

Interactie tussen genotypen bepaalt overontstolling

B.P. Brassé^{a*}, J.F.M. Roijers^b, Y. Chahid^c, J.H.H. van Geest-Daolderop^d, H. de Vries-Goldschmeding^e, E.M. van Wijk^b, A. de Boer^f, A.C.G. Egberts^{fg} en T. Schalekamp^f

^a Vakgroep Klinische Farmacie, TweeSteden ziekenhuis en St. Elisabeth Ziekenhuis, Tilburg. Thans werkzaam in het Elkerliek Ziekenhuis, Helmond.

^b Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium, TweeSteden ziekenhuis en St. Elisabeth Ziekenhuis, Tilburg.

^c Apotheek Atrium Medisch Centrum Parkstad, Heerlen.

^d Trombosedienst, afdeling Klinische Chemie en Hematologie, Jeroen Bosch Ziekenhuis, 's-Hertogenbosch.

^e Saltro, Huisartsenlaboratorium en Trombosedienst, Utrecht.

^f Disciplinarygroep Farmaco-epidemiologie en Farmacotherapie, Departement Farmaceutische Wetenschappen, Universiteit Utrecht.

^g Afdeling Klinische Farmacie, Universitair Medisch Centrum Utrecht.

* Correspondentie: bbrasse@elkerliek.nl.

Kernpunten

- Het bezit van polymorfismen van zowel het *CYP2C9*-gen als het *VKORC1*-gen vergroot het risico op ernstige overontstolling (INR >6,0).
- De instelbaarheid van acenocoumaroltherapie gedurende de eerste 6 maanden wordt negatief beïnvloed door het variantallel *CYP2C9**3.
- In onderzoeken naar de invloed van genetica op behandeling met cumarines kunnen beide genotypen niet los van elkaar worden gezien. Prospectieve gerandomiseerde onderzoeken zullen de meerwaarde van farmacogenetica bij cumarinetherapie moeten uitmaken.

De cumarines (acenocoumarol, fenprocoumon, warfarine) vormen een geneesmiddelenklasse die frequent wordt gebruikt voor profylaxe en behandeling van trombo-embolische aandoeningen. Het nadeel van cumarinderivaten is hun smalle therapeutische breedte. Gebruikers lopen het risico onderdan wel overbehandeld te worden, met als grootste gevaar het optreden van ernstige bloedingen. Bij het trachten een stabiele instelling op cumarines te bereiken worden trombosediensten geconfronteerd met zowel een grote interindividuele als intra-individuele variabiliteit in respons.

Over genetische invloeden op de respons op cumarinetherapie is steeds meer bekend. Mutaties in het gen van cytochroom P450 2C9 (*CYP2C9*) hebben een vertraagd metabolisme van acenocoumarol tot gevolg ten opzichte van wild-type individuen (*1/*1) [1, 2]. De belangrijkste *single nucleotide polymorphisms* (SNP's) in *CYP2C9* worden aangeduid als *2 (Arg144Cys) en *3 (Ile359Leu) en komen

Abstract

VKORC1 and *CYP2C9* genotype influence acenocoumarol anti-coagulation status: interaction between genotypes affects overanticoagulation

Objective

To assess the association between *CYP2C9* and *VKORC1* genotypes and severe overanticoagulation, time to achieve stable therapeutic INRs and stable dose requirements of acenocoumarol therapy.

Design

Retrospective observational study on a prospective patient cohort.

Methods

Patient DNA was analyzed for the *VKORC1* C1173T polymorphism. Collected data were age, acenocoumarol indication, therapeutic INR range, INR results, acenocoumarol dosages, comorbidities (infections), comedication and *CYP2C9* genotype (*2, *3 mutations). Endpoints were severe overanticoagulation (INR >6.0), time to achieve stability, mean daily dosage and INR on day 4.

Results

Only patients with a combination of *CYP2C9* and *VKORC1* polymorphisms had an increased risk of severe overanticoagulation compared to one or both genes wild-type individuals [hazard ratio, 3.8 (95% confidence interval 1.6-9.1)]. The time to achieve stability was prolonged in *CYP2C9**3 allele carriers [mean difference 13.7 days (CI95 1.9-25.6)]. The mean daily dosage variability of stabilized patients was explained by the *VKORC1* and *CYP2C9* genotype for respectively 21.4% and 4.9%. A suprathreshold INR on day 4 was only associated with the *VKORC1* TT genotype [OR 5.1 (CI95 2.0-12.8) compared to CC and CT].

Conclusions

Patients with variant alleles in both genes had an increased risk of severe overanticoagulation. To establish the genotypic contribution to acenocoumarol response, knowledge of both *CYP2C9* and *VKORC1* genotype is imperative.

PW Wetenschappelijk Platform. 2009;3(1):4-8

Dit artikel is een bewerkte vertaling van: Schalekamp T, Brassé BP, Roijers JF, van Geest-Daolderop JHH, de Vries-Goldschmeding H, van Wijk EM, de Boer A, Egberts ACG. *VKORC1* and *CYP2C9* genotypes and acenocoumarol anticoagulation status: interaction between both genotypes affects overanticoagulation. *Clin Pharmacol Ther*. 2006;80(1):13-22.

voor bij 8-19% respectievelijk 4-16% van de kaukasiërs. De cumarines antagoneren het enzym vitamine-K-2,3-epoxide-reductase (VKOR) door binding aan het complex subunit 1 (VKORC1) (figuur 1). Het coderende gen *VKORC1* heeft SNP's die resulteren in een verminderde transcriptie en translatie van het gen in VKOR-enzymen. De mutatie *C1173T* is indicatief voor de belangrijkste haplotypen van het *VKORC1*-gen [3]. Patiënten met twee T-allelen (TT) hebben een lagere acenocoumaroldosis nodig dan CC- en CT-dragers [4, 5].

Dit onderzoek is uitgevoerd om de effecten te beoordelen van de *CYP2C9*- en de *VKORC1*-genotypen op klinisch relevantere uitkomstmaten als overontstolling en instelbaarheid naast het effect op de acenocoumarol-dosisbehoefte.

Methoden

Dit onderzoek werd uitgevoerd in het patiëntencohort van een prospectief follow-up-onderzoek naar de relatie tussen het *CYP2C9*-genotype en de instelling op acenocoumarol [6]. Geïnccludeerde patiënten startten acenocoumarol voor minimaal 3 maanden, hadden een oplaadschema van 6-4-2 mg en op dag 4 een eerste INR-meting. Patiënten die farmacokinetisch interagerende comedicaatie [7] gebruikten of startten, zijn niet geïnccludeerd, respectievelijk geëxcludeerd. De follow-up-periode was de termijn vanaf de eerste dag van het acenocoumarolgebruik tot het laatste trombosedienstbezoek binnen 190 dagen na start van het acenocoumarolgebruik.

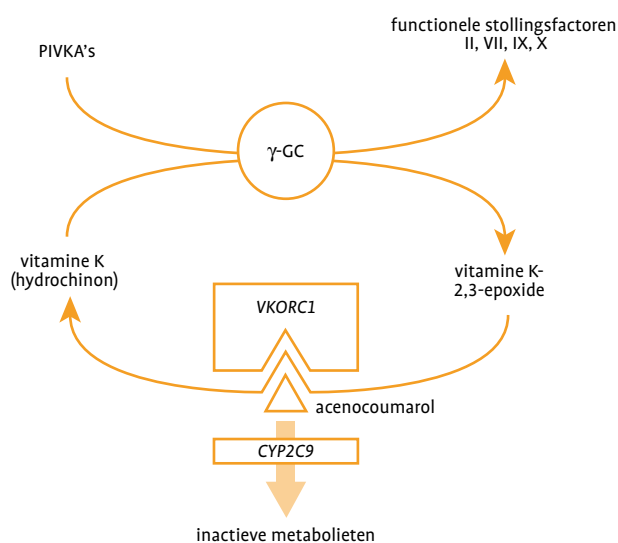
De volgende (patiënt)gegevens werden verzameld: geslacht, leeftijd, indicatie, therapeutische INR-range, INR-metingen, acenocoumarol-doseringen, comorbiditeit (infecties) en comedicaatie zoals geregistreerd door de behandelende trombosediensten en de genotypen *VKORC1 C1173T* en *CYP2C9* (*2 en *3).

Primaire uitkomstmaten waren ernstige overontstolling (INR >6,0) en de tijd tot het bereiken van stabiele instelling (van de indexdatum tot de dag van eerste stabiele INR-meting). Stabiliteit werd gedefinieerd als minimaal drie opeenvolgende INR-metingen binnen de therapeutische range over ten minste 2 weken gemeten en met een maximaal dosisverschil van 10%. Secundaire uitkomstmaten waren de gemiddelde stabiele dagelijkse onderhoudsdosis, de variabiliteit in dosisbehoefte door *VKORC1* en *CYP2C9* en de INR op dag 4.

Genotypering

Van alle patiënten werden de bewaarde DNA-monsters geheranalyseerd voor het *VKORC1 C1173T*-genotype met een LightCycler assay (Roche Diagnostics) [8]. Bij deze techniek wordt een polymerase-kettingreactie gevolgd door een smeltcurveanalyse. Bij een smeltcurveanalyse worden hybridisatieprobes toegevoegd die fluorescenties uitzenden als ze gebonden zijn aan het doelal. Bij verhoging van de temperatuur zal dit signaal uitdoven, afhankelijk

Figuur 1
De vitamine-K-cyclus met de antagonistische werking van acenocoumarol (Δ) op *VKORC1*



Na depletie van gereduceerde vitamine K (hydrochinon) kunnen *proteins induced by vitamin K absence* (PIVKA's) niet meer worden geactiveerd tot functionele stollingsfactoren.

γ -GC = gammaglutamylcarboxylase.

van de bindingssterkte tussen de probes en het al dan niet gemuteerde doelal. De aldus verkregen smeltcurves laten zien of iemand het genotype *VKORC1 1173 CC, CT of TT* bezit.

Statistiek

Voor de berekening van de tijd tot stabiele instelling en ernstige overontstolling zijn Cox *proportional hazard* modellen gebruikt. De verschillen in acenocoumaroldosis zijn berekend met lineaire regressie. Effectmodificatie is onderzocht door producttermen in het regressiemodel te introduceren. In alle modellen is gecorrigeerd voor leeftijd, geslacht en therapeutische range.

In het *informed consent* van het eerdere door de medisch-ethische commissie van het Universitair Medisch Centrum Utrecht goedgekeurde onderzoek was opgenomen dat geanalyseerde bloedmonsters voor een termijn van 10 jaar zouden worden bewaard voor analoge wetenschappelijke vraagstukken. Hergebruik van geanonimiseerde patiëntgegevens werd goedgekeurd.

Tabel 1

Patiëntkarakteristieken weergegeven per genotype

		CYP2C9 [□]						VKORC1					
		*1/*1	*2	*3				CC	CT	TT			
Aantal	n, %	147	64	38	16	46	20	81	35	111	48	39	17
Man	n, %	85	58	22	58	26	58	46	57	66	59	21	54
Leeftijd (jaren)	gem., SD	65,1	15,2	63,3	16,1	66,9	13,5	67,4	13,8	64,4	14,6	62,3	17,9
Maximum follow-up-periode (dagen)	gem., SD	166	35	175	22	175	22	172	28	170	32	162	33
Lage INR therapeutische range [◇]	n, %	123	84	33	87	36	78	67	83	89	80	36	92
Aantal INR-metingen	gem., SD	14,4	3,8	14,3	14,3	15,4	3,8	14,9	3,5	14,6	3,8	13,8	3,7

5 patiënten startten CYP2C9-remmers (2 amiodaron, 2 co-trimoxazol en 1 benzobromaron), deze patiënten zijn geëxcludeerd
gem. = gemiddelde, INR = *international normalized ratio*

[□] Geaggregeerde genotypen: *2 is *1/*2 en *2/*2, *3 is *1/*3, *2/*3 en *3/*3

[◇] Lage INR therapeutische range: 2,0-3,5 (hoge therapeutische range: 2,5-4,0)

Tabel 2

Ernstige overontstolling (INR >6,0), bereiken van stabiliteit, gemiddelde stabiele onderhoudsdosis en INR op dag 4 per gecombineerde VKORC1- en CYP2C9-genotypen

VKORC1- en CYP2C9- genotype	n	INR >6,0 n (%)	Patiënten gestabiliseerd n (%)	Dagen tot stabiliteit gem. (SD)	Gemiddelde dosis [□] mg/dag (B195)	INR dag 4 gem. (B195)	
CC	*1/*1	47	5 (11)	42 (89)	38 (29)	2,97 (2,62-3,31)	2,4 (2,1-2,8)
	*2	18	1 (6)	18 (100)	34 (23)	2,77 (2,45-3,08)	2,4 (2,0-2,8)
	*3	14	1 (7)	11 (79)	30 (26)	2,19 (1,74-2,63)	3,2 (2,6-3,8)
CT	*1/*1	67	2 (3)	60 (90)	31 (12)	2,50 (2,30-2,71)	2,5 (2,3-2,7)
	*2	15	1 (7)	13 (87)	24 (20)	2,22 (1,88-2,56)	2,6 (2,0-3,1)
	*3	27	6 (22)	20 (74)	56 (49)	1,99 (1,62-2,36)	3,2 (2,8-3,6)
TT	*1/*1	31	2 (7)	24 (77)	22 (12)	1,73 (1,55-1,91)	3,5 (3,2-3,8)
	*2	3	1 (33)	3 (100)	37 (21)	2,14 (0,75-3,53)	2,5 (1,4-3,6)
	*3	4	2 (50)	3 (75)	48 (23)	1,37 (-0,34-3,08)	3,4 (3,0-3,9)

B195 = 95%-betrouwbaarheidsinterval, gem. = gemiddelde, INR = *international normalized ratio*

[□] Dosis in de eerste periode van stabiliteit (alleen voor patiënten die stabiliteit bereikten)

Resultaten

De patiëntkarakteristieken zijn weergegeven in tabel 1. Van de 231 geïnccludeerde patiënten werden 5 patiënten geëxcludeerd wegens het starten van interagerende comedicatie. In deze studie werden VKORC1 1173C- en 1173T-allelfrequenties van respectievelijk 59,1% en 40,9% gevonden. De verdelingen van de CYP2C9- en VKORC1-allelen waren in Hardy-Weinberg-evenwicht. Met andere woorden, er is sprake van een geheel willekeurige overerving van allelen zonder selectie door bijvoorbeeld migratie.

In tabel 2 zijn de uitkomstmaten per genotype weergegeven. Het risico van ernstige overontstolling was vergroot bij patiënten met een of meer polymorfismen van zowel CYP2C9 als VKORC1 in vergelijking met patiënten met het wild-type van een of beide genen: gecorrigeerde hazard ratio (HR_{cor}): 3,9 [95%-betrouwbaar-

heidsinterval (B195) 1,6-9,1; p = 0,002]. Er was sprake van effectmodificatie tussen beide genotypen. De meeste INR-uitschieters traden op binnen 30 dagen na de start van het acenocoumarolgebruik (figuur 2).

CYP2C9*3-dragers hadden binnen de follow-up-periode van 6 maanden een kleinere kans een stabiele instelling te bereiken dan wild-types, HR_{cor}: 0,59 (B195 0,40-0,87; p = 0,007). Bovendien duurde het bij CYP2C9*3-dragers die wel stabiele instelling bereikten significant langer dan bij wild-types, namelijk 13,7 dagen (B195 1,9-25,6; p = 0,023). Het VKORC1-genotype en het CYP2C9*2-polymorfisme bleken niet van invloed op het bereiken van stabiliteit. Van alle patiënten die een stabiele instelling bereikten (n = 194; 85,8%), was de gecorrigeerde dosisbehoefte significant lager bij patiënten met VKORC1-polymorfisme(n): -0,56 mg/dag (p < 0,001) bij

CT en $-1,34$ mg/dag ($p < 0,001$) bij TT-dragers ten opzichte van CC-dragers. In vergelijking met het wild-type was ook het *CYP2C9**3-allel geassocieerd met een lagere dosisbehoefte: $-0,55$ mg/dag ($p < 0,001$). Gezamenlijk verklaarden de leeftijd, het *VKORC1*- en het *CYP2C9*-genotype 39,1% van de dosisvariatie. Het grootste deel kwam voor rekening van *VKORC1* (21,4%).

Bij de eerste INR-meting hadden 38 patiënten een supratherapeutische INR. Deze bevinding deed zich alleen significant vaker voor bij *VKORC1*-TT-patiënten in vergelijking met CT- en CC-dragers: gecorrigeerde oddsratio 5,1 (BI95 2,0-12,8).

Beschouwing en conclusie

Het beeld van een afnemende acenocoumarol-dosisbehoefte bij een toenemend aantal polymorfismen in *VKORC1* en *CYP2C9* is in overeenstemming met eerdere publicaties over acenocoumarol en andere cumarines [3-6, 9-13]. In dit onderzoek was de acenocoumarol-dosisbehoefte meer geassocieerd met het *VKORC1*- dan met het *CYP2C9*-genotype.

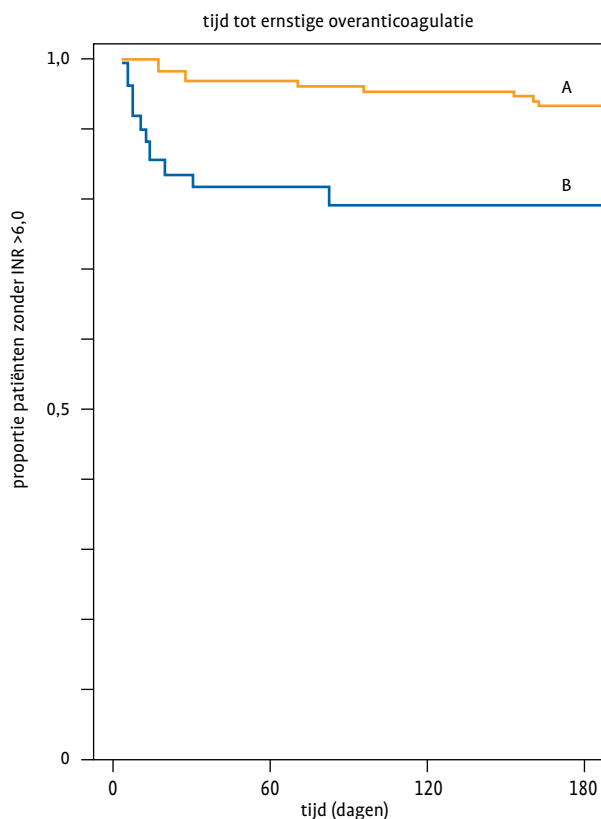
De tijd tot stabiele instelling was significant langer bij patiënten met minimaal één *CYP2C9**3 variantallel. Een mogelijke oorzaak is dat minder functioneel *CYP2C9* de farmacokinetiek van acenocoumarol verandert. Acenocoumarol bezit een chiraal koolstofatoom (figuur 3) en wordt toegediend als een racemisch mengsel van *S*- en *R*-enantiomeren. Hoewel *S*-acenocoumarol potenter is, wordt deze als klinisch inactief beschouwd vanwege snelle metabolisering door *CYP2C9* (*1/*1: $t_{1/2} = 1$ uur). Bij *3-dragers is de metabole capaciteit van *CYP2C9* voor *S*-acenocoumarol echter kleiner ($t_{1/2} = 2$ uur), terwijl de farmacokinetiek van *R*-acenocoumarol niet verschilt [2]. Hierdoor neemt het antistollingseffect van acenocoumarol niet alleen toe, maar wordt het mogelijk ook onvoorspelbaarder door de wisselwerking van zowel de *S*- als de *R*-enantiomeer in de vitamine-K-cyclus. Van de patiënten met zowel polymorfisme(n) in *CYP2C9* als in *VKORC1* vertoonde 20,4% binnen 6 maanden een INR hoger dan 6,0. Zij hadden een significant vergroot risico op overontstolling ten opzichte van patiënten met het wild-type van een of beide genen (6,2% INR >6,0). Dergelijke overontstolling geeft een sterk vergroot risico op bloedingen [14, 15].

Hoewel homozygote dragers van het *VKORC1*-1173T-allel een vergrote kans hadden op een supratherapeutische INR op dag 4, was polymorfisme van *VKORC1* niet geassocieerd met een slechtere instelbaarheid op acenocoumarol. Een mogelijke verklaring hiervoor is dat tromboseartsen patiënten met een CT- of TT-genotype en een te hoge INR bij de eerste meting, direct instellen op een lagere effectieve dosis. Hierdoor wordt de tijd die nodig is om de juiste instelling te vinden in elk geval niet verlengd, mogelijk zelfs relatief bekort.

Een beperking van dit onderzoek is het ontbreken van gedetailleerde informatie over comediatie en comorbiditeit. Deze gegevens zijn niet altijd bekend bij trombosediensten. Mogelijk bleven hierdoor

Figuur 2

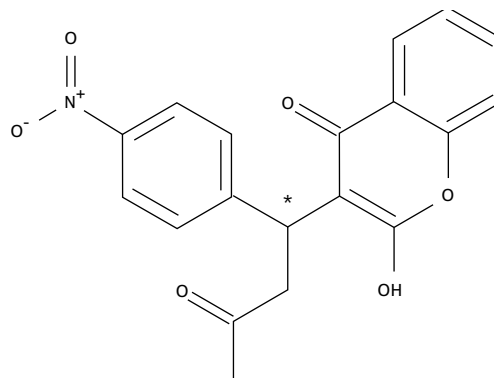
Kaplan-Meiercurve van de proportie patiënten zonder INR >6,0



Het verschil tussen patiënten met polymorfisme(n) van zowel *VKORC1* als *CYP2C9* (B) met patiënten met het wild-type van een of beide genen (A) was significant ($p = 0,001$).

Figuur 3

Structuurformule van acenocoumarol met centraal het chirale C-atoom (*)



geneesmiddel–geneesmiddel- en geneesmiddel–ziekte-interacties onopgemerkt. Dit kan hebben geleid tot zowel een verdunning als een versterking van onze associaties.

De door de resultaten gewekte hypothese dat een doseerstrategie geïndividualiseerd naar het genotype tot betere behandelresultaten kan leiden, zal in prospectief gerandomiseerde onderzoeken moeten worden uitgezocht. Over warfarine zijn inmiddels diverse publicaties verschenen waarin is onderzocht of kennis van het genotype leidde tot een betere instelling [16, 17]. Tot op heden is de meerwaarde van genotypering in deze studies niet duidelijk vastgesteld. Extrapolatie van farmacogenetische studies met warfarine naar de Nederlandse situatie is moeilijk. In de eerste plaats heeft warfarine een andere associatie met CYP2C9 dan de in Nederland gebruikte cumarines acenocoumarol en fenprocoumon. Verder kan de polymorfismedistributie tussen onderzoekspopulaties verschillen, onder andere door verschillen in raciale samenstelling. Bovendien is de begeleiding van cumarinetherapie in Nederland uitzonderlijk goed geregeld. Er bestaat een dicht netwerk van goed functionerende trombosediensten die de instelling van de patiënten zorgvuldig begeleiden en bijsturen. Het is zeker denkbaar dat genotypering voorafgaand aan cumarinetherapie zou kunnen bijdragen aan het vaststellen van een gerichtere begin dosering, zodat de grote interindividuele verschillen in dosisbehoefte eerder kunnen worden onderkend. Het is minder duidelijk in hoeverre genotypering ook kan bijdragen aan de intra-individuele variabiliteit in respons, die het nodig maakt dat patiënten de trombosediensten nog langdurig regelmatig bezoeken. Dit onderzoek [18] was het eerste waarin de invloed van het gecombineerde CYP2C9/VKORC1-genotype op de instelling op acenocoumarol is bestudeerd. Inmiddels heeft de Food and Drug Administration voorgesteld de relevantie van genetische informatie bij het doseren van warfarine in de Summary of Product Characteristics op te nemen [19]. Tevens worden in de Verenigde Staten onderzoekssubsidies aangeboden voor grote gerandomiseerde onderzoeken. De toekomst van routinematige screening van de CYP2C9- en de VKORC1-genotypen bij acenocoumaroltherapie is nog onzeker, maar vol uitdagingen.

Gebaseerd op de registratievoordracht van B.P. Brassé.

LITERATUUR

- 1 Thijssen HH, Drittij MJ, Vervoort LM, et al. Altered pharmacokinetics of R- and S-acenocoumarol in a subject heterozygous for CYP2C9*3. *Clin Pharmacol Ther.* 2001;70(3):292-8.
- 2 Thijssen HH, Ritzen B. Acenocoumarol pharmacokinetics in relation to cytochrome P450 2C9 genotype. *Clin Pharmacol Ther.* 2003;74(1):61-8.
- 3 Rieder MJ, Reiner AP, Gage BF, et al. Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose. *N Engl J Med.* 2005;352(22):2285-93.
- 4 Montes R, Ruiz de Gaona E, Martínez-González MA, et al. The c.-1639G > A polymorphism of the VKORC1 gene is a major determinant of the response to acenocoumarol in anticoagulated patients. *Br J Haematol.* 2006;133(2):183-7.

- 5 Bodin L, Verstuyft C, Tregouet DA, et al. Cytochrome P450 2C9 (CYP2C9) and vitamin K epoxide reductase (VKORC1) genotypes as determinants of acenocoumarol sensitivity. *Blood.* 2005;106(1):135-40.
- 6 Schalekamp T, van Geest-Daalderop JH, de Vries-Goldschmeding H, et al. Acenocoumarol stabilization is delayed in CYP2C9 carriers. *Clin Pharmacol Ther.* 2004;75(5):394-402.
- 7 Standaard Afhandeling Cumarine-interacties. Federatie Nederlandse Trombosediensten; 2003. www.fnt.nl. Geraadpleegd december 2005.
- 8 Roijers JFM, Wilgers-Elesen CWGG, Brassé BP, et al. Detection of the 1173C>T polymorphism of the human Vitamin K epoxide reductase complex (VKORC1) gene by LightCycler real-time PCR. *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneeskd.* 2006;31:228-30.
- 9 Wadelius M, Chen LY, Downes K, et al. Common VKORC1 and GGCC polymorphisms associated with warfarin dose. *Pharmacogenomics J.* 2005;5(4):262-70.
- 10 D'Andrea G, D'Ambrosio RL, Di Perna P, et al. A polymorphism in the VKORC1 gene is associated with an interindividual variability in the dose-anticoagulant effect of warfarin. *Blood.* 2005;105(2):645-9.
- 11 Tàssies D, Freire C, Pijoan J, et al. Pharmacogenetics of acenocoumarol: cytochrome P450 CYP2C9 polymorphisms influence dose requirements and stability of anticoagulation. *Haematologica.* 2002;87(11):1185-91.
- 12 Visser LE, van Vliet M, van Schaik RH, et al. The risk of overanticoagulation in patients with cytochrome P450 CYP2C9*2 or CYP2C9*3 alleles on acenocoumarol or phenprocoumon. *Pharmacogenetics.* 2004;14(1):27-33.
- 13 Sconce EA, Khan TI, Wynne HA, 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):2329-33.
- 14 Hylek EM, Chang YC, Skates SJ, et al. Prospective study of the outcomes of ambulatory patients with excessive warfarin anticoagulation. *Arch Intern Med.* 2000;160(11):1612-7.
- 15 van der Meer FJ, Rosendaal FR, Vandenbroucke JP, et al. Assessment of a bleeding risk index in two cohorts of patients treated with oral anticoagulants. *Thromb Haemost.* 1996;76(1):12-6.
- 16 Wen MS, Lee M, Chen JJ, et al. Prospective study of warfarin dosage requirements based on CYP2C9 and VKORC1 genotypes. *Clin Pharmacol Ther.* 2008;84(1):83-9.
- 17 Anderson JL, Horne BD, Stevens SM, et al. Randomized trial of genotype-guided versus standard warfarin dosing in patients initiating oral anticoagulation. *Circulation.* 2007;116(22):2563-70.
- 18 Schalekamp T, Brassé BP, Roijers JF, et al. VKORC1 and CYP2C9 genotypes and acenocoumarol anticoagulation status: interaction between both genotypes affects overanticoagulation. *Clin Pharmacol Ther.* 2006;80(1):13-22.
- 19 Shurin SB, Nabel EG. Pharmacogenomics: ready for prime time? *N Engl J Med.* 2008;358(10):1061-3.