

Vitamine K

Claire BAL DIT SOLLIER
Ludovic DROUET

CREATIF, Centre de référence et d'éducation des antihrombotiques d'Ile-de-France, Service d'angio-hématologie, Hôpital Lariboisière, 2 rue A. Paré, 75 475 Paris cedex 10
<creatif.lrb@lrp.aphp.fr>

Abstract: Subclasses of vitamin K, their origins, their differential characteristics of absorption and metabolism, their relative effects on gammacarboxylation of various proteins implicated in hemostasis and coagulation, in bone calcification are not well known even by experts in these fields. These misunderstandings explain errors in recommendations for public and for patients. This review will not expose again the fundamentals on vitamins K as presented in the paper by Marc Guillaumont published in 2000 in this same journal. This 2011 review will try to update our actual knowledge and most of all will insist on their practical implications especially on the management of oral anticoagulant treatments since until recently vitamin K antagonist was the only available type of such a treatment. Several examples illustrate the need for a better understanding of this subject. The fear that diet vitamin K could deregulate the equilibrium of oral vitamin K antagonist treatment leads to recommend a quite total suppression of vitamin K containing components in the diet of anticoagulated patients. This leads to an opposite effect: a high sensitivity to vitamin K and to disequilibrium of the anticoagulant treatment while a comprehensive moderate and regular diet intake of vitamin K first facilitates the food choice of the patients but also helps to stabilise the treatment of chronically anticoagulated patients. Vitamin K plays a role in bone calcification and in osteoporosis prevention. Until recently the food supplementation with vitamin K in view of preventing osteoporosis in general population was strongly limited due to fear to affect the treatment equilibrium in anticoagulated patients. While an understanding that the effects of moderate supplementation in vitamin K has no or limited effect on anticoagulation and on the long run could at the opposite help to stabilize the daily level of anticoagulation in patients chronically treated with vitamin K.

Key words: vitamin K, coagulation factors, oral anticoagulants, vitamin K antagonist, osteoporosis, phyloquinone, menaquinones

L'actualité de Marc Guillaumont sur la vitamine K publiée en 2000 dans ce journal était particulièrement informative, précise et concise (Guillaumont, 2000). A ce jour, elle est toujours d'actualité, et les données structurelles et métaboliques de cet article ne seront donc pas reprises dans cette revue dont l'objectif sera de résumer les nouvelles connaissances dans le domaine depuis cette date.

La forme la plus importante des vitamines K est la phylloquinone ou vitamine K1, les autres formes sont des ménaquinones ou vitamines K2, qui se différencient en de nombreux sous-groupes, en fonction de la longueur de leur chaîne latérale (Lambert *et al.*, 1992). Toutes les vitamines K ont en

commun d'avoir un noyau naphthoquinone méthylé.

Les légumes verts sont la source principale de phyloquinone alimentaire (Koivu-Tikkanen, 2001) alors que les ménaquinones sont synthétisées par de nombreuses espèces bactériennes et sont trouvées dans des aliments d'origine animale tels que les fromages (Schurgers *et al.*, 1999), la viande (Koivu-Tikkanen *et al.*, 2000) ainsi que dans des produits fermentés avec un produit japonais assez spécifique : le natto qui est un soja fermenté très riche en ménaquinones (Schurgers *et al.*, 1999).

Le tableau 1 établi à partir des données de la Rotterdam Study montre cette

répartition des familles de vitamines K en fonction des aliments.

La flore intestinale produit dans le côlon des quantités importantes de ménaquinones en particulier de ménaquinones à chaîne relativement longue (MK10) (Shearer, 1995) mais il semble que ce pool colique de ménaquinones ne soit pas absorbé et ne contribue donc pas à l'apport global de vitamines K chez l'homme.

Peu de données spécifiquement françaises sur les apports alimentaires de vitamines K sont disponibles. En revanche, il existe des données européennes, (anglaises, finlandaises ou néerlandaises) qui montrent que pour les anglais

Pour citer cet article : Bal dit Sollier C, Drouet L. Vitamine K. OCL 2011 ; 18(2) : 94-98. doi : 10.1684/ocl.2011.0372

Tableau 1. Contenu en vitamines K dans différents aliments mesuré lors de la « Rotterdam study »(Schurgers LJ et al. 1999).

	n	Teneur en vitamine K		
		µg/100 g ou µg/100 mL		
		K1	MK-4	MK-n
Viande	49	0,5-5	1-30	ND
Poisson	18	0,1-1	0,1-2	0,1-2
Fruits	12	0,1-3	ND	ND
Légumes verts	12	100-750	ND	ND
Natto	3	20-40	ND	900-1 200
Céréales	12	0,5-3	ND	ND
Fromages	19	0,5-10	0,5-10	40-80
Autres produits lactés	34	0,5-15	0,2-15	0-35
Œufs	14	0,5-2,5	10-25	ND
Margarine et huiles végétales	12	50-200	ND	ND
Vin et Bières	19	ND	ND	ND

Tous les échantillons ont été mesurés en duplicate, n indique le nombre d'échantillons. ND : non détectable. Tous les aliments proviennent de Maastricht ou des ses alentours.

l'apport quotidien de phylloquinone est aux alentours de 70 µg par personnes adulte avec des variations modérées en fonction des groupes d'âge et du sexe et plus importantes en fonction des régions géographiques (Thane *et al.*, 2002).

Par rapport à ces données anglaises, les données finlandaises indiquent un niveau de consommation un peu supérieur de l'ordre de 120 µg par personne et par jour avec les phylloquinones représentant 80 % de cet apport. La moitié de l'apport se fait par consommation de végétaux et 1/3 par consommation d'huiles et de margarines (Koivu-Tikkanen, 2001).

En Hollande, l'apport est encore un peu plus élevé puisqu'il a été évalué jusqu'à 250 µg par adulte avec le même type de rapport habituel : 90 % de phylloquinone et 10 % de ménaquinones (Schurgers *et al.*, 1999).

Ces valeurs sont habituelles et sont à la base des recommandations de la majorité des agences alimentaires qui recommandent aux alentours de 1 µg de vitamines K par kg et par jour (Scientific Committee for Food, 1993). Comme souvent, les recommandations nutritionnelles américaines sont un peu supérieures, de l'ordre de 1,5 à 1,7 µg/kg. En l'absence de données spécifiques pour les enfants, les doses habituellement recommandées reprennent les recommandations pondérales de l'adulte (tableau 2).

Les recommandations actuelles sur les vitamines K ne font pas la distinction entre les apports de phylloquinone et de ménaquinones. Ces recommandations sont pour le moment uniquement basées sur les quantités nécessaires pour obtenir une synthèse optimale de facteurs de coagulation par le foie. Plus récemment, la mise en évidence des besoins extra-hépatiques de vitamine K pour la synthèse d'autres protéines carboxylées comme l'ostéocalcine ou la MGP (matrice gla protéine) (Knapen *et al.*, 2007 ; Sokoll *et al.*, 1998), aboutit à deux notions nouvelles selon lesquelles les besoins seraient peut-être un peu supérieurs aux besoins jusque-là évalués, et que la majorité de la vitamine K serait utilisée pour une carboxylation extrahépatique. C'est la raison pour laquelle un certain nombre de voix s'élèvent pour proposer des apports supérieurs, de l'ordre de

350 µg de phylloquinone par jour et de 50 µg de ménaquinones par jour (Schurgers *et al.*, 1999).

Mais ces propositions peuvent sembler élevées et donc doivent être considérées avec précaution.

Pourtant, il ne semble pas qu'il existe des limites supérieures d'apport de vitamines K présentant un risque toxique car il n'existe aucune donnée montrant que des apports importants puissent conduire à des effets secondaires péjoratifs dans une population normale mais il n'empêche que les agences européennes et françaises de sécurité alimentaire (saisine n2004-SA-0210) limitent les suppléments alimentaires en vitamine K à 25 µg par jour pour éviter le risque potentiel d'une interaction avec les patients anticoagulés par un traitement par anti-vitamine K, dont on verra plus

Tableau 2. Recommandations françaises pour les apports nutritionnels de vitamine K (Martin A 2001)

Groupe de population	Apport de vitamine K recommandé (µg/jour)
Petit enfant (1-3 ans)	10
Enfant (4-9 ans)	25
Préadolescent (10-12 ans)	30
Adolescent et femme	35
Homme	45
Femme enceinte	45
Femme qui allaite	55

loin que ce niveau de limitation est probablement trop restrictif.

On peut mesurer le statut en vitamines K d'un individu en mesurant la concentration sérique ou la concentration urinaire de vitamines K par HPLC (Koivu-Tikkanen, 2001), et peut-être de façon plus efficace en mesurant le rapport entre les protéines carboxylées et non carboxylées, qu'il s'agisse des facteurs de coagulation comme les PIVKA (en particulier la PIVKA-II) ou les facteurs de calcification avec, à l'heure actuelle, le rapport entre l'ostéocalcine non carboxylée et l'ostéocalcine carboxylée, qui apparaît fournir un indice de l'état nutritionnel en rapport avec le statut en vitamines K (Knäpen *et al.*, 1998).

Les différents types de vitamines K ne sont pas absorbés de la même façon du fait de leur lipophilie différente (Schurgers et Vermeer, 2000). La phylloquinone synthétique (qui est la vitamine K1 médicament), présentée avec un excipient huileux, est absorbée à plus de 80 % chez les individus normaux (Shearer *et al.*, 1974), alors que la vitamine K1 des légumes verts est absorbée à un niveau beaucoup faible de l'ordre de 5 à 15 % (Gijsbers *et al.*, 1996 ; Garber *et al.*, 1999).

Pour les ménaquinones alimentaires, il semble qu'elles soient à peu près totalement absorbées, mais les ménaquinones produites par la flore intestinale, du fait probablement de l'absence d'acide biliaire dans le colon, font que celles-ci ne sont pas ou très peu absorbées (Suttie, 1995).

Il est donc évident que la matrice alimentaire et la composition des repas vont moduler l'absorption des vitamines K. Du fait de leur lipophilie, les vitamines K sont absorbées et transportées par les chylomicrons postprandiaux vers le foie (Sherrill *et al.*, 1980) puis incorporées aux lipoprotéines qui les délivrent par la circulation systémique aux tissus périphériques. La phylloquinone et les ménaquinones à chaînes les plus courtes sont plus rapidement absorbées et surtout plus rapidement captées par le foie alors que les ménaquinones à chaînes les plus longues tendent à rester plus longtemps dans la circulation, entraînant des disponibilités pour leur utilisation périphérique un peu différentes.

Les réserves de vitamines K de l'ordre de 1,5 µg/kg sont faibles, comparées aux

autres vitamines liposolubles. Ce stock est essentiellement localisé dans le foie formé pour 90 % de ménaquinones et 10 % de phylloquinones (Shearer *et al.*, 1996). Les réserves hépatiques de phylloquinone sont labiles puisque 70 % de la phylloquinone absorbée sont excrétés dans les urines et les fèces (par la bile) en trois jours (Usui *et al.*, 1990). Les tissus extrahépatiques peuvent accumuler un peu de vitamines K, principalement des ménaquinones à chaînes courtes.

Les vitamines K ont un mécanisme d'action assez similaire et servent de cofacteurs à la gamma glutamyl carboxylase, une enzyme impliquée dans la carboxylation de nombreuses protéines contenant des résidus glutamine. Les vitamines K sont essentielles pour l'activité biologique de ces protéines puisque la gamma-carboxylation de ces résidus glutamine va les transformer en « gla »-protéines qui par formation de ponts calciques vont se fixer aux phospholipides anioniques pour constituer les complexes stœchiométriques de coagulation leur permettant d'exercer leur effet. En situation de déficit vitaminique K, les « glu »-protéines ne sont pas adéquatement carboxylées induisant un déficit surtout fonctionnel de ces protéines mais aussi à un degré moindre quantitatif (Vermeer et Hamulyak, 1991).

Les principales « glu/gla »-protéines connues sont :

- Certains facteurs de coagulation (pour cela appelés vitamine K dépendants) : le facteur II (ou prothrombine), le facteur VII, le facteur IX, le facteur X, mais aussi des inhibiteurs de la coagulation : protéine C, protéine S et protéine Z (Ferland G, 1998).

Toutes ces molécules sont synthétisées par le foie à l'exception de la protéine S qui est en plus synthétisée par les cellules endothéliales.

- L'ostéocalcine qui est exclusivement synthétisée dans l'os, cette protéine est directement impliquée dans la calcification du tissu osseux par fixation de sa forme carboxylée à l'hydroxyapatite.

- La MGP (*matrice carboxy glutamic acid protein*) synthétisée dans les cartilages et les parois vasculaires et qui joue un rôle inhibiteur de la calcification des tissus.

- GAS 6 (*growth arrest-specific gene 6 protein*) qui est ligand pour des tyrosine kinases et qui est impliquée dans la

régulation de croissance et d'apoptose cellulaire.

Les déficits en vitamines K sont inhabituels chez les sujets sains et se rencontrent essentiellement dans des conditions pathologiques de déficit d'apport. Le nouveau-né constitue son stock de vitamines K à partir du stock maternel. L'absence de stock significatif en général chez la mère explique qu'il puisse y avoir des déficits chez les nouveau-nés s'accompagnant d'un défaut de synthèse de facteurs de coagulation avec un risque hémorragique potentiel, raison pour laquelle il est habituel de supplémenter à la naissance tous les nouveau-nés avec 0,5 à 1 mg de vitamine K1 (Suttie, 1992).

Un apport adéquat de vitamines K est nécessaire à la modification post-transcriptionnelle des « glu » en « gla »-protéines, montré au niveau de la coagulation. En revanche, sur la calcification osseuse, les études d'interventions nutritionnelles ont rapporté des effets mitigés d'une supplémentation en phylloquinone ou en ménaquinones à chaînes courtes sur le statut osseux, montrant le plus souvent une réduction du risque fracturaire en cas de combinaison à un apport augmenté en calcium et en vitamine D3 (Bolton-Smith *et al.*, 2001). Le fait que les calcifications artérielles, en particulier aortiques et coronaires soient un marqueur de risque cardiovasculaire soulève l'hypothèse d'un effet à ce niveau pour lequel il n'existe aucune donnée. Bien que les études humaines comme animales n'aient pas réussi à démontrer des faits adverses associés à une simple supplémentation quotidienne en vitamines K1, ces études n'ont porté que sur des périodes de temps limitées et qu'il n'existe pas de données sur la sécurité des suppléments en vitamines K2.

Un point novateur est celui de l'interférence potentielle des vitamines K alimentaires avec les traitements anticoagulants oraux par l'utilisation d'antagonistes de la vitamine K. Actuellement, les antagonistes de la vitamine K sont le seul traitement anticoagulant administrable par voie orale de façon chronique. Ces molécules vont empêcher l'effet des vitamines K au niveau d'une enzyme clé dans le cycle de carboxylation des « glu » en « gla »-protéines qui est VKORC-1 limitant donc la formation de « gla »-protéines carboxylées actives. Ainsi pour les facteurs de coagulation la synthèse

protéique (sans l'action post-transcriptionnelle de VKORC-1) n'aboutit qu'à des « glu » protéines qui sont des molécules fonctionnellement inactives pour former les complexes de la coagulation et que l'on appelle PIVKA. Il est habituel d'appeler les anti-vitamines K des « anticoagulants », terme qui est erroné car la diminution de l'activité des facteurs de coagulation n'est pas inhibitrice de la coagulation, il serait donc plus juste de les nommer « dé-coagulants » puisqu'ils ont pour effet de diminuer l'efficacité de certains facteurs de coagulation. De plus, il faut considérer que la transformation (rendant fonctionnels de glu en « gla » certaines protéines) affecte certes des facteurs de coagulation mais aussi certains inhibiteurs de la coagulation (protéine S et C) permettant de comprendre que le traitement va avoir un effet double : limiter l'efficacité de facteurs de coagulation vitamine-K dépendants mais aussi limiter celles d'inhibiteurs de coagulation aussi vitamine-K dépendants. Du fait de la durée de vie différente de ces différentes protéines de coagulation vitamine K dépendantes (facteurs et inhibiteurs), des déséquilibres relatifs entre facteurs et inhibiteurs de la coagulation peuvent être observés pendant les périodes d'induction ou d'arrêt des traitements anticoagulants.

Il est communément rapporté et mis en exergue que les apports de vitamines K alimentaires interfèrent avec les traitements anticoagulants induits par anti-vitamine K. En fait, lorsque que l'on considère l'ensemble des données disponibles, il apparaît, dans les études menées sur des sujets sains ayant été anticoagulés de façon stable par une anti-vitamine K et recevant secondairement une supplémentation faible de l'ordre de 100 à 200 µg/jour de phylloquinone, que cet apport supplémentaire en vitamine K ne modifie pas le niveau d'anticoagulation jugé sur l'INR. Mais ceci est un peu différent de ce que l'on observe chez les patients, dont certains pour des raisons liées directement ou indirectement à leur pathologie, se trouvent de base dans un déficit en apport de vitamines K, ces patients sont alors extrêmement sensibles aux anti-vitamines K. Des variations importantes de l'efficacité du traitement anti-vitamine K peuvent alors être observées pour des apports alimentaires relativement faibles de vitamines K (de l'ordre de seulement 25 µg/jour). Ce sont

ces données et ces observations (Sconce *et al.*, 2005) qui ont été à l'origine d'études cliniques récemment réalisées qui ont montré que dans une population de patients anticoagulés par anti-vitamine K, il y avait un intérêt, en particulier chez les patients instables et les patients présentant des accès d'hypersensibilité aux AVK, à leur donner de façon systématique une supplémentation modérée de l'ordre de 100 à 150 µg/j de vitamine K, de façon à stabiliser les traitements anti-vitamine K (Sconce E *et al.*, 2007). Ce qui aboutit à la conclusion que plutôt que d'interdire les sources de vitamines K et en particulier de phylloquinone (donc par les légumes verts) chez les patients traités par anti-vitamine K, il est beaucoup plus logique de leur conseiller d'avoir un apport régulier en légumes verts donc en phylloquinone, de façon à avoir un apport habituel sur lequel va s'exercer de façon stable l'effet anticoagulant du traitement anti-vitamine K (Rombouts *et al.*, 2010 ; Kim *et al.*, 2010). En sus de la phylloquinone fournie par les légumes verts, les sources alimentaires de ménaquinones sont essentiellement les laits fermentés et donc des fromages, il existe des données qui montrent que des apports modérés, de l'ordre de 100 µg de ménaquinones peuvent interférer avec le traitement anti-coagulant. Donc de la même façon qu'une attention doit être portée sur la consommation des légumes verts, une attention sur la consommation des laits fermentés et des fromages doit aussi être attirée.

Donc, en conclusion, il apparaît que les patients prenant un traitement anticoagulant de façon chronique ne doivent pas être incités à supprimer tout apport de vitamines K alimentaires mais au contraire éduqués pour essayer d'avoir un apport en vitamines K régulier et quotidiennement stable, en sachant que jusqu'à maintenant les règles commentent à s'appliquer pour les consommations régulières faibles à modérées de légumes verts et qu'elles devraient s'étendre aux sources de ménaquinones, en particulier aux fromages dont les contenus en ménaquinones sont beaucoup moins bien connus que ceux en phylloquinones des légumes verts.

RÉFÉRENCES

Bolton-Smith C, Mole PA, McMurdo MET, Shearer MJ. Two-year intervention with

phylloquinone (vitamin K1), vitamin D and calcium : effect on bone mineral content of older women. *Ann Nutr Metabolism* 2001; 45 (Suppl. 1), 246.

Ferland G. The vitamin K-dependent proteins : an update. *Nutr Rev* 1998 ; 56 : 223-30.

Garber AK, Binkley NC, Krueger DC, Suttie JW. Comparison of phylloquinone bioavailability from food sources or a supplement in human subjects. *J Nutr* 1999 ; 129 : 1201-3.

Gijssbers BL, Jie KS, Vermeer C. Effect of food composition on vitamin K absorption in human volunteers. *Br J Nutr* 1996 ; 76 : 223-9.

Guillaumont M. Actualité sur la vitamine K. *OCL* 2000 ; 7 : 276-9. (http://www.jle.com/fr/revues/agro_biotech/ocl/e-docs/00/03/34/ED/article.phtml).

Kim KH, Choi WS, Lee JH, Lee H, Yang DH, Chae SC. Relationship between dietary vitamin K intake and the stability of anti-coagulation effect in patients taking long-term warfarin. *Thromb Haemost* 2010 ; 104 : 755-9.

Knapen MH, Nieuwenhuijzen Kruseman AC, Wouters RS, Vermeer C. Correlation of serum osteocalcin fractions with bone mineral density in women during the first 10 years after menopause. *Calcif Tissue Int* 1998 ; 63 : 375-9.

Knapen MH, Schurgers LJ, Vermeer C. Vitamin K2 supplementation improves hip bone geometry and bone strength indices in postmenopausal women. *Osteoporos Int* 2007 ; 18 : 963-72.

Koivu-Tikkanen TJ, Schurgers LJ, Thijssen HH, Vermeer C. Intestinal, hepatic, and circulating vitamin K levels at low and high intakes of vitamin K in rats. *Br J Nutr* 2000 ; 83 : 185-90.

Koivu-Tikkanen TJ. Determination of phylloquinone and ménaquinones in foods by HPLC. 2001. University of Helsinki, Faculty of Agriculture and Forestry.

Lambert WE, de Leenheer AP. Vitamin K. In : de Leenheer AP, Lambert WE, Nelis HJ, eds. *Modern Chromatographic Analysis of Vitamins*. New-York : Marcel Dekker, Inc., 1992 : 197-233.

Martin A. *Apports nutritionnels conseillés de la population française*. Paris : Tech&Doc, Masson, 2001.

Rombouts EK, Rosendaal FR, van der Meer FJ. Influence of dietary vitamin K intake on subtherapeutic oral anticoagulant therapy. *Br J Haematol* 2010 ; 149 : 598-605.

Schurgers LJ, Geleijnse JM, Grobbee DE, *et al.* Nutritional intake of vitamin K1 (phylloquinone) and K2 (ménaquinone) in The Netherlands. *J Nutr Environ Med* 1999 ; 9 : 115-22.

Schurgers LJ, Vermeer C. Determination of phylloquinone and ménaquinones in food.

- Effect of food matrix on circulating vitamin K concentrations. *Haemostasis* 2000 ; 30 : 298-307.
- Scientific Committee for Food. Nutrient and energy intakes for the European Community. Reports of the Scientific Committee for Food of the European Community Thirty-first series. 1993. European Commission, Luxembourg.
- 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 : 872-5.
- 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 : 2419-23.
- Shearer MJ, McBurney A, Barkhan P. Studies on the absorption and metabolism of phylloquinone (vitamin K1) in man. *Vitam Horm* 1974 ; 32 : 513-42.
- Shearer MJ. Vitamin K. *Lancet* 1995 ; 345 : 229-34.
- Shearer MJ, Bach A, Kohlmeier M. Chemistry, nutritional sources, tissue distribution and metabolism of vitamin K with special reference to bone health. *J Nutr* 1996 ; 126 : 1181S-6S.
- Sherrill BC, Innerarity TL, Mahley RW. Rapid hepatic clearance of the canine lipoproteins containing only the E apoprotein by a high affinity receptor. Identity with the chylomicron remnant transport process. *J Biol Chem* 1980 ; 255 : 1804-7.
- Sokoll LJ, Booth SL, Davidson KW, Dallal GE, Sadowski JA. Diurnal variation in total and undercarboxylated osteocalcin : influence of increased dietary phylloquinone. *Calcif Tissue Int* 1998 ; 62 : 447-52.
- Suttie JW. Vitamin K and human nutrition. *J Am Diet Assoc* 1992 ; 92 : 585-90.
- Suttie JW. The importance of menaquinones in human nutrition. *Annu Rev Nutr* 1995 ; 15 : 399-417.
- Thane CW, Paul AA, Bates CJ, Bolton-Smith C, Prentice A, Shearer MJ. 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 : 605-13.
- Usui Y, Tanimura H, Nishimura N, Kobayashi N, Okanou T, Ozawa K. Vitamin K concentrations in the plasma and liver of surgical patients. *Am J Clin Nutr* 1990 ; 51 : 846-52.
- Vermeer C, Hamulyak K. Pathophysiology of vitamin K-deficiency and oral anticoagulants. *Thromb Haemost* 1991 ; 66 : 153-9.