

Université de Montréal

**Anticoagulothérapie à la warfarine : influence de l'apport
alimentaire de vitamine K**

par
Cristina Leblanc

Département de nutrition
Faculté de Médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures et postdoctorales
en vue de l'obtention du grade de M.Sc.
en Nutrition

août, 2015

© Cristina Leblanc, 2015

Résumé

Un apport élevé de vitamine K a été associé à une meilleure stabilité du traitement à la warfarine. Toutefois, l'effet du gène *VKORC1*, codant pour une enzyme impliquée dans le métabolisme de la vitamine K et inhibée par la warfarine, sur cette association a été très peu étudié. De plus, il a été suggéré que les patients anticoagulés sont fréquemment conseillés de restreindre leur consommation d'aliments riches en vitamine K dans le contexte clinique. Néanmoins, l'effet de cette recommandation sur l'apport de vitamine K n'est pas établi. Afin d'examiner ces questions, 317 Québécois anticoagulés à la warfarine provenant de 17 sites hospitaliers ont été sondés sur les recommandations alimentaires reçues en début de traitement. L'apport alimentaire habituel de vitamine K a été évalué rétrospectivement sur une période de 12 mois. La stabilité du traitement a été mesurée par le pourcentage de temps passé dans l'intervalle thérapeutique (n=246) du 3^e au 12^e mois suivant l'initiation du traitement. La majorité des patients (68%) ont rapporté avoir été conseillés de restreindre leur consommation d'aliments riches en vitamine K. L'adhérence à cette recommandation était associée à de plus faibles apports alimentaires de vitamine K. De plus, l'apport alimentaire de vitamine K était positivement associé à la stabilité du traitement, et cette relation n'était pas modulée par le génotype de *VKORC1*. Ces données ont permis d'illustrer des lacunes dans l'éducation nutritionnelle prodiguée aux patients anticoagulés à la warfarine, et ont contribué à la recherche portant sur l'interaction entre l'apport de vitamine K et la warfarine.

Mots-clés: Warfarine, Anticoagulothérapie, Vitamine K, Phylloquinone, *VKORC1*.

Abstract

Recent studies suggest that higher vitamin K intake is associated with better warfarin therapy stability. However, whether the *VKORC1* gene, encoding an enzyme involved in vitamin K metabolism and inhibited by warfarin, modulates this association is not well studied. Moreover, it has been suggested that warfarin-treated patients are often instructed to limit their consumption of vitamin K-rich foods in the clinical setting. Yet, the impact of this advice on usual dietary vitamin K intakes is unknown. To gain insight in these issues, 317 warfarin-treated patients from 17 hospital sites in the province of Quebec were questioned on the dietary recommendations they had received at warfarin initiation. Usual dietary vitamin K intake was assessed retrospectively over a 12-month period. Stability of warfarin therapy was measured by the percentage of time in the therapeutic range (n=246) from the 3rd to 12th month following warfarin initiation. Most patients (68%) reported being advised to limit their consumption of vitamin K-rich foods, particularly green vegetables. Adherence to this recommendation was associated with lower vitamin K intakes. Moreover, usual dietary vitamin K intake was positively associated with warfarin therapy stability. This association was not modulated by *VKORC1* genotype. These data highlighted the need for better nutritional education in warfarin users, and contributed to the research on the interaction between dietary vitamin K intake and warfarin.

Keywords: Warfarin, Anticoagulant therapy, Vitamin K, Phylloquinone, *VKORC1*.

Table des matières

Liste des tableaux.....	v
Liste des figures	vii
Liste des abréviations et des sigles	viii
Remerciements.....	x
Avant-propos.....	xii
Revue de la littérature	1
Section I : Vitamine K	1
Vitamères	1
Sources, apports et besoins	2
Métabolisme.....	6
Section II : Hémostase	8
Hémostase primaire	8
Hémostase secondaire.....	9
Régulation de l'hémostase	11
Rôle physiologique de la vitamine K dans la coagulation.....	12
Section III : Warfarine sodique.....	14
Pharmacocinétique et pharmacodynamique	15
Caractéristiques du traitement.....	18
Section IV : Stabilité du traitement à la warfarine.....	23
Mesure de la stabilité du traitement.....	23
Conséquences de l'instabilité.....	24
Prédicteurs non alimentaires de la stabilité.....	26
Prédicteurs alimentaires de la stabilité.....	28
Hypothèses et objectifs	41
Méthodologie générale.....	43
Article 1	46
Article 2	66

Discussion.....	90
Recommandations alimentaires et apport de vitamine K	90
Apport alimentaire de vitamine K et stabilité de l'anticoagulothérapie	96
Influence du génotype.....	100
Forces et limites	102
Conclusions et perspectives	106
Bibliographie.....	108

Liste des tableaux

Revue de la littérature

Tableau I. Teneur en phylloquinone de quelques aliments.	3
Tableau II. Recommandations d'apports suffisants de vitamine K ($\mu\text{g}/\text{jour}$), en fonction de l'âge et du sexe, chez des populations en santé.	5
Tableau III. Les facteurs de coagulation.	10
Tableau IV. Dérivés coumariniques homologués au Canada.	15
Tableau V. Résumé des modalités d'évaluation de l'apport alimentaire de vitamine K et de la stabilité du traitement dans des études observationnelles menées chez des patients adultes anticoagulés aux antagonistes de la vitamine K.	36
Tableau VI. Résumé des modalités d'intervention des études de supplémentation en vitamine K chez des patients adultes anticoagulés aux antagonistes de la vitamine K.	37

Article 1

Table 1. Characteristics of the 317 warfarin-treated patients, stratified by classes of vitamin K-related dietary recommendations they reported.	54
Table 2. Vitamin K intakes ($\mu\text{g}/\text{day}$) of 317 warfarin-treated patients, stratified by classes of vitamin K-related dietary recommendations.	55

Article 2

Table 1. Comparison of the characteristics of warfarin-treated participants selected for analysis and those not selected.	76
Table 2. Results from the final multiple linear regression model assessing the relationship between usual vitamin K intake and TTR in 246 warfarin users.	77
Table 3. Results from the multiple linear regression models assessing the association between usual vitamin K intake and TTR in 246 warfarin users, according to the % overlap between the 12-month period covered by the vitamin K intake assessment and the 9-month period considered for TTR assessment.	78

Matériel supplémentaire

Supplemental Table 1. Characteristics of warfarin-treated patients included in the analyses, according to the % overlap between the 12-month period covered by the vitamin K intake assessment and the 9-month period considered for TTR assessment. 89

Liste des figures

Revue de la littérature

Figure 1. Structure chimique des principaux vitamères K.....	2
Figure 2. Schéma simplifié de la cascade de la coagulation sanguine.....	11
Figure 3. Cycle de la vitamine K.	13
Figure 4. Structures moléculaires de dérivés coumariniques.....	15
Figure 5. Un SNP (<i>single nucleotide polymorphism</i>) est une variation génétique localisée sur une seule paire de base d'un gène.....	20
Figure 6. Exemple d'instabilité de l'anticoagulothérapie à la warfarine au cours du temps. ...	24

Matériel supplémentaire

Supplemental Figure 1. Flowchart of participants included in analyses examining the association between dietary vitamin K intake and TTR.	88
---	----

Liste des abréviations et des sigles

ADN: acide désoxyribonucléique

AMT: apport maximal tolérable

ANR: apport nutritionnel recommandé

ANREF: apport nutritionnel de référence

ApoE: apolipoprotéine E

AS: apport suffisant

AVC: accident vasculaire cérébral

AVK: antagoniste de la vitamine K

BMI: *body mass index*

CYP1A2: Cytochrome P450 1A2

CYP2C9: Cytochrome P450 2C9

CYP2C9: gène codant pour l'enzyme CYP2C9

CYP2C19: Cytochrome P450 2C19

CYP3A4: Cytochrome P450 3A4

CYP4F2: Cytochrome P450 4F2

EIQ: écart interquartile

FFQ: *food frequency questionnaire*

Gas6: *Growth arrest-specific gene 6*

GGCX: γ -glutamyl carboxylase

Gla: résidu d'acide γ -carboxyglutamique

Glu: résidu d'acide glutamique

HDL: lipoprotéines de haute densité

IC95%: intervalle de confiance à 95%

IMC: indice de masse corporelle

INR: *International Normalized Ratio*

LDL: lipoprotéines de faible densité

MGP: *Matrix Gla protein*

MK: ménaquinone

MK-4: ménaquinone-4

MK-7: ménaquinone-7
MK-10: ménaquinone-10
MK-11: ménaquinone-11
NADPH: nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduite
NHANES III: *Third National Health and Nutrition Examination Survey*
PIVKA: *protein induced by vitamin K absence or vitamin K antagonist*
PIVKA-II: *protein induced by vitamin K absence or vitamin K antagonist-factor II*
QFA: questionnaire de fréquence alimentaire
QWCS: *Quebec Warfarin Cohort Study*
SNP: *single nucleotide polymorphism*
TF: *tissue factor*
TFPI: *tissue factor pathway inhibitor*
TTR: *time in therapeutic range*
USP: *United States Pharmacopeia*
VKOR: vitamine K époxyde réductase
VKORC1: gène codant pour la sous-unité complexe 1 de la vitamine K époxyde réductase
VK-WARF: Étude Vitamine K et Warfarine

Remerciements

Ce projet de maîtrise n'aurait pas été possible sans l'aide, les compétences et le dévouement de nombreuses personnes avec lesquelles j'ai eu la chance de travailler durant mon parcours aux études supérieures.

Je tiens tout d'abord à remercier ma directrice de maîtrise Dre Guylaine Ferland, pour l'ensemble de nos collaborations depuis 2010, ainsi que pour m'avoir permis d'effectuer le présent projet de maîtrise sous sa supervision. Je tiens entre autres à la remercier pour sa patience et sa grande flexibilité. De plus, ses talents manifestes pour l'écriture scientifique ont contribué substantiellement à mon apprentissage.

Je tiens également à remercier ma co-directrice Dre Marie-Pierre Dubé pour m'avoir aussi bien accueillie dans son laboratoire et pour sa grande disponibilité durant ce projet de maîtrise. Ses aptitudes avérées pour la vulgarisation et l'enseignement m'ont notamment permis d'apprécier les concepts de base entourant l'épidémiologie génétique et la pharmacogénomique.

Un énorme merci à Dre Nancy Presse, pour m'avoir transmis sa passion pour la recherche, pour son implication importante depuis mon premier stage de recherche et pour avoir fait partie de mon comité de parrainage. Merci également pour les nombreux conseils avisés et pour tous les dîners ! Grâce à ses talents notoires en recherche et en pédagogie, j'ai beaucoup appris depuis mon premier jour de stage d'été.

Merci aux infirmières et étudiants ayant participé au recrutement des participants et à la collecte de données de l'étude *Quebec Warfarin Cohort Study*. Je pense entre autres à Christiane Savard, Maryse Tremblay, Stéphanie Dumas, Étienne Rouleau-Mailloux, Emmanuel Piffo, Nawal Bouchama et Jason Hu. Je tiens également à remercier Mimosa Nguyen qui a contribué substantiellement au recrutement des participants et à la saisie des données pour l'étude.

Merci également à Sylvie Roy de l'Institut universitaire de gériatrie de Montréal et à l'équipe du Centre de pharmacogénomique de l'Institut de Cardiologie de Montréal, notamment à Louis-

Philippe Lemieux Perreault, Marc-André Legault, Mathieu Langlois, Sylvie Provost, Amina Barhdadi, Yassamin Feroz Zada, Géraldine Asselin, Valérie Normand, Steve Geoffroy, Payman Shahabi, Nathalie Zapata, mais aussi à tous ceux que je n'aurai pas nommés. Mon parcours à la maîtrise n'aurait pas été aussi agréable sans vous !

Je tiens aussi à remercier les Fonds de recherche du Québec-Santé, Hydro-Québec, la Faculté des études supérieures et postdoctorales de l'Université de Montréal et le Département de nutrition de l'Université de Montréal pour leur soutien financier durant mon parcours aux études supérieures.

Merci à mes amis et à mon amoureux pour leur support constant et leurs mots d'encouragement, je suis très choyée de vous compter dans ma vie !

Enfin, un merci tout spécial à mes grands-parents qui ont toujours cru en moi, et qui m'ont encouragée et soutenue dans tous mes projets.

Avant-propos

La vitamine K est traditionnellement connue pour son rôle dans la coagulation sanguine. Déjà dans les années 1960, une interaction entre l'apport de vitamine K et l'anticoagulothérapie orale à la warfarine est avancée. Néanmoins la gestion de cette interaction dans le contexte clinique demeure encore aujourd'hui source de questionnements et de débats dans le milieu scientifique. Plusieurs études portant sur cette interaction nutriment-médicament ont été menées au laboratoire de Dre Guylaine Ferland. Dre Ferland a développé une expertise sur le métabolisme de la vitamine K, et s'intéresse particulièrement à son rôle dans les fonctions cérébrales. J'ai fait mes premiers pas au sein de ce laboratoire au cours de deux stages d'été d'initiation à la recherche menés en 2010 et 2011. Le projet sur lequel nous travaillions visait à examiner l'influence de l'apport alimentaire de vitamine K sur la stabilité de l'anticoagulothérapie à la warfarine chez des patients âgés. Les résultats de ce projet de recherche ont été publiés en juillet 2014, dans la revue *Thrombosis Research*. En bref, des apports élevés de vitamine K étaient associés à une meilleure stabilité du traitement et à un nombre réduit de ponctions sanguines nécessaires à la surveillance du traitement. Ces résultats étaient cohérents avec ceux de la littérature récente, et ont mené à l'élaboration du présent projet de maîtrise. En effet, malgré les avancées scientifiques des dernières années, les études actuelles suggèrent une grande variabilité interindividuelle de la réponse à la vitamine K dans le cadre de l'anticoagulothérapie, laquelle pourrait être expliquée par le profil génétique des patients. L'investigation de cette question pourrait permettre de cibler les patients qui bénéficieraient le plus d'une intervention nutritionnelle visant à augmenter les apports de vitamine K durant l'anticoagulothérapie à la warfarine.

En 2009 a débuté la *Quebec Warfarin Cohort Study*, une étude de cohorte prospective menée auprès de 1069 patients anticoagulés provenant de 17 centres hospitaliers du Québec. L'objectif principal de cette étude est d'examiner les déterminants cliniques et génétiques de l'efficacité et de la sécurité de l'anticoagulothérapie à la warfarine. Cette étude présentait l'opportunité d'examiner si le profil génétique des patients était une variable modulatrice de l'effet de la vitamine K sur la stabilité de l'anticoagulothérapie à la warfarine. À cette époque, une seule étude pilote avait examiné cette question et suggérait effectivement une modulation de l'effet

d'une supplémentation en vitamine K sur la réponse à la warfarine par un gène, *VKORC1*, lequel code pour une enzyme impliquée dans le métabolisme de la vitamine K et inhibée par la warfarine.

Le présent projet de maîtrise s'inscrit donc dans la démarche générale de Dre Ferland d'étudier la vitamine K et dans celle plus précise de caractériser son rôle dans la stabilité de l'anticoagulothérapie chronique à la warfarine dans un contexte de médecine personnalisée. Le mémoire présente d'abord une revue de la littérature centrée sur le rôle de la vitamine K dans la coagulation normale et dans l'anticoagulothérapie. Ensuite, deux articles scientifiques sont présentés. Le premier, soumis au *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, décrit les recommandations nutritionnelles rapportées par des patients nouvellement anticoagulés et l'influence de ces recommandations sur l'apport alimentaire habituel de vitamine K. Le second article traite de l'association entre l'apport alimentaire habituel de vitamine K et la stabilité de l'anticoagulothérapie à la warfarine, et de l'influence du profil génétique sur cette association. Ce dernier article a été préparé, néanmoins, des questionnements relatifs à la validité interne et externe de cette étude demeurent et ont motivé notre décision de ne pas le soumettre pour publication avant que ces aspects ne soient élucidés. Ces éléments sont abordés en profondeur dans la discussion générale. Ce mémoire aura somme toute contribué à l'avancement des connaissances par la mise en évidence d'un décalage entre les recommandations nutritionnelles officielles et la pratique clinique chez les patients traités à la warfarine, et par l'illustration de la complexité méthodologique des études observationnelles. Des solutions sont proposées dans les deux cas.

Revue de la littérature

Section I : Vitamine K

L'histoire de la découverte de la vitamine K remonte aux années 1930, et repose sur les travaux effectués par le biochimiste danois Henrik Dam de l'Université de Copenhague. Dans le cadre de ses recherches portant sur le rôle du cholestérol dans l'alimentation des poulets, celui-ci observa des hémorragies et une vitesse de coagulation sanguine anormalement lente chez des poussins nourris avec une diète déficiente en stérols [1]. Les travaux subséquents ont permis d'identifier le facteur antihémorragique liposoluble, dénommé « vitamine K » [2, 3]. En 1943, le Prix Nobel de physiologie ou médecine était attribué à Dam pour la découverte de la vitamine K, et au biochimiste Edward A. Doisy pour la découverte de la structure chimique de la vitamine K [4].

Ce n'est que dans les années 1970 que le mécanisme par lequel la vitamine K permet l'activation biologique de certaines protéines de coagulation fût découvert. En parallèle, d'autres protéines dépendantes de la vitamine K furent également identifiées, notamment l'ostéocalcine, la MGP (*Matrix Gla protein*) dans le tissu osseux ainsi que la protéine Gas6 (*Growth arrest-specific gene 6*) exprimée dans plusieurs tissus [1]. Les résultats des études expérimentales subséquentes appuyant un rôle physiologique régulateur de la vitamine K en marge de son rôle dans la coagulation sanguine ont suscité un intérêt de recherche important. En effet, un nombre croissant de travaux portent sur l'évaluation de l'importance clinique de la vitamine K dans la santé osseuse, la santé cardiovasculaire, la cognition, le processus inflammatoire, la résistance à l'insuline et le cancer [5-8]. Néanmoins, son rôle dans la coagulation sanguine demeure sans équivoque le rôle le plus établi de la vitamine K.

Vitamères

Le terme « vitamine K » désigne une série de composés antihémorragiques comportant dans leur structure chimique un noyau commun 2-méthyl-1,4-naphtoquinone (ménadione) et se distinguant par leur chaîne latérale en position 3 (Figure 1).

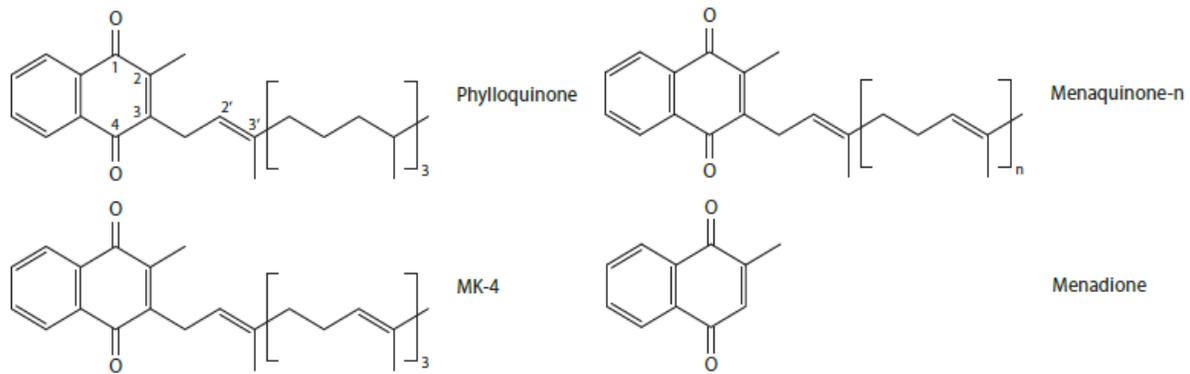


Figure 1. Structure chimique des principaux vitamères K (adapté de [9]).

Les vitamères existant naturellement sont la phylloquinone et les ménaquinones (MK). La phylloquinone est synthétisée par les végétaux [1]. Sa structure chimique comporte une chaîne latérale phytyle composée de 4 résidus isoprènes, dont 3 sont saturés [10]. Les MK forment une famille de composés dont les chaînes latérales comprennent de 4 à 13 unités isoprènes insaturées. Elles sont désignées MK-n selon le nombre (n) d'unités isoprènes qu'elles comportent. La liposolubilité des MK augmente avec la longueur de leur chaîne latérale [11]. À l'exception de la MK-4, qui est biosynthétisée à partir de la phylloquinone, les MK sont synthétisées par quelques bactéries anaérobiques [6]. La ménadione est une forme synthétique hydrosoluble de la vitamine K et est la forme utilisée dans la nourriture des animaux d'élevage et domestiques. Bien qu'elle ait été antérieurement utilisée chez les humains, cet usage est maintenant proscrit en raison des réactions indésirables qui y sont associées, telles que l'anémie hémolytique, l'hyperbilirubinémie et les dommages hépatiques [1]. L'utilisation des termes « vitamine K₁ », « vitamine K₂ » et « vitamine K₃ » pour désigner respectivement la phylloquinone, les MK et la ménadione n'est plus encouragée depuis plusieurs années [12], mais demeure largement répandue dans la littérature scientifique. Le terme « phytonadione » réfère à la phylloquinone dans la nomenclature USP (*United States Pharmacopeia*) [1].

Sources, apports et besoins

Les développements technologiques des dernières années, dont l'utilisation de la chromatographie liquide à haute performance, ont mené à l'analyse du contenu en vitamine K de plusieurs aliments. L'élaboration de bases de données nationales, notamment aux États-Unis

[13] et au Canada [14] a permis l'accès rapide à la teneur en vitamine K d'un vaste ensemble d'aliments et a grandement favorisé la recherche portant sur la relation entre l'apport alimentaire de ce nutriment et la santé.

Sources alimentaires

La phylloquinone est la principale forme de vitamine K consommée chez l'humain et se trouve principalement dans les légumes verts, particulièrement les légumes verts feuillus [15]. Certains autres légumes, quelques fruits, ainsi que les huiles de canola, de soya et d'olive en contiennent aussi des quantités appréciables (Tableau I).

Tableau I. Teneur en phylloquinone de quelques aliments (Adapté de [14]).

Aliments	Portion	Phylloquinone (µg)
Légumes verts		
Épinards, bouillis, égouttés	125 ml	469
Bette à carde, crue	250 ml	316
Laitue frisée, crue	250 ml	103
Laitue Iceberg, crue	250 ml	18
Persil séché	15 ml	18
Autres légumes		
Carotte, crue, tranchée	250 ml	17
Chou rouge, cru	250 ml	36
Fruits		
Avocat, toutes variétés, cru	½ fruit	21
Kiwi, cru	1 fruit moyen	31
Raisins, rouge ou vert, crus	20 fruits	14
Matières grasses		
Huile canola	15 ml	10
Huile de soya	15 ml	25
Huile d'olive	15 ml	8

Les MK se trouvent en plus petites quantités dans les aliments, principalement dans les viandes, les produits laitiers et les produits fermentés. Le nattō, un aliment traditionnel japonais à base de fèves de soya fermentées, constitue l'exception à la règle étant très riche en MK-7 (≈900-1000 µg/100g). Certains fromages contiennent jusqu'à 75 µg/100g de MK. De plus, la ménadione ajoutée dans la nourriture des animaux d'élevage aux États-Unis et au Canada contribuerait au contenu en MK-4 des viandes [11]. Toutefois, les concentrations les plus

élevées de MK-4 se trouvent dans les reins, le cerveau et le pancréas, des organes généralement peu consommés [6]. Par ailleurs, des études menées aux Pays-Bas et en Allemagne ont souligné la contribution relativement faible ($\approx 12-25\%$) des MK à l'apport total de vitamine K, du moins dans ces populations [16, 17].

Sources non alimentaires

La capacité du microbiote intestinal humain à synthétiser des MK est connue depuis plusieurs décennies [18], mais l'étendue de sa contribution au statut vitaminique K demeure incertaine [6]. Toutefois, la majorité des MK sont très fortement liées à la membrane des bactéries et se trouvent dans le colon, où la faible concentration de sels biliaires ne favorise pas leur absorption [6]. Ces éléments ne suggèrent pas une contribution importante des MK du microbiote au statut vitaminique K chez les humains.

Contributeurs de l'apport alimentaire de phylloquinone

Les principaux contributeurs (48-80%) de l'apport total de phylloquinone sont les légumes verts [19-25]. Les aliments riches en lipides suivent et représentent 3-34% de l'apport total de phylloquinone [19-26]. Cette grande variabilité s'explique notamment par les définitions utilisées pour ce groupe d'aliments (e.g. incluant ou non les dérivés tels que les vinaigrettes et la mayonnaise) et la difficulté à estimer les matières grasses dans les produits transformés ou au restaurant [21, 22]. Malgré une teneur considérable en phylloquinone, les noix et les légumineuses ne contribuaient que faiblement (0,4-1,3%) à l'apport total de phylloquinone chez 3624 Américains, ces aliments n'étant pas consommés fréquemment [19]. Inversement, d'autres aliments contenant peu de phylloquinone, mais étant consommés plus fréquemment représentent des contributeurs plus importants de l'apport total de phylloquinone : produits céréaliers (2-12%), plats mixtes et desserts (6-21%), viandes, volailles et poissons (3-10%). Les fruits contribuent à $\approx 1-9\%$ de l'apport total de phylloquinone [19-23, 25].

Apports alimentaires de phylloquinone chez les populations en santé

L'apport alimentaire médian de phylloquinone de la population américaine a été estimé à 83 $\mu\text{g}/\text{jour}$ lorsqu'évalué par un rappel alimentaire de 24 heures chez 30 000 individus dans l'enquête nationale NHANES III (*Third National Health and Nutrition Examination Survey*)

menée de 1988 à 1994 [27]. Peu d'études ont caractérisé l'apport alimentaire de phylloquinone des Canadiens. Néanmoins, la moyenne géométrique de l'apport de phylloquinone était de 70 µg/jour dans une étude québécoise menée auprès de 939 aînés en santé ayant complété deux séries de trois rappels alimentaires de 24 heures non consécutifs [28].

La plupart des études rapportent une grande variabilité interindividuelle de l'apport alimentaire de vitamine K. Par exemple, dans une étude menée par Thane *et al.* [29], l'apport de vitamine K variait de 9-585 µg/jour chez 1091 aînés de la Grande-Bretagne. La variabilité intra-individuelle des apports alimentaires de phylloquinone est toutefois encore plus importante, soit de 2,6 à 6,9 fois plus élevée que la variabilité interindividuelle [24, 26, 30]. Ceci est probablement lié au contenu élevé en vitamine K de certains aliments consommés épisodiquement, tels que les légumes verts feuillus [30].

Besoins nutritionnels en vitamine K

Les apports nutritionnels de référence (ANREF) pour la vitamine K par l'*Institute of Medicine* datent de 2001. Étant donné le caractère incomplet des données entourant les rôles physiologiques de la vitamine K autres que celui bien établi dans la coagulation sanguine, un apport suffisant (AS) plutôt qu'un apport nutritionnel recommandé (ANR), a été établi pour la vitamine K. Cet AS est basé sur l'apport alimentaire médian de phylloquinone des individus en bonne santé apparente de l'enquête NHANES III, sauf pour les nourrissons pour lesquels l'AS est dérivé de la teneur en phylloquinone du lait maternel et du volume moyen de consommation [27].

Tableau II. Recommandations d'apports suffisants de vitamine K (µg/jour), en fonction de l'âge et du sexe, chez des populations en santé (Adapté de [27]).

Âge	Femmes	Hommes
0-6 mois	2	2
7-12 mois	2,5	2,5
1-3 ans	30	30
4-8 ans	55	55
9-13 ans	60	60
14-18 ans	75	75
≥19 ans	90	120

Bien que de récentes études suggèrent un rôle bénéfique des MK pour la santé, les données sont actuellement insuffisantes pour établir des recommandations alimentaires spécifiques à ces vitamines [6]. Par ailleurs, en l'absence d'effet toxique connu pour les formes naturelles de la vitamine K, aucun apport maximal tolérable (AMT) n'a été fixé pour ce nutriment [27].

Supplémentation en vitamine K chez les adultes en santé

Au Canada, l'ajout de vitamine K (phylloquinone et MK) dans les suppléments ou produits de santé naturels en vente libre est autorisé depuis 2005 [31]. Actuellement, on en retrouve à raison d'environ 20 à 120 µg/comprimé dans certains suppléments vitaminiques, surtout des multivitamines visant la santé osseuse, la santé cardiovasculaire ou la santé des personnes de 50 ans et plus [32-34]. Bien que ne reflétant pas nécessairement le contexte canadien actuel, deux études de l'Europe de l'Ouest ont suggéré que la prise de supplément ne contribuait que très faiblement ($\leq 1\%$) à l'apport total de vitamine K [23, 29].

Métabolisme

Absorption et biodisponibilité

L'absorption intestinale de la vitamine K suit un processus similaire à celui des autres vitamines liposolubles, et nécessite la présence de sels biliaires et de sucs pancréatiques [8]. Il est suggéré que l'absorption des MK suit le même processus que celle de la phylloquinone [6, 8] néanmoins, très peu d'études se sont penchées sur le métabolisme des MK.

La biodisponibilité de la phylloquinone sous forme libre a été estimée à $\approx 80\%$ chez les individus sains [35]. Toutefois, ce taux diminue drastiquement lorsque la phylloquinone est consommée sous forme alimentaire. En effet, telle que calculée par l'aire sous la courbe de la phylloquinone plasmatique, la biodisponibilité de la phylloquinone provenant de l'épinard a été estimée à seulement 4-17% de la biodisponibilité de la même quantité de phylloquinone consommée sous forme de supplément [36, 37]. Cette faible biodisponibilité s'expliquerait par la forte liaison de la phylloquinone à la membrane thylakoïde des chloroplastes dans les végétaux [38], où elle joue un rôle d'accepteur d'électron dans la photosynthèse. En marge de l'effet de la matrice végétale, la biodisponibilité de la vitamine K serait également influencée par sa solubilisation

dans une fraction lipidique. Les études ayant examiné cette question sont limitées par leur nombre et présentent une faible puissance statistique. Néanmoins, malgré la grande variabilité dans les estimations, les résultats convergent vers une meilleure biodisponibilité de la vitamine K en présence de lipides alimentaires [36, 38, 39]. Par exemple, dans une étude métabolique menée auprès de cinq individus sains, la biodisponibilité relative de la phylloquinone contenue dans l'épinard triplait lorsque celui-ci était consommé avec du beurre plutôt que nature [36].

Transport

La phylloquinone absorbée est émulsifiée par les sels biliaires dans la lumière intestinale et incorporée dans des micelles. Il est suggéré que la phylloquinone contenue dans les micelles intègre les entérocytes à l'aide de transporteurs protéiques [40]. Une diffusion passive, à des doses pharmacologiques, n'est également pas exclue [41]. La phylloquinone est ensuite incorporée dans les chylomicrons naissants. Ceux-ci quittent les entérocytes vers les capillaires lymphatiques, puis accèdent à la circulation sanguine par le canal thoracique. Sous l'action de la lipoprotéine lipase dans les capillaires sanguins, les chylomicrons sont transformés en particules plus petites, les résidus de chylomicrons. La majorité de la phylloquinone est transportée au foie. En facilitant la liaison des résidus de chylomicrons aux récepteurs des lipoprotéines, l'apolipoprotéine E (ApoE) permet leur internalisation dans les hépatocytes, à l'intérieur desquels la phylloquinone peut ensuite être extraite [8]. Contrairement aux autres vitamines liposolubles, la vitamine K ne possède pas de transporteur spécifique. La majorité de la phylloquinone circulante (53-89%) est transportée par les lipoprotéines riches en triglycérides, et $\approx 10-20\%$ est transportée par les lipoprotéines de faible densité (LDL) et les lipoprotéines de haute densité (HDL) [1, 42-44]. La phylloquinone plasmatique est un biomarqueur fréquemment utilisé comme indicateur du statut vitaminique K. Des valeurs de référence pour la phylloquinone plasmatique chez l'adulte en santé ont été établies à 0,29-2,64 nmol/L par Sadowski *et al.* [45]. L'équivalent pour les différentes MK n'est actuellement pas disponible, celles-ci étant généralement présentes en quantités indétectables dans le sang [8].

Stockage et distribution

La vitamine K est majoritairement entreposée au foie, à $\approx 90\%$ sous forme de MK, principalement les MK-10 et MK-11 [46]. La phylloquinone et des MK se trouvent également dans des tissus extrahépatiques, notamment le cœur, le pancréas, le cerveau, les poumons [47] et les os [5]. Malgré son caractère quasi ubiquitaire, le pool corporel de phylloquinone ne serait que d'environ 100 μg [1]. De plus, le temps de renouvellement (*turnover*) de la phylloquinone serait d'environ 1,5 jour [48].

Catabolisme

La dégradation de la phylloquinone et des MK s'effectue par le clivage de la chaîne latérale polyisoprénylée en deux principaux métabolites d'acide carboxylique, comportant une chaîne latérale de 5 ou 7 carbones. Les études examinant le catabolisme de doses pharmacologiques de phylloquinone chez l'humain ont montré que $\approx 20\%$ de celle-ci est éliminée dans l'urine et 35-50% dans les fèces via la bile [49].

Section II : Hémostase

L'hémostase est le processus biologique permettant d'arrêter un saignement. Celui-ci se décline en trois étapes : le spasme vasculaire, la formation du clou plaquettaire et la coagulation. Les deux premières étapes constituent l'hémostase primaire, et la coagulation, l'hémostase secondaire [50].

Hémostase primaire

Lorsqu'un vaisseau sanguin est lésé, les muscles lisses situés dans les parois de ce vaisseau se contractent rapidement. Ce spasme vasculaire neurogène réduit le saignement pendant plusieurs minutes, permettant aux autres mécanismes hémostatiques d'opérer. Par la suite, les plaquettes sanguines (ou thrombocytes) adhèrent au tissu sous-endothélial mis à nu par la brèche vasculaire. L'adhésion enclenche l'activation puis l'agrégation plaquettaire, menant éventuellement à la formation d'un clou plaquettaire. Ce dernier empêche la perte de sang des petits vaisseaux sanguins, mais demeure fragile. L'agrégation plaquettaire fournit également la surface phospholipidique nécessaire à l'activation des facteurs de coagulation [50, 51].

Hémostase secondaire

La coagulation permet de solidifier le clou plaquettaire par une séquence complexe de réactions en cascade menant à la formation d'un thrombus (Figure 2), lequel est formé d'un agrégat plaquettaire, de fibrine et de globules rouges. Les facteurs de coagulation sont désignés par des chiffres romains qui indiquent l'ordre de leur découverte, mais présentent plusieurs appellations (Tableau III). Généralement, la lettre « a » suivant le chiffre romain est utilisée pour indiquer l'activation biologique du facteur de coagulation. Les facteurs de coagulation sont majoritairement des proenzymes synthétisées par le foie circulant sous forme inactive [50]. La conception classique de la coagulation est divisée en deux voies, intrinsèque et extrinsèque, interconnectées à plusieurs niveaux et convergeant vers l'activation du facteur X. La séquence des réactions subséquentes menant à la formation de fibrine est identique pour les deux voies qui deviennent alors la « voie commune ».

La voie extrinsèque s'active quelques secondes suivant un trauma, par le contact du facteur tissulaire (TF; *tissue factor*) avec le sang. Le TF est formé de lipoprotéines et de phospholipides, et est exprimé par des cellules situées à l'extérieur des vaisseaux sanguins [50]. En présence de Ca^{2+} , le TF et le facteur VII forment un complexe catalytique activé (TF-VIIa), permettant l'activation du facteur X [52]. Contrairement à la voie extrinsèque, l'activation de la voie intrinsèque requiert plusieurs minutes et résulte de lésions à l'intérieur des vaisseaux sanguins [50]. Au contact d'une surface chargée négativement, telle que la membrane des plaquettes activées, le facteur XII s'active, entraînant l'activation successive des facteurs XI, IX [52] et VIII [53]. L'association des facteurs VIIIa et IXa, de Ca^{2+} et de phospholipides, forme un complexe ténase, permettant l'activation du facteur X [52].

La voie commune débute lorsque le facteur Xa se combine au facteur Va, en présence de Ca^{2+} et de phospholipides, pour former le complexe prothrombinase. Ce complexe enzymatique permet la conversion de la prothrombine (facteur II) en thrombine (facteur IIa). La thrombine augmente sa propre production par la catalyse de l'activation des facteurs V, VIII et XI [51, 52]. Le mécanisme de l'activation initiale du facteur V permettant la formation du complexe prothrombinase (et donc la génération de la thrombine) est source de questionnements dans la communauté scientifique. Néanmoins, une équipe a récemment suggéré une activation rapide

du facteur V par le facteur Xa, permettant de générer de façon directe des traces de thrombine, menant à la formation du complexe prothrombinase, lequel génère par la suite une quantité beaucoup plus importante de thrombine [54]. La thrombine est une enzyme qui convertit le fibrinogène soluble (facteur I) en monomères de fibrine insoluble (facteur Ia), une protéine dont les filaments emprisonnent les cellules sanguines. La thrombine active aussi le facteur XIII, permettant la stabilisation du caillot. Le caillot se rétracte ensuite pour refermer la lésion vasculaire. Les fibroblastes produisent du tissu conjonctif au siège de la lésion et de nouvelles cellules endothéliales finalisent la réparation permanente du vaisseau sanguin [50, 51].

Tableau III. Les facteurs de coagulation (Adapté de [50] et [55]).

Facteur	Dénomination	Voie d'activation^a	Origine	Fonction générale
I	Fibrinogène	C	Foie	Est converti en fibrine
II	Prothrombine	C	Foie	Est converti en thrombine
III	Facteur tissulaire ou thromboplastine tissulaire	E	Tissus endommagés et plaquettes	Initie la voie extrinsèque; Est cofacteur de l'activation du facteur VII
IV	Ions calcium (Ca ²⁺)	C,E,I	Diète, os, plaquettes	Permet la liaison des facteurs de coagulation aux membranes phospholipidiques
V	Proaccélélerine ou facteur labile	E,I	Foie et plaquettes	Forme la prothrombinase avec le facteur X
VII	Proconvertine ou facteur stable	E	Foie	Permet d'initier la voie extrinsèque avec le facteur III
VIII	Facteur antihémophilique A	I	Foie	Forme le complexe ténase avec le facteur IX
IX	Facteur antihémophilique B ou facteur Christmas	I	Foie	Forme le complexe ténase avec le facteur VIII
X	Thrombokinasé ou facteur Stuart-Power	E,I	Foie	Forme la prothrombinase avec le facteur V
XI	Facteur antihémophilique C ou facteur prothromboplastique plasmatique	I	Foie	Permet l'activation du facteur IX
XII	Facteur antihémophilique D ou facteur Hageman	I	Foie	Permet l'activation du facteur XI et de la prékallitrine
XIII	Facteur de stabilisation de la fibrine	C	Foie et plaquettes	Permet la réticulation de la fibrine

^a C=commune; E=extrinsèque; I=intrinsèque.

Il n'existe pas de facteur VI, bien qu'autrefois ce fût le nom utilisé pour le facteur V activé.

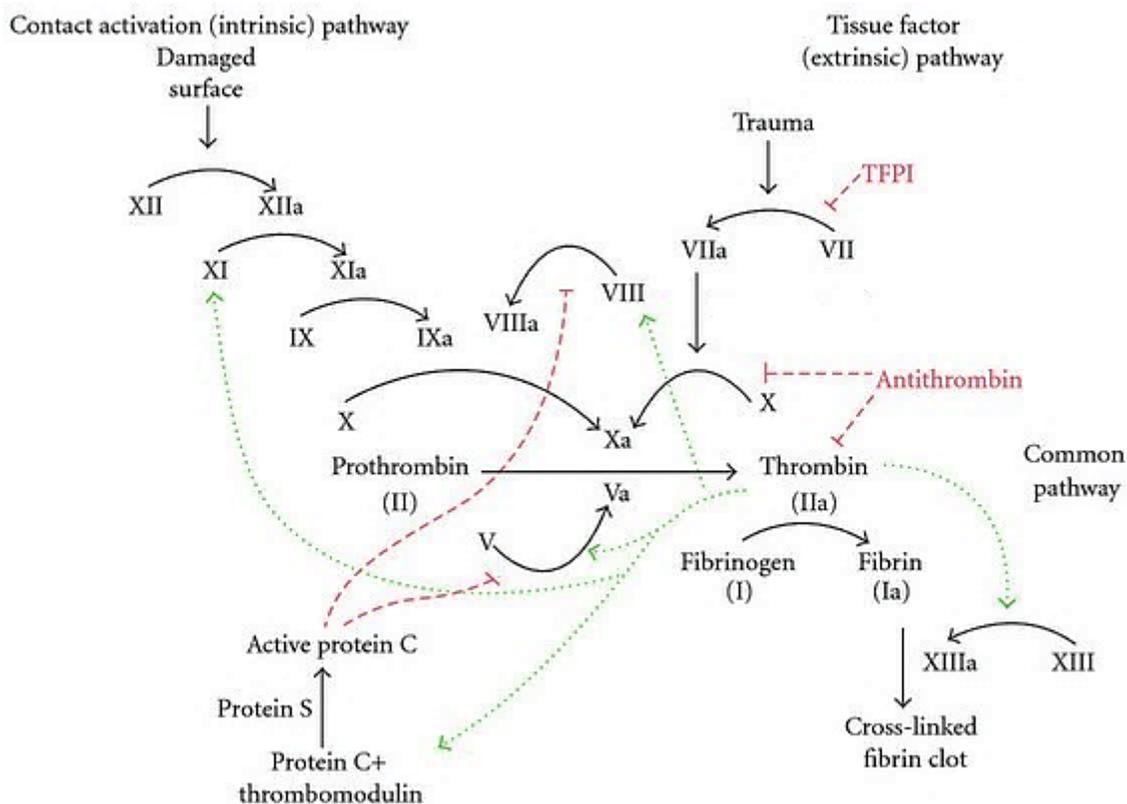


Figure 2. Schéma simplifié de la cascade de la coagulation sanguine (Adapté de [56]).

Régulation de l'hémostase

La régulation de l'hémostase s'effectue par plusieurs mécanismes dont l'inhibiteur de la voie d'activation du TF (TFPI; *tissue factor pathway inhibitor*) qui inhibe le complexe TF-VIIa et le facteur Xa [57]. L'antithrombine joue également un rôle anticoagulant important en inhibant l'activité de la thrombine et du facteur Xa et, dans une moindre mesure, celle des facteurs IXa et XIIa. De plus, lors de la formation du caillot sanguin, la thrombine se lie à la thrombomoduline, un récepteur membranaire situé sur la surface endothéliale, ce qui active la protéine C. La protéine C activée inhibe l'activation des facteurs V et VIII en présence de son cofacteur, la protéine S, ce qui entraîne une rétroaction négative de la coagulation. Enfin, la fibrinolyse est un mécanisme majeur impliqué dans l'aboutissement du processus de réparation de la brèche tissulaire en permettant de dissoudre le caillot de fibrine au moment opportun, et de favoriser la revascularisation au siège de la réparation tissulaire [50, 51, 57].

Il est à noter qu'une nouvelle conception de la coagulation apparaît dans la littérature, en réponse aux limites du modèle traditionnel à expliquer certains aspects de la coagulation *in vivo*. Ce modèle (« *cell-based model* ») est principalement centré sur l'interaction entre les protéines de coagulation et les surfaces cellulaires des plaquettes, des cellules endothéliales et des cellules sous-endothéliales, et se décline en trois [58] ou quatre phases [52]. Toutefois, les dissemblances entre la théorie classique et la théorie cellulaire ne modifient pas la conception actuelle du rôle de la vitamine K dans la coagulation.

Rôle physiologique de la vitamine K dans la coagulation

La vitamine K occupe une place majeure dans le processus de la coagulation, étant essentielle à l'activation de sept facteurs de coagulation, précisément les facteurs II, VII, IX et X, ainsi que les protéines C, S et Z. L'activation biologique de ces facteurs se réalise par une réaction permettant la conversion de leurs résidus d'acide glutamique (Glu) en résidus d'acide γ -carboxyglutamique (Gla). Cette réaction de γ -carboxylation est catalysée par l'enzyme microsomale γ -glutamyl carboxylase (GGCX) (Figure 3). La forme réduite de la vitamine K, l'hydroquinone, est le cofacteur de cette réaction, qui nécessite aussi la présence d'oxygène et de dioxyde de carbone. La γ -carboxylation produit une forme oxydée de la vitamine K, la vitamine K 2,3-époxyde, qui peut être recyclée en quinone (forme neutre), puis en hydroquinone, suivant deux réactions successives catalysées par l'enzyme vitamine K époxyde réductase (VKOR). La quinone réductase hépatique est une autre enzyme qui permet la conversion de la quinone en hydroquinone dans une réaction nécessitant l'oxydation de la NADPH. La quinone réductase ne peut toutefois pas réduire la vitamine K 2,3-époxyde en quinone.

Les protéines de coagulation dépendantes de la vitamine K contiennent de 9 à 13 résidus Gla, qui leur confèrent des charges négatives. L'affinité des protéines pour les ions Ca^{2+} est alors accrue, leur permettant de se lier aux surfaces phospholipidiques, telles que les membranes des plaquettes situées au site d'une brèche vasculaire.

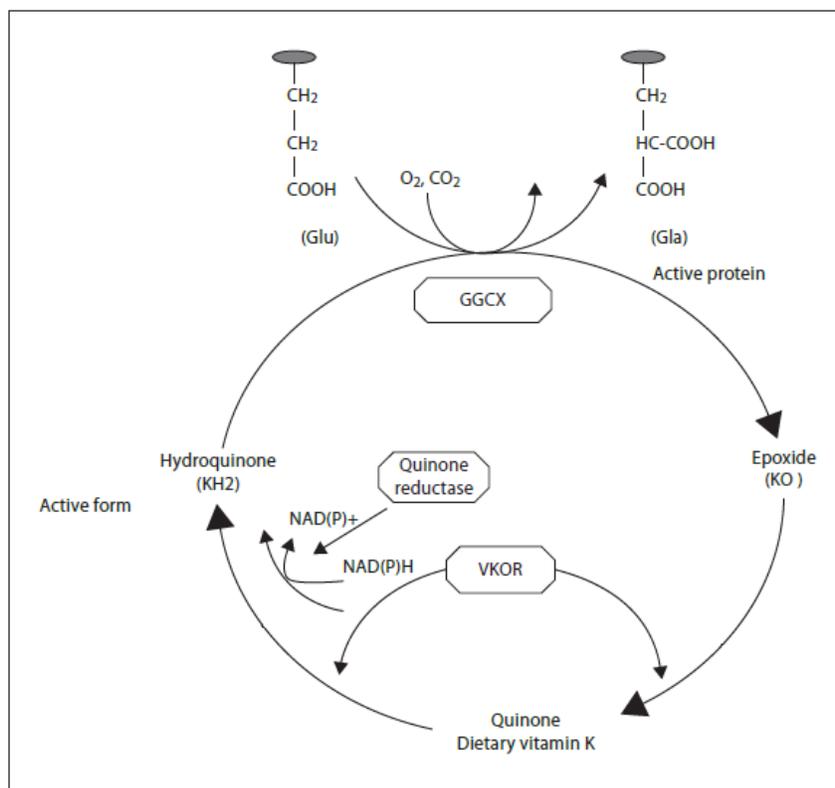


Figure 3. Cycle de la vitamine K. GGCCX, γ -glutamyl carboxylase; VKOR, vitamine K époxyde réductase; Glu, résidu glutamate; Gla, résidu de carboxyglutamate (Adapté de [9]).

En absence de vitamine K ou en présence d'antagonistes de la vitamine K, l'hydroquinone n'est pas disponible en quantité suffisante ce qui entraîne une γ -carboxylation incomplète des protéines. Celles-ci sont alors sécrétées dans le sang sous forme sous-carboxylée et dénommées PIVKA (*protein induced by vitamin K absence or vitamin K antagonist*). Ces PIVKA présentent des lacunes fonctionnelles, mais peuvent être utilisées pour évaluer le statut vitaminique K [1].

Carence en vitamine K

La coagulopathie par carence en vitamine K est très rare dans la population générale [1]. En effet, les besoins en vitamine K pour le maintien de la coagulation sont très faibles suggérant une utilisation préférentielle de la vitamine K pour cette fonction essentielle à la survie [59]. Par ailleurs, la mesure du temps de coagulation ne constitue pas un indicateur sensible du statut vitaminique K [60]. En effet, des apports aussi faibles que 10 $\mu\text{g}/\text{jour}$ de vitamine K durant

plusieurs semaines n'ont pas mené à un allongement du temps de coagulation chez des individus en santé [61].

Certaines populations spécifiques sont toutefois à risque de carence en vitamine K. L'exemple classique de carence en vitamine K chez l'humain est le syndrome hémorragique du nouveau-né. La présentation clinique de ce syndrome inclut des ecchymoses et/ou des saignements de nez, du nombril, des intestins ou des sites de ponctions veineuses. Certains cas plus graves se manifestent par des hémorragies intracrâniennes. Le faible transfert placentaire de vitamine K, de même que la faible teneur en vitamine K du lait maternel et l'immaturation hépatique des nouveau-nés limitant la synthèse des facteurs de la coagulation sont des éléments contribuant à ce syndrome [5]. Conséquemment, la supplémentation systématique des nouveau-nés en vitamine K par une dose intramusculaire de 0,5-1 mg de phylloquinone dans les six premières heures de vie est recommandée la Société canadienne de pédiatrie [62].

La carence en vitamine K est également observée chez des adultes présentant des syndromes de malabsorption et d'autres désordres digestifs, incluant la fibrose kystique, la maladie de Crohn, la maladie cœliaque et la colite ulcéreuse [63-65]. La supplémentation en phylloquinone est indiquée en traitement de la carence [66], et en prévention chez certains groupes à risque [65].

Section III : Warfarine sodique

La warfarine a été découverte au début des années 1920, alors qu'une maladie hémorragique mystérieuse affecte le bétail des prairies américaines et canadiennes. L'origine de cette affection sera attribuée à la consommation de mélilot avarié (*sweet clover disease*). C'est en 1939, parallèlement à la découverte de la vitamine K, que le Dr Karl Paul Link réussit à identifier l'agent responsable de la maladie hémorragique, le dicoumarol (3,3'-méthyl-bis-4-hydroxycoumarine). Dans les années subséquentes, une centaine de composés dérivés du dicoumarol furent synthétisés dans son laboratoire de l'Université du Wisconsin. Le composé no. 42 (3-phenylacetyl ethyl, 4-hydroxycoumarine), plus puissant que le dicoumarol, fût commercialisé en tant que raticide dès la fin des années 1940 sous le nom de « warfarine » (Figure 4) [67].

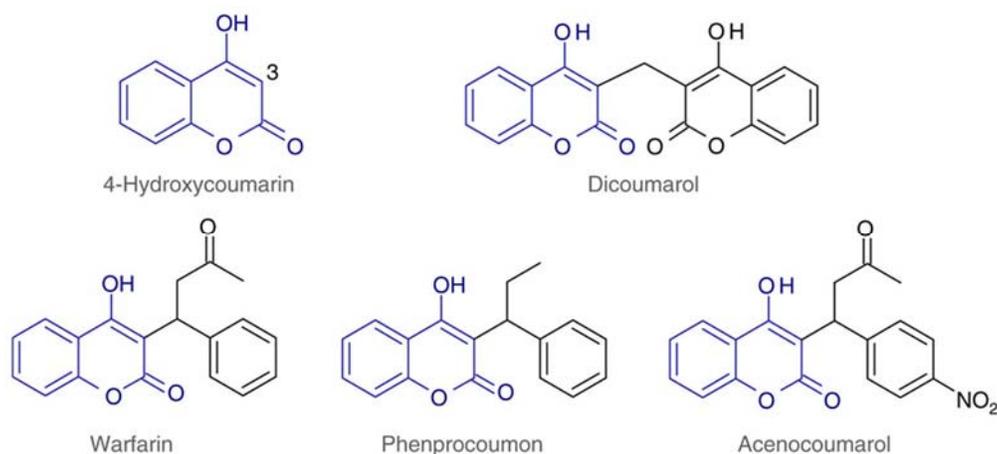


Figure 4. Structures moléculaires de dérivés coumariniques (Tiré de [68]).

Le potentiel thérapeutique du dicoumarol dans l'infarctus du myocarde chez l'humain sera évoqué dès 1946 [69], mais suscite un intérêt mitigé alors que le rôle de la thrombose dans cette condition médicale est controversé. La warfarine est commercialisée plus tard en 1954 sous le nom de Coumadin® [70]. Elle demeure encore largement utilisée 60 ans plus tard. En effet, le Coumadin® était l'un des 25 médicaments les plus prescrits au Canada en 2013 et fait l'objet de plus de 30 millions de prescriptions pharmaceutiques annuellement aux États-Unis [71]. La warfarine fait partie d'une classe plus large d'anticoagulants, les antagonistes de la vitamine K (AVK). L'acénocoumarol est un autre dérivé du dicoumarol également homologué au Canada comme anticoagulant (Tableau IV). L'usage des différents types d'AVK varie d'un pays à l'autre et le choix est principalement basé sur des considérations historiques [72].

Tableau IV. Dérivés coumariniques homologués au Canada (Adapté de [73]).

Substances actives	Marques de commerce	Fabricants
Acenocoumarol	Sintrom®	Paladin labs inc.
Warfarine sodique	Coumadin® Apo-warfarin® Mylan-warfarin® Novo-warfarin® Taro-warfarin®	Bristol-Myers Squibb Canada Apotex incorporated Mylan pharmaceuticals ulc Novapharm limited Taro pharmaceuticals inc.

Pharmacocinétique et pharmacodynamique

La warfarine se présente sous forme de comprimés oraux dont la prise est quotidienne. Les préparations disponibles consistent en un mélange racémique des énantiomères S et R.

Absorption et biodisponibilité

La warfarine est absorbée rapidement via l'estomac et l'intestin grêle avec une biodisponibilité quasi complète. La concentration plasmatique maximale de warfarine est généralement atteinte dans les 4 heures suivant sa prise orale. La présence d'aliments dans l'estomac n'altère pas la biodisponibilité de la warfarine, mais peut en diminuer la vitesse d'absorption [74, 75].

Transport et distribution

La warfarine circulante est presque entièrement (>98%) liée aux protéines plasmatiques, principalement l'albumine. L'action anticoagulante est dépendante de la fraction libre de la warfarine en circulation. Son volume de distribution est faible (0,15 L/kg) et similaire pour les deux énantiomères [74, 76]. La warfarine se distribue dans le foie, les poumons, les reins et la rate. Elle traverse également le placenta et n'est pas indiquée durant la grossesse étant donné ses effets tératogènes [75].

Métabolisme et élimination

La warfarine est principalement métabolisée par des enzymes hépatiques en métabolites hydroxylés inactifs. Une voie secondaire réduit la warfarine en alcools de warfarine, lesquels ont une activité anticoagulante minimale [75]. Les métabolites de la warfarine sont excrétés dans l'urine ($\approx 80\%$) et les fèces ($\approx 20\%$). Plusieurs enzymes du cytochrome P-450 sont impliquées dans le métabolisme de ce médicament. La S-warfarine est principalement métabolisée par l'enzyme CYP2C9 ($\approx 90\%$) et, dans une moindre mesure par CYP3A4, tandis que la R-warfarine est principalement métabolisée par CYP1A2 et CYP3A4 et, dans une moindre mesure, par CYP2C19 [77]. L'effet anticoagulant de la warfarine survient ≈ 24 heures suivant sa prise orale et l'effet maximal est atteint en 72-96 heures [75]. La S-warfarine possède un effet anticoagulant 2,7 à 3,8 fois plus puissant que la R-warfarine [77]. Toutefois, sa clairance plasmatique est plus rapide (0,10-1,00 L/heure) que celle de la R-warfarine (0,07-0,35 L/heure). La demi-vie de la S-warfarine (24-33 heures) est plus courte que celle de la R-warfarine (35-58 heures) [76].

Mécanisme d'action

Le mode d'action de la warfarine n'a été élucidé qu'au cours des années 1970, soit plusieurs années après sa commercialisation. Comme les autres AVK, la warfarine exerce son effet anticoagulant en inhibant la VKOR. Cette inhibition compétitive est liée à une similarité de structures entre la warfarine et les substrats habituels de la VKOR [78]. L'inhibition de la VKOR entraîne un ralentissement du cycle d'oxydoréduction de la vitamine K, limitant la disponibilité de l'hydroquinone. À des doses thérapeutiques, la warfarine réduit de 10-40% l'activation biologique des protéines de coagulation dépendantes de la vitamine K [5, 74]. Cette déficience fonctionnelle en vitamine K permet d'allonger le temps nécessaire à la formation d'un thrombus. Toutefois la quinone réductase hépatique n'est pas affectée par les AVK, et permet une certaine réduction de la vitamine K en hydroquinone. Cette voie alternative présente l'avantage de pouvoir renverser une surdose de warfarine par l'administration d'une dose pharmacologique de vitamine K couplée à l'arrêt temporaire du traitement [79]. Néanmoins, l'existence de cette voie et l'inhibition incomplète de la VKOR par la warfarine rendent le traitement sensible aux fluctuations de l'apport de vitamine K. Ce sujet sera traité à la Section IV.

Un effet procoagulant est initialement observé suite à la prise de warfarine en conséquence de l'inactivation des protéines C et S, suivi d'un effet anti-thrombotique associé à l'inhibition de la γ -carboxylation des facteurs II, VII, IX et X [77]. En raison de ce phénomène, lorsqu'une anticoagulothérapie rapide est nécessaire, la warfarine est utilisée en combinaison à un autre anticoagulant parentéral, jusqu'à l'atteinte du degré d'anticoagulation désiré [80].

Mesure du degré d'anticoagulation

Le temps de prothrombine consiste à mesurer en laboratoire le temps (en secondes) nécessaire à la recalcification du plasma en présence de thromboplastine, un puissant procoagulant. Le temps de prothrombine était auparavant utilisé pour surveiller le degré d'anticoagulation chez les patients traités aux AVK. Toutefois, son manque de reproductibilité a mené à l'élaboration du Rapport Normalisé International (INR; *International Normalized Ratio*), soit l'expression standardisée du temps de prothrombine corrigée pour les variations liées à l'utilisation de différents réactifs lors des analyses de laboratoire [81]. L'INR est aujourd'hui la mesure la plus

largement utilisée pour le suivi de l'anticoagulothérapie aux AVK. L'INR d'un individu n'étant pas anticoagulé est d'environ 1,0 (0,9-1,1) [82].

Caractéristiques du traitement

Objectifs du traitement

En état d'homéostasie sanguine, un équilibre fin entre la coagulation et la fibrinolyse prévient à la fois la thrombose, soit la formation d'un thrombus dans l'appareil circulatoire, et l'hémorragie. Toutefois, un déséquilibre en faveur de la coagulation exprimé par des mécanismes procoagulants dominants et/ou des mécanismes anticoagulants déficients favorise la thrombose [83]. Chez les patients à risque, l'intérêt du traitement anticoagulant est de prévenir la formation de thrombus, favoriser la stabilisation ou la lyse endogène d'un thrombus existant et réduire le risque de thrombose récurrente [84].

Indications cliniques

La warfarine est utilisée en prévention primaire et secondaire de la thrombose veineuse et de son aggravation, l'embolie pulmonaire, ainsi que des complications thromboemboliques associées à la fibrillation auriculaire [70]. La fibrillation auriculaire est la forme d'arythmie cardiaque la plus répandue et l'une des indications les plus communes de la warfarine. On estime qu'un quart des individus âgés de plus de 40 ans développeront cette arythmie au cours de leur vie [85]. Cette condition favorise la formation de thrombus dans l'oreillette gauche et est associée de façon indépendante à un risque près de cinq fois plus élevé d'accident vasculaire cérébral (AVC) comparativement à celui d'une population ne présentant pas de maladies cardiovasculaires [86]. La warfarine est également indiquée chez les patients atteints de certains types de pathologies des valves cardiaques, et chez les patients porteurs de valves cardiaques artificielles mécaniques [87]. Ces dernières représentent un corps étranger et favorisent la formation de thrombus à leur surface. Les bioprothèses cardiaques sont moins thrombogéniques que les valves mécaniques, mais peuvent tout de même requérir un traitement aux AVK chez les patients présentant un haut risque thromboembolique [88]. Enfin, la warfarine est indiquée suivant un infarctus du myocarde, dans le but d'en prévenir la récurrence ou d'autres événements thromboemboliques associés à l'infarctus tels que l'AVC et l'embolisation systémique [70].

Intensité du traitement

L'intervalle cible d'INR est déterminé par le médecin traitant et varie selon les indications cliniques. De façon générale, une cible thérapeutique d'intensité modérée (2,0-3,0) est visée lors de fibrillation auriculaire [89], de thrombose veineuse profonde ou d'embolie pulmonaire [90] et chez les porteurs de valves aortiques mécaniques [87], alors que l'intensité de traitement élevée (2,5-3,5) est privilégiée chez les porteurs de valves mitrales mécaniques [87]. Le traitement est généralement chronique chez les patients atteints de fibrillation auriculaire et chez les porteurs de valves cardiaques mécaniques, mais d'une durée plus courte (3 mois) dans les cas de thrombose veineuse profonde et d'embolie pulmonaire [87, 89, 90].

Posologie

L'établissement de la posologie optimale constitue un défi important du traitement à la warfarine. En effet, il existe une très grande variabilité interindividuelle des doses requises pour produire l'effet anticoagulant désiré, lesquelles peuvent varier jusqu'à un facteur de 20 [91]. L'*American College of Chest Physicians* recommande de façon générale une dose d'initiation de 10 mg/jour de warfarine, suivi d'un ajustement selon l'INR obtenu après 2 jours de traitement [79]. Néanmoins, la réponse au traitement est modulée par plusieurs facteurs, dont l'âge, le poids, la taille, l'ethnie, les comorbidités, la co-médication et le tabagisme [92-94]. Étant donné l'étroite interaction métabolique entre la vitamine K et la warfarine, une association positive entre l'apport alimentaire de vitamine K et la dose de warfarine serait attendue. Néanmoins, si une association positive a effectivement été rapportée par certains [95, 96], cette relation était soit absente [97, 98] ou marginale [99-101] dans la plupart des études observationnelles. De plus, la concentration plasmatique de phylloquinone n'était pas associée à la dose de warfarine dans une étude menée chez 73 patients anticoagulés [102]. Toutefois, l'effet de l'apport de vitamine K sur la dose de warfarine semble plus important lors de l'utilisation de supplément, possiblement en raison d'une plus grande biodisponibilité. Ainsi, des augmentations d'environ 16% et 50% de la dose requise de warfarine ont été rapportées suivant une supplémentation de 150 µg/jour et 500 µg/jour de vitamine K, respectivement [103, 104].

Pharmacogénétique et dose de warfarine

La pharmacogénétique est la discipline qui étudie l'influence des variations génétiques sur la réponse aux médicaments. L'ADN (acide désoxyribonucléique) de deux individus non apparentés étant identique à environ 99% [105], les variations génétiques sont somme toute relativement rares dans le génome humain. Le type de variation le plus fréquent est le polymorphisme de nucléotide simple (SNP; *single nucleotide polymorphism*), qui constitue une variation dans la séquence d'ADN localisée sur une seule paire de bases d'un gène [106] (Figure 5). La plupart des SNP possèdent deux allèles [106], soit deux formes alternatives d'un gène, situées à la même position de chromosomes homologues et codant pour le même caractère [50]. Si la majorité des SNP ont peu d'impacts biologiques, certains entraînent par la substitution d'un acide aminé une modification de la fonction de la protéine codée par le gène [106], pouvant modifier le risque de développer une maladie ou la réponse à un traitement.

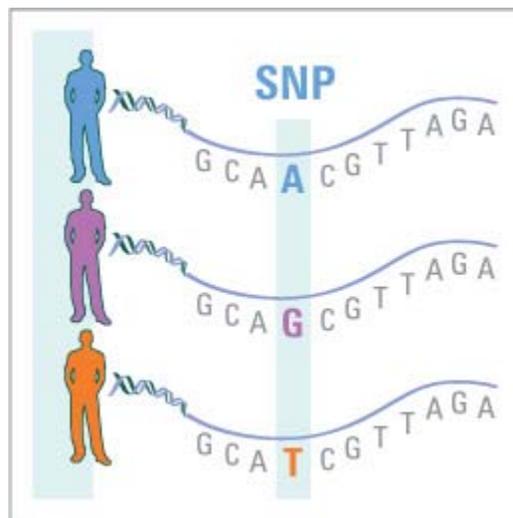


Figure 5. Un SNP (*single nucleotide polymorphism*) est une variation génétique localisée sur une seule paire de base d'un gène (Tiré de [107]).

Les efforts de recherche des 15 dernières années ont permis d'identifier que des SNP situés sur les gènes *CYP2C9* et *VKORC1* expliquent une part importante, soit environ 10-18% et 15-25% de la variabilité interindividuelle de la dose requise de warfarine, respectivement [92, 93, 108, 109]. Le gène *CYP2C9*, situé sur le chromosome 10, code pour l'enzyme du même nom

participant de façon importante au métabolisme de la warfarine, alors que le gène *VKORC1*, situé sur le chromosome 16, code pour la sous-unité complexe 1 de l'enzyme VKOR.

Deux polymorphismes fréquents du gène *CYP2C9*, communément dénommés *CYP2C9*2* (rs1799853) et *CYP2C9*3* (rs1057910), sont connus pour altérer la pharmacocinétique de la S-warfarine en réduisant sa clairance [92, 110]. Ainsi, en comparaison d'individus homozygotes pour l'allèle sauvage (*CYP2C9*1*1*), les individus hétérozygotes (*CYP2C9*1*2*, *CYP2C9*1*3*, *CYP2C9*2*3*) ou homozygotes (*CYP2C9*2*2*, *CYP2C9*3*3*) pour les allèles mutants présentent une plus grande sensibilité à la warfarine et requièrent de plus faibles doses pour atteindre l'INR thérapeutique. Les patients présentant le génotype *CYP2C9*3*3* sont ceux qui requièrent la plus faible dose de warfarine, soit en moyenne 78% (72-84%) inférieure à celle des patients présentant le génotype *CYP2C9*1*1* [111].

De même, des polymorphismes de *VKORC1* influencent la pharmacodynamique de la warfarine. En effet, les niveaux hépatiques d'acide ribonucléique messager de *VKORC1* varient selon le génotype de ce gène [108], ce qui influencerait la concentration tissulaire de VKOR, et ainsi son degré d'inhibition par la warfarine. Cet effet se traduit cliniquement par une modification des besoins en warfarine pour obtenir le même degré d'anticoagulation. Par exemple, chaque copie de l'allèle mineur (A) du SNP rs9923231 a été associée à une réduction de 28% (IC95% : 25-30%) de la dose thérapeutique de warfarine [93]. Le SNP rs9934438 en déséquilibre de liaison quasi complet (i.e. corrélé à près de 100%) avec le SNP fonctionnel rs9923231 a également été associé similairement à la dose thérapeutique de warfarine [112].

Ces découvertes prometteuses ont encouragé le développement de multiples algorithmes de prédiction de la dose de warfarine. La plupart des algorithmes combinant divers déterminants cliniques et génétiques permettent d'expliquer ≈50 à 60% de la variabilité interindividuelle de la dose de warfarine [113]. La fréquence des polymorphismes de *CYP2C9* et *VKORC1* varie selon les groupes ethniques et expliquerait, au moins en partie, les différences interethniques dans les besoins en warfarine [113, 114]. Chez les caucasiens, la fréquence de *CYP2C9*2* et de *CYP2C9*3* est d'environ 8-19% et 6-10%, respectivement [93, 115], et celle de l'allèle mineur du SNP rs9923231 (et rs9934438) est d'environ 37-39% [93, 116].

Bénéfices cliniques

L'efficacité de l'anticoagulothérapie aux AVK dans la prévention et le traitement des troubles thromboemboliques est largement reconnue. Des études randomisées contrôlées ont clairement montré l'effet bénéfique des AVK dans la fibrillation auriculaire, avec une réduction d'environ 60% du risque d'AVC comparativement à l'absence de traitement, et de 30-50% en comparaison avec un traitement à l'acide acétylsalicylique [117-120]. De même, selon une méta-analyse, le risque d'embolisme majeur était quatre fois moindre lors d'anticoagulothérapie aux AVK comparativement à l'absence d'anticoagulation, et près de deux fois moindre comparativement au traitement antiplaquettaire seul chez des patients porteurs de valves cardiaques mécaniques [121].

Risques associés au traitement

Bien que hautement efficace, le traitement anticoagulant à la warfarine n'est pas sans risques. En effet, la warfarine comptait pour 17% des visites à l'urgence pour des effets indésirables médicamenteux chez les Américains de ≥ 65 ans en 2004 et 2005 [122]. L'effet indésirable le plus redouté est sans équivoque l'hémorragie. Le taux d'incidence annuelle de saignement majeur chez les patients anticoagulés à la warfarine atteindrait jusqu'à 16% et celui de saignement fatal, jusqu'à 3% [123, 124]. Plusieurs facteurs ont été associés à un risque accru de saignement, notamment la période d'initiation du traitement, l'histoire de saignement (en particulier gastro-intestinal), certaines comorbidités, l'abus d'alcool et l'utilisation concomitante d'antiplaquettaires [77, 125]. Tel que souligné par Ageno *et al.*, bien que l'effet de l'âge sur le risque global de saignement lors de l'anticoagulothérapie demeure controversé, la majorité des études pointent vers un risque accru d'hémorragie intracrânienne avec l'âge [77]. Par ailleurs, une récente méta-analyse a montré un risque hémorragique accru chez les patients anticoagulés à la warfarine porteurs des variantes génétiques de *CYP2C9*, en particulier de l'allèle *CYP2C9*3*, comparativement aux porteurs de l'allèle sauvage [126]. L'intensité du traitement demeure toutefois le facteur de risque le plus important de saignement [77]. Les INR élevés, en particulier $>5,0$, ont été associés à une forte augmentation du risque de saignement, jusqu'à >20 fois supérieur à celui observé lorsque l'INR est compris entre 2,0 et 3,0 [127].

Inversement, le risque de thrombose est accru lorsque l'INR est trop bas. Selon une méta-analyse impliquant 80 713 patients sous anticoagulothérapie orale, le risque thromboembolique absolu était de 2,6% par année (IC95% : 1,8-3,6%) lorsque l'INR était compris entre 2,0 et 3,0, et de 9,0% par année (IC95% : 6,1-13,4%) lorsque l'INR était <2,0 [127]. D'autres complications graves ont également été associées à l'utilisation de la warfarine, dont la nécrose tissulaire et le syndrome des orteils pourpres. Celles-ci sont toutefois rares et surviennent dans les premières semaines suivant l'initiation du traitement [75]. Ainsi, le principal défi du traitement chronique à la warfarine consiste à conserver l'équilibre entre la réduction des risques thrombotiques et hémorragiques.

Section IV : Stabilité du traitement à la warfarine

Afin de réduire les risques de complications cliniques reliées à l'anticoagulothérapie à la warfarine, l'objectif médical est de maintenir l'INR à l'intérieur de l'étroite fenêtre thérapeutique au fil du temps (Figure 6). Néanmoins, malgré un suivi soutenu, les méta-analyses indiquent la stabilité à long terme est atteinte en moyenne $\leq 60\%$ du temps [128-130].

Mesure de la stabilité du traitement

Rosendaal *et al.* ont proposé en 1993 une méthode pour déterminer l'intensité thérapeutique optimale du traitement [131]. Celle-ci permet d'estimer, par interpolation linéaire entre les valeurs consécutives d'INR, la proportion de temps où les INR d'un individu demeurent dans la fenêtre thérapeutique (TTR; *time in therapeutic range*). Le TTR est la mesure de la stabilité la plus largement reconnue et la plus fréquemment utilisée dans la littérature scientifique, notamment car elle présente l'avantage d'avoir été validée en fonction de paramètres cliniques. Le TTR est plus fréquemment exprimé en tant que variable continue (%), mais peut aussi être catégorisé. Bien qu'il n'y ait pas de consensus sur la définition d'un contrôle stable de l'INR, certains ont suggéré des valeurs seuil de TTR variant de 60-75% [132-134].

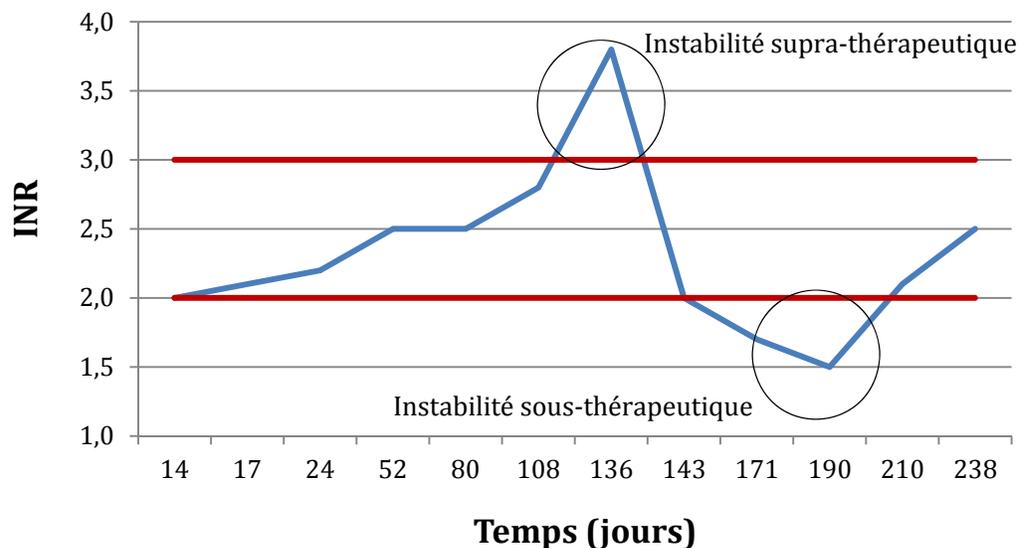


Figure 6. Exemple d'instabilité de l'anticoagulothérapie à la warfarine au cours du temps. Dans cet exemple, la cible thérapeutique d'INR est de 2,0-3,0.

Conséquences de l'instabilité

Complications cliniques

Le faible taux de succès à atteindre la stabilité des INR constitue un problème clinique important, l'instabilité supra-thérapeutique étant associée à un risque hémorragique accru, alors que l'instabilité sous-thérapeutique est associée à un risque accru de thrombose. La forte association entre le TTR et le risque de complications cliniques a été observée dans plusieurs populations présentant diverses intensités de traitement [133, 135, 136]. Le contrôle sous-optimal de l'anticoagulothérapie est également un prédicteur important de mortalité globale et de mortalité associée aux complications reliées à l'anticoagulothérapie [133, 137, 138].

Efficacité du traitement

En marge de son effet néfaste sur la sécurité du traitement, l'instabilité des INR est associée à une diminution de l'efficacité du traitement. En effet, dans une étude menée auprès de 526 centres médicaux dans 15 pays, la supériorité du traitement à la warfarine dans la prévention des événements vasculaires en comparaison à un traitement antiplaquettaire combinant du clopidogrel et de l'acide acétylsalicylique était perdue lorsque le TTR était <65%, chez des patients atteints de fibrillation auriculaire [139].

Sous-utilisation de la warfarine

Malgré l'évidence appuyant son efficacité à prévenir la thrombose chez les patients à risque, la warfarine demeure largement sous-utilisée. En effet, environ 35-50% des patients atteints de fibrillation auriculaire éligibles à l'anticoagulothérapie orale ne recevraient pas le traitement [129, 140-143]. La difficulté à maintenir l'INR dans la fenêtre thérapeutique, la complexité de la surveillance du traitement, de même que la surévaluation du risque hémorragique en comparaison avec le risque thrombotique ont été évoqués comme barrières à l'utilisation de la warfarine [142, 144-147]. Certains ont suggéré que la peur du saignement iatrogène incite les cliniciens à maintenir volontairement les INR de certains patients en deçà des cibles thérapeutiques recommandées par les grandes associations médicales [142, 148]. Or, en plus de ne pas réduire le risque de saignement [77], cette stratégie accentue les risques de thrombose, dont les conséquences sur la vie et la morbidité sont graves [149].

Suivi de l'INR

Le suivi conventionnel du traitement à la warfarine est exigeant, et nécessite que les patients se déplacent dans une clinique pour un prélèvement sanguin, puis rencontrent un clinicien qui modifie ou reconduit la dose de warfarine selon le résultat de l'INR. Au Québec, l'initiation du traitement à la warfarine est commandée par le médecin. Le suivi des INR en milieu ambulatoire peut être effectué par les médecins, les pharmaciens, les infirmiers et les technologues médicaux. Les lignes directrices du *Collège des médecins du Québec* et de l'*Ordre des pharmaciens du Québec* sur l'anticoagulothérapie en milieu ambulatoire établissent la fréquence des suivis à quatre semaines pour les patients stables et à six semaines pour les patients très stables [150]. La fréquence des suivis pour les patients instables varie selon l'INR obtenu (un jour à quatre semaines)[150]. En plus d'un suivi d'INR plus serré [151, 152], les patients instables requièrent un plus grand nombre de changements de doses que les patients stables [152, 153].

En somme, les évidences scientifiques actuelles soulignent le caractère fondamental de la stabilité du traitement à la warfarine en regard de sa sécurité et de son efficacité. En plus d'affecter l'espérance et la qualité de vie des patients, l'instabilité peut engendrer des

conséquences économiques importantes reliées à une fréquence accrue des suivis et aux complications cliniques [154].

Prédicteurs non alimentaires de la stabilité

Type de suivi médical

Des différences quant à la qualité des suivis effectués en soins communautaires et dans les cliniques d'anticoagulothérapie spécialisées ont été observées de façon constante dans plusieurs études. Sur la base de deux méta-analyses, le TTR de patients suivis en clinique d'anticoagulothérapie est en moyenne de 12 à 13 points de pourcentage supérieur à celui des patients en suivi communautaire [128, 129], ce qui en fait l'un des prédicteurs les plus importants de la stabilité.

Phase du traitement

Les risques de complications cliniques sont plus élevés durant la phase d'initiation du traitement [125]. Cette phase est généralement définie selon une durée (e.g. 6 premiers mois de traitement) ou l'atteinte d'une dose de maintien de warfarine (e.g. 3 INR thérapeutiques à la même dose) [155, 156]. Si une hospitalisation récente jumelée à des changements de l'état de santé et de la médication peuvent expliquer l'augmentation du risque de complications en début de traitement, plusieurs études ont aussi montré une instabilité plus importante des INR en début de traitement que dans les mois subséquents [132, 133, 155, 157-159]. Par exemple, dans une étude menée auprès de 124 619 Américains anticoagulés à la warfarine, le TTR moyen était de 48% durant les 6 premiers mois du traitement et de 61% durant les mois suivants [155].

Observance au traitement

La non-observance à la prise des comprimés de warfarine est répandue et constitue une étiologie importante d'instabilité chez les patients anticoagulés [152, 160]. L'oubli ou l'omission volontaire de doses de warfarine peut engendrer des INR sous-thérapeutiques, et ainsi augmenter le risque thrombotique. Lorsque non divulguées au professionnel traitant, les doses omises peuvent aussi mener à une sur-anticoagulation par une augmentation des doses prescrites. Les individus plus éduqués et les travailleurs actifs, de même que les individus présentant des facultés cognitives affaiblies sont les plus susceptibles d'être non adhérents aux

doses de warfarine [161]. La non-observance au traitement peut également s'exprimer par un manque d'assiduité aux visites de contrôle de l'INR, affectant la qualité du suivi [162].

Facteurs sociodémographiques

L'âge avancé a été associé à une meilleure stabilité du traitement [137, 151, 163, 164]. Certains ont suggéré une observance au traitement moindre chez les plus jeunes [151, 164], pouvant s'expliquer, en partie, par la difficulté à concilier les exigences du travail et les suivis médicaux fréquents [155]. Bon nombre d'études ont également montré que les femmes présentent une stabilité du traitement inférieure à celle des hommes [132, 151, 155, 158, 163-165], une différence qui demeure toutefois mal expliquée. De plus, la stabilité du traitement est généralement supérieure chez les caucasiens que chez les non caucasiens [164, 166]. Certains ont suggéré que cette différence pouvait être attribuable à des facteurs génétiques [164], mais cette hypothèse ne fait pas l'unanimité [166]. Un accès plus difficile aux services de soins de santé ainsi qu'une plus faible observance au traitement ont également été évoqués comme causes potentielles de ces disparités [143].

Facteurs génétiques

Bien que les polymorphismes des gènes *CYP2C9* et *VKORC1* soient des prédicteurs reconnus de la variabilité interindividuelle de la dose de warfarine, leur influence sur la stabilité du traitement est moins bien caractérisée. En effet, si certaines études ont suggéré une influence du génotype de *CYP2C9* et/ou *VKORC1* sur la stabilité du traitement aux AVK [167-169], d'autres n'ont pas confirmé ces résultats [96, 152, 162, 165, 170-172]. D'autre part, selon une récente méta-analyse, l'utilisation d'algorithmes pharmacogénétiques pour déterminer la dose d'initiation de warfarine améliorerait le TTR comparativement à l'utilisation d'une dose de départ fixe (8,86%; IC95% : 4,27-13,44%), mais pas comparativement à l'utilisation d'algorithmes basés sur des données cliniques (0,95%; IC95% : -3,52-1,63%) [173].

Comorbidités

Plusieurs comorbidités ont été associées à un contrôle sous-optimal du traitement, notamment l'insuffisance cardiaque [137, 151, 163, 165], le diabète [137, 163], l'épilepsie, le cancer, l'insuffisance rénale chronique, les maladies hépatiques chroniques et les maladies mentales

[155]. De plus, dans une étude de Rose *et al.*, le nombre d'hospitalisations constituait un facteur prédictif indépendant de la stabilité, même après un ajustement pour un large éventail de comorbidités et malgré l'exclusion des INR réalisés durant l'hospitalisation du calcul du TTR [155].

Co-médication

La co-médication a été associée à la fois à une meilleure et à une moins bonne stabilité du traitement. Par exemple, l'usage de bêtabloquants et de verapamil serait favorable au contrôle de l'INR tandis que la prise d'amiodarone y serait défavorable [164]. De plus, dans une étude menée auprès de 124 619 patients anticoagulés à la warfarine, la prise d'un nombre élevé de médicaments (≥ 16) était associée à une diminution de 4-5 points de pourcentage du TTR comparativement à une consommation faible ou modérée de médicaments (≤ 7) [155]. De multiples antibiotiques, l'acétaminophène, l'acide acétylsalicylique, certains agents hypolipémiants ainsi que plusieurs autres médicaments sont aussi connus pour interagir avec la warfarine [174, 175].

Plusieurs autres facteurs ont été associés à la stabilité du traitement, dont l'intensité du traitement [137, 151], les désordres gastro-intestinaux [152], le statut socio-économique [155], le tabagisme [164] et la fonction rénale [165]. L'alimentation, et en particulier l'apport alimentaire de vitamine K, est également un facteur important de la stabilité.

Prédicteurs alimentaires de la stabilité

Vitamine K

La pertinence clinique de l'interaction entre la vitamine K et la warfarine a été relevée dès 1965 [176]. Puis, durant les années 1980-1990, plusieurs rapports de cas ont relié l'augmentation de l'apport de vitamine K à une résistance à la warfarine [177-184]. L'augmentation de l'apport de vitamine K était le plus souvent attribuable à la consommation de suppléments nutritionnels ou à une augmentation drastique de la consommation de légumes. Par exemple, Walker *et al.* ont décrit le cas d'une jeune femme traitée à la warfarine ayant subi un infarctus du myocarde suite à l'initiation d'une diète riche en légumes verts visant une perte pondérale [184]. Inversement,

des cas d'INR supra-thérapeutiques [181] et de saignement [185] ont été rapportés suivant une réduction de l'apport de vitamine K chez des patients anticoagulés aux AVK. Ces rapports de cas étaient toutefois anecdotiques et présentaient des failles méthodologiques limitant leur interprétation clinique. Néanmoins, en raison de son caractère modifiable, l'apport de vitamine K a ensuite fait l'objet d'un grand nombre d'études visant à mieux caractériser son rôle dans l'anticoagulothérapie.

Relation entre le statut vitaminique K et le degré d'anticoagulation

L'effet de la variation de l'apport alimentaire de vitamine K sur l'INR a été constaté dans le cadre de plusieurs études observationnelles [97, 175, 185-187]. Par exemple, dans une étude menée par Khan *et al.* [97], une augmentation de 100 µg/jour de l'apport de vitamine K était associée à une diminution de 0,2 point de l'INR. Par ailleurs, bien que cette association n'ait pas été reproduite dans une étude menée auprès de 40 nouveaux utilisateurs de warfarine [188], la présence d'une association significative entre la concentration plasmatique de phylloquinone et la variation de l'INR suggérait une évaluation imprécise de l'apport alimentaire de vitamine K. L'association inverse entre la concentration plasmatique de phylloquinone et l'INR a été observée par d'autres groupes de recherche [102, 187].

La relation inverse entre l'apport de vitamine K et le degré d'anticoagulation a également été confirmée dans plusieurs études d'intervention [185, 189-192]. Par exemple, une diminution de 80% de l'apport de vitamine K a été associée à une augmentation de 0,7 point d'INR après 7 jours ($p < 0,01$), et une augmentation de 500% de l'apport de vitamine K, à une diminution de 0,3 point d'INR après 4 jours ($p = 0,04$) chez 12 individus [185]. Dans une autre étude, l'administration de fortes doses de phylloquinone (1000-1200 µg/jour) sous forme de suppléments ou d'aliments influençait significativement le degré d'anticoagulation, un effet qui perdurait plusieurs jours après le retour à l'alimentation habituelle [192]. L'effet était beaucoup plus marqué lors de la prise de suppléments que d'aliments, vraisemblablement en raison de la plus grande biodisponibilité de la vitamine K sous cette forme et d'une possible surestimation de l'apport alimentaire de vitamine K [192]. De plus, dans une démarche systématique visant à caractériser la relation dose-réponse entre la supplémentation en phylloquinone et l'INR, Schurgers *et al.* ont montré que le seuil à partir duquel l'INR chutait significativement était de

150 µg/jour [189]. Toutefois, une très grande variabilité interindividuelle dans la réponse à la supplémentation en phylloquinone était notée, un changement significatif de l'INR étant observé à 100 µg/jour chez un patient sur 12 et à seulement 500 µg/jour chez deux patients. Enfin, l'effet des MK sur l'INR est peu connu, mais certains travaux suggèrent qu'à dose égale l'effet de la MK-7 serait plus important que celui de la phylloquinone [193, 194], possiblement en raison de sa plus longue demi-vie.

Recommandation nutritionnelle officielle

Sur la base de ces études, le maintien d'apports quotidiens stables de vitamine K dans le cadre d'une alimentation équilibrée constitue la principale recommandation nutritionnelle pour les patients anticoagulés aux AVK [75, 195-197]. Cette recommandation est appuyée par une étude de cohorte prospective récente où un apport de vitamine K stable était un prédicteur indépendant d'un TTR $\geq 66\%$ [132]. De plus, deux études ont testé l'efficacité d'une intervention visant à stabiliser l'apport de vitamine K pour améliorer le contrôle de l'anticoagulothérapie aux AVK [190, 198]. La première a été menée en 1993 auprès de patients dont le traitement était jugé instable. Le pourcentage d'INR dans l'intervalle thérapeutique était significativement plus élevé chez les 10 patients assignés à l'intervention nutritionnelle visant à stabiliser l'apport de vitamine K (20-40 µg/jour), comparativement aux 10 patients du groupe contrôle (84% vs 53%; $p < 0,001$). Toutefois, selon les auteurs, la stabilité de l'apport était probablement plus importante que la quantité minimale de vitamine K utilisée dans cette intervention. L'autre étude d'intervention a été menée auprès de 132 patients anticoagulés aux AVK présentant un INR extrathérapeutique. Ceux-ci étaient assignés aléatoirement à la gestion conventionnelle du traitement par ajustement de la dose de l'AVK (groupe contrôle) ou à une intervention nutritionnelle (groupe d'intervention). L'intervention nutritionnelle visait à diminuer de 50% la fréquence de consommation hebdomadaire d'aliments riches en vitamine K chez les patients sous-anticoagulés, et à la doubler chez les patients supra-anticoagulés. Après 90 jours, le TTR des patients du groupe d'intervention était de 12 points de pourcentage supérieur à celui des patients du groupe contrôle ($p = 0,04$). La fréquence de saignements ou le recours à la vitamine K sous forme parentérale tendait également à être moindre dans le groupe d'intervention que dans le groupe contrôle ($p = 0,06$). Selon les auteurs, la stabilisation du traitement anticoagulant

par une intervention alimentaire modulant l'apport de vitamine K était donc faisable, sécuritaire et efficace.

Pratique nutritionnelle actuelle

Malgré les résultats positifs des études d'intervention, plusieurs auteurs ont souligné la difficulté à enseigner et à mettre en application la stabilisation de l'apport alimentaire de vitamine K, même chez les individus les plus motivés [97, 103, 199-201]. En effet, la phylloquinone est présente à diverses concentrations dans plusieurs aliments, et la stabilisation des apports demande une connaissance approfondie des sources et de la teneur en vitamine K des aliments. De plus, peu d'études ont proposé des outils pour stabiliser l'apport alimentaire de vitamine K. Certains ont suggéré un menu standardisé [202], ou des méthodes permettant de classer plus simplement les aliments selon leur teneur en vitamine K [203, 204], mais le coût-efficacité et la validité externe de ces outils sont incertains.

Dans le contexte clinique, les patients anticoagulés aux AVK seraient plutôt fréquemment conseillés de limiter leur consommation d'aliments riches en vitamine K, plus spécifiquement les légumes verts, selon plusieurs auteurs [205-214]. De plus, deux études ont montré une concentration plasmatique de phylloquinone inférieure à la normale, chez au moins une certaine proportion de patients anticoagulés [215, 216], résultant potentiellement d'une restriction alimentaire excessive en vitamine K. Peu d'études ont rapporté les recommandations alimentaires reçues par les patients ou leurs perceptions relatives à l'alimentation dans le cadre de l'anticoagulothérapie aux AVK en Amérique du Nord [28, 217, 218]. Néanmoins, celles-ci suggèrent une lacune dans les connaissances des patients et/ou une inadéquation avec la recommandation nutritionnelle officielle. Par ailleurs, aucune étude publiée à ce jour n'a examiné si les patients conseillés de limiter leur consommation d'aliments riches en vitamine K adhèrent à cette recommandation, et si cela entraîne réellement de faibles apports alimentaires de vitamine K. Or, cette question de recherche est pertinente pour la pratique clinique. En effet, un statut appauvri en vitamine K a été associé à une plus grande sensibilité à la warfarine [95, 188], laquelle a été associée à une augmentation du risque hémorragique [219]. L'influence d'une variation, même faible, de l'apport de vitamine K sur la stabilité du traitement serait également amplifiée chez les patients présentant un faible statut vitaminique K [199, 208]. Par

exemple, l'administration d'un supplément contenant aussi peu que 25 µg de vitamine K a mené à des INR sous-thérapeutiques chez des sujets anticoagulés à la warfarine dont le statut vitaminique K était faible, mais pas chez ceux dont le statut était normal [208]. De plus, une série d'études plus récentes suggèrent une meilleure stabilité de l'anticoagulothérapie chez les patients présentant des apports élevés de vitamine K, indépendamment de la variabilité des apports [72].

Effet de l'apport de vitamine K sur la stabilité à long terme du traitement

La première étude ayant examiné la relation entre l'apport de vitamine K et la stabilité à plus long terme du traitement à la warfarine a été publiée en 2005 [220]. La stabilité des INR était évaluée sur une période de 6 mois. Malgré la petite taille d'échantillon (n=52), les résultats indiquaient qu'après un appariement pour l'âge, le sexe et l'indication principale de traitement, les patients présentant un contrôle instable de l'anticoagulothérapie avaient des apports alimentaires de vitamine K significativement plus faibles que ceux présentant un contrôle stable (29±17 µg/jour vs 76±40 µg/jour). De même, dans une étude rétrospective menée en Corée du Sud auprès de 66 patients anticoagulés à la warfarine, ceux dont les apports de vitamine K étaient élevés (>196 µg/jour) présentaient une moins grande variabilité intra-individuelle annuelle des INR que ceux dont les apports étaient jugés faibles (<127 µg/jour) [200]. Récemment, dans une étude menée par notre groupe auprès de 147 patients âgés anticoagulés à la warfarine, une augmentation d'un logarithme de l'apport alimentaire de vitamine K était associée à une augmentation d'environ 11 points de pourcentage du TTR et à une diminution de près de 4 visites de contrôle de l'INR sur une période d'un an [221]. De même, un apport alimentaire de vitamine K >200 µg/jour a été associé à une augmentation de 5,6 points de pourcentage du TTR sur une période de 10-15 mois chez 226 patients traités à l'acénocoumarol [96]. Enfin, comparativement aux patients dont l'apport alimentaire habituel de vitamine K était ≈100-300 µg/jour, ceux dont les apports étaient <100 µg/jour et >300 µg/jour tendaient à présenter un risque accru (HR[IC95%] : 1,33[0,79-2,25]) et un risque inférieur (HR[IC95%] : 0,80[0,56-1,16]) d'INR sous-thérapeutique, respectivement, dans une étude de cohorte prospective incluant 840 patients anticoagulés à la warfarine des Pays-Bas dont le traitement était jugé stable [199]. Enfin, la fréquence de suivi des INR de patients présentant une concentration plasmatique élevée de phylloquinone était significativement moindre que celle de

patients ayant une concentration plasmatique faible de phylloquinone (7,5 tests/an vs 9,5 tests/an; $p=0,029$) dans une étude récente [216]. Le coefficient de variation des INR était également inférieur chez les patients présentant un statut vitaminique K élevé, mais cette différence n'atteignait pas le seuil de signification statistique ($p=0,168$).

Bien que la majorité des études observationnelles menées à ce jour suggèrent une association positive entre l'apport alimentaire de vitamine K et la stabilité du traitement, un groupe a observé une association nulle [152]. De plus, dans une étude prospective menée durant 90 jours auprès de 132 patients anticoagulés aux AVK, les patients jugés stables présentaient un « score d'apport de vitamine K » significativement inférieur à ceux jugés instables [222]. Les auteurs ont conclu que la stabilité du traitement pouvait être atteinte par des apports relativement faibles de vitamine K. Néanmoins, l'évaluation alimentaire ne permettait pas de quantifier l'apport de vitamine K et les patients faisaient partie d'une étude d'intervention visant à moduler l'apport alimentaire de vitamine K, ce qui constitue une lacune importante de cette étude [190]. Par ailleurs, dans la seule étude examinant spécifiquement la phase d'initiation du traitement, un apport modéré de vitamine K (2^e quartile : 55 µg/jour), plutôt qu'un apport élevé était associé à un meilleur TTR [156]. Cette relation en « U » inversé entre l'apport de vitamine K et la stabilité des INR contraste avec la relation logarithmique observée dans d'autres études [200, 221], mais pourrait suggérer une modulation de l'effet de l'apport de vitamine K sur la stabilité du traitement selon les phases du traitement.

En marge des études observationnelles, la plupart des études de supplémentation convergent vers un effet bénéfique d'un apport élevé de vitamine K sur la stabilité du traitement [103, 104, 162, 171, 223-225]. En effet, l'administration d'un supplément de 100 µg/jour de vitamine K durant 24 semaines a mené à une probabilité près de deux fois plus élevée de maintenir 100% des INR dans l'intervalle cible comparativement à un placebo (RR[IC95%] : 1,8[1,1-2,7]) dans une étude randomisée à double insu menée auprès de 189 patients anticoagulés [223]. De plus, la supplémentation en phylloquinone à raison de 150 µg/jour durant 6 mois a permis d'augmenter le TTR de 13 points de pourcentage chez 35 patients instables en comparaison à un groupe similaire ayant reçu un placebo [103]. Récemment, Majeed *et al.* ont montré une diminution de la variabilité des INR suivant une supplémentation en phylloquinone (200

µg/jour) durant 6 mois comparativement à l'administration d'un placebo, néanmoins cet effet n'a pas entraîné une augmentation nette du TTR [162]. En effet, le TTR a augmenté considérablement (≈ 9 points de pourcentage) dans les deux groupes de patients (intervention et placebo). Une possible amélioration de l'observance a été évoquée par les auteurs pour expliquer ce résultat. Par ailleurs, une analyse rétrospective de huit patients anticoagulés présentant des fluctuations d'INR inexplicables a montré une diminution significative de la variabilité des INR suivant une supplémentation de 100-200 µg/jour de vitamine K [225]. La réponse à la supplémentation était toutefois variable, avec un quart des patients n'ayant pas répondu à la dose de 100 µg/jour. Cette variabilité interindividuelle dans la réponse à la supplémentation en vitamine K a également été observée dans une autre étude où l'administration de 500 µg/jour de vitamine K durant 8 semaines a permis de diminuer la variabilité des INR chez 5 de 9 patients instables anticoagulés à la warfarine [104]. Une augmentation de 25 points de pourcentage du TTR a aussi été observée dans une étude combinant l'autocontrôle du traitement et une supplémentation en vitamine K à raison de 100 µg/jour durant un an [171]. Néanmoins, la combinaison des deux interventions ne permettait pas de mesurer l'ampleur du changement induit par la supplémentation en vitamine K. De plus, les analyses de laboratoire ont indiqué que le contenu en vitamine K des suppléments utilisés dans cette étude était variable et inférieur (34-76%) à la dose prévue, ce qui pourrait même constituer un facteur d'instabilité du traitement. Enfin, dans le seul essai randomisé contrôlé mené spécifiquement durant la phase d'initiation du traitement, l'effet d'une supplémentation de phylloquinone (100-200 µg/jour) d'une durée de 6-12 mois sur la stabilité du traitement était statistiquement significatif, mais modeste [224].

Principales limites des études actuelles

Bien que la majorité des études convergent vers un effet bénéfique de la vitamine K sur la stabilité du traitement, l'augmentation de l'apport alimentaire de vitamine K chez les patients anticoagulés aux AVK ne fait pas l'objet d'une recommandation officielle. De plus, les plus récentes recommandations émises par l'*American College of Chest Physicians* n'appuient pas la supplémentation de routine en vitamine K chez les patients anticoagulés aux AVK [79]. Une stratégie nutritionnelle visant l'augmentation des apports de vitamine K apparaît d'une part contre-intuitive considérant les effets antagonistes de la vitamine K et des AVK. D'autre part, les mécanismes biologiques expliquant l'effet bénéfique d'un apport élevé de vitamine K sur la

stabilité des INR demeurent hypothétiques. La plupart des études observationnelles publiées sont également limitées par des petites tailles d'échantillon et des faiblesses méthodologiques en regard de l'évaluation de l'apport alimentaire de vitamine K, notamment l'usage de questionnaires de fréquence alimentaire (QFA) non validés. De plus, les méthodes utilisées pour estimer la stabilité de l'anticoagulothérapie étaient variables, et plusieurs n'étaient pas validées sur la base d'issues cliniques, limitant l'interprétation clinique des résultats (Tableau V). Les études d'intervention actuelles présentent aussi plusieurs limites, dont des variations importantes dans la dose de supplémentation, l'absence d'évaluation de l'apport alimentaire de vitamine K et des risques de biais incertains ou sérieux [201, 226] (Tableau VI). De plus, celles présentant les plus grandes tailles d'échantillon [223, 224] montraient des effets modestes sur la stabilité du traitement. Néanmoins, le TTR particulièrement élevé des participants dans les groupes contrôle et/ou avant l'intervention ($\approx 80-85\%$) pourrait avoir amenuisé l'ampleur de l'effet de la supplémentation en vitamine K sur la stabilité des INR. Cette stabilité élevée observée dans plusieurs études d'intervention pourrait être attribuable à des biais de sélection et de participation, aux cibles thérapeutiques plus larges utilisées aux Pays-Bas [223, 224] et au fait que les patients provenaient généralement de cliniques d'anticoagulothérapie spécialisées plutôt que du milieu communautaire [201, 226-228]. En marge de ces limites, la grande variabilité interindividuelle observée dans le succès de la supplémentation en vitamine K sur la stabilité du traitement est un facteur limitant l'interprétation des résultats. Celle-ci pourrait être expliquée par la stabilité des INR et l'apport de vitamine K avant l'intervention [221], et par d'autres facteurs interindividuels. Dans ce contexte, certains auteurs suggèrent que les patients anticoagulés devraient viser un apport alimentaire de vitamine K adéquat ou suffisant [199, 202, 205]. Sur la base des recommandations actuelles de l'*Institute of Medicine*, l'AS pour la vitamine K est de 90 $\mu\text{g}/\text{jour}$ pour les femmes et de 120 $\mu\text{g}/\text{jour}$ pour les hommes de 19 ans et plus [27].

Tableau V. Résumé des modalités d'évaluation de l'apport alimentaire de vitamine K et de la stabilité du traitement dans des études observationnelles menées chez des patients adultes anticoagulés aux antagonistes de la vitamine K.

Références	n	Identification des patients instables	Mesures de la stabilité du traitement	Évaluation de l'apport alimentaire de vitamine K	Association ^a
Sconce, 2005 [220]	52	Écart-type des INR >0,5 et ≥3 changements de doses de warfarine durant 6 mois	Catégorisation des patients : stables vs instables	Journal alimentaire x 14 jours, aliments pesés	Positive, significative
Cavallari, 2009 [152]	86	%INR extrathérapeutiques > médiane (>44% chez les Afro-Américains et >42% chez les caucasiens)	Catégorisation des patients : stables vs instables	QFA semi-quantitatif	Négative, non-significative
Rombouts, 2010 [199]	840	<4 INR consécutifs dans l'intervalle thérapeutique	Risque d'INR sous-thérapeutique (<2,0 ou <2,5)	QFA semi-quantitatif pour l'étude de cohorte Rappel de 48h pour l'étude cas-témoins nichée	Positive, non-significative
Kim, 2010 [200]	66	N/A	Coefficient de variation des INR et des doses de warfarine	Journal alimentaire x 3 jours	Positive, significative
Zuchinali, 2012 [222]	132	Coefficient de variation des INR > 10%	Catégorisation des patients : stables vs instables	QFA semi-quantitatif	Négative, significative
Wolkamin-Bartnik, 2013 [96]	226	N/A	TTR (%)	QFA hebdomadaire	Positive, significative
Li, 2013 [156]	282	TTR < médiane (<82%)	Catégorisation en fonction des quartiles du TTR	Journal alimentaire x 7 jours	En U inversé, significative
Leblanc, 2014 [221]	147	N/A	TTR (%) Nombre d'INR prescrits pour le suivi	QFA semi-quantitatif	Positive, significative

INR : *International Normalized Ratio*; QFA : Questionnaire de fréquence alimentaire; TTR : *time in therapeutic range*; N/A : non applicable.

^a Association entre l'apport de vitamine K et ≥1 des mesures de la stabilité des INR.

Tableau VI. Résumé des modalités d'intervention des études de supplémentation en vitamine K chez des patients adultes anticoagulés aux antagonistes de la vitamine K.

Références	n	Identification des patients instables	Mesures de la stabilité du traitement	Dose de vitamine K (forme)	Durée de l'intervention	Effet observé ^a
Reese, 2005 [225]	8	Basée sur le jugement du médecin traitant	Écart-type des INR Nombre et % d'INR dans la cible thérapeutique	100-200 µg/jour (N/D)	8-72 semaines	Positif, significatif
Ford, 2007 [104]	9	≥3 changements de doses de warfarine ou ≥3 INR extrathérapeutiques durant 6 mois	Écart-type des INR	500 µg/jour (N/D)	8 semaines	Positif (dans un sous-groupe), non-significatif
Rombouts, 2007 [223]	94 (intervention) 95 (placebo)	N/A	TTR (%) TTR=100%	100 µg/jour (N/D)	24 semaines	Positif, significatif
Sconce, 2007 [103]	35 (intervention) 33 (placebo)	Écart-type des INR >0,5 et ≥3 changements de doses de warfarine durant 6 mois	Écart-type des INR TTR (%) Nombres de changements de doses de warfarine	150 µg/jour (phyllloquinone)	6 mois	Positif, significatif
Gebuis, 2011 [224]	278 (intervention) 91 (placebo)	N/A	TTR (%) TTR ≥85% TTR ≥65%	100-200 µg/jour (phyllloquinone)	6-12 mois	Positif, significatif
Bussey, 2013 [171]	55	N/A	TTR (%)	100 µg/jour (N/D)	12 mois	Positif, significatif (2 interventions combinées)
Majeed, 2013 [162]	26 (intervention) 24 (placebo)	≥3 changements de doses de warfarine ou ≥3 INR extrathérapeutiques durant 6 mois	TTR (%) Écart-type des INR Nombre d'INR extrathérapeutiques Nombre de changements de doses de warfarine	200 µg/jour (phyllloquinone)	6 mois	Positif, significatif

INR : *International Normalized Ratio*; TTR : *time in therapeutic range*; N/A : non applicable; N/D : non disponible.

^a Effet de la supplémentation en vitamine K sur ≥1 des mesures de la stabilité des INR.

Influence de VKORC1 sur la relation entre l'apport de vitamine K et la stabilité des INR

De par leur influence sur le degré d'inhibition de la VKOR par les AVK, les polymorphismes de *VKORC1* pourrait expliquer une part de la variabilité interindividuelle de la réponse à la vitamine K observée chez les patients anticoagulés. Les données appuyant une modulation de l'effet de l'apport de vitamine K sur l'INR par le génotype de *VKORC1* se limitent actuellement à deux études. Dans une étude pilote menée auprès de 35 patients, la diminution de l'INR suivant une supplémentation en vitamine K à raison de 150 µg/jour durant une semaine variait significativement selon le génotype de *VKORC1* [78]. En effet, l'INR était diminué de 0,95, 0,88 et 0,18 point chez les patients présentant le génotype GG, AG et AA du SNP rs9923231 de *VKORC1*, respectivement (p=0,045). Une autre étude menée auprès de 33 patients présentant un INR supra-thérapeutique a montré que la diminution de l'INR 3 heures suivant une supplémentation en vitamine K (2,5 à 5,0 mg) était significativement plus importante chez les patients porteurs de l'allèle G de *VKORC1* (rs9923231). Selon ces études, l'allèle G du SNP rs9923231 de *VKORC1*, connu pour être associé à une résistance à la warfarine, était également associé à une plus grande sensibilité à la vitamine K. Cet effet serait attribuable à un recyclage cellulaire plus rapide et plus efficace de la vitamine K, menant à une meilleure régénération de l'hydroquinone, et donc à une plus grande activation des facteurs de coagulation dépendants de la vitamine K.

Bien que fort intéressantes, ces études sont limitées par de faibles tailles d'échantillon et une absence d'ajustement pour des variables confondantes. De plus, la modulation de l'effet de la vitamine K par *VKORC1* était investiguée sur une mesure ponctuelle de l'INR, ce qui ne représente pas nécessairement son effet sur la stabilité à long terme. L'investigation de cette interaction gène-nutriments pourrait notamment permettre de cibler les individus qui bénéficieraient le plus d'une intervention nutritionnelle visant à augmenter l'apport de vitamine K dans le cadre de l'anticoagulothérapie chronique aux AVK.

Autres prédicteurs alimentaires de la stabilité

La vitamine K est le prédicteur alimentaire le plus connu de la stabilité, néanmoins d'autres ont également été rapportés [174]. Par exemple, une publication de Santé Canada avise les patients des effets possibles de l'avocat, du jus de canneberges, du lin, de l'ail, du gingembre, de la

mangue, de l'oignon, de la papaye, du varech et des produits alimentaires contenant des protéines de soya sur la concentration plasmatique de warfarine [229]. Toutefois, ces mises en garde sont majoritairement issues de rapports de cas présentant de nombreuses limites d'interprétation. Dans les cas de l'avocat et du varech, leur teneur en vitamine K est probablement à l'origine de l'interaction rapportée.

Canneberges

Plusieurs rapports de cas font état d'une interaction potentielle entre la canneberge et la warfarine [230]. En 2006, le guide fourni par le fabricant du Coumadin® et approuvé par la *US Food and Drug Administration* recommandait d'éviter la consommation de produits dérivés de la canneberge lors de l'anticoagulothérapie à la warfarine [231], un avertissement qui a depuis été retiré [232]. En effet, considérant l'absence d'effets significatifs dans les études cliniques et la faiblesse des évidences circonstanciées des rapports de cas, une revue systématique de 2010 a conclu que l'interaction entre le jus de canneberges et la warfarine est très peu probable lorsque le volume consommé est ≤ 600 ml/jour [230]. Toutefois, l'effet d'un extrait de canneberge sur la stabilité du traitement pourrait être plus important. Dans une étude menée auprès de 12 hommes en santé, l'effet anticoagulant d'une dose unique de 25 mg de warfarine était augmenté de près de 30% chez ceux consommant des extraits de canneberges comparativement à ceux n'en consommant pas [233]. Dans cette étude, l'interaction entre la canneberge et la warfarine était dépendante du génotype de *VKORC1*, mais les flavonoïdes des canneberges ont aussi été soupçonnés d'altérer la biosynthèse de l'enzyme CYP2C9 [174].

Pomme grenade

Une interaction potentielle entre le jus de pomme grenade et la warfarine a également été soulevée dans deux rapports de cas depuis 2009 [234, 235]. Bien que certaines études fondamentales indiquent que la pomme grenade exerce un effet inhibiteur important sur l'enzyme CYP2C9 [236] et potentiellement sur CYP3A4 [237], aucune étude d'intervention n'appuie actuellement la présence de cette interaction. Le jus de pomme grenade contient toutefois ≈ 25 μ g de vitamine K par portion de 250 ml [13], une quantité possiblement suffisante pour diminuer significativement l'INR d'un individu dont l'apport habituel de vitamine K est faible [208].

Vitamine E

Certains rapports de cas suggèrent que des doses pharmacologiques de vitamine E pourraient nuire à l'action des AVK [238, 239]. Dans une étude de cohorte rétrospective récente, la concentration plasmatique de vitamine E était d'ailleurs associée positivement au risque hémorragique chez 566 patients anticoagulés aux AVK [240]. Cet effet serait attribuable aux propriétés anticoagulantes et antiplaquettaires de la vitamine E [240]. L'utilisation de suppléments de vitamine E pourrait ainsi augmenter le risque d'INR supra-thérapeutique et d'hémorragie chez les patients anticoagulés.

Alcool

L'effet de la consommation d'alcool sur la stabilité du traitement à la warfarine est incertain. La consommation régulière d'alcool [132] et la consommation de ≥ 5 breuvages alcoolisés par semaine [162] ont été associées à l'instabilité du traitement dans certaines études observationnelles. L'abus d'alcool a également été associé à TTR moindre [155] et à une augmentation du risque hémorragique chez des patients anticoagulés à la warfarine [241]. Toutefois, d'autres ont rapporté que la consommation régulière d'alcool (jusqu'à 2 consommations/jour) constituait un facteur de protection contre l'anticoagulation excessive [175]. De plus, les études d'intervention ont montré que la consommation d'alcool, jusqu'à des quantités équivalentes à 1,6 L/jour de vin de table durant 21 jours, n'avait pas d'effet significatif sur le degré d'anticoagulation et la concentration plasmatique de warfarine [191, 242]. Les différents devis d'étude, de même que les diverses méthodes de mesure de la consommation d'alcool et de la stabilité des INR ont sans doute contribué à ces résultats disparates. Somme toute, la potentialisation de l'effet de la warfarine par l'alcool a été jugée hautement probable lors de présence de maladie hépatique concomitante [77, 174]. Les patients anticoagulés à la warfarine sont généralement conseillés d'éviter ou de limiter leur consommation d'alcool [75, 243].

Hypothèses et objectifs

La revue de littérature souligne l'importance de la stabilité des INR pour l'efficacité et la sécurité du traitement à la warfarine, et le rôle de la vitamine K dans l'anticoagulothérapie. Les fluctuations de l'apport de vitamine K ont clairement été associées à l'instabilité des INR, ce qui a mené à la recommandation nutritionnelle officielle actuelle visant la stabilité de l'apport de vitamine K chez les patients anticoagulés aux AVK. En contraste avec cette recommandation, il a été suggéré que les patients sont fréquemment conseillés de restreindre leur consommation d'aliments riches en vitamine K, plus particulièrement les légumes verts. Toutefois, aucune étude publiée à ce jour n'a objectivé l'influence d'une telle recommandation sur les apports alimentaires de vitamine K de patients anticoagulés.

De plus, des études récentes suggèrent une meilleure stabilité du traitement à la warfarine chez les patients présentant des apports habituels élevés de vitamine K, indépendamment de la variabilité des apports. La majorité des études observationnelles actuelles présentent toutefois des limites dans l'évaluation de l'apport alimentaire de vitamine K. De plus, les méthodes utilisées pour évaluer la stabilité des INR n'étaient pas validées sur la base d'issues cliniques dans la plupart d'entre elles, limitant leur interprétation clinique. D'autre part, une grande variation interindividuelle a été observée dans la réponse à l'augmentation de l'apport de vitamine K chez les patients anticoagulés aux AVK, laquelle pourrait entre autres être attribuable à des facteurs génétiques, plus particulièrement aux variantes du gène *VKORC1*.

Hypothèses

- 1) Les patients anticoagulés conseillés de restreindre leur consommation d'aliments riches en vitamine K présentent de faibles apports alimentaires de vitamine K.
- 2) Des apports alimentaires élevés de vitamine K sont associés à une meilleure stabilité de l'anticoagulothérapie aux AVK.
- 3) L'influence de l'apport alimentaire de vitamine K sur la stabilité du traitement varie selon les polymorphismes du gène *VKORC1*.

Objectif 1 :

- 1.1 Décrire les recommandations alimentaires relatives à la vitamine K reçues par les patients au moment de l'initiation du traitement à la warfarine.
- 1.2 Examiner l'adhérence des patients à ces recommandations.
- 1.3 Évaluer si l'apport alimentaire habituel de vitamine K des patients varie en fonction de ces recommandations.

Objectif 2 :

- 2.1 Examiner l'association entre l'apport alimentaire habituel de vitamine K et la stabilité de l'anticoagulothérapie chez des patients anticoagulés à la warfarine.
- 2.2. Évaluer si cette association varie en fonction du génotype de *VKORC1*.

Méthodologie générale

Étude *Quebec Warfarin Cohort Study* (QWCS)

Le présent projet de recherche a été mené au sein de la QWCS, une étude de cohorte prospective dont l'objectif principal est de caractériser les déterminants cliniques et génétiques de l'efficacité et de la sécurité du traitement à la warfarine. Le recrutement des participants à cette étude (n=1069) a débuté en mai 2010 et s'est terminé en juillet 2013. Les patients ont été recrutés dans 17 centres hospitaliers, soit l'Institut de Cardiologie de Montréal, l'Hôpital Général de Montréal, l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont de Montréal, l'Hôpital Général Juif de Montréal, l'Hôpital Royal Victoria de Montréal, le CHUM-Hôtel-Dieu de Montréal, l'Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal, le CSSS de Laval, le CHUQ-Hôtel-Dieu de Québec, le CHUQ-CHUL de Québec, le CHUQ-Hôpital Saint-François d'Assise, l'Institut de Cardiologie et de Pneumologie de Québec, la Clinique de Cardiologie de Lévis, le CHUS-Hôtel-Dieu de Sherbrooke, le Centre hospitalier régional de Trois-Rivières, le CSSS de Chicoutimi et le CSSS du Nord de Lanaudière.

Les patients éligibles étaient des adultes débutant un traitement à la warfarine d'une durée prévue ≥ 12 mois, pour de la fibrillation auriculaire (chronique ou paroxystique), du flutter auriculaire, un remplacement de valve mitrale ou aortique, un AVC thromboembolique, une sténose mitrale ou une embolie artérielle ischémique. Les patients étaient inscrits à la Régie de l'assurance maladie du Québec ou couverts par une assurance médicament privée. De plus, les sujets devaient consentir à fournir l'accès à leurs dossiers médicaux et à donner 10 ml de sang pour le génotypage d'un total de 3100 SNP de 163 gènes, incluant *VKORC1* et *CYP2C9*. Les patients recevant de la warfarine pour une thrombose veineuse profonde, une embolie pulmonaire ou une thrombose ventriculaire gauche isolée, de même que ceux présentant une histoire clinique de saignement important ou une histoire récente (< 3 mois) de saignement gastro-intestinal ou d'AVC hémorragique, une déficience en facteurs de coagulation, une thrombocytopénie chronique, une hémopathie maligne, une cirrhose, une hépatite chronique, un ictère, un déficit cognitif (subjectif), et les patients sous dialyse active (hémodialyse ou dialyse péritonéale) ou prévue dans les 12 mois suivant le recrutement étaient également exclus. Aucun

critère d'exclusion ne ciblait la médication concomitante afin d'assurer la généralisation des résultats de cette étude à la pratique clinique.

Durant la première année de la QWCS, des infirmiers et des assistants de recherche ont conduit cinq entrevues téléphoniques, une au début de l'étude et quatre autres entrevues après 3, 6, 9 et 12 mois de traitement à la warfarine. Ces entrevues ont permis de colliger des données sociodémographiques, anthropométriques et généalogiques, de même que des données sur les antécédents médicaux personnels des participants, les événements thrombotiques et hémorragiques, et l'historique familial de maladies cardiovasculaires. Des informations spécifiques au traitement à la warfarine ont également été colligées, incluant l'indication de traitement, la date d'initiation du traitement, la cible thérapeutique, la dose de warfarine et les interruptions ou cessations de traitement rapportées par les participants (e.g. intervention dentaire, changement ou arrêt d'anticoagulothérapie orale). Les INR ont été recueillis rétrospectivement à partir des bases de données informatisées des sites recruteurs et par des demandes dirigées vers les autres sites de suivi d'INR rapportés par les patients. Les patients ont également été questionnés sur leur niveau d'activité physique, leur consommation de tabac, d'alcool, de drogue, de certains produits de santé naturels (e.g. ginseng, glucosamine, ginkgo biloba) ainsi que de certains médicaments disponibles en vente libre (e.g. acétaminophène, ibuprofène). Des données relatives à la diète ont aussi été colligées rétrospectivement sur trois mois à chaque entrevue téléphonique à l'aide d'un QFA sommaire visant à estimer la qualité de l'alimentation dans le cadre de la prévention des maladies cardiovasculaires. Ce questionnaire ne permettait toutefois pas d'estimer l'apport alimentaire de vitamine K des participants. Les patients seront suivis sur une période totale de 11 ans, incluant la première année de l'étude.

Cette étude a été financée par les Instituts de recherche en santé du Canada et le Centre d'excellence en médecine personnalisée du Québec. Le projet de recherche de la QWCS a été approuvé par les comités d'éthique de tous les sites recruteurs. Le consentement écrit de chaque participant a été obtenu. Le formulaire de consentement contenait également une section spécifique interrogeant l'autorisation de contact pour une participation à des recherches futures.

Étude Vitamine K et Warfarine (VK-WARF)

La présente étude (VK-WARF) est une étude de cohorte rétrospective menée auprès d'un sous-échantillon de participants à l'étude QWCS. Pour être éligibles à la présente étude, les patients devaient avoir accepté d'être recontactés pour d'autres projets de recherche et avoir complété la première année de suivi de l'étude principale QWCS. Cette précaution a été prise afin d'éviter la sursollicitation téléphonique des patients à l'étude principale. De plus, au moment du recrutement, les patients devaient avoir été anticoagulés à la warfarine depuis ≥ 12 mois et présenter une fenêtre cible d'INR de 2,0-3,0 ou 2,5-3,5. Le protocole de cette sous-étude a été approuvé par le comité d'éthique de l'Institut de Cardiologie de Montréal.

De février 2013 à janvier 2014, l'apport alimentaire de vitamine K habituel des participants à la sous-étude (n=317) a été évalué rétrospectivement sur une période de 12 mois à l'aide d'un QFA semi-quantitatif validé [244], administré par un nutritionniste. L'utilisation de suppléments contenant de la vitamine K a également été investiguée. De plus, des questions ouvertes visant à déterminer la nature des recommandations alimentaires reçues par les patients au moment de l'initiation du traitement à la warfarine et la provenance de celles-ci ont été posées. Les patients étaient également interrogés sur leur adhérence à ces recommandations. La stabilité des INR a été évaluée durant la période du 3^e au 12^e mois suivant l'initiation du traitement à la warfarine (phase de post-stabilisation), afin d'exclure l'instabilité typique des INR inhérente à l'initiation du traitement. La stabilité des INR a été mesurée par le TTR, calculé suivant la méthode d'interpolation linéaire décrite par Rosendaal *et al.* [131]. Les valeurs d'INR, de même que les co-variables cliniques et les données issues du génotypage ont été obtenues à partir des bases de données informatisées de la QWCS.

Article 1

« Avoidance of vitamin K-rich foods is common among warfarin users and translates into lower vitamin K intakes »

Par

Cristina Leblanc, Marie-Pierre Dubé, Nancy Presse, Stéphanie Dumas, Mimosa Nguyen,
Étienne Rouleau-Mailloux, Sylvie Perreault et Guylaine Ferland

Article en révision
(novembre 2015)

Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics
Original Research : Brief

CONTRIBUTION DES AUTEURS

Cristina Leblanc a contribué à toutes les étapes du projet. Elle a notamment coordonné le recrutement des patients à l'étude, effectué la collecte des données alimentaires, réalisé les analyses statistiques et rédigé l'article scientifique.

Marie-Pierre Dubé est la chercheuse principale de l'étude QWCS. Elle a supervisé et contribué à toutes les étapes de la présente étude.

Nancy Presse a créé le questionnaire de fréquence alimentaire utilisé dans cette étude. Elle a également participé à la conception de l'étude, à l'analyse et à l'interprétation des données, et à la révision critique de l'article scientifique.

Stéphanie Dumas a participé à la collecte de données de l'étude QWCS et au recrutement des patients de la présente étude. Elle a contribué à la révision critique de l'article scientifique.

Mimosa Nguyen a participé au recrutement des patients de la présente étude et à la saisie des données alimentaires. Elle a contribué à la révision critique de l'article scientifique.

Étienne Rouleau-Mailloux a participé à la collecte de données de l'étude QWCS et au recrutement des patients de la présente étude. Il a contribué à la révision critique de l'article scientifique.

Sylvie Perreault est co-chercheuse de l'étude QWCS. Elle a contribué à la révision critique de l'article scientifique.

Guylaine Ferland a supervisé et contribué à toutes les étapes de la présente étude.

Avoidance of vitamin K-rich foods is common among warfarin users and translates into lower vitamin K intakes

Cristina Leblanc, RD^{1,2,3}; Marie-Pierre Dubé, PhD^{2,3}; Nancy Presse, RD, PhD⁴; Stéphanie Dumas^{2,4}; Mimosa Nguyen^{1,3}; Étienne Rouleau-Mailloux^{2,3}; Sylvie Perreault, BPharm, PhD^{4,5}; Guylaine Ferland, PhD^{1,3,6}

¹Centre de recherche, Institut universitaire de gériatrie de Montréal, QC, Canada ²Centre de pharmacogénomique Beaulieu-Saucier and Institut de Cardiologie de Montréal, QC, Canada ³Faculté de médecine, Université de Montréal, QC, Canada; ⁴Faculté de Pharmacie, Université de Montréal, QC, Canada. ⁵Sanofi Canada Endowment Research Chair in Optimal Drug Use, Université de Montréal, QC, Canada ⁶Centre de recherche, Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal, QC, Canada

Address for correspondence and reprints:

Guylaine Ferland, PhD
Centre de recherche, Institut universitaire de gériatrie de Montréal
4565, Chemin Queen-Mary
Montréal (Québec) H3W 1W5
Tel: (514) 340-2800 ext. 3236 Fax: (514) 340-3530

Word count: 2735 words (text); 297 words (abstract)

Keywords: vitamin K intake, warfarin therapy, dietary recommendations, green vegetables, adherence to dietary recommendations.

ABSTRACT

Background: Warfarin users should aim for stable daily vitamin K intakes. However, some reports mentioned that they are often advised to limit or avoid vitamin K-rich foods instead. Whether this advice actually impacts vitamin K intakes is unknown. **Objectives:** Describe vitamin K-related dietary recommendations that patients recalled receiving at the initiation of warfarin therapy, and examine whether vitamin K intakes vary according to these recommendations. **Design:** A retrospective cohort study conducted with patients enrolled in the Quebec Warfarin Cohort Study. Patients were asked to report any dietary recommendations they had received at warfarin initiation. Usual vitamin K intake was assessed using a validated semi-quantitative food frequency questionnaire. **Participants/setting:** Three hundred seventeen patients aged 36-97 years, who initiated warfarin therapy between 2011 and 2012, and were treated for ≥ 12 months with a target International Normalized Ratio range of 2.0-3.0 or 2.5-3.5. Main indications for warfarin therapy were atrial fibrillation/flutter and cardiac valve replacement. **Statistical analyses performed:** Patients were classified according to vitamin K-related recommendations reported: limit or avoid vitamin K-rich foods; keep stable consumption of vitamin K-rich foods; no vitamin K-related advice. ANCOVA adjusted for covariates was used to compare mean vitamin K intakes between these patients. **Results:** Most patients (68%) reported being advised to limit or avoid vitamin K-rich foods, particularly green vegetables, 10% to keep stable consumption of vitamin K-rich foods, and 22% did not recall receiving any vitamin K-related recommendation. Mean usual vitamin K intake of patients limiting or avoiding vitamin K-rich foods was 35-46% lower than that of other patients ($p < 0.001$), a difference resulting almost entirely (86%) from low consumption of green vegetables. **Conclusions:** Many warfarin users reported avoiding vitamin K-rich foods, particularly green vegetables, which translated into lower vitamin K intakes. Better nutritional education should be provided from healthcare professionals to warfarin users.

INTRODUCTION

Warfarin is an oral anticoagulant widely prescribed in the prevention of thromboembolic conditions, such as atrial fibrillation and deep vein thrombosis.^{1, 2} The safety and efficacy of warfarin therapy highly depend on its stability within a narrow therapeutic range; instability being associated with life-threatening complications.³ A well-established factor underlying warfarin therapy instability is fluctuating vitamin K intakes, an effect resulting from the antagonist relationship between vitamin K intake and clotting time.⁴⁻¹¹

Multiple organizations such as the National Institutes of Health, the American Heart Association and the Government of Canada recommend warfarin-treated patients to maintain stable daily vitamin K intakes.^{2, 12-15} Moreover, the Institute of Medicine has set an adequate intake for vitamin K at 90 and 120 µg/day for women and men of 19 years and older, respectively.¹⁶ However, some reports have mentioned that warfarin-treated patients are often instructed to limit or avoid vitamin K-rich foods, notably green vegetables.^{17, 18} One study from the United-States showed that only ≈30% of the 122 healthcare professionals surveyed reported to never advise patients to avoid vitamin K-rich foods, although all reported instructing patients to maintain consistent vitamin K intakes.¹⁹ Yet, no published studies have examined whether warfarin users being advised to limit their consumption of vitamin K-rich foods actually have low vitamin K intakes. Furthermore, many recent observational²⁰⁻²⁴ and intervention studies²⁵⁻³⁰ have provided evidence of decreased stability of warfarin therapy in patients with low vitamin K intakes. Therefore, advising patients to limit or avoid vitamin K-rich foods seems counter to current scientific evidence.

To gain insight in this issue, 317 warfarin users, who started warfarin therapy in 2011-2012, were interviewed with the specific objectives to: 1) describe vitamin K-related recommendations they recalled receiving at the initiation of their warfarin treatment; 2) investigate their adherence to these recommendations; and 3) examine whether their usual vitamin K intakes vary according to the vitamin K-related advice reported.

METHODS

Study design and setting

The Quebec Warfarin Cohort Study (QWCS) is an ongoing prospective and multicenter cohort study investigating the genetic and clinical predictors of the effectiveness and safety of warfarin therapy. From May 2010 to July 2013, 1,069 adult incident warfarin users from 17 hospital sites across the province of Quebec, Canada, were enrolled. Patients' primary indication for long-term warfarin treatment was atrial fibrillation/flutter, mechanical valve replacement or mitral stenosis. Exclusion criteria were: a history of clinically important bleedings or a recent gastrointestinal bleeding or hemorrhagic stroke (<3 months), coagulation factors deficiency, chronic thrombocytopenia, hematologic malignancy, cirrhosis, chronic hepatitis, jaundice or cognitive impairment (unreliability). During the first year, five structured telephone interviews were conducted by trained research nurses and assistants; at baseline and at 3, 6, 9 and 12 months after warfarin initiation. Data on sociodemographic factors, family ancestry, lifestyle, medical history and warfarin treatment were collected.

The present retrospective cohort study included a subsample of the QWCS participants, who completed the first year of follow-up and underwent continuous warfarin therapy for ≥ 12 months with a target International Normalized Ratio (INR) range of 2.0-3.0 or 2.5-3.5. Ethical approval was obtained from the Montreal Heart Institute Ethics Committee. A total of 403 patients were invited to complete an additional telephone interview on diet conducted by a registered dietitian, of which 58 (14%) declined the invitation, 17 (4%) were unable to participate (e.g. deterioration of general health status, deafness), 7 (2%) were unreachable, and 4 (1%) were deceased. Written informed consent was provided by 317 patients. Data collection was performed from February 2013 to January 2014.

Dietary assessment

Patients were invited, through an open question, to describe any dietary recommendation received at the initiation of warfarin therapy, as well as the sources of these recommendations (e.g. nurses, dietitians). Vitamin K-related recommendations were classified as follows: no recall of receiving a vitamin K-related recommendation; recommendation to limit or avoid

vitamin K-rich foods; and recommendation to maintain stable vitamin K-rich foods consumption. Other dietary recommendations reported were also noted. Patients were asked if they adhered (yes/no) to the vitamin K-related recommendations provided and whether they found it easy or difficult to adhere to these recommendations. Finally, the daily usual dietary vitamin K intake of the previous year was assessed for each patient using a 50-item semi-quantitative food frequency questionnaire (FFQ), previously validated for ranking individuals according to their usual vitamin K intake.³¹ Food items were categorized as ‘green vegetables’ and ‘other vitamin K food sources’ (e.g. fruits, vegetable oils). Vitamin K content of foods was based on the Canadian Nutrient File database version 2007b from Health Canada and the U.S. Department of Agriculture’s National Database for Standard Reference database version 22.

Covariates

Age (years) was determined at the FFQ interview date. Other patients’ characteristics were obtained from the QWCS interviews. Indication for warfarin, target INR range, sex, education level (university or college; high school; no degree) and reported weight (kg) and height (m) were determined at recruitment. Body mass index (BMI) was calculated as kg/m². History of hypertension, diabetes, dyslipidemia, angina, myocardial infarction and stroke were self-reported and validated with medical charts. Annual mean alcohol intake (non-drinkers; <7 drinks/week; ≥7 drinks/week), smoking status (smokers; non-smokers) and physical activity level (inactive/lightly active; moderately active; intensely/very intensely active) were also considered. Physical activity was assessed using the Stanford Brief Activity Survey.³²

Statistical analyses

Patients’ characteristics were compared according to classes of vitamin K-related recommendations using one-way ANOVA and χ^2 tests. As the vitamin K intake data presented skewed distributions, the Kruskal-Wallis test, followed by pairwise comparisons with Mann-Whitney test, was used to compare total vitamin K intake and vitamin K intake from food categories (‘green vegetables’ and ‘other vitamin K food sources’) by classes of vitamin K-related recommendations. ANCOVA was used to compare mean vitamin K intake (log₁₀-transformed) between classes of vitamin K-related recommendations. Preselection of covariates was performed by identifying variables significantly associated with log₁₀-transformed vitamin

K intake in a stepwise multiple linear regression model. Covariates considered in analyses were: age, sex, education level, weight, BMI, smoking status, alcohol consumption, physical activity level, hypertension, diabetes, dyslipidemia, angina, and history of myocardial infarction and stroke. These variables were then integrated in the ANCOVA, and in the final model when significantly associated with vitamin K intake. Three patients were excluded from this analysis because of missing data on covariates. Homogeneity of variance and normality of residuals were verified for the final model, with no violations noted. Mann-Whitney and χ^2 tests were used to compare participants with non-participants. All statistical analyses were performed using IBM SPSS Statistics software (version 20.0, 2011, SPSS Corp., Armonk, NY). A Bonferroni correction for significance level was applied for pairwise comparisons, otherwise $P < 0.05$ was considered significant.

RESULTS

Participants were aged 36-97 years and 69% were ≥ 65 years old (Table 1). Most were male (65%), hypertensive (70%), had dyslipidemia (65%), consumed moderate amounts of alcohol (61%), and were inactive or lightly active (71%). Three-quarters of patients were overweight (BMI ≥ 25 kg/m²), 33% obese (≥ 30 kg/m²), and 1% underweight (< 18.5 kg/m²). Most (71%) were anticoagulated for atrial fibrillation with a target INR range of 2.0-3.0. Time since warfarin initiation ranged from 12-31 months at the FFQ interview date. Participants of this study were more prone to report being of white ethnicity (98.7% vs 96.3%; $p=0.045$), were slightly younger (69 vs 71 years; $p=0.012$), less likely to have diabetes (24.0% vs 31.4%; $p=0.018$), more frequently anticoagulated for mechanical valve replacement (19.6% vs 11.4%; $p < 0.001$) and less frequently anticoagulated for atrial fibrillation (70.7% vs 78.5%; $p=0.008$) than other participants of the QWCS ($n=752$). However, they did not differ by sex, BMI, education level, smoking status, physical activity, alcohol consumption, dyslipidemia, angina, and myocardial infarction and stroke history.

Table 1. Characteristics of the 317 warfarin-treated patients, stratified by classes of vitamin K-related dietary recommendations they reported.

Characteristics	Dietary vitamin K-related recommendations ^a				P ^b
	All patients	None reported	Avoid or limit vitamin K-rich foods	Stable consumption of vitamin K-rich foods	
<i>n</i>	317	70	214	32	
Age, y, mean±SD	69.4±11.5	70.7±12.5	69.3±11.2	66.5±10.6	0.22
Male, n (%)	207 (65.3)	55 (78.6)	130 (61.2)	20 (62.5)	0.029
Level of education, n (%) ^c					
University or college	115 (36.6)	21 (30.0)	80 (37.7)	13 (41.9)	
High school	92 (29.3)	20 (28.6)	59 (27.8)	13 (41.9)	0.13
No degree	107 (34.1)	29 (41.4)	73 (34.4)	5 (16.1)	
BMI, kg/m ² , mean±SD	28.8±5.8	28.0±4.1	28.8±6.1	30.5±6.5	0.12
Hypertension, n (%) ^d	219 (69.5)	47 (67.1)	146 (68.5)	25 (80.6)	0.35
Diabetes, n (%) ^d	76 (24.0)	21 (30.0)	48 (22.5)	6 (19.4)	0.37
Dyslipidemia, n (%) ^d	206 (65.4)	49 (70.0)	137 (64.3)	19 (61.3)	0.61
Angina, n (%) ^c	85 (27.1)	21 (30.0)	53 (25.0)	10 (32.3)	0.55
History of myocardial infarction, n (%)	85 (26.8)	27 (38.6)	51 (23.8)	6 (18.8)	0.030
History of stroke, n (%) ^d	24 (7.6)	4 (5.7)	17 (8.0)	3 (9.7)	0.75
Smokers, n (%) ^d	38 (12.1)	12 (17.1)	22 (10.3)	4 (12.9)	0.31
Annual mean alcohol consumption, n (%)					
None	60 (18.9)	18 (25.7)	35 (16.4)	6 (18.8)	
≤7 drinks/week	192 (60.6)	32 (45.7)	137 (64.0)	23 (71.9)	0.035
>7 drinks/week	65 (20.5)	20 (28.6)	42 (19.6)	3 (9.4)	
Level of physical activity, n (%)					
Inactive or lightly active	224 (70.7)	45 (64.3)	157 (73.4)	22 (68.8)	
Moderately active	70 (22.1)	18 (25.7)	44 (20.6)	7 (21.9)	0.63
Intensely or very intensely active	23 (7.3)	7 (10.0)	13 (6.1)	3 (9.4)	
Duration of warfarin therapy, y, mean±SD	1.3±0.4	1.4±0.3	1.3±0.4	1.3±0.4	0.50
Indication for warfarin therapy, n (%)					
Atrial fibrillation	224 (70.7)	54 (77.1)	147 (68.7)	22 (68.8)	0.39
Atrial flutter	31 (9.8)	7 (10.0)	21 (9.8)	3 (9.4)	0.99
Mechanical heart valve replacement	62 (19.6)	10 (14.3)	45 (21.0)	7 (21.9)	0.44
Others	3 (0.9)	1 (1.4)	1 (0.5)	1 (3.1)	0.32
Target INR range, 2.0-3.0, n (%)	260 (82.0)	59 (84.3)	174 (81.3)	26 (81.2)	0.85

^a One patient reported being asked to eat more fruits and vegetables and then, was excluded from analyses. ^b P for ANOVA and χ^2 tests, as appropriate.

^c Three patients with missing data. ^d Two patients with missing data.

Table 2. Vitamin K intakes ($\mu\text{g}/\text{day}$)^a of 317 warfarin-treated patients, stratified by classes of vitamin K-related dietary recommendations.

	Dietary vitamin K-related recommendations ^b				<i>P</i> ^d
	All patients	None reported	Avoid or limit vitamin K-rich foods Non adherence	Stable consumption of vitamin K-rich foods ^c	
<i>n</i>	317	70	27	187	32
Vitamin K intakes, median (IQR)					
Total	73.5 (42.6-120.1)	88.8 (52.2-150.0)	100.5 (53.6-169.5)	56.3 (35.3-94.6)	108.5 (79.1-159.4)
Green vegetables	43.2 (17.6-82.3)	53.2 (30.7-105.6)	71.7 (30.3-145.2)	28.8 (11.7-59.3)	80.4 (47.2-141.5)
Other vitamin K food sources	26.9 (19.6-36.6)	31.3 (21.9-44.2)	28.3 (21.3-32.8)	25.6 (18.7-34.9)	27.5 (21.1-35.3)

^a Vitamin K intake was measured with a validated food frequency questionnaire.³¹

^b One patient reported being asked to eat more fruits and vegetables and then, was excluded from analyses.

^c All patients reported to adhere to the recommendation to keep stable vitamin K-rich foods consumption.

^d *P* for Kruskal-Wallis tests.

Dietary recommendations

Most patients (68%) reported having been asked to limit or avoid vitamin K-rich foods, particularly green vegetables, while 10% reported being instructed to maintain stable consumption of vitamin K-rich foods. One patient (0.3%) reported being asked to eat more fruits and vegetables and was excluded from further analyses. Also, 22% did not recall receiving a vitamin K-related recommendation. Of note, a small proportion of patients (9%) reported dietary recommendations that were not vitamin K-related, including avoidance of cranberry and grapefruit, while 15% reported being asked to limit their alcohol consumption. Sex ($p=0.029$), history of myocardial infarction ($p=0.030$) and alcohol consumption ($p=0.035$) varied significantly across classes of vitamin K-related recommendations (Table 1).

According to patients, the vitamin K-related recommendations have been mostly provided to them by nurses (68%), followed by physicians (18%), pharmacists (11%), dietitians (6%) and relatives (2%). Only 3% of patients reported to have obtained this information from internet, while 2% could not remember who had provided them the dietary recommendations. Some (7%) patients mentioned several sources of information. Moreover, according to what was reported by patients, only 9% of physicians and 11% of nurses recommended keeping stable vitamin K-rich foods consumption, while these proportions increased to 25% and 33% in pharmacists and dietitians, respectively.

Adherence to recommendations and vitamin K intake

All patients who received the recommendation to keep stable vitamin K-rich foods consumption reported adhering to this advice and 81% reported to do it easily. In contrast, among patients who reported being told to limit or avoid vitamin K-rich foods, 87% reported adhering to this advice; 56% with difficulty and 44% easily.

Usual vitamin K intake of patients varied from 10-418 $\mu\text{g}/\text{day}$, and differed significantly among classes of vitamin K-related recommendations (Table 2). Specifically, patients limiting or avoiding vitamin K-rich foods showed 37-48% lower vitamin K intakes compared with others ($p<0.001$). The ANCOVA showed that this difference remained significant and of similar magnitude (35-46%) after adjustment for age, education level, presence of dyslipidemia and

alcohol consumption ($p < 0.001$). No significant difference in vitamin K intake was found between other classes of vitamin K-related recommendations, before or after adjustment for covariates.

Green vegetables were the primary food group contributing to total vitamin K intake (Table 2). As would be expected, vitamin K intake from green vegetables was the lowest in patients limiting or avoiding vitamin K-rich foods. Further analyses from the ANCOVA showed that the variation in total vitamin K intakes between patients was explained almost entirely ($\eta_p^2 = 0.857$; $p < 0.001$) by the variation in vitamin intakes from green vegetables, underlying the fact that patients recognized green vegetables as the sole vitamin K-rich foods.

DISCUSSION

The present study highlights that avoidance of vitamin-K rich foods, particularly green vegetables, is frequent in warfarin users of Quebec, and is associated with lower vitamin K intakes. These data are important, because they suggested that only a small proportion of warfarin-treated patients had dietary habits consistent with the current official recommendation aiming for stable vitamin K intakes.

These results are concordant with those of a previous study in Quebec indicating that only 4% of warfarin-treated patients reported having been instructed to maintain constant vitamin K intakes.³³ Moreover, a recent study from Slovenia showed that 90% of 214 warfarin-treated patients believed that they could only eat vegetables occasionally.³⁴ Other studies in the United-States and Germany showed that $\approx 30\%$ of anticoagulated patients thought that they should limit or avoid green vegetables,^{35,36} and 16% of patients in a study from the United Kingdom reported having reduced their green vegetables consumption over the first six months of warfarin therapy.³⁷ In contrast, a study among 183 Asian patients suggested that 69% of them understood the importance of consistent dietary habits during warfarin therapy.³⁸ However, methodological dissimilarities between studies notably, the questions specifically asked to the patients, as well

as the different clinical practices among countries make direct comparisons with our study difficult.

Reasons why many warfarin-treated patients limit or avoid green vegetables were not specifically investigated in this study but could be related to healthcare professionals' lack of knowledge of this drug-nutrient interaction and of vitamin K content of foods.^{19, 39, 40} In one study, although all participating healthcare professionals reported instructing anticoagulated patients to maintain stable vitamin K intakes, only $\approx 30\%$ reported to never advise patients to avoid vitamin K-rich foods.¹⁹ Moreover, some educational materials for patients provide ambiguous information, recommending constant vitamin K intakes while restricting the serving size of vitamin K-rich foods,^{15, 41} which may reflect an attempt to simplify the official dietary recommendation.

Similarly, patients' understanding of the dietary recommendations in warfarin therapy has been shown to be suboptimal.³⁴ Retention of medical information has also been shown to be as low as $\approx 10\text{-}40\%$, and patients would misconstrue a large part (48%) of the information they think to remember.^{42, 43} Finally, it may be difficult for patients to grasp the concept of stabilizing vitamin K intakes,¹⁷ and implement this recommendation in their daily lives,^{6, 22} as it implies a very good knowledge of the vitamin K content of foods.

A recent study showed a sharp decrease in plasma vitamin K concentration following initiation of warfarin therapy, which was deemed to result from excessive dietary restriction.⁴⁴ Unexpectedly, a previous study found the inverse association, but suggested it may be related to methodological flaws.³⁷ In the present study, patients reporting to avoid or limit their consumption of vitamin K-rich foods presented vitamin K intakes almost half (46%) those of patients who reported keeping stable vitamin K-rich foods consumption. Results from observational studies and trials reported conflicting data about the relationship between vitamin K intake and long-term warfarin therapy stability. Nonetheless, most support increased warfarin therapy stability in patients with higher vitamin K intakes,²⁰⁻³⁰ while only a limited number suggest otherwise.⁴⁵⁻⁴⁷ Therefore, advising patients to limit or avoid vitamin K-rich foods may be at best ineffective, if not detrimental for the stability of warfarin therapy. Moreover, this

restrictive recommendation may also affect patients' quality of life. Indeed, in the present study, a high proportion of patients reported to adhere easily to the advice to maintain stable vitamin K-rich foods consumption, although the stability of vitamin K intakes could not be objectivised by the FFQ. In contrast, most patients who reported having been advised to avoid or limit vitamin K-rich foods have admitted to either not adhering to this recommendation or doing so with difficulty as it went against their usual dietary patterns.

The present findings raise the need for improving nutritional education in warfarin users, as suggested in previous reports.^{34-36, 38} The 2015 National Patient Safety Goals from the Joint Commission⁴⁸ specifically recommends providing education regarding anticoagulant therapy through a face-to-face interview between patients and trained professionals, and to provide education to prescribers and staff. Moreover, education should recognize vitamin K-rich foods other than green vegetables. In fact, in this study, other items presenting a greater vitamin K bioavailability,⁴⁹ such as margarine, vegetable oils (canola, soya, and olive) and salad dressings were not targeted.

This study has a number of strengths, including a relatively large sample size and the use of a validated FFQ to assess usual vitamin K intakes of patients. Moreover, patients were interviewed in 2013-2014, and relatively recently after the initiation of their warfarin treatment, limiting the recall bias and ensuring that data are representative of current practices. Patients were also recruited from several hospital sites in Quebec, enhancing the study's external validity in this province. However, the modalities of care may vary substantially across hospital settings and countries, and our results may not be generalizable to other populations. Also, the FFQ was designed to evaluate the relative, but not the absolute vitamin K intake of patients³¹, limiting direct comparison with the adequate vitamin K intake from the Institute of Medicine. Furthermore, the patients' vitamin K intakes prior to the initiation of warfarin therapy were unknown and thus, dissimilarities in vitamin K intakes could result from pre-existing dietary habits. Also, whether the dietary recommendations reported by patients were those actually given to them cannot be ascertained. Nonetheless, the presented data remain representative of what they understood and implemented in their daily lives. Finally, the influence of dietary

recommendations or vitamin K intake on INR stability was not investigated as it was outside the scope of this study.

CONCLUSION

The present study suggests that avoidance of vitamin K-rich foods, particularly green vegetables, is common among warfarin users and translates into lower vitamin K intakes. Recent evidence does not support such dietary strategy, which might even be detrimental for warfarin therapy stability and quality of life. These findings raise the need for better nutritional education in warfarin users, and for continuing education activities addressed to healthcare professionals involved in the management of warfarin treatment. Future studies should focus on efficient knowledge translation strategies to ensure that proper dietary recommendations make their way to patients.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank all study participants and the QWCS recruitment team.

FUNDING DISCLOSURE

This study received no specific funding.

CONFLICT OF INTEREST DISCLOSURE

Authors reported no conflicts of interests.

REFERENCES

1. Ageno W, Gallus AS, Wittkowsky A, et al. 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):e44S-88S.
2. Bristol-Myers Squibb. Product monograph, Coumadin. http://www.bmscanada.ca/static/products/en/pm_pdf/COUMADIN_EN_PM.pdf. Accessed January 15, 2015.
3. Reynolds MW, Fahrbach K, Hauch O, et al. Warfarin anticoagulation and outcomes in patients with atrial fibrillation: a systematic review and metaanalysis. *Chest*. 2004;126(6):1938-1945.
4. 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):651-656.
5. Couris R, Tataronis G, McCloskey W, et al. Dietary vitamin K variability affects International Normalized Ratio (INR) coagulation indices. *Int J Vitam Nutr Res*. 2006;76(2):65-74.
6. Khan T, Wynne H, Wood P, et al. Dietary vitamin K influences intra-individual variability in anticoagulant response to warfarin. *Br J Haematol*. 2004;124(3):348-354.
7. Custodio das Dores SM, Booth SL, Martini LA, et al. Relationship between diet and anticoagulant response to warfarin: a factor analysis. *Eur J Nutr*. 2007;46(3):147-154.
8. Schurgers LJ, Shearer MJ, Hamulyak K, Stocklin E, Vermeer C. Effect of vitamin K intake on the stability of oral anticoagulant treatment: dose-response relationships in healthy subjects. *Blood*. 2004;104(9):2682-2689.
9. Pedersen FM, Hamberg O, Hess K, Ovesen L. The effect of dietary vitamin K on warfarin-induced anticoagulation. *J Intern Med*. 1991;229(6):517-520.
10. de Assis MC, Rabelo ER, Avila CW, Polanczyk CA, Rohde LE. Improved oral anticoagulation after a dietary vitamin k-guided strategy: a randomized controlled trial. *Circulation*. 2009;120(12):1115-1122.
11. Karlson B, Leijd B, Hellstrom K. On the influence of vitamin K-rich vegetables and wine on the effectiveness of warfarin treatment. *Acta Med Scand*. 1986;220(4):347-350.

12. National Institutes of Health Clinical Center. Important information to know when you are taking: Warfarin (Coumadin) and vitamin K. http://www.cc.nih.gov/ccc/patient_education/drug_nutrient/coumadin1.pdf. Accessed April 2, 2015.
13. Government of Canada. Health, Drugs & medical devices, Warfarin. http://healthycanadians.gc.ca/drugs-products-medicaments-produits/drugs-medicaments/warfarin-eng.php?_ga=1.221272600.1275639397.1427806710. Accessed March 31, 2015.
14. American Heart Association. A patient's guide to taking warfarin. http://www.heart.org/HEARTORG/Conditions/Arrhythmia/PreventionTreatmentofArrhythmia/A-Patients-Guide-to-Taking-Warfarin_UCM_444996_Article.jsp. Accessed April 2, 2015.
15. Collège des médecins du Québec et Ordre des pharmaciens du Québec. Un document d'information pour le patient, les anticoagulants. 2005.
16. Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. Washington, DC: National Academies Press; 2001.
17. Johnson MA. Influence of vitamin K on anticoagulant therapy depends on vitamin K status and the source and chemical forms of vitamin K. *Nutr Rev.* 2005;63(3):91-97.
18. Lurie Y, Loebstein R, Kurnik D, Almog S, Halkin H. Warfarin and vitamin K intake in the era of pharmacogenetics. *Br J Clin Pharmacol.* 2010;70(2):164-170.
19. Dennis VC, Ripley TL, Planas LG, Beach P. Dietary Vitamin K in Oral Anticoagulation Patients: Clinician Practices and Knowledge in Outpatient Settings. *J Pharm Technol.* 2008;24(2):69-76.
20. Leblanc C, Presse N, Lalonde G, Dumas S, Ferland G. Higher vitamin K intake is associated with better INR control and a decreased need for INR tests in long-term warfarin therapy. *Thromb Res.* 2014;134(1):210-212.
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(4):755-759.

22. Rombouts EK, Rosendaal FR, van der Meer FJM. Influence of dietary vitamin K intake on subtherapeutic oral anticoagulant therapy. *Br J Haematol.* 2010;149(4):598-605.
23. Sconce E, Khan T, Mason J, Noble F, Wynne H, Kamali F. Patients with unstable control have a poorer dietary intake of vitamin K compared to patients with stable control of anticoagulation. *Thromb Haemost.* 2005;93(5):872-875.
24. Wolkanin-Bartnik J, Pogorzelska H, Szperl M, Bartnik A, Koziarek J, Bilinska ZT. Impact of genetic and clinical factors on dose requirements and quality of anticoagulation therapy in Polish patients receiving acenocoumarol: dosing calculation algorithm. *Pharmacogenet Genomics.* 2013;23(11):611-618.
25. Majeed H, Rodger M, Forgie M, et al. Effect of 200 mcg/day of vitamin K1 on the variability of anticoagulation control in patients on warfarin: a randomized controlled trial. *Thromb Res.* 2013;132(3):329-335.
26. Gebuis EP, Rosendaal FR, van Meegen E, van der Meer FJ. Vitamin K1 supplementation to improve the stability of anticoagulation therapy with vitamin K antagonists: a dose-finding study. *Haematologica.* 2011;96(4):583-589.
27. Sconce E, Avery P, Wynne H, Kamali F. Vitamin K supplementation can improve stability of anticoagulation for patients with unexplained variability in response to warfarin. *Blood.* 2007;109(6):2419-2423.
28. Rombouts EK, Rosendaal FR, Van Der Meer FJM. Daily vitamin K supplementation improves anticoagulant stability. *J Thromb Haemost.* 2007;5(10):2043-2048.
29. Ford SK, Misita CP, Shilliday BB, Malone RM, Moore CG, Moll S. Prospective study of supplemental vitamin K therapy in patients on oral anticoagulants with unstable international normalized ratios. *J Thromb Thrombolysis.* 2007;24(1):23-27.
30. Reese AM, Farnett LE, Lyons RM, Patel B, Morgan L, Bussey HI. Low-dose vitamin K to augment anticoagulation control. *Pharmacotherapy.* 2005;25(12):1746-1751.
31. Presse N, Shatenstein B, Kergoat MJ, Ferland G. Validation of a semi-quantitative food frequency questionnaire measuring dietary vitamin K intake in elderly people. *J Am Diet Assoc.* 2009;109(7):1251-1255.
32. Taylor-Piliae RE, Norton LC, Haskell WL, et al. Validation of a New Brief Physical Activity Survey among Men and Women Aged 60–69 Years. *Am J Epidemiol.* 2006;164(6):598-606.

33. 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(1):129-130.
34. Mavri A, Ostasevski Fernandez N, Kramaric A, Kosmelj K. New educational approach for patients on warfarin improves knowledge and therapy control. *Wien Klin Wochenschr.* 2015;127(11-12):472-476.
35. Baker JW, Pierce KL, Ryals CA. INR goal attainment and oral anticoagulation knowledge of patients enrolled in an anticoagulation clinic in a Veterans Affairs medical center. *J Manag Care Pharm.* 2011;17(2):133-142.
36. Jank S, Bertsche T, Herzog W, Haefeli WE. Patient knowledge on oral anticoagulants: results of a questionnaire survey in Germany and comparison with the literature. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 2008;46(6):280-288.
37. Sobczynska-Malefora A, Harrington DJ, Lomer MCE, et al. Erythrocyte folate and 5-methyltetrahydrofolate levels decline during 6 months of oral anticoagulation with warfarin. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2009;20(4):297-302.
38. Wang Y, Kong MC, Lee LH, Ng HJ, Ko Y. Knowledge, satisfaction, and concerns regarding warfarin therapy and their association with warfarin adherence and anticoagulation control. *Thromb Res.* 2014;133(4):550-554.
39. Couris RR, Tataronis GR, Dallal GE, Blumberg JB, Dwyer JT. Assessment of healthcare professionals' knowledge about warfarin-vitamin K drug-nutrient interactions. *J Am Coll Nutr.* 2000;19(4):439-445.
40. Lasswell AB, DeForge BR, Sobal J, Muncie HL, Jr., Michocki R. Family medicine residents' knowledge and attitudes about drug-nutrient interactions. *J Am Coll Nutr.* 1995;14(2):137-143.
41. AHFS Consumer Medication Information. American Society of Health-System Pharmacists Inc.; ©2015. Warfarin. <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/druginfo/meds/a682277.html>. Accessed April 2, 2015.
42. McGuire LC. Remembering what the doctor said: organization and adults' memory for medical information. *Exp Aging Res.* 1996;22(4):403-428.

43. Anderson JL, Dodman S, Kopelman M, Fleming A. Patient information recall in a rheumatology clinic. *Rheumatol Rehabil.* 1979;18(1):18-22.
44. Kim YE, Woo HI, On YK, Kim JS, Lee SY. High intra- and inter-individual variability of plasma vitamin K concentrations in patients with atrial fibrillation under warfarin therapy. *Eur J Clin Nutr.* 2015;69(6):703-706.
45. Li RC, Finkelman BS, Chen J, et al. Dietary vitamin K intake and anticoagulation control during the initiation phase of warfarin therapy: a prospective cohort study. *Thromb Haemost.* 2013;110(1):195-196.
46. Zuchinali P, Souza GC, de Assis MC, Rabelo ER, Rohde LE. Dietary vitamin K intake and stability of anticoagulation with coumarins: evidence derived from a clinical trial. *Nutr Hosp.* 2012;27(6):1987-1992.
47. Cavallari LH, Aston JL, Momary KM, Shapiro NL, Patel SR, Nutescu EA. Predictors of unstable anticoagulation in African Americans. *J Thromb Thrombolysis.* 2009;27(4):430-437.
48. The Joint Commission. 2015 National Patient Safety Goals, Hospital accreditation program. http://www.jointcommission.org/assets/1/6/2015_NPSG_HAP.pdf. Accessed February 18, 2015.
49. Presse N, Gaudreau P, Greenwood CE, et al. A single measurement of serum phylloquinone is an adequate indicator of long-term phylloquinone exposure in healthy older adults. *J Nutr.* 2012;142(10):1910-1916.

Article 2

« Influence of *VKORC1* genotype on the association between dietary vitamin K intake and warfarin therapy stability »

Par

Cristina Leblanc, Marie-Pierre Dubé, Nancy Presse et Guylaine Ferland

Article non soumis

CONTRIBUTION DES AUTEURS

Cristina Leblanc a contribué à toutes les étapes du projet. Elle a notamment coordonné le recrutement des patients à l'étude, effectué la collecte des données alimentaires, réalisé les analyses statistiques et rédigé l'article scientifique.

Marie-Pierre Dubé est la chercheuse principale de l'étude QWCS. Elle a supervisé et contribué à toutes les étapes de la présente étude.

Nancy Presse a créé le questionnaire de fréquence alimentaire utilisé dans cette étude. Elle a également participé à l'analyse et à l'interprétation des données, et a contribué à la révision critique de l'article scientifique.

Guylaine Ferland a supervisé et contribué à toutes les étapes de la présente étude.

Influence of *VKORC1* genotype on the association between dietary vitamin K intake and warfarin therapy stability.

Cristina Leblanc, RD^{1,2,3}; Marie-Pierre Dubé, PhD^{2,3}; Nancy Presse, RD, PhD⁴; Guylaine Ferland, PhD^{1,3,5}

¹Centre de recherche, Institut universitaire de gériatrie de Montréal, QC, Canada ²Centre de pharmacogénomique Beaulieu-Saucier and Institut de Cardiologie de Montréal, QC, Canada ³Faculté de médecine, Université de Montréal, QC, Canada; ⁴Faculté de Pharmacie, Université de Montréal, QC, Canada. ⁵Centre de recherche, Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal, QC, Canada

Address for correspondence and reprints:

Guylaine Ferland, PhD
Centre de recherche, Institut universitaire de gériatrie de Montréal
4565, Chemin Queen-Mary
Montréal (Québec) H3W 1W5
Tel: (514) 340-2800 ext. 3236 Fax: (514) 340-3530

Word count: 3710 words (text); 260 words (abstract)

Keywords: vitamin K intake, warfarin therapy, anticoagulation, International Normalized Ratio, time in therapeutic range, *VKORC1*.

ABSTRACT

Background. Vitamin K intake is known to influence International Normalized Ratio (INR) stability. Recent studies suggest a better INR stability in patients with high vitamin K intakes, through diet or supplementation. However, substantial inter-individual variability in the response to vitamin K was reported, which may be explained by the polymorphisms of the gene *VKORC1*. Thus, the main objective of this study was to examine the association between usual dietary vitamin K intake and long-term INR stability in warfarin therapy, and to determine whether this association was modulated by *VKORC1* genotype.

Methods. Usual dietary vitamin intake of the previous 12 months was assessed in 246 warfarin users using a vitamin K specific semi-quantitative food frequency questionnaire. The percentage of time in the therapeutic range (TTR) was measured during the 3-12 months period after initiation of warfarin. The association between vitamin K intake and TTR was tested with a multiple linear regression model.

Results. Regression analysis indicated that vitamin K intake (\log_{10} -transformed) was positively associated with TTR (β [95%CI] : 8.9[0.3-17.6]; $p=0.042$), after adjustment for age, target INR range, smoking status and history of myocardial infarction. This association was not significantly modulated by *VKORC1* genotype (p for interaction term= 0.430). However, the association between dietary vitamin K intake and TTR did not resist to the sensitivity analysis.

Conclusions. The results of this study suggest that high vitamin K intake promotes better INR stability, and that this association is not significantly modulated by *VKORC1* variants. However, interpretation and generalization of these results are limited given concerns relative to the robustness of the significant association found.

INTRODUCTION

Warfarin is still widely prescribed for the prevention of thromboembolic events despite the introduction of new alternative agents [1]. Its anticoagulant effect, usually quantified by the International Normalized Ratio (INR), is mediated by the inhibition of the vitamin K epoxyde reductase (VKOR) which decreases the biological activation of the vitamin K-dependent clotting factors [2]. The effectiveness and safety of warfarin therapy are dependent on the maintenance of INRs within a narrow therapeutic range, extra-therapeutic INRs being associated with thrombotic and hemorrhagic complications [3]. Multiple clinical and environmental factors, as well as the large variability in warfarin dose requirements impede INR control [4, 5]. Therefore, despite sustained monitoring involving frequent blood tests and dose adjustments, long-term INR stability is achieved less than two thirds of the time [6, 7].

Part of the INR variance in anticoagulant therapy is attributable to dietary factors. Pioneers studies showed that large variations in vitamin K intake are associated with INR fluctuations [8-12]. However, recent reports point to more stable anticoagulation in patients with high dietary vitamin K intakes, independently of their variability [13-17]. This finding is also supported by intervention studies, where vitamin K supplementation was found to lessen INR variability [18-23]. However, substantial variability in the dose-response relationship between vitamin K intake and INR stability was illustrated in some of these studies [22, 23]. Moreover, recent research on warfarin therapy has identified polymorphisms of *CYP2C9*, the gene encoding the CYP2C9 enzyme involved in warfarin metabolism, and *VKORC1*, the gene encoding VKOR, as important predictors of the inter-individual variability in required warfarin dose [24]. However, their effect on INR stability remains equivocal [17, 18, 25-32]. Additionally, whether *VKORC1* genotype could modulate the effect of dietary vitamin K intake on INR stability because of its influence upon VKOR activity remains to be determined. This potential gene-nutrient interaction could account for some of the unexplained inter-individual variability in the response to vitamin K intake in the context of anticoagulant therapy.

In light of this, the main objective of this study was to examine the association between usual dietary vitamin K intake and INR stability in warfarin users, and to verify whether this

association was modulated by *VKORC1* variants. The influence of *CYP2C9* and *VKORC1* variants upon INR stability was also verified.

METHODS

Study design and setting

The Quebec Warfarin Cohort Study (QWCS) is an ongoing prospective multicenter cohort study investigating the genetic and clinical predictors of the effectiveness and safety of warfarin therapy. Briefly, eligible patients were incident adult warfarin users with a long-term indication of warfarin for atrial fibrillation, atrial flutter, mechanical valve replacement, thromboembolic stroke, mitral stenosis or ischemic arterial embolism. Patients with a history of clinically important bleedings or a recent gastrointestinal bleeding or hemorrhagic stroke (<3 months), coagulation factors deficiency, chronic thrombocytopenia, hematologic malignancy, cirrhosis, chronic hepatitis, icterus, end stage renal failure or cognitive impairment (unreliability) were excluded. From May 2010 to July 2013, 1069 patients from 17 hospital sites across the province of Quebec, Canada, were enrolled in the study. During the first year, five structured telephone interviews were conducted by research nurses and assistants; one at baseline and four follow-up interviews at 3, 6, 9 and 12 months after initiation of warfarin. Data on sociodemographic factors, family ancestry, lifestyle, medical history and warfarin treatment were collected.

The present retrospective study included a subsample of the QWCS participants who had completed the first year of follow-up, and who previously accepted to be contacted for future research projects. Eligibility required continuous warfarin therapy for ≥ 12 months with a target INR range of 2.0-3.0 or 2.5-3.5. Ethical approval was obtained from the Montreal Heart Institute (MHI) Ethics Committee. A total of 403 patients were hence invited to complete a telephone interview on diet conducted by a registered dietitian. Of these, 58 (14%) declined the invitation, 17 (4%) were inapt to participate (*e.g.* deterioration of general health status, deafness), 7 (2%) were unreachable, and 4 (1%) were no longer alive. Informed consent was provided by 317 patients, who started warfarin therapy between February 2011 and December 2012.

INR stability assessment

INR stability was evaluated from the 3rd to 12th month following initiation of warfarin therapy (the post-stabilization phase), and was based on the percentage of time in the therapeutic range (TTR) calculated for each patient using linear interpolation between two consecutive INRs [33]. INRs were collected retrospectively from the patients' monitoring sites.

Vitamin K intake assessment

Dietary assessment was performed between February 2013 and January 2014. Daily usual dietary vitamin K intake of the previous year was assessed using a semi-quantitative food frequency questionnaire (FFQ). Vitamin K content of foods was based on the Canadian Nutrient File database version 2007b from Health Canada, and the U.S. Department of Agriculture's National Database for Standard Reference database version 22. This 50-item FFQ has been validated for ranking individuals according to their usual vitamin K intake [34]. The use of dietary supplements during the previous year was also investigated.

Because the FFQ was administered after the completion of the first year of follow-up in the QWCS, the vitamin K intake assessment period did not perfectly match the TTR assessment period for all patients. Nevertheless, as previous reports illustrated the stability of the diet over time in older adults [35, 36], we expected that this gap would not significantly impact our results. To validate this assumption, the time interval between the FFQ administration and the last INR available for each patient was calculated. Subsequently, the % overlap between the 12-month period covered by the FFQ and the 9-month period considered for TTR assessment was assessed for each patient, and was taken into account in the statistical analyses.

Other covariates

Information on other covariates were derived from the QWCS trimestral interviews and recoded as needed. Age (years) at initiation of warfarin treatment, gender, target INR range (2.0-3.0; 2.5-3.5) and reported weight (kg) and height (m) were determined at recruitment. Body mass index (BMI) was calculated as kg/m². History of hypertension, diabetes, dyslipidemia, angina, myocardial infarction and stroke were self-reported and validated with medical charts. Education level (university or college; high school; no degree), alcohol intake (non-drinkers; <7

drinks/week; ≥ 7 drinks/week), smoking status, level of physical activity (inactive or lightly active; moderately, intensely or very intensely active) and modification in physical activity level during the first year of QWCS (decrease; no modification; increase) were also considered. Physical activity was assessed using the Stanford Brief Activity Survey [37]. Warfarin maintenance dose was calculated as the mean of self-reported warfarin doses of the 7 days prior to the three-month interview of the QWCS.

Genotyping

Genotyping was performed at the Beaulieu-Saucier Pharmacogenomics centre of the MHI. Selected variants of the gene *CYP2C9* [*CYP2C9**2 (rs1799853) and *CYP2C9**3 (rs1057910)] and *VKORC1* (rs9934438) were genotyped using the Sequenom iPLEX® ADME *CYP2C9/VKORC1* Panel v1.0 (Sequenom, San Diego, CA). Systematic quality control steps were applied including the removal of duplicates, of samples with a call rate <90%, and of single nucleotide polymorphisms (SNPs) with a call frequency <98% or with excessive heterozygosity. Absence of related pairs (identified by identical by descent estimates) and of plate bias effect was ensured. All SNPs were in Hardy–Weinberg equilibrium. Genotypes were coded as 0, 1 and 2 according to the number of variant alleles.

Statistical analyses

To ensure validity of TTR assessment, patients with a gap >70 days between two consecutive INRs (n=32) and with <240 days of INR available data (n=23) were excluded from analyses. Moreover, 4 patients were excluded for abnormal TTR values, identified by standardized residuals >3 SD after regression of TTR on age, sex and target INR. One patient was excluded for improbable dietary data. Finally, of the remaining patients, only ten reported using dietary supplements containing vitamin K. Because this number of patients was insufficient to account for the effect of vitamin K supplementation on anticoagulation stability, they were excluded from the analyses, for a sample of 247 patients (see Supplemental Figure 1 for a detailed flowchart).

Given the skewed distribution, vitamin K intake data ($\mu\text{g}/\text{day}$) were \log_{10} -transformed. Vitamin K intake was also weighted by food sources to account for its higher bioavailability in fats compared with that in vegetables and fruits [35]. The association between vitamin K intake

(continuous) and TTR (continuous) was examined using a multiple linear regression model, where two blocks of variables were specified. In block 1, vitamin K intake was entered. In block 2, relevant and available covariates were entered stepwise: age (continuous), sex (binary), target INR range (binary), BMI (continuous), *VKORC1* genotype (continuous), *CYP2C9* genotype (continuous), hypertension (binary), diabetes (binary), dyslipidemia (binary), angina (binary), history of myocardial infarction (binary), history of stroke (binary), education level (categorical), alcohol intake (categorical), smoking status (binary), physical activity level (categorical) and modification in physical activity level (categorical). One patient was excluded from this analysis for abnormal ($>3SD$) standardized residuals, for a final sample of 246 patients. The final model was adjusted for age, target INR range, history of myocardial infarction and smoking status. Independence of errors and normality of residuals were verified in the final model, with no violations noted. The modulatory effect of *VKORC1* on the association between vitamin K intake and TTR was tested by evaluating the significance of the cross-product term (vitamin K intake**VKORC1* genotype) in the final model.

A sensitivity analysis was performed to ensure that the effect of the incomplete overlap between vitamin K intake and TTR assessment periods did not affect the robustness of the final model. This was achieved by performing subgroups analyses restricted to the patients presenting 100% overlap and $<50\%$ overlap, and evaluating the magnitude and significance of the association between vitamin K intake and TTR in each group.

The Mann–Whitney U and χ^2 tests were used to compare participants to non-participants, and participants presenting 100% overlap and $<50\%$ overlap between vitamin K intake and TTR assessment periods. All statistical analyses were performed using IBM SPSS Statistics 20.0 software (SPSS Corp., Armonk, NY). P-value <0.05 was considered significant.

RESULTS

Patients

Participants included in the analyses were aged 34-96 years (Table 1), with 64.2% being ≥ 65 years old. Most of them were male (63%), hypertensive (68%), and had dyslipidemia (67%).

Mean BMI indicated they were overweight. Geometric mean (95%CI) for dietary vitamin K intake was 67 $\mu\text{g}/\text{day}$ (61-73). The primary indication for anticoagulation therapy was atrial fibrillation and the main target INR range was 2.0-3.0. Mean TTR indicated moderate INR stability, but TTR varied widely from 14% to 100%. INRs were obtained from 80 different monitoring sites. Most patients (93.1%) had their INRs monitored in hospitals or medical clinics, and 6.1% in community pharmacies. Only 0.8% self-monitored their INRs. Almost all participants (99.6%) reported being of white ethnicity. Minor allele frequencies for *VKORC1* (rs9934438), *CYP2C9*2* and *CYP2C9*3* were 0.406, 0.131 and 0.074, respectively, which was representative of a Caucasian population [38, 39]. Compared with non-participants (n=823), participants were more likely to be anticoagulated for mechanical valve replacement (p=0.002), and less likely to be anticoagulated for atrial fibrillation (p=0.003). Consequently, target INR range of 2.0-3.0 was less frequent in participants than non-participants (p=0.001). Participants were also less likely to have diabetes (p=0.042), and slightly more likely to report being of white ethnicity compared with non-participants (p=0.007). However, they did not differ significantly by *CYP2C9* and *VKORC1* genotypes, other comorbidities, age, sex or education level.

INR stability, vitamin K intake and genotype

Regression analysis indicated that higher vitamin K intake was significantly associated with better INR stability (Table 2), a 1-log increase in vitamin K intake being associated with a 8.9 percentage points increase in TTR. Concretely, this means that an increase in vitamin K intake from 16 to 67 $\mu\text{g}/\text{d}$ (from 5th to 50th percentile) was associated with a rise of 5.5 percentage points in TTR, and an increment from 67 to 206 $\mu\text{g}/\text{d}$ (from 50th to 95th percentile), with an increase of 4.4 percentage points in TTR. Age, target INR range and history of myocardial infarction were also independent determinants of TTR, while the inverse association between smoking and TTR was of borderline significance. In contrast, *CYP2C9* and *VKORC1* genotypes were not associated with TTR. Moreover, the statistical interaction between vitamin K intake and *VKORC1* genotype was not significant (β [95%CI] : 5.15[-7.68-17.97]; p=0.430) in the final model.

Table 1. Comparison of the characteristics of warfarin-treated participants selected for analysis and those not selected.

Characteristics	Participants (n=246)		Non-participants (n=823)		P ^a
	n with data	Values	n with data	Values	
Sociodemographic					
Age, y, mean±SD	246	69.5±11.8	823	71.0±11.6	0.092
Sex (male), n (%)	246	154 (62.6)	823	507 (61.6)	0.777
Education, n (%)	245		813		
University or college		87 (35.5)		280 (34.4)	
Highschool		71 (29.0)		211 (26.0)	0.466
No degree		87 (35.5)		322 (39.6)	
Ethnicity (white), n (%)	246	245 (99.6)	808	778 (96.3)	0.007
Health					
Body mass index, kg/m ² , mean±SD	246	29.0±6.0	823	28.5±6.1	0.150
Hypertension, n (%)	246	168 (68.3)	807	586 (72.6)	0.188
Diabetes, n (%)	246	59 (24.0)	811	249 (30.7)	0.042
Dyslipidemia, n (%)	246	165 (67.1)	808	521 (64.5)	0.455
Angina, n (%)	245	66 (26.9)	797	194 (24.3)	0.411
History of myocardial infarction, n (%)	246	64 (26.0)	791	206 (26.0)	0.993
History of stroke, n (%)	246	22 (8.9)	803	58 (7.2)	0.374
Smokers, n (%)	246	27 (11.0)	823	84 (10.2)	0.729
Indication for warfarin therapy, n (%)					
Atrial fibrillation	246	170 (69.0)	823	644 (78.3)	0.003
Atrial flutter	246	27 (11.0)	823	83 (10.1)	0.687
Mechanic valve replacement	246	49 (19.9)	823	99 (12.0)	0.002
Mitral stenosis	246	3 (1.2)	823	9 (1.1)	0.869
Target INR range of 2.0-3.0, n (%)	246	203 (82.5)	815	727 (89.2)	0.001
%time in therapeutic range, mean±SD	246	71.7±18.3	594	68.7±21.7	0.140
Warfarin maintenance dose, mg/j, mean±SD	246	5.5±2.4	738	5.5±2.8	0.864
Genetic factors					
<i>CYP2C9</i> genotype, n (%)	244		821		
*1/*1		149 (61.1)		507 (61.8)	
*1/*2 or *1/*3		90 (36.9)		271 (33.0)	0.078
*2/*2 or *2/*3 or *3/*3		5 (2.0)		43 (5.2)	
<i>VKORC1</i> genotype, n (%)	245		803		
GG		87 (35.5)		306 (38.1)	
AG		117 (47.8)		372 (46.3)	0.748
AA		41 (16.7)		125 (15.6)	

INR; International Normalized Ratio ^aP-values for Mann-Whitney U and χ^2 tests, as appropriate.

Table 2. Results from the final multiple linear regression model assessing the relationship between usual vitamin K intake and TTR in 246 warfarin users.

Variables ^a	β coefficients	95%CI	P
Block 1 : entered			
Vitamin K intake	8.94	0.31-17.56	0.042
Block 2 : stepwise ^b			
Age	0.30	0.08-0.52	0.008
Target INR	-8.69	-15.29- -2.10	0.010
Myocardial infarction	-5.55	-10.62- -0.48	0.032
Smoking status	-7.20	-14.39- -0.01	0.050
R ²		0.15	

TTR: % time in therapeutic range; INR: International Normalized Ratio.

^aVitamin K intake ($\mu\text{g}/\text{day}$) was \log_{10} -transformed and weighted according to food sources. Co-variables were coded as: age (years); target INR (0 = 2.0-3.0; 1 = 2.5-3.5); myocardial infarction (0 = no history; 1 = history), smoking status (0 = non-smoker; 1 = smoker).

^bVariables are presented in order of selection. Sex, body mass index, education level, hypertension, diabetes, dyslipidemia, angina, history of stroke, alcohol consumption, physical activity level, modification in physical activity level, and *VKORC1* and *CYP2C9* genotypes were not selected for the final model.

Sensitivity analysis

When the analyses were restricted to the patients for whom the 12-month dietary vitamin K assessment period fully covered the 9-month period of TTR assessment (n=125), vitamin K intake was not significantly associated with TTR (Table 3). In contrast, despite the small sample size (n=61), vitamin K intake was very strongly associated with TTR in the patients with <50% overlap between vitamin K intake and INR stability assessment periods. The two groups of patients did not differ by sociodemographic data, BMI, co-morbidities, smoking status, indications for warfarin therapy, target INR range, TTR, number of INR tests available, warfarin maintenance dose, and *CYP2C9* and *VKORC1* genotypes (Supplemental Table 2). However, patients with a complete overlap between vitamin K intake and TTR assessment periods had lower mean usual dietary vitamin K intakes ($80.6 \pm 65.1 \mu\text{g}/\text{j}$ vs $104.8 \pm 68.7 \mu\text{g}/\text{j}$; p=0.002), were about 5 times more likely to have reduced their physical activity level during the year (24.8% vs 4.9%; p=0.001) and had 2.5% more days of available INR follow-up data (275 days vs 268 days; p=0.024) compared with patients having <50% overlap. Although significantly associated with TTR in a simple linear regression (β [95%CI] : -0.13[-0.25- -0.01]; p=0.032), the number of days of available INR follow-up data was not significantly associated with TTR after

adjustment for age, target INR range, history of myocardial infarction, smoking status and vitamin K intake (β [95%CI] : -0.10[-0.22-0.02]; $p=0.090$).

Table 3. Results from the multiple linear regression models assessing the association between usual vitamin K intake and TTR in 246 warfarin users, according to the % overlap between the 12-month period covered by the vitamin K intake assessment and the 9-month period considered for TTR assessment.

Variables ^a	Complete overlap (n=125)			<50% overlap (n=61)		
	β coefficients	95%CI	P	β coefficients	95%CI	P
Vitamin K intake	7.05	-6.18-20.27	0.294	22.76	6.41-39.11	0.007
Age	0.21	-0.13-0.55	0.230	0.45	0.05-0.85	0.029
Target INR	-9.72	-19.46-0.01	0.050	-10.25	-21.82-1.32	0.081
Myocardial infarction	-8.47	-15.84- -1.10	0.025	-2.43	-11.50-6.64	0.594
Smoking status	-7.54	19.49- 4.41	0.214	-12.65	-23.97- -1.33	0.029
R ²	0.13			0.34		

TTR: percentage of time in therapeutic range; INR: International Normalized Ratio.

^aVitamin K intake ($\mu\text{g}/\text{day}$) was \log_{10} -transformed and weighted according to food sources. Co-variables were coded as: age (years); target INR (0 = 2.0-3.0; 1 = 2.5-3.5); myocardial infarction (0 = no history; 1 = history), smoking status (0 = non-smoker; 1 = smoker).

DISCUSSION

This is the first study providing data on the modulating influence of dietary vitamin K intake on TTR by *VKORC1* genotype in real-life setting. Incidentally, we observed that higher usual dietary vitamin K intake was associated with higher TTR during the post-stabilization phase of warfarin therapy. However, this result did not resist to sensitivity analysis. Also, we did not observe a significant effect modification of dietary vitamin K intake on TTR by *VKORC1* genotype. Moreover, neither *CYP2C9* nor *VKORC1* were associated with TTR.

In the present study, a 1-log increase in usual dietary intake was associated with a 8.9 percentage points increase in TTR, a result of similar magnitude to the 10.6 percentage points increase in TTR in a recent study by our group among 147 warfarin-treated older adults [13]. Dietary vitamin K intake $>200 \mu\text{g}/\text{day}$ was also associated with a 5.6 percentage points increase in TTR in patients treated with acenocoumarol [17]. Our finding is also in line with previous

observational studies using other methods to determine INR stability during the post-stabilisation phase [16, 40, 41]. Moreover, this result concurs with supplementation studies where 100-500 µg/day of vitamin K from supplements have been shown to improve the INR stability of warfarin-treated patients [18-20, 22, 23, 42]. Various mechanisms underlying the beneficial effect of a high vitamin K intake on anticoagulation stability have been proposed. Notably, individuals with high vitamin K intakes have been shown to present lower proportional variability in vitamin K intakes when compared with those with low usual intakes [43]. Moreover, high vitamin K intake could stabilize plasma vitamin K (phylloquinone) level. Indeed, plasma phylloquinone has been shown to reach a plateau when vitamin K intake was ≈200 µg/day (as estimated from a FFQ) [44], suggesting a saturable mechanism for the absorption of the vitamin. As well, high vitamin K intakes could enhance hepatic stores, lessening the impact of vitamin K intake fluctuations on clotting factors' production and thus, patient susceptibility to anticoagulation instability [20, 43].

Although the observed association between vitamin K intake and INR stability was consistent with previous work, it did not resist the sensitivity analysis. Indeed, the design of this study did not allow to perfectly match the periods of vitamin K intake and INR stability assessment, vitamin K intake being assessed a posteriori in a large proportion of our sample. About half (50.8%) of patients had 100% overlap between the 12-month period covered by the vitamin K intake assessment and the 9-month period included in the TTR calculation, while about a quarter (24.8%) had <50% overlap, and the remaining patients had ≥50% and <100% overlap. We expected that this gap would not impact on the relationship between vitamin K intake and TTR as previous reports indicated that older adults do not drastically modify their dietary habits over time [35, 36]. However, the effect of vitamin K intake on TTR was weaker in patients with complete overlap between vitamin K intake and TTR assessments compared with patients with <50% overlap. This is counter-intuitive as the measurement error of vitamin K intake would reasonably be smaller in patients with a better overlap, and thus the strength of the association would be expected to be greater in these patients. However, the reason underlying this result is unclear.

Despite the inadequate nature of this recommendation, a high proportion of patients in the present study were advised to limit their intake of vitamin K-rich foods, notably green vegetables, at the initiation of treatment [45]. This translated into much lower (56%) vitamin K intake in participants when compared to the intakes of older healthy adults who participated in the FFQ validation study [34]. Also, patients with a complete overlap between vitamin K intake and TTR assessment periods presented significantly lower vitamin K intakes compared with patients having <50% overlap. As the dietary assessment was closer to the warfarin initiation in patients with the complete overlap, these patients may have reported less accurately their usual dietary vitamin K intake because they were in a transition period in their diet. Moreover, patients with a complete overlap presented a higher decrease in physical activity during the year. This, combined with their lower usual vitamin K intake, may suggest a greater deterioration of their general status over time, which could have confounded the association between vitamin K intake and TTR.

To our knowledge, the present study is the first to examine whether the association between dietary vitamin K intake and long-term INR stability is influenced by *VKORC1* genotype. Nevertheless, the effect of *VKORC1* genotype on the relationship between vitamin K intake and short-term INR stability was shown in two studies. Indeed, in a pilot study by Sconce et al. among 35 warfarin-treated patients with unstable INR, the 7-day change in INR following a vitamin K supplementation of 150 µg/d varied significantly according to the *VKORC1* (rs9923231) genotype [46]. The mean reduction of INR was -0.95, -0.88 and -0.18 for GG, AG and AA genotype, respectively. Similarly, the INR response 3h after vitamin K supplementation (2.5-5.0 mg) in 33 over-anticoagulated patients was of greater amplitude in patients carrying the GG genotype (-1.01; p=0.003) and the AG genotype (-0.84; p=0.024) compared with the patients carrying the AA genotype [47]. Besides, the effect of vitamin K intake on the warfarin maintenance dose was also shown to be greater in patients carrying the G allele of the SNP rs9923231 of *VKORC1* [46, 48]. This allele has also been associated with warfarin resistance, an effect deemed to result from lower inhibition of VKOR [49]. The higher sensitivity to vitamin K intake previously observed in the carriers of the G allele could thus be mediated by a greater cellular recycling of vitamin K leading to an increased biological activation of vitamin K-dependent clotting proteins [46]. In the present study, the effect of vitamin K intake on TTR

was examined according to the SNP rs9934438 of *VKORC1*, in near perfect linkage disequilibrium with the functional SNP rs9923231 [50]. In contrast with previous published studies, the effect of vitamin K intake on INR stability was not significantly modulated by *VKORC1* genotype in our sample. However, our study may have been unpowered to detect such gene-nutrient interaction. Moreover, because the association between vitamin K intake and TTR was tenuous, the interpretation of this result is limited.

Furthermore, in the present study, *VKORC1* and *CYP2C9* genotypes were not associated with TTR. Multiple studies investigated the influence of *CYP2C9* and *VKORC1* genotypes on INR stability and showed conflicting results with some studies suggesting an association [25-27], while several others reported no significant association [17, 18, 28-32]. The dissimilarities in the study designs, methods used to measure INR stability and sample sizes may explain these disparate results.

This study has a number of strengths. Notably, a validated FFQ was used to assess dietary vitamin K intake in order to limit measurement error. Moreover, we used TTR to assess INR stability as this measure is associated with clinical outcomes [51]. However, the caveats related to the incomplete overlap between vitamin K intake and TTR assessment periods limited the internal validity of this study. In addition, we could not appreciate the occurrence and distribution of missing INR values, which could have biased the TTR assessment. Moreover, data on hospitalization periods was not available at the time of the analyses. Also, generalization of our results may be limited by participation and selection bias, as participants represented only 23% of the participants of the QWCS, and their mean TTR was higher than that reported in other studies [7]. Furthermore, although we accounted for a large number of co-variables, we had not account for the effect of co-medication in the present analyses. Finally, the effect of the gene encoding the quinone reductase, insensitive to warfarin and implicated in vitamin K metabolism, was not examined.

CONCLUSION

The results of this study suggest that high vitamin K intake promotes better INR stability, and that this effect is not modulated by *VKORC1* variants. However, the results of this study need to be interpreted with caution given concerns on their internal and external validity. Future studies should emphasize on matching exposure and outcome assessment periods, and consider the use of a vitamin K intake biomarker such as plasma phylloquinone, as well as limiting the source of bias in INR stability assessment.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank all study participants and the QWCS recruitment team.

FUNDING DISCLOSURE

The study received no specific funding. C. Leblanc received a scholarship from the Fonds de Recherche du Québec-Santé (FRQ-S). N. Presse has a postdoctoral fellowship from the Canadian Institutes of Health Research (CIHR). M.P. Dubé received a salary research award from the FRQ-S.

CONFLICT OF INTEREST DISCLOSURE

Authors reported no conflicts of interests.

REFERENCES

1. IMS Health Incorporated, *Top 25 Medicines by Dispensed Prescriptions (U.S.)*. 2013: Danbury, Connecticut. USA.
2. Holmes, M.V., Hunt, B.J., and Shearer, M.J., *The role of dietary vitamin K in the management of oral vitamin K antagonists*. *Blood Rev*, 2012. **26**(1): p. 1-14.
3. Reynolds, M.W., Fahrbach, K., Hauch, O., et al., *Warfarin anticoagulation and outcomes in patients with atrial fibrillation: a systematic review and metaanalysis*. *Chest*, 2004. **126**(6): p. 1938-45.
4. Holbrook, A., Schulman, S., Witt, D.M., et al., *Evidence-based management of 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): p. e152S-84S.
5. Witt, D.M., Delate, T., Clark, N.P., et al., *Outcomes and predictors of very stable INR control during chronic anticoagulation therapy*. *Blood*, 2009. **114**(5): p. 952-6.
6. Cios, D.A., Baker, W.L., Sander, S.D., et al., *Evaluating the impact of study-level factors on warfarin control in U.S.-based primary studies: a meta-analysis*. *Am J Health Syst Pharm*, 2009. **66**(10): p. 916-25.
7. Baker, W.L., Cios, D.A., Sander, S.D., et al., *Meta-analysis to assess the quality of warfarin control in atrial fibrillation patients in the United States*. *J Manag Care Pharm*, 2009. **15**(3): p. 244-52.
8. Franco, V., Polanczyk, C.A., Clausell, N., et al., *Role of dietary vitamin K intake in chronic oral anticoagulation: prospective evidence from observational and randomized protocols*. *Am J Med*, 2004. **116**(10): p. 651-6.
9. Khan, T., Wynne, H., Wood, P., et al., *Dietary vitamin K influences intra-individual variability in anticoagulant response to warfarin*. *Br J Haematol*, 2004. **124**(3): p. 348-54.
10. Pedersen, F.M., Hamberg, O., Hess, K., et al., *The effect of dietary vitamin K on warfarin-induced anticoagulation*. *J Intern Med*, 1991. **229**(6): p. 517-20.

11. Schurgers, L.J., Shearer, M.J., Hamulyak, K., et al., *Effect of vitamin K intake on the stability of oral anticoagulant treatment: dose-response relationships in healthy subjects*. Blood, 2004. **104**(9): p. 2682-9.
12. Karlson, B., Leijd, B., and Hellstrom, K., *On the influence of vitamin K-rich vegetables and wine on the effectiveness of warfarin treatment*. Acta Med Scand, 1986. **220**(4): p. 347-50.
13. Leblanc, C., Presse, N., Lalonde, G., et al., *Higher vitamin K intake is associated with better INR control and a decreased need for INR tests in long-term warfarin therapy*. Thromb Res, 2014. **134**(1): p. 210-2.
14. Rombouts, E.K., Rosendaal, F.R., and van der Meer, F.J.M., *Influence of dietary vitamin K intake on subtherapeutic oral anticoagulant therapy*. Br J Haematol, 2010. **149**(4): p. 598-605.
15. Kim, K.H., Choi, W.S., Lee, J.H., et al., *Relationship between dietary vitamin K intake and the stability of anticoagulation effect in patients taking long-term warfarin*. Thromb Haemost, 2010. **104**(4): p. 755-9.
16. Sconce, E., Khan, T., Mason, J., et al., *Patients with unstable control have a poorer dietary intake of vitamin K compared to patients with stable control of anticoagulation*. Thromb Haemost, 2005. **93**(5): p. 872-5.
17. Wolkanin-Bartnik, J., Pogorzelska, H., Szperl, M., et al., *Impact of genetic and clinical factors on dose requirements and quality of anticoagulation therapy in Polish patients receiving acenocoumarol: dosing calculation algorithm*. Pharmacogenet Genomics, 2013. **23**(11): p. 611-8.
18. Majeed, H., Rodger, M., Forgie, M., et al., *Effect of 200 mcg/day of vitamin K1 on the variability of anticoagulation control in patients on warfarin: a randomized controlled trial*. Thromb Res, 2013. **132**(3): p. 329-35.
19. Gebuis, E.P., Rosendaal, F.R., van Meegen, E., et al., *Vitamin K1 supplementation to improve the stability of anticoagulation therapy with vitamin K antagonists: a dose-finding study*. Haematologica, 2011. **96**(4): p. 583-9.
20. Sconce, E., Avery, P., Wynne, H., et al., *Vitamin K supplementation can improve stability of anticoagulation for patients with unexplained variability in response to warfarin*. Blood, 2007. **109**(6): p. 2419-23.

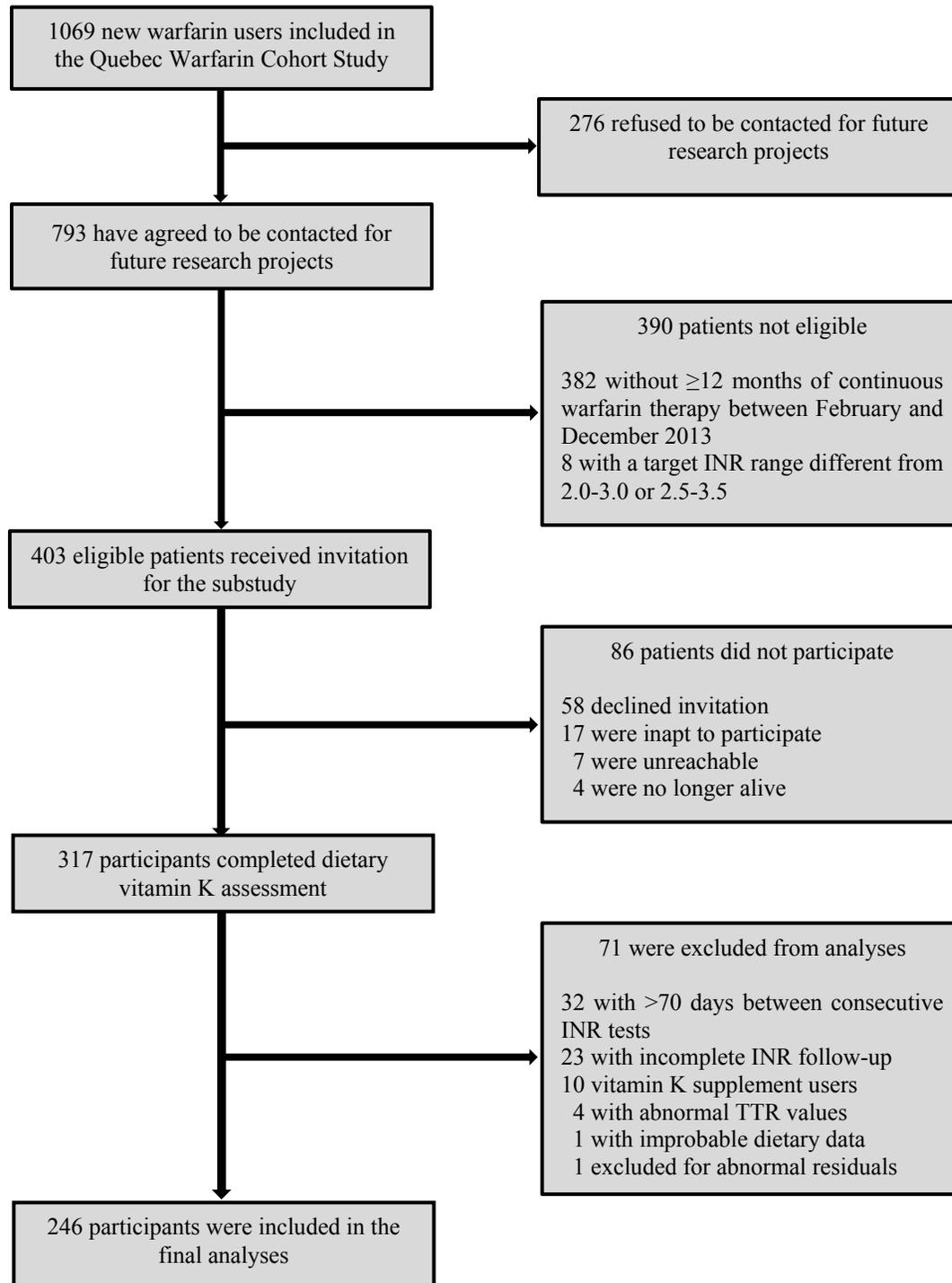
21. Rombouts, E.K., Rosendaal, F.R., and Van Der Meer, F.J.M., *Daily vitamin K supplementation improves anticoagulant stability*. *J Thromb Haemost*, 2007. **5**(10): p. 2043-8.
22. Ford, S.K., Misita, C.P., Shilliday, B.B., et al., *Prospective study of supplemental vitamin K therapy in patients on oral anticoagulants with unstable international normalized ratios*. *J Thromb Thrombolysis*, 2007. **24**(1): p. 23-7.
23. Reese, A.M., Farnett, L.E., Lyons, R.M., et al., *Low-dose vitamin K to augment anticoagulation control*. *Pharmacotherapy*, 2005. **25**(12): p. 1746-51.
24. Kamali, F. and Wynne, H., *Pharmacogenetics of warfarin*. *Annu Rev Med*, 2010. **61**: p. 63-75.
25. Nahar, R., Saxena, R., Deb, R., et al., *CYP2C9, VKORC1, CYP4F2, ABCB1 and F5 variants: influence on quality of long-term anticoagulation*. *Pharmacol Rep*, 2014. **66**(2): p. 243-9.
26. Osman, A., Enstrom, C., Arbring, K., et al., *Main haplotypes and mutational analysis of vitamin K epoxide reductase (VKORC1) in a Swedish population: a retrospective analysis of case records*. *J Thromb Haemost*, 2006. **4**(8): p. 1723-9.
27. Skov, J., Bladbjerg, E.M., Leppin, A., et al., *The influence of VKORC1 and CYP2C9 gene sequence variants on the stability of maintenance phase warfarin treatment*. *Thromb Res*, 2013. **131**(2): p. 125-9.
28. Wadelius, M., Chen, L.Y., Lindh, J.D., et al., *The largest prospective warfarin-treated cohort supports genetic forecasting*. *Blood*, 2008. **113**(4): p. 784-92.
29. Taube, J., Halsall, D., and Baglin, T., *Influence of cytochrome P-450 CYP2C9 polymorphisms on warfarin sensitivity and risk of over-anticoagulation in patients on long-term treatment*. *Blood*, 2000. **96**(5): p. 1816-9.
30. Tomita, H., Kadokami, T., Momii, H., et al., *Patient factors against stable control of warfarin therapy for Japanese non-valvular atrial fibrillation patients*. *Thromb Res*, 2013. **132**(5): p. 537-42.
31. Bussey, H.I., Bussey, M., Bussey-Smith, K.L., et al., *Evaluation of warfarin management with international normalized ratio self-testing and online remote monitoring and management plus low-dose vitamin k with genomic considerations: a pilot study*. *Pharmacotherapy*, 2013. **33**(11): p. 1136-46.

32. Cavallari, L.H., Aston, J.L., Momary, K.M., et al., *Predictors of unstable anticoagulation in African Americans*. J Thromb Thrombolysis, 2009. **27**(4): p. 430-7.
33. Rosendaal, F.R., Cannegieter, S.C., van der Meer, F.J., et al., *A method to determine the optimal intensity of oral anticoagulant therapy*. Thromb Haemost, 1993. **69**(3): p. 236-9.
34. Presse, N., Shatenstein, B., Kergoat, M.J., et al., *Validation of a semi-quantitative food frequency questionnaire measuring dietary vitamin K intake in elderly people*. J Am Diet Assoc, 2009. **109**(7): p. 1251-5.
35. Presse, N., Gaudreau, P., Greenwood, C.E., et al., *A single measurement of serum phylloquinone is an adequate indicator of long-term phylloquinone exposure in healthy older adults*. J Nutr, 2012. **142**(10): p. 1910-6.
36. Toffanello, E.D., Inelmen, E.M., Minicuci, N., et al., *Ten-year trends in dietary intake, health status and mortality rates in free-living elderly people*. J Nutr Health Aging, 2010. **14**(4): p. 259-64.
37. Taylor-Piliae, R.E., Norton, L.C., Haskell, W.L., et al., *Validation of a new brief physical activity survey among men and women aged 60-69 years*. Am J Epidemiol, 2006. **164**(6): p. 598-606.
38. Ansell, J., Hirsh, J., Hylek, E., et al., *Pharmacology and management of the vitamin K antagonists: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition)*. Chest, 2008. **133**(6 Suppl): p. 160S-198S.
39. Limdi, N.A., Wadelius, M., Cavallari, L., et al., *Warfarin pharmacogenetics: a single VKORC1 polymorphism is predictive of dose across 3 racial groups*. Blood, 2010. **115**(18): p. 3827-34.
40. Kim, K.H., Choi, W.S., Lee, J.H., et al., *Relationship between dietary vitamin K intake and the stability of anticoagulation effect in patients taking long-term warfarin*. Thromb Haemost, 2010. **104**(4): p. 755-9.
41. Rombouts, E.K., Rosendaal, F.R., and van der Meer, F.J., *Influence of dietary vitamin K intake on subtherapeutic oral anticoagulant therapy*. Br J Haematol, 2010. **149**(4): p. 598-605.

42. Rombouts, E.K., Rosendaal, F.R., and Van Der Meer, F.J., *Daily vitamin K supplementation improves anticoagulant stability*. *J Thromb Haemost*, 2007. **5**(10): p. 2043-8.
43. Presse, N., Kergoat, M.J., and 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**(1): p. 129-30.
44. McKeown, N.M., Jacques, P.F., Gundberg, C.M., et al., *Dietary and nondietary determinants of vitamin K biochemical measures in men and women*. *J Nutr*, 2002. **132**(6): p. 1329-34.
45. Leblanc, C., Dubé, M., Presse, N., et al., *Most warfarin users still avoid green vegetables and have low vitamin K intakes*. Submitted paper.
46. Sconce, E.A., Avery, P.J., Wynne, H.A., et al., *Vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 (VKORC1) polymorphism influences the anticoagulation response subsequent to vitamin K intake: a pilot study*. *J Thromb Haemost*, 2008. **6**(7): p. 1226-8.
47. Zuchinali, P., Souza, G.C., Aliti, G., et al., *Influence of VKORC1 gene polymorphisms on the effect of oral vitamin K supplementation in over-anticoagulated patients*. *J Thromb Thrombolysis*, 2014. **37**(3): p. 338-44.
48. Saito, R., Takeda, K., Yamamoto, K., et al., *Nutri-pharmacogenomics of warfarin anticoagulation therapy: VKORC1 genotype-dependent influence of dietary vitamin K intake*. *J Thromb Thrombolysis*, 2014. **38**(1): p. 105-14.
49. Gage, B.F., Eby, C., Johnson, J.A., et al., *Use of pharmacogenetic and clinical factors to predict the therapeutic dose of warfarin*. *Clin Pharmacol Ther*, 2008. **84**(3): p. 326-31.
50. Owen, R.P., Gong, L., Sagreiya, H., et al., *VKORC1 Pharmacogenomics Summary*. *Pharmacogenetics and Genomics*, 2010. **20**(10): p. 642-4.
51. Wan, Y., Heneghan, C., Perera, R., et al., *Anticoagulation control and prediction of adverse events in patients with atrial fibrillation: a systematic review*. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*, 2008. **1**(2): p. 84-91.

SUPPLEMENTAL MATERIAL

Supplemental Figure 1. Flowchart of participants included in analyses examining the association between dietary vitamin K intake and TTR.



Supplemental Table 1. Characteristics of warfarin-treated patients included in the analyses, according to the % overlap between the 12-month period covered by the vitamin K intake assessment and the 9-month period considered for TTR assessment.

Characteristics	Participants with		P ^a
	100% overlap (n=125) Values	<50% overlap (n=61) Values	
Sociodemographic			
Age, y, mean±SD	68.2±11.3	66.9±12.3	0.408
Sex (male), n (%)	86 (68.8)	32 (62.3)	0.410
Education, n (%)			
University or college	51 (40.8)	19 (31.1)	
Highschool	31 (24.8)	19 (31.1)	0.416
No degree	43 (34.4)	23 (37.7)	
Reported ethnicity (white), n (%)	125 (100.0)	61 (100.0)	>0.999
Health			
Body mass index, kg/m ² , mean±SD	28.4±5.1	29.3±6.0	0.351
Hypertension, n (%)	85 (68.0)	38 (62.3)	0.510
Diabetes, n (%)	28 (22.4)	20 (32.8)	0.129
Dyslipidemia, n (%)	88 (70.4)	37 (60.7)	0.184
Angina, n (%) ^b	31 (25.0)	12 (19.7)	0.420
History of myocardial infarction, n (%)	32 (25.6)	20 (32.8)	0.305
History of stroke, n (%)	14 (11.2)	5 (8.2)	0.525
Smokers, n (%)	10 (8.0)	10 (16.4)	0.083
Warfarin therapy			
Indication, n (%)			
Atrial fibrillation	80 (64.0)	43 (70.5)	0.380
Atrial flutter	14 (11.2)	6 (9.8)	0.778
Mechanic valve replacement	30 (24.0)	12 (19.7)	0.507
Mitral stenosis			
Target INR range of 2.0-3.0, n (%)	101 (80.8)	49 (80.3)	>0.999
TTR, mean±SD	70.5±18.8	73.5±18.3	0.237
Number of INR tests, mean±SD	13.9±6.6	14.1±8.3	0.585
Maintenance warfarin dose, mg/j, mean±SD	5.4±2.3	5.6±2.5	0.940
Genetic factors			
<i>CYP2C9</i> genotype, n (%) ^b			
*1/*1	78 (62.4)	35 (58.3)	
*1/*2 or *1/*3	46 (36.8)	24 (40.0)	0.778
*2/*2 or *2/*3 or *3/*3	1 (0.8)	1 (1.7)	
<i>VKORC1</i> genotype, n (%) ^b			
GG	43 (34.4)	20 (33.3)	
AG	61 (48.8)	28 (46.7)	0.867
AA	21 (16.8)	12 (20.0)	

INR; International Normalized Ratio; TTR: % time in therapeutic range

^aP-values for Mann-Whitney U and χ^2 tests, as appropriate.

Discussion

Notre hypothèse de recherche générale était que les patients anticoagulés à la warfarine avisés de restreindre leur consommation d'aliments riches en vitamine K ont de faibles apports alimentaires habituels de vitamine K, que de faibles apports alimentaires habituels de vitamine K sont associés à une moindre stabilité du traitement, et que la relation entre l'apport de vitamine K et la stabilité du traitement est modulée par le génotype de *VKORC1*. La première étude présentée dans ce mémoire suggère que les patients anticoagulés à la warfarine sont fréquemment conseillés de restreindre leur consommation d'aliments riches en vitamine K, une recommandation inadéquate associée à de plus faibles apports alimentaires de vitamine K. Les principaux résultats présentés dans le deuxième article montrent une association positive entre l'apport alimentaire usuel de vitamine K et la stabilité du traitement à la warfarine, et suggèrent que cette relation n'est pas modulée par le génotype de *VKORC1*.

Recommandations alimentaires et apport de vitamine K

Une forte proportion (68%) des participants à notre étude ont rapporté avoir été conseillés de restreindre leur consommation d'aliments riches en vitamine K, principalement les légumes verts. Cette proportion est toutefois plus élevée que celle rapportée dans d'autres travaux menés auprès de patients anticoagulés aux AVK. Par exemple, dans une étude menée auprès de 185 Américains anticoagulés à la warfarine, 32% ont indiqué devoir éviter complètement de consommer de l'épinard, lorsque questionnés spécifiquement sur leur consommation de ce légume [217]. Une proportion similaire de patients allemands croyaient devoir éviter de consommer des légumes verts et des fruits durant leur traitement aux AVK [245]. De plus, dans une étude menée au Royaume-Uni, 16% de 114 patients ont rapporté avoir réduit leur consommation de légumes verts suivant l'initiation d'un traitement à la warfarine [212].

Inversement, seulement 10% des participants à notre étude ont rapporté avoir été conseillés de maintenir une consommation stable d'aliments riches en vitamine K. Ce résultat est cohérent avec ceux d'une autre étude menée par notre groupe où seulement 4% des patients anticoagulés à la warfarine ont rapporté avoir été conseillés de maintenir des apports de vitamine K stables d'une journée à l'autre [28] et ceux d'une étude de 2015 menée en Slovénie où seulement 8%

de 214 patients anticoagulés à la warfarine ont rapporté pouvoir consommer des légumes de façon constante, alors que 90% d'entre eux croyaient ne pouvoir en consommer qu'à l'occasion [246]. Ces résultats contrastent toutefois avec ceux d'une autre étude menée chez des patients anticoagulés asiatiques, où 69% d'entre eux connaissaient l'importance de maintenir des habitudes alimentaires stables [247]. Néanmoins, les questions spécifiquement posées aux patients n'étaient pas décrites dans cette étude.

Par ailleurs, 22% des patients de notre échantillon ont rapporté ne pas se souvenir d'avoir reçu de recommandation spécifique à la vitamine K en lien avec leur traitement anticoagulant. Dans une autre étude, une proportion identique de patients anticoagulés avec un AVK croyaient que l'alimentation n'avait aucun effet sur leur traitement, alors que 10% n'en avaient aucune idée [245]. Les différentes pratiques cliniques entre les pays, de même que les dissimilitudes méthodologiques, notamment les questions spécifiquement posées aux patients, rendent les comparaisons directes difficiles entre les études. Somme toute, la majorité d'entre elles suggèrent une lacune dans les connaissances des patients envers les particularités nutritionnelles relatives à leur traitement anticoagulant aux AVK.

Explications possibles

Les raisons sous-jacentes à l'évitement des légumes verts chez les patients traités à la warfarine n'ont pas été spécifiquement investiguées dans notre étude. Néanmoins, un manque de connaissances relatives à l'interaction entre la vitamine K et la warfarine chez des professionnels de la santé, notamment sur les sources alimentaires de vitamine K [214, 248-251] a précédemment été soulevé. De plus, dans un sondage mené en 2005 auprès de 122 cliniciens (principalement des infirmiers et des pharmaciens) provenant de 42 États américains, tous ont déclaré conseiller les patients anticoagulés de maintenir un apport alimentaire stable de vitamine K. Curieusement, seulement $\approx 30\%$ d'entre eux ont toutefois affirmé ne jamais conseiller les patients d'éviter les aliments riches en vitamine K [214]. Les principaux facteurs cités par les cliniciens pour modifier leur recommandation habituelle étaient la perception d'une plus faible littératie et un risque thromboembolique important. D'autre part, certaines brochures d'informations fournissent des informations ambiguës, en soulignant l'importance d'un apport

constant de vitamine K, tout en suggérant des portions de légumes verts pouvant être restrictives pour certains patients [243, 252, 253].

Par ailleurs, dans plusieurs études sondant la compréhension des patients de leur traitement aux AVK, les questions relatives à l'interaction alimentaire avec la vitamine K et aux sources de cette vitamine figuraient parmi les moins bien répondues [217, 218, 245, 247]. La compréhension des documents semble aussi particulièrement difficile. En effet, 18% des patients seraient incapables de simplement identifier les informations relatives à la diète dans le guide à l'intention des patients produit par le fabricant du Coumadin® et approuvé par la *US Food and Drug Administration* [254]. De plus, dans une étude examinant l'efficacité d'une brochure d'information à améliorer les connaissances des patients envers leur traitement, le pourcentage d'entre eux indiquant pouvoir consommer des légumes (catégorie non précisée) de façon stable est passé de 8% à 47% suivant l'intervention [246]. Malgré cette augmentation significative, moins de la moitié des patients ont intégré l'information fournie dans la brochure. D'autre part, aussi peu que 10-40% de l'information médicale serait retenue par les patients [255, 256]. De plus, jusqu'à 48% de l'information retenue serait mal interprétée, une proportion augmentant avec la quantité d'informations fournies [256].

Apports de vitamine K chez les patients anticoagulés aux AVK

La distribution de l'apport alimentaire de vitamine K présentant typiquement une asymétrie positive, la médiane et la moyenne géométrique sont de meilleurs indicateurs de la tendance centrale que la moyenne arithmétique pour cette variable. L'apport médian de vitamine K des 317 participants à notre étude était de 74 µg/jour (EIQ: 43-120). En comparaison, celui-ci variait d'environ 47-186 µg/jour dans sept autres études menées auprès de patients anticoagulés aux AVK [95-97, 156, 187, 200, 212]. Toutefois, les estimations d'apport de vitamine K sont difficiles à comparer entre les études, notamment en raison des différents outils utilisés pour l'évaluation. Certaines ont utilisé le journal alimentaire et le relevé de 24 heures. Néanmoins, en raison de la grande variabilité intra-individuelle, de 6 à 13 jours d'évaluation sont nécessaires pour bien évaluer l'apport alimentaire de phylloquinone [30], un critère qui n'était pas toujours respecté [187, 200]. Dans ce contexte, le QFA est une méthode d'évaluation plus efficiente [30, 244]. Toutefois, les données colligées à l'aide de QFA, notamment celles relatives à la

consommation de légumes, sont généralement surestimées comparativement à celles issues de journaux alimentaires. L'inhabilité des journaux alimentaires à capturer les aliments consommés épisodiquement expliquerait une part des écarts observés entre les deux méthodes de mesure [244].

L'apport alimentaire de vitamine K varie également en fonction des lieux géographiques, reflétant entre autres les pratiques alimentaires distinctes. Somme toute, peu d'études ont objectivé l'apport alimentaire de vitamine K chez des patients anticoagulés aux AVK en Amérique du Nord. Li *et al.* ont rapporté un apport alimentaire médian de vitamine K de 55 µg/jour (EIQ: 43-69) chez 282 Américains débutant un traitement à la warfarine, tel qu'évalué par un journal alimentaire [156]. De plus, la moyenne géométrique de l'apport alimentaire de vitamine K était de 107 µg/jour (IC95%: 93-124) chez 147 Québécois âgés traités à la warfarine, tel qu'évalué par le même QFA que celui employé dans l'étude actuelle [221]. La dissimilitude observée avec la moyenne géométrique obtenue dans notre échantillon (71 µg/jour; IC95%: 66-77) pourrait résulter d'une proportion différente de patients adhérant à une recommandation visant la restriction de la consommation d'aliments riches en vitamine K. Elle pourrait également résulter d'autres différences entre les deux populations. En effet, plusieurs autres facteurs ont été associés à l'apport alimentaire de vitamine K, dont l'âge, le sexe, l'IMC, le type d'emploi, le niveau d'éducation et le tabagisme [20, 21, 23, 257, 258]. D'autre part, le QFA utilisé dans notre étude a été validé pour évaluer l'apport alimentaire relatif mais pas absolu de vitamine K [244]. On ne peut donc pas comparer directement l'apport alimentaire médian de vitamine K de notre échantillon à l'AS établi par l'*Institute of Medicine*, ni à l'apport médian des adultes américains de l'étude NHANES III. Néanmoins, l'apport alimentaire de vitamine K des patients anticoagulés de notre étude était nettement inférieur (53%) à celui des aînés en santé, et non anticoagulés, de l'étude de validation du QFA [244].

La concentration plasmatique de phylloquinone de patients anticoagulés a également été examinée par d'autres groupes de recherche. Dans une étude menée en Israël auprès de 180 patients traités à la warfarine, ≈12% d'entre eux présentaient une concentration plasmatique de phylloquinone inférieure à la normale [215]. Un groupe de la Corée a aussi montré une réduction d'environ 66% de la concentration plasmatique de phylloquinone suivant l'initiation de la

warfarine chez 40 patients [216]. Une possible restriction alimentaire en vitamine K a été évoquée pour expliquer ce résultat, ce qui concorde avec les résultats de la première étude présentée dans ce mémoire.

Implications cliniques

Ce mémoire présente la première étude montrant que les patients adhérant à une consigne visant à restreindre la consommation d'aliments riches en vitamine K présentent des apports alimentaires de vitamine K inférieurs à ceux n'adhérant pas à cette consigne. Cette différence dans l'apport médian de vitamine K était significative et importante, soit d'environ 35-50%. Or, les évidences scientifiques actuelles n'appuient pas la restriction de l'apport de vitamine K comme stratégie nutritionnelle dans le cadre de l'anticoagulothérapie. En effet, un statut vitaminiq ue K appauvri a été associé à une sensibilité accrue à la warfarine [95, 188], laquelle a été reliée à une augmentation du risque de saignement [219]. Les patients présentant un faible statut en vitamine K seraient aussi plus sensibles à la consommation épisodique d'aliments riches en vitamine K, ce qui augmenterait leur risque d'INR sous-thérapeutique [199, 208]. Enfin, de nombreuses études d'observation [96, 199, 200, 220, 221] et d'intervention [103, 104, 162, 223-225] appuient l'effet bénéfique d'un apport élevé de vitamine K sur la stabilité des INR. Ainsi, en regard des évidences actuelles, la restriction des apports de vitamine K chez les patients anticoagulés à la warfarine serait au mieux inefficace, sinon nuisible à l'efficacité et à la sécurité du traitement.

Une recommandation visant la restriction d'aliments riches en vitamine K pourrait également affecter la qualité de vie des patients. En effet, plus de la moitié des participants ayant rapporté avoir reçu cette recommandation ont indiqué ne pas y adhérer, ou y adhérer avec difficulté, principalement car cela allait à l'encontre de leurs habitudes ou préférences alimentaires. La qualité de la diète pourrait aussi en être altérée, particulièrement si la restriction alimentaire est maintenue sur une longue période, comme lors d'anticoagulothérapie chronique. En effet, une consommation restreinte de légumes verts pourrait contribuer à augmenter les risque associés à un faible apport de vitamine K, notamment en regard de la santé osseuse et cardiovasculaire [5], en plus de réduire l'apport d'autres nutriments, dont les folates et les caroténoïdes. L'anticoagulothérapie à la warfarine a d'ailleurs été associée à une altération du statut en folates

[207, 212, 213] et à une élévation de l'homocystéinémie [207, 213]. Étant un facteur de risque de maladies cardiovasculaires [259], l'hyperhomocystéinémie est particulièrement défavorable chez les patients anticoagulés, une population à risque accru de thrombose.

Bien que les nutritionnistes jouent un rôle prépondérant dans l'éducation nutritionnelle, peu de patients ont rapporté avoir reçu des recommandations de la part de ces professionnels, ce qui concorde avec les résultats d'une étude américaine [214]. Les patients reçoivent des recommandations par divers professionnels de la santé, à plusieurs reprises lors du suivi serré de l'INR. Toutefois, l'ensemble des professionnels impliqués dans l'initiation et le suivi du traitement à la warfarine partagent la responsabilité d'informer adéquatement les patients de cette interaction nutriment-médicament, tout en évitant une confusion susceptible d'entraîner l'exclusion des légumes verts de la diète. Selon ce qui a été rapporté par les patients, les nutritionnistes étaient, en proportion, les professionnels ayant prodigué le plus souvent une recommandation nutritionnelle relative à la vitamine K adéquate dans le cadre de l'anticoagulothérapie orale. Néanmoins, cette proportion était faible dans toutes les strates de professions. Nos résultats suggèrent que les recommandations émises par les professionnels sont soit inadéquates, soit mal interprétées par les patients. Dans les deux cas, cela illustre un besoin d'amélioration de l'enseignement offert par les professionnels de la santé sur l'interaction entre la vitamine K et la warfarine. Des études antérieures ont également souligné le besoin d'éducation concernant cette interaction auprès des professionnels de la santé [248, 249] et des patients [217, 218, 245-247].

Puisque la compréhension des patients de leur traitement semble généralement limitée, et que la quantité d'information médicale reçue par ceux-ci peut être considérable, les informations devraient être présentées de façon uniforme, simple et attrayante [246, 254]. Des rappels lors des suivis d'INR et une validation de la compréhension par rétroaction seraient également souhaitables [245, 246, 254]. Par ailleurs, les aliments riches en vitamine K ciblés par les patients étaient presque exclusivement les légumes verts. Toutefois, d'autres aliments riches en vitamine K, et en lipides (e.g. avocat, huiles, vinaigrettes), possèdent une biodisponibilité plus élevée et contribuent plus fortement au statut vitaminique K [260]. Ces aliments pourraient donc

avoir un effet plus important sur l'INR et mériteraient d'être considérés dans l'éducation nutritionnelle des patients.

Apport alimentaire de vitamine K et stabilité de l'anticoagulothérapie

La deuxième étude présentée dans ce mémoire montre une association significative entre l'apport alimentaire de vitamine K et la stabilité des INR chez 246 patients anticoagulés à la warfarine. La taille d'effet de l'apport de vitamine K sur le TTR était importante, diminuant la probabilité que cette association soit factice [261]. En effet, après un ajustement pour l'âge, l'INR cible, l'histoire d'infarctus du myocarde et le statut tabagique, une augmentation d'un logarithme de l'apport alimentaire habituel de vitamine K était associée à une augmentation d'environ 9 points de pourcentage du TTR. À titre comparatif, la taille d'effet spécifique à d'autres prédictors du TTR dont le sexe, la polymédication, l'abus d'alcool et les problèmes de santé mentale variait d'environ 2 à 5 points de pourcentage dans une cohorte de 124 619 patients anticoagulés à la warfarine [155]. Le TTR moyen des participants à notre étude était toutefois substantiellement plus élevé (72%) que celui observé chez des patients américains (55%) [129], suggérant un biais de participation et/ou de sélection. Un effet plus important de l'apport de vitamine K serait vraisemblablement observé chez des patients démontrant un contrôle instable du traitement. L'effet observé demeure toutefois important et cliniquement significatif considérant qu'il a été estimé qu'une augmentation de 8 et 10 points de pourcentage du TTR diminuait de 1% le risque annuel d'hémorragie majeure et d'AVC, respectivement [136].

Relation dose-effet

L'association entre l'apport alimentaire de vitamine K et la stabilité des INR était positive et logarithmique, tel qu'observé dans d'autres études [200, 221]. Ce type de relation implique un amenuisement de l'effet de l'apport de vitamine K sur le TTR à des niveaux élevés d'apport, suggérant que les patients présentant un faible statut vitaminique K sont ceux qui bénéficieraient le plus d'une augmentation de l'apport de vitamine K, en termes de stabilité des INR. Cet effet plateau a aussi été observé dans la relation entre l'apport alimentaire de vitamine K et la concentration plasmatique de phylloquinone [260, 262], et d'autres paramètres de la santé, tel que la cognition [263]. Toutefois, bien que la relation dose-effet observée entre l'apport de

vitamine K et le TTR augmente la probabilité que cette association soit causale, elle pourrait aussi être le fruit d'un facteur de confusion non considéré [261].

Cohérence avec les autres travaux de recherche

L'effet bénéfique d'un apport élevé de vitamine K sur la stabilité des INR observé dans notre étude est cohérent avec les résultats de cinq autres études observationnelles portant sur cette question. Notamment, une augmentation d'un logarithme de l'apport alimentaire habituel de vitamine K a été associée à une augmentation de 10,6 points de pourcentage du TTR chez des aînés anticoagulés à la warfarine [221], un résultat d'une ampleur similaire à celle observée dans l'étude actuelle. Par ailleurs, d'autres études ont rapporté un TTR plus élevé [96], une moindre variabilité des INR [200, 220] et un risque diminué d'INR sous-thérapeutique [199] chez des patients anticoagulés dont les apports de vitamine K étaient élevés comparativement à ceux dont les apports étaient faibles. En comparaison, seulement deux études observationnelles ont observé des résultats divergents, soit une association nulle [152] ou inverse [222] entre l'apport de vitamine K et la stabilité du traitement, durant la phase de post-stabilisation. Par ailleurs, l'effet bénéfique d'un apport élevé de vitamine K sur la stabilité de l'anticoagulothérapie aux AVK est appuyé par de multiples études de supplémentation où des doses de 100-500 µg/jour de vitamine K ont permis d'améliorer la stabilité des INR [103, 162, 223-225, 227], renforçant la crédibilité de l'association rapportée dans notre étude.

Enchaînement chronologique

L'évaluation alimentaire était effectuée *a posteriori* des dosages d'INR utilisés pour évaluer la stabilité du traitement. De par le devis rétrospectif utilisé et les contraintes méthodologiques propres au projet, le chevauchement complet entre la période de 12 mois couverte par le QFA et celle de 9 mois couvrant l'évaluation du TTR n'était pas possible pour tous les participants. Cet enchaînement chronologique sous-optimal constitue une limite importante dans l'évaluation de la plausibilité d'une relation. Nous avons présumé que ce décalage entre les deux mesures aurait peu d'impact sur l'association entre l'apport alimentaire de vitamine K et le TTR. En effet, les habitudes alimentaires sont généralement stables au cours du temps, du moins chez les aînés [260, 264], lesquels constituent la vaste majorité des patients anticoagulés à la warfarine.

Pour valider cette hypothèse, une analyse de sensibilité a été réalisée. Ce type d'analyse permet d'évaluer la sensibilité d'un modèle statistique à l'ajout, au retrait ou à la modification de paramètres incertains ou arbitraires, et de déterminer dans quelles circonstances le modèle en est perturbé. Un modèle robuste est relativement stable aux modifications de ces paramètres, augmentant la confiance dans les résultats. Ainsi, l'association entre l'apport de vitamine K et le TTR a été évaluée chez les patients pour lesquels le chevauchement entre l'évaluation alimentaire et celle du TTR était complet et ceux pour lesquels le chevauchement entre les deux mesures était faible (<50%). Étonnamment, après un ajustement pour les co-variables du modèle final, l'association entre l'apport de vitamine K et le TTR n'était plus significative chez les patients présentant un chevauchement complet, et inversement, significative et de très grande ampleur chez ceux dont le chevauchement était <50%. Ce résultat était contre-intuitif. En effet, d'une part, cela suggérait une influence importante du décalage entre les deux mesures sur l'association d'intérêt. D'autre part, puisque une erreur de mesure accrue de l'évaluation alimentaire aurait pu être attendue chez les patients dont le chevauchement entre les périodes couvertes par le QFA et le TTR était faible, une atténuation du coefficient de régression dans ce groupe aurait été plus facile à concevoir. Bien que les raisons expliquant ces résultats demeurent incertaines, quelques hypothèses ont été émises. D'abord, l'apport de vitamine K a pu varier au cours du temps, les patients anticoagulés à la warfarine recevant fréquemment des recommandations alimentaires relatives à la vitamine K à l'initiation du traitement. Or, l'administration du QFA étant plus rapprochée de l'initiation du traitement chez les patients dont le chevauchement entre les périodes couvertes par le QFA et le TTR était complet, ceux-ci peuvent avoir moins bien estimé leur apport alimentaire habituel de vitamine K des 12 derniers mois, se trouvant dans une période de transition alimentaire. Bien qu'il ne soit pas possible de vérifier cette hypothèse, ces patients avaient des apports alimentaires habituels de vitamine K significativement inférieurs à ceux présentant un chevauchement <50%. Ils étaient aussi beaucoup plus enclins à rapporter une diminution de leur niveau d'activité physique durant l'année que ceux dont le chevauchement était <50%. Ces éléments suggèrent une détérioration plus importante de l'état de santé de ces patients, pouvant confondre l'association entre l'apport de vitamine K et le TTR.

Mécanismes possibles

Les raisons qui sous-tendent l'effet bénéfique d'un apport élevé de vitamine K sur la stabilité des INR demeurent incertaines. Néanmoins, un apport élevé de vitamine K pourrait contribuer à la stabilité du traitement en régularisant la concentration plasmatique de phylloquinone. En effet, la relation entre l'apport de vitamine K et la concentration plasmatique de phylloquinone atteint un plateau lorsque l'apport de vitamine K excède 200 µg/jour [265], suggérant une saturation des mécanismes d'absorption de la vitamine. De plus, selon Sconce *et al.* [220], les patients consommant plus de vitamine K présenteraient une plus grande réserve corporelle de cette vitamine, ce qui les rendrait moins sensibles aux variations de l'apport. Inversement, ceux consommant peu de vitamine K seraient plus vulnérables à de petites variations de l'apport, affectant l'activation biologique des facteurs de coagulation, particulièrement ceux ayant une courte demi-vie tel que le facteur VII. Cette hypothèse concorde avec les résultats de deux autres études [199, 208], où les patients ayant un statut appauvri de vitamine K présentaient un risque accru d'INR sous-thérapeutique lors d'une augmentation ponctuelle de l'apport de vitamine K comparativement aux patients ayant un statut normal ou élevé en vitamine K. De plus, les individus ayant des apports habituels élevés de vitamine K présentent une variabilité intra-individuelle relative moins élevée de leurs apports que ceux ayant des apports habituels faibles de vitamine K, ce qui pourrait expliquer en partie l'effet bénéfique d'apports élevés de vitamine K sur la stabilité des INR [28]. Enfin, un apport élevé de vitamine K pourrait permettre une activité maximale et constante de la quinone réductase hépatique, ce qui pourrait stabiliser les niveaux d'hydroquinone disponible pour l'activation biologique des protéines de coagulation dépendantes de la vitamine K.

Implications cliniques

Bien que notre étude montre une association significative entre l'apport de vitamine K et la stabilité du traitement à la warfarine, des faiblesses méthodologiques limitent l'interprétation clinique de ce résultat. D'autre part, le devis utilisé permettait de générer des hypothèses de recherche, mais pas de déterminer si la relation était causale. La majorité des autres études publiées à ce jour appuient également un effet bénéfique d'un apport élevé de vitamine K sur la stabilité de l'anticoagulothérapie aux AVK. Toutefois, ces études présentent aussi des limites. D'autre part, les mécanismes biologiques proposés pour expliquer l'effet bénéfique d'un apport

élevé de vitamine K sur la stabilité des INR, bien que plausibles, demeurent hypothétiques. Enfin, l'augmentation de l'apport de vitamine K par l'alimentation ou la supplémentation pourrait exiger une augmentation de la dose de warfarine nécessaire pour maintenir le niveau désiré d'anticoagulation, une conséquence dont on questionne les risques potentiels, notamment en regard d'une diminution de la γ -carboxylation des protéines vitamine K-dépendantes extrahépatiques et d'une augmentation du risque de calcification vasculaire [223, 227, 266, 267]. Si le bénéfice d'une augmentation de l'apport de vitamine K dans le cadre du traitement aux AVK surpasse les risques potentiels encourus demeure incertain [266, 267]. Ainsi, l'augmentation de l'apport de vitamine K ne fait pas l'objet d'une recommandation officielle chez les patients anticoagulés aux AVK. Néanmoins, considérant les résultats prometteurs observés dans la littérature, ce champ de recherche demeure très actif.

Influence du génotype

L'association entre l'apport alimentaire de vitamine K et le TTR n'était pas significativement modulée par le génotype de *VKORC1* dans l'étude présentée. Inversement, l'effet d'un supplément de vitamine K (150 μ g à 5 mg) sur l'INR était modulé par *VKORC1* dans deux études préliminaires [78, 268]. En effet, l'allèle G du SNP rs9923231 de *VKORC1*, connu pour être associé à une résistance à la warfarine [93], était associé à une plus grande sensibilité à la vitamine K dans ces études. Certains travaux ont aussi montré un effet plus important de l'apport de vitamine K (alimentaire ou sous forme de supplément) sur la dose de warfarine chez les porteurs de l'allèle G de rs9923231 [78, 269]. L'ensemble de ces observations suggèrent un recyclage cellulaire plus rapide et plus efficace de la vitamine K chez les porteurs de l'allèle G, entraînant une plus grande γ -carboxylation des facteurs de coagulation dépendants de la vitamine K par une meilleure régénération de l'hydroquinone.

Plusieurs raisons pourraient expliquer la disparité des résultats obtenus dans notre étude et ceux des quelques études publiées sur cette question de recherche. D'abord, l'interprétation de nos résultats est limitée par le manque de robustesse de l'association entre l'apport de vitamine K et le TTR dans notre échantillon. De plus, les doses plus élevées et la plus forte biodisponibilité de la vitamine K sous forme de supplément que sous forme alimentaire ont peut-être facilité la détection d'une modulation de l'effet de la vitamine K sur l'INR par *VKORC1* dans les études

antérieures, malgré des tailles d'échantillon très inférieures à celle de notre étude. Ainsi, la possibilité de ne pas avoir décelé l'effet modulateur de *VKORC1* malgré son existence n'est pas écartée (erreur de type II). D'autre part, l'effet de *VKORC1* pourrait être moins important sur la stabilité à plus long terme du traitement que sur le changement ponctuel d'INR suivant une augmentation drastique de l'apport de vitamine K, notamment car dans la réalité clinique, la dose de warfarine est ajustée régulièrement à l'INR et donc, indirectement à l'apport de vitamine K. Les données de Zuchinali *et al.* montrant un effet de *VKORC1* sur le changement de l'INR 3 heures, mais pas 24 heures suivant une dose pharmacologique de vitamine K suggère aussi que l'effet du génotype de *VKORC1* sur la relation dose-réponse entre l'apport de vitamine K et l'INR puisse être de courte durée [268].

Relation entre le génotype de VKORC1 et le statut vitaminique K

Malgré l'hypothèse biologique plausible appuyant un effet plus important de l'apport de vitamine K sur l'INR chez les porteurs de l'allèle G de rs9923231, les études examinant l'évidence directe de l'influence de *VKORC1* sur le statut vitaminique K montrent des résultats variables. Si l'allèle G de rs9923231 tendait à être associé à une concentration plasmatique plus élevée de vitamine K dans une étude ($p=0,06$) [268], d'autres n'ont pas observé cette association [78, 216, 270]. Néanmoins, dans l'étude de Sconce *et al.* [78], la concentration plasmatique de vitamine K 2,3-époxyde augmentait selon le nombre de copies de l'allèle mineur (A) de rs9923231, après une supplémentation en vitamine K ($p=0,030$).

D'autres SNP de *VKORC1* influençant la dose de warfarine ont été associés au statut vitaminique K [17, 270, 271], néanmoins certaines de ces associations étaient inattendues. Par exemple, l'allèle G de rs8050894 et de rs7294, connu pour être associé à une sensibilité à la warfarine, a été associé à une concentration plasmatique plus élevée de phylloquinone dans une étude [271]. Ainsi, l'influence réelle du génotype de *VKORC1* sur le statut vitaminique K n'est actuellement pas clairement établie. La taille d'échantillon, le type de population, le biomarqueur utilisé pour évaluer le statut vitaminique K et les co-variables considérées ont sans doute contribué à ces résultats équivoques. Par ailleurs, d'autres gènes pourraient influencer l'association entre l'apport de vitamine K et la stabilité des INR. Par exemple, le gène codant pour la quinone réductase hépatique n'a pas été examiné dans le présent projet de recherche,

mais pourrait expliquer une part de la variabilité interindividuelle de la réponse à la vitamine K dans le cadre de l'anticoagulothérapie aux AVK, par une modulation de l'efficacité de cette enzyme à convertir la quinone en hydroquinone. D'autres gènes associés au métabolisme de la vitamine K (e.g. *ApoE*, *CYP4F2*) et le gène *GGCX* modulant le degré de γ -carboxylation des protéines pourraient aussi vraisemblablement être impliqués [271, 272].

Effet de CYP2C9 et VKORC1 sur la stabilité du traitement

Le génotype de *VKORC1* et de *CYP2C9* n'était pas significativement associé au TTR dans la deuxième étude présentée. Si certains travaux ont suggéré une influence de *CYP2C9* et de *VKORC1* sur la stabilité de l'anticoagulothérapie [167-169], plusieurs n'ont pas observé ces résultats [96, 152, 162, 165, 170-172]. Les différents devis expérimentaux, ainsi que la variabilité des tailles d'échantillon, des populations étudiées et des méthodes de mesure de la stabilité des INR ont sans doute contribué à ces résultats fluctuants. Par ailleurs, même parmi les études présentant des associations significatives, l'effet des SNP sur la stabilité des INR n'était pas toujours clair. Par exemple, dans une étude de Skov *et al.*, l'effet de *VKORC1* sur le TTR était modeste (≈ 5 points de pourcentage) et biologiquement difficile à interpréter, puisque les individus hétérozygotes pour le SNP rs9934438 étaient ceux présentant le plus faible TTR [169]. Par ailleurs, dans une autre étude [172], les associations rapportées entre le TTR et les polymorphismes de *CYP2C9* et *VKORC1* n'étaient plus significatives après une correction du seuil de signification pour tests multiples, tel que précisé dans un erratum [273].

Forces et limites

D'abord, ce mémoire présente la première étude à avoir examiné l'influence des recommandations relatives à la vitamine K reçues dans le cadre du traitement à la warfarine sur l'apport alimentaire habituel de vitamine K. Le biais de mémoire relatif aux recommandations reçues par les patients a été limité par une collecte de données effectuée relativement rapidement après l'initiation du traitement. Ceci permettait aussi une représentation des pratiques actuelles, augmentant la pertinence de nos résultats pour la pratique clinique. En plus d'une taille d'échantillon relativement élevée, les participants ont été recrutés dans 17 sites hospitaliers du Québec, ce qui constitue une force indéniable de ce projet de recherche. Les résultats ne sont toutefois pas nécessairement généralisables à d'autres populations, notamment car les pratiques

cliniques peuvent différer d'une organisation, d'une province ou d'un pays à un autre. La généralisation est aussi dépendante des critères d'exclusion de l'étude QWCS. Notamment, les patients anticoagulés pour une thrombose veineuse ou une embolie pulmonaire n'étaient pas représentés. Cependant, la recommandation alimentaire officielle pour les patients anticoagulés aux AVK ne diffère pas selon l'indication de traitement. Par ailleurs, une limite importante de notre étude est l'incertitude quant à l'apport de vitamine K des patients avant l'initiation de la warfarine. Ainsi, les différences observées dans l'apport de vitamine K entre les patients pourraient résulter de disparités préexistantes dans leur diète. Enfin, bien que les recommandations alimentaires réellement fournies par les professionnels de la santé n'étaient pas connues, nos données illustrent ce qui est compris et mis en application par les patients, ce qui a potentiellement plus d'effet sur les issues cliniques que les consignes fournies.

Le QFA utilisé pour évaluer l'apport alimentaire de vitamine K constitue une force des deux études présentées dans ce mémoire. En effet, celui-ci présente l'avantage majeur d'avoir été validé spécifiquement pour ce nutriment [244], limitant l'erreur de mesure. L'erreur de mesure de la consommation alimentaire est le plus souvent aléatoire, ce qui a pour conséquence de diminuer la puissance statistique et de limiter la capacité de détecter une association existante [258, 274]. Néanmoins, tel que précédemment discuté, le décalage entre l'évaluation alimentaire et l'évaluation du TTR constitue une faiblesse considérable de notre étude. De plus, toutes les erreurs de mesure ne peuvent pas être évitées. Par exemple, le contenu en phylloquinone des aliments varie selon divers facteurs, constituant une source d'erreur dans les bases de données alimentaires. Notamment, le lieu de la culture semble avoir une influence importante sur la teneur en phylloquinone des végétaux. Par exemple, des légumes verts cultivés Montréal présentaient un contenu de 1,2 à 3,2 fois plus élevé en phylloquinone que ceux cultivés à Boston dans une étude [275]. Par ailleurs, la phylloquinone (e.g. dans les huiles) est rapidement détruite par les rayons ultraviolets [1], un facteur qui n'est pas considéré dans l'évaluation de l'apport de ce nutriment. La saison n'influencerait toutefois pas [21, 26] ou très peu (<1% de la variance intra-individuelle) [30] l'apport alimentaire total de phylloquinone. D'autre part, l'apport de MK des participants n'a pas été mesuré dans notre étude, ni dans les autres études portant sur la relation entre l'apport de vitamine K et la stabilité à long terme des INR. Or, l'effet des MK sur l'INR, du moins celui de la MK-7, pourrait être plus important que celui de la phylloquinone

[193, 194]. La teneur en MK des aliments n'est toutefois pas disponible dans la base de données actuelle de Santé Canada [14]. La base de données américaine inclut la teneur en MK-4 de quelques aliments (<7%), mais pas celle des autres MK [13]. Cette donnée manquante pourrait entraîner une sous-estimation de l'ampleur réelle de l'association entre l'apport de vitamine K et la stabilité des INR, en augmentant l'erreur de mesure aléatoire.

Par ailleurs, l'utilisation d'un QFA est moins susceptible au biais lié à l'interviewer que celle de journaux alimentaires et de relevés de 24 heures, qui laissent plus de place à l'interprétation. De plus, dans notre étude, l'administration du QFA était effectuée par un seul interviewer pour tous les participants. Néanmoins, le risque de biais de mémoire peut être plus élevé lors de l'utilisation de QFA plutôt que de journaux alimentaires ou de relevés de 24 heures, car les apports sont estimés sur une plus longue période [276]. De plus, les patients peuvent être tentés de sur-rapporter leur consommation d'aliments considérés « sains » notamment les fruits et les légumes, et de sous-rapporter celle d'aliments jugés « malsains » [274]. Ce biais de désirabilité pourrait aussi vraisemblablement s'exprimer en sens inverse dans notre étude, les patients ayant rapporté avoir reçu la recommandation de limiter leur consommation de légumes verts pouvant être tentés de sous-rapporter leur consommation réelle de ces aliments. Les biais sont indésirables, car ils peuvent diminuer ou augmenter artificiellement la force d'une association. Les biomarqueurs constituent une alternative intéressante, car ils sont moins sujets à l'erreur de mesure [276], ne présentent pas l'inconvénient des biais de mémoire et de désirabilité, et peuvent mieux représenter la portion du nutriment réellement absorbée. Plusieurs biomarqueurs ont été utilisés pour évaluer le statut vitaminique K, notamment la phylloquinone plasmatique, le pourcentage d'ostéocalcine sous-carboxylée, la PIVKA-II (prothrombine sous-carboxylée) et l'excrétion urinaire des résidus Gla. La PIVKA-II pourrait être un biomarqueur intéressant chez une population anticoagulée, car elle refléterait plus spécifiquement le statut vitaminique K hépatique [15, 271], donc la vitamine K potentiellement disponible pour être réduite en hydroquinone. Par ailleurs, la concentration plasmatique de phylloquinone a été utilisée dans plusieurs études menées auprès de patients anticoagulés aux AVK [78, 102, 187, 188, 208, 215, 216, 268] et a été associée au degré de γ -carboxylation des protéines dépendantes de la vitamine K [258]. Malheureusement, de tels biomarqueurs n'étaient pas disponibles dans l'étude QWCS.

La stabilité des INR a été évaluée par le TTR dans notre étude, une méthode présentant plusieurs avantages. Notamment, le TTR a été associé aux risques thrombotiques et hémorragiques chez les patients anticoagulés [133, 136], facilitant l'interprétation clinique des données. De plus, cette mesure est très largement utilisée dans la littérature, facilitant la comparaison des études entre elles. Néanmoins, le TTR présente tout de même des limites. Notamment, cette méthode assume que le changement de l'INR est linéaire entre chaque mesure, ce qui pourrait être biologiquement inexact [277]. Par ailleurs, le TTR ne permet pas de faire la distinction entre les petits et les grands écarts d'INR hors de la fenêtre thérapeutique, malgré le plus grand impact de ces derniers sur le risque de complications cliniques. D'autre part, les INR ayant été colligés rétrospectivement dans de nombreux sites de suivi (n=80), certains sont manquants, ce qui peut biaiser la mesure du TTR. De plus, la fréquence et la distribution des INR manquants n'ont pas pu être évaluées. Le nombre d'INR différait aussi d'un patient à l'autre, apportant une variabilité dans la précision de la mesure du TTR. Enfin, dans de récentes publications, la considération d'autres mesures de la variabilité de l'INR, en complémentarité au TTR, augmentait la qualité de la mesure de la stabilité des INR [278, 279] et sa valeur en tant qu'indicateur du risque de complications indésirables.

L'absence d'ajustement pour les périodes d'hospitalisation est une autre limite de notre étude, car celles-ci peuvent confondre l'association entre l'apport de vitamine K et le TTR. En effet, l'hospitalisation pourrait vraisemblablement affecter les apports de vitamine K des patients via le menu offert et une diminution de l'appétence, par exemple. L'hospitalisation a aussi un effet délétère important sur le TTR [155], potentiellement médié par la condition de santé aiguë du patient, l'arrêt temporaire de l'anticoagulothérapie orale et/ou le changement de co-médication. D'autre part, l'information relative à la co-médication des patients n'était pas disponible au moment des analyses. Or, la co-médication pourrait avoir un effet important sur l'association entre l'apport de vitamine K et le TTR. En effet, dans l'étude de Rombouts *et al.*, l'effet bénéfique d'un supplément en vitamine K sur le TTR était détectable uniquement chez les patients ayant peu ou pas de co-médication [223].

Conclusions et perspectives

Ce mémoire présente la première étude à avoir examiné l'influence des recommandations alimentaires reçues par les patients anticoagulés à la warfarine sur leurs apports alimentaires habituels de vitamine K. Les résultats montrent qu'une forte proportion de patients anticoagulés limitent leur consommation d'aliments riches en vitamine K, plus spécifiquement les légumes verts, et que cette restriction alimentaire est associée à de faibles apports alimentaires habituels de vitamine K. Ces données sont importantes pour la pratique clinique. En effet, elles reflètent un besoin d'amélioration de l'éducation nutritionnelle offerte aux patients anticoagulés à la warfarine. Notamment, l'efficacité des méthodes d'enseignement mériterait d'être investiguée dans de futures études.

La deuxième étude présentée dans ce mémoire suggère qu'un apport alimentaire habituel élevé de vitamine K est associé à une meilleure stabilité du traitement à la warfarine, un résultat concordant avec ceux de travaux publiés dans la dernière décennie. Par ailleurs, cette étude est la première à avoir examiné l'effet modulateur potentiel du gène *VKORC1* sur l'association entre l'apport alimentaire de vitamine K et la stabilité des INR à long terme. Les résultats obtenus ne montrent pas d'effet significatif de *VKORC1* sur cette association. Néanmoins, des éléments affectant la validité interne et externe des résultats limitent l'interprétation qui peut en être faite. Il est notamment recommandé pour les études futures de superposer directement l'évaluation de l'apport alimentaire de vitamine K avec celle de la stabilité des INR et/ou d'utiliser un biomarqueur du statut vitaminique K. De plus, les sources de biais dans l'évaluation de la stabilité des INR devraient être limitées, notamment les valeurs manquantes d'INR. Par ailleurs, d'autres méthodes d'évaluation de la stabilité complémentaires au TTR pourraient être explorées.

Malheureusement, ces modifications méthodologiques ne pouvaient pas être effectuées dans le cadre de cette maîtrise. Néanmoins, les éléments d'amélioration précédemment soulevés dans ce projet seront pris en considération dans une étude randomisée contrôlée en cours à l'Institut de Cardiologie de Montréal, menée sous la supervision de Dre Guylaine Ferland et Dre Marie-Pierre Dubé. Brièvement, cette étude inclura un total de 120 patients adultes anticoagulés à la

warfarine démontrant un contrôle instable de l'anticoagulothérapie. L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'influence d'une intervention nutritionnelle de 24 semaines visant une augmentation de 150 µg/jour de l'apport habituel de vitamine K sur le TTR. Des analyses secondaires seront effectuées afin d'évaluer si le génotype de *VKORC1* module l'effet de l'apport de vitamine K sur le TTR. Des dosages de phylloquinone plasmatique et de PIVKA-II seront utilisés comme marqueurs du statut vitaminique K. De plus, des mesures hebdomadaires de l'INR seront réalisées par les patients à l'aide d'une méthode d'autocontrôle du traitement, ce qui limitera les risques de valeurs manquantes et permettra d'obtenir le même nombre d'INR pour chaque patient. Les informations concernant la co-médication et les périodes d'hospitalisations des patients seront aussi disponibles. Ainsi, l'étude d'intervention pourra permettre d'esquiver la plupart des limites précédemment évoquées, et de vérifier la causalité de la relation entre l'apport alimentaire de vitamine K et la stabilité des INR.

Enfin, depuis quelques années, de nouveaux anticoagulants oraux sont apparus sur le marché. Ces molécules ont été développées en réponse aux limites de l'anticoagulothérapie à la warfarine, notamment la grande variabilité interindividuelle de la dose thérapeutique, les risques associés à l'instabilité du traitement, le besoin d'un suivi étroit et les nombreuses interactions médicamenteuses et alimentaires. Au Canada, depuis 2008, le dabigatran, puis le rivaroxaban et l'apixaban ont été approuvés pour la prévention de la thrombose dans certaines conditions pathologiques [280]. Comparativement à la warfarine inhibant l'enzyme de recyclage cellulaire de la vitamine K, le mécanisme d'action de ces nouveaux anticoagulants oraux vise plutôt l'inhibition directe de la thrombine ou du facteur Xa. Depuis l'arrivée de ces agents thérapeutiques alternatifs sur le marché, la warfarine demeure toutefois très largement prescrite [71, 281]. En effet, ces molécules ne sont pas approuvées pour toutes les indications de la warfarine et il subsiste un besoin de développer un antidote en cas de surdose ou de chirurgie non élective. Ces éléments suggèrent que l'anticoagulothérapie à la warfarine demeurera fortement utilisée dans les prochaines années, illustrant l'importance de poursuivre les efforts de recherche afin d'en améliorer l'efficacité et la sécurité. Par ailleurs, certaines données de recherche fondamentale suggèrent que le statut vitaminique K serait un élément modulateur de la réponse aux nouveaux anticoagulants oraux chez le rat [282], une question qui pourra éventuellement être explorée chez l'humain.

Bibliographie

1. Suttie, J.W., *Vitamin K in Health and Disease*. 2009, New York: CRC Press Taylor & Francis Group. 224 p.
2. Dam, H., *The antihæmorrhagic vitamin of the chick*. *Biochem J*, 1935. **29**(6): p. 1273-85.
3. Almquist, H.J. and Stokstad, E.L.R., *Dietary hæmorrhagic disease in chicks*. *Nature*, 1935. **136**: p. 31.
4. *The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1943*. Nobelprize.org. Nobel Media AB 2014. [Page consultée le 26 mars 2015]; URL: http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1943/.
5. Ferland, G., *Vitamin K*, in *Present knowledge in nutrition*, Erdman, J.W., Macdonald, I.A., and Zeisel, S.H., Editors, 2012. p. 230-47.
6. Walther, B., Karl, J.P., Booth, S.L., et al., *Menaquinones, bacteria, and the food supply: the relevance of dairy and fermented food products to vitamin K requirements*. *Adv Nutr*, 2013. **4**(4): p. 463-73.
7. Booth, S.L., *Roles for vitamin K beyond coagulation*. *Annu Rev Nutr*, 2009. **29**: p. 89-110.
8. Shearer, M.J., Fu, X., and Booth, S.L., *Vitamin K nutrition, metabolism, and requirements: current concepts and future research*. *Adv Nutr*, 2012. **3**(2): p. 182-95.
9. Ferland, G., *The discovery of vitamin K and its clinical applications*. *Ann Nutr Metab*, 2012. **61**(3): p. 213-8.
10. Ball, G.F.M., *Vitamin K*, in *Vitamins: their role in the human body*, 2008, John Wiley and Sons. p. 256-272.
11. Schurgers, L.J. and Vermeer, C., *Determination of phylloquinone and menaquinones in food. Effect of food matrix on circulating vitamin K concentrations*. *Haemostasis*, 2000. **30**(6): p. 298-307.
12. *Nomenclature of Quinones with Isoprenoid Side-Chains*. *Eur J Biochem*, 1975. **53**(1): p. 15-18.

13. U.S. Department of Agriculture. *USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 27*. 2011 [Page consultée le 21 juin 2015]; URL: <http://ndb.nal.usda.gov/>.
14. Santé Canada. *Fichier canadien des éléments nutritifs*. 2010 [Page consultée le 21 juin 2015]; URL: <http://webprod3.hc-sc.gc.ca/cnf-fce/index-fra.jsp>.
15. Shearer, M.J. and Newman, P., *Metabolism and cell biology of vitamin K*. *Thromb Haemost*, 2008. **100**(4): p. 530-47.
16. Schurgers, L.J., Geleijnse, J.M., Grobbee, D.E., et al., *Nutritional Intake of Vitamins K1 (Phylloquinone) and K2 (Menaquinone) in The Netherlands*. *J Nutr Environ Med*, 1999. **9**(2): p. 115-122.
17. Nimptsch, K., Nieters, A., Hailer, S., et al., *The association between dietary vitamin K intake and serum undercarboxylated osteocalcin is modulated by vitamin K epoxide reductase genotype*. *Br J Nutr*, 2009. **101**(12): p. 1812-20.
18. Bentley, R. and Meganathan, R., *Biosynthesis of vitamin K (menaquinone) in bacteria*. *Microbiol Rev*, 1982. **46**(3): p. 241-80.
19. Booth, S.L., Pennington, J.A.T., and Sadowski, J.A., *Food sources and dietary intakes of vitamin K-1 (phylloquinone) in the American diet: data from the FDA Total Diet Study*. *J Am Diet Assoc*, 1996. **96**(2): p. 149-154.
20. Thane, C.W., Bolton-Smith, C., and Coward, W.A., *Comparative dietary intake and sources of phylloquinone (vitamin K1) among British adults in 1986-7 and 2000-1*. *Br J Nutr*, 2006. **96**(6): p. 1105-15.
21. Thane, C.W., Paul, A.A., Bates, C.J., et al., *Intake and sources of phylloquinone (vitamin K1): variation with socio-demographic and lifestyle factors in a national sample of British elderly people*. *Br J Nutr*, 2002. **87**(6): p. 605-13.
22. Yan, L., Zhou, B., Greenberg, D., et al., *Vitamin K status of older individuals in northern China is superior to that of older individuals in the UK*. *Br J Nutr*, 2004. **92**(6): p. 939-45.
23. Duggan, P., Cashman, K.D., Flynn, A., et al., *Phylloquinone (vitamin K1) intakes and food sources in 18-64-year-old Irish adults*. *Br J Nutr*, 2004. **92**(1): p. 151-8.

24. Booth, S.L., Tucker, K.L., McKeown, N.M., et al., *Relationships between dietary intakes and fasting plasma concentrations of fat-soluble vitamins in humans*. J Nutr, 1997. **127**(4): p. 587-92.
25. Presse, N., Shatenstein, B., Kergoat, M.J., et al., *Low vitamin K intakes in community-dwelling elders at an early stage of Alzheimer's disease*. J Am Diet Assoc, 2008. **108**(12): p. 2095-9.
26. Booth, S.L., Sokoll, L.J., O'Brien, M.E., et al., *Assessment of dietary phylloquinone intake and vitamin K status in postmenopausal women*. Eur J Clin Nutr, 1995. **49**(11): p. 832-41.
27. National Research Council, *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc*. 2001, Washington, DC: The National Academies Press p.
28. Presse, N., Kergoat, M.J., and 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**(1): p. 129-30.
29. Thane, C.W., Bates, C.J., Shearer, M.J., et al., *Plasma phylloquinone (vitamin K1) concentration and its relationship to intake in a national sample of British elderly people*. Br J Nutr, 2002. **87**(6): p. 615-22.
30. Presse, N., Payette, H., Shatenstein, B., et al., *A minimum of six days of diet recording is needed to assess usual vitamin K intake among older adults*. J Nutr, 2011. **141**(2): p. 341-6.
31. Gouvernement du Canada. *Gazette du Canada Partie II, Vol.139, no. 21*. 2005 [Page consultée le 29 octobre 2012]; URL: <http://publications.gc.ca/site/archivee-archived.html?url=http://publications.gc.ca/gazette/archives/p2/2005/2005-10-19/pdf/g2-13921.pdf>.
32. Wyeth Consumer Healthcare. *Centrum products*. 2015 [Page consultée le 23 avril 2015]; URL: <http://www.centrum.ca/products>.
33. Adrien Gagnon. *Nos produits, vitamines et minéraux*. 2015 [Page consultée le 23 avril 2015]; URL: <http://adriengagnon.com/fr/produits/vitamines-mineraux>.
34. Jamieson. *Products, supplements*. 2015 [Page consultée le 23 avril 2015]; URL: <http://www.jamiesonvitamins.ca/fr/product-list/18>.

35. Shearer, M.J., McBurney, A., and Barkhan, P., *Studies on the absorption and metabolism of phylloquinone (vitamin K1) in man*. *Vitam Horm*, 1974. **32**: p. 513-42.
36. Gijssbers, B.L., Jie, K.S., and Vermeer, C., *Effect of food composition on vitamin K absorption in human volunteers*. *Br J Nutr*, 1996. **76**(2): p. 223-9.
37. Garber, A.K., Binkley, N.C., Krueger, D.C., et al., *Comparison of phylloquinone bioavailability from food sources or a supplement in human subjects*. *J Nutr*, 1999. **129**(6): p. 1201-3.
38. Jones, K.S., Bluck, L.J., Wang, L.Y., et al., *The effect of different meals on the absorption of stable isotope-labelled phylloquinone*. *Br J Nutr*, 2009. **102**(8): p. 1195-202.
39. Booth, S.L., Lichtenstein, A.H., and Dallal, G.E., *Phylloquinone absorption from phylloquinone-fortified oil is greater than from a vegetable in younger and older men and women*. *J Nutr*, 2002. **132**(9): p. 2609-12.
40. Goncalves, A., Margier, M., Roi, S., et al., *Intestinal scavenger receptors are involved in vitamin K1 absorption*. *J Biol Chem*, 2014. **289**(44): p. 30743-30752.
41. Reboul, E. and Borel, P., *Proteins involved in uptake, intracellular transport and basolateral secretion of fat-soluble vitamins and carotenoids by mammalian enterocytes*. *Prog Lipid Res*, 2011. **50**(4): p. 388-402.
42. Lamon-Fava, S., Sadowski, J.A., Davidson, K.W., et al., *Plasma lipoproteins as carriers of phylloquinone (vitamin K1) in humans*. *Am J Clin Nutr*, 1998. **67**(6): p. 1226-31.
43. Schurgers, L.J. and Vermeer, C., *Differential lipoprotein transport pathways of K-vitamins in healthy subjects*. *Biochim Biophys Acta*, 2002. **1570**(1): p. 27-32.
44. Erkkila, A.T., Lichtenstein, A.H., Dolnikowski, G.G., et al., *Plasma transport of vitamin K in men using deuterium-labeled collard greens*. *Metabolism*, 2004. **53**(2): p. 215-21.
45. Sadowski, J.A., Hood, S.J., Dallal, G.E., et al., *Phylloquinone in plasma from elderly and young adults: factors influencing its concentration*. *Am J Clin Nutr*, 1989. **50**(1): p. 100-8.
46. Usui, Y., Tanimura, H., Nishimura, N., et al., *Vitamin K concentrations in the plasma and liver of surgical patients*. *Am J Clin Nutr*, 1990. **51**(5): p. 846-52.

47. Thijssen, H.H. and Drittij-Reijnders, M.J., *Vitamin K status in human tissues: tissue-specific accumulation of phylloquinone and menaquinone-4*. Br J Nutr, 1996. **75**(1): p. 121-7.
48. Olson, R.E., Chao, J., Graham, D., et al., *Total body phylloquinone and its turnover in human subjects at two levels of vitamin K intake*. Br J Nutr, 2002. **87**(6): p. 543-53.
49. Shearer, M.J., Mallinson, C.N., Webster, G.R., et al., *Clearance from plasma and excretion in urine, faeces and bile of an intravenous dose of tritiated vitamin K 1 in man*. Br J Haematol, 1972. **22**(5): p. 579-88.
50. Tortora, G. and Derickson, B., *Principes d'anatomie et de physiologie, 2e édition*. 2007. 1121 p.
51. Black, L., Shelby, R., Brnjac, E., et al., *Blood easy : coagulation simplified*, 2013, ORBCON: Ontario.
52. Riddel, J.P., Jr., Aouizerat, B.E., Miaskowski, C., et al., *Theories of blood coagulation*. J Pediatr Oncol Nurs, 2007. **24**(3): p. 123-31.
53. Rick, M.E., *Activation of factor VIII by factor IXa*. Blood, 1982. **60**(3): p. 744-51.
54. Schuijt, T.J., Bakhtiari, K., Daffre, S., et al., *Factor Xa activation of factor V is of paramount importance in initiating the coagulation system: lessons from a tick salivary protein*. Circulation, 2013. **128**(3): p. 254-66.
55. Larjava, H., *Oral wound healing: cell biology and clinical management* 2012: Wiley-Blackwell. 432 p.
56. Knesek, D., Peterson, T.C., and Markel, D.C., *Thromboembolic prophylaxis in total joint arthroplasty*. Thrombosis, 2012.
57. Colman, R., Marder, V., Clowes, A., et al., *Hemostasis and thrombosis: basic principles and clinical practice, 5th edition*. 2006, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 1826 p.
58. Hoffman, M., *A cell-based model of coagulation and the role of factor VIIa*. Blood Rev, 2003. **17 Suppl 1**: p. S1-5.
59. Booth, S.L., Martini, L., Peterson, J.W., et al., *Dietary phylloquinone depletion and repletion in older women*. J Nutr, 2003. **133**(8): p. 2565-9.
60. Suttie, J.W., Mummah-Schendel, L.L., Shah, D.V., et al., *Vitamin K deficiency from dietary vitamin K restriction in humans*. Am J Clin Nutr, 1988. **47**(3): p. 475-80.

61. Ferland, G., Sadowski, J.A., and O'Brien, M.E., *Dietary induced subclinical vitamin K deficiency in normal human subjects*. J Clin Invest, 1993. **91**(4): p. 1761-8.
62. *Routine administration of vitamin K to newborns. Joint position paper of the Canadian Paediatric Society and the Committee on Child and Adolescent Health of the College of Family Physicians of Canada*. Can Fam Physician, 1998. **44**: p. 1083-90.
63. Halfdanarson, T.R., Litzow, M.R., and Murray, J.A., *Hematologic manifestations of celiac disease*. Blood, 2007. **109**(2): p. 412-421.
64. Krasinski, S.D., Russell, R.M., Furie, B.C., et al., *The prevalence of vitamin K deficiency in chronic gastrointestinal disorders*. AJCN, 1985. **41**(3): p. 639-43.
65. Jagannath, V.A., Fedorowicz, Z., Thaker, V., et al., *Vitamin K supplementation for cystic fibrosis*. Cochrane Database Syst Rev, 2013. **4**: p. Cd008482.
66. Compendium of Pharmaceuticals and Specialties online version (e-CPS), *CPhA Monograph : Phyonadione*. In : Gray Jean, editor., 2015: Ottawa (ON). Canadian Pharmacists Association, c2015.
67. Mueller, R.L. and Scheidt, S., *History of drugs for thrombotic disease. Discovery, development, and directions for the future*. Circulation, 1994. **89**(1): p. 432-49.
68. Lin, Y., Shen, X., Yuan, Q., et al., *Microbial biosynthesis of the anticoagulant precursor 4-hydroxycoumarin*. Nat Commun, 2013.
69. Nichol, E.S. and Page, S.W.J., *Dicumarol Therapy in Acute Coronary Thrombosis: Results in Fifty Attacks, with Review of Data on Embolic Complications and Immediate Mortality in Myocardial Infarction*. Anesth Analg, 1947. **26**(5): p. 105.
70. US Food and drug administration. *Approved drug products, Coumadin, Label information*. 2011 [Page consultée le 26 février 2015]; URL: http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2011/009218s1071bl.pdf.
71. IMS Health Incorporated, *Top 25 Medicines by Dispensed Prescriptions (U.S.)*, 2013: Danbury, Connecticut, USA.
72. Holmes, M.V., Hunt, B.J., and Shearer, M.J., *The role of dietary vitamin K in the management of oral vitamin K antagonists*. Blood Rev, 2012. **26**(1): p. 1-14.
73. Santé Canada. *Base de données sur les produits pharmaceutiques*. [Page consultée le 24 février 2015]; URL: <http://www.hc-sc.gc.ca/dhp-mps/prodpharma/databasdon/index-fra.php>.

74. Weitz, J., *Chapter 30. Blood coagulation and anticoagulant, fibrinolytic, and antiplatelet drugs*, in *Goodman and Gilman's Pharmacological Basis of Therapeutics, 12th ed*, Brunton, L., Chabner, A., and Knollmann, B., Editors, 2011, McGraw-Hill Professional: New York. p. 849-76.
75. Bristol-Myers Squibb. *Product monograph, Coumadin*. 2011 [Page consultée le 15 janvier 2015]; URL: http://www.bmscanada.ca/static/products/en/pm_pdf/COUMADIN_EN_PM.pdf.
76. Stehle, S., Kirchheiner, J., Lazar, A., et al., *Pharmacogenetics of oral anticoagulants: a basis for dose individualization*. Clin Pharmacokinet, 2008. **47**(9): p. 565-94.
77. Ageno, W., Gallus, A.S., Wittkowsky, A., et al., *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): p. e44S-88S.
78. Sconce, E.A., Avery, P.J., Wynne, H.A., et al., *Vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 (VKORC1) polymorphism influences the anticoagulation response subsequent to vitamin K intake: a pilot study*. J Thromb Haemost, 2008. **6**(7): p. 1226-8.
79. Holbrook, A., Schulman, S., Witt, D.M., et al., *Evidence-based management of 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): p. e152S-84S.
80. Harter, K., Levine, M., and Henderson, S.O., *Anticoagulation drug therapy: a review*. West J Emerg Med, 2015. **16**(1): p. 11-7.
81. Poller, L., *International Normalized Ratios (INR): the first 20 years*. J Thromb Haemost, 2004. **2**(6): p. 849-60.
82. Harris, N. *The International Normalized Ratio: How well do we understand this measurement?* 2012 [Page consultée le 17 mars 2015; URL: <https://www.aacc.org/community/national-academy-of-clinical-biochemistry/scientific-shorts/2012/the-international-normalized-ratio-how-well-do-we-understand-this-measurement>].
83. Favaloro, E.J. and Lippi, G., *The new oral anticoagulants and the future of haemostasis laboratory testing*. Biochem Med (Zagreb), 2012. **22**(3): p. 329-41.

84. Kearon, C., *Natural history of venous thromboembolism*. *Circulation*, 2003. **107**(23 Suppl 1): p. I22-30.
85. Lloyd-Jones, D.M., Wang, T.J., Leip, E.P., et al., *Lifetime Risk for Development of Atrial Fibrillation: The Framingham Heart Study*. *Circulation*, 2004. **110**(9): p. 1042-1046.
86. Wolf, P.A., Abbott, R.D., and Kannel, W.B., *Atrial fibrillation as an independent risk factor for stroke: the Framingham Study*. *Stroke*, 1991. **22**(8): p. 983-8.
87. Whitlock, R.P., Sun, J.C., Fries, S.E., et al., *Antithrombotic and thrombolytic therapy for valvular disease: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines*. Chest, 2012. **141**(2 Suppl): p. e576S-600S.
88. American College of Cardiology, American Heart Association Task Force on Practice Guidelines, Society of Cardiovascular Anesthesiologists, et al., *ACC/AHA 2006 guidelines for the management of patients with valvular heart disease: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (writing Committee to Revise the 1998 guidelines for the management of patients with valvular heart disease) developed in collaboration with the Society of Cardiovascular Anesthesiologists endorsed by the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions and the Society of Thoracic Surgeons*. *J Am Coll Cardiol*, 2006. **48**(3): p. e1-148.
89. You, J.J., Singer, D.E., Howard, P.A., et al., *Antithrombotic therapy for atrial fibrillation: Antithrombotic therapy and prevention of thrombosis, 9th ed: american college of chest physicians evidence-based clinical practice guidelines*. Chest, 2012. **141**(2 suppl): p. e531S-e575S.
90. Kearon, C., Akl, E.A., Comerota, A.J., et al., *Antithrombotic therapy for VTE disease: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines*. Chest, 2012. **141**(2 Suppl): p. e419S-94S.
91. Loebstein, R., Yonath, H., Peleg, D., et al., *Interindividual variability in sensitivity to warfarin--Nature or nurture?* *Clin Pharmacol Ther*, 2001. **70**(2): p. 159-64.

92. Sconce, E.A., Khan, T.I., Wynne, H.A., et al., *The impact of CYP2C9 and VKORC1 genetic polymorphism and patient characteristics upon warfarin dose requirements: proposal for a new dosing regimen*. Blood, 2005. **106**(7): p. 2329-33.
93. Gage, B.F., Eby, C., Johnson, J.A., et al., *Use of pharmacogenetic and clinical factors to predict the therapeutic dose of warfarin*. Clin Pharmacol Ther, 2008. **84**(3): p. 326-31.
94. Saleh, M.I., *Clinical Predictors Associated With Warfarin Sensitivity*. Am J Ther, 2015.
95. Lubetsky, A., Dekel-Stern, E., Chetrit, A., et al., *Vitamin K intake and sensitivity to warfarin in patients consuming regular diets*. Thromb Haemost, 1999. **81**(3): p. 396-9.
96. Wolkanin-Bartnik, J., Pogorzelska, H., Szperl, M., et al., *Impact of genetic and clinical factors on dose requirements and quality of anticoagulation therapy in Polish patients receiving acenocoumarol: dosing calculation algorithm*. Pharmacogenet Genomics, 2013. **23**(11): p. 611-8.
97. Khan, T., Wynne, H., Wood, P., et al., *Dietary vitamin K influences intra-individual variability in anticoagulant response to warfarin*. Br J Haematol, 2004. **124**(3): p. 348-54.
98. Gage, B.F., Eby, C., Milligan, P.E., et al., *Use of pharmacogenetics and clinical factors to predict the maintenance dose of warfarin*. Thromb Haemost, 2004. **91**(1): p. 87-94.
99. Kabagambe, E.K., Beasley, T.M., and Limdi, N.A., *Vitamin K intake, body mass index and warfarin maintenance dose*. Cardiology, 2013. **126**(4): p. 214-8.
100. Rasmussen, M.A., Skov, J., Bladbjerg, E.-M., et al., *Multivariate analysis of the relation between diet and warfarin dose*. Eur J Clin Pharmacol, 2012. **68**(3): p. 321-8.
101. Aquilante, C.L., Langae, T.Y., Lopez, L.M., et al., *Influence of coagulation factor, vitamin K epoxide reductase complex subunit 1, and cytochrome P450 2C9 gene polymorphisms on warfarin dose requirements*. Clin Pharmacol Ther, 2006. **79**(4): p. 291-302.
102. Kamali, F., Edwards, C., Butler, T.J., et al., *The influence of (R)- and (S)-warfarin, vitamin K and vitamin K epoxide upon warfarin anticoagulation*. Thromb Haemost, 2000. **84**(1): p. 39-42.

103. Sconce, E., Avery, P., Wynne, H., et al., *Vitamin K supplementation can improve stability of anticoagulation for patients with unexplained variability in response to warfarin*. *Blood*, 2007. **109**(6): p. 2419-23.
104. Ford, S.K., Misita, C.P., Shilliday, B.B., et al., *Prospective study of supplemental vitamin K therapy in patients on oral anticoagulants with unstable international normalized ratios*. *J Thromb Thrombolysis*, 2007. **24**(1): p. 23-7.
105. International Human Genome Sequencing Consortium, *Finishing the euchromatic sequence of the human genome*. *Nature*, 2004. **431**(7011): p. 931-945.
106. Bush, W.S. and Moore, J.H., *Chapter 11: Genome-wide association studies*. *PLoS Comput Biol*, 2012. **8**(12): p. e1002822.
107. Institute, B. *SNP*. 2015 [Page consultée le 31 mai 2015]; URL: <http://www.broadinstitute.org/education/glossary/snp>.
108. Rieder, M.J., Reiner, A.P., Gage, B.F., et al., *Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose*. *N Engl J Med*, 2005. **352**(22): p. 2285-93.
109. Cooper, G.M., Johnson, J.A., Langae, T.Y., et al., *A genome-wide scan for common genetic variants with a large influence on warfarin maintenance dose*. *Blood*, 2008. **112**(4): p. 1022-7.
110. Scordo, M.G., Pengo, V., Spina, E., et al., *Influence of CYP2C9 and CYP2C19 genetic polymorphisms on warfarin maintenance dose and metabolic clearance*. *Clin Pharmacol Ther*, 2002. **72**(6): p. 702-10.
111. Lindh, J.D., Holm, L., Andersson, M.L., et al., *Influence of CYP2C9 genotype on warfarin dose requirements--a systematic review and meta-analysis*. *Eur J Clin Pharmacol*, 2009. **65**(4): p. 365-75.
112. Andrea, G., Ambrosio, R.L., 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*, 2004. **105**(2): p. 645-649.
113. Schelleman, H., Limdi, N.A., and Kimmel, S.E., *Ethnic differences in warfarin maintenance dose requirement and its relationship with genetics*. *Pharmacogenomics*, 2008. **9**(9): p. 1331-46.

114. Lee, S.C., Ng, S.S., Oldenburg, J., et al., *Interethnic variability of warfarin maintenance requirement is explained by VKORC1 genotype in an Asian population*. Clin Pharmacol Ther, 2006. **79**(3): p. 197-205.
115. Ansell, J., Hirsh, J., Hylek, E., et al., *Pharmacology and management of the vitamin K antagonists: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition)*. Chest, 2008. **133**(6 Suppl): p. 160S-198S.
116. Limdi, N.A., Wadelius, M., Cavallari, L., et al., *Warfarin pharmacogenetics: a single VKORC1 polymorphism is predictive of dose across 3 racial groups*. Blood, 2010. **115**(18): p. 3827-3834.
117. Hart, R.G., Pearce, L.A., and Aguilar, M.I., *Meta-analysis: antithrombotic therapy to prevent stroke in patients who have nonvalvular atrial fibrillation*. Ann Intern Med, 2007. **146**(12): p. 857-67.
118. Lip, G.Y. and Edwards, S.J., *Stroke prevention with aspirin, warfarin and ximelagatran in patients with non-valvular atrial fibrillation: a systematic review and meta-analysis*. Thromb Res, 2006. **118**(3): p. 321-33.
119. Aguilar, M.I., Hart, R., and Pearce, L.A., *Oral anticoagulants versus antiplatelet therapy for preventing stroke in patients with non-valvular atrial fibrillation and no history of stroke or transient ischemic attacks*. Cochrane Database Syst Rev, 2007(3): p. CD006186.
120. van Walraven, C., Hart, R.G., Singer, D.E., et al., *Oral anticoagulants vs aspirin in nonvalvular atrial fibrillation: an individual patient meta-analysis*. JAMA, 2002. **288**(19): p. 2441-8.
121. Cannegieter, S.C., Rosendaal, F.R., and Briet, E., *Thromboembolic and bleeding complications in patients with mechanical heart valve prostheses*. Circulation, 1994. **89**(2): p. 635-41.
122. Budnitz, D.S., Shehab, N., Kegler, S.R., et al., *Medication use leading to emergency department visits for adverse drug events in older adults*. Ann Intern Med, 2007. **147**(11): p. 755-65.
123. Da Silva, M.S. and Sobel, M., *Anticoagulants: To bleed or not to bleed, that is the question*. Semin Vasc Surg, 2002. **15**(4): p. 256-267.

124. Wysowski, D.K., Nourjah, P., and Swartz, L., *Bleeding complications with warfarin use: A prevalent adverse effect resulting in regulatory action*. Arch Intern Med, 2007. **167**(13): p. 1414-1419.
125. Garcia, D.A., Lopes, R.D., and Hylek, E.M., *New-onset atrial fibrillation and warfarin initiation: high risk periods and implications for new antithrombotic drugs*. Thromb Haemost, 2010. **104**(6): p. 1099-105.
126. Yang, J., Chen, Y., Li, X., et al., *Influence of CYP2C9 and VKORC1 genotypes on the risk of hemorrhagic complications in warfarin-treated patients: A systematic review and meta-analysis*. Int J Cardiol, 2013. **168**(4): p. 4234-4243.
127. Oake, N., Jennings, A., Forster, A.J., et al., *Anticoagulation intensity and outcomes among patients prescribed oral anticoagulant therapy: a systematic review and meta-analysis*. CMAJ, 2008. **179**(3): p. 235-44.
128. Cios, D.A., Baker, W.L., Sander, S.D., et al., *Evaluating the impact of study-level factors on warfarin control in U.S.-based primary studies: a meta-analysis*. Am J Health Syst Pharm, 2009. **66**(10): p. 916-25.
129. Baker, W.L., Cios, D.A., Sander, S.D., et al., *Meta-analysis to assess the quality of warfarin control in atrial fibrillation patients in the United States*. J Manag Care Pharm, 2009. **15**(3): p. 244-52.
130. Reynolds, M.W., Fahrback, K., Hauch, O., et al., *Warfarin anticoagulation and outcomes in patients with atrial fibrillation: a systematic review and metaanalysis*. Chest, 2004. **126**(6): p. 1938-45.
131. Rosendaal, F.R., Cannegieter, S.C., van der Meer, F.J., et al., *A method to determine the optimal intensity of oral anticoagulant therapy*. Thromb Haemost, 1993. **69**(3): p. 236-9.
132. Costa, G.L., Lamego, R.M., Colosimo, E.A., et al., *Identifying potential predictors of high-quality oral anticoagulation assessed by time in therapeutic international normalized ratio range: a prospective, long-term, single-center, observational study*. Clin Ther, 2012. **34**(7): p. 1511-20.
133. White, H.D., Gruber, M., Feyzi, J., et al., *Comparison of outcomes among patients randomized to warfarin therapy according to anticoagulant control: results from SPORTIF III and V*. Arch Intern Med, 2007. **167**(3): p. 239-45.

134. Phillips, K.W. and Ansell, J., *Outpatient management of oral vitamin K antagonist therapy: defining and measuring high-quality management*. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2008. **6**(1): p. 57-70.
135. van Dongen, C.J., Prandoni, P., Frulla, M., et al., *Relation between quality of anticoagulant treatment and the development of the postthrombotic syndrome*. *J Thromb Haemost*, 2005. **3**(5): p. 939-42.
136. Wan, Y., Heneghan, C., Perera, R., et al., *Anticoagulation control and prediction of adverse events in patients with atrial fibrillation: a systematic review*. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*, 2008. **1**(2): p. 84-91.
137. Witt, D.M., Delate, T., Clark, N.P., et al., *Outcomes and predictors of very stable INR control during chronic anticoagulation therapy*. *Blood*, 2009. **114**(5): p. 952-6.
138. Butchart, E.G., Payne, N., Li, H.H., et al., *Better anticoagulation control improves survival after valve replacement*. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2002. **123**(4): p. 715-23.
139. Connolly, S.J., Pogue, J., Eikelboom, J., et al., *Benefit of oral anticoagulant over antiplatelet therapy in atrial fibrillation depends on the quality of international normalized ratio control achieved by centers and countries as measured by time in therapeutic range*. *Circulation*, 2008. **118**(20): p. 2029-37.
140. Ogilvie, I.M., Newton, N., Welner, S.A., et al., *Underuse of oral anticoagulants in atrial fibrillation: a systematic review*. *Am J Med*, 2010. **123**(7): p. 638-645.e4.
141. Waldo, A.L., Becker, R.C., Tapson, V.F., et al., *Hospitalized patients with atrial fibrillation and a high risk of stroke are not being provided with adequate anticoagulation*. *J Am Coll Cardiol*, 2005. **46**(9): p. 1729-36.
142. McCormick, D., Gurwitz, J.H., Goldberg, R.J., et al., *Prevalence and quality of warfarin use for patients with atrial fibrillation in the long-term care setting*. *Arch Intern Med*, 2001. **161**(20): p. 2458-63.
143. Birman-Deych, E., Radford, M.J., Nilasena, D.S., et al., *Use and effectiveness of warfarin in Medicare beneficiaries with atrial fibrillation*. *Stroke*, 2006. **37**(4): p. 1070-4.
144. Kutner, M., Nixon, G., and Silverstone, F., *Physicians' attitudes toward oral anticoagulants and antiplatelet agents for stroke prevention in elderly patients with atrial fibrillation*. *Arch Intern Med*, 1991. **151**(10): p. 1950-3.

145. Gattellari, M., Worthington, J., Zwar, N., et al., *Barriers to the use of anticoagulation for nonvalvular atrial fibrillation: a representative survey of Australian family physicians*. Stroke, 2008. **39**(1): p. 227-30.
146. Edholm, K., Ragle, N., and Rondina, M.T., *Antithrombotic management of atrial fibrillation in the elderly*. Med Clin North Am, 2015. **99**(2): p. 417-30.
147. McCrory, D.C., Matchar, D.B., Samsa, G., et al., *Physician attitudes about anticoagulation for nonvalvular atrial fibrillation in the elderly*. Arch Intern Med, 1995. **155**(3): p. 277-81.
148. Razouki, Z., Ozonoff, A., Zhao, S., et al., *Pathways to poor anticoagulation control*. J Thromb Haemost, 2014. **12**(5): p. 628-34.
149. Ingall, T., *Stroke--incidence, mortality, morbidity and risk*. J Insur Med, 2004. **36**(2): p. 143-52.
150. Collège des médecins du Québec et Ordre des pharmaciens du Québec, *Lignes directrices sur l'anticoagulothérapie en milieu ambulatoire*, 2005.
151. Witt, D.M., Delate, T., Clark, N.P., et al., *Twelve-month outcomes and predictors of very stable INR control in prevalent warfarin users*. J Thromb Haemost, 2010. **8**(4): p. 744-9.
152. Cavallari, L.H., Aston, J.L., Momary, K.M., et al., *Predictors of unstable anticoagulation in African Americans*. J Thromb Thrombolysis, 2009. **27**(4): p. 430-7.
153. Palareti, G., Legnani, C., Guazzaloca, G., et al., *Risks factors for highly unstable response to oral anticoagulation: a case-control study*. Br J Haematol, 2005. **129**(1): p. 72-8.
154. Nelson, W.W., Wang, L., Baser, O., et al., *Out-of-range international normalized ratio values and healthcare cost among new warfarin patients with non-valvular atrial fibrillation*. J Med Econ, 2015. **18**(5): p. 333-40.
155. Rose, A.J., Hylek, E.M., Ozonoff, A., et al., *Patient characteristics associated with oral anticoagulation control: results of the Veterans Affairs Study to Improve Anticoagulation (VARIA)*. J Thromb Haemost, 2010. **8**(10): p. 2182-91.
156. Li, R.C., Finkelman, B.S., Chen, J., et al., *Dietary vitamin K intake and anticoagulation control during the initiation phase of warfarin therapy: a prospective cohort study*. Thromb Haemost, 2013. **110**(1): p. 195-6.

157. Connolly, S., Pogue, J., Hart, R., et al., *Clopidogrel plus aspirin versus oral anticoagulation for atrial fibrillation in the Atrial fibrillation Clopidogrel Trial with Irbesartan for prevention of Vascular Events (ACTIVE W): a randomised controlled trial*. Lancet, 2006. **367**(9526): p. 1903-12.
158. Rose, A.J., Ozonoff, A., Henault, L.E., et al., *Warfarin for atrial fibrillation in community-based practise*. J Thromb Haemost, 2008. **6**(10): p. 1647-54.
159. Jones, M., McEwan, P., Morgan, C.L., et al., *Evaluation of the pattern of treatment, level of anticoagulation control, and outcome of treatment with warfarin in patients with non-valvar atrial fibrillation: a record linkage study in a large British population*. Heart, 2005. **91**(4): p. 472-7.
160. Kimmel, S.E., Chen, Z., Price, M., et al., *The influence of patient adherence on anticoagulation control with warfarin: Results from the international normalized ratio adherence and genetics (in-range) study*. Arch Intern Med, 2007. **167**(3): p. 229-235.
161. Platt, A.B., Localio, A.R., Brensinger, C.M., et al., *Risk factors for nonadherence to warfarin: results from the IN-RANGE study*. Pharmacoepidemiol Drug Saf, 2008. **17**(9): p. 853-60.
162. Majeed, H., Rodger, M., Forgie, M., et al., *Effect of 200 mcg/day of vitamin K1 on the variability of anticoagulation control in patients on warfarin: a randomized controlled trial*. Thromb Res, 2013. **132**(3): p. 329-35.
163. Nelson, W.W., Desai, S., Damaraju, C.V., et al., *International Normalized Ratio Stability in Warfarin-Experienced Patients with Nonvalvular Atrial Fibrillation*. Am J Cardiovasc Drugs, 2015.
164. Apostolakis, S., Sullivan, R.M., Olshansky, B., et al., *Factors affecting quality of anticoagulation control among patients with atrial fibrillation on warfarin: the SAME-TT(2)R(2) score*. Chest, 2013. **144**(5): p. 1555-63.
165. Tomita, H., Kadokami, T., Momii, H., et al., *Patient factors against stable control of warfarin therapy for Japanese non-valvular atrial fibrillation patients*. Thromb Res, 2013. **132**(5): p. 537-42.
166. Bhandari, V.K., Wang, F., Bindman, A.B., et al., *Quality of anticoagulation control: do race and language matter? J Health Care Poor Underserved*, 2008. **19**(1): p. 41-55.

167. Nahar, R., Saxena, R., Deb, R., et al., *CYP2C9, VKORC1, CYP4F2, ABCB1 and F5 variants: influence on quality of long-term anticoagulation*. *Pharmacol Rep*, 2014. **66**(2): p. 243-9.
168. Osman, A., Enstrom, C., Arbring, K., et al., *Main haplotypes and mutational analysis of vitamin K epoxide reductase (VKORC1) in a Swedish population: a retrospective analysis of case records*. *J Thromb Haemost*, 2006. **4**(8): p. 1723-9.
169. Skov, J., Bladbjerg, E.M., Leppin, A., et al., *The influence of VKORC1 and CYP2C9 gene sequence variants on the stability of maintenance phase warfarin treatment*. *Thromb Res*, 2013. **131**(2): p. 125-9.
170. Taube, J., Halsall, D., and Baglin, T., *Influence of cytochrome P-450 CYP2C9 polymorphisms on warfarin sensitivity and risk of over-anticoagulation in patients on long-term treatment*. *Blood*, 2000. **96**(5): p. 1816-9.
171. Bussey, H.I., Bussey, M., Bussey-Smith, K.L., et al., *Evaluation of warfarin management with international normalized ratio self-testing and online remote monitoring and management plus low-dose vitamin k with genomic considerations: a pilot study*. *Pharmacotherapy*, 2013. **33**(11): p. 1136-46.
172. Wadelius, M., Chen, L.Y., Lindh, J.D., et al., *The largest prospective warfarin-treated cohort supports genetic forecasting*. *Blood*, 2008. **113**(4): p. 784-792.
173. Tang, H.L., Shi, W.L., Li, X.G., et al., *Limited clinical utility of genotype-guided warfarin initiation dosing algorithms versus standard therapy: a meta-analysis and trial sequential analysis of 11 randomized controlled trials*. *Pharmacogenomics J*, 2015.
174. Nutescu, E., Chuatrisorn, I., and Hellenbart, E., *Drug and dietary interactions of warfarin and novel oral anticoagulants: an update*. *J Thromb Thrombolysis*, 2011. **31**(3): p. 326-43.
175. Hylek, E.M., Heiman, H., Skates, S.J., et al., *Acetaminophen and other risk factors for excessive warfarin anticoagulation*. *JAMA*, 1998. **279**(9): p. 657-662.
176. Udall, J.A., *Human sources and absorption of vitamin K in relation to anticoagulation stability*. *JAMA*, 1965. **194**(2): p. 127-9.
177. Michaelson, R., Kempin, S.J., Navia, B., et al., *Inhibition of the hypoprothrombinemic effect of warfarin (Coumadin) by Ensure Plus, a dietary supplement*. *Clin Bull*, 1980. **10**(4): p. 171-2.

178. O'Reilly, R.A. and Rytand, D.A., "*Resistance*" to warfarin due to unrecognized vitamin K supplementation. *N Engl J Med*, 1980. **303**(3): p. 160-1.
179. Lee, M., Schwartz, R.N., and Sharifi, R., *Warfarin resistance and vitamin K*. *Ann Intern Med*, 1981. **94**(1): p. 140-1.
180. Kempin, S.J., *Warfarin resistance caused by broccoli*. *N Engl J Med*, 1983. **308**(20): p. 1229-30.
181. Chow, W.H., Chow, T.C., Tse, T.M., et al., *Anticoagulation instability with life-threatening complication after dietary modification*. *Postgrad Med J*, 1990. **66**(780): p. 855-7.
182. Blickstein, D., Shaklai, M., and Inbal, A., *Warfarin antagonism by avocado*. *Lancet*, 1991. **337**(8746): p. 914-5.
183. Qureshi, G.D., Reinders, T.P., Swint, J.J., et al., *Acquired warfarin resistance and weight-reducing diet*. *Arch Intern Med*, 1981. **141**(4): p. 507-9.
184. Walker, F.B., *Myocardial infarction after diet-induced warfarin resistance*. *Arch Intern Med*, 1984. **144**(10): p. 2089-90.
185. Franco, V., Polanczyk, C.A., Clausell, N., et al., *Role of dietary vitamin K intake in chronic oral anticoagulation: prospective evidence from observational and randomized protocols*. *Am J Med*, 2004. **116**(10): p. 651-6.
186. Couris, R., Tataronis, G., McCloskey, W., et al., *Dietary vitamin K variability affects International Normalized Ratio (INR) coagulation indices*. *Int J Vitam Nutr Res*, 2006. **76**(2): p. 65-74.
187. Custodio das Dores, S.M., Booth, S.L., Martini, L.A., et al., *Relationship between diet and anticoagulant response to warfarin: a factor analysis*. *Eur J Nutr*, 2007. **46**(3): p. 147-54.
188. Cushman, M., Booth, S.L., Possidente, C.J., et al., *The association of vitamin K status with warfarin sensitivity at the onset of treatment*. *Br J Haematol*, 2001. **112**(3): p. 572-7.
189. Schurgers, L.J., Shearer, M.J., Hamulyak, K., et al., *Effect of vitamin K intake on the stability of oral anticoagulant treatment: dose-response relationships in healthy subjects*. *Blood*, 2004. **104**(9): p. 2682-9.

190. de Assis, M.C., Rabelo, E.R., Avila, C.W., et al., *Improved oral anticoagulation after a dietary vitamin K-guided strategy: a randomized controlled trial*. *Circulation*, 2009. **120**(12): p. 1115-22.
191. Karlson, B., Leijd, B., and Hellstrom, K., *On the influence of vitamin K-rich vegetables and wine on the effectiveness of warfarin treatment*. *Acta Med Scand*, 1986. **220**(4): p. 347-50.
192. Pedersen, F.M., Hamberg, O., Hess, K., et al., *The effect of dietary vitamin K on warfarin-induced anticoagulation*. *J Intern Med*, 1991. **229**(6): p. 517-20.
193. Theuwissen, E., Teunissen, K.J., Spronk, H.M., et al., *Effect of low-dose supplements of menaquinone-7 (vitamin K2) on the stability of oral anticoagulant treatment: dose-response relationship in healthy volunteers*. *J Thromb Haemost*, 2013. **11**(6): p. 1085-92.
194. Schurgers, L.J., Teunissen, K.J.F., Hamulyák, K., et al., *Vitamin K-containing dietary supplements: comparison of synthetic vitamin K1 and natto-derived menaquinone-7*. *Blood*, 2006. **109**(8): p. 3279-3283.
195. Marcason, W., *Vitamin K: what are the current dietary recommendations for patients taking coumadin?* *J Am Diet Assoc*, 2007. **107**(11): p. 2022.
196. Government of Canada. *Health, Drugs & Medical devices, Warfarin*. 2012 [Page consultée le 31 mars 2015]; URL: http://healthycanadians.gc.ca/drugs-products-medicaments-produits/drugs-medicaments/warfarin-eng.php?_ga=1.221272600.1275639397.1427806710.
197. American Heart Association. *A patient's guide to taking warfarin*. 2014 [Page consultée le 2 avril 2015]; URL: http://www.heart.org/HEARTORG/Conditions/Arrhythmia/PreventionTreatmentofArrhythmia/A-Patients-Guide-to-Taking-Warfarin_UCM_444996_Article.jsp.
198. Sorano, G.G., Biondi, G., Conti, M., et al., *Controlled vitamin K content diet for improving the management of poorly controlled anticoagulated patients: a clinical practice proposal*. *Haemostasis*, 1993. **23**(2): p. 77-82.
199. Rombouts, E.K., Rosendaal, F.R., and van der Meer, F.J.M., *Influence of dietary vitamin K intake on subtherapeutic oral anticoagulant therapy*. *Br J Haematol*, 2010. **149**(4): p. 598-605.

200. Kim, K.H., Choi, W.S., Lee, J.H., et al., *Relationship between dietary vitamin K intake and the stability of anticoagulation effect in patients taking long-term warfarin*. *Thromb Haemost*, 2010. **104**(4): p. 755-9.
201. Mahtani, K.R., Heneghan, C.J., Nunan, D., et al., *Vitamin K for improved anticoagulation control in patients receiving warfarin*. *Cochrane Database Syst Rev*, 2014. **5**: p. Cd009917.
202. Booth, S.L., Charnley, J.M., Sadowski, J.A., et al., *Dietary vitamin K1 and stability of oral anticoagulation: proposal of a diet with constant vitamin K1 content*. *Thromb Haemost*, 1997. **77**(3): p. 504-9.
203. Chang, C.H., Wang, Y.W., Yeh Liu, P.Y., et al., *A practical approach to minimize the interaction of dietary vitamin K with warfarin*. *J Clin Pharm Ther*, 2014. **39**(1): p. 56-60.
204. Couris, R.R., Tataronis, G.R., Booth, S.L., et al., *Development of a self-assessment instrument to determine daily intake and variability of dietary vitamin K*. *J Am Coll Nutr*, 2000. **19**(6): p. 801-7.
205. Johnson, M.A., *Influence of vitamin K on anticoagulant therapy depends on vitamin K status and the source and chemical forms of vitamin K*. *Nutr Rev*, 2005. **63**(3): p. 91-7.
206. Siguret, V., *[Impact of pharmacogenetics on interindividual variability in the response to vitamin K antagonist therapy]*. *Pathol Biol (Paris)*, 2007. **55**(6): p. 295-8.
207. Murúa, A., Quintana, I., Galarza, C., et al., *Unsuspected hyperhomocysteinemia in chronically anticoagulated patients*. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2001. **12**(1): p. 79-80.
208. Kurnik, D., Loebstein, R., Rabinovitz, H., et al., *Over-the-counter vitamin K1-containing multivitamin supplements disrupt warfarin anticoagulation in vitamin K1-depleted patients. A prospective, controlled trial*. *Thromb Haemost*, 2004. **92**(5): p. 1018-24.
209. Lurie, Y., Loebstein, R., Kurnik, D., et al., *Warfarin and vitamin K intake in the era of pharmacogenetics*. *Br J Clin Pharmacol*, 2010. **70**(2): p. 164-70.
210. Bovill, E.G., Fung, M., and Cushman, M., *Vitamin K and oral anticoagulation: thought for food*. *Am J Med*, 2004. **116**(10): p. 711-3.

211. *Consistent vitamin K helps warfarin do its job. Food can throw off warfarin's ability to prevent blood clots. Keeping your vitamin K intake relatively constant can help you avoid problems with this medication.* Harv Heart Lett, 2004. **15**(1): p. 4.
212. Sobczynska-Malefora, A., Harrington, D.J., Lomer, M.C.E., et al., *Erythrocyte folate and 5-methyltetrahydrofolate levels decline during 6 months of oral anticoagulation with warfarin.* Blood Coagul Fibrinolysis, 2009. **20**(4): p. 297-302.
213. Sobczynska-Malefora, A., Harrington, D.J., Rangarajan, S., et al., *Hyperhomocysteinemia and B-vitamin status after discontinuation of oral anticoagulation therapy in patients with a history of venous thromboembolism.* Clin Chem Lab Med, 2003. **41**(11): p. 1493-7.
214. Dennis, V.C., Ripley, T.L., Planas, L.G., et al., *Dietary vitamin K in oral anticoagulation patients: clinician practices and knowledge in outpatient settings.* J Pharm Technol, 2008. **24**(2): p. 69-76.
215. Kurnik, D., Lubetsky, A., Loebstein, R., et al., *Multivitamin supplements may affect warfarin anticoagulation in susceptible patients.* Ann Pharmacother, 2003. **37**(11): p. 1603-6.
216. Kim, Y.E., Woo, H.I., On, Y.K., et al., *High intra- and inter-individual variability of plasma vitamin K concentrations in patients with atrial fibrillation under warfarin therapy.* Eur J Clin Nutr, 2015. **69**(6): p. 703-6.
217. Baker, J.W., Pierce, K.L., and Ryals, C.A., *INR goal attainment and oral anticoagulation knowledge of patients enrolled in an anticoagulation clinic in a Veterans Affairs medical center.* J Manag Care Pharm, 2011. **17**(2): p. 133-42.
218. Smith, M.B., Christensen, N., Wang, S., et al., *Warfarin knowledge in patients with atrial fibrillation: implications for safety, efficacy, and education strategies.* Cardiology, 2010. **116**(1): p. 61-9.
219. Mega, J.L., Walker, J.R., Ruff, C.T., et al., *Genetics and the clinical response to warfarin and edoxaban: findings from the randomised, double-blind ENGAGE AF-TIMI 48 trial.* Lancet, 2015.
220. Sconce, E., Khan, T., Mason, J., et al., *Patients with unstable control have a poorer dietary intake of vitamin K compared to patients with stable control of anticoagulation.* Thromb Haemost, 2005. **93**(5): p. 872-5.

221. Leblanc, C., Presse, N., Lalonde, G., et al., *Higher vitamin K intake is associated with better INR control and a decreased need for INR tests in long-term warfarin therapy*. *Thromb Res*, 2014. **134**(1): p. 210-2.
222. Zuchinali, P., Souza, G.C., de Assis, M.C., et al., *Dietary vitamin K intake and stability of anticoagulation with coumarins: evidence derived from a clinical trial*. *Nutr Hosp*, 2012. **27**(6): p. 1987-92.
223. Rombouts, E.K., Rosendaal, F.R., and Van Der Meer, F.J.M., *Daily vitamin K supplementation improves anticoagulant stability*. *J Thromb Haemost*, 2007. **5**(10): p. 2043-8.
224. Gebuis, E.P., Rosendaal, F.R., van Meegen, E., et al., *Vitamin K1 supplementation to improve the stability of anticoagulation therapy with vitamin K antagonists: a dose-finding study*. *Haematologica*, 2011. **96**(4): p. 583-9.
225. Reese, A.M., Farnett, L.E., Lyons, R.M., et al., *Low-dose vitamin K to augment anticoagulation control*. *Pharmacotherapy*, 2005. **25**(12): p. 1746-51.
226. Lam, J., Schulman, S., Witt, D.M., et al., *Anticoagulation control with daily low-dose vitamin K to reduce clinically adverse outcomes and International Normalized Ratio variability: a systematic review and meta-analysis*. *Pharmacotherapy*, 2013: p. doi: 10.1002/phar.1302.
227. Ford, S.K. and Moll, S., *Vitamin K supplementation to decrease variability of International Normalized Ratio in patients on vitamin K antagonists: a literature review*. *Curr Opin Hematol*, 2008. **15**(5): p. 504-8.
228. Kramps, M., Flanagan, A., and Smaldone, A., *The use of vitamin K supplementation to achieve INR stability: a systematic review and meta-analysis*. *J Am Assoc Nurse Pract*, 2013. **25**(10): p. 535-44.
229. Santé Canada. *Warfarin*. 2015 [Page consultée le 23 juin 2015]; URL: <http://canadiensensante.gc.ca/drugs-products-medicaments-produits/drugs-medicaments/warfarin-fra.php>.
230. Zikria, J., Goldman, R., and Ansell, J., *Cranberry juice and warfarin: when bad publicity trumps science*. *Am J Med*, 2010. **123**(5): p. 384-92.
231. Bristol-Myers Squibb, *Medication Guide for Coumadin Tablets and Coumadin for Injection*, 2006, Bristol-Myers Squibb Company: Princeton, NJ.

232. Bristol-Myers Squibb. *Medication Guide, Coumadin (warfarin sodium)*. 2011 [Page consultée le 20 janvier 2015]; URL: http://packageinserts.bms.com/medguide/medguide_coumadin.pdf.
233. Mohammed Abdul, M.I., Jiang, X., Williams, K.M., et al., *Pharmacodynamic interaction of warfarin with cranberry but not with garlic in healthy subjects*. Br J Pharmacol, 2008. **154**(8): p. 1691-700.
234. Komperda, K.E., *Potential interaction between pomegranate juice and warfarin*. Pharmacotherapy, 2009. **29**(8): p. 1002-6.
235. Jarvis, S., Li, C., and Bogle, R.G., *Possible interaction between pomegranate juice and warfarin*. Emerg Med J, 2010. **27**(1): p. 74-5.
236. Nagata, M., Hidaka, M., Sekiya, H., et al., *Effects of pomegranate juice on human cytochrome P450 2C9 and tolbutamide pharmacokinetics in rats*. Drug Metab Dispos, 2007. **35**(2): p. 302-5.
237. Hidaka, M., Okumura, M., Fujita, K., et al., *Effects of pomegranate juice on human cytochrome p450 3A (CYP3A) and carbamazepine pharmacokinetics in rats*. Drug Metab Dispos, 2005. **33**(5): p. 644-8.
238. Corrigan, J.J., Jr. and Marcus, F.I., *Coagulopathy associated with vitamin E ingestion*. JAMA, 1974. **230**(9): p. 1300-1.
239. Yue, Q.Y. and Jansson, K., *Herbal drug curbicin and anticoagulant effect with and without warfarin: possibly related to the vitamin E component*. J Am Geriatr Soc, 2001. **49**(6): p. 838.
240. Pastori, D., Carnevale, R., Cangemi, R., et al., *Vitamin E serum levels and bleeding risk in patients receiving oral anticoagulant therapy: a retrospective cohort study*. J Am Heart Assoc, 2013. **2**(6): p. e000364.
241. Roth, J.A., Bradley, K., Thummel, K.E., et al., *Alcohol misuse, genetics, and major bleeding among warfarin therapy patients in a community setting*. Pharmacoepidemiol Drug Saf, 2015. **24**(6): p. 619-27.
242. O'Reilly, R.A., *Lack of effect of fortified wine ingested during fasting and anticoagulant therapy*. Arch Intern Med, 1981. **141**(4): p. 458-459.
243. Collège des médecins du Québec et Ordre des pharmaciens du Québec, *Un document d'information pour le patient, les anticoagulants.*, 2005.

244. Presse, N., Shatenstein, B., Kergoat, M.J., et al., *Validation of a semi-quantitative food frequency questionnaire measuring dietary vitamin K intake in elderly people*. J Am Diet Assoc, 2009. **109**(7): p. 1251-5.
245. Jank, S., Bertsche, T., Herzog, W., et al., *Patient knowledge on oral anticoagulants: results of a questionnaire survey in Germany and comparison with the literature*. Int J Clin Pharmacol Ther, 2008. **46**(6): p. 280-8.
246. Mavri, A., Ostasevski Fernandez, N., Kramaric, A., et al., *New educational approach for patients on warfarin improves knowledge and therapy control*. Wien Klin Wochenschr, 2015. **127**(11): p. 472-6.
247. Wang, Y., Kong, M.C., Lee, L.H., et al., *Knowledge, satisfaction, and concerns regarding warfarin therapy and their association with warfarin adherence and anticoagulation control*. Thromb Res, 2014. **133**(4): p. 550-4.
248. Lasswell, A.B., DeForge, B.R., Sobal, J., et al., *Family medicine residents' knowledge and attitudes about drug-nutrient interactions*. J Am Coll Nutr, 1995. **14**(2): p. 137-43.
249. Couris, R.R., Tataronis, G.R., Dallal, G.E., et al., *Assessment of healthcare professionals' knowledge about warfarin-vitamin K drug-nutrient interactions*. J Am Coll Nutr, 2000. **19**(4): p. 439-45.
250. Allah Ali AA and AA, A., *Evaluation of attitudes of the community pharmacists toward warfarin interactions*. Sudan Med Monit, 2014. **9**: p. 35-8.
251. Oterhals, K., Deaton, C., De Geest, S., et al., *European cardiac nurses' current practice and knowledge on anticoagulation therapy*. Eur J Cardiovasc Nurs, 2014. **13**(3): p. 261-9.
252. Mayo Clinic, Diseases and conditions, and Thrombophlebitis. *Can you tell me what I should eat while I am taking warfarin (Coumadin)? What foods should I avoid?* [Page consultée le 7 mars 2015]; URL: <http://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/thrombophlebitis/expert-answers/warfarin/faq-20058443>.
253. AHFS Consumer Medication Information. American Society of Health-System Pharmacists Inc.; ©2015. *Warfarin*. 2015 [Page consultée le 2 avril 2015]; URL: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/druginfo/meds/a682277.html>.
254. Schwartz, L., Mazzola, N., Hoffman, R.S., et al., *Evaluating Patients' Understanding of Printed Warfarin Medication Information*. J Pharm Pract, 2014.

255. McGuire, L.C., *Remembering what the doctor said: organization and adults' memory for medical information*. *Exp Aging Res*, 1996. **22**(4): p. 403-28.
256. Anderson, J.L., Dodman, S., Kopelman, M., et al., *Patient information recall in a rheumatology clinic*. *Rheumatol Rehabil*, 1979. **18**(1): p. 18-22.
257. Braam, L., McKeown, N., Jacques, P., et al., *Dietary phylloquinone intake as a potential marker for a heart-healthy dietary pattern in the Framingham Offspring cohort*. *J Am Diet Assoc*, 2004. **104**(9): p. 1410-4.
258. Presse, N. *Vitamine K et fonctions cognitives chez la personne âgée en santé : une approche épidémiologique nutritionnelle*. Thèse de Doctorat en Nutrition, sous la supervision de Dr. Ferland, G., Département de Nutrition, Université de Montréal, 2012, 226 p.
259. Wald, D.S., Law, M., and Morris, J.K., *Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis*. *BMJ*, 2002. **325**(7374): p. 1202.
260. Presse, N., Gaudreau, P., Greenwood, C.E., et al., *A single measurement of serum phylloquinone is an adequate indicator of long-term phylloquinone exposure in healthy older adults*. *J Nutr*, 2012. **142**(10): p. 1910-6.
261. Hennekens, C., Buring, J., and Mayrent, S., *Épidémiologie en médecine*. 1998, Paris: Frison-Roche. 378 p.
262. McKeown, N.M., Rasmussen, H.M., Charnley, J.M., et al., *Accuracy of phylloquinone (vitamin K-1) data in 2 nutrient databases as determined by direct laboratory analysis of diets. [Erratum appears in J Am Diet Assoc. 2001 Feb; 101(2):180]*. *J Am Diet Assoc*, 2000. **100**(10): p. 1201-4.
263. Presse, N., Belleville, S., Gaudreau, P., et al., *Vitamin K status and cognitive function in healthy older adults*. *Neurobiol Aging*, 2013.
264. Toffanello, E.D., Inelmen, E.M., Minicuci, N., et al., *Ten-year trends in dietary intake, health status and mortality rates in free-living elderly people*. *J Nutr Health Aging*, 2010. **14**(4): p. 259-64.
265. McKeown, N.M., Jacques, P.F., Gundberg, C.M., et al., *Dietary and nondietary determinants of vitamin K biochemical measures in men and women*. *J Nutr*, 2002. **132**(6): p. 1329-34.

266. Stafford, D.W., Roberts, H.R., and Vermeer, C., *Vitamin K supplementation during oral anticoagulation: concerns*. *Blood*, 2007. **109**(8): p. 3607.
267. Sconce, E., Wynne, H., and Kamali, F., *Response: vitamin K supplementation during oral anticoagulation: no real cause for concern*. *Blood*, 2007. **109**(8): p. 3607-3608.
268. Zuchinali, P., Souza, G.C., Aliti, G., et al., *Influence of VKORC1 gene polymorphisms on the effect of oral vitamin K supplementation in over-anticoagulated patients*. *J Thromb Thrombolysis*, 2014. **37**(3): p. 338-44.
269. Saito, R., Takeda, K., Yamamoto, K., et al., *Nutri-pharmacogenomics of warfarin anticoagulation therapy: VKORC1 genotype-dependent influence of dietary vitamin K intake*. *J Thromb Thrombolysis*, 2014. **38**(1): p. 105-14.
270. Crawford, D.C., Brown-Gentry, K., and Rieder, M.J., *Measures of exposure impact genetic association studies: an example in vitamin K levels and VKORC1*. *Pac Symp Biocomput*, 2015: p. 161-70.
271. Crosier, M.D., Peter, I., Booth, S.L., et al., *Association of sequence variations in vitamin K epoxide reductase and gamma-glutamyl carboxylase genes with biochemical measures of vitamin K status*. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 2009. **55**(2): p. 112-9.
272. McDonald, M.G., Rieder, M.J., Nakano, M., et al., *CYP4F2 is a vitamin K1 oxidase: An explanation for altered warfarin dose in carriers of the V433M variant*. *Mol Pharmacol*, 2009. **75**(6): p. 1337-46.
273. Wadelius M, Chen LY, Lindh JD, et al. *The largest prospective warfarin-treated cohort supports genetic forecasting*. *Blood*. 2009;113(4):784-792. *Blood*, 2014. **123**(7): p. 1113-1113.
274. Kipnis, V., Midthune, D., Freedman, L., et al., *Bias in dietary-report instruments and its implications for nutritional epidemiology*. *Public Health Nutrition*, 2002. **5**(6a): p. 915-923.
275. Ferland, G. and Sadowski, J.A., *Vitamin K1 (phylloquinone) content of green vegetables: effects of plant maturation and geographical growth location*. *J Agric Food Chem*, 1992. **40**(10): p. 1874-1877.
276. Sempos, C.T., Liu, K., and Ernst, N.D., *Food and nutrient exposures: what to consider when evaluating epidemiologic evidence*. *Am J Clin Nutr*, 1999. **69**(6): p. 1330s-1338s.

277. Hylek, E.M., *Vitamin K antagonists and time in the therapeutic range: implications, challenges, and strategies for improvement*. J Thromb Thrombolysis, 2013. **35**(3): p. 333-5.
278. Van Den Ham, H.A., Klungel, O.H., Leufkens, H.G., et al., *The patterns of anticoagulation control and the risk of stroke, bleeding and mortality in patients with non-valvular atrial fibrillation*. J Thromb Haemost, 2013. **11**(1): p. 107-15.
279. Razouki, Z., Ozonoff, A., Zhao, S., et al., *Improving quality measurement for anticoagulation: adding international normalized ratio variability to percent time in therapeutic range*. Circ Cardiovasc Qual Outcomes, 2014. **7**(5): p. 664-9.
280. Santé Canada. *Base de données sur les produits pharmaceutiques*. 2015 [Page consultée le 15 août 2015]; URL: <http://webprod5.hc-sc.gc.ca/dpd-bdpp/index-fra.jsp>.
281. IMS Health Incorporated. *Pharmaceutical trends. Top 50 dispensed medications in Canada, 2010*. 2010 [Page consultée le 10 juillet 2015]; URL: http://www.imshealth.com/deployedfiles/ims/Global/North%20America/Canada/Home%20Page%20Content/Pharma%20Trends/Top50Dispensed_En_11.pdf.
282. Kamali, F., Wood, P., and Ward, A., *Vitamin K deficiency amplifies anticoagulation response to ximelagatran: possible implications for direct thrombin inhibitors and their clinical safety*. Ann Hematol, 2009. **88**(2): p. 141-9.