

This is the peer reviewed version of the following article:

Nutrition and prevention of venous thromboembolism / Pennella, S; Mattioli, Av. - In: PROGRESS IN NUTRITION. - ISSN 1129-8723. - 14:4(2012), pp. 231-246.

Terms of use:

The terms and conditions for the reuse of this version of the manuscript are specified in the publishing policy. For all terms of use and more information see the publisher's website.

19/04/2024 15:49

(Article begins on next page)

S. PENNELLA¹, A.V. MATTIOLI

Alimentazione e prevenzione del tromboembolismo venoso

PROGRESS IN NUTRITION

VOL. 14, N. 4, 231-246, 2012

TITLE

Nutrition and prevention of venous thromboembolism

KEY WORDS

Diet, herbs, venous thromboembolism, anticoagulants, genetic test

PAROLE CHIAVE

Nutrizione, dieta tromboembolismo venoso, anticoagulanti orali, genetica, terapia cellulare

Dipartimento di scienze biomediche,
Università degli studi di Modena and
Reggio Emilia,¹Istituto Nazionale di Ricerche
Cardiovascolari, U.O. di ModenaIndirizzo per la corrispondenza:
Anna Vittoria Mattioli
Dipartimento di Scienze della Vita
Università degli studi di Modena e
Reggio Emilia
Via del pozzo, 71
41100 Modena (Italy)
Tel. +39/59/4224043
Fax +39 059 2055426
E-mail: annavittoria.mattioli@unimore.it**Summary**

Prophylaxis of venous thromboembolism is a major health problem in everyday clinical practice. The therapeutic anticoagulants available to clinicians for prophylaxis of VTE is mainly composed by parenteral anticoagulants and oral vitamin K antagonists, warfarin. Oral vitamin K antagonists have several limitations, including a narrow therapeutic window and a metabolism that is affected by multiple drug and herbal interactions, vitamin K intake and genetic polymorphisms. The present review explore causes of poor prevention of thromboembolism and evaluated some new anticoagulants. The main target of new anticoagulants is to replace oral vitamin K antagonists for long-term anticoagulation. Moreover the role of genetics and the novel concept of cell therapy is evaluated. The hypothesis is that the patho-physiology of thrombosis may involve a "physiologic" cell that provides the same repair molecules that are used for treatment of thrombotic disorders.

Riassunto

Il tromboembolismo venoso è una condizione clinica gravata da elevata mortalità e morbilità. La prevenzione del TEV si basa prevalentemente sulla terapia anticoagulante. La maggiore difficoltà nella gestione della terapia anticoagulante orale dipende dalla variabilità dei livelli di coagulazione che è influenzata da fattori genetici, fattori ambientali e fattori comportamentali. Le maggiori interferenze si realizzano in seguito all'assunzione di farmaci ma anche in risposta ad abitudini alimentari, diete e assunzione di integratori. Gli integratori a base di erbe possono interferire pesantemente con la efficacia terapeutica del warfarin. Per ovviare a questi problemi sono in fase di sperimentazione e di registrazione nuovi farmaci con un rapporto dose/risposta costante. Anche le strategie innovative come la farmacogenetica e la terapia cellulare promettono di migliorare la prevenzione della TEV.

Prevenzione del tromboembolismo venoso: dalle linee guida alla medicina personalizzata

Il tromboembolismo venoso (TEV), sindrome clinica che include la trombosi venosa profonda (TVP) e l'embolia polmonare (EP) è la terza causa di morte cardiovascolare dopo infarto miocardico e stroke (1).

Il TEV si sviluppa in seguito a modificazioni pro-trombotiche del sangue riconducibili sia ad una variazione del flusso che rallenta e/o si riduce sia a modificazioni dell'endotelio e della parete vascolare. In presenza di TEV si determina un'attivazione ed un aumento delle proteine che promuovono la coagulazione e/o una diminuzione delle proteine che inibiscono la coagulazione. Ad esempio una specifica mutazione (presente in circa il 5% della popolazione caucasica) nel gene che codifica il fattore V risulta in una variante che è resistente all'inattivazione da parte della proteasi anticoagulante attivata dalla Proteina C che porta ad un'aumentata tendenza trombotica. (2) Analogamente, un aumento del *tissue factor* circolante, che agisce a livello dell'apice della cascata della coagulazione può attivare la trombosi venosa (3).

Il tromboembolismo venoso è gravato da un'elevata mortalità, ogni anno uccide circa 296,000 di persone negli Stati Uniti e di 370,000

persone in Europa e da un'elevata morbilità (4, 5). Si calcola che annualmente circa 400,000 persone presentino TVP non fatale e altre 290,000 presentino EP non-fatale, determinando così un numero di eventi pari a 0.9 e 1.1 milioni di TVP ogni anno rispettivamente negli USA e in Europa (4, 5).

All'incirca un terzo delle TVP sintomatiche si sviluppano in ospedale soprattutto nei pazienti anziani. A causa dell'elevata tendenza a recidivare e delle complicanze tardive (sindrome post-trombotica, ipertensione polmonare cronica) la TVP può essere considerata una malattia cronica e come tale deve prevedere una terapia di lunga durata (6).

La prevenzione degli eventi intraospedalieri è relativamente semplice e le linee guida forniscono in tal senso un'ampia e ben documentata indicazione all'uso dei farmaci e delle manovre di prevenzione non-farmacologica (7).

La terapia di prevenzione della TVP utilizza in larga misura farmaci anticoagulanti nelle diverse preparazioni e modalità di somministrazione e include anticoagulanti parenterali come ad esempio eparina non frazionata, eparina a basso peso molecolare e inibitori della Vit K somministrabili per os quali ad esempio (warfarin e acenocumarolo) (8). L'efficacia della prevenzione della TVP è ben documentata e l'eparina a basso peso

molecolare è generalmente riconosciuta come la terapia ottimale nel decorso intra ospedaliero. Gli antagonisti della vit K, come il warfarin, sono l'unica terapia anticoagulante approvata negli USA nonostante presentino diversi limiti (7, 8).

Le eparine a basso peso molecolare e la fondaparina hanno sostituito l'eparina non frazionata nella profilassi e nel trattamento iniziale del TEV sia per la prolungata durata d'azione che consente una somministrazione giornaliera sia per la prevedibilità della risposta anticoagulante che non richiede un monitoraggio. Il limite maggiore è la somministrazione per via sottocutanea che può creare problemi di gestione domiciliare.

Gli inibitori della Vit K sono tuttora la terapia di prima scelta nel trattamento a lungo termine (prevenzione secondaria) dopo un episodio acuto di TEV, nella prevenzione dello stroke nella fibrillazione atriale, e nella prevenzione secondaria dopo infarto miocardico e ovviamente nelle protesi valvolari meccaniche.

I principali vantaggi del warfarin sono la somministrazione orale, il lento raggiungimento dell'efficacia anticoagulante che consente l'emostasi chirurgica e la stretta finestra di efficacia d'azione, la possibilità di continuare agevolmente la terapia dopo la dimissione laddove le strutture esterne abbiano

un'organizzazione tale da consentire il monitoraggio dell'INR. Questi stessi vantaggi creano tuttavia le maggiori problematiche. In aggiunta a ciò la variabilità della risposta individuale e le complesse interferenze farmacologiche ed alimentari contribuiscono alla scarsa prevenzione degli eventi tromboembolici.

Problemi di prevenzione

Il warfarin è tutt'oggi il farmaco anticoagulante più diffuso e più potente nella prevenzione cronica del tromboembolismo venoso anche se i nuovi farmaci anticoagulanti si rivelano alquanto promettenti. Tuttavia negli ultimi 75 anni, data in cui il warfarin fu introdotto, generazioni di medici e pazienti hanno lottato con la difficoltà di mantenere un INR adeguato. Soprattutto a causa delle molteplici interferenze dovute a malattie concomitanti, interazioni con altri farmaci e soprattutto la variabile meno controllabile, interazioni con diversi alimenti. Il rischio annuo di eventi emorragici da terapia con warfarin varia tra 0.6% e 9.6%, ed è approssimativamente 5 volte maggiore rispetto al paziente non in terapia. Il rischio di emorragia durante il primo mese di terapia è 10 volte superiore al rischio dopo il primo anno di trattamento (9). I fattori di rischio emorragico più

importanti sono l'età avanzata, il sesso femminile, storia di sanguinamenti del tratto gastro-intestinale e altre co-morbidità quali ipertensione, fibrillazione atriale, insufficienza cardiaca, alcolismo e malattie del fegato (9).

Il risultato finale è la tendenza a sottoutilizzare l'anticoagulante anche in pazienti che potrebbero trarne enormi benefici (10). Emerge l'orientamento a sovrastimare le complicanze emorragiche e, parallelamente, a sottostimare il rischio di eventi tromboembolici che porta ad un sottodosaggio del farmaco soprattutto nei pazienti anziani (11, 12). Questa complessa situazione porta la maggior parte dei pazienti che assumono anticoagulanti orali a trascorrere gran parte del tempo con valori o al di sopra o al di sotto del range di INR considerato sicuro.

A questa osservazione occorre aggiungere quella riportata da Cundiff e coll. e denominata "ipercoagulazione di rimbalzo" fenomeno osservato dopo la sospensione della terapia anticoagulante ed imputato alla "ri stimolazione" della coagulazione e della fibrinolisi che determina un aumento del rischio di emboli polmonare associato a terapia anticoagulante e a profilassi (13, 14).

Le complesse interazioni tra terapia anticoagulante, fattori genetici e fattori ambientali sono il paradigma ideale del passaggio dalle li-

nee guida alla medicina personalizzata. La necessità di adattare il dosaggio del farmaco al paziente in base anche alle sue caratteristiche genetiche e di rimodulare tale posologia in seguito al manifestarsi di patologie concomitanti e/o terapia concomitante rende indispensabile una personalizzazione della terapia. A questo si aggiunge l'influenza dello stile di vita e dell'alimentazione sul raggiungimento del target ottimale di ipocoagulazione.

Genetica e prevenzione del TEV

La proposta, recentemente avanzata, di utilizzare test di farmacogenetica nella stratificazione dei pazienti in terapia anticoagulante è certamente affascinante (15). L'AEI-Brookings Report ha stimato che l'utilizzo di test genetici per lo studio di varianti alleliche relative al warfarin potrebbe ridurre il numero dei sanguinamenti maggiori indotti da warfarin di 85.000/anno e ridurre gli strokes di 17.000/anno negli Stati Uniti con un risparmio in spese mediche calcolato in 1.1 miliardi di US dollari all'anno (16).

Il ruolo della genetica è stato recentemente ridefinito, affiancando ai ben noti problemi genetici relativi a patologie della coagulazione, la condizione genica che determina la risposta ai farmaci.

Studi su famiglie, indicano che il TEV è altamente trasmissibile e segue una modalità complessa di ereditarietà che coinvolge numerose interazioni ambientali. La ridotta produzione di fattori anti-coagulanti naturali quali ad esempio l'antitrombina e la proteina C o la proteina S, è una situazione rara ma condiziona un importante aumento del rischio di TEV. In tempi recenti accanto ai fattori di rischio tradizionali, sono stati inseriti ulteriori fattori predisponenti alla TEV, tra questi ricordiamo la mancata down-regulation del sistema pro-coagulativo, l'aumento delle concentrazioni plasmatiche dei fattori pro-coagulativi e l'aumento dell'attività immunitaria innata (9, 16). Ma, se sono ben noti ed esplorabili i deficit genetici di fattori della coagulazione, poco ancora si conosce sull'ingerenza di fattori genetici nella risposta ai farmaci. Tale aspetto diventa particolarmente rilevante nel caso dei farmaci anticoagulanti orali che già subiscono profonde influenze dai fattori ambientali.

Al momento attuale si conoscono più di 30 geni associati al metabolismo del warfarin e alla sua modalità di azione. Alcuni polimorfismi dei geni che codificano per l'enzima "vitamin K epossido reductasi" (VKORC) e per il citocromo P-450-2C9 (CYP2C9) sono stati ampiamente studiati.

Il warfarin interagisce con la co-

agulazione inibendo la generazione della forma ridotta della vit K, cofattore nell'attivazione dei fattori II, VII e X. La forma ossidata, inattiva, della Vit K viene convertita alla forma ridotta dall'enzima Vit K epossido reductasi (VKOR), il warfarin inibisce il VKOR determinando una riduzione della forma di vit K disponibile a sostenere la cascata coagulativa. Il gene VKORC1 (complesso VKOR subunità 1) è localizzato sul cromosoma 16 e codifica per l'enzima VKOR, una piccola proteina transmembrana del reticolo endoplasmatico. Come risultato della ridotta espressione di VKOR, nei pazienti con variante -1639A del gene, è necessaria una dose minore di warfarin per mantenere l'INR desiderato (17)

Inoltre è stata evidenziata un'associazione tra il genotipo CYP2C9 e la dose del warfarin necessaria per raggiungere e mantenere l'INR desiderato. In particolare i pazienti con due varianti alleliche, piuttosto comuni, del gene CYP2C9, che codifica per l'enzima epatico necessario per il metabolismo del warfarin, richiedono dosi minori di warfarin e sono ad alto rischio di complicanze emorragiche (18, 19).

Alla luce delle attuali conoscenze questi 2 geni, CYP2C9 e VKORC1, mostrano la maggiore interazione con la dose di warfarin. I polimorfismi dei 2 geni

combinati con età, sesso e peso influenzano per il 50-64% la variabilità di risposta alle dosi di warfarin (20, 21). Così come sono state descritte ampie differenze tra le diverse etnie nella risposta al warfarin (22, 23).

Queste esperienze hanno focalizzato l'attenzione su una strategia terapeutica genotipo-guidata con l'obiettivo di migliorare l'efficacia e la sicurezza del warfarin (24). Nonostante il corretto presupposto teorico l'efficacia delle dosi di warfarin guidata dalla farmacogenomica nel migliorare l'outcome clinico rimane argomento di controversie. Uno studio ha riscontrato che il genotipo non riduce la quota di INR che sono fuori dai range di normalità, ma può essere efficacemente utilizzato per stabilire la dose di stabilizzazione e per evitare grosse variazioni del dosaggio (25).

Un secondo studio ha sottolineato che la conoscenza del genotipo CYP2C9 aumenta l'intervallo di tempo in cui il paziente si trova all'interno del range di efficacia (80.4% verso 63.4%; $p < 0.001$) e riduce gli eventi emorragici minori (26).

Non si conoscono a tutt'oggi i risultati di trial che valutino l'impatto della strategia dose guidata dal genotipo su sanguinamenti o eventi trombotici maggiori. Tuttavia l'FDA americano ha recentemente introdotto nel fo-

glietto illustrativo del warfarin il riferimento alla possibilità di eseguire test genetici da parte dei pazienti che assumono il farmaco (27). Diverse compagnie stanno sviluppando test rapidi per la determinazione del genotipo per CYP2C9 e VKORC1. Il fenomeno avrà un importante impatto economico negli USA calcolando un costo approssimativo di 400-550 US dollari a test su una popolazione che assume farmaco che viene stimata tra i 7 e i 10 milioni di abitanti (28, 29).

Alimentazione e prevenzione del TEV

Sebbene le modificazioni dello stile di vita e dell'alimentazione siano ampiamente consigliate nella prevenzione delle malattie cardiovascolari soprattutto correlate all'aterosclerosi, un'alimentazione sana come prevenzione e profilassi della TEV non è mai stata raccomandata, tanto è che non è presente alcun accenno nelle linee guida, se non come generica raccomandazione finalizzata a prevenire l'obesità come fattore di rischio. Solo recentemente è stata suggerita un'azione di prevenzione che coinvolga anche gli aspetti nutrizionali (30, 31).

Il legame tra dieta e TEV può essere mediato da altri aspetti dello stile di vita: i soggetti che hanno

una dieta poco "sana" sono più sedentari dei soggetti che seguono uno stile di vita sano (32). Questo li espone ad un rischio maggiore di stasi venosa dipendente sia dall'obesità che dallo scarso esercizio fisico e ad un maggiore rischio ipossico.

L'utilizzo di un approccio alimentare nella prevenzione della TEV si basa su osservazioni storiche riguardanti l'incidenza di embolia polmonare fatale durante periodi di guerra con alimentazione razionata, all'inizio del 20° secolo nelle città europee; su studi osservazionali prospettici riguardanti l'incidenza della dieta e dei fattori inerenti allo stile di vita associati con TEV; su i risultati di studi caso-controllo di pazienti con TEV osservando il profilo lipidico, i markers infiammatori e le variabili della coagulazione.

Dati storici epidemiologici mostrano che in Norvegia il tasso di TEV post-intervento era marcatamente diminuito durante la Seconda Guerra Mondiale per aumentare subito dopo. Tale dato si associava ad una diminuzione dell'assunzione di alimenti di origine animale durante il periodo bellico (33). A conferma di tale osservazione, la più bassa incidenza di TEV, espressa come percentuale di tutti i pazienti ospedalizzati, nei Paesi Europei è stata registrata durante gli anni della Seconda Guerra Mondiale e in quelli im-

mediatamente successivi, con un minimo relativo e assoluto tra il 1945 e il 1949 (34, 35).

Questi studi storici hanno grosse limitazioni, ma suggeriscono che l'alto apporto di carboidrati, una dieta povera di grassi e in generale un'alimentazione ipocalorica tipica dei periodi bellici può aver determinato una diminuzione dell'obesità e un aumento dell'esercizio fisico con conseguente riduzione della formazione di trombi. Gli effetti di questo stile di vita sono una riduzione del rischio di TEV e soprattutto di embolia polmonare fatale.

In tempi più recenti lo studio "Longitudinal Investigation of Thromboembolism Etiology (LITE)", studio longitudinale ha evidenziato che una dieta ricca in frutta, verdura e pesce e povera in carne si associa ad una bassa incidenza di TEV (36).

Lo studio LITE mostra che l'incidenza di TEV diminuisce nei pazienti con il più elevato intake di frutta e verdure (usando come riferimento il quintile più basso=1 con intake di frutta e verdura pari a 2.0 porzioni al dì, nel quintile più alto con intake medio di 6.7 porzioni al dì, l'incidenza è =0.59; p=0.03). L'intake di carne mostra un comportamento speculare con un aumento del rischio di sviluppare TEV con l'aumentare del consumo (usando come riferimento il quintile più basso =1, i sog-

getti nel quintile più alto hanno un HR=2.01; $p<0.02$). Evidenziata una correlazione inversa tra l'intake di frutta/verdura e l'intake di carne ($r=-0.28$) si può ipotizzare che le due variabili agiscano in modo sinergico sul rischio di TEV.

Tuttavia esistono anche studi che non hanno evidenziato una correlazione così stretta tra le abitudini alimentari ed il rischio di TEV. È il caso dell'Iowa Women's Health Study (IWHS), ampio studio prospettico sugli effetti della dieta sul rischio di TEV che non ha rilevato alcuna correlazione tra intake di frutta/verdura, carne o pesce e rischio individuale. Anche l'analisi dei pattern alimentari e dei singoli nutrienti non ha portato ad alcuna correlazione (37).

I risultati opposti ottenuti dai 2 studi si possono spiegare analizzando le casistiche che appaiono molto differenti nella selezione dei pazienti, primo tra tutti la percentuale di donne che nello Studio Lite non superava il 55%, mentre l'IWHS analizzava per il 99% donne bianche. Altri aspetti metodologici, quali la modalità di somministrazione del questionario di frequenze alimentari e il numero di questionari somministrati suggeriscono che i dati ottenuti dallo Studio LITE siano più rigorosi ed attendibili.

Un aspetto interessante dello Studio LITE è la mancanza di corre-

lazione tra i markers di infiammazione quale ad esempio la proteina C reattiva (CRP) ed il rischio di TEV, attribuibile alla mancata suddivisione della casistica in forme idiopatiche e forme secondarie (38).

Studi caso-controllo hanno, infatti, sottolineato che i pazienti con TEV idiopatica hanno livelli di hs-CRP significativamente più elevati rispetto ai pazienti con TEV secondaria (1.8 verso 1.5; $p=0.05$) i quali peraltro hanno valori mediamente più elevati rispetto ai controlli (1.5 verso 1.2; $p=0.02$) (39). Lo stesso studio ha evidenziato livelli più elevati di fibrinogeno nei pazienti con TEV idiopatica rispetto a quelli con TEV secondaria (331 verso 299 mg/dl; $p=0.004$). Nello studio LITE i livelli di Fattore VIII e di Fattore von Willebrand erano significativamente correlati con TEV (trend di significatività nei quartili $P<0.001$ per entrambi) mentre il fibrinogeno non risultava correlato (38). Diversi biomarkers solubili di natura infiammatoria sono associati ai fenomeni trombotici, ed esiste un ampio dibattito se l'aterosclerosi arteriosa e il TEV abbiamo una base comune di fattori di rischio. I fattori di rischio della TEV, età avanzata, obesità, interventi chirurgici e cancro sono caratterizzati da uno stato infiammatorio che si può evidenziare con il riscontro di ele-

vati livelli di Proteina C reattiva (PCR) (40, 41).

Il meccanismo attraverso il quale la PCR promuove lo stato pro-trombotico è l'induzione della sintesi del *tissue factor* da parte dei monociti con conseguente attivazione della via estrinseca della coagulazione (42).

Un certo numero di studi hanno valutato il ruolo dei biomarkers infiammatori nella diagnosi della TEV suggerendo una sensibilità del 77% con un ampio range tra i diversi studi (60%-100%) ed una specificità del 66% (43, 44). D'altro canto i risultati negativi riportati dallo Studio LITE e dal Physician Health Study suggeriscono che l'aumento delle citochine infiammatorie non è un marker di rischio indipendente per il TEV, tuttavia considerando l'importanza dello stile di vita e dell'alimentazione sullo stato infiammatorio, non si può escludere un intervento positivo nutrizionale e comportamentale per la riduzione del rischio (38, 44).

Accanto ai markers di infiammazione, anche le molecole di adesione sembrano coinvolte nello sviluppo del TEV. Studi recenti hanno evidenziato un aumento della sP-selectina durante episodi acuti di TEV (45, 46). La P-selectina è una molecola di adesione contenuta negli alfa-granuli delle piastrine e nei Corpi di Weibel-Palade delle cellule endoteliali. L'attivazione di

queste due componenti cellulari determina la traslocazione della molecola sulla superficie delle cellule ed il rilascio della stessa in forma solubile, nel circolo. Il recettore della P-selectina, PSGL-1 è espresso sulle piastrine e media l'interazione tra piastrine ed endotelio, supporta e sostiene la formazione della fibrina e la crescita dei trombi. Il legame tra P-selectina e il suo recettore induce uno stato pro-coagulativo attraverso diverse vie, facilitando l'induzione di microparticelle pro-coagulative da parte dei leucociti, determinando l'up-regulation del tissue factor sui monociti ed aumentando la generazione di trombina indotta dai monociti (47, 48)

Alimentazione e TEV: non solo prevenzione

Mentre esiste un'ampia letteratura relativa alle interferenze tra farmaci e terapia anticoagulante orale, con analisi accurate, le informazioni relative alle interferenze alimentari, sia riferite agli alimenti di consumo che agli integratori a base di erbe sono alquanto frammentarie nonostante il problema sia comune nella pratica clinica (49).

La vit K è largamente diffusa in natura e gli alimenti più ricchi sono spinaci (4.2 mg/100 gr), cavoli (3.2 mg/100 gr) ed in misura mi-

nore carote, piselli e pomodori (rispettivamente 0.1-0.1 e 0.4 mg/100 gr). Tra gli alimenti di origine animale il fegato ne contiene la maggiore quantità (0.4-0.8 mg/100 gr) (Tab. 1).

In realtà questi dosaggi non interferiscono gran che con l'attività dei farmaci inibitori della Vit K se assunti correttamente, tuttavia, poiché l'azione antivitaminica avviene attraverso un antagonismo competitivo è opportuno consigliare un'assunzione controllata di tali alimenti, soprattutto quando l'alimento entra nelle abitudini alimentari quotidiane del paziente (50).

Scarse sono le informazioni relative alla presenza di Vit K in diversi alimenti, bevande e cibi, pre-confezionati in commercio. La variabilità dell'intake di Vit K viene spesso citata come un fattore di rischio di instabilità della terapia anticoagulante con warfarin. Rispetto alle altre vitamine liposolubili la Vit K ha un'ampia variabilità inter- e intra-individuale nel-

l'intake e di conseguenza nella corrispondente concentrazione plasmatica. Sebbene esistano in letteratura diversi case report che identificano in specifici alimenti la causa potenziale di sovra o sotto-anticoagulazione in pazienti che assumono warfarin e sebbene dati osservazionali supportino un'interazione tra la Vit K assunta con la dieta e la stabilità della terapia con warfarin esistono stranamente solo rari tentativi di isolare le fluttuazioni di Vit K nella dieta e utilizzarle favorevolmente per risolvere i problemi di instabilità (49, 51).

Limitare l'assunzione di alimenti ricchi di Vit K come strategia per ridurre l'instabilità della risposta anticoagulante alla terapia può creare problematiche di diversa natura nei pazienti che assumono tale terapia cronicamente soprattutto per il ruolo della Vit K nella prevenzione di altre patologie ad esempio la progressione delle calcificazioni vascolari per non citare la concomitante riduzione dell'intake di altri nutrienti presenti nei vegetali verdi a

Tabella 1 - Contenuto di Vit K in alcuni alimenti di utilizzo comune (50)

Alimento	Vitamina K (microgrammi/100 grammi)
Cime di rapa	650
Broccoli	200
Lattuga (insalata verde)	129
Cavolo	125
Spinaci	98
Asparagi	80
Fagiolini	14

larga foglia e in altri alimenti ricchi di Vit K (52, 53). In aggiunta a tutto questo così come alti livelli nutrizionali di Vit K possono agire determinando un'ipo-scoagulazione, analogamente bassi livelli di Vit K sono un fattore di rischio per iper-scoagulazione. Una riduzione della Vit K alimentare è frequente nei pazienti che assumono antibiotici e nei pazienti con malassorbimento intestinale. In quest'ultimo caso è probabile che l'instabilità del controllo della coagulazione nei pazienti che assumono inibitori della Vit K dipenda oltre che da un ridotto intake /assorbimento alimentare anche da scarse riserve di Vit K (54-56).

In realtà non esiste una dimostrazione diretta che scarsi livelli di Vit K siano correlati ad un aumento del rischio di TEV, mentre è esperienza quotidiana che la Vit K assunta con gli alimenti può interferire con l'attività degli anticoagulanti orali. Un problema recentemente emerso è la capacità di interferenza del Tè verde con l'attività dei farmaci anticoagulanti inibitori della Vit. K. Il tè verde contiene significative quantità di Vit. K ed è una bevanda che si è molto diffusa anche nelle regioni occidentali soprattutto per la sua pubblicizzata "azione dimagrante". Sebbene l'infuso di tè verde contenga solo piccole quantità di Vit K (0.03 Ag per 100 gm di infuso), le foglie secche di tè verde contengono 1428 Ag di Vit K per 100 gm

valore molto alto se confrontato con la quantità contenuta nelle foglie secche di tè nero (262 Ag per 100 gm) (57, 58).

Ovviamente la quantità di Vit K nel prodotto finale dipende dalla diluizione che nei preparati commerciali è, in genere, piuttosto alta mentre nelle bevande a preparazione domestica dipende dalla quantità di foglie e dal tempo di infusione. Ma soprattutto gli effetti dipendono dalla quantità di tè che viene assunta giornalmente. In questo senso possono risultare particolarmente nocive le diete a base di tè verde che prevedono un'assunzione di 2 litri di bevanda al giorno (51, 59).

Gli integratori derivati dalle erbe sono un problema particolarmente importante per la scarsità di controlli di qualità sul loro contenuto, per la diffusa convinzione nei pazienti che non determinino importanti interferenze con i farmaci e per la scarsa attitudine del medico ad informarsi relativamente alla loro assunzione (60, 61).

I supplementi a base di erbe sono stati usati per centinaia di anni nei Paesi Orientali e si stanno diffondendo anche nei Paesi Occidentali, si ritiene che circa 15 milioni di persone negli USA facciano uso di rimedi a base di erbe o assumano vitamine ad alto dosaggio (62).

La definizione di "erbe" include ogni forma di piante e di prodotti derivati dalle piante. Poiché le erbe vengono considerate prodotti ali-

mentari non sono sottoposti a controlli e regolamenti severi come i farmaci. Questo consente ai produttori di erbe di effettuare pochi test di sicurezza ed efficacia pre-marketing e di non effettuare una sorveglianza post-marketing sugli effetti collaterali. Sebbene i rimedi a base di erbe vengano percepiti dal pubblico come "naturali" e di conseguenza "sicuri", in realtà possono avere effetti collaterali maggiori talvolta letali e possono interferire pesantemente con alcuni farmaci ed in particolare con gli inibitori della Vit K. L'uso dei prodotti a base di erbe è prevalente nei pazienti che assumono farmaci ed è in crescita anche nella popolazione anziana. Tuttavia pochi studi clinici hanno valutato sistematicamente le potenziali interazioni tra erbe e farmaci. In aggiunta a ciò molte volte il paziente non riferisce l'uso di farmaci alternativi al medico curante e parallelamente molti medici non chiedono al paziente se assume erbe o integratori, con il risultato finale di una mancanza di informazioni importanti (63-65).

Le erbe più diffuse causano interferenze con la terapia anticoagulante sono aglio, ginko biloba, ginseng, cardiaca leonorus, estratto di mirtillo, salvia, angelica, trigonella e trifoglio (66) (Tab. 2).

Il ginseng, comunemente utilizzato nella Medicina Cinese nei pazienti con infarto miocardico, insufficienza cardiaca e angina, in Occidente

Tabella 2 - Effetti terapeutici ed effetti collaterali delle erbe di più comune utilizzo

Erba	Effetti terapeutici	Effetti collaterali
Erba Medica (<i>medicago sativa</i>)	Artrite, Asma, Dispepsia, Iperlipidemia, Diabete	Aumenta il rischio di sanguinamento con warfarin
Aloe Vera (<i>Aloe Barbadensis</i> Miller)	Cicatrizzazione, Diabete	Ipokaliemia che causa tossicità da <i>digitalis</i> e aritmia
Angelica (<i>Angelica sinensis</i>)	Perdita dell'appetito, Dispepsia, Infezione	Aumenta il rischio di sanguinamento con warfarin
Mirtillo (<i>Vaccinum myrtillus</i>)	Disturbi circolatori, infiammazioni locali, patologie della pelle, diarrea, artrite	Aumenta il rischio di sanguinamento con warfarin
Fieno greco (<i>Trigonella foenum-graecum</i>)	Ipercolesterolemia	Aumenta il rischio di sanguinamento con warfarin, ipoglicemia
Fumaria	Infezioni, edema, stipsi, ipertensione	Aumenta l'effetto dei beta-bloccanti, dei bloccanti dei canali del calcio, glicosidi cardiaci
Aglione (<i>Alium sativum</i>)	Ipercolesterolemia, cardiopatia, ipertensione	Aumenta il rischio di sanguinamento con warfarin
Zenzero (<i>Zingiber officinale</i>)	Ipercolesterolemia, vertigini, indigestione, malassorbimento di antiossidanti	Aumenta il rischio di sanguinamento con warfarin
Ginkgo biloba	Insufficienza circolatoria, disordini cognitivi	Aumenta il rischio di sanguinamento con warfarin e aspirina, potenziale rischio di aritmie per effetti sul QT
Ginseng o Panax ginseng	Invecchiamento, riduzione della risposta immunitaria, migliora le capacità mentali e fisiche e la tolleranza da stress	Aumenta la pressione del sangue, diminuisce gli effetti del warfarin, ipoglicemia
Succo di pompelmo	Perdita di peso, per promuovere la salute cardiovascolare	Aumenta gli effetti delle statine, dei bloccanti dei canali del calcio
Tè verde	Migliora le performance cognitive, la lucidità mentale, perdita di peso, diuretico	Diminuisce gli effetti del warfarin
Biancospino (<i>Crataegus monogyna</i>)	CHF, ipertensione	Potenzia l'azione dei glicosidi e dei nitrati cardiaci
Muschio Irlandese (<i>Sagina subulata</i>)	Ulcere, gastriti	Aumenta gli effetti degli antiipertensivi
Alga	Cancro, obesità	Aumenta gli effetti degli agenti antiipertensivi e anticoagulanti
Visnaga daucoides (<i>Ammi visnaga</i>)	Spasmi muscolari	Aumenta gli effetti degli agenti anticoagulanti e dei bloccanti dei canali di calcio

(continua)

Tabella 2 (continua) - Effetti terapeutici ed effetti collaterali delle erbe di più comune utilizzo

Erba	Effetti terapeutici	Effetti collaterali
Liquirizia (<i>Glycyrrhiza glabra</i>)	Ulcera, cirrosi, tosse, gola irritata, infezioni	Aumenta la pressione del sangue, ipokalemia, può potenziare la tossicità della <i>digitale</i>
Mughetto (<i>Convallaria majalis</i>)	CHF	Aumenta gli effetti dei beta-bloccanti, dei bloccanti dei canali del calcio, digitale, chinidina, steroidi
Ephedra	Obesità, tosse	Aumenta il battito cardiaco e la pressione sanguigna
Night-blooming cereus	CHF	Aumenta gli effetti degli ACE inibitori, anti-aritmici, beta-bloccanti, bloccanti dei canali del calcio, glicosidi cardiaci
Oleandro (Nerium Oleander)	Crampi muscolari, asma, cancro, CHF, epatite, psoriasi, artrite	Blocco cardiaco, iperkalemia, aritmia, morte
Erba di San Giovanni (<i>hypericum perforatum</i>)	Depressione	Aumenta il battito cardiaco e la pressione sanguigna, diminuisce la concentrazione di digoxina
Strophanthus	CHF	Aumenta gli effetti dei glicosidi cardiaci
Yohimbina o Iohimbina	Impotenza	Aumenta il battito cardiaco, aumenta o diminuisce la pressione sanguigna

viene pubblicizzato per le sue doti di stimolazione del sistema immunitario, per l'aumento del vigore e della forza, come stimolante la longevità e come agente antidiabetico, effetti peraltro non dimostrati scientificamente. Tuttavia l'informazione scarsamente diffusa tra i consumatori è che riduce l'efficacia del warfarin (67). Analogo effetto è prodotto dall'erba di San Giovanni o iperico. Il suo utilizzo cronico determina un aumento del rischio di TEV (68, 69). Molte di queste erbe sono contenute in preparati misti per tisana o compresse e il paziente le assume senza saperlo. L'uso dei

prodotti a base di erbe è complicato da molti problemi: la mancanza di evidenze scientifiche su efficacia e sicurezza, la mancanza di una regolamentazione legislativa dedicata, la mancanza di controlli di qualità sui preparati e la disinformazione sugli effetti e sugli effetti collaterali. Una recente analisi ha evidenziato che circa il 64% dei pazienti con diagnosi di fibrillazione atriale, cardiopatia ischemica o insufficienza cardiaca riferisce un uso concomitante di terapie alternative e di preparati a base di erbe. Più della metà (58%) assume integratori che mostrano effetti di potenziale interferenza con

farmaci anticoagulanti orale, amiodarone, sotalolo e digitale. Analogamente dati ottenuti da una popolazione geriatrica mostrano che il 46% dei pazienti assume integratori con proprietà anticoagulanti. La maggior parte di questi (73%) assume in concomitanza farmaci anticoagulanti ed ignora del tutto le possibili interazioni (70, 71).

Le esperienze riportate in letteratura fanno riferimento a casistiche analizzate negli USA ma la crescente diffusione della medicina alternativa e degli integratori anche nel nostro Paese deve indurci a non sottovalutare il problema.

Nuove strategie terapeutiche: l'era dei nuovi farmaci anticoagulanti

La ricerca di un farmaco anticoagulante più sicuro e meglio tollerabile alternativo agli inibitori della Vit K è stato definito il "sacro graal" della ricerca nella prevenzione del tromboembolismo.

I nuovi anticoagulanti includono composti attivi somministrabili per os e composti per uso parenterale somministrabili una volta alla settimana o una volta al giorno. L'obiettivo principale dei nuovi anticoagulanti è sostituire gli inibitori della Vit. K nella terapia a lungo termine, sebbene alcuni di questi possano utilmente essere utilizzati in associazione con eparina a basso peso molecolare e fondaparina nella terapia anticoagulante a breve termine.

Inibitori diretti della trombina

Dabigatran Etxilate (BIBR 1048)

Il Dabigatran etexilate (Pradaxa®, Boehringer Ingelheim) è un pro-farmaco a piccola molecola (PM 628 Da) che di per sè non presenta alcuna attività farmacologica. Dopo assunzione per os il dabigatran etexilate viene rapidamente assorbito e convertito nel metabolita attivo dabigatran (PM 471 Da) nel plasma e nel fegato. Dabigatran è un inibitore diretto della trombina,

è potente, competitivo, e reversibile. Inibisce la trombina libera, la trombina legata alla fibrina e l'aggregazione piastrinica trombin-indotta. Un aspetto certamente favorevole è che il cibo non interferisce con la biodisponibilità del dabigatran etexilate ma ritarda il picco plasmatico di circa 2 ore. (72?). Tale aspetto è senz'altro favorevole alla luce di quanto discusso in precedenza sulle interferenze alimentari.

Dabigatran è stato valutato per la prevenzione del TEV in 3 studi clinici. Due di questi (RE-MODEL e RE-MOBILIZE) confrontavano il dabigatran con enoxaparina dopo intervento chirurgico maggiore al ginocchio, mentre il terzo studio (RE-NOVATE) confrontava il dabigatran con enoxaparina dopo intervento ortopedico all'anca (73-75).

L'outcome primario dei 3 trial era il numero totale di TEV, e la mortalità totale. Una meta-analisi dei 3 trial ha evidenziato che il dabigatran alla dose di 220 mg al dì era non inferiore alla enoxaparina (40 mg al dì) e presentava un rischio di eventi emorragici maggiori sovrapponibile (76).

Il farmaco è stato testato anche per il trattamento della TEV in fase acuta e confrontato con warfarin dimostrando una non inferiorità sia in termini di efficacia che di sicurezza (77).

Inibitori del fattore Xa

Idrabiotaparinux

Idrabiotaparinux è una variante ipermetilata della fondaparina, un polisaccaride sintetico.

L'ipermetilazione determina una maggiore affinità per l'anti-trombina e una emivita maggiore rispetto alla fondaparina. La via di somministrazione è sottocutanea, e la lunga emivita consente una somministrazione settimanale.

L'Idrabiotaparinux non è stata testata per la profilassi del TEV. Negli studi condotti sul trattamento sono stati ottenuti risultati diversi tra pazienti con TEV e pazienti con EP suggerendo l'ipotesi che questi ultimi necessitino di una dose maggiore iniziale (78).

Rivaroxaban

È un inibitore orale del Fattore Xa, farmaco attivo con buon assorbimento gastro-intestinale e una biodisponibilità di circa l'80%.

Rivaroxaban è stato valutato per la tromboprofilassi nei pazienti sottoposti a chirurgia elettiva del ginocchio o dell'anca in almeno 3 trial nei quali si è dimostrato più efficace dell'enoxaparina sull'end-point primario di TEV totale e di mortalità con risultati contrastanti sulla sicurezza dipendenti dai criteri alquanto severi sugli effetti emorragici (79-81).

Apixaban

È un inibitore selettivo e reversibile del fattore Xa con una biodisponibilità del 50%.

È stato valutato nella tromboprofilassi del TEV in pazienti sottoposti ad intervento chirurgico ortopedico all'anca e al ginocchio. Nei diversi trial il farmaco ha dimostrato una buona efficacia sia in termini di outcome che di effetti collaterali (82, 83).

Quelli elencati sono solo alcuni dei nuovi farmaci proposti, l'intento dei nuovi anti-trombotici è sostituire la terapia con warfarin in molteplici indicazioni soprattutto quelle che richiedono trattamenti prolungati. La maggior parte di questi farmaci agisce o inibendo la formazione della trombina o bloccando l'attività della trombina. La trombina è un fattore chiave nei meccanismi di coagulazione e trombosì ed è coinvolta in molteplici altri sistemi cellulari indipendenti dalla coagulazione, pertanto la sua inattivazione determina risposte complesse da parte dell'organismo.

Sono necessarie ulteriori esperienze prima di poter identificare il nuovo farmaco per eccellenza per sostituire l'anticoagulante orale, tuttavia è utile riconoscere che la ricerca si sta muovendo verso questo obiettivo.

Nuove strategie terapeutiche: oltre i farmaci.

Parlando di sviluppi futuri non è possibile ignorare le strategie terapeutiche innovative che si basano su studi di genetica e terapia cellulare. Anche in questo caso la ricerca è focalizzata ad identificare interventi terapeutici non farmacologici che potrebbero rispondere alla richiesta di alternative al warfarin.

I meccanismi di risoluzione spontanea del trombo sono ben noti fin dai tempi di Virchow nel 1860; i processi di organizzazione e ricanalizzazione richiedono il reclutamento di cellule infiammatorie (inizialmente neutrofili e in un secondo momento monociti), di cellule endoteliali e dei fibromioblasti (84-86).

Questo processo è molto simile a quello di formazione del tessuto di granulazione indispensabile per la cicatrizzazione. I monociti ed i macrofagi sono importanti mediatori del processo di cicatrizzazione perché esprimono diversi agenti ad esempio chemochine, citochine e fattori di crescita che agiscono sul rimodellamento del trombo e sulla neo-vascularizzazione.

La neo-vascularizzazione è una componente fondamentale del processo di organizzazione del trombo ed presente in misura maggiore nei trombi venosi rispetto ai trombi arteriosi (87, 88).

I nuovi tubuli vascolari che si svi-

luppano all'interno dei trombi in fase di risoluzione sono costituiti da cellule "simil-endoteliali" che esprimono markers normalmente associati all'endotelio (ad esempio ICAM-1 e CD31) e la loro formazione è simile alla neo-angiogenesi. L'angiogenesi è un processo complesso che coinvolge numerosi mediatori tra i quali ricordiamo il vascular endothelial growth factor (VEGF) e il basic fibroblast growth factor (bFGF), il platelet derived growth factors (PDGF) ed i rispettivi recettori che lavorano in sincronia per promuovere la formazione di strutture vascolari (89, 90). Le cellule che si trovano all'interno del trombo, ed in particolare i monociti, esprimono un'ampia gamma di fattori proangiogenici quali VEGF, bFGF and Interleukin-8 (IL-8) che possono generare un richiamo per cellule "simil-endoteliali" verso la zona del trombo. Le cellule "simil-endoteliali" migrano rapidamente sulla superficie esposta del trombo e tale tappeto cellulare agisce prevenendo sia l'attivazione della cascata coagulativa sia la propagazione del trombo (91).

L'origine di queste cellule non è del tutto nota, tuttavia diversi studi sperimentali suggeriscono un coinvolgimento delle cellule progenitrici endoteliali di origine midollare, ipotesi suffragata dal coinvolgimento di tale componente cellulare in diversi processi di vasculogenesi e di noevascolarizzazione dell'adulto

(92, 93). È ipotizzabile che il micro ambiente che si viene a creare nel trombo agisca come stimolo per la differenziazione delle cellule progenitrici verso uno stadio intermedio con cellule a fenotipo misto macrofagi/endotelio (94, 95).

Questo getta le basi per un'ipotesi di terapia rigenerativa nella prevenzione della TVP. Sono stati fatti diversi tentativi di stimolare la neovascolarizzazione mediante terapia cellulare (96, 97). Cellule midollari sono state utilizzate per promuovere la neovascolarizzazione nel tessuto ischemico mediante tecniche di "vasculogenesi terapeutica" (98). Le cellule progenitrici endoteliali, somministrate localmente o iniettate nel circolo, vengono incorporate nei nuovi tubuli vascolari dove promuovono l'angiogenesi locale mediante la secrezione di citochine pro-angiogeniche (99). I risultati ottenuti fino ad ora in piccoli trial clinici sia a livello di ischemia miocardica che periferica sono incoraggianti. Le strategie finalizzate a mobilitare le cellule progenitrici endoteliali e la somministrazione di cellule progenitrici endoteliali in soluzioni arricchite di fattori di crescita potrebbero accelerare il dissolvimento del trombo promuovendone l'organizzazione e la rivascolarizzazione. A tutt'oggi non esistono dati a lungo termine sull'efficacia di tale strategia terapeutica tuttavia è un'ipotesi di lavoro estrema-

mente interessante. Di concerto al coinvolgimento delle cellule progenitrici endoteliali una scuola di pensiero introduce una nuova visione del ruolo giocato dai mastociti. L'osservazione che i mastociti si accumulano nella parete adiacente al trombo e che contengono e liberano diverse molecole con azione di riparazione cellulare e trombolitica introduce un'estensione al modello di Virchow (84). In tale ipotesi le cellule endoteliali attivate producono e liberano citochine (ad esempio stem cells factor) che richiamano i mastociti e li attivano determinando la secrezione di molecole fibrinolitiche (tPA, eparina) che prevengono a ulteriore formazione e accrescimento del trombo (100, 101).

Queste ipotesi si prestano ad ulteriori approfondimenti per l'identificazione di strategie preventive efficaci per il tromboembolismo venoso.

References

1. Mackman N. Triggers, targets and treatments for thrombosis. *Nature* 2008; 451: 914-8.
2. Segers K, Dahlback B, Nicolaes G. A. Coagulation factor V and thrombophilia: background and mechanisms. *Thromb Haemos* 2007; 98: 530-42.
3. Hron G, Kollars M, Weber H, et al. Tissue factor-positive microparticles: cellular origin and association with coagulation activation in patients with colorectal cancer. *Thromb Haemost* 2007; 97, 119-23.
4. Heit JA. The epidemiology of venous thromboembolism in the community. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28: 370-2.
5. Cohen AT, Agnelli G, Anderson FA, et al. VTE Impact Assessment Group in Europe (VITAE). Venous thromboembolism (VTE) in Europe. The number of VTE events and associated morbidity and mortality. *Thromb Haemost* 2007; 98: 756-64.
6. Schafer AI. Venous thrombosis as a chronic disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 955-6.
7. Geerts WH, Bergqvist D, Pineo GF, et al. Prevention of venous thromboembolism: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th edition). *Chest* 2008; 133 (6 Suppl.): 381S-453S.
8. 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.): 160S-98S.
9. Landefeld CS, Beyth RJ. Anticoagulant-related bleeding: clinical epidemiology, prediction, and prevention. *Am J Med* 1993; 95 (3): 315-28.
10. Birman-Deych E, Radford MJ, Nilasena DS, Gage BF. Use and effectiveness of warfarin in Medicare beneficiaries with atrial fibrillation. *Stroke* 2006; 37: 1070-4.
11. Choudhry NK, Anderson GM, Laupacis A, Ross-Degnan D, Normand SL, Soumerai SB. Impact of adverse events on prescribing warfarin in patients with atrial fibrillation: matched pair analysis. *BMJ* 2006; 33: 141-5.
12. Monette J, Gurwitz JH, Rochon PA, Avorn J. Physician attitudes concerning warfarin for stroke prevention in atrial fibrillation: results of a survey of long-term care practitioners. *J Am Geriatr Soc* 1997; 45: 1060-5.

13. Cundiff DK. Clinical evidence for 'rebound hypercoagulability' after discontinuing oral anticoagulants for venous thromboembolism. *Medscape J Med* 2008; 10 (11): 258 [<http://www.medscape.com/viewarticle/582408>].
14. Cundiff DK. A systematic review of Cochrane anticoagulation reviews. *Medscape J Med* 2009, 11(1): 5.
15. Patrick AR, Avorn J, Choudhry NK. Cost-effectiveness of genotype guided warfarin dosing for patients with atrial fibrillation. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*. 2009; 2: 429-36.
16. McWilliams A, Lutter R, Nardinelli C. Health care savings from personalizing medicine using genetic testing: the case of warfarin. Working Paper 06-23 November 2006. <http://www.reg-markets.org/publications/abstract.php?pid=1127>. Accessed September 3, 2009]
17. Wang D, Chen H, Momary KM, Cavallari LH, Johnson JA, Sadée W. Regulatory polymorphism in vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 (*VKORC1*) affects gene expression and warfarin dose requirement. *Blood* 2008; 112 (4): 1013-21.
18. Schwarz UI, Ritchie MD, Bradford Y, et al. Genetic determinants of response to warfarin during initial anticoagulation. *N Engl J Med* 2008; 358: 999-1008.
19. Higashi MK, Veenstra DL, Kondo LM, et al. Association between CYP2C9 genetic variants and anticoagulation-related outcomes during warfarin therapy. *JAMA* 2002; 287: 1690-8.
20. International Warfarin Pharmacogenetics Consortium. Estimation of the warfarin dose with clinical and pharmacogenetic data. *N Engl J Med* 2009; 360 (80): 753-64.
21. Wadelius M, Chen LY, Eriksson N, et al. Association of warfarin dose with genes involved in its action and metabolism. *Hum Genet* 2007; 121 (1): 23-34.
22. Kealey C, Chen Z, Christie J, et al. Warfarin and cytochrome P450 2C9 genotype: possible ethnic variation in warfarin sensitivity. *Pharmacogenomics* 2007; 8 (3): 217-25.
23. Moyer TP, O'Kane DJ, Baudhuin LM, et al. Warfarin Sensitivity Genotyping: A Review of the Literature and Summary of Patient Experience. *Mayo Clin Proc* 2009; 84 (12): 1079-94.
24. McWilliams A, Lutter R, Nardinelli C. Healthcare impact of personalized medicine using genetic testing: an exploratory analysis for warfarin. *Personalized Med* 2008; 5: 6.
25. Anderson JL, Horne BD, Stevens SM, et al. Randomized trial of genotype-guided versus standard warfarin dosing in patients initiating oral anticoagulation. *Circulation* 2007; 116: 2563-70.
26. Caraco Y, Blotnick S, Muszkat M. CYP2C9 genotype-guided warfarin prescribing enhances the efficacy and safety of anticoagulation: a prospective randomized controlled study. *Clin Pharmacol Ther* 2008; 83: 460-70.
27. New Labeling Information for Warfarin. Available at: <http://www.fda.gov/cder/drug/infopage/warfarin/default.htm>. Accessed January 10, 2008
28. Harvard Medical School Partners Center for Genetics and Genomics. Warfarin Metabolism Panel: VKORC1 Haplotype A vs. B, CYP2C9 *2 and *3 Available at: http://www.hpcgg.org/LMM/comment/warfarin%20info%20sheet.jspname_LMM_&subname_genetictests. Accessed May 29, 2008.
29. Patrick AR, Avorn J, Choudhry NK. Cost-Effectiveness of Genotype-Guided Warfarin Dosing for Patients With Atrial Fibrillation. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes* 2009; 2: 429-36.
30. Cundiff DK, Agutter PS, Malone PC, Pezzullo JC. Diet as prophylaxis and treatment for venous thromboembolism? *Theoretical Biology and Medical Modelling* 2010, 7:31 <http://www.tbiomed.com/content/7/1/31>
31. Gaston S: The Surgeon General's call to action to prevent deep vein thrombosis and pulmonary embolism. US Department of Health and Human Services <http://www.surgeongeneral.gov/topics/deepvein>
32. Mattioli AV, Miloro C, Pennella S, Pedrazzi P, Farinetti A. Adherence to mediterranean diet and intake of antioxidants influence spontaneous conversion of atrial fibrillation nutrition. *Metabolism & Cardiovascular Diseases*, 2011, doi:10.1016/j.numecd.2011.03.005
33. Strom A. Examination into the diet of Norwegian families during the war-years 1942-45. *Acta Med Scand Suppl* 1948, 214: 1-47
34. Malmros H. The relation of nutrition to health; a statistical study of the effect of the war-time on arteriosclerosis, cardiosclerosis, tuberculosis and diabetes. *Acta Med Scand* 1950; 246: 137-53.
35. Sigg K. *Varicen, Ulcus cruris und Thrombosen* Berlin, Heidelberg, and New York: Springer-Verlag, 1976.
36. Steffen L, Folsom A, Cushman M, Jacobs D, Rosamond W. Greater fish, fruit, and vegetable intakes are related to lower incidence of venous thromboembolism: The Longitudinal Investigation of Thromboembolism Etiology. *Circulation* 2007, 115: 188-95.
37. Lutsey P, Steffen L, Virmig B, Folsom A. Diet and incident venous thromboembolism: The Iowa Women's Health Study. *Am Heart J* 2009; 157: 1081-7.
38. Tsai A, Cushman M, Rosamond WD, et al. Coagulation factors, inflammation markers, and venous thromboembolism: the Longitudinal Investigation of Thromboembolism Etiology (LITE). *Am J Med* 2002; 113: 636-42.
39. Luxembourg B, Schmitt J, Humpich M, et al. Cardiovascular risk factors in

- idiopathic compared to risk-associated venous thromboembolism: A focus on fibrinogen, factor VIII, and high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP). *Thromb Haemost* 2009; 102: 668-75.
40. Pabinger I. Biomarkers and Venous Thromboembolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009; 29: 332-6.
 41. Prandoni P. Links between arterial and venous disease. *J Intern Med* 2007; 262: 341-50.
 42. Cermak J, Key NS, Bach RR, Balla J, Jacob HS, Vercellotti GM. C-reactive protein induces human peripheral blood monocytes to synthesize tissue factor. *Blood* 1993; 82: 513-20.
 43. Fox EA, Kahn SR. The relationship between inflammation and venous thrombosis. A systematic review of clinical studies. *Thromb Haemost* 2005; 94: 362-5.
 44. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med* 1997; 336: 973-9.
 45. Smith A, Quarmby JW, Collins M, Lockhart SM, Burnand KG. Changes in the levels of soluble adhesion molecules and coagulation factors in patients with deep vein thrombosis. *Thromb Haemost* 1999; 82: 1593-9.
 46. Rectenwald JE, Myers DD Jr, Hawley AE, et al. D-dimer, P-selectin, and microparticles: novel markers to predict deep venous thrombosis. A pilot study. *Thromb Haemost* 2005; 94: 1312-7.
 47. Polgar J, Matuskova J, Wagner DD. The P-selectin, tissue factor, coagulation triad. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 1590-6.
 48. Vandendries ER, Furie BC, Furie B. Role of P-selectin and PSGL-1 in coagulation and thrombosis. *Thromb Haemost*. 2004; 92: 459-66.
 49. Holbrook AM, Pereira JA, Labiris R, et al. Systematic Overview of Warfarin and Its Drug and Food Interactions *Arch Intern Med* 2005; 165: 1095-106.
 50. Fidanza F, Liguori G. Nutrizione Umana Ediz Idelson 1995; 106-7.
 51. Cheng TO. Green tea may inhibit warfarin. *Int J Cardiol* 2007; 115: 236.
 52. Shearer MJ, Newman P. Metabolism and cell biology of vitamin K. *Thromb Haemost*. 2008; 100: 530-47.
 53. Booth SL. Roles for vitamin K beyond coagulation. *Annu Rev Nutr* 2009; 29: 89-110.
 54. Palareti G, Cosmi B. Bleeding with anticoagulation therapy – who is at risk, and how best to identify such patients. *Thromb Haemost* 2009; 102: 268-78.
 55. 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: 1115-22.
 56. Booth SL. Dietary vitamin K guidance: an effective strategy for stable control of oral anticoagulation? *Nutrition Reviews* 2010; 68 (3): 178-81.
 57. Taylor JR, Wilt VM. Probable antagonism of warfarin by green tea. *Ann Pharmacother* 1999; 33: 426-8.
 58. Booth SL, Sadowski JA, Pennington JAT. Phylloquinone (vitamin K1) content of foods in the US Food and Drug Administration's Total Diet Study. *J Agric Food Chem* 1995; 43: 1574-9.
 59. Booth SL, Madabushi HT, Davidson KW, Sadowski JA. Tea and coffee brews are not significant dietary sources of vitamin K1 (phylloquinone). *J Am Diet Assoc* 1995; 95: 82- 3.
 60. Gianni LM, Dreitlein WB. Some popular OTC herbals can interact with anticoagulant therapy. *US Pharm* 1998; 23: 80, 83-84, 86.
 61. Joshi BS, Kaul PN. Alternative medicine: herbal drugs and their critical appraisal - part I. *Prog Drug Res* 2001; 56: 1-76.
 62. Eisenberg DM, Davis RB, Ettner SL, et al. Trends in alternative medicine use in the United States, 1990-1997: results of a follow-up national survey. *JAMA* 1998; 280: 1569-75.
 63. Vogel JH, Bolling SF, Costello RB, et al. Integrating complementary medicine into cardiovascular medicine: a report of the American College of Cardiology Foundation Task Force on Clinical Expert Consensus Documents (Writing Committee to Develop an Expert Consensus Document on Complementary and Integrative Medicine). *J Am Coll Cardiol* 2005; 46: 184-221.
 64. Cherniack EP, Senzel RS, Pan CX. Correlates of use of alternative medicine by the elderly in an urban population. *J Altern Complement Med* 2001; 7: 277-80.
 65. Valli G, Giardina EG. Benefits, adverse effects and drug interactions of herbal therapies with cardiovascular effects. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 1083-95.
 66. Tachjian A, Maria V, Jahangir A. Use of Herbal Products and Potential Interactions in Patients With Cardiovascular Diseases. *J Am Coll Cardiol* 2010; 55: 515-25.
 67. Yuan CS, Wei G, Dey L, et al. Brief communication: American ginseng reduces warfarin's effect in healthy patients: a randomized, controlled trial. *Ann Intern Med* 2004; 141: 23-7.
 68. AltCareDex System. Thomson Reuters (HealthCare) Inc. Available at: <http://www.thomsonhc.com>. Accessed January 19, 2008.
 69. Yue QY, Bergquist C, Gerden B. Safety of St John's wort (*Hypericum perforatum*). *Lancet* 2000; 355: 576-7.
 70. Cohen RJ, Ek K, Pan CX. Complementary and alternative medicine (CAM) use by older adults: a comparison of self-report and physician chart documentation. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2002; 57: M223-7.
 71. Kuo GM, Hawley ST, Weiss LT, Balakrishnan R, Volk RJ. Factors associated with herbal use among urban multiethnic primary care patients: a cross-sectional survey. *BMC Complement Altern Med* 2004; 4: 18.
 72. Gómez-Outes A, Lecumberri R, Pozo C, Rocha E. New Anticoagulants: Focus on Venous Thromboembolism.

- Current Vascular Pharmacology 2009; 7: 309-29.
73. Eriksson BI, Dahl OE, Rosencher N, et al. Oral dabigatran etexilate vs. subcutaneous enoxaparin for the prevention of venous thromboembolism after total knee replacement: the RE-MODEL randomized trial. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 2178-85.
 74. Ginsberg JS, Davidson BL, Comp PC, et al. Oral thrombin inhibitor dabigatran etexilate vs North American enoxaparin regimen for prevention of venous thromboembolism after knee arthroplasty surgery. *J Arthroplasty* 2009; 24: 1-9.
 75. Eriksson BI, Dahl OE, Rosencher N, et al. Dabigatran etexilate versus enoxaparin for prevention of venous thromboembolism after total hip replacement: a randomised, double-blind, non-inferiority trial. *Lancet* 2007; 370: 949-56.
 76. Wolowacz SE, Roskell NS, Plumb JM, et al. Efficacy and safety of dabigatran etexilate for the prevention of venous thromboembolism following total hip or knee arthroplasty. A meta-analysis. *Thromb Haemost* 2009; 101: 77-85.
 77. Schulman S, Kearon C, Kakkar AK, et al. RE-COVER Study Group: Dabigatran versus warfarin in the treatment of acute venous thromboembolism. *N Engl J Med* 2009; 361: 2342-52.
 78. Buller HR, Cohen AT, Davidson B, et al.: Idaraparinux versus standard therapy for venous thromboembolic disease. *N Engl J Med* 2007; 357: 1094-104.
 79. Eriksson BI, Borris LC, Friedman RJ, et al. Rivaroxaban versus enoxaparin for thromboprophylaxis after hip arthroplasty. *N Engl J Med* 2008; 358: 2765-75.
 80. Kakkar AK, Brenner B, Dahl OE, et al. Extended duration rivaroxaban versus short-term enoxaparin for the prevention of venous thromboembolism after total hip arthroplasty: a double-blind, randomised controlled trial. *Lancet* 2008; 372: 31-9.
 81. Lassen MR, Ageno W, Borris LC, et al.: Rivaroxaban versus enoxaparin for thromboprophylaxis after total knee arthroplasty. *N Engl J Med* 2008; 358: 2776-86.
 82. Lassen MR, Raskob GE, Gallus A, et al. Apixaban or enoxaparin for thromboprophylaxis after knee replacement. *N Engl J Med* 2009; 361: 594-604.
 83. Lassen MR, Gallus AS, Pineo GF, Raskob GE: Apixaban versus enoxaparin for thromboprophylaxis after knee replacement (ADVANCE-2): a randomised double-blind trial. *Lancet* 2010; 375 (9717): 807-15.
 84. Virchow RR. *Cellular Pathology*. 1860; London: Churchill.
 85. Kwaan HCGG. Clinical use of 51 Cr-leukocytes in the detection of DVT. *Circulation* 1971; 44: 55.
 86. Humphries J, McGuinness CL, Smith A, et al. Monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) accelerates the organization and resolution of venous thrombi. *J Vasc Surg* 1999; 30: 894-9.
 87. Modarai B, Guiver Burnand K, Humphries J, Waltham M, Smith A. The role of neovascularisation in the resolution of venous thrombus. *Thromb Haemost* 2005; 93: 801-9.
 88. Sevitt S. The mechanisms of canalisation in deep vein thrombosis. *J Pathol* 1973; 110: 153-65.
 89. Carmeliet P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. *Nat Med* 2000; 6: 389-95.
 90. Yancopoulos GD, Davis S, Gale NW, et al. Vascular-specific growth factors and blood vessel formation. *Nature* 2000; 407: 242-8.
 91. Tanaka K, Hirst AE, Smith LL. Rate of endothelialisation in venous thrombi: an experimental study. *Arch Surg* 1982; 117: 1045-8.
 92. Asahara T, Masuda H, Takahashi T, et al. Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization. *Circ Res* 1999; 85: 221-8.
 93. Carmeliet P, Luttun A. The emerging role of the bone marrow-derived stem cells in (therapeutic) angiogenesis. *Thromb Haemost* 2001; 86: 289-97.
 94. Waltham M, Burnand KG, Collins M, et al. Vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor are found in resolving venous thrombi. *J Vasc Surg* 2000; 32: 988-96.
 95. Henke PK, Wakefield TW, Kadell AM, et al. Interleukin-8 administration enhances venous thrombosis resolution in a rat model. *J Surg Res* 2001; 99: 84-91.
 96. Kamihata H, Matsubara H, Nishiue T, et al. Implantation of bone marrow mononuclear cells into ischemic myocardium enhances collateral perfusion and regional function via side supply of angioblasts, angiogenic ligands, and cytokines. *Circulation* 2001; 104: 1046-52.
 97. Tateishi-Yuyama E, Matsubara H, Murohara T, et al. Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomised controlled trial. *Lancet* 2002; 360: 427-35.
 98. Szmítko PE, Fedak PW, Weisel RD, et al. Endothelial progenitor cells: new hope for a broken heart. *Circulation* 2003; 107: 3093-100.
 99. Jackson KA, Majka SM, Wang H, et al. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. *J Clin Invest* 2001; 107: 1395-402.
 100. Bank HC, Großschmidt K, Pikula B, Bank H, Lechner K, Valent P. Mast cells are augmented in deep venous thrombosis and express a profibrinolytic phenotype. *Human Pathol* 1999; 30: 188-94.
 101. Valent P, Baghestanian M, Bankl HC, et al. New Aspects in Thrombosis Research: Possible Role of Mast Cells as Profibrinolytic and Antithrombotic Cells. *Thromb Haemost* 2002; 87: 786-90.