55.
64. Miao, L., 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*. Eur J Clin Pharmacol, 2007. **63**(12): p. 1135-41.
65. Schelleman, H., et al., *Dosing algorithms to predict warfarin maintenance dose in Caucasians and African Americans*. Clin Pharmacol Ther, 2008. **84**(3): p. 332-9.
66. Gage, B.F., et al., *Use of pharmacogenetic and clinical factors to predict the therapeutic dose of warfarin*. Clin Pharmacol Ther, 2008. **84**(3): p. 326-31.
67. Michaud, V., et al., *Combination of phenotype assessments and CYP2C9-VKORC1 polymorphisms in the determination of warfarin dose requirements in heavily medicated patients*. Clin Pharmacol Ther, 2008. **83**(5): p. 740-8.
68. Huang, S.W., et al., *Validation of VKORC1 and CYP2C9 genotypes on interindividual warfarin maintenance dose: a prospective study in Chinese patients*. Pharmacogenet Genomics, 2009. **19**(3): p. 226-34.
69. Wadelius, M., et al., *The largest prospective warfarin-treated cohort supports genetic forecasting*. Blood, 2009. **113**(4): p. 784-92.
70. Wells, P.S., et al., *A regression model to predict warfarin dose from clinical variables and polymorphisms in CYP2C9, CYP4F2, and VKORC1: Derivation in a sample with predominantly a history of venous thromboembolism*. Thromb Res. **125**(6): p. e259-64.

71. Klein, T.E., et al., *Estimation of the warfarin dose with clinical and pharmacogenetic data*. N Engl J Med, 2009. **360**(8): p. 753-64.
72. Wysowski, D.K., P. Nourjah, and L. Swartz, *Bleeding complications with warfarin use: a prevalent adverse effect resulting in regulatory action*. Arch Intern Med, 2007. **167**(13): p. 1414-9.
73. Higashi, M.K. and D.L. Veenstra, *Managed care in the genomics era: assessing the cost effectiveness of genetic tests*. Am J Manag Care, 2003. **9**(7): p. 493-500.
74. You, J.H., et al., *The potential clinical and economic outcomes of pharmacogenetics-oriented management of warfarin therapy - a decision analysis*. Thromb Haemost, 2004. **92**(3): p. 590-7.
75. Patrick, A.R., J. Avorn, and N.K. Choudhry, *Cost-effectiveness of genotype-guided warfarin dosing for patients with atrial fibrillation*. Circ Cardiovasc Qual Outcomes, 2009. **2**(5): p. 429-36.
76. McWilliam A, e.a., *Health care savings from personalizing medicine using genetic testing: the case of warfarin [document de travail]*. Dans : Washington (DC): AEI-Brookings Joint Center. Accessible au http://reg-markets.org/admin/authorpdfs/redirect-safely.php%3Ffname=../pdffiles/WP06-23_topost.pdf, 2006.
77. Eckman, M.H., et al., *Cost-effectiveness of using pharmacogenetic information in warfarin dosing for patients with nonvalvular atrial fibrillation*. Ann Intern Med, 2009. **150**(2): p. 73-83.
78. Meckley, L.M., et al., *A policy model to evaluate the benefits, risks and costs of warfarin pharmacogenomic testing*. Pharmacoeconomics. **28**(1): p. 61-74.
79. Leey, J.A., et al., *Cost-effectiveness of genotype-guided warfarin therapy for anticoagulation in elderly patients with atrial fibrillation*. The American journal of geriatric pharmacotherapy, 2009. **7**(4): p. 197-203.
80. Verhoef, T.I., et al., *A systematic review of cost-effectiveness analyses of pharmacogenetic-guided dosing in treatment with coumarin derivatives*. Pharmacogenomics, 2010. **11**(7): p. 989-1002.
81. Genelex, *Pharmacogenetics: personalizing medicine today!* . Dans : Health and DNA [site Web]. Seattle (WA): Genelex. Accessible au : <<<http://www.healthanddna.com/professional/pharmacogenetics.html#2c9>>>2007.
82. Crowther, M.A., et al., *A randomized trial comparing 5-mg and 10-mg warfarin loading doses*. Arch Intern Med, 1999. **159**(1): p. 46-8.
83. Caraco, Y., S. Blotnick, and M. Muszkat, *CYP2C9 genotype-guided warfarin prescribing enhances the efficacy and safety of anticoagulation: a prospective randomized controlled study*. Clin Pharmacol Ther, 2008. **83**(3): p. 460-70.
84. Anderson, J.L., et al., *Randomized trial of genotype-guided versus standard warfarin dosing in patients initiating oral anticoagulation*. Circulation, 2007. **116**(22): p. 2563-70.
85. Hillman, M.A., et al., *A prospective, randomized pilot trial of model-based warfarin dose initiation using CYP2C9 genotype and clinical data*. Clin Med Res, 2005. **3**(3): p. 137-45.

86. van Schie, R.M., et al., *Genotype-guided dosing of coumarin derivatives: the European pharmacogenetics of anticoagulant therapy (EU-PACT) trial design*. Pharmacogenomics, 2009. **10**(10): p. 1687-95.
87. Lindh, J.D., et al., *Influence of CYP2C9 genotype on warfarin dose requirements--a systematic review and meta-analysis*. Eur J Clin Pharmacol, 2009. **65**(4): p. 365-75.
88. Wallentin, L., et al., *Efficacy and safety of dabigatran compared with warfarin at different levels of international normalised ratio control for stroke prevention in atrial fibrillation: an analysis of the RE-LY trial*. Lancet. **376**(9745): p. 975-83.
89. Connolly, S.J., et al., *Dabigatran versus warfarin in patients with atrial fibrillation*. The New England journal of medicine, 2009. **361**(12): p. 1139-51.
90. Roper, N., et al., *Validation and comparison of pharmacogenetics-based warfarin dosing algorithms for application of pharmacogenetic testing*. J Mol Diagn. **12**(3): p. 283-91.
91. Shaw, P.B., et al., *Accuracy assessment of pharmacogenetically predictive warfarin dosing algorithms in patients of an academic medical center anticoagulation clinic*. J Thromb Thrombolysis. **30**(2): p. 220-5.
92. Sagreiya, H., et al., *Extending and evaluating a warfarin dosing algorithm that includes CYP4F2 and pooled rare variants of CYP2C9*. Pharmacogenetics and genomics, 2010. **20**(7): p. 407-13.
93. Deverka, P.A. and H.L. McLeod, *Harnessing economic drivers for successful clinical implementation of pharmacogenetic testing*. Clinical pharmacology and therapeutics, 2008. **84**(2): p. 191-3.

Annexes

ANNEXE 1 : Classification de la médication concomitante

Médicaments interagissant avec la warfarine	Code de dénomination commune	Diminution de l'effet de la warfarine, INR↓	Augmentation de l'effet de la warfarine, INR↑	Autre inhibition de la coagulation
Tube digestif et métabolisme				
Cimetidine	45618, 38366, 38756	0	1	0
Omeprazole	45519	0	1	0
Lansoprazole	47140	0	1	0
Esomeprazole	47418	0	1	0
Sucralfate	42006	1	0	0
Lactulose	33400	0	1	0
Orlistat	46559	0	1	0
Acarbose	47151	0	1	0
Système sanguin				
Dalteparine	47125	0	0	1
Enoxaparin	47026	0	0	1
Nadroparin	47264	0	0	1
Tinzaparin	47098	0	0	1
Clopidogrel	47307	0	0	1
Aspirin	143	0	0	1
Dipyridamol	3094	0	0	1
Dipyridamol, aspirin	47365	0	0	1
Vitamin K	7514	1	0	0
Système cardiovasculaire				
Propafenone	45478	0	1	0
Amiodarone	45441	0	1	0
Bosentan	47439	1	0	0
Propranolol	8229	0	1	0
Simvastatin	45564	0	1	0
Fluvastatin	47083	0	1	0
Rosuvastatin	46860	0	1	0
Bezafibrate	47092	0	1	0
Gemfibrozil	44879	0	1	0
Fenofibrate	45574	0	1	0
Cholestyramine	1989	1	0	0
Colestipol	44905	1	0	0
Médicaments dermatologiques				
Fusidic acid	41980	0	1	0
Système génito-urinaire et hormones sexuelles				
Testosterone	09334 & 09347 & 09360	0	1	0
Tolterodine	47312	0	1	0

Médicaments interagissant avec la warfarine	Code de dénomination commune	Diminution de l'effet de la warfarine, INR↓	Augmentation de l'effet de la warfarine, INR↑	Autre inhibition de la coagulation
Préparations d'hormones systémiques excluant les hormones sexuelles et l'insuline				
Levothyroxine	5252	0	1	0
Anti-infectieux pour usage systémique				
Doxycycline	3211	0	1	0
Amoxicillin	18244	0	1	0
Dicloxacillin	2743	1	0	0
Cloxacillin	2106	1	0	0
Amoxicillin, clavulanate	44333	0	1	0
Trimethoprim	41603	0	1	0
Sulfamethoxazole, trimethoprim	43085	0	1	0
Erythromycin	47069	0	1	0
Clarithromycin	43164 & 47018	0	1	0
Azithromycin	47099	0	1	0
Ciprofloxacine	45616 & 45619	0	1	0
Norfloxacine	45443	0	1	0
Moxifloxacine	47391	0	1	0
Fluconazole	45568	0	1	0
Rifampin	38834	1	0	0
Agents antinéoplasiques et immunomodulateurs				
Tamoxifène	38704	0	1	0
Cyclosporine	46266 & 44060	1	0	0
Azathioprine	754	1	0	0
Système musculéux-squelettique				
Indométacine	4810	0	0	1
Sulindac	40381	0	0	1
Diclofenac	41694 & 47078	0	0	1
Diclofenac, misoprostol	47059	0	0	1
Meloxicam	47385	0	0	1
Ibuprofène	4745	0	0	1
Naproxène	46152	0	0	1
Ketoprofène	38691	0	0	1
Celecoxib	47327	0	1	1
Rofecoxib	47346	0	0	1
Valdecoxib	46858	0	0	1
Nabumétone	47084	0	0	1
Glucosamine	46679	0	1	0
Allopurinol	195	0	1	0

Médicaments interagissant avec la warfarine	Code de dénomination commune	Diminution de l'effet de la warfarine, INR↓	Augmentation de l'effet de la warfarine, INR↑	Autre inhibition de la coagulation
Système nerveux				
Aspirin, codeine	38184	0	0	1
Paracetamol, codeine	38496	0	1	0
Tramadol	47654	0	1	0
Paracetamol	39	0	1	0
Phenobarbital	7345	1	0	0
Phénytoin	43462	1	0	0
Carbamazepine	1404	1	0	0
Valproic acid	38951	0	0	1
Quetiapine	47267	0	1	0
Clomipramine	14781	0	1	0
Fluoxétine	45504	0	1	1
Citalopram	47317	0	0	1
Paroxétine	47061	0	0	1
Sertraline	45630	0	0	1
Escitalopram	47553	0	0	1
Venlafaxine	47118	0	0	1
Disulfiram	03159 & 46797	0	1	0
Produits antiparasitiques et insecticides				
Metronidazol	6266	0	1	0
Quinine	8489	0	1	0
Système respiratoire				
Noscapine	14794	0	1	0
Autres				
Mesna	45509	0	1	0
Suppléments diététiques et plantes médicinales				
Bleuets	-	0	0	1
Evening primrose oil	-	0	0	1
Ail	-	0	1	1
Ginkgo biloba	-	0	0	1
Ginseng	-	0	1	1
Omega-3-acid ethyl esters	-	0	1	1

Références: The Swedish Drug Index, the drug information databases Janusinfo, Micromedex, the Swedish Drug Information system, cytochrome P450 Enzyme system homepages, selected drug interaction references, and PubMed searches.