

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE:**  
**CARDIOLOGIA E CIÊNCIAS CARDIOVASCULARES**

**PAPEL DOS POLIMORFISMOS DO GENE VKORC1 NO EFEITO DA  
SUPLEMENTAÇÃO ORAL DE VITAMINA K EM PACIENTES  
HIPERANTICOAGULADOS**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**PRICCILA ZUCHINALI**

**Professor Orientador:**

Dr. Luis Eduardo Rohde

Porto Alegre, setembro, 2012

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE:**  
**CARDIOLOGIA E CIÊNCIAS CARDIOVASCULARES**

**PAPEL DOS POLIMORFISMOS DO GENE VKORC1 NO EFEITO DA  
SUPLEMENTAÇÃO ORAL DE VITAMINA K EM PACIENTES  
HIPERANTICOAGULADOS**

**PRICCILA ZUCHINALI**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Cardiologia e Ciências Cardiovasculares para obtenção do título de Mestre em Ciências Cardiovasculares.

**Professor Orientador:**

Dr. Luis Eduardo Rohde

Porto Alegre, setembro de 2012.

## FICHA CATALOGRÁFICA

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Cardiologia e Ciências Cardiovasculares da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e \_\_\_\_\_ em 09/10/2012, pela Comissão Examinadora constituída por:

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Gabriela Corrêa Souza

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Andréia Biolo

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Kátia Gonçalves dos Santos

### CIP - Catalogação na Publicação

Zuchinali, Priccila

Papel dos polimorfismos do gene VKORC1 no efeito da suplementação oral de vitamina K em pacientes hiperanticoagulados / Priccila Zuchinali. -- 2012. 67 f.

Orientador: Luis Eduardo Rohde.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Cardiologia e Ciências Cardiovasculares, Porto Alegre, BR-RS, 2012.

1. Anticoagulação. 2. Vitamina K. 3. Polimorfismo. 4. VKORC1. I. Rohde, Luis Eduardo, orient. II. Título.

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais, Cesar Luis Zuchinali e  
Nara Regina Zuchinali pelo apoio e  
dedicação incondicionais.

.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pela bolsa de estudo concedida durante o período do curso.

Ao programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Cardiologia e Ciências Cardiovasculares da UFRGS, pela estrutura e qualidade que me permitiram desenvolver este projeto de Mestrado.

Ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação e ao Fundo de Incentivo à Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pelo auxílio financeiro e apoio durante o desenvolvimento deste projeto.

Ao Serviço de Patologia Clínica pelo empenho em ajudar com as análises laboratoriais realizadas em laboratório externo.

Ao Grupo de Insuficiência Cardíaca, representado pela Prof<sup>ª</sup>. Nadine Clausell, pelo espaço e pelas oportunidades dados à nutrição dentro do grupo, por acreditarem e confiarem no nosso trabalho, pela convivência e pelo aprendizado adquirido.

À Prof<sup>ª</sup>. Gabriela Corrêa Souza, pelo apoio e pela oportunidade de inserção no Grupo de Insuficiência Cardíaca. Pela participação em meu crescimento pessoal e profissional durante este período e por ser um exemplo de competência e liderança, ajudando a manter o foco na construção de um futuro.

À enfermeira Graziella Aliti, pela disponibilidade e pela ajuda em diversas etapas do desenvolvimento do projeto, além das incansáveis discussões sobre o tema. Também aos enfermeiros contratados da Unidade de Cuidados

Coronarianos do Hospital de Clínicas de Porto Alegre que sempre foram muito solícitos.

À nutricionista Fernanda Donner Alves que, além de colega de mestrado, foi uma grande amiga, dividindo angústias, conquistas e conhecimentos, compartilhando ideias e momentos de descontração e tornando a trajetória mais leve. Uma parceria que dá certo e nos faz evoluir, rumo ao Doutorado agora.

À equipe do Laboratório de Pesquisa Cardiovascular, em especial às biomédicas Nidiane Martinelli e Carolina Cohen, pelo auxílio na parte de processamento e armazenamento de amostras.

À farmacêutica Mariana Botton, pela ajuda fundamental na etapa de genotipagem dos pacientes e por todos os conhecimentos e experiências compartilhados.

Em especial, ao Prof. Luis Eduardo Rohde, não só um excelente orientador, mas um professor admirável e um profissional exemplar. Agradeço pela confiança em mim depositada, pelas oportunidades de aprendizado e conhecimento oferecidas ao longo deste projeto e também pelos conselhos que guiaram minha trajetória.

À minha família, meus pais Cesar Luis Zuchinali e Nara Regina Zuchinali, pelo amor e dedicação incondicionais, pela educação e pela estrutura que me permitiram fazer as minhas escolhas, pela admiração e confiança que sempre tiveram em mim.

Esta dissertação de mestrado segue o formato proposto pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Cardiologia e Ciências Cardiovasculares da UFRGS, sendo apresentada na forma de revisão da literatura e de um manuscrito sobre o tema da dissertação:

1. Revisão da literatura;
2. Artigo original em inglês referente ao trabalho de pesquisa propriamente dito que deverá ser submetido para publicação em periódico científico de circulação internacional, conforme as normas do mesmo.

## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS DO MARCO TEÓRICO .....	8
LISTA DE ABREVIATURAS DO ARTIGO EM INGLÊS.....	9
LISTA DE FIGURAS .....	10
LISTA DE TABELAS .....	11
<b>MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>12</b>
<b>I. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
1.1 Anticoagulação crônica .....	13
1.2 Antagonistas da vitamina K e outros anticoagulantes orais .....	14
1.3. Vitamina K e anticoagulação oral.....	16
1.4 Hiperanticoagulação.....	19
1.5 Suplementação de vitamina K e hiperanticoagulação.....	21
1.6 Polimorfismos genéticos na terapia de anticoagulação.....	22
<b>JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>27</b>
<b>HIPÓTESE .....</b>	<b>28</b>
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>29</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>30</b>
<b>ARTIGO ORIGINAL EM INGLÊS .....</b>	<b>35</b>
<b>APÊNDICES .....</b>	<b>57</b>
Apêndice 1 - Termo de consentimento livre e esclarecido .....	58
Apêndice 2 - Ficha de coleta de dados .....	60
Apêndice 3 - Recordatório de 24 horas.....	64
Apêndice 4 - Questionário de frequência alimentar.....	65



## LISTA DE ABREVIATURAS DO MARCO TEÓRICO

ACCP - American College of Chest Physicians

AVC – acidente vascular cerebral

AVKs – antagonistas da vitamina K

HCPA – Hospital de Clínicas de Porto Alegre

IAM – infarto agudo do miocárdio

RNI – relação normatizada internacional

SNP – polimorfismo de nucleotídeo único

TP – tempo de protrombina

VKOR – vitamina K epóxido redutase

VKORC1 - vitamina K epóxido redutase subunidade complexo 1

**LISTA DE ABREVIATURAS DO ARTIGO EM INGLÊS**

FFQ - food frequency questionnaire

INR - international normalized ratio

VKAs - vitamin K antagonists

VKOR - vitamin K epoxide reductase

VKORC1 - vitamin K epoxide reductase complex subunit 1

## LISTAS DE FIGURAS

### Marco teórico

Figura 1 – Varfarina e o ciclo da vitamina K.....	15
Figura 2 – Escore de ingestão de vitamina K de acordo com nível de anticoagulação. As barras representam a média da pontuação de todos os sujeitos dentro de cada faixa de razão normalizada internacional (RNI).....	17
Figura 3 – Percentual de pacientes que alcançaram o alvo de RNI de acordo com os grupos de intervenção.....	19
Figura 4 – Risco do tratamento de anticoagulação.....	21

### Artigo original em inglês

Figure 1 – Graphic representation of mean and standard deviation of International Normalized Ratio over time for different genotypes of (A) VKORC1 -1639G>A and (B) VKORC1 3730G>A polymorphisms.....	56
---	----

**LISTAS DE TABELAS****Marco teórico**

Tabela 1 – Motivos de indicação para o uso de anticoagulação crônica.....	14
Tabela 2 – Alvos de RNI recomendados para a terapia com anticoagulante oral.....	20

**Artigo original em inglês**

Table 1 – Clinical characteristics of the study population at baseline.....	52
Table 2 – Clinical characteristics of genotypes of VKORC1 -1639G>A polymorphism at baseline .....	53
Table 3 – Clinical characteristics of genotypes of VKORC1 3730G>A polymorphism at baseline .....	54

## MARCO TEÓRICO

## I. INTRODUÇÃO

### 1.1 Anticoagulação crônica

Trombose arterial e venosa são causas comuns de morbidade e mortalidade. Enquanto a trombose arterial é a causa mais comum de infarto agudo do miocárdio (IAM), acidente vascular cerebral (AVC) e gangrena de extremidades; a trombose venosa pode levar à embolia pulmonar, que muitas vezes pode ser fatal. Uma vez que trombos arteriais consistem de agregação plaquetária e coágulo de fibrina, as estratégias para inibir a trombose arterial focam principalmente em drogas que bloqueiam a função das plaquetas, mas muitas vezes também incluem agentes anticoagulantes para prevenir a deposição de fibrina. Em contraste, considerando que trombos venosos são compostos principalmente de fibrina, anticoagulantes são os fármacos de escolha para a sua prevenção e tratamento<sup>1</sup>. Neste contexto, a terapia anticoagulante é considerada o tratamento antitrombótico mais eficaz, reduzindo o risco de AVC em 64% comparado com a redução de apenas 22% de drogas antiplaquetárias<sup>2</sup>.

De acordo com as diretrizes mais recentes do American College of Chest Physicians (ACCP), as indicações mais comuns da terapia anticoagulante são a fibrilação atrial, a trombose venosa profunda, a embolia pulmonar, o uso de próteses valvulares mecânicas, as cardiomiopatias, e o IAM (Tabela 1).

Tabela 1. Motivos de indicação para o uso de anticoagulação crônica

<b>Indicação</b>
<p><b>Prevenção da recorrência de:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- AVC isquêmico em pacientes com fibrilação atrial</li> <li>- Infarto do miocárdio</li> <li>- Tromboembolismo venoso</li> </ul> <p><b>Prevenção de embolismo sistêmico em:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Prótese mecânica valvular</li> <li>- Prótese biológica valvular</li> <li>- Fibrilação atrial não-valvular</li> <li>- Infarto do miocárdio</li> <li>- Doença mitral valvular em ritmo sinusal</li> </ul>

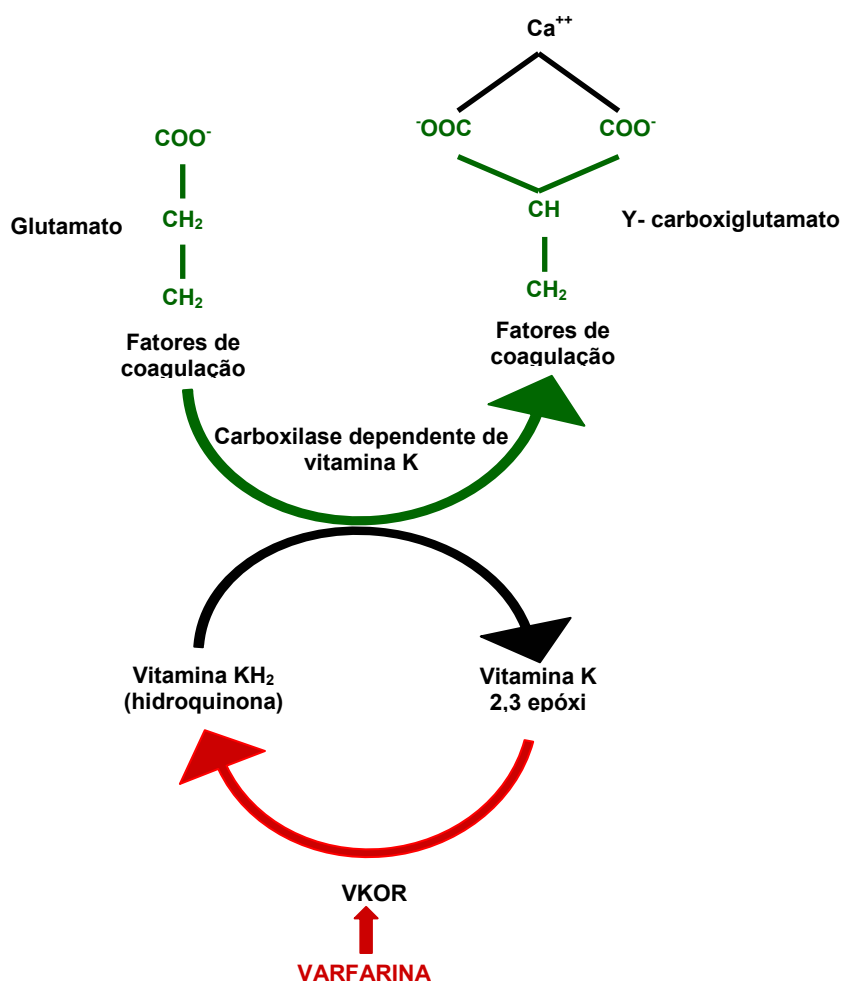
Fonte: adaptado de Gogna *et al*, 2005<sup>3</sup>; Holbrook *et al*, 2012<sup>13</sup>

## **1.2 Antagonistas da vitamina K e outros anticoagulantes orais**

Por muitas décadas, os antagonistas da vitamina K (AVKs), ou cumarínicos, foram os únicos fármacos anticoagulantes orais disponíveis para uso clínico para a prevenção primária e secundária de tromboembolia venosa e arterial. Os AVKs têm consistentemente demonstrado serem eficazes em muitos contextos e agora são utilizados por milhões de pacientes em todo o mundo<sup>4</sup>.

Os AVKs exercem o seu efeito anticoagulante interferindo na regeneração da vitamina K através da inibição da enzima vitamina K epóxido redutase (VKOR), levando à inibição da  $\gamma$ -carboxilação dos fatores de coagulação dependentes de vitamina K (fatores II, VII, IX e X) e também de inibidores fisiológicos da coagulação (proteína C e proteína S). O sistema de  $\gamma$ -carboxilação modifica as proteínas dependentes de vitamina K, adicionando um grupo carboxil a um carbono  $\gamma$  de um resíduo específico de ácido glutâmico. Essa modificação converte o

resíduo de ácido glutâmico a  $\gamma$ -carboxiglutâmico, no qual ocorre a ligação de cálcio<sup>5</sup>, conforme demonstrado na Figura 1.



**Figura 1. Varfarina e o ciclo da vitamina K**

Na última década, diversos novos anticoagulantes orais foram desenvolvidos: os inibidores diretos da trombina (etexilato de dabigatrana, AZD-0837) e os inibidores do fator X ativado (como exemplos o rivaroxaban, apixaban, edoxaban, betrixaban, eribaxaban, LY517717, YM150, TAK-442). Ensaios clínicos recentes de grande porte demonstram que os novos anticoagulantes têm eficácia equivalente ou discretamente superior à varfarina para prevenção de eventos neurológicos em pacientes com fibrilação atrial e indicação de anticoagulação<sup>6</sup>. O apixaban, por exemplo, mostrou-se com eficácia superior na prevenção de



acidentes vasculares encefálicos isquêmicos ou hemorrágicos e na prevenção de outros eventos embólicos no estudo ARISTOTLE, além de apresentar perfil de segurança superior ao da varfarina<sup>7</sup>. Porém, estes novos fármacos ainda estão em fase de aprovação pelos órgãos competentes e, no Brasil, ainda não têm seu uso disseminado, particularmente pelo seu custo elevado. Um estudo brasileiro realizado no ambulatório de anticoagulação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre encontrou uma prevalência de uso de varfarina de 85% como fármaco anticoagulante entre os pacientes incluídos<sup>8</sup>.

Apesar de amplamente utilizados, a eficácia dos AVKs orais na prática clínica é limitada. Diversos fatores podem estar relacionados à instabilidade no tratamento com anticoagulante oral, como fatores fisiológicos e patológicos, além de fatores genéticos e ambientais, notavelmente a dieta<sup>9</sup>.

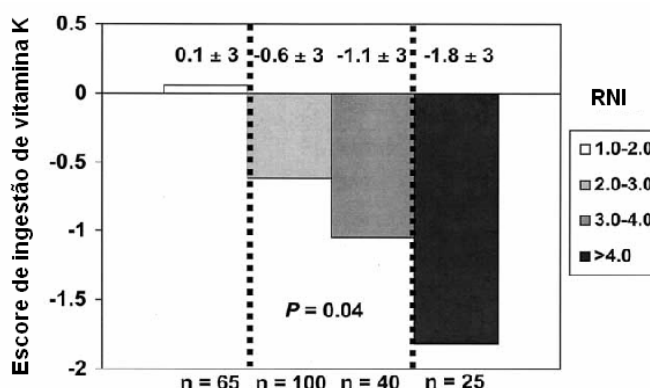
### **1.3. Vitamina K e anticoagulação oral**

A influência da dieta na terapia de anticoagulação, principalmente do consumo de alimentos ricos em vitamina K, vem sendo alvo de diversos estudos. Este aspecto individual é rotineiramente abordado na orientação de pacientes em terapia com anticoagulação oral.

O monitoramento da anticoagulação é realizado através do tempo de protrombina (TP), sendo o resultado expresso pela razão normalizada internacional (RNI). A influência do consumo de vitamina K da dieta na anticoagulação oral parece ser particularmente importante em nível ambulatorial, no qual o RNI se apresenta frequentemente menos estável do que entre pacientes hospitalizados<sup>10</sup>. A recomendação habitual é de que pacientes que fazem uso da terapia anticoagulante oral sejam orientados a manter a ingestão de vegetais ricos em

vitamina K em quantidades diárias relativamente constantes, de modo a evitar oscilações importantes dos níveis de anticoagulação.

Franco et al. (2007)<sup>10</sup> descreveu a variação do valor de RNI em relação à mudança de consumo de vitamina K pela dieta em estudo envolvendo 39 pacientes e 230 consultas ambulatoriais. A Figura 2 ilustra os resultados do estudo, onde os pacientes que diminuíram o consumo de vitamina K (representados na figura pelos valores menores que zero do escore de ingestão) apresentaram um valor de RNI aumentado e, muitas vezes, fora do alvo terapêutico. Neste mesmo trabalho, em protocolo de ensaio clínico randomizado cruzado, 12 pacientes com pelo menos dois valores seguidos de RNI no alvo terapêutico foram randomizados para receber uma dieta com aumento de 500% ou diminuição de 80% no conteúdo de vitamina K durante 4 dias consecutivos. Ao final do estudo observou-se que o valor do RNI aumentou progressivamente entre os pacientes na dieta com menor quantidade de vitamina K, passando de  $2,6 \pm 0,5$  para  $3,3 \pm 0,9$  no dia 7 ( $p=0,005$ ), assim como apresentou uma queda após a dieta enriquecida com vitamina K, passando de  $3,1 \pm 0,8$  para  $2,8 \pm 0,6$  no dia 4 ( $p=0,04$ ). Estes resultados reforçam o conceito de que a interação entre a vitamina K e os cumarínicos é clinicamente relevante.



**Figura 2. Escore de ingestão de vitamina K de acordo com o nível de anticoagulação. As barras representam a média da pontuação de todos os sujeitos dentro de cada faixa de razão normalizada internacional (RNI).**

Como descrito anteriormente, sabe-se que o consumo de vitamina K na dieta é um dos principais fatores que exercem influência sobre a estabilidade do tratamento com anticoagulantes orais. Alcançar a estabilidade da anticoagulação oral ao longo do tempo é um desafio porque pequenas alterações e interações farmacológicas podem interferir substancialmente com a cinética e farmacodinâmica dos cumarínicos, em especial em algumas populações, como os idosos. Neste cenário, a ingestão de vitamina K parece ser fator independente para a estabilidade do tratamento<sup>11</sup>. No entanto, a quantidade de alimentos ricos em vitamina K que o paciente deve consumir para obter benefícios e uma maior estabilidade na ação do cumarínico ainda não está bem estabelecida.

Ensaio clínico randomizado realizado por nosso grupo mostrou que a modulação da vitamina K ingerida é uma abordagem viável para alcançar a estabilidade na anticoagulação. Neste estudo, 132 pacientes ambulatoriais foram randomizados para (1) manejo tradicional da anticoagulação, com ajustes na dose do medicamento, ou (2) manejo dietoterápico, com modificações na ingestão de vitamina K, ambos guiados pelo valor do RNI. Ao final de 90 dias de seguimento, havia maior percentual de pacientes em alvo terapêutico no grupo com terapia baseada no consumo de vitamina K (74% contra 58%;  $p=0,04$ ; Figura 3)<sup>8</sup>. Estes dados reforçam que alterações no consumo dietético desta vitamina configuram uma estratégia eficaz para aumentar a probabilidade de atingir e manter o RNI na faixa terapêutica.

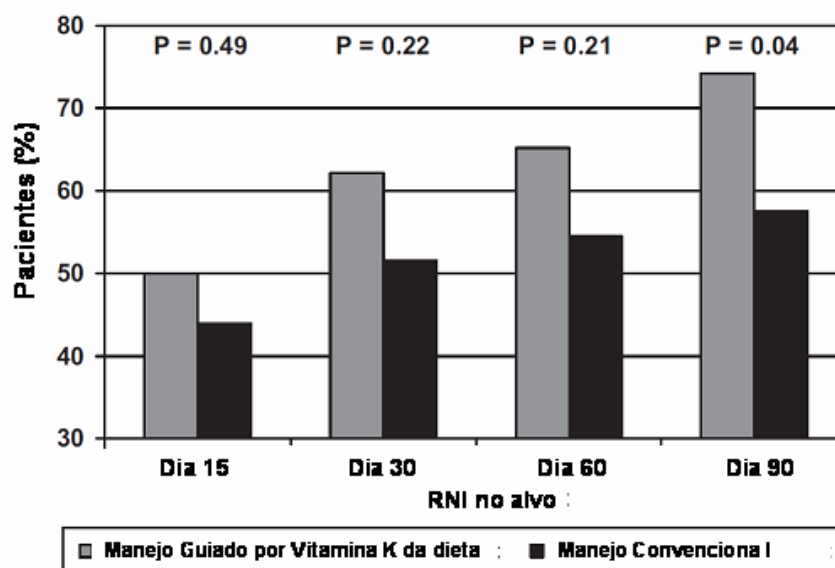


Figura 3. Percentual de pacientes que alcançaram alvo de RNI de acordo com os grupos de intervenção.

#### 1.4 Hiperanticoagulação

Embora o tratamento com anticoagulantes orais seja uma estratégia muito efetiva na redução de eventos tromboembólicos, existe uma preocupação frequente quanto ao risco aumentado de sangramento a que estes pacientes possam estar sujeitos, particularmente pela dificuldade de manutenção do RNI estável e em faixa terapêutica<sup>12</sup>.

O RNI de um indivíduo que não faz uso de anticoagulante costuma ser próximo de 1. Após o início da anticoagulação o valor tende a subir, sendo assim, quanto maior o RNI mais anticoagulado está o paciente. A recomendação de manutenção de RNI entre 2 e 3 é feita para a maioria das indicações (Tabela 2). As exceções são alguns tipos de próteses mecânicas de válvula cardíaca, no período

pós-infarto do miocárdio e em certos casos de trombose e síndrome antifosfolípido, para as quais se recomenda um RNI alvo de 2,5-3,5<sup>13</sup>.

**Tabela 2. Alvos de RNI recomendados para a terapia com anticoagulante oral**

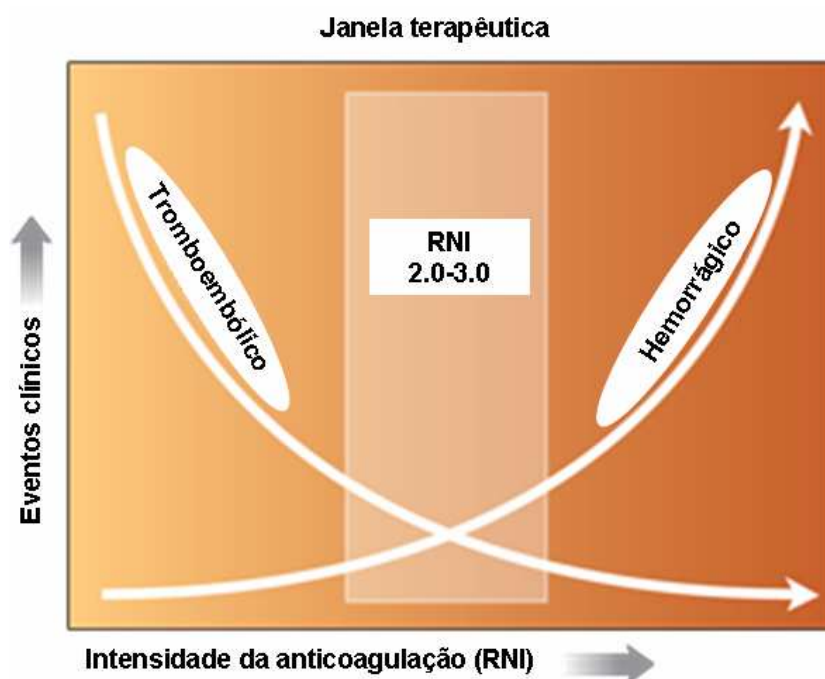
INDICAÇÃO	RNI ALVO
Profilaxia de trombose venosa	2,0 – 3,0
Tratamento de trombose venosa	2,0 – 3,0
Tratamento de embolia pulmonar	2,0 – 3,0
Prevenção de embolia sistêmica	
Válvula cardíaca de tecido (por 3 meses)	2,0 – 3,0
Pós-infarto do miocárdio (prevenção de embolia sistêmica)*	2,0 – 3,0
Doença cardíaca valvar	2,0 – 3,0
Fibrilação atrial	2,0 – 3,0
Prótese de válvula mecânica (alto risco – mitral)	2,5 – 3,5
Prótese de válvula mecânica (“ <i>bi-leaflet</i> ”) na posição aórtica	2,0 – 3,0

Fonte: Adaptado de Holbrook *et al.*, 2012<sup>13</sup>; Hirsh *et al.*, 2001<sup>14</sup>

\*Se a terapia foi eleita para prevenir infarto do miocárdio recorrente, recomenda-se RNI de 2,5 – 3,5

A incidência anual de hemorragia grave associada à varfarina é estimada em 1% a 3%<sup>15</sup> e o risco de hemorragia aumenta significativamente quando o RNI mantém-se superior a 4,5<sup>16</sup>, conforme demonstrado na Figura 4. Quando os pacientes se apresentam com hemorragia grave devido ao uso de AVKs, a reversão rápida da anticoagulação é desejável, especialmente se o sangramento é uma ameaça à vida. Vários produtos estão disponíveis para auxiliar no manejo de sangramento ativo, com o tratamento muitas vezes combinando suplementação de vitamina K com um concentrado do complexo de protrombina, plasma fresco congelado, ou fator VIIa recombinante. A vitamina K parece sustentar os efeitos de

outros produtos por causa da meia-vida relativamente curta destes<sup>13</sup>. O uso de vitamina K oral para pacientes que apresentam valor de RNI acima do alvo terapêutico vem sendo recomendado em diretrizes estabelecidas pelo ACCP, com um grau de evidência 2A para pacientes com valor de RNI entre 5 e 9 e fatores de risco para sangramento e 1B para pacientes com RNI acima de 9<sup>12</sup>. Recentemente, uma atualização destas diretrizes passou a recomendar o uso de vitamina K oral de rotina para pacientes com valor de RNI acima de 10 e o uso opcional e específico para alguns cenários em pacientes com RNI entre 4,5 e 10<sup>13</sup>.



**Figura 4. Risco do tratamento de anticoagulação. Fonte: Bland et al, 2003<sup>17</sup>**

### 1.5 Suplementação de vitamina K e hiperanticoagulação

A vitamina K foi descoberta em 1929, como um fator anti-hemorrágico<sup>18</sup>. As formas naturais de vitamina K são a filoquinona e as menaquinonas. A eficiência da absorção foi mensurada em 2-80%<sup>19</sup>, dependendo da forma de administração e da circulação enterohepática. Quando ingerida na forma de um

concentrado farmacêutico de vitamina K (Kanakion®), é prontamente absorvida e atinge o pico sanguíneo em 2-4 horas; a filoquinona proveniente das fontes alimentares tem seu pico atingido mais lentamente, sugerindo um processo mais demorado, influenciado por fatores digestivos<sup>20</sup>. A concentração sanguínea de vitamina K, em jejum, de pessoas saudáveis é menor que 1 ng/ml<sup>21</sup>, sendo esperada uma variação de 0,15 a 1,2 ng/ml<sup>22</sup>.

O impacto da vitamina K na reversão do RNI é influenciada pela sua formulação, que varia de acordo com as vias de administração e podem ser responsáveis por diferenças na resposta entre os estudos. Watson et al.<sup>23</sup> compararam os efeitos de três diferentes preparações orais de vitamina K sobre o valor do RNI e fatores de coagulação II, VI, IX e X em pacientes com indicação de correção não-urgente da hiperanticoagulação. A reversão com di-fosfato de sódio de Menadiol (5 mg) e Orakay (1 mg) foi imprevisível e em 24h o valor do RNI foi > 4 em pelo menos 50% dos pacientes tratados com cada formulação. Por outro lado, o Kanakion® administrado via oral diminuiu de forma eficaz o RNI para < 4 em 75% dos pacientes, embora em 33% dos doentes tratados o RNI atingiu a faixa subterapêutica em 24h. Os autores especulam que esta variabilidade de resposta pode ser causada por diferença na absorção ou na biodisponibilidade entre as diferentes formulações<sup>24</sup>.

### 1.6 Polimorfismos genéticos na terapia de anticoagulação

A variabilidade genética de genes envolvidos na farmacocinética e na farmacodinâmica da varfarina é responsável por uma parte das diferenças interpopulacionais e interindividuais observadas em relação à resposta a uma mesma dose de AVKs. Um estudo, que investigou polimorfismos de 29 genes

diferentes, demonstrou que os polimorfismos dos genes CYP2C9, VKORC1, proteína C e APOE estão associados a diferenças na dose da varfarina, sendo que CYP2C9 e VKORC1 foram os principais determinantes da resposta ao anticoagulante<sup>25</sup>, e por isso, vêm sendo bastante estudados neste contexto clínico.

Em relação à farmacodinâmica, o principal gene envolvido é o VKORC1, que codifica a enzima-alvo dos cumarínicos, a VKOR. O gene VKORC1 foi identificado por 2 grupos independentes<sup>26,27</sup>; ele se localiza no cromossomo 16p11.2, tem aproximadamente 4 kb de comprimento, 3 exons e codifica uma proteína de 163 resíduos. Vários polimorfismos desse gene estão descritos na literatura. Entre estes, um polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) VKORC1 -1639G>A (rs9923231), localizado na região promotora do gene, tem sido investigado por estar associado à dosagem necessária da varfarina para alcançar níveis terapêuticos de anticoagulação<sup>28,29</sup>, ao tempo de anticoagulação fora do alvo terapêutico e, em longo prazo, à diferença na incidência de aterotrombose<sup>30</sup>. Em um estudo observacional recente que monitorou 557 pacientes em fase de iniciação do uso de varfarina durante 3 meses, observou-se que pacientes com genótipo AA para este polimorfismo apresentam menor tempo até alcançar RNI>2, menor dose estável de varfarina; e também número aumentado de RNI's > 5 e ocorrência de sangramento<sup>31</sup>.

A frequência do polimorfismo VKORC1 -1639G>A (rs992323) parece diferir entre etnias<sup>32</sup>; em populações europeias ou de descendência europeia o alelo -1639A tem prevalência de aproximadamente 37%, enquanto que na população chinesa este mesmo alelo ocorre com uma frequência aproximada de 91%<sup>33</sup>. Em estudo realizado em nossa instituição, Botton et al. (2011)<sup>34</sup> avaliaram 279 pacientes de origem europeia em uso de varfarina. Encontrou-se uma



frequência de 36,7% deste alelo, semelhante ao valor encontrado por Perini et al. (2008)<sup>35</sup> na população brasileira do Rio de Janeiro (38%). Ainda no estudo de Botton et al. (2011), pacientes portadores do genótipo AA para o polimorfismo -1639G>A faziam uso de uma menor dose de anticoagulante quando comparados aos pacientes com genótipos GA e GG (23,7 mg versus 29,6 mg versus 41,4 mg, respectivamente;  $p < 0,001$ ).

A diferença de resposta à dose da varfarina associada a esse polimorfismo está relacionada ao metabolismo da vitamina K. Observou-se que os níveis de vitamina K oxidada são menores em pacientes recebendo suplemento de vitamina K com o genótipo -1639GG do que em pacientes com outros genótipos. A partir dessas observações, Sconce et al. (2008)<sup>36</sup> sugeriu que a vitamina K é reduzida pela enzima VKOR mais eficientemente quando o genótipo do VKORC1 é o -1639GG. Neste estudo, pacientes recebendo suplementação com 150 µg de vitamina K por dia foram genotipados para o polimorfismo -1639G>A. Ao final de 7 dias aqueles com genótipo GG apresentaram maior queda no valor do RNI, com um delta de -0,95, comparado ao valor basal, enquanto que nos pacientes com genótipo AA o delta foi de -0,18 ( $p = 0,045$ ) para o valor do RNI, sugerindo uma regeneração mais lenta da vitamina K. Este parece ser o único trabalho a sugerir que variações genéticas podem ter influência no efeito da suplementação com vitamina K. Apesar disto, trata-se de um estudo piloto onde foram feitas análises retrospectivas (*post - hoc*) de um protocolo desenhado para avaliar o efeito da suplementação de vitamina K na estabilidade da anticoagulação oral crônica.

Em conjunto, estes dados sugerem que a suplementação com vitamina K nos indivíduos com genótipo -1639GG propicia uma melhor regeneração da vitamina K reduzida e, desta forma, um aumento da carboxilação dos fatores de

coagulação dependentes de vitamina K. Em consequência, a dose de varfarina em portadores desse genótipo aumentaria em aproximadamente 25%.

A partir dessas observações, diversos estudos recentes vêm explorando a utilização de informações farmacogenéticas no manejo de indivíduos que realizam anticoagulação oral, visando abordagens individualizadas da dose terapêutica, desde o início do uso da varfarina. De acordo com as últimas diretrizes do ACCP existem atualmente 4 grandes ensaios clínicos envolvendo terapia guiada geneticamente. Anderson et al. (2007)<sup>37</sup> realizaram um ensaio clínico randomizado incluindo 206 pacientes iniciando terapia com varfarina com tempo de seguimento de 3 meses. Os pacientes foram randomizados para receber dose padrão seguindo o nomograma de Kovacs et al. (2003)<sup>38</sup> de 10 mg de varfarina ou terapia guiada geneticamente por um algoritmo incluindo a genotipagem dos polimorfismos CYP2C9 \*2, CYP2C9 \*3 e VKORC1 1173C>T, além de idade, peso e sexo, parâmetros estes já testados em estudo observacional prévio<sup>39</sup>. Os resultados deste trabalho indicam que a terapia guiada geneticamente foi capaz de prever as doses de anticoagulantes necessárias para alcançar a estabilidade de forma mais precisa ( $p < 0,001$ ), resultando em mudanças posológicas menores (delta de 12 mg para o grupo de dose padrão contra 7 mg para o grupo de terapia guiada geneticamente;  $p < 0,002$ ).

Embora possa ser prematuro recomendar o uso de rotina dos testes genéticos, o futuro desenvolvimento e validação clínica de algoritmos simples, que integrem os polimorfismos de genes mais informativos, como é o caso do VKORC1, com algumas informações demográficas (idade, etnia, índice de massa corporal), variáveis clínicas (comorbidades, medicamentos) e ingestão de vitamina K padronizada, pode fornecer uma ferramenta valiosa no tratamento de doentes

em anticoagulação oral em tratamento com varfarina. As evidências sobre a eficácia clínica e relação custo-eficácia da dose de varfarina baseada na genotipagem têm sido conflitantes, embora alguns estudos recentes venham sugerindo um benefício potencial em certos subgrupos. Mais evidências que relacionem o papel dos polimorfismos sobre parâmetros de anticoagulação são necessárias antes da ampla adoção do genótipo de determinados polimorfismos no manejo da terapia de anticoagulação<sup>40</sup>.

## JUSTIFICATIVA

A causa da instabilidade da terapia de anticoagulação oral é multifatorial, podendo incluir mutações genéticas, baixa adesão, interação com outras drogas e alterações ou inconstâncias dietéticas. A resposta individualizada representa um grande desafio clínico no manejo da anticoagulação oral. Nesse contexto, é crescente o número de estudos farmacogenéticos que sugerem que um grande percentual da resposta farmacológica dos cumarínicos depende de variáveis genéticas, particularmente dos genes envolvidos na resposta à varfarina, entre eles os polimorfismos do gene VKORC1. Testes genéticos têm sido propostos como uma ferramenta útil para auxiliar na individualização da terapia com anticoagulante.

Além disso, teoricamente, a resposta de cada paciente à suplementação de vitamina K também pode variar de acordo com o genótipo do gene VKORC1. Esta hipótese foi sugerida em um cenário de suplementação regular de vitamina K em médio prazo, em um estudo que avaliou o efeito desta suplementação sobre a estabilidade da anticoagulação. Portanto, faz-se necessário avaliar qual o impacto das variações do gene VKORC1 sobre a suplementação oral de vitamina K em pacientes anticoagulados. Pacientes hiperanticoagulados, que podem ou devem receber suplementação oral de vitamina K para reduzir o risco de sangramento, parecem delinear um cenário clínico ideal para testar esta potencial interação.

## **HIPÓTESE**

Polimorfismos do gene VKORC1 implicam em uma resposta diferente ao uso de suplementação de vitamina K e conseqüentemente em um diferente comportamento dos parâmetros de coagulação na terapia de reversão em pacientes hiperanticoagulados.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo geral**

Avaliar se os diferentes genótipos de polimorfismos do gene VKORC1 têm impacto sobre o efeito da suplementação oral de vitamina K nos parâmetros de anticoagulação oral crônica (RNI) em pacientes hiperanticoagulados sem evidência de sangramento.

### **Objetivo específico**

Avaliar a relação entre a velocidade de mudança do valor de RNI ao longo do tempo e os genótipos dos polimorfismos -1639G>A e 3730G>A do gene VKORC1.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Weitz JI, Hirsh J, Meyer SM. New anticoagulant drug. The seventh ACCP conference on antithrombotic and thrombolytic therapy. *Chest*. 2004; 126 (3 Suppl):265S–286S.
2. Hart RG, Pearce LA, Aguilar MI. Meta-analysis: antithrombotic therapy to prevent stroke in patients who have nonvalvular atrial fibrillation. *Ann Intern Med*. 2007; 146: 857-867.
3. Gogna A, Arun S. Oral anticoagulation in clinical practice. *JACM*. 2005; 6(1):53-66.
4. Ageno W, Gallus AS, Wittkowsky A, Crowther M, Hylek EM, Palareti G. Oral anticoagulant therapy. *Antithrombotic therapy and prevention of thrombosis, 9th ed: american college of chest physicians evidence-based clinical practice guidelines*. *Chest*. 2012; 141(2 Suppl):e44S–e88S.
5. Suttie JW. Vitamin K-dependent carboxylase. *Annu Rev Biochem*. 1985; 54:459–477.
6. Ahrens I, Lip GY, Peter K. New oral anticoagulant drugs in cardiovascular disease. *Thromb Haemost*. 2010; 104(1):49-60.
7. Granger CB, Alexander JH, McMurray JJV, Lopes RD, Hylek EM, Hanna M, et al. Apixaban versus Warfarin in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med*. 2011; 365:981-92.
8. Assis MC, Rabelo ER, Ávila CW, Polanczyk CA, Rohde LE. Improved oral anticoagulation after a dietary vitamin K-guided strategy – A Randomized Controlled Trial. *Circulation*. 2009; 120:1115-1122.
9. Kamali F, Wynne H. Pharmacogenetics of Warfarin. *Annu Rev Med*. 2010;

61:63–75.

10. Franco V, Polanczyk CA, Clausell N, Rohde LE. Role of dietary vitamin K intake in chronic oral anticoagulation: prospective evidence from observational and randomized protocols. *Am J Med.* 2004; 116(10):651-6.

11. Rohde LE, de Assis MC, Rabelo ER. Dietary vitamin K intake and anticoagulation in elderly patients. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2007; 10(1):1-5.

12. Ansell J, Hirsh J, Hylek E, Jacobson A, Crowther M, Palaret G. Pharmacology and management of the vitamin K antagonists\* : American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines (8th Edition). *Chest.* 2008;133:160S-198S.

13. Holbrook A, Schulman S, Witt DM, Vandvik PO, Fish J, Kovacs MJ, et al. Evidence-based management of anticoagulant therapy : antithrombotic therapy and prevention of thrombosis, 9<sup>th</sup> ed: American College of Chest Physicians Evidence. *Chest.* 2012; 141:e152S-84S.

14. Hirsh J, Dalen JE, Anderson DR, Poller L, Bussey H, Ansell J, et al. Oral anticoagulants: mechanism of action, clinical effectiveness, and optimal therapeutic range. *Chest.* 2001; 119:8S-21S.

15. Schulman S, Beyth RJ , Kearon C , Levine MN. American College of Chest Physicians. Hemorrhagic complications of anticoagulant and thrombolytic treatment: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines (8th edition). *Chest.* 2008; 133:257S-298S.

16. Hylek EM, Chang YC, Skates SJ, Hughes RA, Singer DE. Prospective study of the outcomes of ambulatory patients with excessive warfarin anticoagulation. *Arch Intern Med.* 2000; 160:1612 – 1617.

17. Blann AD, Fitzmaurice DA, Lip GYH. Anticoagulation in hospitals and general



practice. *BMJ*. 2003. 18; 326: 153–156.

18. Suttie JW. Vitamin K and human nutrition. *J Am Diet Assoc*. 1992; 92:585-590.

19. Jones KS, Bluck LJ, Wang LY, Coward WA. A stable isotope method for the simultaneous measurement of vitamin K1 (phylloquinone) kinetics and absorption. *Eur J Clin Nutr*. 2008; 62:1273–1281.

20. Gijbbers BL, Jie KS, Vermeer C. Effect of food composition on vitamin K absorption in human volunteers. *Br J Nutr*. 1996; 76:223-229.

21. Olson RE. Vitamin K. In: Shils ME, Olson J.A, Shike M. *Modern nutrition in health and disease*. Editora Lippincott Williams & Wilkins. 1994; 342-358.

22. Sadowski JA, Hood SJ, Dallal GE, Garry PJ. Phylloquinone in plasma from elderly and young adults: factors influencing its concentration. *Am J Clin Nutr*. 1989; 50:100-108.

23. Watson HG, Baglin T, Laidlaw SL, Makris M, Preston FE. A comparison of the efficacy and rate of response to oral and intravenous vitamin K in reversal of over-anticoagulation with warfarin. *Br J Haematol*. 2001;115:145–149.

24. Sconce EA, Kamali F. Appraisal of current vitamin K dosing algorithms for the reversal of overanticoagulation with warfarin: the need for a more tailored dosing regimen. *Eur J Haematol*. 2006; 77:457–462.

25. Wadelius M, Chen LY, Eriksson N, Bumpstead S, Ghori J, Wadelius C, et al. Association of warfarin dose with genes involved in its action and metabolism. *Hum Gen*. 2007; 121:23-34.

26. Rost S, Fregin A, Ivaskevicius V, Conzelmann E, Hortnagel K, Pelz HJ, et al. Mutations in VKORC1 cause warfarin resistance and multiple coagulation factor deficiency type 2. *Nature*. 2004; 427:537-541.

27. Li T, Chang CY, Jin DY, Lin PJ, Khvorova A, Stafford DW. Identification of the

gene for vitamin K epoxide reductase. *Nature*. 2004; 427(6974):541-544.

28. Kimura R, Miyashita K, Kokubo Y, Akaiwa Y, Otsubo R, Nagatsuka K, et al. Genotypes of vitamin K epoxide reductase, gamma-glutamyl carboxylase, and cytochrome P450 2C9 as determinants of daily warfarin dose in Japanese patients. *Thromb Res*. 2007; 120(2):181-186.

29. D'Andrea G, D'Ambrosio RL, Di Perna P, Chetta M, Santacroce R, Brancaccio V, 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):645-649.

30. Giansante C, Fiotti N, Altamura N, Pitacco P, Consoloni L, Scardi S, et al. Oral anticoagulation and VKORC1 polymorphism in patients with a mechanical heart prosthesis: a 6-year follow-up. *J Thromb Thrombolysis*. 2012. [Epub ahead of print]

31. Lund K, Gaffney D, Spooner R, Etherington AM, Tansey P, Tait RC. Polymorphisms in VKORC1 have more impact than CYP2C9 polymorphisms on early warfarin International Normalized Ratio control and bleeding rates. *Br J Haematol*. 2012; 158:256–261.

32. Yang L, Ge W, Yu F, Zhu H. Impact of VKORC1 gene polymorphism on interindividual and interethnic warfarin dosage requirement-a systematic review and meta analysis. *Thromb Res*. 2010; 125(4):e159-66.

33. Yuan HY, Chen JJ, Lee MT, Wung JC, Chen YF, Charng MJ, et al. A novel functional VKORC1 promoter polymorphism is associated with inter-individual and inter-ethnic differences in warfarin sensitivity. *Hum Mol Genet*. 2005; 14(13):1745-1751.

34. Botton MR, Bandinelli E, Rohde LE, Amon LC, Hutz MH. Influence of genetic, biological and pharmacological factors on warfarin dose in a Southern Brazilian population of European ancestry. *Br J Clin Pharmacol*. 2011;72(3):442-50.

35. Perini JA, Struchiner CJ, Silva-Assunção E, Santana IS, Rangel F, Ojopi EB, et al. Pharmacogenetics of warfarin: development of a dosing algorithm for Brazilian patients. *Clin Pharmacol Ther.* 2008; 84(6):722-728.
36. Sconce EA, Avery PJ, Wynne HA, Kamali F. Vitamin K epoxide reductase complex sub-unit 1 (VKORC1) polymorphism influences anticoagulation response subsequent to vitamin K intake: a pilot study. *J Thromb Haemost.* 2008; 6:1226-1228.
37. Anderson JL, Horne BD, Stevens SM, Grove AS, Barton S, Nicholas ZP, et al. Randomized trial of genotype-guided versus standard Warfarin dosing in patients initiating oral anticoagulation. *Circulation.* 2007; 116:2563-2570.
38. Kovacs MJ, Rodger M, Anderson DR, Morrow B, Kells G, Kovacs J, et al. Comparison of 10 mg and 5 mg warfarin initiation nomograms together with low-molecular-weight heparin for outpatient treatment of acute venous thromboembolism: a randomized, double blind, controlled trial. *Ann Intern Med.* 2003; 138:714 –719.
39. Carlquist JF, Horne BD, Muhlestein JB, Lappe DL, Whiting BM, Kolek MJ, et al. Genotypes of the cytochrome p450 isoform, CYP2C9, and the vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 conjointly determine stable warfarin dose: a prospective study. *J Thromb Thrombolysis.* 2006; 22:191–197.
40. Gandara E, Wells PS. Will there be a role for genotyping in warfarin therapy? *Curr Opin Hematol.* 2010; 17:439–443.

**ARTIGO ORIGINAL EM INGLÊS**

**To evaluate the influence of -1639G>A and 3730G>A VKORC1 gene polymorphisms on the effect of oral vitamin K supplementation in over-anticoagulated patients**

Zuchinali P<sup>a</sup>, Aliti G<sup>d</sup>, Botton MR<sup>b</sup>, Goldraich L<sup>a,d</sup>, Hutz M<sup>d</sup>,  
Bandinelli E<sup>d</sup>, Rohde LE<sup>a,c,e</sup>

<sup>a</sup> Post-Graduate Program in Health Science: Cardiology and Cardiovascular Sciences

<sup>b</sup> Post-Graduate Program in Genetics and Molecular Biology

<sup>c</sup> Department of Internal Medicine, Medical School, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre

<sup>d</sup> Department of Genetics, Institute of Biosciences, UFRGS

<sup>e</sup> Division of Cardiology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil

**Mailing address:**

Luis E. Rohde, MD ScD

Serviço de Cardiologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Ramiro Barcelos 2350, room 2061, Porto Alegre, RS, Brasil 90035-003

Phone: 55 51 33597804

E-mail: [lerohde@terra.com.br](mailto:lerohde@terra.com.br)

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Previous studies identified substantial interindividual variability on the effect of vitamin K to reverse over-anticoagulation. This heterogeneity can be partly explained by the influence of vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 (VKORC1) genotype upon VKOR activity.

**OBJECTIVE:** To evaluate the influence of -1639G>A and 3730G>A VKORC1 gene polymorphisms on the effect of oral vitamin K supplementation in the international normalized ratio (INR) of over-anticoagulated patients.

**METHODS:** We performed an interventional trial of oral vitamin K supplementation in overanticoagulated patients (INR  $\geq$  4) from the anticoagulation clinic of a university tertiary care hospital. Patients with a baseline INR  $\geq$  4 received 2.5 mg of oral vitamin K, while patients with a baseline INR  $\geq$  10 received 5.0 mg. Blood samples were obtained for determination of INR values at 3h, 6h, 24h and 72h after oral vitamin K supplementation. Subjects were genotyped for -1639G>A (rs9923231) and 3730G>A (rs7294) polymorphisms in the VKORC1 gene by real-time PCR.

**RESULTS:** We evaluated 33 patients (61% males; mean age of  $62 \pm 12$  years-old), with a mean INR at baseline of  $5.2 \pm 1.2$ . There was a significant decrease in INR values over time ( $p < 0.001$ ) for both polymorphisms. In the first 3 hours after vitamin K supplementation G allele patients for the -1639G>A polymorphism had a greater decrease in INR values in when compared to AA patients, with differences of -1.01 for GG *versus* AA ( $p = 0.003$ ) and -0.84 for GA *versus* AA ( $p = 0.024$ ). At 24h, 58% of the patients were overcorrected (INR  $<$  2.0). Mean INR value at 24h and at 72h were  $1.9 \pm 0.6$  and  $2.1 \pm 0.7$ , respectively. At these time points, no effect of

genotypes was observed on INR values for both polymorphisms. No significant interaction was identified between the 3730G>A polymorphism and vitamin K supplementation at any time point.

**CONCLUSION:** Our study indicated that -1639G>A polymorphism in the VKORC1 gene plays a role in the response to acute vitamin K supplementation in over-anticoagulated patients, with a greater decrease of INR value in patients carrying the G allele.

**Keywords:** anticoagulation; vitamin K; VKORC1

## INTRODUCTION

Coumarin derivatives, or vitamin K antagonists (VKAs), are a class of anticoagulants that exert their effect by inhibiting the carboxylation process of the vitamin K-dependent coagulation factors<sup>1</sup>. Despite its extensive use, a substantial percentage of patients is at risk of bleeding or thromboembolism, as a result of over- or under-anticoagulation, respectively<sup>2,3</sup>. In some cases, it is crucial to promptly reverse over-anticoagulation, with interventions ranging from discontinuation of therapy in non-urgent cases to the administration of oral vitamin K and/or plasma derivatives<sup>4</sup>. The effectiveness of oral vitamin K, as the warfarin response, differs among patients<sup>5,6</sup>. Apart from genetic factors, several environmental influences could contribute to these differences; notably, diet is a major and independent factor that interferes with anticoagulation stability<sup>5,7</sup>.

Genetic polymorphisms have emerged as a potential explanation for the interindividual variability in VKA response. In particular, the VKORC1-1639G>A (rs9923231) polymorphism has been demonstrated to contribute to the variability in warfarin dose requirements. Homozygous GG patients require a significantly higher daily dose of warfarin than carriers of the A allele to achieve the same target of International Normalized Ratio (INR)<sup>8,9</sup>. Interestingly, a pilot retrospective study has suggested that regular vitamin K supplementation antagonizes the pharmacologic activity of warfarin to varying degrees in different patients. This heterogeneity of effect was explained by the influence of the VKORC1 genotype upon VKOR activity<sup>10</sup>. This relation, however, has not been evaluated in the scenario of over-anticoagulated patients that need acute oral vitamin K supplementation. Thus, the present prospective study aimed to evaluate the influence of VKORC1 gene



polymorphisms on the effect of oral vitamin K supplementation in over-anticoagulated patients.

## **METHODS**

### **Study Design and Population**

Outpatients attending the Anticoagulation Clinic of a university tertiary care hospital in Porto Alegre (RS, Brazil) for anticoagulation monitoring were invited to participate in the study. Patients who agreed were enrolled into an interventional trial of oral vitamin K supplementation. Eligible participants were over-anticoagulated adults ( $\geq 18$  years-old) in chronic VKAs' treatment, with active and regular monitoring at the outpatient oral anticoagulation clinic. Over-anticoagulation was defined as an INR value  $\geq 4$  in the last 24 hours. Exclusion criteria were the use of vitamin supplements and clinical evidence of bleeding or thrombosis. After accepting to participate in the study, patients were asked to stay at the clinic for 6 hours and come back in 24h and 72h for blood sampling. The study was conducted in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki; all patients signed an informed consent prior to enrollment and the research protocol was approved by the institutional review committee on ethics and research.

### **Intervention**

Enrolled patients were assigned to receive oral vitamin K supplementation in a single dose. Patients with a baseline  $10 > \text{INR} \geq 4$  received 2.5 mg of oral vitamin K, while patients with a baseline  $\text{INR} \geq 10$  received 5.0 mg of oral vitamin K. After the intervention patients stayed at the clinic and received a meal free of vitamin K. All patients were also instructed not to consume food containing vitamin K until the end of the study and to omit the next dose of anticoagulant. VKA dose

was adjusted by a trained physician at 24h in accordance to the INR value, following internationally accepted guidelines.

### **Outcome Measures and Data Collections**

The outcome was the difference in the INR values between different genotypes at different time points. Blood samples were obtained for determination of INR values at 3h, 6h, 24h and 72h after oral vitamin K supplementation. INR analysis was performed at the Hematology Laboratory using standard techniques. Determination of serum vitamin K was performed at an external laboratory (Balagué Center Laboratório, Sorocaba) by high performance liquid chromatography 6h after oral vitamin K intake.

Sociodemographic and clinical data were obtained by a structured questionnaire or by reviewing electronic records. In addition, data related to dietary vitamin K intake were obtained by a 24-hour recall diary.

### **Genotyping**

Genomic DNA was isolated from whole blood using PureLink™ Genomic DNA Purification Kit (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) according to the manufacturer's instructions. Subjects were genotyped for -1639G>A (rs9923231) and 3730G>A (rs7294) SNPs in VKORC1 gene in a 7500 Real-Time PCR System (Applied Biosystems, California, USA). Standardized TaqMan assays were used for detection of these polymorphisms, as previously reported<sup>11</sup>.

### **Statistical Analysis**

Baseline clinical characteristics were expressed as mean  $\pm$  SD or number and percentage. Continuous variables were compared using ANOVA or Kruskal-Wallis, as appropriate; categorical variables were compared using  $\chi^2$  or Fisher test. Differences between genotypes and changes in INR values over time were

analyzed according to a generalized linear model (repeated measures analysis of variance) with correction for baseline INR values. A two-tailed p value <0.05 was considered statistically significant. Statistical analyses were performed using SPSS version 18 for Windows.

## RESULTS

From January 2010 until May 2012, 8.096 visits were assessed at the oral anticoagulation clinic of Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Most of the non-eligible patients (n=7952) had their INR values outside the inclusion criteria (were on target or sub-therapeutic); 72 subjects did not provide consent; 29 eligible patients had already been enrolled and 10 were not included because of logistic reasons. Baseline clinical characteristics of the 33 remaining patients are listed in Table 1. As expected the main anticoagulation indications were chronic atrial fibrillation and cardiac mechanical prosthesis, and the most used VKA was warfarin. Mean INR was 5.2 and 27% of patients had minor bleedings at baseline. Only one patient had to receive 5mg of vitamin K supplementation.

For the two SNPs evaluated in this study frequency of AA genotype was less prevalent for both polymorphism (18% for the -1639G>A and 15% for the 3730G>A). The minor allele frequency for the -1639G>A polymorphisms was 45.4% and for the 3730G>A was 34.8%.

Clinical characteristics according to different genotypes of the -1639G>A polymorphism are shown in Table 2. There was no significant difference among the three genotypes, except for the use of combined anti-aggregating platelet therapy. Table 3 includes the same characteristics for the 3730G>A polymorphism, and demonstrates significant differences only for age and baseline anticoagulation dose.

Figure 2 illustrates the evaluation of the differences in INR values among groups of genotypes over time. We observed a significant decrease in INR values over time ( $<0.001$ ) for both polymorphisms. At 24h, 57.6% of the patients were overcorrected, with INR values below the target ( $\text{INR} < 2.0$ ). Mean INR value at 24h was  $1.9 \pm 0.6$  and  $2.1 \pm 0.7$  at 72h. At this time points, no effect of genotypes was observed on INR values for both polymorphisms. However, patients with the G allele for the -1639G>A polymorphism had a greater decrease in the INR value in the first 3 hours after vitamin K supplementation when compared with AA patients, suggesting a faster effect of vitamin K supplementation in patients with the G allele. The absolute INR variation was -1.01 for GG *versus* AA ( $p=0.003$ ) and -0.84 for GA *versus* AA ( $p=0.024$ ). Although baseline INR was not statistically different between genotypes, it is important to point out that all analysis was adjusted for baseline INR values. No significant interaction was identified between VKORC1 3730G>A polymorphism and vitamin K supplementation at any time point of analysis.

After 24h, all patients had their anticoagulant dose adjusted according to the INR value, to avoid further time outside the target. Mean warfarin dose was  $31 \pm 14$  mg/day and there was no difference in dosing among all genotypes (data not shown). Serum levels of vitamin K collected 6 hours after the administration are described at Table 2. We observed a strong trend to higher levels in patients carrying the G allele for polymorphism -1639G>A, and in patients carrying the A allele for 3730G>A polymorphism.

## DISCUSSION

In this interventional trial of over-anticoagulated outpatients, we evaluated the role of VKORC1 gene polymorphisms in the effect of oral vitamin K

supplementation at different time points up to 72 hours of follow-up. We found that patients carrying the G allele of the -1639G>A polymorphism had a greater decrease of INR values 3h after acute vitamin K supplementation. This result suggests that the G allele is associated to an increased regeneration of vitamin K to its reduced form and, consequently, more activation of clotting factors. For the 3730G>A polymorphism this difference was not observed. Serum concentration of vitamin K tended to be higher in patients carrying the G allele, suggesting that supplementation with vitamin K leads to a greater regeneration of vitamin K hydroquinone in GG and GA patients.

The role of genetic polymorphisms has been extensively evaluated as a key factor that might influence different aspects of VKA therapy. Several studies have documented the interaction of these polymorphisms and VKA dosage, time in therapeutic target, incidence of bleeding and atherothrombotic events, particularly in the VKORC1 gene<sup>9,12,13,14</sup>. Predictive models of warfarin dose including clinical and genetic data have been developed and validated in several cohorts of anticoagulated clinics from European, Asian, North and Latin American countries, depicting coefficients of determination as high as 63%<sup>9,11,12,13,15</sup>. These algorithms were particularly beneficial during initiation of chronic oral anticoagulation and in patients that are in the extremes of VKA sensibility<sup>14,16</sup>. Recently, an Italian study that developed a new dosing algorithm including 3730 polymorphism showed a significant increase in predictive accuracy among patients requiring high warfarin dose compared with the other algorithms<sup>17</sup>.

One previous report has suggested that the VKORC1 -1639G>A polymorphism also plays a role in the response to vitamin K supplementation. Sconce et al<sup>10</sup> investigated this relation in a pilot study with 35 unstable subjects

that had been enrolled into a randomized clinical trial designed to evaluate the stability of anticoagulation therapy. After 7 days receiving 150 micrograms of vitamin K supplementation, GG patients had a greater decrease of INR, followed by heterozygous patients. This preliminary finding is in complete agreement with our results. The present prospective protocol was specifically designed to evaluate this potential interaction. Our data confirm and extend Sconce's hypothesis, demonstrating that the VKORC1 -1639G>A polymorphism reduces the effect of oral vitamin K in AA patients, an effect that was observed in the first 3 hours after supplementation. Importantly, this interaction was independent from minor differences in baseline INR values. One could also speculate that the effects of dietary vitamin K on anticoagulation stability, previously demonstrated by our group<sup>7,18,19</sup> and others<sup>20,21</sup>, might be influenced, even to a greater extent, by this interaction.

In patients that require reversal of over-anticoagulation, vitamin K administration has been recommended by international guidelines<sup>4</sup>, but the effect of INR is also characterized by substantial interindividual variability. Two previous reviews have described interventional trials and observed that 24h after intervention with oral vitamin K a significant proportion of patients was either under- or over-anticoagulated, leaving them at risk of either thromboembolism or hemorrhage, respectively<sup>6,22</sup>. Polymorphisms of the VKORC1 gene could also affect the rate and extent of INR reversal in response to vitamin K administration, but this hypothesis has never been previously evaluated in this scenario. In our protocol, a substantial percentage of patients were outside the INR target 24h and 72h after the intervention, reinforcing that one should be cautious in intervening in patients with minor variation of INR.

Data evaluating the ingestion of dietary vitamin K is difficult to interpret, because instruments used to assess it are intrinsically limited and imprecise. Also, most of clinical trials involving vitamin K supplementation do not describe plasma concentration of vitamin K after interventions<sup>23,24</sup>. The low concentration of vitamin K that we found in our study could be explained in part by the low vitamin K intake observed at baseline, much below the RDA recommended by the Institute of Medicine of the U.S. National Academy of Sciences<sup>25</sup> for adults (90-120mcg/dia) and also below the amount described in other populations<sup>26,27</sup>.

Some aspects of our research protocol deserve consideration. Several studies have chosen to use haplotype analyses to evaluate the effect of polymorphisms on biological processes. However, tight linkage among SNPs and haplotypes enables most of the dose variability to be captured by the selection of SNPs. Previous studies have confirmed the important independent contribution of VKORC1 in this scenario<sup>9,12,13,14,15</sup>. Importantly our small sample size can limit the statistical power to identify other minor interactions. The impact of these minor influences, however, is probably not clinically meaningful.

### **Conclusion**

To the best of our knowledge, the present study is the first prospective interventional trial that evaluated the effect of VKORC1 polymorphisms in the response of vitamin K supplementation in over-anticoagulated patients. Our study indicates that -1639G>A polymorphism interferes in the response of acute vitamin K supplementation in over-anticoagulated patients, with a greater early decrease of INR value in patients carrying the G allele. Our protocol describes the frequently unrecognized interaction of environmental and genetic influences in a biological process that has great impact in a common therapeutic strategy (chronic oral

anticoagulation). Unraveling this overlooked and complex interplay in this and other therapeutic scenarios might be essential to evolve the pharmacogenetic field and to achieve the so-called individualized therapeutic strategies.



## REFERENCES

1. Hirsh J, Dalen JE, Anderson DR, Poller L, Bussey H, Ansell J, et al. Oral anticoagulants: mechanism of action, clinical effectiveness, and optimal therapeutic range. *Chest*. 2001; 119:8S-21S.
2. Hylek EM, Heiman H, Skates SJ, Sheehan MA, Singer DE. Acetaminophen and other risk factors for excessive Warfarin anticoagulation. *JAMA*. 1998; 279:657-662.
3. Cannegieter SC, Rosendaal FR, Wintzen AR, Van Der Meer FJM, Vandembroucke JP, Briët R. Optimal oral anticoagulant therapy in patients with mechanical heart valves. *N Engl J Med*. 1995; 333:11-17.
4. Holbrook A, Schulman S, Witt DM, Vandvik PO, Fish J, Kovacs MJ, et al. Evidence-based management of anticoagulant therapy : antithrombotic therapy and prevention of thrombosis, 9<sup>th</sup> ed: American College of Chest Physicians evidence. *Chest*. 2012; 141(2 Suppl):e152S-84S.
5. Kamali F, Wynne H. Pharmacogenetics of Warfarin. *Annu Rev Med*. 2010; 61:63–75.
6. Sconce EA, Kamali F. Appraisal of current vitamin K dosing algorithms for the reversal of over-anticoagulation with warfarin: the need for a more tailored dosing regimen. *Eur J Haematol*. 2006; 77:457–462.
7. Franco V, Polanczyk CA, Clausell N, Rohde LE. Role of dietary vitamin K intake in chronic oral anticoagulation: prospective evidence from observational and randomized protocols. *Am J Med*. 2004; 116(10):651-6.
8. Sconce EA, Khan TI, Wynne HA, Avery P, Monkhouse L, King BP, 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: 2329–33.

9. Giansante C, Fiotti N, Altamura N, Pitacco P, Consoloni L, Scardi S, et al. Oral anticoagulation and VKORC1 polymorphism in patients with a mechanical heart prosthesis: a 6-year follow-up. *J Thromb Thrombolysis*. 2012. [Epub ahead of print].

10. Sconce EA, Avery PJ, Wynne HA, Kamali F. Vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 (VKORC1) polymorphism influences the anticoagulation response subsequent to vitamin K intake: a pilot study. *Thromb Haemost*. 2008; 6:1226-1228.

11. Botton MR, Bandinelli E, Rohde LE, Amon LC, Hutz MH. Influence of genetic, biological and pharmacological factors on warfarin dose in a Southern Brazilian population of European ancestry. *Br J Clin Pharmacol*. 2011; 72(3):442-50.

12. Kimura R, Miyashita K, Kokubo Y, Akaiwa Y, Otsubo R, Nagatsuka K, et al. Genotypes of vitamin K epoxide reductase, gamma-glutamyl carboxylase, and cytochrome P450C9 as determinants of daily warfarin dose in Japanese patients. *Thrombosis Research*. 2007; 120:181-86.

13. D'Andrea G, D'Ambrosio RL, Di Perna P, Chetta M, Santacroce R, Brancaccio V, et al. A polymorphism in the VKORC1 gene is associated with an interindividual variability in the dose-anticoagulant effect of warfarin. *Blood*. 2005; 105: 645-49.

14. Lund K, Gaffney D, Spooner R, Etherington AM, Tansey P, Tait RC. Polymorphisms in VKORC1 have more impact than CYP2C9 polymorphisms on early warfarin International Normalized Ratio control and bleeding rates. *Br J Haematol*. 2012; 158:256–261.

15. Wadelius M, Chen LY, Eriksson N, Bumpstead S, Ghori J, Wadelius C, et al. Association of warfarin dose with genes involved in its action and metabolism. *Hum Gen.* 2007; 121:23-34.
16. [Gage BF](#), [Kimmel SE](#), [Lee MT](#), [Limdi NA](#), [Page D](#), [Roden DM](#), et al. Estimation of the warfarin dose with clinical and pharmacogenetic data. International Warfarin Pharmacogenetics Consortium. *N Engl J Med.* 2009; 360(8):753-64.
17. Cini M, Legnani C, Cosmi B, Guazzaloca G, Valdrè L, Frascaro M et al. A new warfarin dosing algorithm including VKORC1 3730 G> A polymorphism: comparison with results obtained by other published algorithms. *Eur J Clin Pharmacol.* 2012; 68:1167–1174.
18. Rohde LE, de Assis MC, Rabelo ER. Dietary vitamin K intake and anticoagulation in elderly patients. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2007; 10(1):1-5.
19. Assis MC, Rabelo ER, Ávila CW, Polanczyk CA, Rohde LE. Improved oral anticoagulation after a dietary vitamin K-guided strategy – A Randomized Controlled Trial. *Circulation.* 2009; 120:1115-1122.
20. Rombouts EK, Rosendaal FR, Van der Meer FJ. Influence of dietary vitamin K intake on subtherapeutic oral anticoagulant therapy. *Br J Haematol.* 2010; 149:598-605.
21. Kim KH, Choi WS, Lee JH, Lee H, Yang DH, Chae SC. Relationship between dietary vitamin K intake and the stability of anticoagulation effect in patients taking long-term warfarin. *Thromb Haemost.* 2010; 104:755-9.
22. Makris M, van Veen JJ, Maclean R. Warfarin anticoagulation reversal: management of the asymptomatic and bleeding patient. *J Thromb Thrombolysis.* 2010; 29:171–181.

23. Rombouts EK, Rosendaal FR, Van Der Meer FJM. Daily vitamin K supplementation improves anticoagulant stability. *J Thromb Haemost.* 2007; 5:2043–8.
24. Gebuis EPA, Rosendaal FR, van Meegen E, van der Meer FJM. Vitamin K1 supplementation to improve the stability of anticoagulation therapy with vitamin K antagonists: a dose-finding study. *Haematologica.* 2011; 96(4):583-9
25. Institute of Medicine. Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. *Natl. Acad. Press, Washington, DC,* 2001.
26. Rombouts EK, Rosendaal FR, Van Der Meer FJL. Subtherapeutic oral anticoagulant therapy: Frequency and risk factors. *Thromb Haemost.* 2009; 101:552-556.
27. Presse N, Kergoat MJ, Ferland G. High usual dietary vitamin K intake is associated with low relative variability in vitamin K intake: implications for anticoagulant therapy. *Br J Haematol.* 2011; 153:129–143.

## Figure Legends

**Figure 1.** Figure 1 – Graphic representation of mean and standard deviation of International Normalized Ratio over time for different genotypes of (A) VKORC1 - 1639G>A and (B) VKORC1 3730G>A polymorphisms.

Data expressed as mean.

(A): \*  $p < 0.05$  for difference among groups;  $p < 0.001$  for time variation;  $p = 0.001$  for interaction time/group.

(B):  $p < 0.001$  for time variation; N/S for difference among groups or interaction time/group.

**Table 1.** Clinical characteristics of the study population at baseline.

Clinical Variable	All n= 33
Age (years)	62 ± 12
Sex (male)	20 (61)
Ethnicity (Caucasian)	31 (94)
Active smoking	3 (9)
Body mass Index (Kg/m <sup>2</sup> )	28.0 ± 4.6
Body surface area (m <sup>2</sup> )	1.8 ± 0.2
Indication for oral anticoagulation	
Chronic atrial fibrillation	9 (27)
Mitral mechanical prosthesis	6 (18)
Aortic mechanical prosthesis	11 (33)
Others	7 (21)
Anticoagulant drugs	
Warfarin	31 (94)
Phenprocoumon	2 (6)
Baseline anticoagulation dose (mg)	
Warfarin	37.0 ± 17.5
Phenprocoumon	32.5 ± 10.6
Time in anticoagulation (years)	5.8 ± 6.1
Baseline INR	5.2 ± 1.2
Minor bleeding on baseline	9 (27)
Combined use of antiplatelet aggregator	10 (30)
Comorbidities	
Systemic arterial hypertension	24 (73)
Atrial fibrillation	12 (36)
Chronic renal failure	3 (9)

Data expressed as mean ± standard deviation or number (percentages).

**Table 2.** Clinical characteristics of genotypes of VKORC1 -1639G>A polymorphism at baseline.

Clinical Variable	AA (n=6)	GA (n=18)	GG (n=9)	P
Age (years)	63.5 (50.7–64.2)	59 (52.5–70.7)	66 (53.5–75.5)	0.85
Sex (male)	2 (33)	14 (78)	4 (44)	0.79
Body mass Index	31 ± 5	27 ± 4	27 ± 2	0.20
Indication for oral anticoagulation				0.90
Chronic atrial fibrillation	2(33)	5(28)	2(22)	
Mitral mechanical valve	1(17)	3(17)	2(22)	
Aortic mechanical valve	2(33)	6(33)	3(33)	
Anticoagulant drugs				0.41
Warfarin	6(100)	16(89)	9(100)	
Baseline anticoagulation dose (mg)	45 ± 26.8	36.7 ± 14.0	31.5 ± 14.6	0.31
Time in anticoagulation, years	1.9 (0.9 – 6.4)	4.7 (1.2 - 8.6)	6.7 (1.9 – 11.9)	0.16
Baseline INR	5.8 (4.4 – 5.0)	4.6 (4.4 – 5.0)	4.6 (4.5 – 5.0)	0.16
Minor bleeding on baseline	1(17)	6(33)	2(22)	0.67
Combined use of antiplatelet aggregator	4(67)	6(33)	0	0.02 *
Serum vitamin K (ng/dL)	0.54 (0.34 – 0.56)	0.67 (0.42 – 1.22)	0.64 (0.19 – 0.88)	0.06
Vitamin K intake – 24h recall (mcg)	13.9 (0 – 28.9)	24 (24 – 38.1)	29 (12 – 43.3)	0.31

Data expressed as mean ± standard deviation, number (percentages) or median (interquartile range).

\* significant difference between AA and GG groups

**Table 3.** Clinical characteristics of genotypes of VKORC1 3730G>A polymorphism at baseline

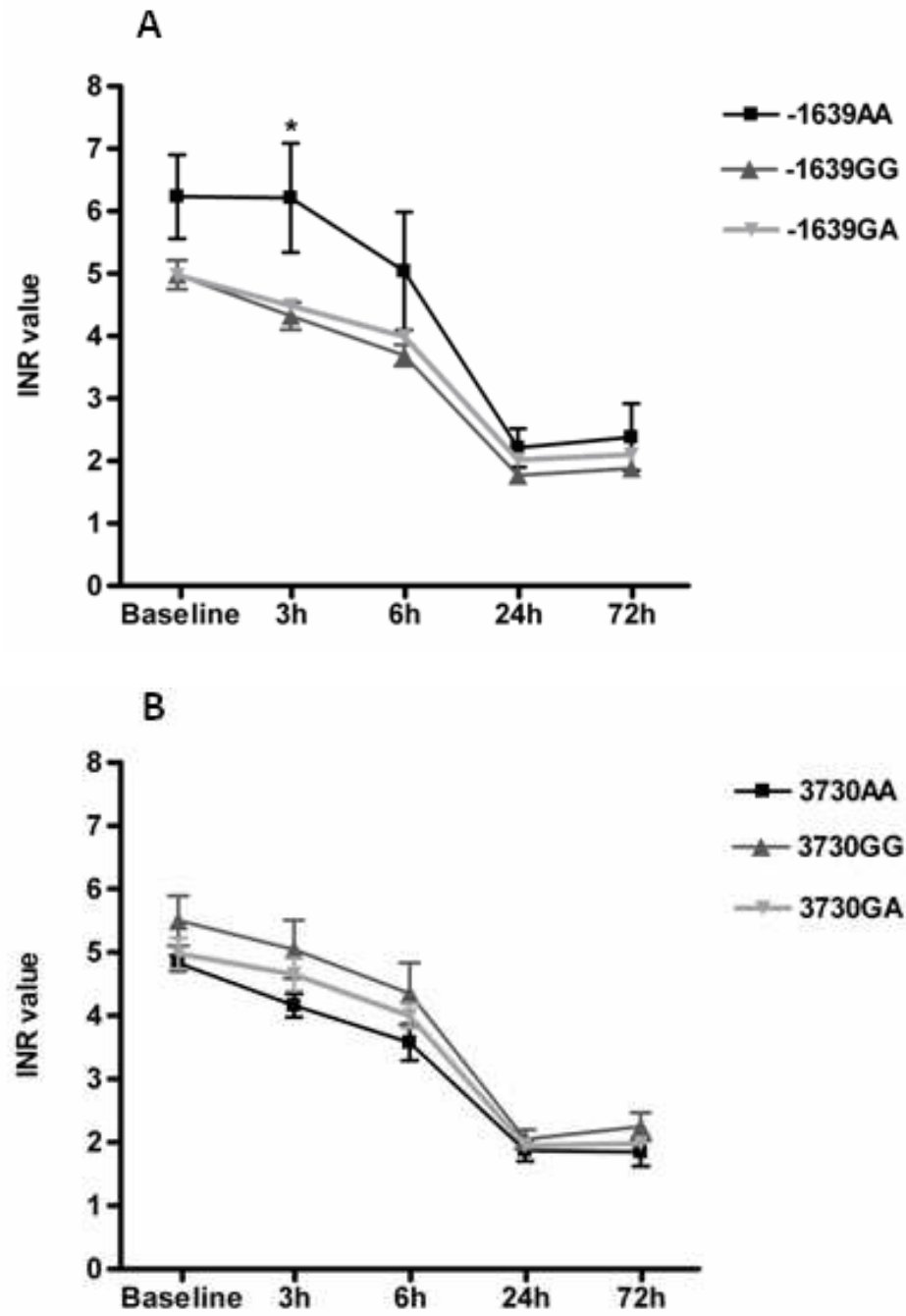
Clinical Variable	AA (n=5)	GA (n=13)	GG (n=15)	P
Age, years	65.2 ± 13.9	67.5 ± 8.4	56 ± 11.5	0.02*
Sex (male)	1(20)	10(77)	9(60)	0.086
Body mass Index	25.2 ± 1.2	27.9 ± 5.4	28.9 ± 4.4	0.28
Indication for oral anticoagulation				0.77
Chronic atrial fibrillation	1(20)	5(38)	3(20)	
Mitral mechanical valve	1(20)	3(23)	2(13)	
Aortic mechanical valve	1(20)	4(31)	6(40)	
Anticoagulant drugs				0.82
Warfarin	5(100)	12(92)	14(93)	
Baseline anticoagulation dose (mg)	25 ± 3.9	30.4 ± 8.9	46.2 ± 20.2	0.008**†
Time in anticoagulation, years	4.5 (1.9 – 11.0)	1.9 (0.6 - 8.0)	4.6 (1.4 – 10.9)	0.62
Baseline INR	4.6 (4.4 – 5.0)	4.7 (4.5 – 5.1)	4.9 (4.4 – 5.7)	0.48
Minor bleeding on baseline	-	6(23)	2(13)	0.75
Combined use of anti platelet aggregator	4(80)	3(23)	6(40)	0.086
Serum Vitamin K (ng/dL)	0.79 (0.40 – 1.21)	0.67 (0.55 – 1.26)	0.50 (0.23 – 0.66)	0.09
Vitamin K intake - FFQ				
Vitamin K intake – 24h recall (mcg)	29 (9 – 43.3)	24 (24 – 40.1)	24 (3.8 – 36)	0.54

Data expressed as mean ± standard deviation, number (percentages) or median (interquartile range).

\* significant difference between GG and GA groups; † significant difference between AA and GG groups.



Figure 1



## APÊNDICES

## Apêndice 1

### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

**Projeto:** Relação da suplementação oral de vitamina K e o polimorfismo do gene VKORC1 em pacientes hiperanticoagulados

Muitas pessoas fazem uso de anticoagulantes orais para controle do tempo de coagulação sanguínea e isso pode ser influenciado por alguns fatores alimentares. Por isso, você está sendo convidado a participar de uma pesquisa científica que tem por objetivo avaliar a influência da suplementação oral de vitamina K em pacientes em que o resultado do teste de coagulação (tempo de protrombina ou RNI) esteja alterado (maior que 4,5). O uso de vitamina K oral é indicado quando o RNI está alterado, para evitar complicações de sangramento. Sua participação é importante, pois a partir de estudos como este será possível uma orientação mais específica para pessoas que recebem a terapêutica anticoagulante.

Caso você participe, serão feitas perguntas sobre sua alimentação habitual; não será feito nenhum procedimento que lhe traga qualquer desconforto ou risco à sua vida, mas você poderá ter algum desconforto relacionado a coleta de sangue (5 mL de sangue exames), conforme você já tem feito no seu acompanhamento de rotina no Ambulatório de Anticoagulação Oral do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Você poderá ter todas as informações que quiser e poderá não participar da pesquisa ou retirar seu consentimento a qualquer momento, sem prejuízo no seu atendimento. Pela sua participação no estudo, você não receberá qualquer valor em dinheiro, mas terá a garantia de que todas as despesas necessárias para a realização da pesquisa não serão de sua responsabilidade. Seu nome não será

divulgado para outras pessoas, pois você será identificado com um número ou com uma letra. As informações serão utilizadas somente para fins de pesquisa.

Eu, \_\_\_\_\_, li e/ou ouvi o esclarecimento acima e compreendi para que serve o estudo e qual procedimento a que serei submetido. A explicação que recebi esclarece os riscos e benefícios do estudo. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação a qualquer momento, sem justificar minha decisão e que isso não afetará meu tratamento. Sei que meu nome não será divulgado, que não terei despesas e não receberei dinheiro por participar do estudo. Eu concordo em participar desta pesquisa.

Os pesquisadores responsáveis por este projeto de pesquisa são: a enfermeira Graziela Aliti, a médica Lívia Goldraich e o Professor Luis Eduardo Rohde, tendo este documento sido revisado e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa desta instituição.

Telefones dos pesquisadores: (51) 33598843 ou ou (51) 99766629.

---

Paciente ou responsável

---

Pesquisador

Porto Alegre, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

## Apêndice 2

### Instrumento para coleta de dados – ficha de avaliação

Código do paciente:    Data de entrada no estudo \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Nº prontuário HCPA: \_\_\_\_\_

Genótipo VKORCV1 -1639G>A: \_\_\_\_ Genótipo VKORCV1 3730>A: \_\_\_\_

#### 1. Identificação:

Nome: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_ Cidade: \_\_\_\_\_

Telefone 1: \_\_\_\_\_ Telefone 2: \_\_\_\_\_

Data de nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Sexo: ( ) M ( ) F

Estado civil: ( ) casado ( ) solteiro ( ) separado/divorciado ( ) viúvo

Etnia: ( ) branco ( ) negro ( ) mulato ( ) oriental ( ) índio ( ) outros

#### 2. Dados referente a anticoagulação:

##### Motivo da anticoagulação

Fibrilação Atrial  TVP/ TEP  Prótese cardíaca

Doença Cerebrovascular  Trombofilias. \_\_\_\_\_

Outro. Qual? \_\_\_\_\_

Qual o RNI alvo? \_\_\_\_\_ a \_\_\_\_\_ Tempo previsto: ( ) \_\_\_\_\_ meses ( ) contínuo

Início da anticoagulação oral \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ ( ) internação ( ) ambulatório

Esquema inicial de anticoagulação oral: \_\_\_\_\_

##### Qual o anticoagulante oral utilizado no momento?

( ) varfarina – Dose semanal: \_\_\_\_\_ mg

( ) Fenprocumon – Dose semanal: \_\_\_\_\_ mg

**Sempre utilizou esse mesmo ACO?** ( ) sim ( ) não, qual o outro? \_\_\_\_\_

**Teve alguma complicação ocasionada pelo uso desse medicamento?** \_\_\_\_\_

**Qual?** \_\_\_\_\_ **Continua tendo?** \_\_\_\_\_

**Uso prévio de anticoagulação** ( ) sim ( ) não (se sim preencher abaixo)

**Motivo:** \_\_\_\_\_ **Período:** \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ a \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**Fármaco:** ( ) varfarina ( ) fenprocumon

**RNI atingido:** \_\_\_\_\_ a \_\_\_\_\_ **Complicações:** \_\_\_\_\_

**Suspensão da anticoagulação:** Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**Motivo:** ( ) termino previsto

( ) ma adesão ao tratamento

( ) Complicação grave: \_\_\_\_\_

( ) Outro: \_\_\_\_\_

**Tempo total de anticoagulação:** \_\_\_\_\_

### 3. Dados clínicos:

**Peso atual:** \_\_\_\_\_ Kg **Altura:** \_\_\_\_\_ cm **IMC:** \_\_\_\_\_ Kg/m<sup>2</sup>

**Tabagismo atual:** ( ) sim ( ) não **Quantidade?** \_\_\_\_\_ cigarros/dia

**Etilismo atual:** ( ) sim ( ) não **Freqüência:** \_\_\_\_\_

**Nº de doses diárias:** \_\_\_\_\_ ( ) garrafa ( ) lata ( ) copo ( ) dose (medidor) ( )

taça

**Alergias:** \_\_\_\_\_

### 4. Fatores de risco para sangramento com anticoagulante oral:

( ) Idade > 65 anos

( ) fibrilação atrial

( ) Neoplasia

( ) Insuficiência Hepática

( ) Sexo feminino

( ) Insuficiência Renal

- |   |   |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> Antitrombótico concomitante      | <input type="checkbox"/> Alcoolismo                               |
| <input type="checkbox"/> Sangramento (principalmente TGI) | <input type="checkbox"/> Anemia                                   |
| <input type="checkbox"/> HAS                              | <input type="checkbox"/> Superfície corporal > 2m/cm <sup>2</sup> |
| <input type="checkbox"/> AVC                              | <input type="checkbox"/> Trauma/cirurgia recente                  |
| <input type="checkbox"/> Cardiopatia grave                | <input type="checkbox"/> Cardiopatia isquêmica                    |

Outras patologias? \_\_\_\_\_ Quais? \_\_\_\_\_

### 5. Medicções em uso:

**Nome dos remédios em uso:**

---

---

---

- Antibióticos. Qual? \_\_\_\_\_
- Antifúngico. Qual? \_\_\_\_\_
- Antidepressivo. Qual? \_\_\_\_\_
- Antiplaquetário. Qual? \_\_\_\_\_
- Amiodarona.
- Antiinflamatorio. Qual? \_\_\_\_\_
- Paracetamol
- Remédios alternativos (camonila, erva de são-joão, ginkgo biloba, dong quai).  
Qual? \_\_\_\_\_

**Modificou o tratamento medicamentoso recentemente?** ( ) sim ( ) não

**Se sim, qual** \_\_\_\_\_

**6. Análises Laboratoriais:**

RNI	Valores	Data	Hora	Observações
RNI basal				
RNI (3h)				
RNI (6h)				
RNI (24h)				
RNI (72h)				
Vitamina K				





## Apêndice 4

### Questionário alimentar

Nome: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_\_

Alimento	“Quantas vezes você comeu este alimento na última semana?”	Recomendação
<b>GRUPO I – Alto Conteúdo</b>		
Chás verdes (712 µg/100 gr)	<input type="checkbox"/> todos as refeições <input type="checkbox"/> todos dias <input type="checkbox"/> 6 dias <input type="checkbox"/> 5 dias <input type="checkbox"/> 4 dias <input type="checkbox"/> 3 dias <input type="checkbox"/> 2 dias <input type="checkbox"/> 1 dia <input type="checkbox"/> NÃO	
Nabo Verde (650 µg/100 gr)	<input type="checkbox"/> todos as refeições <input type="checkbox"/> todos dias <input type="checkbox"/> 6 dias <input type="checkbox"/> 5 dias <input type="checkbox"/> 4 dias <input type="checkbox"/> 3 dias <input type="checkbox"/> 2 dias <input type="checkbox"/> 1 dia <input type="checkbox"/> NÃO	
Espinafre (380 µg/100 gr)	<input type="checkbox"/> todos as refeições <input type="checkbox"/> todos dias <input type="checkbox"/> 6 dias <input type="checkbox"/> 5 dias <input type="checkbox"/> 4 dias <input type="checkbox"/> 3 dias <input type="checkbox"/> 2 dias <input type="checkbox"/> 1 dia <input type="checkbox"/> NÃO	
<b>GRUPO II – Moderado a Alto Conteúdo</b>		
Brócolis (180 µg/100 gr)	<input type="checkbox"/> todos as refeições <input type="checkbox"/> todos dias <input type="checkbox"/> 6 dias <input type="checkbox"/> 5 dias <input type="checkbox"/> 4 dias <input type="checkbox"/> 3 dias <input type="checkbox"/> 2 dias <input type="checkbox"/> 1 dia <input type="checkbox"/> NÃO	
Couve de Bruxelas (177 µg/100 gr)	<input type="checkbox"/> todos as refeições <input type="checkbox"/> todos dias <input type="checkbox"/> 6 dias <input type="checkbox"/> 5 dias <input type="checkbox"/> 4 dias <input type="checkbox"/> 3 dias <input type="checkbox"/> 2 dias <input type="checkbox"/> 1 dia <input type="checkbox"/> NÃO	
Repolho (145 µg/100 gr)	<input type="checkbox"/> todos as refeições <input type="checkbox"/> todos dias <input type="checkbox"/> 6 dias <input type="checkbox"/> 5 dias <input type="checkbox"/> 4 dias <input type="checkbox"/> 3 dias <input type="checkbox"/> 2 dias <input type="checkbox"/> 1 dia <input type="checkbox"/> NÃO	
Alface crespa (122 µg/100 gr)	<input type="checkbox"/> todos as refeições <input type="checkbox"/> todos dias <input type="checkbox"/> 6 dias <input type="checkbox"/> 5 dias <input type="checkbox"/> 4 dias <input type="checkbox"/> 3 dias <input type="checkbox"/> 2 dias <input type="checkbox"/> 1 dia <input type="checkbox"/> NÃO	
Óleo de soja ou canola (120-190 µg/100 gr)	<input type="checkbox"/> todos as refeições <input type="checkbox"/> todos dias <input type="checkbox"/> 6 dias <input type="checkbox"/> 5 dias <input type="checkbox"/> 4 dias <input type="checkbox"/> 3 dias <input type="checkbox"/> 2 dias <input type="checkbox"/> 1 dia <input type="checkbox"/> NÃO	

GRUPO III – Moderado Conteúdo		
Bife Fígado (90-95µg/100 gr)	<input type="checkbox"/> todos as refeições <input type="checkbox"/> todos dias <input type="checkbox"/> 6 dias <input type="checkbox"/> 5 dias <input type="checkbox"/> 4 dias <input type="checkbox"/> 3 dias <input type="checkbox"/> 2 dias <input type="checkbox"/> 1 dia <input type="checkbox"/> NÃO	
Aspargos (60 µg/100 gr)	<input type="checkbox"/> todos as refeições <input type="checkbox"/> todos dias <input type="checkbox"/> 6 dias <input type="checkbox"/> 5 dias <input type="checkbox"/> 4 dias <input type="checkbox"/> 3 dias <input type="checkbox"/> 2 dias <input type="checkbox"/> 1 dia <input type="checkbox"/> NÃO	
Agrião (57 µg/100 gr)	<input type="checkbox"/> todos as refeições <input type="checkbox"/> todos dias <input type="checkbox"/> 6 dias <input type="checkbox"/> 5 dias <input type="checkbox"/> 4 dias <input type="checkbox"/> 3 dias <input type="checkbox"/> 2 dias <input type="checkbox"/> 1 dia <input type="checkbox"/> NÃO	
Alface americana (35 µg/100 gr)	<input type="checkbox"/> todos as refeições <input type="checkbox"/> todos dias <input type="checkbox"/> 6 dias <input type="checkbox"/> 5 dias <input type="checkbox"/> 4 dias <input type="checkbox"/> 3 dias <input type="checkbox"/> 2 dias <input type="checkbox"/> 1 dia <input type="checkbox"/> NÃO	
Ervilha (24 µg/100 gr)	<input type="checkbox"/> todos as refeições <input type="checkbox"/> todos dias <input type="checkbox"/> 6 dias <input type="checkbox"/> 5 dias <input type="checkbox"/> 4 dias <input type="checkbox"/> 3 dias <input type="checkbox"/> 2 dias <input type="checkbox"/> 1 dia <input type="checkbox"/> NÃO	
Couve (20-50 µg/100 gr)	<input type="checkbox"/> todos as refeições <input type="checkbox"/> todos dias <input type="checkbox"/> 6 dias <input type="checkbox"/> 5 dias <input type="checkbox"/> 4 dias <input type="checkbox"/> 3 dias <input type="checkbox"/> 2 dias <input type="checkbox"/> 1 dia <input type="checkbox"/> NÃO	
Couve-flor (20 µg/100 gr)	<input type="checkbox"/> todos as refeições <input type="checkbox"/> todos dias <input type="checkbox"/> 6 dias <input type="checkbox"/> 5 dias <input type="checkbox"/> 4 dias <input type="checkbox"/> 3 dias <input type="checkbox"/> 2 dias <input type="checkbox"/> 1 dia <input type="checkbox"/> NÃO	
Rúcula	<input type="checkbox"/> todos as refeições <input type="checkbox"/> todos dias <input type="checkbox"/> 6 dias <input type="checkbox"/> 5 dias <input type="checkbox"/> 4 dias <input type="checkbox"/> 3 dias <input type="checkbox"/> 2 dias <input type="checkbox"/> 1 dia <input type="checkbox"/> NÃO	
Pepino Cru c/ Casca (20 µg/100 gr)	<input type="checkbox"/> todos as refeições <input type="checkbox"/> todos dias <input type="checkbox"/> 6 dias <input type="checkbox"/> 5 dias <input type="checkbox"/> 4 dias <input type="checkbox"/> 3 dias <input type="checkbox"/> 2 dias <input type="checkbox"/> 1 dia <input type="checkbox"/> NÃO	