

ETUDE MULTICENTRIQUE AVEC LE SOUTIEN DU GEHT
Présentation du projet – GEHT Clermont-Ferrand, octobre 2011

PHARMACOGENETIQUE DE LA RESISTANCE
AUX ANTAGONISTES DE LA VITAMINE K :
MISE EN PLACE D'UN « RESEAU DE PATIENTS RESISTANTS »

Equipes participantes :

- Marie-Anne LORIOT, Caroline MOREAU, INSERM UMR-S 775 (P. Laurent-Puig) et Service de Biochimie (Pr Ph Beaune) UF Pharmacogénétique et Oncologie Moléculaire Hôpital Européen Georges Pompidou (AP HP), Paris. Email : marie-anne.loriot@egp.aphp.fr
- Virginie SIGURET, Pascale GAUSSEM, INSERM UMR-S 765 (J. Emmerich) et Service d'hématologie biologique (Pr AM Fischer) – Hôpital Européen Georges Pompidou (AP HP), Paris. Email : virginie.siguret@egp.aphp.fr
- Etienne BENOIT, Virginie LATTARD, INRA USC 1233 (Mycotoxines et toxicologie comparée des xénobiotiques – résistance aux anticoagulants antivitamine K) et Ecole Vétérinaire, Marcy l'Etoile. Email : e.benoit@vetagro-sup.fr

Résumé

Les antagonistes de la vitamine K (AVK) sont largement utilisés dans la prise en charge de la pathologie thromboembolique veineuse et artérielle. Des résistances définies par des doses d'AVK atteignant au moins deux fois la dose moyenne à l'équilibre chez des patients d'âge comparable sont observées chez certains patients. Parfois, malgré des escalades très importantes des doses, l'équilibre ne peut être atteint. L'incidence des résistances d'origine génétique est très faible, mal connue. Dans la littérature ont été décrites à ce jour une vingtaine de mutations faux-sens touchant le gène *VKORC1* codant pour sous unité C1 de la protéine vitamine K oxydo-réductase, cible pharmacologique des AVK. Certaines de ces mutations touchent des acides aminés identiques à ceux retrouvés chez les souches de rats ou de souris résistants aux raticides AVK.

Afin de mieux caractériser les bases moléculaires de la résistance aux AVK, nos objectifs sont de constituer, avec l'aide du GEHT, un réseau de biologistes et de prescripteurs pour recenser les patients équilibrés à des doses très élevées ou pour lesquels existe une résistance majeure aux AVK en début de traitement après avoir exclu un défaut d'observance ou une interférence médicamenteuse. L'approche comprend trois étapes :

- **la recherche des mutations VKORC1** : par séquençage des régions exoniques et de la région 5' non codante ;
- **la caractérisation fonctionnelle des nouvelles mutations identifiées** à partir de systèmes d'expression de protéines VKORC1 recombinantes *in vitro* reproduisant ces mutations. Ce type d'approche permettra de mesurer les constantes cinétiques des enzymes VKORC1 recombinantes mutées pour les différents AVK comparativement à l'enzyme recombinante sauvage ;
- **l'analyse de nouveaux gènes candidats** (caluménine...) : en fonction des données de la littérature, d'autres gènes que VKORC1 pourront faire l'objet d'une analyse par séquençage.

Outre une meilleure caractérisation des relations structure-fonction de VKORC1, l'identification des mutations chez les patients aura pour intérêt de guider le clinicien dans l'escalade des doses d'AVK, évitant l'échec thérapeutique par arrêt prématuré du traitement.

Introduction

Les antagonistes de la vitamine K (AVK) sont largement utilisés dans la prise en charge de la pathologie thromboembolique veineuse et artérielle, dont ils constituent le traitement de référence dans de nombreuses indications. Les AVK commercialisés en thérapeutique humaine appartiennent à deux familles, celle des dérivés coumariniques comprenant la warfarine (Coumadine[®]), l'acénocoumarol (Sintrom[®] et Mini-Sintrom[®]) et la phenprocoumone (Marcoumar[®]), et celle des dérivés de l'indanedione avec la fluindione (Préviscan[®]). Les AVK sont des inhibiteurs de la régénération de la vitamine K à l'état réduit et ont une cible pharmacologique commune, la sous-unité 1 de la vitamine K époxyde réductase (VKORC1) (Stafford, 2005). Si l'existence de cette protéine est connue depuis longtemps, elle n'avait jamais pu être isolée et son gène n'a été caractérisé qu'en 2004 (Li et al, 2004 ; Rost et al, 2004). Il s'agit d'une protéine transmembranaire du réticulum endoplasmique (RE) de 163 acides aminés, codée par trois exons : elle comprend quatre domaines transmembranaires et une boucle à l'intérieur de la lumière du RE d'une cinquantaine d'acides aminés. Le métabolisme des dérivés coumariniques, connu depuis une quinzaine d'années, implique principalement le cytochrome P450 2C9 (CYP2C9), qui les catabolise en dérivés inactifs. Celui de la fluindione reste mal connu.

Variabilité de la réponse aux AVK

Les AVK sont difficiles à manier à cause de leur marge thérapeutique étroite et à cause de l'importante variabilité inter- et intra-individuelle de la réponse, évaluée par l'INR. Ainsi, la dose d'AVK à l'équilibre varie d'un facteur 20 environ d'un individu à l'autre, indépendamment de l'AVK utilisé (Linder, 2001). Les causes de variabilité sont diverses (Moreau et al, 2010) :

- physiopathologiques : âge, sexe, indice de masse corporelle, comorbidités, état nutritionnel ;
- environnementales : médicaments, alimentation ;
- génétiques, liées à des polymorphismes touchant des gènes codant pour des protéines impliquées dans le cycle de la vitamine K (*VKORC1*, *CYP4F2*,...) ou codant pour des protéines impliquées dans le métabolisme (*CYP2C9*,...) ou le transport des médicaments. Ces polymorphismes sont, pour certains, très fréquents dans la population générale et leur fréquence varie selon les ethnies : environ 20% des Caucasiens sont porteurs d'un variant *CYP2C9**2 ou *3 et sont métaboliseurs lents (Lindh, et al 2009) ; 40% des Caucasiens sont porteurs du polymorphisme -1639G>A de *VKORC1* au niveau du promoteur, à l'origine d'une diminution de la transcription du gène (Rieder et al, 2005, D'Andrea et al, 2005).

Pour ce qui concerne la dose à l'équilibre des dérivés coumariniques, la part de variabilité expliquée par la génétique est prépondérante, puisque, chez le sujet d'âge moyen, 40 à 60% de cette variabilité est imputable aux variations de *VKORC1* (-1639G>A), *CYP4F2* (Val433Met) et de *CYP2C9* (*CYP2C9**2 et *CYP2C9**3), et seulement 10 à 20% aux facteurs cliniques ou environnementaux (Gage et al, 2008, Caldwell et al 2008, Takeuchi et al 2009, Teichert et al 2009, Klein et al. 2009).

Si l'origine de l'hypersensibilité aux AVK, fréquente en pratique clinique, est désormais mieux comprise grâce au génotypage des patients, il n'en est pas de même pour les

« résistants ». En effet, dans de rares cas, le prescripteur est confronté à une résistance biologique aux AVK, notamment lors de la recherche de la dose à l'équilibre à l'instauration du traitement : malgré l'augmentation progressive et substantielle des posologies, l'INR n'augmente pas ou que très faiblement. Les doses à l'équilibre sont alors inhabituellement élevées, voire dans certains cas, il n'y a pas d'atteinte possible de l'équilibre malgré des doses exceptionnellement élevées. Ainsi, chez un même patient, des doses allant jusqu'à 45 mg/jour de warfarine, 80 mg/jour de fluindione ou encore 12 mg/jour d'acénocoumarol ont été rapportées (Bodin, *et al.* 2005). Avant d'évoquer une possible résistance d'origine génétique, il convient d'éliminer une interférence médicamenteuse (inducteur enzymatique, vitamine K à forte dose...), par une plante (millepertuis,...) ou un éventuel défaut d'observance (Holbrook *et al.*, 2005). Un dosage sérique de l'AVK permet d'exclure formellement cette dernière hypothèse.

Mécanisme de la résistance aux AVK et intérêt du génotypage de VKORC1

L'étude de la résistance aux raticides antagonistes de la vitamine K chez les rats et les souris a permis d'élucider une partie des mécanismes de résistance chez l'homme (Pelz *et al.*, 2005). Du fait d'une large diffusion des raticides AVK dans les années 1950 à 80, une forte pression de sélection s'est opérée et ces raticides « classiques » sont devenus inefficaces du fait de l'émergence de nombreuses souches de rongeurs résistants ; des « super-warfarines » ont dû alors être développées. Dès que la séquence du gène murin de *VKORC1* a été connue (Rost, *et al.* 2004), des mutations faux-sens ont été identifiées chez les souches de rats ou de souris résistants, mutations propres aux souches selon leur localisation géographique (Grandemange, *et al.* 2010). Les fortes homologies de séquence entre la protéine *VKORC1* des rongeurs et celle de l'homme rend l'étude comparée des mécanismes de résistance particulièrement intéressante.

Au contraire des rongeurs qui ont subi une pression de sélection, les cas de résistance aux AVK d'origine génétique sont rares chez l'homme avec une incidence difficile à estimer. Le séquençage des parties codantes de *VKORC1* et, dans certains cas du promoteur, chez des patients nécessitant des doses élevées d'AVK, a permis d'identifier des mutations à l'état hétérozygote dans la quasi-totalité des cas, mutations potentiellement responsables de la résistance. A ce jour, seulement une vingtaine de mutations distinctes ont été rapportées, dont quatre par notre équipe (Bodin *et al.* 2005), (Bodin *et al.* 2008) (Tableau 1). La plupart ont été publiées sous la forme de cas isolés, excepté en 2010, où une étude allemande rapporte une série de 23 patients porteurs de mutation de *VKORC1* dont 13 n'avaient jamais été décrites (Watzka *et al.* 2010). Certaines mutations sont récurrentes, associées à des doses diversement élevées d'AVK : la mutation Asp36Tyr est la plus récurrente, retrouvée chez environ un quart des patients résistants, la plupart d'origine juive ashkénase ou éthiopienne ; la mutation Val66Met, deuxième en terme de récurrence (environ 20% des patients), pourrait être plus fréquente chez les Antillais, avec un possible effet fondateur. Dans ces deux cas, des doses élevées d'AVK permettent d'atteindre l'INR cible. La résistance est le plus souvent commune pour les différents AVK. Cependant, il a été rapporté récemment un cas de résistance non croisée entre fluindione et warfarine (Peoc'h *et al.* 2009). Il est intéressant de noter que certaines mutations affectent des acides aminés communs à la séquence humaine et à celle des rongeurs.

Les résultats de notre expérience hospitalière depuis 2005, qui porte sur une centaine de patients, montrent que dans un tiers des cas, une mutation de *VKORC1* est identifiée ; dans

environ deux-tiers des cas de résistance avérée, aucune mutation n'est détectée dans le gène de *VKORC1*, suggérant l'implication d'autres gènes. Des résultats similaires sont rapportés par l'équipe allemande d'Oldenburg (*Watzka, et al. 2010*).

La caractérisation fonctionnelle d'une dizaine de variants *VKORC1* reproduisant dans des systèmes *in vitro* les mutations identifiées par nos équipes constitue l'une des approches permettant d'associer le caractère délétère de la mutation identifiée et la résistance (*Moreau et al*, article en préparation ; *Hodroge et al.*, article en préparation).

Objectifs du projet

Etant donné la rareté des résistances, l'objectif de notre projet est de constituer grâce à l'appui du GEHT un **réseau européen francophone** de biologistes ou de prescripteurs afin de **recenser dans une étude prospective multicentrique les patients considérés comme ayant une potentielle résistance génétique aux AVK**. Afin d'étudier les bases moléculaires de cette résistance, différentes approches sont prévues :

- **recherche des mutations *VKORC1*** : par séquençage des régions exoniques et de la région 5' non codante (environ 2 kb en amont du gène) ;
- **à partir de systèmes d'expression de protéines *VKORC1* recombinantes *in vitro*** reproduisant ces mutations. Ce type d'approche permettra de mesurer les constantes cinétiques des enzymes *VKORC1* recombinantes mutées pour les différents AVK comparativement à l'enzyme recombinante sauvage (*Lasseur et al 2005, Lasseur et al 2006, Lasseur et al 2007*);
- **analyse de nouveaux gènes candidats** (*CYP4F2*, caluménine..): en fonction des données de la littérature d'autres gènes que *VKORC1* pourront faire l'objet d'une analyse par séquençage.

Déroulement de l'étude

Seront inclus des patients traités par AVK, recevant des doses inhabituelles, supérieures à deux fois la dose moyenne de l'AVK pour la tranche d'âge considérée comme suggéré dans la revue réalisée par *Watzka et al (2010)*: pour un adulte d'âge moyen, ceci correspond à une posologie supérieure à 40 mg (2 cp) de fluindione, 7 mg d'acénocoumarol (1cp 1/2), 15 mg de warfarine (3 cp de 5 mg). Une résistance acquise devra avoir été exclue à l'aide d'un questionnaire détaillé (cf *infra*). Un éventuel défaut d'observance peut être formellement exclu par un dosage sérique de l'AVK en routine (Laboratoire de pharmacologie, toxicologie et pharmacovigilance, CHU Limoges).

Nombre prévu de patients à inclure pour cette étude : 150 à 200.

Durée prévue de l'étude : un à 2 ans (selon le rythme du recrutement)

Un questionnaire standardisé devra être rempli afin de collecter prospectivement les données démographiques, cliniques et thérapeutiques (âge, sexe, poids, nature de l'AVK, indication, INR cible, posologies et INR correspondants, comorbidités aiguës et chroniques, médicaments associés...) (feuille de demande en document joint). Une information et un consentement du patient sont nécessaires pour l'étude génétique (documents joints).

Prélèvement : aucun prélèvement sanguin n'est nécessaire pour l'inclusion des patients. L'ADN sera recueilli par chaque investigateur dans chaque centre à l'aide de buvardes buccaux stériles. Cette technique de prélèvement d'ADN présente l'avantage d'être non invasive, permet un transport facile par courrier avec une conservation satisfaisante de l'ADN pendant au moins 8 jours.

Participation des équipes : l'analyse pharmacogénétique sera réalisée à l'UF Pharmacogénétique et Oncologie Moléculaire en collaboration avec le Service d'Hématologie biologique à l'HEGP (AP-HP). Les plasmides recombinants mutés reproduisant les nouvelles mutations seront construits et les variants protéiques exprimés et caractérisés *in vitro* sur le plan fonctionnel avec un partenariat de l'INSERM UMR-S 775 et de l'USC1233 de l'INRA-Ecole vétérinaire de Lyon.

Valorisation : les praticiens qui adresseront des patients chez lesquels seront identifiées des mutations seront associés aux publications.

Résultats attendus

L'intérêt majeur de l'identification des mutations est de **mieux comprendre les relations structure-fonction de VKORC1**, encore mal connues actuellement. D'autre part, grâce à la constitution d'une base de données, l'identification des mutations chez les patients a un intérêt potentiel direct dans l'amélioration de la prise en charge thérapeutique des patients, permettant notamment de **guider le clinicien dans l'escalade des doses d'AVK**, évitant l'échec thérapeutique par arrêt prématuré du traitement. Enfin, l'analyse d'autres gènes candidats pourraient fournir de nouvelles bases moléculaires à la résistance aux AVK.

L'implantation du GEHT avec une répartition de ses membres sur l'ensemble des territoires dans différents types de structures de soins devrait permettre de faciliter le recrutement.

Principales publications des équipes dans le domaine

- Bodin L, Verstuyft C, Tregouet DA, Dubert L, Funck-Brentano C, Jaillon P, Beaune P, Laurent-Puig P, Becquemont L, Lorient MA (2005). Cytochrome P450 2C9 (CYP2C9) and vitamin K epoxide reductase (VKORC1) genotypes as major determinants for acenocoumarol sensitivity. Blood, 106:135-140.
- Bodin L, Horellou MH, Flaujac C, Lorient MA, Samama MM(2005). A vitamin K epoxide reductase complex subunit-1 (VKORC1) mutation in a patient with vitamin K antagonist resistance. J Thromb Haemost., 3:1533-5.
- Bodin L, Perdu J, Diry M, Horellou MH, Lorient MA (2008). Multiple genetic alterations in Vitamin K epoxide Reductase Complex subunit 1 (VKORC1) gene explain high dose requirement during oral anticoagulation in humans. J Thromb Haemost, 6: 1436-39.
- Grandemange, A., Lasseur, R., Longin-Sauvageon, C., Benoit, E. and Berny, P. (2010). "Distribution of *VKORC1* single nucleotide polymorphism in wild *Rattus norvegicus* in France." Pest Manag Sci 66(3): 270-6.
- Lasseur, R., Grandemange, A., Longin-Sauvageon, C., Berny, P. and Benoit, E. (2006). Heterogeneity of the coumarin anticoagulant targeted vitamin K epoxide

reduction system. Study of kinetic parameters in susceptible and resistant mice (*Mus musculus domesticus*) J Biochem Mol Toxicol 20: 221-9.

- Lasseur, R., Longin-Sauvageon, C., Berny, P. and Benoit, E. (2007). Biochemistry of resistance to warfarin in a French strain of the Norway rat (*Rattus norvegicus*). Int J Pest Manage 53: 273-80.
- Lasseur, R., Longin-Sauvageon, C., Videmann, B., Billeret, M., Berny, P. and Benoit, E. (2005). "Warfarin resistance in a French strain of rats." J Biochem Mol Toxicol 19: 379-85.
- Moreau, C., Siguret, V. and Loriot, M. A. (2010). "[The pharmacogenetics of vitamin K antagonists: Still a matter for discussion.]" Rev Med Interne 31(5):361-8
- Moreau, C., Pautas, E., Gouin-Thibault, I., Golmard, J. L., Mahe, I., Mulot, C., Loriot, M. A. and Siguret, V. (2011). "Predicting the warfarin maintenance dose in elderly inpatients at treatment initiation: accuracy of dosing algorithms incorporating or not VKORC1/CYP2C9 genotypes." J Thromb Haemost 9(4): 711-8.
- Pautas E, Moreau C, Gouin-Thibault I, Golmard JL, Mahé I, Legendre C, Taillandier-Hérique E, Durand-Gasselino B, Houllier AM, Verrier P, Beaune P, Loriot MA, Siguret V (2010). Genetic factors (*VKORC1*, *CYP2C9*, *EPHX1*, and *CYP4F2*) are predictor variables for warfarin response in very elderly, frail inpatients. Clin Pharmacol Ther., 87:57-64.
- Moreau C, Bajolle F, Siguret V, Lasne D, Golmard JL, Elie C, Beaune P, Cheurfi R, Loriot MA and Bonnet D. Vitamin K antagonists in children with heart diseases: Height and VKORC1 genotype are the main determinants of the warfarin dose requirement, *soumis*

Autres références bibliographiques

- Caldwell, M.D., Awad, T., Johnson, J.A., Gage, B.F., Falkowski, M., Gardina, P., Hubbard, J., Turpaz, Y., Langae, T.Y., Eby, C., King, C.R., Brower, A., Schmelzer, J.R., Glurich, I., Vidaillet, H.J., Yale, S.H., Qi Zhang, K., Berg, R.L. and Burmester, J.K. (2008) *CYP4F2* genetic variant alters required warfarin dose. Blood, 111, 4106-4112.
- D'Ambrosio, R. L., D'Andrea, G., Cafolla, A., Faillace, F. and Margaglione, M. (2007). "A new vitamin K epoxide reductase complex subunit-1 (*VKORC1*) mutation in a patient with decreased stability of CYP2C9 enzyme." J Thromb Haemost 5(1): 191-3.
- D'Andrea, G., D'Ambrosio, R.L., Di Perna, P., Chetta, M., Santacroce, R., Brancaccio, V., Grandone, E. and Margaglione, M. (2005) A polymorphism in the *VKORC1* gene is associated with an interindividual variability in the dose-anticoagulant effect of warfarin. Blood, 105, 645-649.
- Gage BF, Eby C, Johnson JA, Deych E, Rieder MJ, Ridker PM, et al. Use of pharmacogenetic and clinical factors to predict the therapeutic dose of warfarin. Clin Pharmacol Ther. 2008 Sep;84(3):326-31.
- Harrington, D. J., Gorska, R., Wheeler, R., Davidson, S., Murden, S., Morse, C., Shearer, M. J. and Mumford, A. D. (2008). "Pharmacodynamic resistance to warfarin is associated with nucleotide substitutions in *VKORC1*." J Thromb Haemost 6(10): 1663-70.

- Harrington, D. J., Siddiq, S., Allford, S. L., Shearer, M. J. and Mumford, A. D. (2011). "More on: endoplasmic reticulum loop *VKORC1* substitutions cause warfarin resistance but do not diminish gamma-carboxylation of the vitamin K-dependent coagulation factors." J Thromb Haemost 9(5): 1093-5.
- Harrington, D. J., Underwood, S., Morse, C., Shearer, M. J., Tuddenham, E. G. and Mumford, A. D. (2005). "Pharmacodynamic resistance to warfarin associated with a Val66Met substitution in vitamin K epoxide reductase complex subunit 1." Thromb Haemost 93(1): 23-6.
- Holbrook, A.M., Pereira, J.A., Labiris, R., McDonald, H., Douketis, J.D., Crowther, M. and Wells, P.S. (2005) Systematic overview of warfarin and its drug and food interactions. Arch Intern Med, 165, 1095-1106.
- Klein, T. E., Altman, R. B., Eriksson, N., Gage, B. F., Kimmel, S. E., Lee, M. T., Limdi, N. A., Page, D., Roden, D. M., Wagner, M. J., Caldwell, M. D. and Johnson, J. A. (2009). "Estimation of the warfarin dose with clinical and pharmacogenetic data." N Engl J Med 360(8): 753-64.
- Li, T., Chang, C.Y., Jin, D.Y., Lin, P.J., Khvorova, A. and Stafford, D.W. (2004) Identification of the gene for vitamin K epoxide reductase. Nature, 427, 541-544.
- Linder MW (2001). Genetic mechanisms for hypersensitivity and resistance to the anticoagulant warfarin. Clin Chim Acta.;308(1-2):9-15.
- Lindh, J.D., Holm, L., Andersson, M.L. and Rane, A. (2009) Influence of *CYP2C9* genotype on warfarin dose requirements--a systematic review and meta-analysis. Eur J Clin Pharmacol, 65, 365-375.
- Loebstein, R., Dvoskin, I., Halkin, H., Vecsler, M., Lubetsky, A., Rechavi, G., Amariglio, N., Cohen, Y., Ken-Dror, G., Almog, S. and Gak, E. (2007). "A coding *VKORC1* Asp36Tyr polymorphism predisposes to warfarin resistance." Blood 109(6): 2477-80.
- Osman, A., Enstrom, C., Arbring, K., Soderkvist, P. and Lindahl, T. L. (2006). "Main haplotypes and mutational analysis of vitamin K epoxide reductase (*VKORC1*) in a Swedish population: a retrospective analysis of case records." J Thromb Haemost 4(8): 1723-9.
- Peoc'h, K., Pruvot, S., Gourmel, C., Bal dit Sollier, C. B. and Drouet, L. (2009). "A new *VKORC1* mutation leading to an isolated resistance to fluindione." Br J Haematol 145(6): 841-3.
- Pelz HJ, Rost S, Hunerberg M, Fregin A, Heiberg AC, Baert K, et al. The genetic basis of resistance to anticoagulants in rodents (2005). Genetics 170(4):1839-47.
- Rieder, M.J., Reiner, A.P., Gage, B.F., Nickerson, D.A., Eby, C.S., McLeod, H.L., Blough, D.K., Thummel, K.E., Veenstra, D.L. and Rettie, A.E. (2005) Effect of *VKORC1* haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose. N Engl J Med, 352, 2285-2293.
- Rost, S., Fregin, A., Ivaskevicius, V., Conzelmann, E., Hortnagel, K., Pelz, H. J., Lappégard, K., Seifried, E., Scharrer, I., Tuddenham, E. G., Muller, C. R., Strom, T. M. and Oldenburg, J. (2004). "Mutations in *VKORC1* cause warfarin resistance and multiple coagulation factor deficiency type 2." Nature 427(6974): 537-41.
- Schmeits, P. C., Hermans, M. H., van Geest-Daalderop, J. H., Poodt, J., de Sauvage Nolting, P. R. and Conemans, J. M. (2010). "*VKORC1* mutations in patients with partial resistance to phenprocoumon." Br J Haematol 148(6): 955-7.

- Stafford, D.W. (2005) The vitamin K cycle. J Thromb Haemost.;3(8):1873-8.
- Takeuchi, F., McGinnis, R., Bourgeois, S., Barnes, C., Eriksson, N., Soranzo, N., Whittaker, P., Ranganath, V., Kumanduri, V., McLaren, W., Holm, L., Lindh, J., Rane, A., Wadelius, M. and Deloukas, P. (2009) A genome-wide association study confirms *VKORC1*, *CYP2C9*, and *CYP4F2* as principal genetic determinants of warfarin dose. PLoS Genet, 5, e1000433.
- Teichert, M., van Schaik, R.H., Hofman, A., Uitterlinden, A.G., de Smet, P.A., Stricker, B.H. and Visser, L.E. (2009) Genotypes associated with reduced activity of *VKORC1* and *CYP2C9* and their modification of acenocoumarol anticoagulation during the initial treatment period. Clin Pharmacol Ther, 85, 379-386.
- Wadelius, M., Chen, L.Y., Lindh, J.D., Eriksson, N., Ghori, M.J., Bumpstead, S., Holm, L., McGinnis, R., Rane, A. and Deloukas, P. (2009) The largest prospective warfarin-treated cohort supports genetic forecasting. Blood, 113, 784-792.
- Watzka, M., Geisen, C., Bevans, C. G., Sittinger, K., Spohn, G., Rost, S., Seifried, E., Muller, C. R. and Oldenburg, J. (2010). "Thirteen novel *VKORC1* mutations associated with oral anticoagulant resistance: insights into improved patient diagnosis and treatment." J Thromb Haemost 9(1): 109-18.
- Wilms, E. B., Touw, D. J., Conemans, J. M., Veldkamp, R. and Hermans, M. (2008). "A new *VKORC1* allelic variant (p.Trp59Arg) in a patient with partial resistance to acenocoumarol and phenprocoumon." J Thromb Haemost 6(7): 1224-6.

Tableau I : mutations identifiées dans *VKORC1* chez l'homme, le rat et la souris

	<i>Rattus norvegicus</i>	<i>Mus musculus / domesticus</i>	<i>Homo sapiens</i>
EXON 1	Ala21Thr Ala26Thr	Arg12Trp Ala26Ser	Ala26Pro Ala26Thr Leu27Val Hist28Gln Val29Leu
	Arg33Pro		Ala34Pro
	Arg35Pro		Asp36Tyr Asp36Gly
	Tyr39Asn	Glu37Gly	Ala41Ser Val45Ala Val45Arg
		Ala48Thr	Ser52Trp Ser52Leu Val54Leu
	Ser56Pro		Ser56Phe Arg58Gly
	Trp59Arg	Arg58Gly	Trp59Arg Trp59Cys
EXON 2	Phe63Cys	Arg61Leu	Val66Met Val66Gly
	Glu67Lys		His68Tyr Gly71Ala Asn77Ser Asn77Tyr
	Ile90Leu		
EXON 3	Val112Leu Leu120Gln		Ile123Asn Leu128Arg
	Leu128Gln Tyr139Cys Tyr139Phe	Leu128Gln Leu128Ser Tyr139Cys	
	Tyr139Ser		
	Ile141Val		
	Ala143Val		
	Glu155Lys		Arg151Gln

D'après (Rost, et al. 2004); (Harrington, et al. 2005); (Bodin, et al. 2005); (Osman, et al. 2006); (D'Ambrosio et al. 2007); (Loebstein et al. 2007); (Wilms et al. 2008); (Harrington et al. 2008);(Bodin et al. 2008); (Peoc'h et al. 2009); (Schmeits et al. 2010); (Harrington et al. 2011)