AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

UNIVERSITE HENRI POINCARE - NANCY I

1999

DB 19061

ECOLE DOCTORALE "BIOLOGIE ET SANTE"

THESE

BIBLIOTHEQUE

Présentée et soutenue publiquement

le 22 décembre 1999

pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE HENRI POINCARE - NANCY I

Mention : Epidémiologie et santé publique

par

Bernard HERBETH

Titulaire du Diplôme d'Etudes Approfondies d'Ecotoxicologie (Metz)

Sujet

STATUT EN VITAMINES DE DIFFERENTS GROUPES DE POPULATION DETERMINANTS BIOLOGIQUES ET ENVIRONNEMENTAUX

Membres du jury

Juges : Monsieur le Professeur Gérard Siest (Nancy)
Monsieur le Professeur Serge Briançon (Nancy)
Monsieur le Professeur Yves Artur (Dijon)

Rapporteurs : Madame le Professeur Anne-Marie Roussel (Grenoble)
Monsieur le Docteur Jean-Claude Guilland (Dijon)

BU PHARM. ODONTOL.
D 104 047900 4

Ce travail a été réalisé au Centre de Médecine Préventive de Vandoeuvre-les-Nancy, en collaboration avec de nombreuses équipes travaillant dans le domaine de la vitaminologie et de la nutrition.

Tout d'abord, j'adresse mes sincères remerciements aux membres du jury.

A Gérard Siest, qui m'a accueilli dans son équipe depuis plus de 20 ans, pour son dynamisme, la confiance qu'il m'a accordée et la liberté d'action qu'il m'a laissée dans le domaine de la nutrition. Ses encouragements des derniers mois m'ont permis de finaliser cette thèse.

A Yves Artur, pour la collaboration fructueuse des dernières années, pour son expérience dans le domaine de la biologie et sa rigueur scientifique qu'il a su faire partager.

A Serge Briançon, qui m'a transmis très tôt le virus des statistiques et de l'épidémiologie, pour ses conseils judicieux.

A Anne-Marie Roussel et Jean-Claude Guilland pour avoir accepté, avec enthousiasme, d'être rapporteurs de ce travail, malgré la proximité des fêtes de fin d'année.

Il est particulièrement difficile de remercier ici toutes les personnes du Centre de Médecine Préventive qui ont contribué à ce travail, sans elles, cette thèse n'aurait pu être conduite. Que chacun, chacune se reconnaisse dans les différents services : direction, recherche, laboratoire, exploration fonctionnelle, service médical, documentation, secrétariat, informatique et statistique, atelier, administration et services communs...

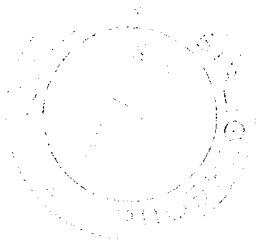
J'associe également à mes remerciements les étudiants et stagiaires avec lesquels j'ai eu plaisir à travailler.

Les études citées dans cette thèse ont bénéficié de la contribution et de la collaboration de nombreux organismes et équipes de recherche : Service de diabétologie du CHR de Nevers (Alain Lemoine), équipe ESVITAF, Service de Médecine L du CHRU de Nancy (François Paille et Pascal Pirollet), Institut Scientifique et Technique de la Nutrition et de l'Alimentation du CNAM à Paris (Serge Hercberg et Pilar Galan), INRA de Clermont-Ferrand (Pascal Grolier et Véronique Azaïs-Braesco), Laboratoires Hoffmann - La Roche à Bâle (Georges Brubacher et Ludmila Dostalova), Produits Roche à Neully sur Seine (Claude Bougeois), Centre de Recherche du Service de Santé des Armées de Grenoble (Yves Chancerelle), Laboratoire de Biochimie C du CHRU de Grenoble (Alain Favier et Josiane Arnaud), INSERM U 308 à Nancy (Luc Méjean et Nadine Musse), INSERM U 420 à Nancy (Michel Manciaux et Jean-Marie Mur), INSERM U 169 à Villejuif (Michel Chavance), Centre d'examen de santé de Metz (Gérald Vernhes).

Que tous soient encore remerciés pour pour leur aide technique, leur soutien et leur amitié.

Enfin, il ne faut pas oublier, toutes les personnes qui ont accepté de participer à ces études, volontaires sains du Centre de Médecine Préventive et des autres centres d'examen de santé, patients des servives hospitaliers...

Sommaire



Introduction 1
Objectifs 5
Matériel et méthodes 7
Publications (P1 à P15) 12
P1 - Vitamines antioxydantes et risque cardiovasculaire 13
P2 - "ESVITAF". Vitamin status in three groups of French adults. Controls, obese subjects, alcohol drinkers 36
P3 - Reference intervals for vitamins B1, B2, E, D, retinol, beta-carotene, and folate in blood: Usefulness of dietary selection criteria 132
P4 - Dietary behavior of French men according to alcohol drinking pattern 137
P5 - Plasma fat-soluble vitamins and alcohol consumption 143
P6 - Effect of alcohol consumption on blood antioxidant nutrients and oxidative stress indicators 146
P7 - The relation of alcohol consumption to serum carotenoid and retinol levels. Effects of withdrawal 154
P8 - Diet, antioxidant status, and smoking habits in French men 161
P9 - Determinants of plasma retinol, β-carotene and α-tocopherol during adolescence 171
P10 - Dietary intake and other determinants of blood vitamins in an elderly population 178
P11 - Determinants of plasma retinol, beta-carotene and alpha-tocopherol 191
P12 - Vitamin status, immunity and infections in an elderly population 195
P13 - Does multivitamin supplementation prevent infections in healthy elderly subjects? A controlled trial 205
P14 - Effect of 6 month supplementation with different combinations of an association of antioxidant nutrients on biochemical parameters and markers of the antioxidant defence system in the elderly 212
P15 - Effects of supplementation with a combination of antioxidant vitamins and trace elements, at nutritional doses, on biochemical indicators and markers of the antioxidant system in healthy adult subjects 220
Discussion – perspectives 227
Conclusion 234

Ce travail concerne le statut en vitamines, ainsi que les facteurs associés, sélénium, zinc et marqueurs de stress oxydant. Les lignes directrices générales ont été de décrire le statut en vitamines de groupes de population considérés à risque de déficience, de rechercher les principaux déterminants de ce statut - en précisant plus particulièrement le rôle de l'alimentation, de la prise de suppléments vitaminiques, de la consommation d'alcool, de tabac et de médicaments - et enfin, d'estimer les relations entre le statut en vitamines et les capacités immunitaires.

Statut en vitamines de groupes de population - Au cours de ces différentes études, nous avons pu décrire la consommation alimentaire et les apports en nutriments antioxydants de groupes de population : obèses, buveurs excessifs et alcooliques, fumeurs, personnes âgées et adolescents. Parmi les individus étudiés, un certain nombre a des apports nutritionnels déséquilibrés et des apports vitaminiques qui ne permettent pas, sur des périodes prolongées, de maintenir des stocks corrects ou de répondre à un brusque accroissement des besoins.

Alimentation et autres facteurs déterminants - Dans ces différents groupes de population, nous avons recherché les principaux déterminants des indicateurs biologiques de statut vitaminique. Les apports alimentaires en β-carotène, α-tocophérol et acide ascorbique sont corrélés avec les niveaux plasmatiques de chacune de ces vitamines. Les autres déterminants mis en évidence sont : la consommation de tabac et d'alcool, l'indice pondéral, les lipides plasmatiques, le sexe et les stades de croissance.

Effet de la consommation d'alcool et de tabac - Nous avons particulièrement exploré l'influence de l'alcool et du tabac. Chez les buveurs excessifs et les fumeurs, le comportement alimentaire est plus traditionnel et éloigné des recommandations diététiques : plus de viande et produits carnés et moins de laitages, de fruits et de légumes. En terme d'apports nutritionnels, ceci se traduit par une ration journalière pauvre en β-carotène et vitamine C. Concernant la vitamine E, la vitamine C, les caroténoïdes et le sélénium, les concentrations plasmatiques diminuent significativement avec la consommation d'alcool ; avec en parallèle des concentrations de marqueurs de stress oxydant plus élevées. Chez les fumeurs, les concentrations de vitamine C et de β-carotène plasmatiques sont diminuées et inversement corrélées à la quantité de cigarettes fumées.

Effet de la supplémentation en vitamines - Les 3 essais de supplémentation randomisés, portant respectivement sur des personnes âgées vivant à domicile ou en long séjour et des adultes d'âge moyen, ont montré que l'on peut, avec des doses nutritionnelles, diminuer les risques de déficience. L'administration de vitamines C et E, de β-carotène, de zinc et sélénium fait augmenter les concentrations plasmatiques de ces micronutriments respectifs. On observe le même phénomène pour les vitamines du groupe B (B1, B2, B6 et folates). La prise de sélénium, seul ou avec d'autres micronutriments, est également associée à des activités accrues de la glutathion péroxydase dans les érythrocytes.

Relations statut en vitamines, marqueurs immunologiques et infections - La prise d'un supplément multivitaminique sur 4 mois ne permet pas de réduire le nombre d'infections déclarées chez les sujets âgés. Auparavant, nous avions montré, sur un échantillon transversal de personnes âgées que les concentrations en vitamine E dans le plasma étaient négativement corrélées à la fréquence des infections au cours des 3 dernières années.

En conclusion, ce travail a permis de mettre en évidence et de quantifier l'influence de déterminants importants du statut antioxydant comme la consommation de tabac et d'alcool. Ces facteurs sont impliqués dans des pathologies diverses et doivent être pris en compte dans les études épidémiologiques à visée étiologique. L'interaction de l'alcool et des composés de la fumée de cigarettes sur le métabolisme des vitamines pourrait expliquer en partie l'échec des grands essais de prévention par les antioxydants.

Introduction

Durant les 20 dernières années, la place et l'importance des micronutriments antioxydants dans la prévention de diverses maladies chroniques sont devenues un sujet majeur d'intérêt dans la communauté scientifique comme dans le grand public. Le point de départ de cette aventure est l'hypothèse de Peto et al. (1) sur l'effet protecteur potentiel du β-carotène de l'alimentation contre le cancer dû principalement à ses activités antioxydantes. Par la suite, la recherche fondamentale, clinique et épidémiologique, a fourni tout un faisceau d'arguments, d'une part, sur le rôle des phénomènes oxydants dépendant des métabolites réactifs de l'oxygène dans le cancer, la pathologie cardiovasculaire et la cataracte et, d'autre part, sur l'effet protecteur possible des nutriments antioxydants comme le β-carotène, la vitamine C, la vitamine E, le sélénium et le zinc, mais aussi les flavonoïdes et d'autres substances apportées par les fruits, le thé, les graines oléagineuses et le vin.

De nombreux arguments épidémiologiques issus d'études transculturelles, cas-témoins ou de cohortes sont en faveur du rôle potentiel des antioxydants alimentaires dans la prévention des maladies cardiovasculaires. Les principales revues de la littérature, dont la nôtre présentée à la suite, (**P1**,2-8) montrent que les individus qui consomment des quantités importantes de vitamine E - provenant de l'alimentation mais aussi des suppléments vitaminiques - ont un risque de coronaropathie et d'attaque diminué comparativement à ceux qui ont des apports bas. On observe généralement la même tendance pour le β-carotène et la vitamine C mais les données sont plus hétérogènes. Les études d'observation qui reposent sur les indicateurs sanguins de statut en vitamines E, C et β-carotène conduisent aux mêmes conclusions.

Cependant, les essais randomisés de prévention primaire portant sur de larges échantillons et comportant des suppléments en antioxydants n'ont pas confirmé les conclusions des études d'observation : la consommation de suppléments en vitamine E et β-carotène n'apporte pas de bénéfice en terme de morbidité et mortalité cardiovasculaire et peut même avoir des conséquences néfastes chez les individus à risque comme les fumeurs (9-11). Une méta-analyse récente basée sur les 4 principaux essais de prévention (9-12) a montré que l'augmentation du risque de mortalité cardiovasculaire est de 12 % (intervalle de confiance à 95 % : 4 à 22 %) ; les études de cohortes concluant à une réduction du risque de 31 % (intervalle de confiance à 95 % : 41 à 20 %) (13). En ce qui concerne la vitamine C, le risque de mortalité toutes causes, calculé à partir de 3 essais randomisés, est de 8 % (intervalle de confiance à 95 % : -7 % à +26 %) chez la personne âgée recevant 150 mg à 200 mg d'acide ascorbique pendant 6 mois environ (14).

Dans le domaine de la prévention secondaire, l'étude CHAOS (Cambridge Heart Antioxidant Study) a montré une réduction des récidives d'infarctus du myocarde non mortel de 77 % après la prise journalière de 400 à 800 UI de vitamine E pendant un an et demi (15). Cependant, ces résultats qui semblent prometteurs souffrent de plusieurs problèmes méthodologiques : groupes non équilibrés et suivi incomplet de courte durée (16). De plus,

dans cet essai, le groupe de patients qui prenaient de la vitamine E présente un excès non significatif de mortalité générale et cardiovasculaire (17,18).

Depuis la publication de notre revue bibliographique, des analyses spécifiques de l'essai Finlandais (ATBC) ont montré que l'incidence des récidives d'infarctus du myocarde chez les fumeurs n'est pas diminuée avec la prise de vitamine E ou de β-carotène (19). En revanche, la mortalité par infarctus du myocarde est significativement plus élevée chez les sujets qui prennent du β-carotène avec ou sans vitamine E (19). Egalement, l'essai ATBC a montré que la supplémentation en vitamine E avait une influence mineure sur l'incidence de l'angor et peu d'effet sur son évolution (20,21) ; la prise de β-carotène n'ayant aucune action préventive sur ces phénomènes. L'analyse séparée des cas d'infarctus mortels et non mortels a montré un effet marginal (non significatif) de la vitamine E sur l'incidence de la mortalité par infarctus (22). Tout dernièrement, l'essai italien de prévention secondaire (GISSI) a également conclu au manque d'effet de la prise de vitamine E (300 mg/j pendant 3,5 ans) sur les récidives de maladies cardiovasculaires, fatales ou non, et sur la mortalité générale ou spécifique cardiovasculaire (23).

En ce qui concerne le cancer, les données des quelques 200 études d'observation sont particulièrement concordantes. Par exemple, sur 156 références portant sur la relation entre la consommation de fruits et légumes et le cancer, exprimée en terme de risque relatif, 128 montrent un effet protecteur significatif quel que soit le site de la maladie : poumon, œsophage, pancréas, estomac, colon et rectum, rate, voies aériennes supérieures, ovaires et endomètre et sein (24,25). Pour la plupart des cancers, le risque est doublé entre le dernier quartile de consommation et le premier quartile. Les données portant sur les apports en vitamines calculés à partir des enquêtes de consommation ou les concentrations de micronutriments dans le sang montrent également une relation inverse entre le risque de cancer et le statut en micronutriments antioxydants : β-carotène, vitamine C et vitamine E. Les données de la littérature sur le β-carotène montrent des relations inverses entre les apports alimentaires ou le statut biologique et le risque de cancer du poumon, de l'estomac, de l'œsophage, du colon et de l'utérus (26-28). Pour la vitamine C, on retrouve les principaux sites : poumons, colon et rectum, sein, œsophage et voies aériennes supérieures, estomac (29-31). Pour la vitamine E, la relation n'est retrouvée que pour quelques sites : estomac, colon, poumons et sein (29,32).

Comme dans le cas de la pathologie cardiovasculaire, les résultats des 4 grands essais randomisés de prévention primaire ont été surprenants (4,28). L'étude ATBC (9) a montré un excès de cancer du poumon de 16 % dans le groupe d'individus qui avaient consommé 20 mg de β-carotène pendant 5 à 8 ans ainsi qu'un excès de mortalité générale de 8 %, comparativement au groupe placebo. Dans l'étude CARET (10), l'excès de mortalité est de 17 % chez les sujets qui ont pris un mélange de 30 mg de β-carotène et de 13664 "équivalents rétinol" de palmitate de rétinyl pendant 4 ans ; l'excès de cancer du poumon est également très élevé (28 %). Ces 2 dernières études portaient sur des fumeurs (ATBC et CARET) et des travailleurs exposés à l'amiante (CARET). Au contraire, l'essai portant sur un échantillon de 22 000 médecins américains, non fumeurs à l'inclusion, n'a pas montré d'effet significatif bénéfique ou néfaste de la prise de 50 mg de β-carotène, tous les 2 jours pendant 12 ans (11). Le dernier essai a concerné un échantillon de population chinoise issue d'une région où l'incidence des cancers de l'estomac et de l'œsophage est très élevé (33). La prise de 15 mg de β-carotène, 30 mg de vitamine E et 50 µg de sélénium pendant 5 ans et plus a permis la

réduction de la mortalité générale par cancer de 13 % et spécifique par cancer de l'estomac de 21 %.

L'effet bénéfique potentiel des vitamines antioxydantes vis-à-vis des pathologies chroniques telles que celles décrites précédemment, repose sur des investigations épidémiologiques en population générale. Comme on peut le suspecter, les méthodes de recueil des données sur le statut nutritionnel (apports alimentaires et indicateurs biologiques) doivent être adaptées à la problématique, en particulier en ce qui concerne l'exactitude et la précision (34). La qualité des tables de composition des aliments est un facteur clef de ce type d'études, en particulier pour l'estimation de la consommation des micronutriments antioxydants. Les autres problèmes que l'on peut rencontrer dans les études cas-témoins ou prospectives sont liés aux facteurs de confusion qui sont associés, d'une part au statut nutritionnel et, d'autre part aux phénomènes de santé concernés. Ces facteurs sont bien souvent des composantes de mode de vie - l'environnement des généticiens en opposition à l'inné : consommation d'alcool, de tabac, de médicaments, de suppléments - mais aussi des facteurs sociodémographiques liés aux comportements et attitudes vis à vis de la santé (35-37).

Notre travail, tout au long de ces dernières années, se situe en amont des études épidémiologiques à visée étiologique et a eu pour objectif de préciser ces différents facteurs importants dans le domaine de l'épidémiologie de la nutrition.

Références

1. Peto R, Doll R, Buckley JD, Sporn MB. Can dietary beta-carotene materially reduce human cancer rates? Nature 1981;290:201-218
2. Herbeth B, Marangon K, Roussel AM, Artur Y. Vitamines antioxydantes et risque cardiovasculaire. Le statut vitaminique : physiopathologie, exploration biologique et intérêt clinique. Le Moël G, Saverot-Dauvergne A, Gousson T, Guéant JL Eds, Technique et Documentation, Paris, 1998;25,445-466
3. Jha P, Flather M, Lonn E, Farkouh M, Yusuf S. The antioxidant vitamins and cardiovascular disease. A critical review of epidemiologic and clinical trial data. Ann Intern Med 1995;123:860-872
4. Hercberg S, Galan P, Preziosi P, Alfarez MJ, Vazquez C. The potential role of antioxidant vitamins in preventing cardiovascular diseases and cancers. Nutrition 1998;14:513-520
5. Gaziano JM. Antioxidants in cardiovascular disease: randomized trials. Nutrition 1996;12:583-588
6. Christen WG, Buring JE, Manson JE, Hennekens CH. Beta-carotene supplementation: a good thing, a bad thing, or nothing? Curr Opin Lipidol 1999;10:29-33
7. Kushi LH. Vitamin E and heart disease: a case study. Am J Clin Nutr 1999;69(Suppl):1322S-1329S
8. Tribble DL. Antioxydant consumption and risk of coronary heart disease: emphasis on vitamin C, vitamin E, and β-carotene. A statement for healthcare professionals from the American Heart Association. Circulation 1999;99:591-595
9. Anonyme. The effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. The Alpha-Tocopherol, Beta Carotene Cancer Prevention Study Group. N Engl J Med 1994;330:1029-1035
10. Omenn GS, Goodman GE, Thornquist MD, Balmes J, Cullen MR, Glass A, Keogh JP, Meyskens FL, Valanis B, Williams JH, Barnhart S, Hammar S. Effects of a combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. N Engl J Med 1996;334:1150-1155
11. Hennekens CH, Buring JE, Manson JE, Stampfer M, Rosner B, Cook NR, Belanger C, LaMotte F, Gaziano JM, Ridker PM, Willett W, Peto R. Lack of effect of long-term supplementation with beta carotene on the incidence of malignant neoplasms and cardiovascular disease. N Engl J Med 1996;334:1145-1149
12. Greenberg ER, Baron JA, Karagas MR, Stukel TA, Nierenberg DW, Stevens MM, Mandel JS, Haile RW. Mortality associated with low plasma concentration of beta-carotene and effect of oral supplementation. JAMA 1996;275:699-703
13. Egger M, Schneider M, Smith GD. Meta-analysis Spurious precision ? Meta-analysis of observational studies. BMJ 1998;316:140-144
14. Ness A, Egger M, Smith GD. Role of antioxidant vitamins in prevention of cardiovascular diseases. Meta-analysis seems to exclude benefit of vitamin C supplementation. BMJ 1999;319:577
15. Stephens NG, Parsons A, Schofield PM, Kelly F, Cheeseman K, Mitchinson MJ. Randomised controlled trial of vitamin E in patients with coronary disease: Cambridge Heart Antioxidant Study. Lancet 1996;347:781-786
16. Lonn EM, Yusuf S. Evidence based cardiology: emerging approaches in preventing cardiovascular disease. BMJ 1999;318:1337-1341
17. Mitchinson MJ, Stephens NG, Parsons A, Bligh E, Schofield PM, Brown MJ. Mortality in the CHAOS trial. Lancet 1999;353:381-382

18. Ness A, Smith GD. Mortality in the CHAOS trial. Cambridge Heart Antioxidant Study. Lancet 1999;353:1017-1018

19. Rapola JM, Virtamo J, Ripatti S, Huttunen JK, Albanes D, Taylor PR, Heinonen OP. Randomised trial of alpha-tocopherol and beta-carotene supplements on incidence of major coronary events in men with previous myocardial infraction. Lancet 1997;349:1715-1720

20. Rapola JM, Virtamo J, Haukka JK, Heinonen OP, Albanes D, Taylor PR, Huttunen JK. Effect of vitamin E and beta-carotene on the incidence of angina pectoris. A randomized, double-blind, controlled trial. JAMA 1996;275:693-698

21. Rapola JM, Virtamo J, Ripatti S, Haukka JK, Huttunen JK, Albanes D, Taylor PR, Heinonen OP. Effects of alpha tocopherol and beta-carotene supplements on symptoms, progression, and prognosis of angina pectoris. Heart 1998;79:454-458

22. Virtamo J, Rapola JM, Ripatti S, Heinonen OP, Taylor PR, Albanes D, Huttunen JK. Effect of vitamin E and beta-carotene on the incidence of primary nonfatal myocardial infarction and fatal coronary heart disease. Arch Intern Med 1998;158:668-675

23. Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto miocardico. Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: results of the GISSI-Prevenzione trial. Lancet 1999;354:447-455

24. Steinmetz KA, Potter JD. Vegetables, fruit, and cancer. I. Epidemiology. Cancer Causes Control 1991;2:325-357

25. Block G, Patterson B, Subar A. Fruit, vegetables, and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence. Nutr Cancer 1992;18:1-29

26. Ziegler RG. A review of epidemiologic evidence that carotenoids reduce the risk of cancer. J Nutr 1989;119:116-122

27. van Poppel G, Goldbohm RA. Epidemiologic evidence for beta-carotene and cancer prevention. Am J Clin Nutr 1995;62(Suppl):1393S-1402S

28. Albanes D. Beta-carotene and lung cancer: a case study. Am J Clin Nutr 1999;69:1345S-1350S

29. Byers T, Guerrero N. Epidemiologic evidence for vitamin C and vitamin E in cancer prevention. Am J Clin Nutr 1995;62(Suppl):1385S-1392S

30. Block G. Epidemiologic evidence regarding vitamin C and cancer. Am J Clin Nutr 1991;54(Suppl):1310S-1314S

31. Carr AC, Frei B. Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. Am J Clin Nutr 1999;69:1086-1107

32. Knekt P. Role of vitamin E in the prophylaxis of cancer. Ann Med 1991;23:3-12

33. Blot WJ, Li JY, Taylor PR, Guo W, Dawsey S, Wang GQ, Yang CS, Zheng SF, Gail M, Li GY, et al. Nutrition intervention trials in Linxian, China: supplementation with specific vitamin/mineral combinations, cancer incidence, and disease-specific mortality in the general population. J Natl Cancer Inst 1993;85:1483-1492

34. Hebert JR, Miller DR. Methodologic considerations for investigating the diet-cancer link. Am J Clin Nutr 1988;47:1068-1077

35. Thomson RL, Margetts BM, Wood DA, Jackson AA. Cigarette smoking and food and nutrient intakes in relation to coronary heart disease. Nutr Res Rev 1992;5:131-152

36. Smith AM, Baghurst KI Public health implications of dietary differences between social status and occupational category groups. J Epidemiol Community Health 1992;46:409-416

37. La Vecchia C, Negri E, Franceschi S, Parazzini F, Decarli A. Differences in dietary intake with smoking, alcohol, and education. Nutr Cancer 1992;17:297-304

Objectif général

Notre travail concerne le statut en vitamines, en particulier en vitamines dites antioxydantes, ainsi que les facteurs associés, sélénium, zinc et marqueurs de balance anti- et pro-oxydante. Le champ d'investigation appartient à l'épidémiologie descriptive et analytique et se situe en amont des grandes études épidémiologiques à visée étiologique. Tout au long de ces années, la démarche générale a été de décrire le statut en vitamines de groupes de population considérés à risque de déficience, de rechercher les principaux déterminants de ce statut - en précisant plus particulièrement le rôle des facteurs d'environnement, alimentation, prise de suppléments vitaminiques, consommation d'alcool, de tabac et de médicaments - et, enfin, d'estimer les relations entre le statut en vitamines et les capacités immunitaires. Dans ce travail, nous avons utilisé 2 types de marqueurs épidémiologiques du statut en micronutriments : la mesure des concentrations dans le sérum et/ou les érythrocytes et le calcul des apports alimentaires à partir des données de consommation. Les cinq objectifs spécifiques sont cités ci-après en faisant référence à chaque fois aux publications qui s'y rattachent.

Objectifs spécifiques

Statut en vitamines de groupes de population :

Tout d'abord, nous avons décrit et publié les valeurs fréquentes des techniques d'évaluation du statut vitaminique dans un échantillon de sujets présentant, a priori, un risque de déficience très bas (**P2, P3**). En parallèle, nous nous sommes intéressés à deux groupes d'individus susceptibles de présenter plus de risque de déficits : des obèses et des buveurs excessifs (**P2, P4**). Par la suite, 2 autres populations considérées à risque au niveau nutritionnel, les adolescents et les personnes âgées, ont été étudiées (**P9, P10**).

Alimentation et autres facteurs déterminants :

Dans ces différents groupes de population – sujets de référence, obèses, buveurs, adolescents, personnes âgées – nous avons recherché les principaux déterminants des indicateurs biologiques de statut vitaminique et en particulier la place de l'alimentation, de la consommation de tabac, d'alcool, de médicaments et des transporteurs sanguins (**P5, P9, P10, P11**).

Effet de la consommation d'alcool et de tabac :

Pour préciser l'effet de deux facteurs d'environnement très fréquents dans nos échantillons de population – la consommation d'alcool ainsi que celle de tabac – nous avons mis en place une étude spécifique portant sur des alcooliques recrutés en service hospitalier et des sujets témoins du Centre de Médecine Préventive. Cette enquête comportait également un volet longitudinal permettant d'estimer l'influence de l'arrêt de l'alcoolisation sur le statut pro- et anti-oxydant. (**P6, P7, P8**).

Effet de la supplémentation en vitamines :

L'effet de la supplémentation en micronutriments sur les indicateurs de statut nutritionnel et les facteurs associés a fait l'objet de 3 essais cliniques randomisés portant respectivement sur des personnes âgées vivant à domicile ou en long séjour et des adultes d'âge moyen. Les doses de micronutriments ingérées correspondaient dans tous les cas à des niveaux proches des apports recommandés (**P13, P14, P15**).

Relations statut en vitamines, marqueurs immunologiques et infections :

Ce travail a été initié sur un échantillon de personnes âgées en bonne santé sélectionnées au Centre de Médecine Préventive afin d'estimer les relations entre le statut vitaminique, quelques marqueurs immunitaires et la susceptibilité aux infections. Par la suite un essai clinique de supplémentation a été mis en place pour vérifier les résultats de la première étude (**P12, P13**).

Matériel et méthodes

Les résultats présentés dans cet ouvrage sont issus de 7 études portant sur des échantillons de population collectés depuis 1979. Le descriptif succinct des différentes caractéristiques - populations, critères de sélection, indicateurs mesurés, outils de recueils, collaborations - est résumé dans les tableaux 1 à 3. Les échantillons couvrent des tranches d'âge larges (depuis l'adolescence jusqu'à un âge avancé) et prennent en compte les principaux facteurs déterminants de la variabilité des indicateurs du statut, en particulier, la prise de suppléments et la consommation d'alcool et de tabac.

Ces études ont été menées soit uniquement au Centre de Médecine Préventive, soit dans quelques centres de sélection, ou impliquent un grand nombre de services. Au cours du temps, on remarque une évolution naturelle des méthodes de dosages et l'effort fait pour la remise à jour des bases de composition des aliments.

Les suppléments qui ont été testés avaient des compositions proches des recommandations (1 à 2 fois les apports nutritionnels conseillés pour la population française (ANC)). Les tableaux 1 et 2 concernent les études transversales, le tableau 3 porte sur 3 études de supplémentation en micronutriments antioxydants.

Tableau 1 : Résumé des principales études sur le statut en vitamines effectuées depuis 1979 (I)

Libellé de l'étude	ESVITAF : Statut vitaminique des Français	Nutrition – immunité chez la PA
Type d'étude	Transversale	Transversale
Objectifs	Descriptif des indicateurs du statut vitaminique B1, B2, A, E, D et folates dans 3 groupes de population : témoins, obèses et buveurs excessifs	Etude des relations entre les indicateurs du statut vitaminique, les indicateurs de la fonction immunitaire et la susceptibilité aux infections chez la personne âgée
Date	1979 - 1982	1983 - 1985
Echantillon de population	396 hommes et 314 femmes ▪ 362 témoins (189 H, 173 F) ▪ 158 obèses (40 H, 118 F) ▪ 190 buveurs excessifs (167 H, 23 F)	291 personnes âgées ▪ 139 hommes ▪ 152 femmes
Critères de sélection	▪ 18 – 44 ans, volontaires ▪ Français métropolitains ▪ Indemnes de maladie et antécédent pouvant influencer l'état de nutrition ▪ Sans médicament ni CO ▪ Témoins : IP<1,16, alcool≤43g/j (H) ou <22 (F) ▪ Obèses : IP>1,16 ▪ Buveurs : alcool>43g/j (H) ou >22g/j (F)	▪ 60 – 82 ans ▪ Vivant à domicile ▪ Volontariat ▪ Indemnes de cancer, polyarthrite inflammatoire, maladie hépatique ▪ Indemnes de maladie et antécédent pouvant influencer l'état de nutrition et l'immunité
Protocole	▪ Etude multicentrique ▪ Invitation des sujets dans le cadre des centres d'examen de santé de Vandoeuvre (n=292) et de Lyon (n=148) et des consultations de médecine du travail à Nevers, Clichy et Meudon (n=210). ▪ Examen en 2 temps	▪ Etude sur 2 sites ▪ Invitation des sujets dans le cadre des centres d'examen de santé de Vandoeuvre et de Metz. ▪ Examen en 2 temps : au centre d'examen de santé et à domicile
Indicateurs biologiques de statut en vitamines et micronutriments	▪ B1 : activité transcétolase, α-ETK (1) ▪ B2 : α-EGR (2) ▪ Rétinol (3) ▪ β-carotène (3) ▪ Tocophérols totaux (4) ▪ 25-OH-D (5) ▪ Folates – plasma et érythrocytes (6)	▪ B1 : α-ETK (7) ▪ B2 : α-EGR (7) ▪ B6 : α-EGOT (7) ▪ Rétinol (8) ▪ β-carotène (8) ▪ α-tocophérol (8) ▪ Acide ascorbique (9)
Autres indicateurs biologiques	Numération, fer, urée, glucose, TGP, GGT	Triglycérides, cholestérol, numération, formule, sous-populations lymphocytaires (CD5, CD8, CD4), test de lymphoprolifération à la PHA
Enquête alimentaire	Journal de 7 jours	Journal de 7 jours
Tables de composition des aliments (principales)	MacCance (24), Ostrowski (25), Randoin (26), Renaud (27)	Souci (28)
Autres données	CSP, consommation de tabac et d'alcool, anthropométrie	Consommation d'alcool, tabac et médicaments, anthropométrie, fréquence des infections, test d'hypersensibilité retardée à 7 antigènes (multitest)
Collaborations principales externes au CMP	A Lemoine (CHR, Nevers) M Bourgeay-Causse (Institut Pasteur, Lyon) E Delacoux (Hôpital Beaujon, Clichy) L Miravet (Hôpital Lariboisière, Paris) G Potier de Courcy (ISTNA, Paris) J Zittoun (Hôpital Henri Mondor, Paris) G Brubacher (Hoffmann-La Roche, Bâle)	M Chavance (INSERM U169, Paris) N Musse (INSERM U308, Nancy) G Vernhes (Centre d'examen de Santé, Metz) C Janot (CTS, Nancy) C Fournier (INSERM U283, Paris) G Brubacher (Hoffmann-La Roche, Bâle)
Publications	P2, P3, P4, P5	P10, P11, P12

H : hommes, F : femmes, E : érythrocytes, P : plasma, PA : personnes âgées, CO : contraceptifs oraux, IP : indice pondéral, CSP : catégories socioprofessionnelles, CMP : Centre de Médecine Préventive

α-ETK ,α-EGR ,α-EGOT : Coefficient d'activation de 3 enzymes érythrocytaires (rapport = activité enzymatique après saturation/activité basale), un coefficient bas et proche de 1 indique un bon statut vitaminique :

- Vitamine B1 ~ transcétolase (ETK) par la thiamine pyrophosphate (TPP)
- Vitamine B2 ~ glutathion réductase (EGR) par la flavine adénine dinucléotide (FAD)
- Vitamine B6 ~ oxaloacétate aminotransférase (EGOT) par le pyridoxal-5-phosphate (PLP)

Tableau 2 : Résumé des principales études sur le statut en vitamines effectuées depuis 1979 (II)

Libellé de l'étude	Statut vitaminique des adolescents	Alcool, tabac et statut antioxydant
Type d'étude	Transversale	Transversale avec un suivi de 3 semaines pour les buveurs
Objectifs	Descriptif des indicateurs en vitamines et en fer chez les adolescents	Etude de l'influence de la consommation d'alcool et de tabac sur le statut anti- et prooxydant
Date	1988 - 1989	1990 - 1991
Echantillon de population	509 Enfants ▪ 263 garçons ▪ 246 filles	562 hommes d'âge moyen ▪ 459 témoins ▪ 103 alcooliques en cure de sevrage de 21 jours
Critères de sélection	▪ 10 – 15 ans, volontaires ▪ Français métropolitains ▪ Indemnes de maladie et antécédent pouvant influencer l'état de nutrition ▪ Sans CO ▪ Ne fumant pas	▪ 20 – 60 ans, caucasiens ▪ Volontariat ▪ Témoins : Indemnes de maladie pouvant influencer l'état de nutrition ▪ Alcooliques : Indemnes de signe clinique et biologique de cirrhose (indice de Child et Pugh), dépendant selon l'échelle DSM III 3R
Protocole	▪ Sélection dans le cadre du Centre de Médecine Préventive de Vandoeuvre ▪ Examen en 2 temps	▪ Etude sur 2 sites ▪ Sélection des témoins dans le cadre du Centre de Médecine Préventive ▪ Inclusion des alcooliques au début de la cure de sevrage du centre d'alcoologie du CHRU de Nancy ▪ 2 examens à 3 semaines pour les alcooliques
Indicateurs biologiques de statut en vitamines et micronutriments	▪ B1 : α-ETK (7) ▪ B2 : α-EGR (7) ▪ B6 : α-EGOT (7) ▪ Rétinol (8) ▪ α-tocophérol (8) ▪ β-carotène (8) ▪ Folates –plasma et érythrocytes (6) ▪ Acide ascorbique (9)	▪ Rétinol (10) ▪ β-carotène, α-carotène, lutéine, lycopène, zéaxanthine et bêta-cryptoxanthine (11) ▪ α-tocophérol (10) ▪ Acide ascorbique (9) ▪ Sélénium (12)
Autres indicateurs biologiques	Triglycérides, cholestérol, fer, transferrine, ferritine, hémoglobine, protoporphyrine érythrocytaire	Triglycérides, cholestérol, apolipoprotéines A1 et B, retinol binding protein (RBP), GPX (13), SOD (13), MDA (14), bases de Schiff (15), auto-anticorps anti-adduits de MDA (16)
Enquête alimentaire	Histoire alimentaire avec l'aide des parents	Histoire alimentaire
Base de données de composition des aliments	MacCance (24), Randoin (26), Renaud (27)	MacCance (29), CIQUAL (30)
Autres données	Consommation de tabac et de médicaments, anthropométrie, stades pubertaires selon Tanner, masse grasse	Examen clinique, consommation d'alcool, tabac et médicaments, anthropométrie
Collaborations principales externes au CMP	L Dostalova (Hoffmann-La Roche, Bâle) S Hercberg (ISTNA, Paris)	F Paille, P Pirollet (Med. L, CRHU, Nancy) P Grolier (INRA, Clermont-Ferrand) Y Chancerelle (CRESSA, Grenoble) J Arnaud (CHRU, Grenoble) C Bourgeois (Produits Roche, Neuilly) N Musse (INSERM U 308, Nancy)
Publications	P9	P6, P7, P8

Notes : cf. tableau 1

Tableau 3 : Résumé des 3 essais cliniques de supplémentation en vitamines et minéraux

Libellé de l'étude	Supplémentation en micronutriments chez la PA	Min.ViT.Aox	Su.Vi.Max
Type d'étude	Essai clinique, en double aveugle, contre placebo	Essai clinique, en double aveugle, contre placebo	Essai clinique, en double aveugle, contre placebo
Objectifs	Evaluation de l'effet d'une supplémentation en vitamines et minéraux sur certains indicateurs de la fonction immunitaire et la susceptibilité aux infections	Evaluation de l'effet d'une supplémentation en vitamines et minéraux antioxydants sur le statut nutritionnel et immunitaire chez la PA	Evaluation de l'effet d'une supplémentation en vitamines et minéraux antioxydants sur les marqueurs du statut antioxydant chez l'adulte d'âge moyen
Date	1989	1992 - 1993	1993
Echantillon de population	218 personnes âgées ▪ 110 : groupe traitement ▪ 108 : groupe placebo	725 personnes âgées ▪ 182 : groupe placebo ▪ 182 : minéraux ▪ 180 : vitamines ▪ 181 : vitamines + minéraux	166 hommes et 235 femmes ▪ 200 : groupe placebo ▪ 201 : groupe traité
Critères de sélection	▪ Plus de 60 ans ▪ Vivant à domicile ▪ Volontariat ▪ Indemnes de maladie et antécédent pouvant influencer l'état de nutrition et l'immunité ▪ Aucune supplémentation en vitamines depuis 3 mois	▪ 65 – 103 ans ▪ Long séjour ▪ Volontariat ▪ Indemnes de maladie et antécédent pouvant influencer l'état de nutrition et l'immunité ▪ Aucune supplémentation en vitamines	▪ 45-60 ans (hommes) ▪ 35-60 ans (femmes) ▪ Volontariat ▪ Indemnes de maladie et antécédent grave ▪ Aucune supplémentation en vitamines
Protocole	▪ Invitation des sujets par annonce dans la presse et par l'intermédiaire des praticiens de ville (Nevers) ▪ Randomisation par bloc de 6 individus ▪ Durée : 4 mois ▪ 3 examens espacés de 2 mois à domicile (T0, T2, T4)	▪ Etude multicentrique ▪ 25 centres de recrutement ▪ 4 traitements : placebo, vitamines, minéraux, vitamines + minéraux ▪ Randomisation par bloc ▪ Durée : 2 ans ▪ 4 examens à T0, T6, T12 et T24 mois	▪ Etude multicentrique ▪ Paris, Grenoble, Nancy, Tours ▪ Randomisation par bloc ▪ Durée : 6 mois ▪ 3 examens à T0, T3 et T6 mois
Indicateurs biologiques de statut en vitamines et micronutriments	▪ B1 : α-ETK (7) ▪ B2 : α-EGR (7) ▪ B6 : α-EGOT (7) ▪ Rétinol (8) ▪ α-tocophérol (8) ▪ Folates – plasma et E (6) ▪ Acide ascorbique (9)	▪ Rétinol (17) ▪ α-tocophérol (17) ▪ β-carotène (17) ▪ Acide ascorbique (18) ▪ Sélénium (12) ▪ Zinc (19)	▪ Rétinol (8) ▪ α-tocophérol (8) ▪ β-carotène (8) ▪ Acide ascorbique (18) ▪ Sélénium (12) ▪ Zinc (19)
Autres indicateurs biologiques		GPX (20), SOD (21), MDA (22), Glutathion réduit et oxydé (23) Réponse humorale à la vaccination contre la grippe et autres indicateurs biologiques de l'immunité	GPX (20), SOD (21), MDA (22), Glutathion réduit et oxydé (23)
Enquête alimentaire	Journal de 7 jours	-	-
Base de données de composition des aliments	MacCance (24), Randoin (26), Renaud (27)	-	-
Autres données	Consommation d'alcool, tabac et médicaments, anthropométrie, fréquence des infections	Consommation d'alcool, tabac et médicaments, anthropométrie, fréquence des infections, hypersensibilité retardée à 7 antigènes (multitest)	Données anthropométriques Histoire médicale
Composition du supplément	Acide ascorbique : 90 mg α-tocophérol : 30 mg Vitamine A : 1500 µg ER Thiamine : 2,25 mg Riboflavine : 2,6 mg Pyridoxine : 3 mg Acide folique : 400 µg Divers minéraux et vitamines	Acide ascorbique : 120 mg α-tocophérol : 15 mg β-carotène : 6 mg (1000 ER) Zinc : 20 mg Sélénium : 100 µg	Acide ascorbique : 120 mg α-tocophérol : 30 mg β-carotène : 6 mg (1000 ER) Zinc : 20 mg Sélénium : 100 µg
Collaborations principales externes au CMP	A Lemoine (CHR Nevers) G Brubacher (Hoffmann-La Roche, Bâle)	S Hercberg (ISTNA Paris) A Favier (CHRU, Grenoble) Groupe Min.Vit.Aox	S Hercberg (ISTNA Paris) A Favier (CHRU, Grenoble) Groupe Su.Vi.Max
Publications	P13	P14	P15

Notes : cf. tableau 1

Références

1. Delacoux E, Sancho J, Evstigneeff T, Coulombier L, Langin S. Determination of erythrocyte transketolase activity. Clin Chim Acta 1980;108:483-486
2. Glatzle D, Vuilleumier JP, Weber F, Decker K. Glutathione reductase test with whole blood, a convenient procedure for the assessment of the riboflavin status in humans. Experientia 1974;30:665-667
3. Brubacher G, Vuilleumier JP. Vitamin A. Eds Curtius HC, Roth M. Clinical Biochemistry principles and methods. Berlin Walter de Gruyter 1974:975-982
4. Hashim SA, Schuttringer GR. Rapid determination of tocopherol in macro- and microquantities of plasma. Results obtained in various nutrition and metabolic studies. Am J Clin Nutr 1966;19:137-145
5. Preece MA, TomlinsonS, Ribot CA, Pietrek J, Korn HT, Davies DM, Ford JA, Dunnigan MG, O'Riordan JL. Studies of vitamin D deficiency in man. Q J Med 1975;44:575-589
6. Zittoun R, Zittoun J. Les carences en vitamine B12 et acide folique. Etude étiologique et méthodes d'investigation. Rev Prat 1970;20:573-590
7. Vuilleumier JP, Keller HE, Rettenmaier R, Hunziker F. Clinical chemical methods for the routine assessment of the vitamin status in human populations. Part II: The water-soluble vitamins B1, B2 and B6. Int J Vitam Nutr Res 1983;53:359-370
8. Vuilleumier JP, Keller HE, Gysel D, Hunziker F. Clinical chemical methods for the routine assessment of the vitamin status in human populations. Part I: The fat-soluble vitamins A and E, and beta-carotene. Int J Vitam Nutr Res 1983;53:265-272
9. Brubacher G, Vuilleumier JP. Vitamin C. Eds Curtius HC, Roth M. Clinical Biochemistry principles and methods. Berlin W de Gruyter 1974:989-997
10. Rudy JL, Ibarra F, Zeigler M, Howard J, Argyle C. Simultaneous determination of retinol, retinyl palmitate and alpha-tocopherol in serum or plasma by reversed phase high performance liquid chromatography. LC-CG Intern 1990;3:36-38
11. Olmedilla B, Granada F, Rojas-Hidalgo E, Blanco I. A rapid separation of ten carotenoids, alpha-tocopherol and d-alpha-tocopherol acetate by high performance liquid chromatography and its application to serum and vegetable samples. J Liq Chromatogr 1990;13:1455-1483
12. Nève J, Chamart S, Molle L. Optimisation of a direct procedure of selenium in plasma and erythrocyte using Zeeman effect atomic absorption spectrophotometry. Eds Bratter P, Schamer P. Trace element analytical chemistry in medecine and biology. Berlin Walter de Gruyter 1987;4:1-10
13. Guémouri L, Artur Y, Herbeth B, Jeandel C, Cuny G, Siest G. Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in human blood. Clin Chem 1991;37:1932-1937
14. Dousset JC, Thouilh M, Foglietti MJ. Plasma malondialdehyde levels during myocardial infarction. Clin Chem 1983;129:319-322
15. Tsuchida M, Miuta T, Mizutani K, Aibara K. Fluorescent substances in mouse and human sera as a parameter of in vivo lipid peroxidation. Biochim Biophys Acta 1985;834:196-204
16. Chancerelle Y, De Lorgeril M, Viret R. Increased lipid peroxidation in cyclosporin-treated heart transplant recipients. Am J Cardiol 1991;68:813-816
17. Hess D, Keller HE, Oberlin B, Bonfanti R, Schuep W. Simultaneous determination of retinol, tocopherols, carotenes and lycopene in plasma by means of high-performance liquid chromatography on reversed phase. Int J Vitam Nutr Res 1991;61:232-238
18. Bourgeois CF, Chartois RR, Counstans MF, George PR. Automated determination of vitamin C in foodstuffs and biological tissues. Analysis 1989;9:519-525
19. Arnaud J, Bellanger J, Bienvenu F, Chappuis P, Favier A. Recommended method for assaying serum zinc with flame atomic absorption. Ann Biol Clin 1986;44:77-87
20. Gunzler WA, Kremers H, Flohe L. An improved coupled test procedure for glutathione peroxidase (EC 1-11-1-9-) in blood. Z Klin Chem Klin Biochem 1974;12:444-448
21. Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur J Biochem 1974;47:469-474
22. Richard MJ, Portal B, Meo J, Coudray C, Hadjian A, Favier A. Malondialdehyde kit evaluated for determining plasma and lipoprotein fractions that react with thiobarbituric acid. Clin Chem 1992;38:704-709
23. Akerboom TPM, Sies H. Assay of glutathione, glutathione disulfide and glutathione mixed disulfides in biological samples. Jakoby WB Ed. Methods in enzymology 1981;77:373-382
24. Paul AA, Southgate DAT. McCance and Widdowson's composition of foods. Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam 1978
25. Ostrowski ZL. Les aliments, tables des valeurs nutritives. Lanore, Paris 1978
26. Randoin L, Le Gallic P, Dupuis Y, Bernardin A, Duchene G, Brun P. Tables de composition des aliments. Lanore, Paris 1976
27. Renaud S, Godsey F, Orichanian E, Baudier F. Tables de composition des aliments. Astra Calvé, Courbevoie 1979
28. Souci SW, Fachmann, Kraut H. Food composition and nutrition tables 1981-1982. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Mbh, Stuttgart 1981
29. Holland B, Welch AA, Unwin ID, Buss DH, Paul AA, Southgate DAT. McCance and Widdowson's composition of foods. Royal Society of Chemistry 1991
30. Favier JC, Ireland-Ripert J, Toque C, Feinberg M. Répértoire général des aliments: table de composition. Technique et documentation, Lavoisier, Paris 1991

Publications

Les principaux résultats attachés aux différentes problématiques décrites dans les chapitres précédents sont présentés et discutés sous la forme d'articles publiés, généralement en langue anglaise. Chaque article est précédé d'une présentation synthétique qui reprend les objectifs, la méthode, les principaux résultats et quelques éléments de discussion. Le premier article est une revue de la bibliographie récente sur les vitamines antioxydantes et le risque cardiovasculaire, il a été commenté dans le chapitre d'introduction. Au total, 15 publications ont été sélectionnées.

P1 Herbeth B, Marangon K, Roussel AM, Artur Y. **Vitamines antioxydantes et risque cardiovasculaire.** Le statut vitaminique : physiopathologie, exploration biologique et intérêt clinique. Le Moël G, Saverot-Dauvergne A, Gousson T, Guéant JL Eds, EM inter, Paris 1998;25:445-466

P2 Lemoine A, Le Devehat C, Herbeth B, Bourgeay-Causse M, Delacoux E, Mareschi JP, Martin J, Miravet L, Potier de Courcy G, Zittoun J. **"ESVITAF". Vitamin status in three groups of French adults. Controls, obese subjects, alcohol drinkers**. Ann Nutr Metab 1986;30-S1:1-94

P3 Herbeth B, Zittoun J, Miravet L, Bourgeay-Causse M, Carre-Guerry G, Delacoux E, Le Devehat C, Lemoine A, Mareschi JP, Martin J, Potier De Courcy G, Sancho J. **Reference intervals for vitamins B1, B2, E, D, retinol, beta-carotene, and folate in blood: usefulness of dietary selection criteria**. Clin Chem 1986;32:1756-1759

P4 Herbeth B, Didelot-Barthelemy L, Lemoine A, Le Devehat C. **Dietary behavior of French men according to alcohol drinking pattern**. J Stud Alcohol 1988;49:268-272.

P5 Herbeth B, Didelot-Barthelemy L, Lemoine A, Le Devehat C. **Plasma fat-soluble vitamins and alcohol consumption**. Am J Clin Nutr 1988;47:343-344

P6 Lecomte E, Herbeth B, Pirollet P, Chancerelle Y, Arnaud J, Musse N, Paille F, Siest G, Artur Y. **Effect of alcohol consumption on blood antioxidant nutrients and oxidative stress indicators**. Am J Clin Nutr 1994;60:255-261

P7 Lecomte E, Grolier P, Herbeth B, Pirollet P, Musse N, Paille F, Braesco V, Siest G, Artur Y. **The relation of alcohol consumption to serum carotenoid and retinol levels. Effects of withdrawal**. Int J Vitam Nutr Res 1994;64:170-175

P8 Marangon K, Herbeth B, Lecomte E, Paul-Dauphin A, Grolier P, Chancerelle Y, Artur Y, Siest G. **Diet, antioxidant status, and smoking habits in French men**. Am J Clin Nutr 1998;67:231-239

P9 Herbeth B, Spyckerelle Y, Deschamps JP. **Determinants of plasma retinol, β-carotene and α-tocopherol during adolescence**. Am J Clin Nutr 1991;54:884-889

P10 Herbeth B, Chavance M, Musse N, Mejean L, Vernhes G. **Dietary intake and other determinants of blood vitamins in an elderly population**. Eur J Clin Nutr 1989;43:175-186

P11 Herbeth B, Chavance M, Musse N, Mejean L, Vernhes G. **Determinants of plasma retinol, beta-carotene and alpha-tocopherol**. Am J Epidemiol 1990;132:394-396

P12 Chavance M, Herbeth B, Fournier C, Janot C, Vernhes G. **Vitamin status, immunity and infections in an elderly population**. Eur J Clin Nutr 1989;43:827-835

P13 Chavance M, Herbeth B, Lemoine A, Bao-Ping Z. **Does multivitamin supplementation prevent infections in healthy elderly subjects? A controlled trial**. Int J Vit Nutr Res 1993;63:11-16

P14 Monget AL, Richard MJ, Cournot MP, Arnaud J, Galan P, Preziosi P, Herbeth B, Favier A, Herberg S. **Effect of 6 month supplementation with different combinations of an association of antioxidant nutrients on biochemical parameters and markers of the antioxidant defence system in the elderly**. Eur J Clin Nutr 1996;50:443-449

P15 Preziosi P, Galan P, Herbeth B, Valeix P, Roussel AM, Malvy D, Paul-Dauphin A, Arnaud J, Richard MJ, Briançon S, Favier A, Hercberg S. **Effects of supplementation with a combination of antioxidant vitamins and trace elements, at nutritional doses, on biochemical indicators and markers of the antioxidant system in healthy adult subjects**. J Am Coll Nutr 1998;17:244-249

Vitamines antioxydantes et risque cardiovasculaire

Herbeth B, Marangon K, Roussel AM, Artur Y

Le statut vitaminique : physiopathologie, exploration biologique et intérêt clinique.
Le Moël G, Saverot-Dauvergne A, Gousson T, Guéant JL Eds, EM inter, Paris 1998;25:445-466

L'athérosclérose est responsable d'une part importante de mortalité et de morbidité cardiovasculaires en France, comme dans tous les pays industrialisés. L'initiation et la progression de cette maladie résultent de processus complexes dans lesquels interviennent conjointement des facteurs génétiques et environnementaux. Dans les 20 dernières années, une littérature abondante a fait ressortir le rôle que pourraient jouer les phénomènes d'oxydation affectant les lipoprotéines dans l'athérogénèse. Cette théorie "oxydative" de l'athérosclérose est à l'origine d'un grand nombre d'études visant à évaluer la place des vitamines antioxydantes (vitamines E et C et β-carotène) dans la prévention, voire la thérapeutique, des maladies cardiovasculaires.

Les principales données épidémiologiques des études d'observation (écologiques, cas-témoins et prospectives) renforcent en général les conclusions des travaux plus fondamentaux sur l'implication de l'oxydation des LDL dans la pathogénèse de l'athérosclérose, en particulier du rôle des 2 nutriments antioxydants qui sont transportés par ces lipoprotéines : l'α-tocophérol et le β-carotène. Ces études montrent, en général, que l'accroissement des apports (alimentaires et/ou fournis par des suppléments) ou des niveaux sanguins en ces micronutriments est associé à une réduction du risque de maladies cardiovasculaires. Les 2 études de cohorte les plus démonstratives ont été publiées en 1993 et portaient respectivement sur plus de 87 000 infirmières américaines et plus de 39 000 professionnels de santé américains. Dans ces 2 échantillons, suivis pendant respectivement 8 et 4 ans, le risque de maladies coronaires est inversement associé aux apports en vitamine E, avec un risque relatif ajusté proche de 0,60 pour les sujets situés dans le dernier quintile d'apport comparativement à ceux du premier quintile. En revanche, les données de la littérature concernant le β-carotène et la vitamine C sont plus hétérogènes.

Les études d'observation, même menées dans les règles de l'art, ne permettent pas de conclure à des liens de causalité entre statut antioxydant et pathologies cardiovasculaires. Seules les études randomisées, en double aveugle, peuvent donner des preuves de l'efficacité d'une supplémentation vitaminique dans la prévention de ces maladies. De 1993 à 1996, la publication des résultats de 3 études randomisées de prévention primaire, comportant des suppléments antioxydants, a surpris la communauté scientifique. La prise de forte dose de vitamines antioxydantes n'apporte pas de bénéfice en terme de morbidité et mortalité cardiovasculaires et peut même avoir des conséquences néfastes chez les individus à risque comme les fumeurs. Les résultats d'un seul essai de prévention secondaire sont moins décourageants et montrent un effet protecteur de fortes doses de vitamine E sur les récidives d'infarctus du myocarde non mortel. Cependant, l'incidence de la mortalité cardiovasculaire est plus élevée dans le groupe traité, la différence n'étant pas significative.

Contrairement aux conclusions des études d'observation, les résultats des essais de prévention publiés dans les dernières années sont en défaveur de la supplémentation en β-carotène, rétinol et α-tocophérol. En particulier, il n'est pas recommandé pour les fumeurs et les individus exposés au produits carcinogènes de consommer des doses importantes de suppléments à base de β-carotène et/ou de vitamine A. Une consommation accrue de fruits et légumes et de céréales associée à l'arrêt du tabagisme - permettant de diminuer les apports en lipides totaux et saturés et d'augmenter les apports en fibres, vitamines et autres substances à effet antioxydant - reste encore la mesure préventive recommandée et la moins à risque.

25

VITAMINES ANTI-OXYDANTES ET RISQUE CARDIOVASCULAIRE

Bernard Herbeth, Karine Marangon, Anne-Marie Roussel, Yves Artur

L'athérosclérose est responsable d'une part importante de mortalité et de morbidité cardiovasculaires en France, comme dans tous les pays industrialisés. L'initiation et la progression de cette maladie résultent de processus complexes dans lesquels interviennent conjointement des facteurs génétiques et environnementaux.

Dans la dernière décade, une littérature abondante a fait ressortir le rôle que pourraient jouer les phénomènes d'oxydation affectant les lipoprotéines dans l'athérogénèse. Nous verrons à la suite que cette théorie « oxydative » de l'athérosclérose est à l'origine d'un grand nombre d'études visant à évaluer la place des vitamines anti-oxydantes dans la prévention, voire la thérapeutique, des maladies cardiovasculaires.

1. Lipoprotéines oxydées et athérogénèse

Les principaux mécanismes oxydatifs intervenant dans l'athérogénèse semblent être les suivants : la peroxydation des acides gras polyinsaturés des lipoprotéines de basse densité (LDL), qui interviendrait dans l'intima des artères, conduit à la formation d'aldéhydes dont le dialdéhyde malonique (MDA) et le 4-hydroxynonénal. Ces aldéhydes peuvent se fixer sur les groupements aminés libres de l'apolipoprotéine B. Les LDL ne sont alors plus reconnues par leurs récepteurs habituels (récepteurs B-E) et sont captées par les récepteurs « scavengers » (éboueurs) des macrophages, récepteurs qui ne sont pas régulés par le contenu en cholestérol des cellules. L'accumulation de cholestérol qui en résulte conduit à la transformation des macrophages en cellules spumeuses, qui sont caractéristiques des lésions athéromateuses à leur début (Steinberg *et al.*, 1989).

Mais les LDL oxydées possèdent de nombreuses autres propriétés concourant à leur pouvoir proathérogène (Reaven et Witztum, 1995). Elles sont cytotoxiques et peuvent contribuer ainsi à la destruction de l'endothélium vasculaire ; elles possèdent un pouvoir chimiotactique vis-à-vis des monocytes et des lymphocytes T circulants, et inhibent la mobilité des macrophages et des cellules endothéliales tissulaires ; elles modulent l'expression de gènes au niveau de la paroi artérielle, induisant, par exemple, la synthèse d'interleukines, de facteurs de croissance cellulaire, d'adhésines, de protéines de l'inflammation,... ; elles sont également immunogènes ; enfin, les LDL oxydées affectent les propriétés vasomotrices des artères et influencent les processus de coagulation en agissant en particulier sur l'agrégation plaquettaire.

L'oxydation des lipoprotéines de très basse densité (VLDL), rarement prise en considération dans la littérature, fait que ces particules sont captées par les récepteurs scavengers (Mazzone *et al.*, 1987), et pourrait donc concourir à leur athérogénicité (Parthasarathy *et al.*, 1989).

Parallèlement, il a été montré que des modifications oxydatives des lipoprotéines de haute densité (HDL) peuvent conduire à une diminution de l'efflux de cholestérol à partir des cellules spumeuses, réduisant ainsi l'efficacité du transport « reverse » du cholestérol des artères vers le foie et participant donc au développement de l'athérosclérose (Nagano *et al.*, 1991).

On comprend donc l'importance thérapeutique potentielle que revêt la prévention de l'oxydation des lipoprotéines.

2. Bases théoriques de l'action bénéfique des vitamines anti-oxydantes vis-à-vis de l'athérosclérose

Les vitamines anti-oxydantes peuvent exercer un effet bénéfique sur l'athérosclérose du fait de leurs propriétés anti-oxydantes, mais aussi en raison d'autres activités chimiques ou biologiques.

Ces différents modes d'intervention sont présentés séparément à la suite.

2.1. Activité bénéfique des vitamines liée à leurs propriétés anti-oxydantes intrinsèques

2.1.1. Considérations théoriques

Les vitamines anti-oxydantes liposolubles (tocophérols, β-carotène et caroténoïdes) sont susceptibles de jouer un rôle de premier plan dans la protection des lipoprotéines vis-à-vis des phénomènes oxydatifs ; elles sont en effet véhiculées dans le plasma par ces protéines. Les données concernant les quantités de vitamines présentes au niveau des différentes fractions lipoprotéiniques varient de façon notable selon les études (Clevidence et Lehmann, 1989 ; Johnson et Russell, 1992 ; Kayden et Traber, 1993, Brown et Fragoso, 1994 ; Traber *et al.*, 1994). Il apparaît en résumé que l'α-tocophérol est présent principalement au niveau des HDL et des LDL (40 à 50 p. 100 de la quantité totale du plasma dans chacune de ces deux fractions), et en quantité moindre (environ 15 p. 100) dans les VLDL. Les caroténoïdes sont véhiculés principalement (70-80 p. 100) par les LDL, l'ensemble des autres lipoprotéines renfermant au total moins de 30 p. 100 des caroténoïdes plasmatiques. Ainsi, le β-carotène, constituant majeur de ces derniers, est présent à raison de 60 à 80 p. 100 au sein des LDL, de 10 à 25 p. 100 au niveau des HDL, et de 2 à 10 p. 100 dans les VLDL.

L'α-tocophérol est, de loin, l'anti-oxydant majeur des LDL ; en moyenne, environ sept molécules de cet anti-oxydant sont présentes dans chaque particule LDL. Le γ-tocophérol, les caroténoïdes (α et β-carotène, lycopène, cryptoxanthine, cantaxanthine, lutéïne, zéaxanthine) mais également des rétinoïdes et l'ubiquinol-10 (coenzyme Q_{10}), qui tous montrent des propriétés anti-oxydantes, sont également présents dans les LDL, mais en quantités 20 à 300 fois plus faibles que l'alpha-tocophérol (Esterbauer *et al.*, 1993).

Les tocophérols, et plus particulièrement l'alpha-tocophérol, exercent principalement leur activité anti-oxydante en réagissant avec les radicaux libres peroxyles ; ils donnent alors naissance à des radicaux libres tocophéroxyles, interrompant ainsi les processus de réaction en chaîne de la lipoperoxydation (Sies *et al.*, 1992 ; Thomas *et al.*, 1995). L'α-tocophérol semble également pouvoir protéger les LDL d'une oxydation

par l'oxygène singulet mais de façon moins importante que ne le font les caroténoïdes (Wagner *et al.*, 1993). Si les tocophérols agissent clairement comme anti-oxydants lorsqu'ils sont dans un milieu renfermant des co-anti-oxydants (acide ascorbique, ubiquinol-10, bilirubine,...), ils peuvent, dans certaines circonstances, et en particulier lorsqu'ils ne sont pas associés à ces co-anti-oxydants, jouer un rôle pro-oxydant (Thomas *et al.*, 1995 ; Bowry *et al.*, 1995, Maiorino *et al.*, 1995 ; Waldeck et Stocker, 1996).

Un certain nombre de molécules est en effet susceptible de régénérer les tocophérols à partir des radicaux libres tocophéroxyles ; parmi elles, l'acide ascorbique a fait l'objet de nombreuses publications dans les deux dernières décennies (Packer *et al.*, 1979 ; Chan, 1993 ; Thomas *et al.*, 1995) ; le β-carotène (Mortensen et Skibsted, 1996), le coenzyme Q10 (Stoyanovsky *et al.*, 1995), le glutathion réduit (Chan, 1993) et la bilirubine (Thomas *et al.*, 1995) semblent également participer à cette régénération.

Les caroténoïdes, et plus particulièrement le lycopène et le β-carotène, peuvent désactiver l'oxygène singulet (Sies *et al.*, 1992 ; Wagner *et al.*, 1993) et donc protéger les LDL d'une oxydation médiée par cette espèce réactive (Ojima *et al.*, 1993) ; le β-carotène est également capable d'inhiber des réactions radicalaires, agissant en synergie avec l'alpha-tocophérol (Sies *et al.*, 1992 ; Palozza et Krinsky, 1992).

L'acide ascorbique (vitamine C) est considéré comme étant l'anti-oxydant le plus important des fluides extracellulaires ; il peut éliminer efficacement le peroxyde d'hydrogène, ainsi que différents radicaux libres (superoxyde, hydroxyle, peroxyle,...) (Sies *et al.*, 1992). Son action sur l'oxygène singulet reste controversée (Sies *et al.*, 1992 ; Wagner *et al.*, 1993). Bien que n'étant pas transporté par les lipoprotéines, l'acide ascorbique protège les LDL de la peroxydation (Jialal *et al.*, 1990 ; Retsky et Frei, 1995) ; il interviendrait principalement en prévenant l'initiation de la lipoperoxydation et en épargnant les anti-oxydants endogènes des LDL (Retsky et Frei, 1995). Cependant, dans certaines conditions dont on ne sait si elles peuvent être réalisées *in vivo*, l'acide ascorbique peut agir en tant que pro-oxydant et induire l'oxydation des LDL (Stait et Leake, 1996). Dans le sérum, les urates semblent participer efficacement à sa protection contre l'oxydation (Sevanian *et al.*, 1991).

Il apparaît donc que les vitamines anti-oxydantes (vitamines E et C, caroténoïdes) sont susceptibles de protéger les lipoprotéines vis-à-vis des phénomènes oxydatifs. Cependant, les données résumées ci-dessus montrent que les mécanismes protecteurs sont complexes ; il est vraisemblable qu'ils mettent en jeu plusieurs de ces vitamines simultanément, ainsi que d'autres molécules anti-oxydantes d'origine endogène telles que l'ubiquinol-10, le glutathion réduit et la bilirubine.

2.1.2. *Effets des vitamines anti-oxydantes sur l'oxydation des lipoprotéines : les études* in vitro

Les mécanismes par lesquels les lipoprotéines, en particulier les LDL, sont oxydées *in vivo* restent encore mal connus à ce jour. Il est peu probable que l'oxydation de ces protéines intervienne au niveau du plasma, en raison de la présence à ce niveau de concentrations élevées en anti-oxydants et en molécules capables de chélater les ions métalliques catalyseurs de ces phénomènes. L'oxydation intervient vraisemblablement dans la paroi artérielle, dans un microenvironnement appauvri en anti-oxydants et dans lequel les lipoprotéines seraient plus exposées aux agressions oxydatives. Différents travaux ont montré que les cellules intervenant dans le développement de l'athérome (cellules endothéliales, macrophages, cellules musculaires lisses) sont capables d'oxyder les LDL. Les mécanismes impliqués semblent complexes et de nombreux points, tels que la nature des enzymes et des espèces radicalaires participant aux réactions d'oxydation, restent obscurs (Garner et Jessup, 1996).

In vitro, l'oxydation des LDL peut être initiée en mettant celles-ci en contact avec des macrophages, des cellules endothéliales, des cellules musculaires lisses ou des lymphocytes, mais aussi en utilisant des systèmes acellulaires contenant différents pro-oxydants. Il est généralement admis que la production de LDL oxydées possédant les propriétés biologiques énumérées précédemment nécessite la présence de traces de métaux de transition sous forme libre ou sous forme de complexes actifs sur le plan redox (Esterbauer *et al.*, 1990).

On a donc vu se développer ces dernières années un grand nombre d'études concernant la susceptibilité des LDL à subir une oxydation induite *in vitro* par des sels de cuivre, selon le protocole proposé par Esterbauer *et al.* (1989). Brièvement, la méthode consiste à initier l'oxydation des LDL, obtenues par ultracentrifugation, à l'aide d'un sel cuivrique et dans un milieu réactionnel saturé en oxygène, et à suivre la cinétique de production de diènes conjugués par la mesure de l'absorbance de ces derniers à 234 nm. Les diènes conjugués sont des composés issus de réarrangements moléculaires intervenant lors de la peroxydation des acides gras polyinsaturés. Différents indices sont déterminés à partir de ces courbes d'oxydation d'allure sigmoïdale. Le plus utilisé d'entre-eux est le temps de résistance des LDL à l'oxydation ou « lag time », correspondant à la période de consommation des anti-oxydants présents au niveau des lipoprotéines ; sont également déterminées la vitesse maximale de la réaction d'oxydation (pendant la phase de propagation de la réaction, lorsque les diènes conjugués sont produits massivement), et la quantité totale de diènes conjugués produite, évaluée lorsque la réaction a atteint la phase dite de terminaison.

Ces modèles d'étude *in vitro* de l'oxydabilité des LDL se sont révélés intéressants à deux titres : d'une part, à la suite des travaux de Regnström *et al.*, (1992) montrant une corrélation inverse entre « lag time » et sévérité de l'athérosclérose coronarienne, plus de trente études cliniques ont été publiées dans des revues internationales reliant les paramètres de susceptibilité à l'oxydation à l'angor instable, à l'athérosclérose fémorale ou carotidienne, à l'hypercholestérolémie familiale, au diabète, à l'insuffisance rénale, à la sclérodermie, et même à un exercice musculaire intense. D'autre part, ces modèles d'oxydation *in vitro* ont permis de mieux connaître le rôle des anti-oxydants, en particulier vitaminiques, dans la protection des lipoprotéines vis-à-vis des modifications oxydatives.

Ainsi, Esterbauer *et al.* (1991) ont pu démontrer que, durant la phase de résistance des LDL à une oxydation médiée par le cuivre, les anti-oxydants vitaminiques présents au sein de ces lipoprotéines sont consommés dans l'ordre suivant : α-tocophérol, γ-tocophérol, lycopène, cryptoxanthine et lutéine-zéaxanthine, et enfin β-carotène.

Chez les sujets non supplémentés en vitamines, il semble qu'on ne retrouve pas de corrélation entre la teneur des LDL en vitamine E et leur résistance à une oxydation médiée *in vitro* par le cuivre (Babiy *et al.*, 1990 ; Jessup *et al.*, 1990 ; Cominacini *et al.*, 1991 ; Croft *et al.*, 1995) ; cette résistance n'est pas diminuée chez les sujets présentant une déficience en vitamine E (Kleinveld *et al.*, 1993), la vitamine E jouant un rôle essentiel dans la protection des LDL vis-à-vis de l'oxydation, mais n'étant pas, et de loin, le seul composé impliqué dans cette protection.

En revanche, toute addition de vitamine E à des LDL *in vitro* ou supplémentation *in vivo* du régime alimentaire en cette vitamine, se traduit par une augmentation de la résistance des lipoprotéines à l'oxydation, le temps de latence devenant alors corrélé positivement au contenu des LDL en vitamine E (Dieber-Rotheneder *et al.*, 1991 ; Abbey *et al.*, 1993 ; Miller *et al.*, 1995 ; Simons *et al.*, 1996).

L'importance du rôle du β-carotène et des caroténoïdes dans la protection anti-oxydante des LDL, approchée par les tests *in vitro* décrits ci-dessus, est encore

matière à controverses : en effet, certains auteurs ont observé qu'une supplémentation de l'alimentation en β-carotène ou en lycopène réduisait l'oxydabilité des LDL (Levy *et al.*, 1996 ; Oshima *et al.*, 1996), alors que d'autres n'ont pu mettre en évidence d'effets favorables de ces composés pour les LDL des sujets supplémentés (Reaven *et al.*, 1993 ; Gaziano *et al.*, 1995). Pour ce qui est de l'acide ascorbique, il semble qu'une supplémentation du régime alimentaire en cette vitamine chez des individus en bonne santé augmente la résistance de leurs LDL à une oxydation médiée *in vitro* par le cuivre (Rifici et Khachadurian, 1993 ; Fuller *et al.*, 1996).

2.2. Activité bénéfique des vitamines anti-oxydantes non liée à leurs propriétés anti-oxydantes

La vitamine E est susceptible d'exercer des effets bénéfiques vis-à-vis du développement des maladies cardiovasculaires, et plus particulièrement de l'athérosclérose, par des mécanismes indépendants de son pouvoir anti-oxydant qui ont fait l'objet de plusieurs revues (Janero, 1991 ; Meydani, 1995 ; Hennig *et al.*, 1996).

Elle participe à la protection générale des cellules endothéliales, et protège en particulier l'endothélium vasculaire contre les dysfonctionnements induits par les LDL oxydées, au moins en partie en inhibant la stimulation des protéines kinases C (Keaney *et al.*, 1996). Elle limite le métabolisme oxydatif des macrophages (Suzukawa *et al.*, 1994) et à concentrations physiologiques, elle inhibe la prolifération des cellules musculaires lisses (Boscoboinik *et al.*, 1991). La vitamine E inhibe l'adhésion des monocytes aux cellules endothéliales, peut-être en agissant directement sur l'expression d'adhésines telles que s-ICAM-1 (Martin *et al.*, 1997). Elle inhibe la phospholipase A_2 et modifie donc le métabolisme des phospholipides. Enfin, elle diminue la libération de thromboxane A_2 par les plaquettes et inhibe l'agrégation plaquettaire (Meydani, 1995).

Outre son pouvoir d'inhiber la prolifération cellulaire et de renforcer le système immunitaire, le β-carotène pourrait diminuer la capacité des cellules à oxyder les lipoprotéines (Reaven *et al.*, 1994), bien que cette hypothèse n'ai pu être confirmée dans un travail récent (Levy *et al.*, 1996).

Quant à la vitamine C, elle intervient dans le métabolisme du cholestérol, dans le maintien de l'intégrité vasculaire, et la synthèse des prostacyclines au niveau de l'endothélium vasculaire (Simon, 1992).

3. Études utilisant des modèles animaux

De façon similaire à ce qui est observé chez l'Homme, la supplémentation en vitamine E du régime alimentaire d'un modèle animal comme le lapin se traduit par une augmentation de la résistance des LDL à une oxydation induite *in vitro* par le cuivre (Wiseman *et al.*, 1995).

La majorité des études réalisées chez l'animal démontre le rôle positif de la vitamine E dans la réduction de la vitesse d'apparition ou de la sévérité d'une athérosclérose induite par le régime alimentaire (Komarat *et al.*, 1985 ; Williams *et al.*, 1992 ; Verlangieri et Bush, 1992 ; Prasad et Kabia, 1993), mais cet effet bénéfique n'est pas retrouvé par certains auteurs (Willingham *et al.*, 1993 ; Dedwania *et al.*, 1994).

Ces distorsions peuvent être liées aux degrés variables d'hypercholestérolémie des animaux étudiés et aux différences des types et des quantités de suppléments vitaminiques administrés. Il se peut également que les effets de la vitamine E ne soient apparents que lors des stades précoces de l'athérogénèse, ou que pour des animaux dont les concentrations plasmatiques en cholestérol ne sont que modérément élevées (Kleinveld *et al.*, 1994).

4. Données des études épidémiologiques

Les études de populations nous apportent tout un faisceau d'arguments en faveur du rôle protecteur des nutriments anti-oxydants en regard des facteurs de risque « classiques » de coronaropathies tels que consommation de tabac, hypertension, hyperlipémie, diabète, etc. Le problème est abordé avec les différents outils que nous fournit l'épidémiologie : études transversales (Todd *et al.*, 1995 ; Donnan *et al.*, 1993), études écologiques ou transculturelles de corrélations entre apports moyens en anti-oxydants et taux de mortalité et/ou de morbidité par pays ou régions (Gaziano et Hennekens, 1992 ; Gey *et al.*, 1991 ; Belizzi *et al.*, 1994 ; Hensrud *et al.*, 1994), études cas-témoins rétrospectives (Riemersma *et al.*, 1991 ; Kardinaal *et al.*, 1993 ; Kardinaal *et al.*, 1995 ; Regnström *et al.*, 1996), études de cohorte *(Tableaux 1 à 3)* et essais d'intervention randomisés *(Tableau 4)*. Le statut en nutriments anti-oxydants, principalement en vitamines E et C, β-carotène et flavonoïdes, est évalué soit par l'estimation des apports alimentaires après enquête de consommation (Ness et Powles, 1997), soit par la mesure des vitamines dans le plasma, les lipoprotéines ou le tissu adipeux. Les indicateurs d'affections cardiovasculaires mesurés pour ces protocoles sont multiples et dépendent des objectifs de départ, du type d'étude, de la durée du suivi et de la taille des échantillons mis en jeu : rapport entre la pression systolique à la cheville et la pression systolique au bras, épaisseur intima-media des artères carotides mesurée par ultrasonographie en mode B, conclusions de l'ECG, degré de sténose évalué par angiographie coronaire, incidence des coronaropathies (angor et/ou infarctus) et de l'attaque, mortalité globale ou spécifique cardiovasculaire (infarctus, attaques, etc.).

Les principaux résultats de ces études épidémiologiques ont fait l'objet de revues publiées dans la première moitié de cette décennie (Gaziano et Hennekens, 1992 ; Manson *et al.*, 1993 ; Elinder et Walldius, 1994 ; Gey, 1995 ; Hoffman et Garewal, 1995 ; Jha *et al.*, 1995) et renforcent en général les conclusions des études plus fondamentales sur l'implication de l'oxydation des LDL dans la pathogénèse de l'athérosclérose, en particulier du rôle de la vitamine E. Cependant les données nouvelles et contradictoires, fournies depuis 2 ans par les grands essais cliniques, ne sont pas prises en compte dans ces revues de la littérature.

Dans ce chapitre, nous nous sommes intéressés principalement aux études de cohortes et aux essais d'intervention randomisés qui avaient pour objectif d'estimer les relations entre le statut en vitamines E et C et en β-carotène et la mortalité et/ou la morbidité cardiovasculaire générale ou spécifique. Nous n'avons tenu compte dans notre analyse ni de toutes les études cas-témoins, ni de toutes les études de corrélations géographiques. En effet, ces deux types d'études n'apportent pas d'arguments de causalité suffisamment forts et ne permettent pas de prendre en compte les facteurs de biais et de confusion, comme par exemple l'effet de la maladie sur les facteurs de risque mesurés.

4.1. Statut en anti-oxydants et indicateurs d'athérosclérose

Les données dans ce domaine sont issues d'études de type transversal ou longitudinal à court terme. L'étude transversale « Edinburgh Artery Study » (Donnan *et al.*, 1993) réalisée sur un échantillon de 1592 hommes et femmes âgés de 55 à 74 ans, a mis en évidence une relation positive significative entre un indicateur d'artériopathies périphériques (le rapport entre la pression systolique à la cheville et la pression systolique au bras) et la consommation de vitamine E, indépendamment de la consommation de tabac et des apports en autres nutriments.

Tableau I ■ Vitamine E et maladies cardiovasculaires : les grandes études de cohorte

Échantillon de population, pays	Durée de suivi	Groupes comparés	Résultats principaux [1, 2, 3]
87 245 infirmières de 34 à 59 ans, USA (Stampfer *et al.*, 1993)	8 ans	Prise de suppléments de vitamine E vs prise d'aucun supplément	Réduction significative de l'incidence de l'infarctus et de la mortalité par coronaropathies, RR=0,59 (0,38-0,91)
39 910 hommes de 40 à 75 ans, professionnels de santé, USA (Rimm *et al.*, 1993)	4 ans	5^{e} quintile vs 1er quintile des apports en vitamine E (alimentation et suppléments)	Réduction significative de l'incidence de l'infarctus, des autres maladies coronariennes et de la mortalité par coronaropathies, RR=0,60 (0,44-0,81)
2 748 hommes de 30 à 69 ans, Finlande (Knekt *et al.*, 1994)	14 ans	3^{e} tertile vs 1er tertile des apports alimentaires en vitamine E	Réduction non significative de la mortalité par coronaropathies, RR=0,68 (0,42-1,11)
2 385 femmes de 30 à 69 ans, Finlande (Knekt *et al.*, 1994)	14 ans	3^{e} tertile vs 1er tertile des apports alimentaires en vitamine E	Réduction significative de la mortalité par coronaropathies, RR=0,35 (0,14-0,88)
11 178 adultes de 67 à 105 ans, USA (Losonczy *et al.*, 1996)	6 à 9 ans	Prise de suppléments de vitamine E vs prise d'aucun supplément	Réduction significative de la mortalité par coronaropathies, RR=0,59 (0,37-0,93) Réduction plus importante si prise à long terme, RR=0,40 (0,17-0,96) ou avec de la vitamine C, RR=0,52 (0,28-0,97)
34 486 femmes ménopausées, USA (Kushi *et al.*, 1996)	7 ans	5^{e} quintile vs 1er quintile des apports alimentaires en vitamine E	Réduction significative de la mortalité par coronaropathies, RR=0,38 (0,18-0,80) Pas d'effet significatif des suppléments en vitamine E
Étude cas-témoins (84 vs 168) au sein d'une cohorte de 10 532 personnes de 37 à 87 ans, Pays Bas (Kok *et al.*, 1987)	9 ans	Vitamine E plasmatique > 6,45 mg/l vs < 6,45 mg/l	Pas de différence significative pour la mortalité par maladies cardiovasculaires, RR=1,5 (0,6-3,5), par coronaropathies, RR=1,3 (0,5-3,7) et par attaques, RR=1,6 (0,2-11,5)
Étude cas-témoins (92 vs 92) au sein d'une cohorte de 12 000 personnes de 30 à 64 ans, Finlande (Salonen *et al.*, 1985)	7 ans	–	Pas de différence significative entre cas (décès par coronaropathies) et témoins pour l'α-tocophérol plasmatique 6,1 mg/l vs 5,8 mg/l

1. RR : risque relatif de mortalité et/ou de morbidité pour le groupe ayant le statut en vitamine E le plus favorable (prise de suppléments, apports alimentaires ou concentrations plasmatiques élevées) comparativement au groupe ayant le statut en vitamine E le moins favorable.
2. L'intervalle de confiance à 95 % du risque relatif est indiqué entre parenthèses ; un intervalle n'incluant pas 1 est significatif au seuil de $p \leq 0,05$.
3. Ajustement ou appariement sur les principaux facteurs confondants : âge, sexe, consommation de tabac, cholestérol plasmatique, pression artérielle, indice pondéral, apports en énergie et autres vitamines, antécédents pathologiques, etc.

Tableau 2 ■ β-carotène et maladies cardiovasculaires : les grandes études de cohorte

Échantillon de population, pays	Durée de suivi	Groupes comparés	Résultats principaux [1, 2, 3]
39 910 hommes de 40 à 75 ans, professionnels de santé, USA (Rimm *et al.*, 1993)	4 ans	5^{e} quintile vs 1er quintile des apports alimentaires en β-carotène	Réduction significative de l'incidence de l'infarctus, des autres maladies coronariennes et de la mortalité par coronaropathies sur l'échantillon global, RR=0,71 (0,53-0,86) Réduction plus marquée pour les fumeurs, RR=0;30 (0,11-0,82) et les anciens fumeurs, RR=0,60 (0,38-0,94)
2 748 hommes de 30 à 69 ans, Finlande (Knekt *et al.*, 1994)	14 ans	3^{e} tertile vs 1er tertile des apports alimentaires en β-carotène	Pas de différence significative de mortalité par coronaropathies, RR=1,02 (0,70-1,48)
2 385 femmes de 30 à 69 ans, Finlande (Knekt *et al.*, 1994)	14 ans	3^{e} tertile vs 1er tertile des apports alimentaires en β-carotène	Réduction non significative de mortalité par coronaropathies, RR=0,62 (0,30-1,29)
1 299 personnes âgées en institution, USA (Gaziano *et al.*, 1995)	5 ans	4^{e} quartile vs 1er quartile des apports alimentaires en β-carotène	Réduction significative de la mortalité par infarctus, RR=0,27 (0,10-0,74) et par maladies cardiovasculaires, RR=0,59 (0,37-0,94)
Étude cas-témoins (125 vs 125) au sein de 12 000 donneurs de sang de 35 à 65 ans, USA (Street *et al.*, 1991)	9 ans	5^{e} quintile vs 1er quintile du β-carotène sérique	Réduction significative de l'incidence de l'infarctus, RR=0,42 (0,19-0,89)
1 899 hommes hyperlipémiques de 40 à 59 ans, USA (Morris *et al.*, 1994)	13 ans	4^{e} quartile vs 1er quartile du β-carotène sérique	Réduction significative de la mortalité par coronaropathies et infarctus, RR=0,64 (0,44-0,92)
2 974 hommes employés de l'industrie pharmaceutique, Suisse (Gey *et al.*, 1993)	12 ans	β-carotène plasmatique > 0,23 µmol/l vs < 0,23 µmol/l	Réduction significative de l'incidence de la mortalité par coronaropathies, RR=0,65 (0,45-0,95)

1. RR : risque relatif de mortalité et/ou de morbidité pour le groupe ayant le statut en β-carotène le plus favorable (prise de suppléments, apports alimentaires ou concentrations plasmatiques élevées) comparativement au groupe ayant le statut en β-carotène le moins favorable.
2. L'intervalle de confiance à 95 % du risque relatif est indiqué entre parenthèses ; un intervalle n'incluant pas 1 est significatif au seuil de $p \leq 0,05$.
3. Ajustement ou appariement sur les principaux facteurs confondants : âge, sexe, consommation de tabac, cholestérol plasmatique, pression artérielle, indice pondéral, apports en énergie et autres vitamines, antécédents pathologiques, etc.

Tableau 3 ■ Vitamine C et maladies cardiovasculaires : les grandes études de cohorte

Échantillon de population, pays	Durée de suivi	Groupes comparés	Résultats principaux [1, 2, 3]
87 245 infirmières de 34 à 59 ans, USA (Stampfer *et al.*, 1993)	8 ans	Prise de suppléments de vitamine C vs prise d'aucun supplément	Aucun effet sur l'incidence de l'infarctus et de la mortalité par coronaropathies
39 910 hommes de 40 à 75 ans, professionnels de santé, USA (Rimm *et al.*, 1993)	4 ans	5e quintile vs 1er quintile des apports alimentaires en vitamine C	Augmentation non significative de l'incidence de l'infarctus, des autres maladies coronariennes et de la mortalité par coronaropathies, RR=1,25 (0,91-1,71)
11 348 adultes de 25 à 74 ans, USA (Enstrom *et al.*, 1992)	10 ans	Apports alimentaires en vitamine C > 50 mg/jour vs < 50 mg/jour	Réduction significative du taux de mortalité, rapport standardisé de mortalité=0,66 (0,53-0,82)
2 748 hommes de 30 à 69 ans, Finlande (Knekt *et al.*, 1994)	14 ans	3e tertile vs 1er tertile des apports alimentaires en vitamine C	Pas de différence significative de mortalité par coronaropathies, RR=1,00 (0,68-1,45)
2 385 femmes de 30 à 69 ans, Finlande (Knekt *et al.*, 1994)	14 ans	3e tertile vs 1er tertile des apports alimentaires en vitamine C	Réduction significative de la mortalité par coronaropathies, RR=0,49 (0,24-0,98)
3 119 adultes de 16 à 74 ans, USA (Enstrom *et al.*, 1986)	10 ans	Apports alimentaires en vitamine C > 250 mg/jour vs < 250 mg/jour	Pas de différence de mortalité cardiovasculaire, rapport standardisé de mortalité=1,01 (0,61-1,39)
730 personnes âgées en institution (> 65 ans), UK (Gale *et al.*, 1995)	20 ans	3e tertile vs 1er tertile des apports alimentaires en vitamine C	Réduction significative de la mortalité par attaques, RR=0,50 (0,30-0,80) Pas d'effet significatif sur la mortalité par coronaropathies, RR=0,80 (0,60-1,20)
1 462 femmes de 38 à 60 ans, Suède (Lapidus *et al.*, 1986)	5 ans	–	Pas de différence significative d'apports en vitamine C pour les sujets atteints d'infarctus
34 486 femmes ménopausées, USA (Kushi *et al.*, 1996)	7 ans	5e quintile vs 1er quintile des apports alimentaires en vitamine C	Pas de réduction de la mortalité par coronaropathies
11 178 adultes de 67 à 105 ans, USA (Losonczy *et al.*, 1996)	6 à 9 ans	Prise de suppléments de vitamine C vs prise d'aucun supplément	Pas d'effet significatif sur la mortalité par coronaropathies, RR=0,99 (0,74-1,33)
2 974 hommes employés de l'industrie pharmaceutique, Suisse (Gey *et al.*, 1993 ; Gey *et al.*, 1993)	12 ans	Vitamine C plasmatique >22,7 µmol/l vs < 22,7 µmol/l	Réduction non significative de la mortalité par coronaropathies, RR=0,80 (0,49-1,29) et par attaques, RR=0,78 (0,24-2,50)
1 605 hommes de 42 à 60 ans, Finlande (Nyyssönen *et al.*, 1997)	5 ans	Vitamine C plasmatique >11,4 µmol/l vs < 11,4 µmol/l	Réduction significative de l'incidence de l'infarctus, RR=0,39 (0,19-0,79)

1. RR : risque relatif de mortalité et/ou de morbidité pour le groupe ayant le statut en vitamine C le plus favorable (prise de suppléments, apports alimentaires ou concentrations plasmatiques élevées) comparativement au groupe ayant le statut en vitamine C le moins favorable.
2. L'intervalle de confiance à 95 % du risque relatif est indiqué entre parenthèses ; un intervalle n'incluant pas 1 est significatif au seuil de p≤0,05.
3. Ajustement ou appariement sur les principaux facteurs confondants : âge, sexe, consommation de tabac, cholestérol plasmatique, pression artérielle, indice pondéral, apports en énergie et autres vitamines, antécédents pathologiques, etc.

Tableau 4 ■ Principaux essais randomisés de supplémentation en vitamine E, vitamine C et β-carotène portant sur la mortalité cardiovasculaire et la mortalité globale de plus de 1 000 sujets

Étude	Échantillon global	Durée de suivi	Composition du supplément	Principaux résultats
Linxian General Population Trial (Blot *et al.*, 1993)	29 584 adultes du Linxian (Chine)	5,25 ans	β-caroténe (15 mg) et vitamine E (30 mg) et sélénium (50 µg) ou vitamine C (120 mg) et molybdène (30 µg)	Chez les sujets prenant β-caroténe + vitamine E + sélénium, réduction significative de la mortalité globale, RR=0,91 (0,84-0,99) et réduction non significative de la mortalité par affections cérébro-vasculaires, RR=0,90 (0,76-1,07) Pas d'effet significatif du supplément vitamine C + molybdène sur la mortalité totale, RR=1,01 (0,93-1,10) et sur la mortalité par affections cérébro-vasculaires, RR=1,04 (0,88-1,24)
Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene and Cancer Prevention Study (ATBC) (The ATBC group, 1994 ; Rapola *et al.*, 1996)	29 133 hommes fumeurs de 50 à 69 ans (Finlande)	6,1 ans	β-carotène (20 mg) et/ou vitamine E (50 mg)	Chez les sujets prenant du β-caroténe, augmentation significative de la mortalité globale, RR=1,08 (1,01-1,16) et augmentation non significative de la mortalité par maladies cardiovasculaires, RR=1,11 (0,99-1,23) La supplémentation en vitamine E a peu d'effet sur la mortalité globale, RR=1,02 (0,95-1,09) et cardiovasculaire, RR=0,98 (0,89-1,08), cependant la mortalité par hémorragie cérébrale est significativement plus élevée dans le groupe prenant de l'α-tocophérol, RR=1,49 (1,03-3,17). Une analyse plus fine des résultats a montré une diminution significative du risque d'angine de poitrine dans le groupe prenant de la vitamine E, RR=0,91 (0,83-0,99)
Skin Cancer Prevention Study (SCPS) (Greenberg *et al.*, 1996)	1 720 patients avec un cancer de la peau (USA)	8,2 ans	β-carotène (50 mg) pendant 4,3 ans	Pas d'effet significatif sur la mortalité globale, RR=1,03 (0,82-1,30).et par maladies cardiovasculaires, RR=1,16 (0,82-1,64)
Beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial (CARET) (Omenn *et al.*, 1996)	14 254 fumeurs hommes et femmes 4 060 travailleurs exposés à l'amiante (USA)	prévu 6 ans, essai arrêté après 4 ans	β-carotène (30 mg) et vitamine A (25 000 UI)	Augmentation significative de la mortalité globale, RR=1,17 (1,03-1,33) et par cancer du poumon, RR=1,46 (1,07-2,00) Augmentation non significative de la mortalité par maladies cardiovasculaires, RR=1,26 (0,99-1,61)
Cambridge Heart Anti-oxydant Study (CHAOS) (Stephens *et al.*, 1996)	2 002 patients coronariens, atteints d'athérosclérose coronaire	1,4 ans	Vitamine E (800 UI au début de l'étude, 400 UI à la fin)	Réduction significative du risque d'accident cardiovasculaire (mortalité et morbidité groupées), RR=0,53 (0,34-0,83) Réduction du risque d'infarctus non fatal, RR=0,23 (0,11-0,47) Augmentation non significative de la mortalité cardiovasculaire, RR=1,18

Tableau 4 ■ Principaux essais randomisés de supplémentation en vitamine E, vitamine C et β-carotène portant sur la mortalité cardiovasculaire et la mortalité globale de plus de 1 000 sujets (suite)

Étude	Échantillon global	Durée de suivi	Composition du supplément	Principaux résultats
Physician's Health Study (PHS) (Hennekens *et al.*, 1996 ; Gaziano *et al.*, 1990)	22 071 médecins hommes (USA) de 40 à 84 ans	12 ans	β-carotène (50 mg) et/ou aspirine (325 mg) un jour sur deux	Pas d'effet sur la mortalité globale, RR=1,02 (0,93-1,11), sur l'incidence des maladies cardiovasculaires, RR=1,00 (0,91-1,09) et des cancers, RR=0,98 (0,91-1,06) Après 5 ans de traitement au β-carotène, réduction significative du risque de maladies cardiovasculaires (infarctus, revascularisation, attaque, décès) chez les individus atteints d'angine de poitrine, RR=0,56
Women's Health Study (WHS) (Buring et Hennekens, 1992)	45 000 infirmières de plus de 50 ans (USA)	5 ans	β-carotène (50 mg) et/ou vitamine E (600 UI) et/ou aspirine	Mortalité et morbidité cardiovasculaire Fin de l'étude en 1998 β-carotène éliminé du supplément à la suite des résultats de l'étude CARET
Heart Protection Study (HPS) (Jha *et al.*, 1995)	20 000 personnes avec angine de poitrine, attaque, diabète, claudication... (UK)	–	β-carotène (20 mg) et vitamine C (250 mg) et vitamine E (600 UI)	Mortalité totale Étude en cours
Heart Outcomes Prevention Évaluation (HOPE) (Jha *et al.*, 1995)	9000 personnes avec infarctus, attaque, diabète, claudication... (Canada)	–	Vitamine E (400 UI)	Mortalité et morbidité cardiovasculaire : infarctus, attaque, revascularisation coronaire Étude en cours
Women's Atherosclerosis Cardiovascular Study (WACS) (Manson *et al.*, 1995)	8 000 infirmières atteintes d'affections cardiovasculaires	–	β-carotène (20 mg) out vitamine C (1000 mg) ou vitamine E (400 UI)	Mortalité et morbidité cardiovasculaire : infarctus, attaque, revascularisation coronaire Étude en cours
GISSI prevention [1] (Jha *et al.*, 1995)	12 000 personnes ayant eu un infarctus du myocarde depuis moins de 3 mois (Italie)	–	Vitamine E (300 mg)	Mortalité totale Étude en cours
SU.VI.MAX (Hercberg *et al.*, 1996)	5 000 hommes de 45 à 60 ans 10 000 femmes de 35 à 60 ans (France)	8 ans	β-carotène (6 mg) et vitamine C (120 mg) et vitamine E (30 mg) et sélénium (100 µg) et zinc (20 mg)	Mortalité totale Mortalité et morbidité cardiovasculaire Fin de l'étude en 2003

1. Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardio Acuto.

Comme pour la vitamine E, une relation positive significative entre l'indicateur d'artériopathies périphériques et la consommation de vitamine C a été retrouvée, mais seulement chez les fumeurs. Sur un échantillon américain de plus de 11 000 hommes et femmes âgés de 45 à 64 ans (ARIC Study), l'épaisseur intima-media des artères carotides est corrélée négativement avec les apports en nutriments anti-oxydants seulement entre 55 et 64 ans. Cette liaison est retrouvée dans les deux sexes pour la vitamine C, après ajustement sur les autres facteurs de risque, et seulement chez les femmes pour la vitamine E, la corrélation avec les apports en β-carotène étant très faibles (Kritchevsky *et al.*, 1995). Selon les auteurs de cette étude, ces données fournissent des arguments limités sur l'effet protecteur des vitamines E et C vis-à-vis de l'athérosclérose. Très récemment, l'étude française EVA portant sur 1187 hommes et femmes âgés de 59 à 71 ans, a montré également une relation significative inverse entre l'épaisseur intima-média des artères carotides et la concentration de vitamine E dans l'érythrocyte ; cette liaison reste significative même après ajustement sur les facteurs conventionnels de risque cardiovasculaire (Bonithon-Kopp *et al.*, 1997).

L'effet de la vitamine E a été également testé dans la prévention de la progression de l'athérosclérose coronaire. Une étude récente sur environ 150 patients opérés pour un pontage coronarien et participant à un essai clinique d'une combinaison de deux hypolipémiants (colestipol et niacine) a montré une diminution de la progression de la maladie coronaire chez les hommes prenant spontanément plus de 100 UI par jour de vitamine E (Hodis *et al.*, 1995). Les effets, mesurés par deux angiographies réalisées à deux ans, ne sont détectables que pour les lésions légères et modérées et ne sont significatifs que pour le groupe recevant les hypolipémiants. La même équipe a montré également un taux de progression de l'épaisseur intima-media des carotides moindre chez les patients prenant plus de 100 UI par jour de vitamine E, la relation n'étant significative que pour le groupe placebo (Azen *et al.*, 1996). Contrairement à la vitamine E, la prise de suppléments de vitamine C à fortes doses (> 250 UI par jour) chez ces patients n'a pas d'effet significatif sur la progression de l'athérosclérose à deux ans, le phénomène étant estimé soit par angiographie coronaire, soit par la mesure de l'épaisseur intima-media des artères carotides (Hodis *et al.*, 1995 ; Azen *et al.*, 1996). Ces résultats suggèrent que la vitamine E pourrait être utile chez les patients coronariens traités par des hypolipémiants, mais nécessitent confirmation par des essais randomisés en double aveugle.

4.2. Grandes études de cohorte sur la mortalité et la morbidité cardiovasculaires

Dans les études prospectives de cohorte, un groupe important d'individus est suivi dans le temps et, à la fin du suivi, l'incidence des événements cardiovasculaires chez les sujets ayant des apports ou des concentrations plasmatiques élevés en vitamines anti-oxydantes est comparée à celle observée chez les individus ayant des apports ou des concentrations plasmatiques basses. Dans les études cas-témoins réalisées au sein de cohorte (*nested case-control study* des anglo-saxons), les concentrations plasmatiques en vitamines des prélèvements recueillis à l'inclusion sont comparées entre, d'une part, les sujets qui ont développé une maladie cardiovasculaire et, d'autre part, un échantillon apparié d'individus n'ayant pas présenté la maladie.

4.2.1. Vitamine E

L'étude transculturelle OMS/MONICA a été l'une des premières à souligner la relation inverse entre la concentration plasmatique d'α-tocophérol ajustée sur les lipides et la mortalité cardiovasculaire dans 16 populations (Gey *et al.*, 1991). Ce résultat a été confirmé par des études cas-témoins (Riemersma *et al.*, 1991 ; Regnström *et al.*, 1996 ; Kardinaal *et al.*, 1993), la vitamine E étant mesurée dans le plasma, les LDL ou

les adipocytes. De plus une étude récente a montré que le contenu des LDL en vitamine E, ajusté sur les lipides des LDL, est corrélé négativement au score de sténose (Regnström *et al.*, 1996). Cependant toutes ces études ne permettent pas de conclure à des relations de causes à effets.

Les cinq premières études prospectives résumées dans le tableau 1 ont utilisé, comme indicateur de statut en vitamine E, l'estimation des apports alimentaires au moment de l'inclusion des sujets dans l'étude. Excepté l'étude chez les hommes finlandais (Knekt *et al.*, 1994), toutes ont montré que des apports élevés en vitamine E, venant de l'alimentation ou des suppléments, sont associés avec une réduction significative de l'incidence de la maladie cardiovasculaire mesurée par la mortalité et/ou la morbidité générale ou spécifique, en tenant compte des autre facteurs de risque cardiovasculaire. La réduction du risque relatif de maladies cardiovasculaires est comprise entre 40 et 65 p. 100 pour des différences de niveau d'apports d'environ 1,3 à 5,7 fois (Jha *et al.*, 1996) ; pour obtenir ces résultats il faut entre 4 et 14 ans de supplémentation ou d'apports alimentaires élevés.

Le deuxième indicateur de statut en vitamine E utilisé dans les études prospectives de population est le niveau d'α-tocophérol mesuré dans le sang. Contrairement aux études précédentes, les deux études cas-témoins effectuées au sein de cohortes (Salonen *et al.*, 1985 ; Kok *et al.*, 1987), en prenant en compte les concentrations de vitamine E des prélèvements à l'inclusion, n'ont pas montré d'associations significatives entre statut en α-tocophérol et risque de maladies cardio-vasculaires *(Tableau 1)*. Cependant ce type d'étude repose sur des dosages effectués sur des prélèvements âgés de 7 à 9 ans où les phénomènes de dégradation de l'α-tocophérol au cours du temps peuvent diminuer la force des liaisons, et sur un seul prélèvement sanguin qui n'est pas représentatif du statut en α-tocophérol à long terme (Comstock *et al.*, 1993).

4.2.2. Caroténoïdes

Cinq des six études de cohortes décrites tableau 2 et portant sur les apports alimentaires ou les concentrations plasmatiques de β-carotène concluent à une réduction significative de l'incidence des événements cardiovasculaires chez les individus ayant le statut en β-carotène le plus favorable. Après un suivi de 4 à 13 ans, la réduction du risque relatif de maladies cardiovasculaires est compris entre 30 et 58 p. 100 pour des différences de niveau d'apports d'environ 1,5 à 4,8 fois (Jha *et al.*, 1996). L'étude américaine portant sur environ 39 000 hommes professionnels de santé (Rimm *et al.*, 1993), a montré que le bénéfice dû aux apports élevés en β-carotène est significatif seulement chez les fumeurs (réduction du risque de 70 p. 100) et chez les anciens fumeurs (réduction du risque de 40). Chez les non fumeurs l'effet sur l'incidence de la maladie cardiovasculaire n'est pas significatif.

Deux études cas-témoins issues de cohortes, n'ont pas montré de résultats significatifs en utilisant le rétinol plasmatique qui est un bon indicateur de statut en β-carotène (Kok *et al.*, 1987 ; Salonen *et al.*, 1985).

4.2.3. Vitamine C

En Grande-Bretagne, l'incidence des attaques et des coronaropathies est la plus élevée dans les régions où la consommation de fruits et légumes est la plus faible. Une étude très récente (Key *et al.*, 1996) effectuée sur 11 000 personnes végétariennes ou proches des milieux végétariens a montré après un suivi de 17 ans que la consommation régulière de fruits frais est associée à une réduction du risque de mortalité globale et spécifique par maladies cardiovasculaires et par attaques, respectivement de 21, 24 et 32 p. 100. Cet éventuel effet protecteur est attribué à la vitamine C apportée par les fruits mais aussi aux caroténoïdes.

Les principales études de cohortes décrites tableau 3 et portant sur le statut en vitamine C évalué par les apports alimentaires ou les concentrations plasmatiques ne sont pas en faveur d'un effet protecteur de l'acide ascorbique vis-à-vis du risque de pathologies cardiovasculaires. Les 2 études montrant une réduction significative de l'incidence de la mortalité générale (Enstrom *et al.*, 1992) ou spécifique par coronaropathies chez les femmes (Knekt *et al.*, 1994) n'ont pas tenu compte dans leurs analyses des apports en vitamine E, ceux-ci étant souvent corrélés aux apports en vitamine C.

Une des deux études conduisant à des résultats significatifs, en tenant compte des autres facteurs de risque, a été menée sur un échantillon de 730 hommes et femmes âgés de plus de 65 ans suivi pendant 20 ans (Gale *et al.*, 1995). Dans ce travail, le risque de décès par attaques est diminué de moitié pour les individus qui consommaient plus de 45 mg de vitamine C par jour par rapport à ceux qui consommaient moins de 28 mg ; cependant, il n'a pas été montré de relation avec le risque de mortalité par coronaropathies. Tout dernièrement l'étude finlandaise de l'équipe de Salonen (Nyyssönen *et al.*, 1997) a conclu, après un suivi de 5 ans, que la déficience en vitamine C évaluée par un taux bas d'acide ascorbique dans le plasma était un facteur de risque cardiovasculaire.

Il n'existe pas d'étude cas-témoins issue de cohorte dans le domaine de la vitamine C, l'acide ascorbique n'étant pas stable à long terme dans les prélèvements biologiques (Comstock *et al.*, 1993).

4.2.4. Flavonoïdes

Depuis quelques années une autres familles de substances anti-oxydantes est suspectée d'avoir des propriétés protectrices vis-à-vis du risque de maladie cardiovasculaire. Par exemple, l'étude de Zutphen (Pays Bas) a montré sur 15 ans de suivi une association inverse entre les apports en flavonoïdes et l'incidence de l'attaque (Keli *et al.*, 1996) ; les hommes ayant des apports en flavonoïdes élevés ont un risque d'attaque 73 p. 100 plus faible que ceux ayant des apports bas, RR = 0,27 (0,11-0,70). Les apports en β-carotène sont associés également à un risque d'attaque plus faible, indépendamment des apports en flavonoïdes mais le risque relatif n'est pas significatif, RR = 0,54 (0,22-1,33). En revanche, le statut en vitamine E et C n'est pas lié à l'incidence de l'attaque dans cette étude.

Dans cette étude, le thé noir est la source la plus abondante de flavonoïdes (70 p. 100 sont apportés par le thé) et le risque d'attaque est inversement corrélé à la consommation de cette boisson. Mais le problème est plus complexe : le thé contient, en plus des flavonoïdes, des substances anti-oxydantes qui pourraient expliquer l'effet protecteur de sa consommation comme les catéchines, les gallates d'épicatechines et les gallates épigallocatéchines (Graham, 1992).

Toujours aux Pays-Bas, chez la personne âgée, les apports en flavonoïdes semblent également avoir un effet protecteur sur l'incidence des cardiopathies ischémiques (Hertog *et al.*, 1993). Ceci a été observé dans l'étude des Sept Pays dans laquelle les apports moyens en flavonoïdes des 16 cohortes sont corrélés négativement avec la mortalité par cardiopathies ischémiques (Hertog *et al.*, 1995).

4.3. Essais randomisés de prévention

Les études d'observation, même si elles prennent en compte la plupart du temps les facteurs de risque cardiovasculaire, comportent des biais liés aux comportements de santé associés aux prise alimentaires et à la consommation de suppléments. Seules les études randomisés en double aveugle portant sur des échantillons de taille importante permettent d'estimer, avec un minimum de biais, l'efficacité d'une supplémen-

tation vitaminique dans la prévention des maladies cardiovasculaires. Dans la littérature les premiers grands essais de ce type ont été mis en place avec l'objectif principal de quantifier l'efficacité de la supplémentation sur le risque de cancer ; cependant, le recueil de données suffisamment large a permis d'étendre l'analyse à la mortalité totale et spécifique par maladie cardiovasculaire. Sur les 12 études de plus de 1 000 sujets actuellement référencées, 6 seulement ont été conduites à leur terme et ont été publiées *(Tableau 4)* (Jha *et al.*, 1995). Ces essais se sont adressés à des échantillons de grande taille issus de populations très différentes : fumeurs (ATBC et CARET), travailleurs exposés à l'amiante (CARET), population de la province du Linxian (région de Chine où les apports alimentaires en micronutriments sont limités), médecins américains (PHS), patients atteints de cancer de la peau (SCPS) ou atteints d'athérosclérose coronarienne (CHAOS). Excepté pour l'étude CHAOS, les doses journalières de vitamine E (entre 30 et 50 mg) et de β-carotène (entre 15 et 50 mg) ont fait augmenter la concentration plasmatique de chacun de ces anti-oxydants respectivement de 1,4 à 2 fois et de 8 à 15 fois.

4.3.1. Vitamine E

En ce qui concerne la vitamine E, la première étude en population générale a testé une combinaison de vitamine E, β-carotène et sélénium sur un échantillon issu d'une province de Chine où les apports alimentaires en anti-oxydants sont bien inférieurs à ceux que l'on observe dans les pays occidentaux (Blot *et al.*, 1993). La réduction de la mortalité de 9 p. 100, observée après 5 années de suivi chez les sujets prenant le supplément, est principalement due à la régression des cancers de l'estomac. Dans cette même étude, on observe une tendance non significative de la réduction de la mortalité par maladies cérébrovasculaires (RR = 0,90 : IC = 0,76-1,07) mais qui ne peut être attribuée à aucun des composants en particulier. Les résultats de l'essai ATBC portant sur 1 700 décès par maladies cardiovasculaires sont en contradiction avec les données des études épidémiologiques prospectives. Le seul résultat positif, qualifié par les auteurs de l'étude de « *effect small and hardly of public health significance* », porte sur la réduction de l'incidence de l'angine de poitrine dans le groupe prenant 50 mg/jour de vitamine E (RR = 0,91 : IC = 0,83-0,99) (Rapola *et al.*, 1996).

Parmi les essais de prévention secondaire, portant sur des patients déjà porteurs d'affections cardiovasculaires, l'étude CHAOS publiée très récemment (Stephens *et al.*, 1996), a montré que le risque d'infarctus secondaires sans décès était diminué de 75 p. 100 environ après un an et demi de traitement par des doses importantes de vitamine E (400 à 800 mg/jour). Cependant la mortalité cardiovasculaire n'est pas significativement modifiée par le traitement (18 p. 100 d'augmentation dans le groupe prenant de la vitamine E). Ces résultats ont été remis en cause en particulier du fait de problèmes méthodologiques de suivi non systématique des patients ne permettant pas de comptabiliser les infarctus silencieux et de la compliance au traitement trop faible, environ 50 p. 100 (Ogunyankin, 1996). Les autres essais de prévention secondaire portent sur des effectifs beaucoup plus faibles et des durées plus courtes. Deux essais cliniques rigoureux, mais plus anciens, portant sur le traitement de l'angine de poitrine par la vitamine E, sur des périodes de 9 semaines et 6 mois, n'ont pas montré de résultats concluants tant sur l'amélioration des symptômes de la maladie que sur la récupération des capacités à l'effort (Anderson, 1974 ; Gililan *et al.*, 1977). Enfin un essai portant sur 100 patients ayant subi une angioplastie transluminale percutanée a montré une réduction du risque relatif de 46 p. 100 (cependant non significative $p \leq 0,06$) de resténose coronarienne après un traitement en double aveugle par 1 200 mg/jour de vitamine E pendant 4 mois (DeMaio SJ *et al.*, 1992).

4.3.2. β-carotène

En ce qui concerne le β-carotène, aucune des études citées tableau 4 ne démontre l'effet préventif d'une supplémentation sur la mortalité globale ou spécifique par maladies cardiovasculaires. De plus, dans deux études (ATBC, CARET) on observe une augmentation significative de la mortalité globale dans le groupe prenant du β-carotène et dans l'étude CARET, la mortalité spécifique cardiovasculaire est significativement plus élevées. Dans l'étude PHS, l'effet bénéfique à la prise de β-carotène sur l'incidence des maladies cardiovasculaires à 5 ans, mise en évidence lors de l'analyse préliminaire d'un sous-échantillon de sujets atteints d'angine de poitrine (Gaziano *et al.*, 1990), n'a pas été confirmé après 10 ans de suivi sur l'échantillon global.

4.3.3. Commentaires : les doutes de la communauté scientifique

Au vu de ces derniers résultats, totalement en contradiction avec les conclusions des études de cohorte présentées et discutées précédemment, la communauté scientifique est restée sur une impression de doute et diverses hypothèses d'explication ont étayé les nombreux éditoriaux qui ont suivi chaque nouvelle publication négative (Hankinson et Stampfer, 1994 ; Greenberg et Sporn, 1996 ; Hennekens *et al.*, 1994). En général, toutes ces études ont été menées dans les règles de l'art et les résultats qui en sont issus ne sont jamais remis en question pour des raisons méthodologiques ou de puissance statistique. Les principales causes de ces résultats discordants entre les études de cohorte et les essais d'intervention peuvent être résumées ainsi, que ce soit dans le domaine des maladies cardiovasculaires ou du cancer :

– le bénéfice d'une supplémentation en vitamine E et/ou en β-carotène ne serait effectif et mesurable qu'après une très longue durée de prise et de suivi, plus de 5 à 10 ans ;

– l'effet bénéfique serait trop faible pour être mis en évidence avec les effectifs de taille moyenne ;

– l'effet des anti-oxydants à court terme ne serait mesurable que sur les stades précoces du développement de l'athérosclérose comme dans le cas des expérimentations chez l'animal ; les nouveaux essais de prévention sur l'homme devraient utiliser des critères d'efficacité plus fins comme l'épaisseur intima-media des artères carotides (Steinberg, 1995) ;

– les deux micronutriments « vedettes » ne seraient que des marqueurs de comportement alimentaire et de mode de vie, d'autres facteurs ou d'autres anti-oxydants de l'alimentation seraient responsable de l'effet protecteur vis-à-vis des maladies cardiovasculaires mais aussi du cancer ;

– le dosage des suppléments ne serait pas adapté à la prévention des maladies chroniques, mais là les avis sont très divergeants : d'un côté les doses paraissent trop faibles, de l'autre, elles sont trop élevées, entraînant un excès de mortalité dans le groupe traité et l'arrêt des essais concernant le β-carotène et la vitamine A ;

– le β-carotène et la vitamine A auraient dans certains cas des effets inverses à ceux escomptés, en particulier chez les fumeurs ou les personnes exposées à l'amiante. Le β-carotène dans certaines conditions de tension d'oxygène et de concentration élevée peut avoir des effets pro-oxydants et générer des radicaux libres (Burton et Ingold, 1984 ; Yamauchi *et al.*, 1995). La vitamine A pourrait avoir une action délétère sur les cellules épithéliales déjà altérées par les carcinogènes. Ces mécanismes ont été surtout mis en cause pour expliquer l'excès de mortalité dans les études ATBC et CARET.

Les résultats des essais de prévention publiés dans les toutes dernières années sont en défaveur de la supplémentation en β-carotène, vitamine A et α-tocophérol ; en

particulier, il n'est pas recommandé pour les fumeurs et les individus exposés au produits carcinogènes d'utiliser des suppléments à base de β-carotène et/ou de vitamine A. L'arrêt du tabagisme et une consommation accrue de fruits et légumes et de céréales – permettant de diminuer les apports en lipides, en particulier saturés, et d'augmenter les apports en vitamines, sélénium et fibres et en autres substances à effet anti-oxydant et anticarcinogène potentiel – reste encore la mesure préventive recommandée et la moins à risque. Cependant, les programmes de promotion de la santé centrés sur la modification du comportement alimentaire devront, eux aussi, apporter la preuve de leur efficacité.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abbey M, Nestel PJ, Baghurst PA (1993). Antioxidant vitamins and low-density-lipoprotein oxidation. *Am J Clin Nutr*, **58** : 525-532.

Anderson TW (1974). Vitamin E in angina pectoris. *Can Med Assoc J*, **110** : 401-406.

Azen SP, Qian D, Mack J *et al.* (1996). Effect of supplementary antioxidant vitamin intake on carotid arterial wall intima-media thickness in a controlled clinical trial of cholesterol lowering. *Circulation*, **94** : 2369-2372.

Babiy AV, Gebicki JM, Sullivan DR (1990). Vitamin E content and low density lipoprotein oxidizability induced by free radicals. *Atherosclerosis*, **81** : 175-182.

Belizzi MC, Franklin MF, Duthie GG, James WPT (1994). Vitamin E and coronary heart disease : The European paradox. *Eur J Clin Nutr*, **48** : 822-831.

Blot WJ, Li JY, Taylor PR *et al.* (1993). Nutrition intervention trials in Linxian, China : supplementation with specific vitamin/mineral combinations, cancer incidence, and disease-specific mortality in the general population. *J Nat Cancer Inst*, **85** : 1483-1492.

Bonithon-Kopp C, Coudray C, Berr C *et al.* (1997). Combined effects of lipid peroxidation and antioxidant status on carotid atherosclerosis in a population aged 59-71 y : The EVA Study. *Am J Clin Nutr*, **65** : 211-127.

Boscoboinik D, Szewczyke A, Hensey G, Azzi A (1991). Inhibition of cell proliferation by α-tocopherol. *J Clin Invest*, **98** : 386-394.

Bowry VW, Mohr D, Cleaery J, Stocker R (1995). Prevention of tocopherol-mediated peroxidation in ubiquinol-10- free human low density lipoprotein. *J Biol Chem*, **170** : 5756-5763.

Brown AJ, Fragoso YD (1994). Tocopherols and carotenes are differently distributed in subfractions of high-density lipoprotein. *Biochim Biophys Acta*, **1210** : 373-376.

Buring JE, Hennekens CH (1992). The Women's Health Study : summary of the study design. *Journal of Myocardial Ischemia*, **4** : 27-29.

Burton GW, Ingold KU (1984). β-carotene : an unusual type of lipid antioxidant. *Science*, **224** : 569-573.

Carpenter KLH, Van der Veen C, Hird R *et al.* (1997). The carotenoids β-carotene, cantaxanthin and zeaxanthin inhibit macrophage-mediated LDL oxidation. *FEBS Letters*, **401** : 262-266.

Chan AC (1993). Partners in defence, vitamin E and vitamin C. *Can J Physiol Pharmacol*, **71** : 725-731.

Clevidence BA, Lehmann J (1989). Alpha and gamma-tocopherol levels in lipoproteins fractionated by affinity chromatography. *Lipids*, **24** : 137-143.

Cominacini L, Garbin U, Cenci B *et al.* (1991). Predisposition to LDL oxidation during copper-catalysed oxidative modification and its relation to α-tocopherol content in humans. *Clin Chim Acta*, **204** : 57-68.

Comstock GW, Alberg AJ, Helzlsouer KJ (1993). Reported effects of long-term freezer storage on concentrations of retinol, beta-carotene, and alpha-tocopherol in serum or plasma summarised. *Clin Chem*, **39** : 1075-1078.

Croft KD, Williams P, Dimmitt S *et al.* (1995). Oxidation of low-density lipoproteins : effects of antioxidant-content, fatty acid composition and intrinsic phospholipase activity on susceptibility to metal, ion-induced oxidation. *Biochim Biophys Acta*, **1254** : 250-256.

Dedwania PC, Yi-Ping S, Bo-Qing Z *et al.* (1994). Effect of antioxidant vitamins E and C on atherosclerosis in lipid-fed rabbits. *Atherosclerosis*, **109** : 53.

DeMaio SJ, King SB, Lembo NJ *et al.* (1992). Vitamin E supplementation, plasma lipids and incidence of restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty (PTCA). *J Am Coll Nutr*, **11** : 68-73.

Dieber-Rotheneder M, Puhl H, Wäg G *et al.* (1991). Effect of oral supplementation with D-α-tocopherol on the vitamin E content of human low density lipoproteins and resistance to oxidation. *J Lipid Res*, **32** : 1325-1332.

Donnan PT, Thomson M, Fowkes GR *et al.* (1993). Diet as a risk factor for peripherical arterial disease in the general population : The Edinburgh Artery Study. *Am J Clin Nutr*, **57** : 917-921.

Elinder LS, Walldius G (1994). Antioxidants and atherosclerosis progression : Unresolved questions. *Curr Opin Lipidol*, **5** : 265-268.

Enstrom JE, Kanim LE, Breslow L (1986). The relationship between vitamin C intake, general health practices, and mortality in Alameda County, California. *Am J Public Health*, **76** : 1124-1130.

Enstrom JE, Kanim LE, Klein MA (1992). Vitamin C intake and mortality among a sample of the United States population. *Epidemiology*, **3** : 194-202.

Esterbauer H, Dieber-Rotheneder M, Wäg G *et al.* (1990). Biochemical, structural, and functional properties of oxidized low-density lipoprotein. *Chem Res Toxicol*, **3** : 77-92.

Esterbauer H, Puhl H, Dieber-Rotheneder M *et al.* (1991). Effect of antioxidants on oxidative modification of LDL. *Ann Med*, **23** : 573-581.

Esterbauer H, Striegl G, Puhl H, Rotheneder M (1989). Continuous monitoring of *in vitro* oxidation of human LDL. *Free Rad Res Comms*, **6** : 67-75.

Esterbauer H, Wäg G, Puhl H (1993). Lipid peroxidation and its rôle in atherosclerosis. *Br Med Bull*, **49** : 566-576.

Fuller CJ, Grundy SM, Norkus EP, Jialal I (1996). Effect of ascorbate supplementation on low density lipoprotein oxidation in smokers. *Atherosclerosis*, **119** : 139-150.

Gale CR, Martyn CN, Winter PD, Cooper C (1995). Vitamin C and risk of death from stroke and coronary heart disease in cohort of elderly people. *BMJ*, **310** : 1563-1566.

Garner B, Jessup W (1996). Cell-mediated oxidation of low-density lipoprotein : the elusive mechanism(s). *Redox Report*, **2** : 97-104.

Gaziano JM, Hennekens CH (1992). Vitamin antioxidants and cardiovascular disease. *Curr Opin Cardiol*, **3** : 291-294.

Gaziano JM, Manson JE, Branch LG *et al.* (1995). A prospective study of consumption of carotenoids in fruits and vegetables and decreased cardiovascular mortality in the elderly. *Ann Epidemiol*, **5** : 255-260.

Gaziano JM, Manson JE, Ridker PM *et al.* (1990). Beta carotene therapy for chronic stable angina. *Circulation*, **82-III** : 201.

Gey KF (1995). Ten-year retrospective on antioxidant hypothesis of arteriosclerosis : Threshold plasma levels of antioxidant micronutrients related to minimum cardiovascular risk. *J Nutr Biochem*, **6** : 206-236.

Gey KF, Moser UK, Jordan P *et al.* (1993). Increased risk of cardiovascular disease at suboptimal plasma concentrations of essential antioxidants : An epidemiological update with special attention to carotene and vitamin C. *Am J Clin Nutr*, **57** (Suppl 5) : 787S-797S.

Gey KF, Puska P, Jordan P, Moser UK (1991). Inverse correlation between plasma vitamin E and mortality from ischemic heart disease in cross-sectional epidemiology. *Am J Clin Nutr*, **53** (suppl 1) : 326S-334S.

Gey KF, Stähelin HB, Eichholzer M (1993). Poor plasma status of carotene and vitamin C is associated with higher mortality from ischemic heart disease and stroke : Basel Prospective Study. *Clin Invest*, **71** : 3-6.

Gililan RE, Mondell B, Warbasse JR (1977). Quantitative evaluation of vitamin E in the treatment of angina pectoris. *Am Heart J*, **93** : 444-449.

Graham HN (1992). Green tea composition, consumption and polyphenol chemistry. *Prev Med*, **21** : 334-350.

Greenberg ER, Baron JA, Karagas MR *et al.* (1996). Mortality associated with low plasma concentration of beta-carotene and the effect of oral supplementation. *JAMA*, **275** : 699-703.

Greenberg ER, Sporn MB (1996). Antioxidant vitamins, cancer, and cardiovascular disease. *N Engl J Med*, **334** : 1189-1190.

Hankinson SE, Stampfer MJ (1994). All that glitters is not beta-carotene. *JAMA*, **272** : 1455-1456.

Hennekens CH, Buring JE, Manson JE *et al.* (1996). Lack of effect of long-term supplementation with beta carotene on the

incidence of malignant neoplasms and cardiovascular disease. *N Engl J Med*, **334** : 1145-1149.

Hennekens CH, Buring JE, Peto R (1994). Antioxidant vitamins-benefits not yet proved. *N Engl J Med*, **330** : 1080-1081.

Hennig B, Toborek M, Mc Clain CJ, Diana JN (1996). Nutritional implications in vascular endothelial cell metabolism. *J Am Coll Nutr*, **15** : 345-358.

Hensrud DD, Heimburger DC, Chen J, Parpia B (1994). Antioxidant status, erythrocyte fatty acids, and mortality from cardiovascular disease and Keshan disease in China. *Europ J Clin Nutr*, **48** : 455-464.

Hercberg S, Galan P, Preziosi *et al.* (1997). Background and rationale of the SU.VI.MAX Study, prevention trial of nutritional doses of a combination of antioxidant vitamins and minerals, on cardiovascular diseases and cancers. *Intern J Vit Nutr Res*, **67** : (sous presse).

Hertog MGL, Feskens EJM, Hollman PCH *et al.* (1993). Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease. The Zutphen Elderly Study. *Lancet*, **342** : 1007-1011.

Hertog MGL, Kromhout D, Aravanis C *et al.* (1995). Dietary flavonoids and long-term risk of coronary heart disease and cancer mortality in the Seven Countries Study. *Arch Intern Med*, **155** : 381-386.

Hodis HN, Mack WJ, LaBree L *et al.* (1995). Serial coronary angiographic evidence that antioxidant vitamin intake reduces progression of coronary artery atherosclerosis. *JAMA*, **273** : 1849-1854

Hoffman RM, Garewal HS (1995). Antioxidants and the prevention of coronary heart disease. *Arch Intern Med*, **55** : 241-246.

Janero DR (1991). Therapeutic potential of vitamin E in the pathogenesis of spontaneous atherosclerosis. *Free Rad Biol Med*, **11** : 129-144.

Jessup W, Rankin SM, De Whalley CV *et al.* (1990). α-tocopherol consumption during low-density lipoprotein oxidation. *Biochem J*, **265** : 399-405.

Jha P, Flather M, Lonn E *et al.* (1995). The antioxidant vitamins and cardiovascular disease : A critical review of epidemiologic and clinical trial data. *Ann Intern Med*, **123** : 860-872.

Jialal I, Vega GL, Grundy SM (1990). Physiologic levels of ascorbate inhibit the oxidative modification of low density lipoprotein. *Atherosclerosis*, **82** : 185-191.

Johnson EJ, Russel RM (1992). Distribution of orally administered beta-carotene among lipoproteins in healthy men. *Am J Clin Nutr*, **56** : 128-135.

Kardinaal AFM, Aro A, Kark JD *et al.* (1995). Association between β-carotene and acute myocardial infarction depends on polyunsaturated fatty acid status : The EURAMIC study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **15** : 726-732.

Kardinaal AFM, Kok FJ, Ringstad J *et al.* (1993). Antioxidants in adipose tissue and risk of myocardial infarction : The EURAMIC study. *Lancet*, **342** : 1379-1384.

Kayden HJ, Traber MG (1993). Absorption, lipoprotein transport, and regulation of plasma concentrations of vitamin E in humans. *J Lipid Res*, **34** : 343-358.

Keaney JF, Guo Y, Cunningham D *et al.* (1996). Vascular incorporation of α-tocopherol prevents endothelial dysfunction due to oxidized LDL by inhibiting protein kinase C stimulation. *J Clin Invest*, **98** : 386-394.

Keli SO, Hertog MGL, Feskens EJM, Kromhout D (1996). Dietary flavonoids, antioxidant vitamins, and incidence of stroke. The Zutphen Study. *Arch Intern Med*, **156** : 637-642.

Key TJA, Thorogood M, Appleby PN, Burr ML (1996). Dietary habits and mortality in 11 000 vegetarians and health conscious people : Results of a 17-year follow up. *BMJ*, **313** : 775-779.

Kleinveld HA, Hak-Lemmers HL, Hectors MP *et al.* (1994). Antioxidant intervention alone does not attenuate the progression of atherosclerosis in Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. *Atherosclerosis*, **109** : 54.

Kleinveld HA, Naber AH, Stalenhoef AF, Demacker PN (1993). Oxidation resistance, oxidation rate, and extent of oxidation of human low-density lipoprotein dependent on the ratio of oleic acid content to linoleic acid content : studies in vitamin E deficient subjects. *Free Rad Biol Med*, **15** : 273-280.

Knekt P, Reunanen A, Jarvinen R *et al.* (1994). Antioxidant vitamin intake and coronary mortality in a longitudinal population study. *Am J Epidemiol*, **139** : 1180-1190.

Kok FJ, de Bruijn AM, Vermeeren R *et al.* (1987). Serum selenium, vitamin antioxidants and cardiovascular mortality : A 9-year follow-up study in the Netherlands. *Am J Clin Nutr*, **45** : 462-468.

Komarat P, Chupukcharsen N, Wilairat P (1985). Effect of vitamin E on cholesterol

plasma lipoprotein distribution and metabolism in rabbit. *Int J Vit Nutr Res*, **55** : 167-171.

Kritchevsky SB, Shimakawa T, Tell GS *et al.* (1995). Dietary antioxidants and carotid artery wall thickness. The ARIC Study. Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Circulation*, **92** : 2142-2150.

Kushi LH, Folsom AR, Prineas RJ *et al.* (1996). Dietary antioxidant vitamins and death from coronary heart disease in postmenopausal women. *N Engl J Med*, **334** : 1156-1162.

Lapidus L, Andersson H, Bengtsson C, Bosaeus I (1986). Dietary habits in relation to incidence of cardiovascular disease and death in women : A 12-year follow-up of participants in the population study of women in Gothenburg, Sweden. *Am J Clin Nutr*, **44** : 444-445.

Levy Y, Kaplan M, Ben-Amotz A, Aviram M (1996). Effect of dietary supplementation of β-carotene on human monocyte-macrophage-mediated oxidation of low density lipoprotein. *Int J Med Sci*, **32** : 473-478.

Losonczy KG, Harris TB, Havlik RJ (1996). Vitamin E and vitamin C supplement use and the risk of all-cause and coronary heart disease mortality in older persons : the Established Populations for Epidemiologic Studies of the Elderly. *Am J Clin Nutr*, **64** : 190-196.

Maiorino M, Zamburlini A, Roveri A, Ursini F (1995). Copper-induced lipid peroxidation in liposomes, micelles, and LDL : which is the rôle of vitamin E ? *Free Rad Biol Med*, **18** : 67-74.

Manson JE, Gaziano JM, Jonas MA, Hennekens CH (1993). Antioxidants and cardiovascular disease : A review. *J Am Coll Nutr*, **12** : 426-432.

Manson JE, Gaziano JM, Spelsberg A *et al.* (1995). A secondary prevention trial of antioxidant vitamins and cardiovascular disease in women : Rationale, design, and methods. The WACS Research Group. *Ann Epidemiol*, **5** : 261-269.

Martin A, Foxall T, Blumberg JB, Meydani M (1997). Vitamin E inhibits low-density lipoprotein-induced adhesion of monocytes to human aortic endothelial cells *in vitro*. *Arterioscl Thromb Vasc Biol*, **17** : 429-436.

Mazzone T, Lopez C, Bergsträsser L (1987). Modification of very low density lipoproteins leads to macrophage scavenger receptor uptake and cholesteryl ester deposition. *Arteriosclerosis*, **7** : 191-196.

Meydani M (1995). Vitamin E. *Lancet*, **345** : 170-175.

Miller NJ, Paganga G, Wiseman S *et al.* (1995). Total antioxidant activity of low density lipoproteins and the relationship with α-tocopherol status. *FEBS Letters*, **365** : 164-166.

Morris DL, Kritchevsky SB, Davis CE (1994). Serum carotenoids and coronary heart disease. The Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial and Follow-up Study. *JAMA*, **272** : 1439-1441.

Mortensen A, Skibsted (1996). Kinetics of parallel electron transfer from beta-carotene to phenoxyl radical and adduct formation between phenoxyl radical and beta-carotene. *Free Rad Res*, **25** : 515-523.

Nagano Y, Arai H, Kita T (1991). High density lipoprotein loses its effect to stimulate efflux of cholesterol from foam cells after oxidative modification. *Proc Natl Acad Sci, USA*, **88** : 6457-6461.

Ness AR, Powles JW (1997). Fruit and vegetables, and cardiovascular disease : A review. *Int J Epidem*, **26** : 1-13.

Nyyssönen K, Parviainen MT, Salonen R *et al.* (1997). Vitamin C deficiency and risk of myocardial infarction : prospective population study of men from eastern Finland. *BMJ*, **314** : 634-638.

Ogunyankin K (1996). Vitamin E and coronary heart disease. *Lancet*, **347** : 1689.

Ojima F, Sakamoto H, Ishiguro Y, Terao J (1993). Consumption of carotenoids in photosensitized oxidation of human plasma and plasma low-density lipoprotein. *Free Rad Biol Med*, **15** : 377-384.

Omenn GS, Goodman GE, Thornquist MD *et al.* (1996). Effects of a combination of beta-carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. *N Engl J Med*, **334** : 1150-1155.

Oshima S, Ojima F, Sakamoto H *et al.* (1996). Supplementation with carotenoids inhibits singulet oxygen-mediated oxidation of human plasma low density. *J Agric Food Chem*, **44** : 2306-2309.

Packer JE, Slater TF, Willson RL (1979). Direct observation of a free radical interaction between vitamin E and vitamin C. *Nature*, **278** : 737-738.

Palozza P, Krinsky NI (1992). β-carotene and α-tocopherol are synergistic antioxidants. *Arch Biochem Biophys*, **297** : 184-187.

Parthasarathy S, Quinn MT, Schwenke DC *et al.* (1989). Oxidative modification of beta-very low-density lipoprotein. Poten-

tial role in monocyte recruitment and foam cell formation. *Arterosclerosis*, **9** : 398-404.

Prasad K, Kabia J (1993). Oxygen free radicals and hypercholesterolemic atherosclerosis : effects of vitamin E. *Am Heart J*, **125** : 958-973.

Rapola JM, Virtamo J, Haukka JK *et al.* (1996). Effect of vitamin E and beta-carotene on the incidence of angina pectoris. A randomized, double-blind, controlled trial. *JAMA*, **275** : 693-698.

Reaven P, Khow A, Beltz WF *et al.* (1993). Effect of dietary antioxidant combinations in humans. Protection of LDL by vitamin E but not by beta-carotene. *Arterioscler Thromb*, **13** : 590-600.

Reaven P, Witztum JL (1995). The role of oxidation of LDL in atherogenesis. *Endocrinologist*, **5** : 44-54.

Reaven PD, Ferguson E, Navab M, Powell FL (1994). Susceptibility of human LDL to oxidative modification. Effects of variation in β-carotene concentration and oxygen tension. *Arterioscl Thromb*, **14** : 1162-1169.

Regnström J, Nilsson J, Moldeus K et al. (1996). Inverse relation between the concentration of low-density-lipoprotein vitamin E and severity of coronary artery disease. *Am J Clin Nutr*, **63** : 377-385.

Regnström J, Nilsson J, Tornvall P. *et al.* (1992). Susceptibility to low-density lipoprotein oxidation and coronary atherosclerosis in man. *Lancet*, **339** : 1183-1186.

Retsky KL, Frei B (1995). Vitamin C prevents metal ion-dependent initiation and propagation of lipid peroxidation in human low-density lipoprotein. *Biochim Biophys Acta*, **1257** : 219-286.

Riemersma RA, Wood DA, MacIntyre CC *et al.* (1991). Risk of angina pectoris and plasma concentrations of vitamins A, C, and E and carotene. *Lancet*, **337** : 1-5.

Rifici VA, Khachadurian AK (1993). Dietary supplementation with vitamins C and E inhibits *in vitro* oxidation of lipoproteins. *J Am Coll Nutr*, **12** : 631-636.

Rimm EB, Stampfer MJ, Ascherio A *et al.* (1993). Vitamin E consumption and the risk of coronary heart disease in men. *N Engl J Med*, **328** : 1450-1456.

Salonen JT, Salonen R, Penttila *et al.* (1985). Serum fatty acids, apolipoproteins, selenium and vitamin antioxidants and the risk of death from coronary artery disease. *Am J Cardiol*, **56** : 226-231.

Sevanian A, Davies KJA, Hochstern P (1991). Serum urate as an antioxidant for ascorbic acid. *Am J Clin Nutr*, **54** : 1129S-1134S.

Sies H, Stahl W, Sundquist AR (1992). Antioxidant functions of vitamins. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids. *Ann NY Acad Sci*, **669** : 7-20.

Simon JA (1992). Vitamin C and cardiovascular disease : a review. *J Am Coll Nutr*, **118** : 107-125.

Simons LA, Von Konigsmark M, Balasubramaniam S (1996). What dose of vitamin E is required to reduce susceptibility of LDL to oxidation ? *Aust NZ J Med*, **26** : 496-503.

Stait SE, Leake DS (1996). The effects of ascorbate and dehydroascorbate on the oxidation of low density lipoprotein. *Biochem J*, **320** : 373-381.

Stampfer MJ, Hennekens CH, Manson JE *et al.* (1993). Vitamin E consumption and the risk of coronary disease in women. *N Engl J Med*, **328** : 1444-1449.

Steinberg D (1995). Clinical trials of antioxidants in atherosclerosis : Are we doing the right thing ? *Lancet*, **346** : 36-38.

Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE *et al.* (1989). Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med*, **320** : 915-924.

Stephens NG, Parsons A, Schofield PM *et al.* (1996). Randomised controlled trial of vitamin E in patients with coronary disease. Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS). *Lancet*, **374** : 781-786.

Stoyanovsky DA, Osipav AN, Quinn PJ, Kagan VE (1995). Ubiquinone-dependent recycling of vitamin E radicals by superoxide. *Arch Biochem Biophys*, **323** : 343-351.

Street DA, Comstock GW, Salkeld RM *et al.* (1991). A population-based case-control study of the association of serum antioxidants and myocardial infarction. *Am J Epidemiol*, **134** : 719-720.

Suzukawa M, Abbey M, Clifton P, Nestel PJ (1994). Effect of supplementing with vitamin E on the uptake of low density lipoprotein and the stimulation of cholesteryl ester formation in macrophages. *Atherosclerosis*, **110** : 77-86.

The Alpha-Tocopherol, Beta Carotene Cancer Prevention Study Group (1994). The effect of vitamin E and beta-carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. *N Engl J Med 1994*, **330** : 1029-1035.

Thomas SR, Neuzil J, Mohr D, Stocker R (1995). Co-antioxidants make alpha-toco-

pherol an efficient antioxidant for low-density lipoprotein. *Am J Clin Nutr*, 62 (suppl) : 1357S-1364S.

Todd S, Woodmard M, Bolton-Smith C (1995). An investigation of the relationship between antioxidant vitamin intake and coronary heart disease in men and women using logistic regression analysis. *J Clin Epidemiol*, **48** : 307-316.

Traber MG, Diamond SR, Lane JC *et al.* (1994). Beta-carotene transport in human lipoproteins. Comparisons with alpha-tocopherol. *Lipids*, **29** : 665-669.

Verlangieri AJ, Bush MJ (1992). Effects of d-α-tocopherol supplementation on experimentally induced primate atherosclerosis. *J Am Coll Nutr*, **11** : 131-139.

Wagner JR, Motchnik PA, Stocker R *et al.* (1993). The oxidation of blood plasma and low density lipoprotein components by chemically generated singlet oxygen. *J Biol Chem*, **25** : 18502-18506.

Waldeck AR, Stocker R (1996). Radical-initiated lipid peroxidation in low density lipoproteins : insights obtained from kinetic modelling. *Chem Res Toxicol*, **9** : 954-964.

Williams RJ, Motteram JM, Sharp CH, Gallagher PJ (1992). Dietary vitamin E and the attenuation of early lesion development in modified Watanabe rabbits. *Atherosclerosis*, **94** : 153-159.

Willingham AK, Bolanos C, Bohannan E, Cenedella RJ (1993). The effects of high levels of vitamin E on the progression of atherosclerosis in the Watanabe heritable hyperlipemic rabbit. *J Nutr Biochem*, **4** : 651-654.

Wiseman SA, Van Den Boom MAP, De Fouw NJ *et al.* (1995). Comparison of the effects of dietary vitamin E on *in vivo* and *in vitro* parameters of lipid peroxidation in the rabbit. *Free Rad Biol Med*, **19** : 617-626.

Yamauchi R, Miyake N, Inoue H, Kato K (1995). Products formed by peroxyl radical oxidation of β-carotene. *J Agric Food Chem*, **41** : 708-713.

"ESVITAF". Vitamin status in three groups of French adults. Controls, obese subjects, alcohol drinkers

Lemoine A, Le Devehat C, Herbeth B, Bourgeay-Causse M, Delacoux E, Mareschi JP, Martin J, Miravet L, Potier de Courcy G, Zittoun J

Ann Nutr Metab 1986;30(suppl 1):1-94

Dans les années 80, en France, les données sur le statut vitaminique étaient très parcellaires. ESVITAF est la première étude multicentrique, portant sur un nombre important de sujets, initiée et conduite dans le but :

- De déterminer les valeurs fréquentes des techniques d'évaluation du statut vitaminique employées dans une population présentant un risque de déficience a priori très bas. A cet effet, un groupe de sujets a été sélectionné selon des critères rigoureux de bonne santé et d'hygiène (groupe témoin).
- D'étudier en parallèle deux groupes d'individus susceptibles de présenter plus de déficits vitaminiques que la population générale : des individus de poids excessif sans autre maladie nutritionnelle et non soumis à un régime, des buveurs excessifs, en bonne santé, non alcoolo-dépendants.

Un échantillon de 710 individus (396 hommes et 314 femmes) de 18 à 44 ans a été recruté dans le cadre des centres d'examen de santé de Vandoeuvre et Lyon et des consultations de médecine du travail à Nevers, Clichy et Meudon. Selon les objectifs de l'étude, 3 groupes ont été sélectionnés : 362 témoins, 158 obèses (indice pondéral > 1,16) et 190 buveurs excessifs (consommation d'alcool > 43 g/j pour les hommes et > 21 g/j pour les femmes). Pour chaque individu sélectionné dans l'enquête, des données socioprofessionnelles, physiques, diététiques et biologiques ont été recueillies. Les données alimentaires ont été obtenues à l'aide d'un semainier. Les paramètres biologiques comprenaient, entre autre, la concentration dans le plasma du rétinol, de l'α-tocophérol, du β-carotène, des folates et de la vitamine D ainsi que la concentration des folates dans les globules rouges et les activités érythrocytaires de la transcétolase et glutathion réductase (enzymes ayant respectivement la vitamine B1 et la vitamine B2 comme coenzyme).

L'enquête ESVITAF a permis de dégager un certain nombre de points importants et de définir quelques axes de recherche qui ont été suivis pour certains d'entre eux. Sur le plan des apports alimentaires, la situation des groupes étudiés paraît globalement satisfaisante, cependant quelques problèmes ont mis en évidence :

- La densité vitaminique des rations est globalement faible. Avec les aliments utilisés, l'apport vitaminique est bas pour des niveaux caloriques relativement importants. Cet apport peut devenir insuffisant en cas de régime hypocalorique, ce qui peut être le cas pour les obèses.
- Les apports moyens en certaines vitamines et notamment en folates sont beaucoup plus bas que les apports conseillés. Ceci pose le problème de la validité des tables de composition utilisées et éventuellement des apports conseillés pour ces vitamines.
- Parmi les sujets recrutés sur des critères de bonne santé, un certain nombre a des apports nutritionnels déséquilibrés et des apports vitaminiques qui ne permettent pas, sur des périodes prolongées, de maintenir des stocks corrects ou de répondre à un brusque accroissement des besoins.

Sur le plan biologique :

- On retrouve, dans tous les groupes étudiés et pour la plupart des vitamines, des valeurs considérées comme caractéristiques de déficiences vitaminiques.
- Pour certains indicateurs, la prévalence des niveaux intermédiaires correspondant à un risque de déficience à plus long terme est plus importante. Ces valeurs peuvent être interprétées comme liées à une insuffisance d'apports vitaminiques récents ou des réserves de l'organisme. Cette situation peut, en cas d'augmentation des besoins ou de diminution des apports, déboucher très vite sur une déficience vitaminique vraie.
- Pour certains groupes à risque, la situation est moins bonne que chez les témoins.

ESVITAF, sans donner une vision représentative de la population, a confirmé :

- Que comme dans d'autres pays industrialisés, il existait en France, en dehors de toute pathologie, des déficits vitaminiques.
- Que dans les groupes considérés, a priori, comme présentant un risque supplémentaire de déficience vitaminique, les sujets carencés sont plus nombreux.

En guise de conclusion, le collectif ESVITAF a proposé toute une série d'études à entreprendre :

- Validation, mise à jour et édition de tables de composition des aliments spécifiques à la France.
- Détermination du statut vitaminique dans d'autres tranches de population : prématurés et jeunes enfants, adolescents, femmes sous contraception orale, femmes enceintes, sujets âgées, personnes ayant une alimentation particulière.
- Etude de l'opportunité du renforcement de la ration en certaines vitamines et évaluation de telles mesures.

Plus de 10 ans après, à chacun d'apprécier le chemin qui a été parcouru dans le domaine de la vitaminologie.

E S V I T A F

Vitamin Status in Three Groups of French Adults

Controls, Obese Subjects, Alcohol Drinkers

Enquête sur le statut vitaminique de trois groupes d'adultes français

Témoins, obèses, buveurs excessifs

Rapporteurs · *Rapporteurs*
A. Lemoine[a], C. Le Devehat[a], B. Herbeth[b]

Coordinators · *Coordinateurs*
M. Bourgeay-Causse[c], E. Delacoux[d], J.P. Mareschi[e], J.Y. Martin[i], L. Miravet[f], G. Potier de Courcy[g], J. Zittoun[h]

[a] Centre Hospitalier de Nevers
[b] Centre de Médecine Préventive, Vandœuvre-lès-Nancy
[c] Institut Pasteur, Lyon
[d] Hôpital Beaujon, Clichy
[e] Société BSN, Paris
[f] Hôpital Lariboisière, Paris
[g] CNRS, Meudon Bellevue
[h] Hôpital Henri-Mondor, Paris
[i] Laboratoire de Statistique et d'Informatique Médicales, Vandœuvre-lès-Nancy, France

KARGER

Annals of Nutrition and Metabolism

Vol. 30, Supplement 1, 1986

S. Karger · Medical and Scientific Publishers
Basel · München · Paris · London · New York · New Delhi · Singapore · Tokyo · Sydney

Drug Dosage

The authors and the publisher have exerted every effort to ensure that drug selection and dosage set forth in this text are in accord with current recommendations and practice at the time of publication. However, in view of ongoing research, changes in government regulations, and the constant flow of information relating to drug therapy and drug reactions, the reader is urged to check the package insert for each drug for any change in indications and dosage and for added warnings and precautions. This is particularly important when the recommended agent is a new and/or infrequently employed drug.

All rights reserved.

No part of this publication may be translated into other languages, reproduced or utilized in any form or by any means, electronic or mechanical, including photocopying, recording, microcopying, or by any information storage and retrieval system, without permission in writing from the publisher or, in the case of photocopying, direct payment of a specified fee to the Copyright Clearance Center (see 'Information for Readers and Subscribers').

© Copyright 1986 by
S. Karger AG, P.O. Box, CH-4009 Basel (Switzerland)

Printed in Switzerland by Thür AG Offsetdruck, Pratteln
ISBN 3-8055-4244-5

Collaborating Institutes

Liste des organismes ayant collaboré à l'étude

Data Contribution · *Centres participant au recueil des données*

M. Dougny, M. Ramet, A. Bernadat, S. Diancourt, D. Patru, J. Dugougeat
Centre de Diabétologie
et des Maladies de la Nutrition
Centre Hospitalier de Nevers
F–58320 Pougues-les-Eaux (France)

P. Hernu, A. Bagrel, L. Didelot, G. Siest
Centre de Médecine Préventive
2, avenue Doyen-J.-Parisot
F–54500 Vandœuvre-lès-Nancy (France)

G. Carré-Guéry, M. Drai, M. Perrin
Institut Pasteur
77, rue Pasteur
F–69365 Lyon Cédex 2 (France)

J. Sancho, T. Evstigneef
Hôpital Beaujon, Laboratoire Central de Biochimie
100, boulevard du Général-Leclerc
F– 92110 Clichy (France)

Société BSN
7, rue de Téhéran
F–75008 Paris (France)

Hôpital Lariboisière, Rhumatologie – INSERM U-18
6, rue Guy-Patin
F–75010 Paris (France)

J.P. Christides
Centre de Recherches sur la Nutrition du CNRS
9, rue Jules-Hetzel
F–92190 Meudon-Bellevue (France)

J. Marquet
Hôpital Henri-Mondor
Laboratoire Central d'Hématologie
F–94000 Créteil (France)

M. Astier-Dumas, A. Mosse, M. Huc
Centre Foch
45, rue des Saints-Pères
F–75006 Paris (France)

Data Processing · *Traitement des données*

N. Chau, A. Patris, N. Bunel, D. Saouag, M. Weiss
Laboratoire de Statistique et d'Informatique Médicales
Science de l'Information en Médecine et Santé publique
INSERM U-115, Facultés de Médecine, BP 184
F–54500 Vandœuvre-lès-Nancy (France)

Contents

Acknowledgements 7

Foreword 9

General Outline of the ESVITAF Survey 11

Introduction 15

Materials and Methods 18

Population Samples 18
Methods 20
- General Questionnaire 20
- Medical Examination 20
- Dietary Survey 20
- Blood Parameters 21

Results – Discussion 28

Socioprofessional Classes and Physical Activity . 28
- Socioprofessional Classes 28
- Physical Activity 30

Age, Height, Weight, Weight Index and Cardiac Parameters 31
- Age 31
- Height, Weight and Weight Index 31
- Cardiac Parameters 32

Diet 33
- Energy and Macronutrient Intake 33
  - Controls 33
  - Obese Subjects 38
  - Drinkers 39
- Vitamins and Iron 40
  - Controls 40
  - Obese Subjects 49
  - Drinkers 50

Table des matières

Remerciements 7

Avant-Propos 9

Présentation générale de l'enquête ESVITAF 11

Introduction 15

Matériel et méthodes 18

Echantillons étudiés 18
Méthodes 20
- *Questionnaire général* 20
- *Examen médical* 20
- *Enquête diététique* 20
- *Examens biologiques sanguins* 21

Résultats – Discussion 28

Catégories socioprofessionnelles et activité physique 28
- *Catégories socioprofessionnelles* 28
- *Activité physique* 30

Age, taille, poids, indice pondéral, paramètres cardiaques 31
- *Age* 31
- *Taille, poids, indice pondéral* 31
- *Paramètres cardiaques* 32

Alimentation 33
- *Apports énergétiques et macronutriments* . . . 33
  - *Témoins* 33
  - *Obèses* 38
  - *Buveurs* 40
- *Vitamines et fer* 44
  - *Témoins* 44
  - *Obèses* 50
  - *Buveurs* 52

Biological Data 53
Vitamins 53
Vitamin B_1 53
Vitamin B_2 58
Folates 59
Vitamin A 63
Vitamin E 65
Vitamin D 66
Iron and Other Hematological Data 67
Glucose, Urea, GPT, GGT 69
Correlations between Biochemical, Biological and Dietary Data 70

Conclusion 78

Distributions of the Dietary and Biological Parameters 80

References 87

Examens biologiques sanguins *53*
Vitamines *53*
Vitamine B_1 . . . . . *53*
Vitamine B_2 . . . . . *59*
Folates *60*
Vitamine A *63*
Vitamine E *65*
Vitamine D *66*
Hématologie et fer plasmatique *67*
Glucose, urée, GPT, GGT *70*
Corrélations entre les paramètres du statut en vitamines et en fer *70*

Conclusion *78*

Distributions des paramètres de l'enquête *80*

Bibliographie *87*

Acknowledgements

This investigation was initiated by Centre National de Coordination des Etudes et Recherches sur la Nutrition et l'Alimentation (CNERNA; 72, rue de Sèvres, F–75007 Paris, France) and financed by Délégation Générale à la Recherche Scientifique et Technique (DGRST; 35, rue St-Dominique, F–75700 Paris, France), Fondation Française pour la Nutrition (FFN; 71, avenue Victor-Hugo, F–75116 Paris, France) and Caisse Nationale d'Assurance Maladie (CNAM; 66, avenue du Maine, F–75682 Paris Cédex 14, France).

Technical support was granted by F. Hoffmann-La Roche & Co. Ltd. (Department of Vitamin and Nutrition Research, Grenzacherstrasse 124, CH–4002 Basel, Switzerland).

Publication was financed by:

- Ministère de la Recherche et de la Technologie, Mission Scientifique et Technique (1, rue Descartes, F–75231 Paris Cédex 05, France);
- Laboratoires Lederle (74, rue d'Arcueil, Immeuble Iéna, Silic 275, F–94578 Rungis Cédex, France);
- F. Hoffmann-La Roche & Co. Ltd. (Grenzacherstrasse 124, CH–4002 Basel, Switzerland).

Remerciements

Cette enquête initialement lancée par le Centre National de Coordination des Etudes et Recherches sur la Nutrition et l'Alimentation (CNERNA; 72, rue de Sèvres, F–75007 Paris, France) a été en outre financée par la Délégation Générale à la Recherche Scientifique et Technique (DGRST; 35, rue St-Dominique, F–75700 Paris, France), la Fondation Française pour la Nutrition (FFN, 71, avenue Victor-Hugo, F–75116 Paris, France) et la Caisse Nationale d'Assurance Maladie (CNAM; 66, avenue du Maine, F–75682 Paris Cédex 14, France).

La Société F. Hoffmann-La Roche et Cie (Département de Recherches «Vitamines et Nutrition», Grenzacherstrasse 124, CH–4002 Bâle, Suisse) nous a apporté son soutien technique.

L'édition a été financée par:

- *Le Ministère de la Recherche et de la Technologie, Mission Scientifique et Technique (1, rue Descartes, F–75231 Paris Cédex 05, France);*
- *Les Laboratoires Lederle (74, rue D'Arcueil, Immeuble Iéna, Silic 275, F–94578 Rungis Cédex, France);*
- *F. Hoffmann-La Roche et Cie (Grenzacherstrasse 124, CH–4002 Bâle, Suisse).*

We are grateful for the help and advice of members of various organizations, especially, Mr. *François,* Director of CNERNA; Prof. *Raoul,* member of the National Academy of Medicine and President of the Commission on Vitaminology of CNERNA; Prof. *G. Brubacher* and Mr. *J.P. Vuilleumier* of F. Hoffmann-La Roche & Co. Ltd.; Prof. *G. Debry* of the Regional Hospital of Nancy; Mr. *P. Sagaut* of Laboratoires Lederle, and all those who contributed in making this work possible. *Kathryn Elmer Fröhlich* of F. Hoffmann-La Roche & Co. Ltd. and *Olive Dixon* (SFT; 12, rue Louis-Dardenne, F–92170 Vanves, France) translated the study into English.

Nous tenons à remercier les membres de ces divers organismes de leur aide et de leurs conseils, en particulier Monsieur François, *Directeur du CNERNA; M. le Professeur* Raoul, *Membre de l'Académie Nationale de Médecine, Président de la Commission de Vitaminologie du CNERNA; M. le Professeur* Brubacher *et M.* J.P. Vuilleumier *de la Société Hoffmann-La Roche; M. le Professeur* G. Debry *du Centre Hospitalier Régional de Nancy; Monsieur* P. Sagaut *des Laboratoires Lederle et tous ceux qui ont participé à la réalisation de ce travail. La traduction anglaise a été assurée par* Kathryn Elmer Fröhlich *(SHL) et par* Olive Dixon *(Membre de la SFT; 12, rue Louis-Dardenne, F–92170 Vanves, France).*

Foreword

CNERNA is part of the Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS). It is an instigating body which makes reflections and proposals. Through about sixty specialized Committees, it brings together the most competent experts to study, in a multidisciplinary-oriented spirit, specific subjects in the various areas of nutrition and nourishment: in particular, basic nutrition, human nutrition, nutritional toxicology; nutritional value and quality of food products, nutritional microbiology, training and information.

The study of the vitamin status is within the field of 'nutrition and health' of CNERNA. It aims at obtaining a better knowledge of one type of nutritional state, the final objective being to remedy the possible deficiencies. This approach is related to the general theme, i.e. 'the recommended dietary allowances', which was the subject of another publication, prepared under the guidance of Prof. *Henri Dupin.*

Nutritional epidemiology looks for biological tracers with a high discriminating value, characteristic of a risk of a given pathology. Except for rare cases, patent vitamin deficiencies no longer exist in industrialized countries. However, the question is whether the vitamin status can be modified, taking

Avant-Propos

Le CNERNA est un laboratoire du Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS). C'est un organisme de réflexion, de proposition et d'incitation. Au sein d'une soixantaine de Commissions spécialisées, il réunit les spécialistes les plus compétents, qui étudient, dans un esprit multidisciplinaire, des thèmes précis dans les différents domaines de la nutrition et de l'alimentation: nutrition fondamentale, nutrition humaine, toxicologie alimentaire, qualité et hygiène des produits, microbiologie alimentaire, formation et information, notamment.

L'étude du statut vitaminique relève du secteur d'activité «nutrition et santé» du CNERNA. Elle vise à mieux connaître un type d'état nutritionnel, l'objectif final étant de combattre les déficiences éventuelles. Cette démarche s'apparente ainsi au thème général «les apports nutritionnels conseillés», qui a fait l'objet d'une autre publication, préparée sous l'autorité du professeur Henri Dupin.

La tendance de l'épidémiologie nutritionnelle est de rechercher des marqueurs biologiques ayant une valeur discriminante élevée, caractéristique d'un risque de survenue d'une pathologie donnée. Dans le domaine des vitamines, les carences affirmées ont, sauf cas exceptionnel, disparu dans les pays industria-

into account the evolution of the ways of food consumption, quantities presently eaten and the possible impact of technologies on food products. Other parameters, such as alcohol and drug consumption, will also have to be considered.

The CNERNA 'Vitaminology' Committee (Head: Prof. *Yves Raoul*), prompted the creation of an ad hoc group (ESVITAF; Etude du Statut Vitaminique des Français) which has received financial support from both the government bodies and the private industry. Drs. *Lemoine* and *Le Devehat* were responsible for the work carried out by the group; they formed a 'club' comprising clinicians, biologists, biochemists, data-processing specialists, dieticians. I wish to stress the importance of the work accomplished by the group, despite the many obstacles faced. The question of vitamin intake must be neither under- nor overvalued. It is part of a scientific approach such as the one presented in this issue of *Annals of Nutrition and Metabolism.*

André François
Director of CNERNA

lisés. Toutefois, la question se pose de savoir si le statut vitaminique peut être modifié, compte tenu de l'évolution des modes de consommation des aliments, des quantités consommées actuellement et de l'influence éventuelle des technologies sur la composition des produits. Il faut également tenir compte des paramètres tels que la consommation d'alcool ou de médicaments.

La Commission «Vitaminologie» du CNERNA, qui est placée sous l'autorité du professeur Yves Raoul, *a suscité la création d'un groupe ad hoc (ESVITAF; Etude du Statut Vitaminique des Français) qui a reçu un soutien budgétaire du secteur public et du secteur privé. Les docteurs* Lemoine *et* Le Devehat *ont assumé la responsabilité des travaux de ce groupe; ils ont constitué un «club» groupant des cliniciens, des biologistes, des biochimistes, des informaticiens, des diététiciens. Je tiens à souligner l'importance du travail que ce groupe a mené à bien, malgré les nombreuses difficultés rencontrées. La question de la nutrition vitaminique ne doit être ni minimisée, ni surestimée. Elle relève d'une approche scientifique telle que celle qui est présentée dans le présent fascicule de* Annals of Nutrition and Metabolism.

André François
Directeur du CNERNA

General Outline of the ESVITAF Survey

Présentation générale de l'enquête ESVITAF

At the instigation of Prof. *A. François* and *G. Debry*, a study on the vitamin status of certain groups of the French population, known as ESVITAF, was included in the program of the Commission de Vitaminologie of CNERNA as early as 1978–1979. Subsequent help from DGRST and FFN enabled the survey to get underway. In order to overcome the many obstacles of such a multicenter work (Lyon, Nancy, Nevers, Paris and Basel), a dynamic, united and dedicated field team was needed in addition to the good institutional arrangements. Drs. *Alain Lemoine* and *Claude Le Devehat* directed the group with great success. The other members of the team, whose names are mentioned above (p. 3) were kind enough to accept the necessary discipline. The publication presented is a demonstration of the success of the enterprise. It is therefore proper that we thank and congratulate the different instigating bodies and those who carried out this mission.

ESVITAF had first of all to overcome two basic difficulties: epidemiological surveys are not encouraged in France and the often limited associative spirit of our compatriots is little suited to a geographically dispersed team work. The composition of the control

Sous l'impulsion des professeurs A. François *et* G. Debry, *une étude sur le statut vitaminique de certains groupes de la population française (ESVITAF) a été, dès 1978–1979, inscrite au programme de la Commission de Vitaminologie du CNERNA. Le soutien ultérieur de la DGRST et de la FFN a permis le démarrage de l'enquête. A ces bonnes dispositions institutionnelles, il fallait sur le terrain, une équipe dynamique, soudée et dévouée pour franchir les obstacles nombreux d'un travail multicentrique (Lyon, Nancy, Nevers, Paris et Bâle). L'animation du Groupe a été assurée avec succès par les docteurs* Alain Lemoine *et* Claude Le Devehat. *Les autres membres de l'équipe dont les noms figurent ci-dessus (p. 3) ont eu le mérite d'accepter les disciplines nécessaires. La publication présentée est une manifestation de la réussite de l'entreprise. Nous nous devons donc de remercier et de féliciter les divers organismes incitateurs et les réalisateurs de cette mission.*

Le projet ESVITAF devait vaincre d'abord deux difficultés de base; les enquêtes épidémiologiques ne sont pas favorisés en France et le tempérament associatif souvent limité de nos compatriotes est peu adapté à un travail d'équipe géographiquement dispersé. Il fallait ensuite préciser la composition des groupes

groups in good health, volunteer participants in this dietary survey, together with the groups at risk had then to be defined. There was also the choice of the clinical check-ups, modern methods of biological analysis for vitamins, the method for a speedy circulation of biological samples, statistical analysis of the results by computer. This study was also to enable a comparison to be made between national results and modern surveys done in other countries [e.g. ref. 6]. Our colleagues in the other industrial countries have in fact been doing studies of this nature for a long time.

ESVITAF had a dual aim: to determine the usual vitamin status of certain groups of the population (18–44 years old in good health) and to do a parallel study of certain groups in which a high risk of vitamin deficiency is suspected (overweight subjects and alcohol drinkers in good health).

The first aim is essential because it will allow one to assess the present nutritional state according to the selection criteria of the chosen population. It was therefore possible to make a comparison with the recommended intakes, a statistical notion implying an idea of risk. Intakes below the recommended quantity (100%), or 1 for simplification, are a sign of subdeficiency or deficiency, all the greater as the difference increases. On the other hand, an intake of about 200%, or 2 would comfortably cover the needs. Finally, an intake between 1 and 2 is far from excessive and is within a nutritionally reasonable area. On the whole, the survey results confirm this idea, which makes all the more significant the exceptions found based on the blood tests which showed, in particular, an insufficient intake of folic acid and vitamin B_1. The other deficiencies (iron for example) are also in keeping with the data from other

témoins de la population en bonne santé, participants volontaires à cette étude d'enquête diététique, ainsi que des groupes à risques. S'y ajoutaient le choix des bilans cliniques, des méthodes modernes d'analyses biologiques en matière de vitamines, la méthode de circulation rapide des échantillons biologiques, l'exploitation statistique à l'aide de l'outil informatique des résultats. Cette étude devait aussi permettre une comparaison des résultats nationaux avec les enquêtes modernes étrangères [p. ex. réf. 6]. Nos collègues des autres pays industriels ont en effet entrepris des études de même nature depuis longtemps.

Le but d'ESVITAF fut double: déterminer les valeurs usuelles du statut vitaminique de certaines tranches de la population (18–44 ans en bonne santé) et étudier parallèlement certains groupes dans lesquels on suspecte un risque élevé de déficience vitaminique (obèses et buveurs d'alcool en bonne santé).

Le premier objectif est essentiel puisqu'il devait permettre une appréciation du statut nutritionnel actuel en fonction du choix des critères de sélection de la population retenue. La comparaison avec les valeurs des apports recommandés, notion statistique sous-tendant une notion de risque, a donc été possible. Des apports inférieurs aux valeurs recommandées donc 100% ou 1 pour simplifier le langage, sont un indice de risque de subcarence ou de carence d'autant plus grand que cet écart est élevé. Par opposition, un apport voisin de 200% ou 2 semble confortable. En définitive, une fourchette d'apport comprise entre 1 et 2 demeure loin des excès et se situe dans une zone nutritionnellement raisonnable. Les résultats de l'enquête appuient dans l'ensemble cette conception, ce qui donne toute leur signification aux exceptions rencontrées au vu des tests sanguins qui dénotent notamment un apport insuffisant pour l'acide folique et la

industrial countries. In France no vitamin supplement in ordinary food is allowed. It will therefore be the responsibility of the medical and health authorities to take into account these results in order possibly to launch a new nutritional policy.

The second part of the study dealt with overweight subjects and heavy drinkers, and showed the influence of the 'calorie value' of the ration, which ensures sufficient quality intake in the former, and the tendency of the latter group to have insufficient levels of vitamin B_1 and folic acid. There is a patent metabolic disturbance in the second group.

These findings, some of which were predictable, are therefore no longer hypotheses but are proven facts, which shows the efficacy of this study. It should be continued and complemented by other surveys of the same type in order to forecast optimally the evolution of nutrition in our country. The authors are therefore to be thanked for having, in spite of all the obstacles, enabled an initial reflection to be made whose consequences will be best seen in the long term. Such is the characteristic, the price even, of important things.

Y. Raoul

vitamine B_1. Les autres insuffisances (fer par exemple) sont aussi en accord avec les données des autres pays industriels. En France aucune supplémentation vitaminique de l'alimentation courante n'est autorisée. Il appartiendra aux autorités médicales et sanitaires de prendre en compte ces résultats pour mener éventuellement une nouvelle politique alimentaire.

Le second objectif, appliqué chez les obèses et buveurs excessifs, a montré l'influence du «poids calorique» de la ration qui assure des apports qualitatifs suffisants chez les premiers et la tendance des seconds vers des taux insuffisants de vitamine B_1 et d'acide folique. La perturbation métabolique est manifeste dans ce second cas.

Ces constatations, prévisibles pour certaines, sont donc passées du domaine de l'hypothèse à celui de la démonstration. C'est la marque de l'efficacité de cette étude. Celle-ci doit être poursuivie et complétée par d'autres enquêtes du même type si l'on veut prévoir de façon optimale l'évolution de la nutrition dans notre pays. Il faut donc remercier les auteurs d'avoir, contre vents et marées, permis une première réflexion dont les conséquences se mesureront mieux à long terme. C'est la caractéristique, voire la rançon, des choses importantes.

Y. Raoul

Introduction

In recent years, dietary habits in France have changed in many respects, mainly due to social factors such as modified working conditions, improved transport and a higher standard of living. Two examples of these social developments are the increased proportion of women in the workforce in the last 20 or so years, which has resulted in a modified mealtime structure with more meals being eaten outside the home, and the decreasing energy requirements at work, coupled with a higher physical expenditure in leisure activities.

In addition to these social effects, the new technologies applied to agriculture and to food processing, distribution and preparation have also played a part in altering the vitamin composition of foods. These changes are confirmed by comparing recent food consumption surveys with those made in the last decades. Animal protein consumption has increased sharply inducing higher animal fat consumption, whereas the proportion of complex carbohydrates has dropped. These changing patterns in macronutrient intake have modified the micronutrient consumption and the consequences of these interrelated changes on dietary consumption must be studied.

© 1986 S. Karger AG, Basel
0250–6807/86/0307–0015$2.75/0

Introduction

Il est incontestable que les habitudes alimentaires des Français changent sur bien des plans. Cette évolution découle plus ou moins directement de facteurs sociaux tels que les modifications des conditions de travail, de transport, de confort. Les activités de loisir deviennent de plus en plus importantes et le travail professionnel de moins en moins exigeant sur le plan musculaire. Le rapport qui existe entre la dépense énergétique due aux activités professionnelles et celle qui découle des loisirs a beaucoup diminué.

Sur le plan alimentaire, quelques facteurs sociaux ont eu dans les dernières décennies, une influence décisive: notamment la généralisation du travail féminin et l'augmentation de la prise de repas en collectivité. D'autres éléments entraînent des modifications de composition alimentaire: technologies nouvelles de culture, de stockage et de conservation, de préparation et de distribution des aliments.

Les goûts et les habitudes alimentaires évoluent, aboutissant, lorsque l'on compare les résultats d'enquêtes de consommation réalisées il y a quelques décennies aux résultats enregistrés de nos jours, à des bouleversements assez importants. Ainsi la consommation des protéines d'origine animale a forte-

On account of the changes in the French way of life, we felt that it was necessary to assess the vitamin status of the French population and to obtain a more accurate idea of the required dietary allowances (RDA). On this basis, we have studied the following three problems:

- assessment of the vitamin status of the French population to detect any characteristic or subclinical vitamin deficiencies, and an evaluation of their consequences;
- accurate definition of the vitamin requirements with detection of any 'vitamin-deficient' groups;
- proposals for improving the vitamin content in food and the nutritional balance, with a view to decreasing the risk of any deficiencies.

ment progressé avec pour corollaire l'augmentation de la consommation des graisses animales. Dans le même temps, la proportion des glucides complexes a beaucoup diminué. L'équilibre des rations s'est donc profondément modifié et l'on peut s'interroger sur les conséquences de tous ces bouleversements sur la composition, en particulier vitaminique, de l'alimentation.

En effet, si en première analyse la situation nutritionnelle paraît globalement bonne en France, on connaît depuis longtemps des groupes présentant un risque accru de déficience nutritionnelle du fait soit d'apports réduits ou déséquilibrés, soit de besoins augmentés, soit de la conjonction de ces éléments.

La connaissance de tels groupes, l'étude des causes et des conséquences des déficits dont ils sont atteints permettent de mieux définir les apports à recommander à la population générale. Il est en effet de plus en plus important, devant le développement de la restauration collective, de disposer d'indications chiffrées si contestables soient-elles.

Ainsi trois ordres de problèmes se posent:

- *apprécier le statut vitaminique de la population pour détecter éventuellement des états de déficience vitaminique caractérisés ou infracliniques et apprécier leurs conséquences;*
- *mieux définir les besoins vitaminiques et étudier dans la population les groupes à risque élevé de déficience vitaminique;*
- *proposer des mesures qui permettent de pallier ce risque, par exemple: amélioration de la teneur vitaminique et de l'équilibre de l'alimentation en intervenant notamment sur sa composition initiale et sur les facteurs délétères qui s'exercent ensuite; mise au point et évaluation de programmes d'éducation alimentaire.*

This study has taken into account the recommendations of the International Union of Nutritional Science [12] and its objectives are:

- to determine the incidence of deficiencies in a control group selected according to very strict criteria for good health; these subjects should therefore present a very low probability of deficiency (controls);
- to study, in parallel, two other groups that are well represented in the French population and that are presumed to be more prone to vitamin deficiencies than the healthy control group, i.e.: a group of obese subjects that were not dieting and were not subject to nutritional diseases (a preliminary study had indicated that obese subjects had unsatisfactory vitamin levels), and a group of alcohol drinkers, who were otherwise in good health and were not alcoholics.

C'est dans la perspective des recommandations de l'International Union of Nutritional Science [12] que s'inscrit le présent travail.

Nous avons en effet voulu:

- *déterminer les valeurs fréquentes des techniques d'évaluation du statut vitaminique employées dans une population présentant un risque de déficience a priori très bas. Nous avons sélectionné à cet effet un groupe de sujets selon des critères rigoureux de bonne santé et d'hygiène (groupe témoin);*
- *étudier en parallèle deux groupes de sujets numériquement importants en France et susceptibles de présenter plus de déficits vitaminiques que la population générale: des sujets de poids excessif sans autre maladie nutritionnelle connue non soumis à un régime, dont nous avions pu dans un travail préliminaire constater que leur statut vitaminique n'était pas pleinement satisfaisant; des buveurs excessifs non malades et, a priori, non alcoolodépendants répondant à la même définition que les témoins pour ce qui ne concernait pas la consommation d'alcool.*

Le but de l'étude de ces deux groupes était d'étudier l'effet d'un facteur de risque isolé sur le statut vitaminique en comparaison avec les sujets des groupes de référence. Par la suite, d'autres groupes d'âges, d'autres groupes à risque élevé devraient être sélectionnés et étudiés pour obtenir une vision plus représentative de l'état nutritionnnel de la population française en matière de vitamines.

Materials and Methods

Matériel et méthodes

Population Samples

This survey was carried out on 710 French men and women living in France. Their ages ranged from 18 to 44 years. They ate their usual diet and had no acute or chronic disease, or surgical or medical histories likely to modify their nutritional or endocrine status. They had not taken any drug including oral contraceptives for at least 1 month. Five groups for each sex based on weight index, alcohol intake and smoking habits were constituted: one control group, two groups of obese subjects and two groups of alcohol drinkers.

The selection criteria and groups are described in table I. We chose two alcohol intake limits for male and female drinkers because there are differences in the usual alcohol intake levels between the sexes and

Echantillons étudiés

Cette enquête concerne 710 sujets: hommes et femmes de 18 à 44 ans, français métropolitains, ayant une alimentation spontanée, indemnes de maladie aiguë ou chronique et d'antécédents chirurgicaux ou médicaux susceptibles de modifier l'état de nutrition ou l'état endocrinien, ne recevant ni médicament (depuis au moins 1 mois), ni contraception orale. Pour chaque sexe, cinq échantillons ont été constitués selon des critères d'indice pondéral, de consommation d'alcool et de tabac: un échantillon de témoins, deux échantillons d'obèses et deux échantillons de buveurs d'alcool.

Ces critères ainsi que la description des échantillons sont détaillés au tableau I. Compte tenu des différences de consommations alcooliques moyennes déclarées entre les hommes et les femmes et des caractéristiques de

Table I. Criteria for selection (CS) and description of samples

		n	Age, years				Weight index				Alcohol consumption g/day				Tobacco consumption, g day		
			CS	percentiles			CS	percentiles			CS	percentiles			CS	smokers, %	
				5	50	95		5	50	95		5	50	95		10–19 g day	> 20 g day
Men																	
Controls	CM	189	18–44	21.0	30.5	40.7	≤ 1.16	0.88	1.03	1.13	≤ 43	1.2	14.8	42.1	≤ 9	0	0
Obese	OM_1	29	18–44	21.5	31.2	39.3	1.17–1.46	1.18	1.26	1.45	≤ 43	0.9	13.0	42.3	≤ 9	0	0
	OM_2	11	18–44	21.1	32.0	40.4	≥ 1.47	1.48	1.65	2.22	≤ 43	0.7	6.7	41.5	≤ 9	0	0
Drinkers	AM_1	75	18–44	23.9	32.4	42.4	≤ 1.46	0.96	1.04	1.17	44.87	47.3	68.4	86.3	–	14	20
	AM_2	92	18–44	23.0	35.3	43.0	≤ 1.46	0.96	1.08	1.39	≥ 88	90.8	109.5	202.0	–	22	30
Women																	
Controls	CF	173	18–44	20.6	30.6	40.8	≤ 1.16	0.86	0.98	1.10	≤ 21	0.5	4.8	20.5	≤ 9	0	0
Obese	OF_1	72	18–44	21.0	30.8	39.6	1.17–1.46	1.18	1.27	1.43	≤ 21	0.4	3.7	20.0	≤ 9	0	0
	OF_2	46	18–44	20.6	30.2	39.0	≥ 1.47	1.49	1.67	2.12	≤ 21	0.4	3.7	20.2	≤ 9	0	0
Drinkers	AF_1	8	18–44	21.8	32.0	40.2	≤ 1.46	0.96	1.01	1.10	22–43	22.5	27.5	31.0	–	0	0
	AF_2	15	18–44	27.8	32.7	43.6	≤ 1.46	0.94	1.04	1.45	≥ 44	46.9	67.2	231.0	–	7	27

The weight index was calculated according to the formula of Lorentz (see p. 20). n = Number of subjects.

because of the characteristics of our samples, each one being comprised of healthy, active, nonalcoholic subjects. The limits chosen for weight index and smoking were less strict for the drinkers than for the other groups, these parameters being linked to excessive alcohol intake.

This study was conducted simultaneously in four different geographical areas of France (Lyons, Nancy, Nevers, Paris) between September 1979 and January 1982.

Volunteers were examined either at health examination centers (Centre de Sécurité Sociale Mermoz, rue Joseph-Chalier, F–69008 Lyons, France; n = 148; Centre de Médecine Préventive, 2, avenue du Doyen-J.-Parisot, F–54500 Vandœuvre-lès-Nancy, France; n = 292) or during specialized hospital consultations or via the Department of Industrial Medicine (Service de Diabétologie et des Maladies de la Nutrition, Centre Hospitalier de Nevers, F–58320 Pougues-les-Eaux, France; n = 210; Hôpital Beaujon, 100, boulevard du Général-Leclerc, F–92110 Clichy, France; Service Médical de la 5e Circonscription du CNRS, 1, place Aristide-Briand, F–92190 Meudon-Bellevue, France; n = 60). The selected subjects were examined prior to any dietary prescription.

nos échantillons – sujets actifs en bonne santé et non alcooliques – nous avons utilisé des limites de consommation différentes selon le sexe. Les critères d'indice pondéral et de consommation de tabac choisis sont moins sévères pour les groupes de buveurs que pour les autres groupes, ces paramètres étant liés à une consommation excessive d'alcool.

L'enquête s'est déroulée de septembre 1979 à janvier 1982 simultanément dans quatre centres géographiques différents (Lyon, Nancy, Nevers, Paris). Elle a débuté par la sélection du groupe des obèses et s'est terminée par celle du groupe des buveurs. L'échantillon témoin a été constitué pendant toute la période.

L'examen des volontaires s'est fait soit dans le cadre de centres d'examens de santé (Centre de Sécurité Sociale Mermoz, rue Joseph-Chalier, F–69008 Lyon, France; n = 148; Centre de Médecine Préventive, 2, avenue du Doyen-J.-Parisot, F–54500 Vandœuvre-lès-Nancy, France; n = 292), soit dans le cadre de consultations hospitalières spécialisées, soit par l'intermédiaire de la Médecine du Travail (Service de Diabétologie et des Maladies de la Nutrition, Centre Hospitalier de Nevers, F–58320 Pougues-les-Eaux, France; n = 210; Hôpital Beaujon, 100, boulevard du Général-Leclerc, F–92110 Clichy, France, et Service Médical de

Tableau I. *Critères de sélection (CS) et description des échantillons*

		n	*Age, années*				*Indice pondéral*				*Consommation d'alcool g/j*				*Consommation de tabac, g/j*		
			CS	*centiles*			*CS*	*centiles*			*CS*	*centiles*			*CS*	*fumeurs, %*	
				5	*50*	*95*		*5*	*50*	*95*		*5*	*50*	*95*		*10–19 g/j*	*> 20 g/j*
Hommes																	
Témoins	*CM*	*189*	*18–44*	*21,0*	*30,5*	*40,7*	*⩽ 1,16*	*0,88*	*1,03*	*1,13*	*⩽ 43*	*1,2*	*14,8*	*42,1*	*⩽ 9*	*0*	*0*
Obèses	*OM_1*	*29*	*18–44*	*21,5*	*31,2*	*39,3*	*1,17–1,46*	*1,18*	*1,26*	*1,45*	*⩽ 43*	*0,9*	*13,0*	*42,3*	*⩽ 9*	*0*	*0*
	OM_2	*11*	*18–44*	*21,1*	*32,0*	*40,4*	*⩾ 1,47*	*1,48*	*1,65*	*2,22*	*⩽ 43*	*0,7*	*6,7*	*41,5*	*⩽ 9*	*0*	*0*
Buveurs	*AM_1*	*75*	*18–44*	*23,9*	*32,4*	*42,4*	*⩽ 1,46*	*0,96*	*1,04*	*1,17*	*44,87*	*47,3*	*68,4*	*86,3*	*–*	*14*	*20*
	AM_2	*92*	*18–44*	*23,0*	*35,3*	*43,0*	*⩽ 1,46*	*0,96*	*1,08*	*1,39*	*⩾ 88*	*90,8*	*109,5*	*202,0*	*–*	*22*	*30*
Femmes																	
Témoins	*CF*	*173*	*18–44*	*20,6*	*30,6*	*40,8*	*⩽ 1,16*	*0,86*	*0,98*	*1,10*	*⩽ 21*	*0,5*	*4,8*	*20,5*	*⩽ 9*	*0*	*0*
Obèses	*OF_1*	*72*	*18–44*	*21,0*	*30,8*	*39,6*	*1,17–1,46*	*1,18*	*1,27*	*1,43*	*⩽ 21*	*0,4*	*3,7*	*20,0*	*⩽ 9*	*0*	*0*
	OF_2	*46*	*18–44*	*20,6*	*30,2*	*39,0*	*⩾ 1,47*	*1,49*	*1,67*	*2,12*	*⩽ 21*	*0,4*	*3,7*	*20,2*	*⩽ 9*	*0*	*0*
Buveurs	*AF_1*	*8*	*18–44*	*21,8*	*32,0*	*40,2*	*⩽ 1,46*	*0,96*	*1,01*	*1,10*	*22–43*	*22,5*	*27,5*	*31,0*	*–*	*0*	*0*
	AF_2	*15*	*18–44*	*27,8*	*32,7*	*43,6*	*⩽ 1,46*	*0,94*	*1,04*	*1,45*	*⩾ 44*	*46,9*	*67,2*	*231,0*	*–*	*7*	*27*

L'indice pondéral est calculé selon la formule de Lorentz (voir p. 20). n = Effectifs.

Methods

Socioprofessional, physical, dietary and biological data were collected on each subject included in the study.

General Questionnaire

This questionnaire included the following information on subjects: age, sex, socioprofessional classes, codified according to the Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques (INSEE; 18, boulevard A.-Pinard, F–75675 Paris Cédex 14, France) physical activity during work and leisure (codified according to four classes of increasing intensity using typical activity samples: little, moderate, fair or high activity), smoking and mean weekly sun exposure (less than 3 h, 3–10 h, more than 10 h in town, country or mountains, respectively).

Medical Examination

A physician measured height, weight, pulse, and diastolic and systolic blood pressures. Arterial blood pressures were measured after a 15-min rest in the supine position. The weight index (WI) was calculated from height and ideal weight (IW) according to Lorentz:

$$WI = \frac{\text{weight (kg)}}{\text{IW (kg)}},$$

$$IW = \text{height (cm)} - 100 - \frac{\text{height (cm)} - 150}{C},$$

C = 4 for men; C = 2 for women.

Dietary Survey

This investigation lasted 7 consecutive days with each (selected) subject recording in household units his daily food consumption in a notebook according to the instructions of the dietician or physician. The quality, origin, and method of preparation and cooking had to be recorded. On the morning of the 8th day, while taking a blood sample, the dietician interviewed each subjects for details on seasoning, drinks, cooking, fresh or canned products and recorded this information expressed in quantity of food ingested per day.

la 5e Circonscription du CNRS, 1, place Aristide-Briand, F–92190 Meudon-Bellevue, France; n = 60). Le recrutement et la sélection ont été menés à partir des critères d'inclusion; les sujets sélectionnés étaient examinés avant toute prescription diététique.

Méthodes

Pour chaque personne incluse dans l'enquête, un certain nombre de données socioprofessionnelles, physiques, diététiques et biologiques ont été recueillies.

Questionnaire général

Il comprend les renseignements suivants: âge, sexe, catégories socioprofessionnelles, codifiées selon l'Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques (INSEE; 18, Boulevard A.-Pinard, F–75675 Paris Cédex 14, France), activité physique pendant le travail et les loisirs (codifiée selon quatre classes d'intensité croissante à l'aide d'exemples d'activité type: activité faible, modérée, moyenne ou forte), consommation de tabac et ensoleillement moyen hebdomadaire (moins de 3 h, 3–10 h, plus de 10 h respectivement à la ville, à la campagne, à la montagne).

Examen médical

Il a été pratiqué par un médecin. Il consistait en la mesure de la taille, du poids, du pouls et des tensions artérielles diastolique et systolique. Les tensions artérielles ont été mesurées après un repos de 15 min en position allongée. L'indice pondéral (IP) a été calculé à partir du poids et de la taille, déterminant le poids idéal (PI) selon Lorentz:

$$IP = \frac{\text{poids (kg)}}{PI\ (kg}\ ,$$

$$PI = \text{taille (cm)} - 100 - \frac{\text{taille (cm)} - 150}{C}\ ,$$

C = 4 pour les hommes; C = 2 pour les femmes.

Enquête diététique

Il s'agit d'une enquête prospective sur 7 jours. Après sélection, le sujet recevait un «cahier-journal» dans lequel il indiquait au jour le jour en unités ménagères

One or two dieticians worked in each center, and met several times to standardize their methods, equipment and questions.

From this 7-day collection of information we calculated the mean daily supply of vitamin B_1, B_2, folates, C, E (expressed in *d*-α-tocopherol), D and A [expressed in retinol equivalent (RE): RE = retinol (μg) + $\frac{\beta\text{-carotene}}{6}$ (μg)], retinol, β-carotene, iron protein, carbohydrates, total, saturated, monounsaturated and polyunsaturated lipids, fiber and alcohol, using a computerized food consumption table (Service Informatique des Hospices Civils de Lyon, 61, boulevard Pinel, F–69003 Lyons, France). This table contains 585 food items and was compiled from six food composition tables [3, 4, 122, 124, 136, 139].

The dietary information collected for each person was compared to interpretative limits calculated from the recommended dietary allowances (RDA) for the French population [52]. Two limits, 50% and 80% of the RDA, arbitrarily defined three groups: low intake (< 50% of RDA), borderline intake (between 50 and 80% of RDA) and normal intake (> 80% of RDA).

We also calculated the nutritional density of each micronutrient, i.e. vitamin intake per 1,000 kcal [69] (table II).

Blood Parameters

Venous blood was drawn from the fasting subjects between 8 and 10 a.m. The criteria and assay methods used are listed in table III.

The biochemical status of vitamin B_1 was determined by the erythrocyte transketolase test [48]. This test gives two different parameters for the assessment of the vitamin B_1 status: the red blood cell transketolase activity and the activation of this enzyme by diphosphoryl thiamine (TPP effect).

Vitamin B_2 was assessed using erythrocyte glutathione reductase activation by flavine adenine dinucleotide [64]. Plasma retinol and β-carotene [29], and vitamin E (total tocopherols) [70] were determined chromatographically and 25-hydroxy-vitamin D by radioimmunoassay using specific binding protein from vitamin-D-deficient rat kidney [135]. Plasma and total folic acid were measured by a microbiological method [74b] using an acidimetric final reading [187]. Plasma iron [35], urea [112], and hemoglobin

sa consommation alimentaire quotidienne selon les explications fournies par la diététicienne ou le médecin. La qualité, la provenance, le mode de cuisson ou de préparation de l'aliment étaient en principe précisés. Le cahier était rempli pendant 7 jours consécutifs. Le matin du 8e jour en même temps que le prélèvement sanguin, la diététicienne revoyait le sujet, lui faisait préciser certains points; assaisonnement, boissons, cuisson, produit frais ou en conserve... transcrivait les données en quantités d'aliment par jour.

Une à deux diététiciennes ont participé au travail dans chaque centre. Elles se sont réunies à plusieurs reprises pour harmoniser leurs méthodes. Elles ont employé le même canevas d'interrogatoire et les mêmes supports pour le recueil des informations.

A partir de ces données sur 7 jours ont été calculés les apports journaliers moyens en vitamines B_1, B_2, folates, C, E (exprimée en d-α-tocophérol*), D, A [exprimée en équivalent rétinol (ER): ER = rétinol (μg) + $\frac{\beta\text{-carotène}}{6}$ (μg)], rétinol, β-carotène, fer, protéines, glucides, lipides totaux, lipides saturés, monoinsaturés et polyinsaturés, fibres et alcool à l'aide d'une table de composition des aliments informatisée (Service Informatique des Hospices Civils de Lyon, 61, boulevard Pinel, F–69003, Lyon, France). Cette table est une compilation de six tables alimentaires (585 aliments) [3, 4, 122, 124, 136, 139].*

Les informations diététiques recueillies pour chaque personne ont été comparées à des limites interprétatives calculées à partir des «Apports nutritionnels conseillés pour la population française» [52]. Deux limites, 50 et 80% des apports conseillés (AC) définissent arbitrairement trois classes: apports bas (< 50% des AC), apports marginaux (entre 50 et 80% des AC) et apports normaux (> 80% des AC).

Nous avons également calculé les densités nutritionnelles en chacun des micronutriments, c'est-à-dire les apports en vitamines pour 1000 kcal [69] (tab. II).

Examens biologiques sanguins

Les prélèvements veineux ont été effectués au pli du coude, le matin à jeun entre 8 et 10 h. Les paramètres pris en compte, les méthodes de dosages employées et les laboratoires qui ont réalisé les dosages sont répertoriés (tab. III).

Pour la vitamine B_1, le statut biochimique a été déterminé par l'étude de la transcétolase [48]. Ce test

were evaluated using standard methods, the other blood parameters were measured via an electronic counter (table III).

Vitamins A, E and D, β-carotene, iron, urea and glucose, and GPT and GGT activity were measured in heparinized plasma, folates in blood plus EDTA, and vitamins B_1 and B_2 (enzyme activation) on heparinized red cell pellets. The deep-frozen samples were placed on dry ice and mailed in special containers.

permet d'obtenir deux paramètres concernant le statut B_1: l'activité de la transcétolase érythrocytaire et l'activation de cette enzyme par le diphosphoryl thiamine (effet DPT).

La B_2 a été évaluée en utilisant l'activation de la glutathion-réductase érythrocytaire par la flavine-adénine dinucléotide [64]. Le rétinol plasmatique et le β-carotène [29], la vitamine E (tocophérols totaux) ont été dosés par chromatographie [70]. La 25-hydroxy-vita-

Table II. The RDA[a] and interpretative guidelines

		Low supply (< 50% RDA)	Borderline supply (between 50 and 80% RDA)	Normal supply (> 80% RDA)	RDA/1,000 kcal
Energy, kcal	M			2,700	
	W			2,000	
Vitamins					
B_1, mg	M	0.75	1.2	1.5	0.55
	W	0.65	1.05	1.3	0.65
B_2, mg	M	0.9	1.4	1.8	0.67
	W	0.75	1.2	1.5	0.75
Folic acid, μg	M	200	320	400	150
	W	200	320	400	200
C, mg	M	40	60	80	30
	W	40	60	80	40
A[b], μg RE	M	500	800	1,000	370
	W	400	640	800	400
E[c], mg *d*-α-T	M	5	8	10	3.7
	W	5	8	10	5
D, μg	M	5	8	10	3.7
	W	5	8	10	5
Iron, mg	M	5	8	10	3.7
	W	9	14.5	18	9
Protein, g	M	40	65	80	30
	W	30	50	60	30

M = Men; W = women.

[a] RDA for the French population [52].

[b] μg RE = retinol (μg) + $\frac{\text{β-carotene (μg)}}{6}$.

[c] mg *d*-α-T = *d*-α-tocopherol (mg).

Quality control samples for vitamin B_1 were mailed in the form of deep-frozen red cell pellets. The results of this control were satisfactory. For glucose, urea, GPT and GGT, each laboratory received a series of 26 commercial (lyophilized or liquid) control sera with a wide range of concentrations. The coefficients of the regression lines of each laboratory versus a sham laboratory were used as a correction (coefficient for the four participating laboratories.

mine D (25-OH-D) a été évaluée par méthode radioimmunologique en utilisant la protéine de liaison du rein de rat déficient en vitamine D [135]. Les folates plasmatiques et totaux ont été mesurés par méthode microbiologique [74b] utilisant une lecture finale acidimétrique [187]. Le fer plasmatique [35], l'urée [112] et l'hémoglobine ont été dosés par des méthodes standard. Les autres paramètres sanguins, par compteur électronique (tab. III).

Tableau II. *Apports nutritionnels conseillés AC[a] et limites interprétatives*

		Apports bas (< 50% des AC)	*Apports marginaux (entre 50 et 80% des AC)*	*Apports normaux (> 80% des AC)*	*AC/1000 kcal*
Energie, kcal	*H*			*2700*	
	F			*2000*	
Vitamines					
B_1, mg	*H*	*0,75*	*1,2*	*1,5*	*0,55*
	F	*0,65*	*1,05*	*1,3*	*0,65*
B_2, mg	*H*	*0,9*	*1,4*	*1,8*	*0,67*
	F	*0,75*	*1,2*	*1,5*	*0,75*
Acide folique, µg	*H*	*200*	*320*	*400*	*150*
	F	*200*	*320*	*400*	*200*
C, mg	*H*	*40*	*60*	*80*	*30*
	F	*40*	*60*	*80*	*40*
A[b], µg ER	*H*	*500*	*800*	*1000*	*370*
	F	*400*	*640*	*800*	*400*
E[c], mg d-α-*T*	*H*	*5*	*8*	*10*	*3,7*
	F	*5*	*8*	*10*	*5*
D, µg	*H*	*5*	*8*	*10*	*3,7*
	F	*5*	*8*	*10*	*5*
Fer, mg	*H*	*5*	*8*	*10*	*3,7*
	F	*9*	*14,5*	*18*	*9*
Protéines, g	*H*	*40*	*65*	*80*	*30*
	F	*30*	*50*	*60*	*30*

H = Hommes; F = femmes.

[a] *AC pour la population française [52].*

[b] *µg ER = rétinol (µg)* + $\frac{\beta\text{-carotène (µg)}}{6}$.

[c] *mg* d-α-*T* = d-α-*tocophérol (mg).*

Table III. Biochemical parameters and methods of analysis

Parameters	Laboratories	Methods	References
Vitamin B_1	A L N	activation of erythrocyte transketolase in the presence of TPP (TPP effect); activity of erythrocyte transketolase at 37 °C	48
Vitamin B_2	B	activation of erythrocyte glutathion reductase in the presence of flavin adenine dinucleotide (α-EGR)	64
Plasma and total folates	C	microbiological method	187
Retinol	B	extraction with n-hexane, chromatography, fluorimetric determination	29
β-Carotene	B	extraction with n-hexane, chromatography, spectro-photometry at 450 nm	29
Vitamin E (total tocopherol)	B	chromatography, photometric determination with iron bathophenanthroline	70
Vitamin D (25-OH-D)	Q	radiocompetition using 25-OH-D binding protein of the rat kidney	135
Iron	V	ferrozine, teepol, ascorbic acid	35
Erythrocytes Hemoglobin MCV Leukocytes Platelets	A L N V	Coulter counter	
Urea	P L N V	Diacetylmonoxime thiosemicarbazide (continuous flux)	112
Glucose	P	glucose dehydrogenase	13
	L V	glucose oxidase (continuous flow)	166
	N	Neocuproine (continuous flow)	
GPT	P L V	SFBC, 30 °C	113
	N	DGKC, 25 °C	17
GGT	N	DGKC, 25 °C	160
	L P	DGKC, 30 °C	
	V	DGKC, 37 °C	

A = Laboratoire Central de Biochimie, Hôpital Beaujon, 100, boulevard du Général-Leclerc, F–92110 Clichy (France);
B = F. Hoffmann-La Roche et Cie, Division Vitamines et Chimie Fine, Dept. V.F., 124, Grenzacherstrasse, CH–4002 Basel (Switzerland);
C = Centre de Recherches sur la Nutrition du CNRS, 9, rue Jules-Hetzel, F–92190 Meudon-Bellevue (France);
L = Laboratoire de Vitaminologie, Institut Pasteur, 77, rue Pasteur, F–69365 Lyon Cedex 2 (France);
N = Laboratoire de Biochimie, Centre Hospitalier de Nevers, Service de Diabétologie et des Maladies de la Nutrition, F–58320 Pougues-les-Eaux (France);
P = Laboratoire de Biochimie, Hôpital Lariboisière, 2, rue Ambroise-Paré, F–75475 Paris Cedex 10 (France);
Q = INSERM U-18, 6, rue Guy-Patin, F–75010 Paris (France);
V = Laboratoire du Centre de Médecine Préventive, 2, avenue du Doyen-J.-Parisot, F–54500 Vandœuvre-lès-Nancy (France);
SFBC = Société Française de Biologie Clinique;
DGKC = Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie.

Tableau III. *Paramètres sanguins et méthodes de dosage*

Paramètres	*Laboratoires*	*Méthodes*	*Références*
Vitamine B_1	*A L N*	*activation de la transcétolase érythrocytaire en présence de diphosphoryl thiamine (effet DPT); activité de la transcétolase érythrocytaire à 37 °C*	*48*
Vitamine B_2	*B*	*activation de la glutathion-réductase érythrocytaire en présence de la flavine-adénine dinucléotide (α-EGR)*	*64*
Folates plasmatiques et totaux	*C*	*méthode microbiologique*	*187*
Rétinol	*B*	*fluorométrie après chromatographie d'un extrait n hexane*	*29*
β-Carotène	*B*	*photométrie à 450 nm après chromatographie d'un extrait n hexane*	*29*
Vitamine E (tocophérols totaux)	*B*	*bathophénantroline ferrique après chromatographie*	*70*
Vitamine D (25-OH-D)	*Q*	*radiocompétition, protéine porteuse rénale de rat*	*135*
Fer	*V*	*ferrozine, teepol, acide ascorbique*	*35*
Erythrocytes *Hémoglobine* *Volume globulaire moyen* *Leucocytes* *Plaquettes*	*A L N V*	*compteurs électroniques*	
Urée	*P L N V*	*diacétylmonoxime thiosemi-carbazide (flux continu)*	*112*
Glucose	*P* *L V* *N*	*glucose déshydrogénase* *glucose oxydase (flux continu)* *néocuproïne (flux continu)*	*13* *166*
GPT	*P L V* *N*	*SFBC, 30 °C* *DGKC, 25 °C*	*113* *17*
GGT	*N* *L P* *V*	*DGKC, 25 °C* *DGKC, 30 °C* *DGKC, 37 °C*	*160*

A = Laboratoire Central de Biochimie, Hôpital Beaujon, 100, boulevard du Général-Leclerc, F–92110 Clichy (France);
B = F. Hoffmann-La Roche et Cie, Division Vitamines et Chimie Fine, Dept. V.F., 124, Grenzacherstrasse, CH–4002 Bâle (Suisse);
C = Centre de Recherches sur la Nutrition du CNRS, 9, rue Jules-Hetzel, F–92190 Meudon-Bellevue (France);
L = Laboratoire de Vitaminologie, Institut Pasteur, 77, rue Pasteur, F–69365 Lyon Cedex 2 (France);
N = Laboratoire de Biochimie, Centre Hospitalier de Nevers, Service de Diabétologie et des Maladies de la Nutrition, F–58320 Pougues-les-Eaux (France);
P = Laboratoire de Biochimie, Hôpital Lariboisière, 2, rue Ambroise-Paré, F–75475 Paris Cedex 10 (France);
Q = INSERM U-18, 6, rue Guy-Patin, F–75010 Paris (France);
V = Laboratoire du Centre de Médecine Préventive, 2, avenue du Doyen-J.-Parisot, F–54500 Vandœuvre-lès-Nancy (France);
SFBC = Société Française de Biologie Clinique;
DGKC = Deutsche Gesellschaft für klinische Chemie.

The results obtained in each subject were compared to the interpretative limits reported in the literature for the assays used. These values served as a basis to classify the subjects into groups according to their risks of developing a vitamin deficiency (table IV).

Les vitamines A, E, D, le β-carotène, le fer, l'urée, le glucose et l'activité de la GPT et de la GGT ont été mesurés sur plasma hépariné, les folates sur sang recueilli sur EDTA et les vitamines B_1 et B_2 (activation enzymatique) sur culot érythrocytaire hépariné. Les échantillons congelés (glace carbonique) ont voyagé par la poste en emballages spécialement étudiés.

Table IV. Interpretative guidelines for biochemical vitamin status

	References	Status		
		deficient	borderline	normal
Vitamin B_1				
Transketolase, U/l	48	< 110	110–130	> 130
TPP effect, %	47	> 30	30–20	< 20
Vitamin B_2				
activation of glutathion reductase (α-EGR)	64	> 1.30	1.30–1.20	< 1.20
Folates				
Plasma, µg/l	134	< 2.5	2.5–5	> 5
Erythrocyte, µg/l	134	< 100	100–200	> 200
Total, µg/l	134	< 50	50–100	> 100
Vitamin A				
Retinol, µg/l	30	< 100	100–400	> 400
β-Carotene[a], µg/l	30		< 400	> 400
Vitamin E				
Total tocopherol, mg/l	70	< 4	4–6	> 6
Vitamin D				
25-OH-D, µg/l	115	< 5	5–10	> 10

[a] Values apply if preformed retinol supply is low.

Pour les dosages biochimiques qui ont été effectués par plusieurs laboratoires – vitamine B_1, glucose, urée, GPT, GGT – a été mis en place un contrôle de qualité inter-laboratoire. Pour la vitamine B_1, il a consisté en l'envoi pendant la durée de l'étude de culots de globules rouges congelés. Les résultats de ce contrôle se sont avérés satisfaisants. Pour les quatre autres paramètres, chaque laboratoire a reçu une série de 26 sérums de contrôle du commerce lyophilisés ou liquides dans une gamme de concentration étendue. Pour chaque paramètre les coefficients des droites de régression de chaque laboratoire par rapport à un laboratoire fictif ont été utilisés comme facteur de correction entre les quatre laboratoires concernés.

Pour chaque personne, les résultats des examens ont été comparés aux limites interprétatives de la littérature pour les méthodes de dosage employées (tab. IV). Ces valeurs ont été utilisées pour classer les sujets étudiés en groupes correspondant à un risque plus ou moins grand de déficience vitaminique.

***Tableau IV.** Limites interprétatives du statut vitaminique biochimique*

	Références	*Statut*		
		déficient	*marginal*	*normal*
Vitamine B_1				
Transcétolase, U/l	*48*	*< 110*	*110 à 130*	*> 130*
Effet DPT, %	*47*	*> 30*	*30 à 20*	*< 20*
Vitamine B_2				
Activation de la glutathion-réductase (α-EGR)	*64*	*> 1,30*	*1,30 à 1,20*	*< 1,20*
Folates				
Plasmatiques, µg/l	*134*	*< 2,5*	*2,5 à 5*	*> 5*
Erythrocytaires, µg/l	*134*	*< 100*	*100 à 200*	*> 200*
Totaux, µg/l	*134*	*< 50*	*50 à 100*	*> 100*
Vitamine A				
Rétinol, µg/l	*30*	*< 100*	*100 à 400*	*> 400*
β-Carotène[a], µg/l	*30*		*< 400*	*> 400*
Vitamine E				
Tocophérols totaux, mg/l	*70*	*< 4*	*4 à 6*	*> 6*
Vitamine D				
25-OH-D, µg/l	*115*	*< 5*	*5 à 10*	*> 10*

[a] *Valeurs limites si les apports en rétinol préformé sont faibles.*

Results - Discussion

Résultats – Discussion

Socioprofessional Classes and Physical Activity

Socioprofessional Classes

Although they are not representative of the general population, the two control groups – CM and CF – included all the professions. Manual workers predominated in the CM group and employees in the CF group (fig. 1). The activity rate of our sample is identical to that of the male and female populations in France between 20 and 45 years of age in 1981 [5]. Compared to the distribution of professions in France, manual workers and farmers are underrepresented, whereas employees and middle-management personnel are overrepresented in the control groups.

Among men, the professional range of obese groups (OM_1 and OM_2) is similar to that of the corresponding controls but in both samples of alcohol drinkers, there was a higher proportion of manual workers (about 50%) and a lower proportion of liberal professions (3%) and middle-management personnel (11%).

In the female obese groups, the proportion of manual workers (17% of OF_2) and of non-working subjects (46% of OF_1) was higher, that of employees (21%) and that of middle-management personnel (6%) was lower than in the control group (CF). In the AF_1 group there were many waitresses and subjects with similar jobs (37%). All the differences noted are significant (χ^2 test; $p < 0.05$).

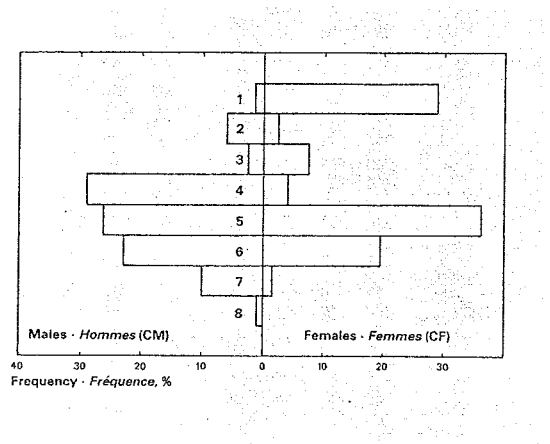
Catégories socioprofessionnelles et activité physique

Catégories socioprofessionnelles

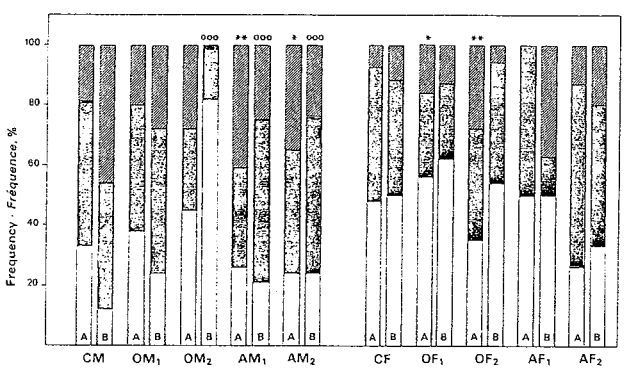
Bien qu'ils ne soient pas représentatifs de la population générale, les deux échantillons témoins – CM et CF – couvrent la totalité de l'éventail des professions. Les ouvriers dominent dans le groupe CM, les employés dans le groupe CF (fig. 1). Le taux d'activité de notre échantillon est identique à celui de la population française masculine et féminine, âgée de 20 à 45 ans en 1981 [5]. Par rapport à la répartition des professions en France, les ouvriers et les agriculteurs sont sous-représentés et les employés et les cadres moyens sont surreprésentés chez les témoins.

L'éventail professionnel des groupes OM_1 et OM_2 est comparable à celui des témoins correspondants, mais dans les deux échantillons de buveurs d'alcool, on note une plus forte proportion d'ouvriers (50% environ) et une proportion plus faible de professions libérales (3%) et de cadres moyens (11%).

Chez les femmes, la proportion d'ouvrières (17% pour OF_2) et de personnes non actives (46% pour OF_1) est plus grande; celle des employées (21%) et des cadres moyens (6%) plus petite dans les groupes d'obèses que dans le groupe témoin (CF). Dans le groupe AF_1, les personnels de service sont nombreux (37%). Toutes les différences notées sont significatives (test de χ^2; $p < 0,05$).



1



2

Fig. 1. Professional structure of the control samples. 1 = Non-working subjects; 2 = other categories; 3 = waiters and similar jobs; 4 = manual workers; 5 = employees; 6 = middle management; 7 = liberal professions, top management; 8 = farmers.

Fig. 2. Physical activity during working times (A) and during leisure time (B). ☐ = Little activity; ▒ = moderate activity; ▨ = fair or high activity. χ^2 test; $*p < 0.05$, $**p < 0.01$ (difference vs. CM or CF during working time); $°°°p < 0.001$ (difference vs. CM or CF during leisure time).

Fig. 1. *Structure professionnelle des échantillons témoins. 1 = Personnes non actives; 2 = autres catégories; 3 = personnels de service; 4 = ouvriers; 5 = employés; 6 = cadres moyens; 7 = professions libérales, cadres supérieurs; 8 = agriculteurs.*

Fig. 2. *Activité physique pendant le travail (A) et pendant les loisirs (B).* ☐ *= Activité faible;* ▒ = activité modérée; ▨ *= activité moyenne ou forte. Test de* χ^2*;* $*p < 0{,}05$, $**p < 0{,}01$ *(différences avec CM ou CF pendant le travail);* $°°°p < 0{,}001$ *(différences avec CM ou CF pendant les loisirs).*

As in many other investigations, the two risk factors, alcohol and obesity, were linked to the socioprofessional class; the lower the professional status the higher the frequency of these factors [39, 44].

Comme dans bien d'autres enquêtes, les deux facteurs de risque alcool et obésité sont liés à la catégorie socioprofessionnelle; plus on descend dans l'échelle des professions, plus la fréquence de ces facteurs est élevée [39, 44].

Physical Activity

Physical activity at work or during leisure time was evaluated via a questionnaire (fig. 2). Among men, working time was considered more active by groups AM_1 and AM_2 than by group CM, whereas leisure time was considered more active by group CM than by groups OM_2, AM_1, and AM_2. Among women, only groups OF_1 and OF_2 considered working time to be more active than did group CF.

The disparity in the professional structure of the groups may account for the different pattern of these responses. So, compared to the control groups, there is a higher proportion of manual workers in groups AM_1, AM_2, OF_1 and OF_2 and inversely a lower proportion of employees and middle-management personnel who are less physically active during their working time.

Activité physique

L'activité physique pendant le travail ou les loisirs a été appréciée à l'aide d'un questionnaire (fig. 2). Chez les hommes, le travail est considéré comme plus actif par les groupes AM_1 et AM_2 que par le groupe témoin, tandis que les loisirs sont considérés comme plus actifs par le groupe témoin que par OM_2, AM_1 et AM_2. Chez les femmes, seule l'activité au travail est plus importante pour le groupe OF_2 que pour le groupe témoin CF.

Ces constatations sont en accord avec les différences de structure professionnelle qui existent entre les groupes. Par exemple, dans les groupes AM_1, AM_2, OF_1 et OF_2, la proportion d'ouvriers est plus importante que dans les groupes témoins tandis que la proportion d'employés et de cadres moyens y est plus faible. Comme l'activité du travail est souvent plus faible chez les employés et les cadres moyens, les différences signalées peuvent être expliquées en partie (fig. 2).

Table V. Height, weight, weight index (WI) of men and women in the different samples (mean ± SD)

	Control	Obese 1	Obese 2	Drinkers 1	Drinkers 2
Men					
Height, cm	174.8 ± 5.9	173.5 ± 7.1	172.8 ± 5.1	175.0 ± 8.0	171.0 ± 6.0***
Weight, kg	69.3 ± 6.2	87.0 ± 8.5***	115.2 ± 17.8***	76.9 ± 11.7***	78.5 ± 17.9***
WI[a]	1.01 ± 0.08	1.28 ± 0.08***	1.71 ± 0.85***	1.12 ± 0.14***	1.19 ± 0.26***
Women					
Height, cm	161.3 ± 6.7	158.5 ± 5.3**	160.5 ± 6.4	165.0 ± 6.0	162.0 ± 5.0
Weight, kg	54.6 ± 4.9	69.6 ± 5.7***	95.4 ± 12.5***	56.7 ± 4.6	64.1 ± 11.2***
WI[a]	0.97 ± 0.07	1.28 ± 0.07***	1.70 ± 0.2***	0.99 ± 0.07	1.14 ± 0.21***

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ (differences versus corresponding controls; t test).

[a] See page 20.

Age, Height, Weight, Weight Index and Cardiac Parameters

Age (table I)

There was no significant age difference between the obese subjects of all groups and the corresponding controls. The drinkers of all groups were significantly older than the corresponding controls, although they were selected according the same age criteria.

Height, Weight and Weight Index (tables I, V)

The observed differences in weight and weight index resulted from the selection criteria of the obese groups.

Age, taille, poids, indice pondéral, paramètres cardiaques

Age *(tab. I)*

Il n'y a pas de différence significative d'âge entre les obèses des deux groupes et les témoins correspondants. Bien que sélectionnés selon les mêmes critères d'âge, les buveurs des deux groupes sont significativement plus âgés que les témoins correspondants.

Taille, poids, indice pondéral *(tab. I, V)*

Les différences observées au niveau du poids et de l'indice pondéral découlent des critères de sélection pour les groupes d'obèses.

Tableau V. *Taille, poids, indice pondéral (IP) chez les hommes et les femmes des échantillons (moyenne ± écart-type)*

	Témoin	*Obèse 1*	*Obèse 2*	*Buveurs 1*	*Buveurs 2*
Hommes					
Taille, cm	174,8 ± 5,9	173,5 ± 7,1	172,8 ± 5,1	175,0 ± 8,0	171,0 ± 6,0***
Poids, kg	69,3 ± 6,2	87,0 ± 8,5***	115,2 ± 17,8***	76,9 ± 11,7***	78,5 ± 17,9***
IP[a]	1,01 ± 0,08	1,28 ± 0,08***	1,71 ± 0,85***	1,12 ± 0,14***	1,19 ± 0,26***
Femmes					
Taille, cm	161,3 ± 6,7	158,5 ± 5,3**	160,5 ± 6,4	165,0 ± 6,0	162,0 ± 5,0
Poids, kg	54,6 ± 4,9	69,6 ± 5,7***	95,4 ± 12,5***	56,7 ± 4,6	64,1 ± 11,2***
IP[a]	0,97 ± 0,07	1,28 ± 0,07***	1,70 ± 0,2***	0,99 ± 0,07	1,14 ± 0,21***

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ *(différences avec témoins correspondants; test t).*

[a] *Voir page 20.*

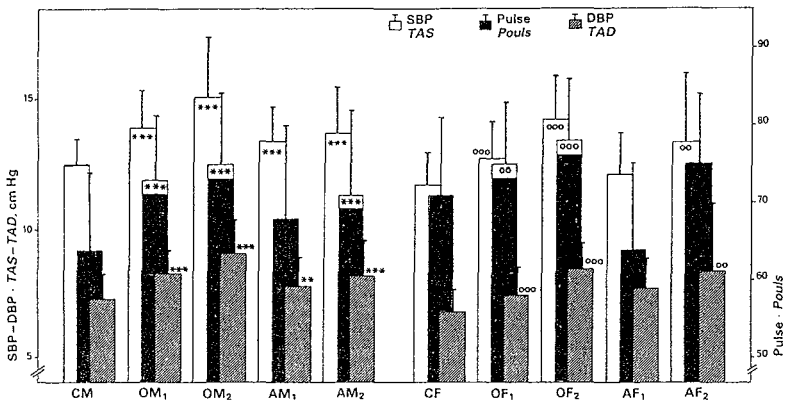


Fig. 3. Cardiac parameters: systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP) and pulse. Mean ± SD. T test: $^{**}p < 0.01$, $^{***}p < 0.001$ (difference vs. CM); $^{\circ\circ}p < 0.01$, $^{\circ\circ\circ}p < 0.001$ (difference vs. CF).

Fig. 3. Paramètres cardiaques: tensions artérielles systolique (TAS), diastolique (TAD) et pouls. Moyennes + écarts-types. Test de t; $^{**}p < 0{,}01$, $^{***}p < 0{,}001$ (différences avec CM); $^{\circ\circ}p < 0{,}01$, $^{\circ\circ\circ}p < 0{,}001$ (différences avec CF).

Cardiac Parameters

The means and standard deviations of systolic and diastolic blood pressure and cardiac frequency are shown for the various samples (fig. 3). In the obese and drinker groups, both pressures, in both men and women, were significantly higher compared to the controls, with the exception of group AF_1 which was probably not large enough. Also, cardiac rhythm at rest was higher in these groups, except for AF_1 and AF_2.

These results agree closely with data in the literature concerning positive correlations between blood pressure values and weight of the subjects and between the prevalence of high blood pressure and overweight [33, 40, 140, 155, 165]. The same types of relations were noted between alcohol intake and blood pressure [43, 73].

Paramètres cardiaques

Les moyennes et écarts-types des tensions artérielles systolique et diastolique et de la fréquence cardiaque sont représentés pour les différents échantillons (fig. 3). Dans les groupes d'obèses et de buveurs, on note une augmentation significative des deux tensions artérielles par rapport aux groupes témoins, chez les hommes comme chez les femmes, sauf pour les groupes AF_1 dont l'effectif est insuffisant. De même, le rythme cardiaque de repos est plus élevé dans ces mêmes groupes excepté pour AF_1 et AF_2.

Les résultats enregistrés sont en bon accord avec les données de la littérature en ce qui concerne les relations positives notées entre les chiffres de tensions artérielles et le poids des sujets et entre la prévalence de l'hypertension artérielle et du surpoids [33, 40, 140, 155, 165]. Les mêmes types de liaisons ont été notés entre la consommation d'alcool et les tensions artérielles [43, 73].

Diet

Energy and Macronutrient Intake

Controls (tables VI, VII; curves 1–8)

Daily alcohol intake in the controls was limited to 43 g for men and 21 g for women. The subjects of this sample had a rather high calorie intake: only 24% men and 20% women had a lower intake than that recommended for the French population [52], i.e. 2,700 and 2000 kcal, respectively. Also our results are higher than those published in French or foreign investigations for samples of similar age [6, 8, 123, 169]. These differences may reach 400–600 kcal and are unrelated to the limits of alcohol intake set in this study.

The mean food consumption of men was 700 kcal higher than that of women; an identical intersex difference was noted in the Heidelberg study [6] and in French recommendations [52].

Macronutrient distribution without alcohol, which differed little according to sex, is comparable to that usually found in France [126–128], and in the FRG [6]. However, our sample ingested relatively more lipids and fewer carbohydrates than did young adults in Ede, The Netherlands [8] (table VIII).

The differences between our results and those of other dietary studies [117, 168, 169, 179, 180] are difficult to interpret. Food composition tables, methods of dietary questioning and duration of the investigation often differ from one study to another. Each study design has technical advantages and disadvantages, and the significance and validity of the results differ [45]. Some authors [118, 159] find the results of various designs comparable. For teams who have tested several methods of investigating the same popu-

Alimentation

Apports énergétiques et macronutriments

Témoins *(tab. VI, VII; courbes 1–8)*

Par définition, la consommation journalière d'alcool chez les témoins a été limitée à 43 g pour les hommes et à 21 g pour les femmes. Les sujets de cet échantillon absorbent en moyenne des rations caloriques relativement importantes: seulement 24% des hommes et 20% des femmes ont des apports inférieurs à ceux recommandés pour la population française [52] c'est-à-dire respectivement 2700 et 2000 kcal. De même, nos résultats sont supérieurs à ceux publiés lors d'enquêtes françaises ou étrangères portant sur des échantillons d'âge comparable [6, 8, 123, 169]. Ces différences, qui peuvent atteindre 400–600 kcal dans certains cas, ne s'expliquent pas par le biais des apports alcooliques qui sont ici limités par définition.

Les hommes absorbent en moyenne 700 kcal de plus que les femmes; une différence inter-sexe identique est notée dans l'enquête de Heidelberg [6] et dans les recommandations françaises [52].

La répartition des macronutriments dans l'apport énergétique sans alcool, peu différente selon le sexe, est comparable à celle que l'on observe habituellement en France [126–128] et en RFA [6]. Par contre, notre échantillon consomme relativement plus de lipides et moins de glucides que les jeunes adultes de Ede aux Pays-Bas [8] (tab. VIII).

Les différences notées entre nos résultats et ceux d'autres enquêtes diététiques [117, 168, 169, 179, 180] sont d'interprétation difficile. Les tables de composition des aliments, les protocoles d'interrogatoire diététique, la durée de l'enquête sont souvent différents d'une étude à l'autre. A chaque type de protocole correspon-

Table VI. Daily energy and macronutrient supply in men (mean ± SD)

	CM	OM_1	OM_2	AM_1	AM_2
Total energy supply, kcal	3,112 ± 598 °°°	3,151 ± 869	3,527 ± 474*	3,587 ± 638***	3,954 ± 969***
Energy supply without alcohol, kcal	2,991 ± 594 °°°	3,010 ± 853	3,462 ± 459*	3,118 ± 639	3,070 ± 749
Protein, g	103 ± 19 °°°	111 ± 30	124 ± 12***	112 ± 23**	111 ± 28*
Protein, %[a]	13.8 ± 1.9	14.7 ± 2.2*	14.3 ± 1.8	14.4 ± 2.1*	14.5 ± 2.0**
Carbohydrates, g	305 ± 79 °°°	311 ± 135	344 ± 85	300 ± 83	306 ± 105
Carbohydrates, %[a]	40.8 ± 5.1	41.4 ± 8.7	39.9 ± 7.3	38.5 ± 5.9**	39.8 ± 7.3
Lipids, g	151 ± 33 °°°	147 ± 37	176 ± 34*	163 ± 38*	156 ± 42
Total, %[a]	45.4 ± 4.7	43.9 ± 7.5	45.8 ± 6.6	47.1 ± 5.7*	45.7 ± 7.0
Saturated, %[a]	19.4	19.4	19.0	20.1	19.0
Monounsaturated, %[a]	17.9	17.1	19.5	19.2	18.3
Polyunsaturated, %[a]	8.1	7.4	7.1	7.8	8.4
Alcohol, g	17.3 ± 14.0 °°°	20.2 ± 17.6	9.4 ± 12.4	67.1 ± 12.7***	126.2 ± 62.8***
Fiber, g	5.6 ± 2.3 °°	6.5 ± 4.2	7.1 ± 2.4*	5.6 ± 2.3	6.2 ± 2.7

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ (differences versus CM; t test).
° $p < 0.05$; °° $p < 0.01$; °°° $p < 0.001$ (differences between CM and CF; t test; CF values, see table VII).
[a] As a function of energy supply without alcohol.

Table VII. Daily energy and macronutrient supply in women (means ± SD)

	CF	OF_1	OF_2	AF_1	AF_2
Total energy supply, kcal	2,418 ± 484 °°°	2,382 ± 899	2,325 ± 758	2,650 ± 194	3,220 ± 1,165***
Energy supply without alcohol, kcal	2,369 ± 478 °°°	2,340 ± 898	2,288 ± 739	2,465 ± 199	2,595 ± 910
Protein, g	84 ± 18 °°°	89 ± 25	88 ± 24	86 ± 17	95 ± 32
Protein, %[a]	14.2 ± 2.2	15.2 ± 3.1**	15.4 ± 2.8**	14.0 ± 2.5	14.7 ± 2.3
Carbohydrates, g	236 ± 63 °°°	232 ± 127	215 ± 95	248 ± 33	242 ± 104
Carbohydrates, %[a]	39.8 ± 5.5	39.7 ± 7.5	37.7 ± 6.7*	40.3 ± 5.8	37.4 ± 8.2
Lipids, g	121 ± 26 °°°	117 ± 39	119 ± 38	125 ± 21	138 ± 51
Total, %[a]	46.0 ± 5.0	45.1 ± 6.5	46.9 ± 6.1	45.7 ± 5.2	47.9 ± 7.9
Saturated, %[a]	20.1	19.5	20.4	20.9	21.0
Monounsaturated, %[a]	17.8	17.3	19.0	16.3	20.0
Polyunsaturated, %[a]	8.1	8.2	7.5	8.5	6.9
Alcohol, g	6.9 ± 7.6 °°°	5.9 ± 10.3	5.4 ± 7.7	26.5 ± 4.2***	89.3 ± 52.2***
Fiber, g	4.8 ± 2.6 °°	5.3 ± 2.9	4.8 ± 2.9	6.0 ± 2.4	4.3 ± 2.9

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ (differences vs. CF; t test).
° $p < 0.05$; °° $p < 0.01$; °°° $p < 0.001$ (differences between CF and CM; t test; CM values, see table VI).
[a] As a function of energy supply without alcohol.

Tableau VI. *Apports journaliers en énergie et macronutriments chez les hommes (moyenne ± écart-type)*

	CM	*OM_1*	*OM_2*	*AM_1*	*AM_2*
Apports énergétiques totaux, kcal	*3112 ± 598°°°*	*3151 ± 869*	*3527 ± 474**	*3587 ± 638****	*3954 ± 969****
Apports énergétiques sans alcool, kcal	*2991 ± 594°°°*	*3010 ± 853*	*3462 ± 459**	*3118 ± 639*	*3070 ± 749*
Protéines, g	*103 ± 19°°°*	*111 ± 30*	*124 ± 12****	*112 ± 23***	*111 ± 28**
Protéines, %[a]	*13,8 ± 1,9*	*14,7 ± 2,2**	*14,3 ± 1,8*	*14,4 ± 2,1**	*14,5 ± 2,0***
Glucides, g	*305 ± 79°°°*	*311 ± 135*	*344 ± 85*	*300 ± 83*	*306 ± 105*
Glucides, %[a]	*40,8 ± 5,1*	*41,4 ± 8,7*	*39,9 ± 7,3*	*38,5 ± 5,9***	*39,8 ± 7,3*
Lipides, g	*151 ± 33°°°*	*147 ± 37*	*176 ± 34**	*163 ± 38**	*156 ± 42*
Totaux, %[a]	*45,4 ± 4,7*	*43,9 ± 7,5*	*45,8 ± 6,6*	*47,1 ± 5,7**	*45,7 ± 7,0*
Saturés, %[a]	*19,4*	*19,4*	*19,0*	*20,1*	*19,0*
Monoinsaturés, %[a]	*17,9*	*17,1*	*19,5*	*19,2*	*18,3*
Polyinsaturés, %[a]	*8,1*	*7,4*	*7,1*	*7,8*	*8,4*
Alcool, g	*17,3 ± 14,0°°°*	*20,2 ± 17,6*	*9,4 ± 12,4*	*67,1 ± 12,7****	*126,2 ± 62,8****
Fibres, g	*5,6 ± 2,3°°*	*6,5 ± 4,2*	*7,1 ± 2,4**	*5,6 ± 2,3*	*6,2 ± 2,7*

** $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ (différences avec CM; test t).*

° $p < 0,05$; °° $p < 0,01$; °°° $p < 0,001$ (différences entre CM et CF; test t; CF voir tab. VII).

[a] *En fonction des apports énergétiques sans alcool.*

Tableau VII. *Apports journaliers en énergie et macronutriments chez les femmes (moyenne ± écart-type)*

	CF	*OF_1*	*OF_2*	*AF_1*	*AF_2*
Apports énergétiques totaux, kcal	*2418 ± 484°°°*	*2382 ± 899*	*2325 ± 758*	*2650 ± 194*	*3220 ± 1165****
Apports énergétiques sans alcool, kcal	*2369 ± 478°°°*	*2340 ± 898*	*2288 ± 739*	*2465 ± 199*	*2595 ± 910*
Protéines, g	*84 ± 18°°°*	*89 ± 25*	*88 ± 24*	*86 ± 17*	*95 ± 32*
Protéines, %[a]	*14,2 ± 2,2*	*15,2 ± 3,1***	*15,4 ± 2,8***	*14.0 ± 2,5*	*14,7 ± 2,3*
Glucides, g	*236 ± 63°°°*	*232 ± 127*	*215 ± 95*	*248 ± 33*	*242 ± 104*
Glucides, %[a]	*39,8 ± 5,5*	*39,7 ± 7,5*	*37,7 ± 6,7**	*40,3 ± 5,8*	*37,4 ± 8,2*
Lipides, g	*121 ± 26°°°*	*117 ± 39*	*119 ± 38*	*125 ± 21*	*138 ± 51*
Totaux, %[a]	*46,0 ± 5,0*	*45,1 ± 6,5*	*46,9 ± 6,1*	*45,7 ± 5,2*	*47,9 ± 7,9*
Saturés, %[a]	*20,1*	*19,5*	*20,4*	*20,9*	*21,0*
Monoinsaturés, %[a]	*17,8*	*17,3*	*19,0*	*16,3*	*20,0*
Polyinsaturés, %[a]	*8,1*	*8,2*	*7,5*	*8,5*	*6,9*
Alcool, g	*6,9 ± 7,6°°°*	*5,9 ± 10,3*	*5,4 ± 7,7*	*26,5 ± 4,2****	*89,3 ± 52,2****
Fibres, g	*4,8 ± 2,6°°*	*5,3 ± 2,9*	*4,8 ± 2,9*	*6,0 ± 2,4*	*4,3 ± 2,9*

** $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ (différences avec CF; test t).*

° $p < 0,05$; °° $p < 0,01$; °°° $p < 0,001$ (différences entre CF et CM; test t; CM, voir tab. VI).

[a] *En fonction des apports énergétiques sans alcool.*

lation, the results for certains nutrients differ considerably. This is the case [6], for instance, when alcohol intake estimated for 1 day only is compared with that estimated via a questionnaire or written investigation covering 7 days. Aside from ethnological differences [89], the population samples concerned are rarely similar (age differences, representativity, selection criteria). Such comparisons do not allow any firm conclusions to be drawn; they are only indicative.

Anyway, the dietary pattern of the group studied is quite divergent from the national recommendations. Less than 5% of the men and women ingested more than 50% of carbohydrates and less than 35% of lipids,

dent un certain nombre d'avantages et d'inconvénients techniques; une signification et une validité différente des résultats [45]. Pour certains auteurs [118, 159], les résultats des divers types de protocoles sont souvent comparables. Pour les équipes qui ont testé plusieurs méthodes d'enquête sur la même population, on peut dans certains nutriments objectiver des différences notables. C'est le cas, par exemple [6], quand on compare l'apport d'alcool estimé par des protocoles rétrospectifs sur 1 jour avec les résultats d'un questionnaire ou d'une enquête prospective conduite sur 7 jours. D'autre part, les échantillons de population concernés ne sont, en dehors des différences ethnologiques [89], que rarement superposables (différences

Table VIII. Mean energy and macronutrient supply: comparison with some other European investigations

Country:	France (ESVITAF)[a]		FRG [6][b]		The Netherlands [8][b]		The Netherlands [91][b]
Type of survey:	7 days		7 days		2 days		dietary history
Years:	1979–1980		1975–1979		1980		1970
Subjects, age:	18–45		20–40		19–31		50–69
	CM (n = 189)	CF (n = 173)	♂ (n = 564)	♀ (n = 621)	♂ (n = 122)	♀ (n = 140)	(♂, n = 615)
Energy supply with alcohol, kcal	3,112	2,418	2,544	1,985	3,005	2,173	2,579
Energy supply without alcohol, kcal	2,991	2,369	2,324	1,879	2,846	2,114	2,513
Protein, %[d]	13.8	14.2	14.2	13.5	13.3	14.0	12.8
Carbohydrates, %[d]	40.8	39.8	37.9	39.7	46.9	46.6	43.8
Total lipids, %[d]	45.4	46.0	47.9	46.8	39.8	39.4	43.4
Saturated lipids, %[d]	19.4	20.1	25.1	24.8	17.8	17.9	17.7
Monounsaturated lipids, %[d]	17.9	17.8	–	–	14.8	14.8	18.4
Polyunsaturated lipids, %[d]	8.1	8.1	6.6[c]	6.5[c]	6.2	5.7	7.2

[a] Selected sample.
[b] Representative or exhaustive sample.
[c] Linoleic acid.
[d] As a function of energy supply without alcohol.

whereas protein intake largely covered the requirements: 100% of the men and 97.5% of the women ingested more than 80% of the RDA.

Of the total energy intake, the proportion of saturated, monounsaturated and polyunsaturated lipids was identical in men and women. Saturated and monounsaturated fats predominated corresponding to a higher daily intake of animal fat [41]. The same observations were reported in the Heidelberg study [6] (table VIII). Polyunsaturated fat represented about 8% of the nonalcohol calorie intake. This amount has been judged satisfactory by the 'Commission on Recommended Nutritional Intake of CNERNA'.

d'âge, de représentativité, de critères de sélection). Les comparaisons que l'on peut faire ne peuvent déboucher sur des conclusions solides: elles n'ont qu'une valeur d'orientation.

Quoi qu'il en soit, le comportement alimentaire du groupe étudié est assez éloigné des recommandations nationales. En effet, moins de 5% des hommes et des femmes consomment plus de 50% de glucides et moins de 35% de lipides. Quant aux protéines, les apports couvrent largement les besoins: 100% des hommes et 97,5% des femmes absorbent journalièrement plus de 80% des apports recommandés.

La proportion de chaque classe de lipides saturés, monoinsaturés et polyinsaturés dans

Tableau VIII. *Apports moyens en énergie et en macronutriments: comparaison avec quelques études européennes*

Pays:	*France (ESVITAF)*[a]		*RFA [6]*[b]		*Pays-Bas [8]*[b]		*Pays-Bas [91]*[b]
Type d'enquête:	*7 jours*		*7 jours*		*2 jours*		*histoire alimentaire*
Années:	*1979–1980*		*1975–1979*		*1980*		*1970*
Age des sujets:	*18–45*		*20–40*		*19–31*		*50–69*
	CM (n = 189)	*CF (n = 173)*	*♂ (n = 564)*	*♀ (n = 621)*	*♂ (n = 122)*	*♀ (n = 140)*	*(♂, n = 615)*
Apports énergétiques avec alcool, kcal	*3112*	*2418*	*2544*	*1985*	*3005*	*2173*	*2579*
Apports énergétiques sans alcool, kcal	*2991*	*2369*	*2324*	*1879*	*2846*	*2114*	*2513*
Protéines, %[d]	*13,8*	*14,2*	*14,2*	*13,5*	*13,3*	*14,0*	*12,8*
Glucides, %[d]	*40,8*	*39,8*	*37,9*	*39,7*	*46,9*	*46,6*	*43,8*
Lipides totaux, %[d]	*45,4*	*46,0*	*47,9*	*46,8*	*39,8*	*39,4*	*43,4*
Lipides saturés, %[d]	*19,4*	*20,1*	*25,1*	*24,8*	*17,8*	*17,9*	*17,7*
Lipides monoinsaturés %[d]	*17,9*	*17,8*	–	–	*14,8*	*14,8*	*18,4*
Lipides polyinsaturés %[d]	*8,1*	*8,1*	*6,6*[c]	*6,5*[c]	*6,2*	*5,7*	*7,2*

[a] *Echantillon sélectionné.*
[b] *Echantillon probabiliste ou exhaustif.*
[c] *Acide linoléique.*
[d] *Calcul à partir des apports énergétiques sans alcool.*

Obese Subjects (tables VI, VII)

In these groups as in the controls, alcohol intake was limited to 300 kcal for men and 147 kcal for women.

Among men, energy intake (total or nonalcohol energy) in group OM_2 only was significantly different from that of group CM. This difference in mean intake amounted to 400 kcal. The supplementary energy originated from a higher intake of protein, carbohydrates and fat (the difference was not significant for carbohydrates). As opposed to only 76% of group CM, 100% of group OM_2 ingested at least 2,700 kcal. Macronutrient distribution in relation to nonalcohol energy intake and to total energy intake with an alcohol limit of 300 kcal was comparable between control and obese subjects. Mean nonalcohol and total energy intake of the obese women was lower than that of the controls (CF). The approximate 90-kcal difference between the CF and OF_2 groups was not significant. However, the shape of the histogram of energy intake was different from that of the controls. As opposed to only 20% in group CF, in groups OF_1 and OF_2, 28% (NS) and 36% ($p < 0.05$), women respectively, ingested less than 2,000 kcal. The mean dietary behavior of these obese women was slightly different from that of the controls: the diet of OF_1 and OF_2 women was higher in protein and that of OF_2 was lower in carbohydrates. The composition of the lipid diet was comparable to that of the controls.

Except for group OM_2, which included only 11 subjects, our results agree with most studies in the literature; there is little difference between the mean caloric intakes of stable-weight men and women, whether they were obese or of normal weight. The energy intake of the obese was for the most part slightly less than that of the nonobese [2, 8,

la ration énergétique est identique chez les femmes et chez les hommes. Dans la ration lipidique, les graisses saturées et monoinsaturées sont les plus consommées. Cette plus grande proportion correspond à un apport de lipides d'origine animale plus important [41]. Les mêmes constatations ont été faites à Heidelberg [6] (tab. VIII). Les lipides polyinsaturés représentent environ 8% de l'apport calorique sans alcool, c'est la quantité qui est jugée pleinement satisfaisante par la Commission «Apports nutritionnels conseillés du CNERNA».

Obèses *(tab. VI, VII)*

Dans ce groupe, comme pour le groupe témoin, les apports alcooliques ont été limités à 300 kcal pour les hommes et 147 kcal pour les femmes.

Chez les hommes, les apports énergétiques ne sont significativement différents de ceux de CM que pour le groupe OM_2 que ce soit avec ou sans alcool. Cet apport supplémentaire moyen de 400 kcal provient des protéines, glucides et lipides (la différence n'est pas significative pour les glucides). Tous les hommes du groupe OM_2 consomment au moins 2700 kcal contre 76% des témoins (CM). La répartition des macronutriments en fonction de la ration énergétique sans alcool est comparable entre les témoins et les obèses excepté pour le groupe OM_1 qui consomme un peu plus de protéines. La composition de la ration lipidique n'est pas très différente entre les obèses et les témoins, il en est de même pour les apports alcooliques qui ont été limités à 300 kcal.

Chez les femmes obèses, les apports énergétiques moyens avec ou sans alcool sont un peu plus faibles que chez les témoins (CF). La différence de 90 kcal environ entre CF et OF_2 n'est pas significative. Par contre, la forme de l'histogramme de distribution des apports

19, 53, 80, 121, 171]. In some cases, there was a significant negative correlation between energy intake and degree of obesity or weight [6, 85, 92, 129, 130]. Some authors have shown that the lower calorie intake in obese subjects was related to less physical activity [106, 120], others have not found these relationships [105, 114].

Three main hypotheses have been proposed to explain the absence of a positive relationship between weight and calorie intake [8]: (1) the dietary investigations used in these studies were not suitable and the subjects might have underestimated the amount of food ingested [23, 45, 94]: (2) the period of life during which the subject became obese was often long before the investigation, and at the time of the study, many subjects decreased their intake to reduce or maintain their weight; (3) there is a very wide interindividual variability in energy requirements, especially as concerns thermogenesis and basic metabolism [127].

A dietary pattern similar to that of our samples – higher protein diets (OF_1, OF_2, OM_1) and lower carbohydrate diets (OF_2) – was noted in the Heidelberg study [6]. This trend is often associated with increased intake of fats and alcohol [6, 91, 130]. Other authors have reported that obese people ingest fewer energy foods such as fats, oil, sugar and high-sugar products [8, 85, 141].

Drinkers (tables VI, VII)

In male and female drinkers mean energy intake was – alcohol included – higher than that of the corresponding controls (a difference of 840 kcal between AM_2 and CM). Nonalcohol energy intake, however, was not significantly different from that of the controls (about 120 kcal between AM_1 and CM and about 225 kcal between AF_2 and CF).

énergétiques des obèses n'est pas superposable à celle des témoins. Dans les groupes OF_1 et OF_2, respectivement, 28% (NS) et 36% ($p < 0,05$) des femmes consomment moins de 2000 kcal contre 20% dans le groupe CF. Le comportement alimentaire moyen de ces femmes obèses est un peu différent de celui des témoins: OF_1 et OF_2 ont une alimentation plus riche en protéines, seul OF_2 a une alimentation moins riche en glucides. La composition de la ration lipidique est comparable à celle des témoins.

Hormis pour le groupe OM_2 qui ne comporte que 11 personnes, nos résultats concordent avec la plupart des travaux de la littérature: on trouve peu de différences importantes d'apport calorique moyen chez les hommes et les femmes de poids stable, qu'ils soient obèses ou de poids normal. Les apports énergétiques des obèses sont dans la plupart des cas légèrement inférieurs à ceux des non-obèses [2, 8, 19, 53, 80, 121, 171]. Dans certains cas, une relation significative négative a été notée entre les apports énergétiques et l'indice de corpulence ou le poids [6, 85, 92, 129, 130]. Certains auteurs ont montré que la diminution des apports caloriques chez les obèses était liée à une activité physique moindre [106, 120], d'autres n'ont pas noté ces liaisons [105, 114].

Trois hypothèses principales ont été avancées pour expliquer l'absence de relation positive entre le poids et les apports caloriques [8]:

1) les enquêtes diététiques utilisées dans ces études ne sont peut-être pas adaptées, les sujets peuvent sous-estimer la quantité de nourriture ingérée [23, 45, 94];

2) l'épisode de la vie pendant laquelle le sujet est devenu obèse est souvent bien antérieur à l'enquête et au moment de l'investigation bon nombre de sujets ont réduit leurs

This nonalcohol energy intake was derived mostly from proteins and fats. So, energy intake from alcohol seems to be super-added to the basic energy intake from the normal diet which, in our study, was 3,000–3,200 kcal for men and 2,400–2,600 kcal for women. Several authors have already reported this trend [16, 24, 36, 81].

Of course, the distribution of macronutrients in relation to total energy intake was different between drinkers and nondrinkers since alcohol calories act to dilute nutrient density. However, as reported by other authors [79, 81], the balance of the nonalcoholic diet was slightly modified: higher protein and lipid diets, lower carbohydrate diets for AM_1.

Vitamins and Iron

Controls (tables IX–XII, curves 9–22)

As expected from the data on macronutrient intakes, the daily mean intake of most micronutrients studied was significantly higher in men than in women. However, vitamin C and vitamin A did not follow this trend.

apports afin de maigrir ou même de maintenir leur poids;

3) Il existe une très grande variabilité inter-individuelle du besoin d'énergie, notamment pour la thermogénèse et le métabolisme de base [127].

Un comportement alimentaire semblable à celui de nos échantillons – alimentation plus riche en protéines (OF_1, OF_2 et OM_1) et moins riche en glucides (OF_2) – a été noté lors de l'enquête de Heidelberg [6]. Cette tendance est souvent associée à une consommation accrue en lipides d'origine animale ou autre et en alcool [6, 91, 130]. D'autres auteurs ont signalé que les personnes obèses consomment moins d'aliments qui fournissent beaucoup d'énergie tels que les graisses, l'huile, le sucre et les produits riches en sucre [8, 85, 141].

Buveurs *(tab. VI, VII)*

Chez les hommes comme chez les femmes, les apports énergétiques moyens avec alcool sont supérieurs à ceux des témoins correspondants (840 kcal entre AM_2 et CM). Les apports énergétiques sans alcool, par contre, ne sont pas significativement différents de ceux

Table IX. Daily vitamin and iron supply in men (means ± SD)

Vitamins and iron	CM	OM_1	OM_2	AM_1	AM_2
B_1, mg	1.20 ± 0.28 °°°	1.31 ± 0.40	1.54 ± 0.29***	1.28 ± 0.31*	1.34 ± 0.42**
B_2, mg	1.68 ± 0.50 °°°	1.71 ± 0.58	2.08 ± 0.24**	1.81 ± 0.49	1.84 ± 0.58*
A, µg RE	1,456 ± 723	1,531 ± 976	2,205 ± 663**	1,631 ± 833	1,406 ± 709
C, mg	75 ± 42	69 ± 44	85 ± 34	66 ± 30	68 ± 48
D, µg	4.6 ± 3.3 °°	4.0 ± 2.9	4.8 ± 2.6	4.2 ± 3.3	4.1 ± 3.0
E, mg	10.3 ± 2.1 °°°	11.1 ± 4.3	13.6 ± 4.0***	11.4 ± 3.2**	11.9 ± 3.8***
Folate, µg	182 ± 77 °	207 ± 118	286 ± 76***	208 ± 82*	230 ± 120***
Iron, mg	15.7 ± 3.9 °°°	17.7 ± 5.1*	19.5 ± 2.4**	20.9 ± 4.2***	24.3 ± 8.4***

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ (differences vs. CM; t test).
° $p < 0.05$; °° $p < 0.01$; °°° $p < 0.001$ (differences between CM and CF; CF values, see table X).

The amounts of vitamin A broken down into preformed retinol and β-carotene were of the same magnitude in both sexes:

men	retinol	765 ± 555 µg/day
	β-carotene	4.14 ± 2.6 mg/day
women	retinol	723 ± 537 µg/day
	β-carotene	4.32 ± 2.54 mg/day

The part of retinol in the overall supply of vitamin A, calculated from the above formula (p. 21), was not different between men and women (52.8 ± 19.9 and 49.7 ± 20.8%, respectively). This percentage is lower than that of 70% proposed by *Dupin* [52] for the French diet.

While men ate a larger quantitiy of food than women, the women's diet had higher concentrations of vitamins B_1, B_2, C and A, folate and iron. For 1,000 kcal of overall intake [69], the mean nutritional density of the six micronutrients was significantly higher in women (7–8% for vitamin B_1 and iron, 11% for vitamin B_2, 15% for folate, 28% for vitamins A and C).

des témoins, tout au plus 120 kcal environ entre AM_1 et CM et 225 kcal environ entre AF_2 et CF. Ces suppléments d'énergie proviennent surtout des protéines et des lipides. Contrairement à une idée préconçue, les apports énergétiques semblent surajoutés à une ration de base qui est dans notre étude de 3000–3200 kcal pour les hommes et de 2400–2600 kcal pour les femmes. Plusieurs travaux ont déjà signalé cette tendance [16, 24, 36, 81].

Bien évidemment, la répartition des macronutriments en fonction des apports énergétiques avec alcool est différente entre buveurs et non-buveurs, les calories alcool jouent un rôle de dilution. Les boissons alcooliques apportent en effet, par rapport à la ration non alcoolique, beaucoup plus d'énergie que de nutriments. La densité nutritionnelle des rations diminue donc sous l'effet des apports d'alcool. Par contre, comme l'ont montré d'autres auteurs [79, 81], l'équilibre de la ration non alcoolique est peu modifié: augmentation légère des rations protéiques et lipidiques, diminution de la ration glucidique pour AM_1.

Tableau IX. *Apports journaliers en vitamines et en fer chez les hommes (moyenne ± écart-type)*

Vitamines et fer	*CM*	*OM_1*	*OM_2*	*AM_1*	*AM_2*
B_1, mg	*1,20 ± 0,28°°°*	*1,31 ± 0,40*	*1,54 ± 0,29****	*1,28 ± 0,31**	*1,34 ± 0,42***
B_2, mg	*1,68 ± 0,50°°°*	*1,71 ± 0,58*	*2,08 ± 0,24***	*1,81 ± 0,49*	*1,84 ± 0,58**
A, µg ER	*1456 ± 723*	*1531 ± 976*	*2205 ± 663***	*1631 ± 833*	*1406 ± 709*
C, mg	*75 ± 42*	*69 ± 44*	*85 ± 34*	*66 ± 30*	*68 ± 48*
D, µg	*4,6 ± 3,3°°*	*4,0 ± 2,9*	*4,8 ± 2,6*	*4,2 ± 3,3*	*4,1 ± 3,0*
E, mg	*10,3 ± 2,1°°°*	*11,1 ± 4,3*	*13,6 ± 4,0****	*11,4 ± 3,2***	*11,9 ± 3,8****
Folates, µg	*182 ± 77°*	*207 ± 118*	*286 ± 76****	*208 ± 82**	*230 ± 120****
Fer, mg	*15,7 ± 3,9°°°*	*17,7 ± 5,1**	*19,5 ± 2,4***	*20,9 ± 4,2****	*24,3 ± 8,4****

** $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ (différences avec CM; test t).*

° $p < 0,05$; °° $p < 0,01$; °°° $p < 0,001$ (différences entre CM et CF; test t; CF, voir tab. X).

Table X. Daily vitamin and iron supply in women (means ± SD)

Vitamins and iron	CF	OF_1	OF_2	AF_1	AF_2
B_1, mg	1.00 ± 0.26°°°	1.11 ± 0.38	0.98 ± 0.25	0.98 ± 0.13	1.12 ± 0.46
B_2, mg	1.45 ± 0.43°°°	1.60 ± 0.55*	1.51 ± 0.41	1.51 ± 0.45	1.62 ± 0.71
A, µg RE	1,444 ± 695	1,554 ± 707	1,477 ± 645	1,476 ± 642	1,522 ± 1,183
C, mg	74 ± 38	79 ± 39	81 ± 59	73 ± 43	64 ± 34
D, µg	3.5 ± 2.5°°	3.8 ± 3.1	3.5 ± 2.6	2.7 ± 1.3	3.5 ± 3.1
E, mg	8.0 ± 2.2°°°	8.2 ± 2.6	7.6 ± 2.8	8.8 ± 1.2	8.6 ± 3.3
Folate, µg	160 ± 77°	184 ± 93*	169 ± 137	199 ± 63	195 ± 99
Iron, mg	13.0 ± 3.7°°°	13.8 ± 4.2	12.3 ± 3.3	15.4 ± 1.9*	17.3 ± 6.7***

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ (differences vs. CF; t test).
° $p < 0.05$; °° $p < 0.01$; °°° $p < 0.001$ (differences between CF and CM; t test; CM values, see table IX).

Table XI. Nutritional densities of men's diets (means ± SD)

Vitamins and iron	CM	OM_1	OM_2	AM_1	AM_2
B_1, mg/1,000 kcal	0.39 ± 0.06°°°	0.42 ± 0.08*	0.44 ± 0.08**	0.36 ± 0.06***	0.34 ± 0.08***
B_2, mg/1,000 kcal	0.55 ± 0.15°°°	0.55 ± 0.15	0.60 ± 0.10	0.51 ± 0.13*	0.47 ± 0.13***
A, µg RE/1,000 kcal	476 ± 238°°°	486 ± 281	638 ± 218*	460 ± 227	369 ± 207***
C, mg/1,000 kcal	24.6 ± 14.6°°°	22.1 ± 11.5	24.9 ± 11.8	18.9 ± 9.4**	17.6 ± 11.6***
D, µg/1,000 kcal	1.48 ± 1.01	1.27 ± 0.91	1.36 ± 0.80	1.17 ± 0.95*	1.04 ± 1.04***
E, mg/1,000 kcal	3.32 ± 0.59	3.47 ± 0.59	3.83 ± 0.89**	3.16 ± 0.58	3.05 ± 0.76**
Folate, µg/1,000 kcal	59.4 ± 24.9°	64.9 ± 33.2	80.9 ± 17.6**	58.1 ± 21.3	59.3 ± 30.1
Iron, mg/1,000 kcal	5.06 ± 0.83°°	5.67 ± 1.13***	5.60 ± 1.00*	5.88 ± 1.04***	6.23 ± 1.74***

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ (differences vs. CM; t test).
° $p < 0.05$; °° $p < 0.01$; °°° $p < 0.001$ (differences between CM and CF; t test; CF values, see table XII).

Table XII. Nutritional densities of women's diets (means ± SD)

Vitamins and iron	CF	OF_1	OF_2	AF_1	AF_2
B_1, mg/1,000 kcal	0.42 ± 0.08°°°	0.48 ± 0.12***	0.46 ± 0.14*	0.37 ± 0.04	0.35 ± 0.09**
B_2, mg/1,000 kcal	0.61 ± 0.14°°°	0.71 ± 0.31**	0.68 ± 0.18**	0.57 ± 0.15	0.50 ± 0.11**
A, µg RE/1,000 kcal	610 ± 312°°°	722 ± 449*	690 ± 391	566 ± 266	505 ± 375
C, mg/1,000 kcal	31.5 ± 17.1°°°	36.0 ± 19.9	37.9 ± 26.6	27.6 ± 16.3	19.8 ± 7.8**
D, µg/1,000 kcal	1.45 ± 1.12	1.59 ± 1.04	1.50 ± 0.95	1.02 ± 0.85	1.09 ± 0.83
E, mg/1,000 kcal	3.32 ± 0.72	3.52 ± 0.78	3.30 ± 0.79	3.34 ± 0.58	2.65 ± 0.52***
Folate, µg/1,000 kcal	68.4 ± 41.1°	81.1 ± 45.2*	73.6 ± 43.9	75.8 ± 24.5	61.9 ± 37.9
Iron, mg/1,000 kcal	5.41 ± 1.10°°	5.97 ± 1.31**	5.48 ± 1.15	5.81 ± 0.61	5.55 ± 1.50

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ (differences vs. CF; t test).
° $p < 0.05$; °° $p < 0.01$; °°° $p < 0.001$ (differences between CF and CM; t test; CM values, see table XI).

Tableau X. *Apports journaliers en vitamines et en fer chez les femmes (moyenne ± écart-type)*

Vitamines et fer	*CF*	*OF_1*	*OF_2*	*AF_1*	*AF_2*
B_1, mg	*1,00 ± 0,26°°°*	*1,11 ± 0,38*	*0,98 ± 0,25*	*0,98 ± 0,13*	*1,12 ± 0,46*
B_2, mg	*1,45 ± 0,43°°°*	*1,60 ± 0,55**	*1,51 ± 0,41*	*1,51 ± 0,45*	*1,62 ± 0,71*
A, µg ER	*1444 ± 695*	*1554 ± 707*	*1477 ± 645*	*1476 ± 642*	*1522 ± 1,183*
C, mg	*74 ± 38*	*79 ± 39*	*81 ± 59*	*73 ± 43*	*64 ± 34*
D, µg	*3,5 ± 2,5°°*	*3,8 ± 3,1*	*3,5 ± 2,6*	*2,7 ± 1,3*	*3,5 ± 3,1*
E, mg	*8,0 ± 2,2°°°*	*8,2 ± 2,6*	*7,6 ± 2,8*	*8,8 ± 1,2*	*8,6 ± 3,3*
Folates, µg	*160 ± 77°*	*184 ± 93**	*169 ± 137*	*199 ± 63*	*195 ± 99*
Fer, mg	*13,0 ± 3,7°°°*	*13,8 ± 4,2*	*12,3 ± 3,3*	*15,4 ± 1,9**	*17,3 ± 6,7****

** $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ (différences avec CF; test t).*
° $p < 0,05$; °° $p < 0,01$; °°° $p < 0,001$ (différences entre CF et CM; test t; CM, voir tab. IX).

Tableau XI. *Densités nutritionnelles de l'alimentation chez les hommes (moyenne ± écart-type)*

Vitamines et fer	*CM*	*OM_1*	*OM_2*	*AM_1*	*AM_2*
B_1, mg/1000 kcal	*0,39 ± 0,06°°°*	*0,42 ± 0,08**	*0,44 ± 0,08***	*0,36 ± 0,06****	*0,34 ± 0,08****
B_2, mg/1000 kcal	*0,55 ± 0,15°°°*	*0,55 ± 0,15*	*0,60 ± 0,10*	*0,51 ± 0,13**	*0,47 ± 0,13****
A, µg ER/1000 kcal	*476 ± 238°°°*	*486 ± 281*	*638 ± 218**	*460 ± 227*	*369 ± 207****
C, mg/1000 kcal	*24,6 ± 14,6°°°*	*22,1 ± 11,5*	*24,9 ± 11,8*	*18,9 ± 9,4***	*17,6 ± 11,6****
D, µg/1000 kcal	*1,48 ± 1,01*	*1,27 ± 0,91*	*1,36 ± 0,80*	*1,17 ± 0,95**	*1,04 ± 1,04****
E, mg/1000 kcal	*3,32 ± 0,59*	*3,47 ± 0,59*	*3,83 ± 0,89***	*3,16 ± 0,58*	*3,05 ± 0,76***
Folates, µg/1000 kcal	*59,4 ± 24,9°*	*64,9 ± 33,2*	*80,9 ± 17,6***	*58,1 ± 21,3*	*59,3 ± 30,1*
Fer, mg/1000 kcal	*5,06 ± 0,83°°*	*5,67 ± 1,13****	*5,60 ± 1,00**	*5,88 ± 1,04****	*6,23 ± 1,74****

** $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ (différences avec CM; test t).*
° $p < 0,05$; °° $p < 0,01$; °°° $p < 0,001$ (différences entre CM et CF; test t; CF, voir tab. XII).

Tableau XII. *Densités nutritionnelles de l'alimentation chez les femmes (moyenne ± écart-type)*

Vitamines et fer	*CF*	*OF_1*	*OF_2*	*AF_1*	*AF_2*
B_1, mg/1000 kcal	*0,42 ± 0,08°°°*	*0,48 ± 0,12****	*0,46 ± 0,14**	*0,37 ± 0,04*	*0,35 ± 0,09***
B_2, mg/1000 kcal	*0,61 ± 0,14°°°*	*0,71 ± 0,31***	*0,68 ± 0,18***	*0,57 ± 0,15*	*0,50 ± 0,11***
A, µg ER/1000 kcal	*610 ± 312°°°*	*722 ± 449**	*690 ± 391*	*566 ± 266*	*505 ± 375*
C, mg/1000 kcal	*31,5 ± 17,1°°°*	*36,0 ± 19,9*	*37,9 ± 26,6*	*27,6 ± 16,3*	*19,8 ± 7,8***
D, µg/1000 kcal	*1,45 ± 1,12*	*1,59 ± 1,04*	*1,50 ± 0,95*	*1,02 ± 0,85*	*1,09 ± 0,83*
E, mg/1000 kcal	*3,32 ± 0,72*	*3,52 ± 0,78*	*3,30 ± 0,79*	*3,34 ± 0,58*	*2,65 ± 0,52****
Folates, µg/1000 kcal	*68,4 ± 41,1°*	*81,1 ± 45,2**	*73,6 ± 43,9*	*75,8 ± 24,5*	*61,9 ± 37,9*
Fer, mg/1000 kcal	*5,41 ± 1,10°°*	*5,97 ± 1,31***	*5,48 ± 1,15*	*5,81 ± 0,61*	*5,55 ± 1,50*

** $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ (différences avec CF; test t).*
° $p < 0,05$; °° $p < 0,01$; °°° $p < 0,001$ (différences entre CF et CM; test t; CM, voir tab. XI).

This dietary pattern is not specific to France. The same phenomenon has been reported in investigations in the USA for vitamins B_1, B_2, A and C [169, 181], in Germany for vitamins B_2, A and C [6] and in Hawaii for vitamins A and C [97]. Analysis of vitamin C sources in the Heidelberg study [6] shows that the weekly intake of fresh vegetables and fruits and nonalcoholic drinks such as fruit drinks is higher in women than in men. These results could explain the differences in nutritional density between the sexes.

The above reservation (p. 33) concerning a comparison between our results and those of other studies applies especially for this section. For the four vitamins cited (table XIII) our male and female control groups (CM and CF) had intakes comparable to or even higher than those of the Heidelberg and HANES I studies, except for HANES I men who had a higher intake of vitamins B_1, C and A than those of group CM. Except for the women in HANES I, our data for the mean daily iron intake was lower than those in the two investigations cited.

Our results for folic acid are very similar to those found with the same composition tables in British (190 µg/day) [154] and a French population [27].

The typical British diet has been calculated to provide 130–300 µg of folic acid per day [37]. Estimates based on a Canadian nutritional investigation [121] in which recent composition tables were used are comparable [42, 77]. The mean intake of free folate in Denmark is less than 100 µg/day for pregnant women [55]. This corresponds to a total folate intake of about 150 µg/day, according to the same authors.

In view of the nutritional densities shown in table XIII, the French diet seems to have

Vitamines et fer

Témoins *(tab. IX–XII; courbes 9–22)*

Comme on pouvait s'y attendre, au vu des apports en macronutriments, les apports moyens journaliers en la plupart des micronutriments étudiés sont significativement plus élevés chez les hommes que chez les femmes. Deux vitamines échappent à cette tendance: la vitamine C et la vitamine A.

Les quantités de vitamine A décomposées en rétinol préformé et en β carotène sont également du même ordre pour les deux sexes:

chez les hommes	*rétinol*	*765 ± 555 µg/j*
	β-carotène	*4,32 ± 2,6 mg/j*
chez les femmes	*rétinol*	*723 ± 537 µg/j*
	β-carotène	*4,32 ± 2,54 mg/j*

La part du rétinol dans l'apport global en vitamine A, calculée d'après la formule ci-dessus (p. 21) n'est pas différente entre hommes et femmes (respectivement 52,8 ± 19,9 et 49,7% ± 20,8%). Ce pourcentage est plus faible que celui de 70% qui est proposé pour l'alimentation française par Dupin *[52].*

Si les hommes mangent plus que les femmes en quantité, par contre, celles-ci ont une alimentation plus concentrée en vitamines B_1, B_2, C, A, folates et fer. En effet, la densité nutritionnelle moyenne exprimée pour 1000 kcal d'apport global [69] est significativement plus élevée chez les femmes pour ces six micronutriments (7–8% pour la vitamine B_1 et le fer, 11% pour la vitamine B_2, 15% pour les folates, 28% pour les vitamines A et C).

Ce comportement alimentaire différent n'est pas spécifique à la France. En effet, on peut constater le même phénomène après calcul sur les résultats d'enquêtes effectuées aux

higher concentration of vitamin A but lower levels of vitamin B_1, vitamin C and iron; than the West German diet; the levels of vitamin B_2 are comparable. The American diet seems to have higher concentrations in these five micronutrients than does the French diet. Several factors may partly explain these differences among the diets of the three countries:

- in the USA many foods are supplemented with iron and various vitamins;
- in calculating micronutrient intake, especially vitamin C, we included ascorbic acid used as an additive [110] and possible modifying factors such as cooking or storage loss, when known. Such methods probably give a relatively accurate picture of vitamin C intake [20];
- the iron and vitamin levels may be different according to the food composition tables; this is the case for folates, for instance, which are not mentioned in table XIII.

We have tried to compare our data on vitamin and iron intakes to those presently recommended for the French population in earlier studies [52, 137] and to two initially defined limits (80 and 50% of the RDA; fig. 4). This representation completes the simple comparison of the means with the recommendations, but the diagnosis of an individual vitamin deficiency must always be confirmed by biochemical data. On the contrary, risks of deficiency do exist if the dietary vitamin intake is less than the mean.

The RDA are met by more than half of the controls (both sexes) only for vitamin A; for vitamin E and iron, RDA are met by more than half of the male controls only. Eighty percent of the RDA is achieved by more than half of both sexes for vitamins B_2, C and A and more than half of the men for vitamin E and iron. At least 80% of the RDA is

USA pour les vitamines B_1, B_2, A, C [169, 181], en Allemagne pour les vitamines B_2, A et C [6] et à Hawaï pour les vitamines A et C [97]. L'analyse des sources de vitamine C dans l'étude de Heidelberg [6] montre que les rations hebdomadaires en légumes et fruits frais et en boissons non alcooliques (dont les boissons à base de fruits) sont plus importantes chez les femmes que chez les hommes. Ceci pourrait être une des explications des différences de densités nutritionnelles inter-sexe.

La réserve faite ci-dessus (p. 33) au sujet des comparaisons entre nos résultats et ceux des autres travaux a ici toute sa valeur. Pour les quatre vitamines citées au tableau XIII et pour chaque sexe, notre groupe témoin (CM et CF) a des apports souvent comparables ou même supérieurs à ceux de l'enquête de Heidelberg et du HANES I, excepté pour les hommes du HANES I qui ont un apport en vitamines B_1, C et A supérieur à celui du groupe CM. Les rations journalières moyennes en fer sont plus basses que celles des deux enquêtes citées, excepté pour les femmes du HANES I.

Pour l'acide folique, les résultats que nous avons relevés sont très voisins de ceux objectivés avec les mêmes tables de composition dans une population britannique (190 µg/j) [154] et en France [27].

L'alimentation britannique typique amènerait selon les calculs 130 à 300 µg d'acide folique par jour [37]. Des estimations basées sur l'enquête Nutrition Canada [121] utilisant des tables de composition récentes donnent des résultats comparables [42, 77]. Au Danemark, l'apport moyen en folates libres est chez des femmes enceintes inférieur à 100 µg/j [55]. Ceci correspond, pour les mêmes auteurs, à un apport en folates totaux de l'ordre de 150 µg/j.

Au vu des densités nutritionnelles du tableau XIII, l'alimentation française semble

achieved by about 45% of men for vitamin B_1 and by about 45% of women for vitamins B_1 and E. The major problems in meeting the RDA involve three micronutrients: folate and vitamin D for both sexes, and iron for women.

Between 71 and 77% of the control samples ingested less than 200 µg/day of folate (50% of the RDA). As did many other authors, we thus found a clear discrepancy between the calculated intakes and the recommendations [15]. These results can be partly explained by the use of the data from the composition tables [124]. According to *Phillips and Wright* [131, 132] the folate values in these tables may be underestimated for tech-

plus concentrée que l'alimentation de la RFA en vitamine A, mais par contre moins concentrée en vitamines B_1, C et en fer. Les richesses en vitamine B_2 des deux alimentations sont comparables. La nourriture disponible aux USA semble plus concentrée en ces cinq micronutriments que la nourriture française. Plusieurs éléments connus peuvent expliquer une partie de ces différences:

– Aux USA, de nombreux aliments sont supplémentés en fer et en diverses vitamines;

– pour le calcul des apports en micronutriments en particulier en vitamine C, nous avons tenu compte de l'acide ascorbique utilisé comme additif, des éventuels facteurs de correction de perte à la cuisson ou à la conser-

Table XIII. Mean daily supplies and mean nutritional densities of micronutrients: comparison with some other investigations

Country:	France (ESVITAF)[a]		USA [169][b]		USA [181][b]		FRG [6][b]	
Type of survey:	7 days		diet. hist.		2 days – diet.		7 days	
Date:	1979–1980		1971–1973		1977–1978		1975–1979	
Subjects, age:	18–45		25–34		23–50		20–40	
	CM (n = 189)	CF (n = 173)	♂ (n = 1,539)	♀ (n = 672)	♂	♀	♂ (n = 564)	♀ (n = 621)
Vitamins								
B_1 mg	1.20	1.00	1.51	1.07			1.26	1.00
mg/1,000 kcal	0.39	0.42	0.55	0.65	0.68	0.71	0.49	0.50
B_2 mg	1.68	1.45	0.91	0.97			1.46	1.25
mg/1,000 kcal	0.55	0.61	0.33	0.59	0.83	0.87	0.57	0.63
C mg	75	74	91	76			72	75
mg/1,000 kcal	25	32	33	46	37	57	29	38
A µg RE	1,456	1,444	1,615	1,316			1,136	998
µg RE/1,000 kcal	476	610	584	800	907	1,102	446	502
Iron								
mg	15.7	13.0	16.8	10.4			18.0	14.2
mg/1,000 kcal	5.1	5.4	6.1	6.3	6.8	7.1	7.1	7.1

[a] Selected sample.
[b] Representative sample.

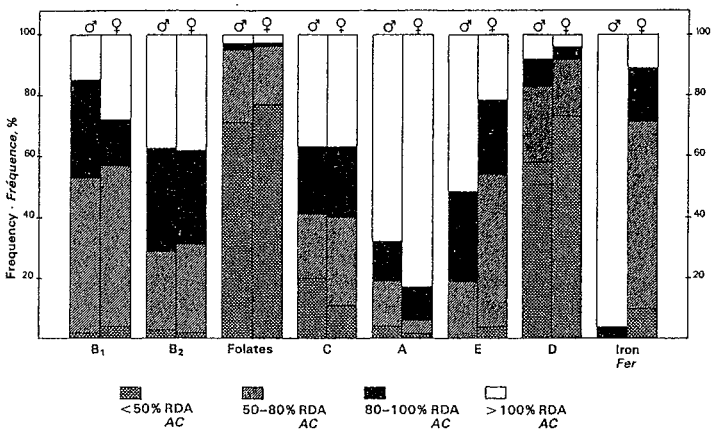


Fig. 4. Micronutrient supply of the control samples in comparison to the corresponding RDAs.

Fig. 4. *Apports en micronutriments des échantillons témoins: comparaison avec les AC.*

Tableau XIII. *Apports moyens journaliers et densités nutritionnelles moyennes en micronutriments: comparaison avec quelques enquêtes*

Pays:	*France (ESVITAF)*[a]		*USA [169]*[b]		*USA [181]*[b]		*RFA [6]*[b]	
Type d'enquête:	*7 jours*		*hist. aliment.*		*hist. aliment. – 2 j.*		*7 jours*	
Années:	*1979–1980*		*1971–1973*		*1977–1978*		*1975–1979*	
Age des sujets:	*18–45*		*25–34*		*23–50*		*20–40*	
	CM (n = 189)	*CF (n = 173)*	*♂ (n = 1539)*	*♀ (n = 672)*	*♂*	*♀*	*♂ (n = 564)*	*♀ (n = 621)*
Vitamines								
B_1 mg	*1,20*	*1,00*	*1,51*	*1,07*			*1,26*	*1,00*
mg/1000 kcal	*0,39*	*0,42*	*0,55*	*0,65*	*0,68*	*0,71*	*0,49*	*0,50*
B_2 mg	*1,68*	*1,45*	*0,91*	*0,97*			*1,46*	*1,25*
mg/1000 kcal	*0,55*	*0,61*	*0,33*	*0,59*	*0,83*	*0,87*	*0,57*	*0,63*
C mg	*75*	*74*	*91*	*76*			*72*	*75*
mg/1000 kcal	*25*	*32*	*33*	*46*	*37*	*57*	*29*	*38*
A µg ER	*1456*	*1444*	*1615*	*1316*			*1136*	*998*
µg ER/1000 kcal	*476*	*610*	*584*	*800*	*907*	*1102*	*446*	*502*
Fer								
mg	*15,7*	*13,0*	*16,8*	*10,4*			*18,0*	*14,2*
mg/1000 kcal	*5,1*	*5,4*	*6,1*	*6,3*	*6,8*	*7,1*	*7,1*	*7,1*

[a] *Echantillon sélectionné.*
[b] *Echantillon probabiliste.*

nical reasons. Moreover, dietary folate is formed with about 25% of free folate [65], the larger part being in the form of polyglutamates which are not completely accounted for. They are a part of the vitamin intake [176], even if their bioavailability varies. Since this underestimate differs according to the diet, it is impossible to apply a correction factor even though total and free folate intakes are highly correlated [14]. Composition table data on available folacin are very fragmentary [147]. The validity of results on folate intake is low: the data will be re-examined when correct and complete tables are available. It should be recalled that the present recommended intakes [52, 138] are expressed as total folate and that 50–100 µg/day is required to maintain plasma folate at a normal level in a healthy subject [138].

Vitamin D appears to present problems. In France as well as in many other countries, adult and adolescent requirements are met mainly via the synthesis of vitamin D_3 in the skin as a result of exposure to sunshine. The lack of the 5–10 µg in the daily diet is not alarming, provided the subject gets enough sun.

The iron RDA for women of childbearing age is very high (18 mg/day), but this is justified in order to compensate for menstrual loss. Only 11% of the women in the sample had the required iron intake. Women eating the normal diet are not likely to attain this level without supplementation. In our study, iron stores were found to be zero in 15% of women of childbearing age and incomplete in 75% of cases [60, 76].

The diagrams of figure 4 show that vitamins B_1 and B_2, folate and vitamin C differ little according to sex. In women, lower vitamin B_1 and B_2 intakes correspond to lower

vation lorsqu'ils étaient connus [110]. De tels procédés semblent susceptibles de fournir une vision relativement précise de l'apport vitaminique C [20];

– selon les tables de composition des aliments, les teneurs en vitamines et fer sont différentes. C'est par exemple, le cas des folates non cités dans le tableau XIII.

Nous avons tenté de confronter nos résultats concernant les apports en vitamines et en fer aux apports actuellement conseillés à la suite de travaux antérieurs pour la population française [52, 137] et aux deux limites définies initialement (80 et 50% des AC; fig. 4). Cette représentation complète la simple comparaison des moyennes aux recommandations, mais on ne peut, en aucun cas, parler de carence vitaminique au plan individuel sans disposer d'éléments biochimiques qui le confirment. Par contre, le risque d'observer une carence devient grand lorsque la ration est inférieure au besoin vitaminique moyen.

La couverture des apports conseillés n'est obtenue pour plus de la moitié du groupe témoin que pour la vitamine A (pour les deux sexes) et pour la vitamine E et le fer chez les hommes. Si l'on considère une recommandation moins sévère, c'est-à-dire 80% des AC, cette couverture est assurée pour plus de 50% de l'échantillon pour les vitamines B_2, C, A (dans les deux sexes) et pour la vitamine E et le fer chez les hommes. Environ 45% des hommes absorbent au moins 80% des AC pour la vitamine B_1 et 45% des femmes absorbent au moins 80% des AC pour les vitamines B_1 et E. Trois micronutriments semblent poser plus de problèmes: ce sont les folates et la vitamine D (pour les deux sexes) et le fer chez les femmes.

En effet, 71–77% de l'échantillon témoin absorbent journellement moins de la moitié des AC en folates (200 µg/j). Comme de nom-

RDAs. Folate and vitamin C, whose intake hardly differs between men and women, correspond to identical RDAs for both sexes.

Obese Subjects (tables IX–XII)

Except for vitamins C and D, the mean intake of micronutrients in men was significantly higher in group OM_2 than in group CM. This could be expected due to the men's high intakes of macronutrients and energy. In group OM_1, only iron intake was higher and the women of group OF_1 ingested more vitamin B_2 and folate than did group CF. The contribution of retinol in the overall vitamin A intake was the same in obese subjects and controls of both sexes.

Compared to the RDA and to the two fixed limits (50% and 80% of the RDA), only OM_2 met the RDA significantly better than did the controls; according to these limits, the distribution of the intakes of the other three groups was the same as that of the corresponding controls.

If nutritional density is used to compare dietary patterns, the diet of the obese subject, depending on the subgroup, is higher in nutritional density for vitamins B_1, B_2 and A, folate and iron in men and women and for vitamin E in women. This phenomenon is not related to the different alcohol intake between the obese and nonobese groups. Alcohol intake is comparable in groups CF, OF_1 and OF_2. Intake in groups CM and OM_1 is higher than in OM_2 but has little dilution effect on nutritional density.

It would be interesting to try and determine the foods responsible for this phenomenon. Several dietary differences have been suggested in the literature:

– fruits are eaten in larger quantities by obese subjects [19];

breux autres auteurs, nous observons donc une divergence nette entre les apports calculés et les recommandations [15]. Ces résultats sont partiellement explicables par l'utilisation pour l'acide folique de données extraites des tables de composition [124]. En effet, selon Phillips et Wright *[131, 132], les valeurs concernant les folates contenues dans ces tables sont sous-estimées pour des raisons techniques (pH des réactions, utilisation de déconjugases). Les folates libres représentent environ 25% des folates présents dans les aliments [65]. Une grande partie des folates présents sous forme de polyglutamates n'est pas intégralement comptabilisée. Ils font partie de la ration vitaminique [176] même si leur biodisponibilité est très variable. Cette sous-évaluation est différente selon les aliments examinés si bien qu'il est impossible d'apporter un facteur de correction bien qu'il existe une corrélation très forte entre les apports en folates totaux et en folates libres [14]. Les données concernant les folates disponibles dans les tables de composition restent très parcellaires [147]. La validité des résultats concernant les apports en folates doit être considérée comme douteuse et les données seront réexaminées lorsque des tables correctes et complètes seront disponibles. Rappelons que les apports conseillés en folates actuellement proposés [52, 138] concernent les folates totaux et que 50–100 µg d'apport quotidien sont indispensables pour maintenir les folates plasmatiques à un niveau normal chez un sujet en bonne santé [138].*

La vitamine D semble être aussi une vitamine à problèmes. En France, comme dans beaucoup de pays, la couverture des besoins chez les adultes et les adolescents est surtout assurée par la vitamine D_3 synthétisée dans le derme lors de l'exposition au soleil, ce qui n'est certainement pas réalisé partout en

– meat intake is higher in obese subjects and is related to the weight index because of the ingestion of the animal fat it entails [6];
– added lipids and sugars supply many 'empty calories' and are ingested very little by obese subjects [8, 85, 141].

In conclusion, our results agree with international studies [142, 167]. Vitamin and iron intakes of obese people are not lower than those of normal-weight people; however, the nutritional density of some micronutrients in the diet is higher in obese subjects.

Since the diet was found to be nutritionally well balanced, any decrease of energy intake would lead to a vitamin intake well below the RDA. A study using models of French dietary intake reaches to the same conclusion [111], thus confirming research carried out in other countries [31].

Drinkers (tables IX–XII)

Mean intakes of vitamins B_1, B_2 and E, folate and iron were significantly higher in groups AM_1 and AM_2, resulting in better agreement with the recommended amounts. Compared to CM, group AM_1 included proportionately fewer people (19%) with marginal and low (80% of the RDA) intakes of vitamin B_2. The same was true for AM_2: the frequency of marginal and low intakes was 40% for vitamin B_1 and 87% for folate (χ^2 test; $p < 0.05$). This difference in vitamin B_2, folate and iron intakes was considered to be essentially a result of the micronutrients in alcoholic drinks. For example, the levels of vitamin B_2, folate and iron given in the dietary tables used for beer are 0.2–0.6 mg/l, 40–88 µg/l and 0.1–0.5 mg/l, respectively. Those used for wine are 0.1–0.2 mg/l, 1–2 µg/l and 5.8–12.1 mg/l, respectively. These additional intakes were not negligible when the amount of wine or beer ingested is counted in liters.

France et notamment dans certaines villes pendant la période froide. La non-couverture des 10 µg ou même des 5 µg journaliers ne doit pas alarmer à condition bien sûr de pouvoir bénéficier d'un ensoleillement suffisant.

Les AC en fer chez les femmes en période d'activité génitale sont très élevés, 18 mg/j, mais justifiés par les pertes menstruelles. Ces 18 mg journaliers sont absorbés par seulement 11% de l'échantillon féminin. Pour les femmes, il paraît impossible en gardant le même type d'alimentation sans supplémentation d'atteindre ces objectifs. Chez les femmes françaises en âge de procréer, les réserves en fer sont nulles dans environ 15% des cas et incomplètes dans 75% des cas [60, 76].

Les diagrammes de la figure 4 sont, pour les vitamines B_1, B_2, C et les folates, peu différents selon le sexe. En effet, aux vitamines B_1 et B_2 dont les apports sont moins élevés chez les femmes, correspondent des AC plus faibles. Aux folates et à la vitamine C dont les apports sont peu différents entre hommes et femmes, correspondent des AC identiques.

Obèses *(tab. IX–XII)*

Chez les hommes, les apports moyens en micronutriments, excepté pour les vitamines C et D, sont significativement plus élevés dans le groupe OM_2 que dans le groupe CM. Ceci était prévisible au vu des apports importants en macronutriments et énergie. Dans le groupe OM_1, seuls les apports moyens en fer sont plus élevés et les femmes du groupe OF_1 absorbent plus de vitamine B_2 et de folates que le groupe CF. La part du rétinol dans l'apport global en vitamine A n'est pas différente entre obèses et témoins pour les deux sexes.

Comparativement aux apports conseillés et aux deux limites fixées (50 et 80% des AC), seul OM_2 a des apports significativement mieux adaptés aux recommandations, la ré-

However, the nutritional density in vitamins B_1, B_2, A, C, D and E was lower in drinkers, especially in group AM_2; the vitamin density of the alcoholic drinks was less than that of the rest of the diet.

Absolute folate and iron intakes were high in groups AM_1 and AM_2. There was no dilution effect since the nutritional density of these two micronutrients in the alcoholic energy intake was comparable to that in the nonalcoholic energy intake.

In women, the same trend was observed as in men but few variations were found to be significant, the number of women in groups AF_1 and AF_2 being too small and the alcohol intake lower.

In short, the drinkers in our study, who were in good health, but ingest excessive amounts of alcohol, did not show lower micronutrient intakes than the controls. A study on the status of micronutrient intakes in a sample of drinkers prior to medical treatment [79], reached the same conclusion.

partition des apports des trois autres groupes selon ces limites est identique à celles de témoins correspondants.

Si l'on considère les comportements alimentaires par l'intermédiaire des densités nutritionnelles, l'alimentation des obèses est, selon les groupes, plus concentrée en vitamine B_1, B_2, A, folates et fer pour les hommes et les femmes et en vitamine E pour les femmes. Ce phénomène ne provient pas des différences de consommation alcoolique entre les groupes. En effet, les apports alcooliques sont comparables entre CF, OF_1 et OF_2, ceux de CM et OM_1 sont plus élevés que ceux de OM_2, mais ont peu d'effet de dilution sur les densités nutritionnelles.

Il serait intéressant de rechercher quels sont les aliments responsables de ce comportement différent. Plusieurs ont été mis en cause dans la littérature:

- *les fruits qui sont consommés en plus grande quantité chez les obèses [19];*
- *la viande dont la consommation est liée à l'indice pondéral, par l'intermédiaire des lipides d'origine animale [6],*
- *les lipides d'ajout et les sucres fournissant beaucoup de «calories vides» et qui sont peu consommés par les obèses [8, 85, 141].*

En conclusion, nos résultats sont en accord avec les travaux internationaux [142, 167]. Les apports en vitamines et en fer des personnes obèses ne sont pas plus faibles que ceux des personnes de poids normal, au contraire, pour certains micronutriments, la densité nutritionnelle de l'alimentation de ces personnes est plus élevée.

Avec l'équilibre observé entre les aliments consommés, une diminution des apports énergétiques conduit inévitablement à une ration vitaminique très inférieure aux apports conseillés. Une étude conduite à partir de modèles de consommation alimentaire française

arrive aux mêmes conclusions [111], confirmant les recherches effectuées dans d'autres pays [31].

Buveurs *(tab. IX–XII)*

Chez les hommes, les apports moyens en vitamine B_1, B_2, E, folates et fer sont significativement plus élevés pour AM_1 et AM_2. Ceci se traduit par une meilleure adéquation de l'alimentation aux apports recommandés. En effet, comparativement à CM, le groupe AM_1 comporte proportionnellement moins de personnes (19%) ayant des apports marginaux et bas (<80% AC) en vitamine B_2. Il en est de même pour AM_2: la fréquence des apports marginaux et bas est, pour la vitamine B_1: 40% et pour les folates: 87% (test de χ^2; $p < 0,05$). Cette différence au niveau des apports en vitamine B_2, folates et fer doit provenir essentiellement des micronutriments contenus dans les boissons alcoolisées. Par exemple, les taux en vitamine B_2, folates et fer donnés par les tables alimentaires utilisées, sont respectivement pour la bière: 0,2–0,6 mg/l; 40–88 µg/l et 0,1–0,5 mg/l et pour le vin: 0,1–0,2 mg/l; 1–2 µg/l et 5,8–12,1 mg/l. Ces apports supplémentaires ne sont pas négligeables lorsque la quantité de vin ou de bière consommée se compte en litres.

Les densités nutritionnelles en vitamines B_1, B_2, A, C, D, E sont, par contre, plus faibles chez les buveurs, surtout ceux du groupe AM_2; la densité des boissons alcoolisées en ces vitamines étant inférieure à celle de l'autre partie de la ration alimentaire.

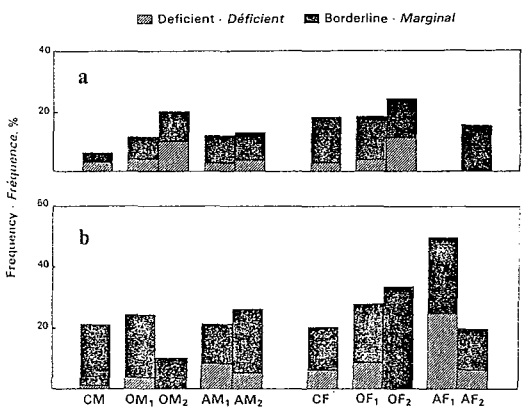


Fig. 5. Biochemical status of vitamin B_1 according to the interpretative guidelines. a Transketolase. b TPP effect.

Fig. 5. *Statut biochimique en vitamine B_1 en fonction des limites interprétatives. a Transcétolase. b Effet DPT.*

Biological Data

Vitamins (tables XIV, XV; curves 23–32)

Vitamin B_1

Controls. Transketolase activity was generally higher in men than in women whether expressed in U/l of red blood cells or in U/g of hemoglobin. Since the same interpretative criteria were used for both sexes, the borderline status occurred more frequently in women than in men (fig. 5). Distinct criteria should probably be used for each sex.

The mean TPP effect was identical in both sexes and differed little from values reported in the literature [93, 172]. TPP values higher than 30% (deficiency status) were found more often in women than in men, but the difference was not significant (fig. 5).

The interpretative standards used here characterize the method chosen and are slightly different from those generally used [149, 183]. *Brin* [25] considers intakes above 25% as deficient and intakes between 15 and 25% as borderline. A markedly different picture would appear if these criteria were applied to interpret our results (table XVI).

When comparing our data to the Heidelberg survey [6], the frequency of results indicative of a deficient or marginal status is similar in both studies when *Delacoux's* [48] criteria are used but the frequency differs when the *Brin's* [25] limits are used.

Using *Brin's* [25] standards the biochemical status of vitamin B_1 was found to be deficient in Basel [72] in 1.6% of men and 0.5% of women and marginal in 19% of men and 22.3% of women. In another sample of 1,152 adults in good health from the same area, 2% of the subjects had a deficient status (high risk) and 18% had a marginal deficiency (moderate risk) [72].

Les apports absolus en folates et en fer étant importants dans les groupes AM_1 et AM_2, l'apport énergétique alcoolique n'a pas d'effet de dilution sur la densité nutritionnelle en fer et en folates.

Chez les femmes, on observe la même tendance que chez les hommes mais peu de variations sont significatives du fait de l'effectif trop faible de AF_1 et AF_2 et de la consommation alcoolique moindre.

En résumé, les apports en micronutriments chez les buveurs de notre échantillon qui, rappelons le, sont des personnes en bonne santé apparente mais ayant une consommation alcoolique considérée comme excessive, ne sont pas plus faibles que chez les témoins. Les mêmes conclusions découlent d'une enquête sur un échantillon de buveurs avant traitement [79].

Examens biologiques sanguins

Vitamines *(tab. XIV, XV; courbes 23–32)*

Vitamine B_1

Témoins. *L'activité transcétolasique est plus élevée en moyenne chez les hommes que chez les femmes, qu'elle soit exprimée en U/l d'érythrocytes ou en U/g d'hémoglobine. Les mêmes critères interprétatifs ayant été retenus pour les deux sexes, le statut marginal est retrouvé plus fréquemment chez les femmes que chez les hommes (fig. 5). Des critères interprétatifs différents selon le sexe mériteraient probablement d'être définis.*

L'effet DPT moyen identique pour les hommes et les femmes est peu différent des valeurs de la littérature [93, 172]. La prévalence des résultats supérieurs à 30% (statut déficient) est plus grande chez les femmes. Cette différence n'est pas significative (fig. 5).

Tableau XIV. *Taux des vitamines sanguines chez les hommes (moyenne ± écart-type)*

	CM	*OM_1*	*OM_2*	*AM_1*	*AM_2*
Vitamine B_1					
Transcétolase, U/l[a]	*172 ± 30°°°*	*162 ± 28*	*149 ± 22**	*171 ± 33*	*165 ± 36*
Effet DPT, %	*13 ± 7*	*14 ± 7*	*11 ± 7*	*13 ± 10*	*13 ± 10*
Vitamine B_2					
Activation de la glutathion-réductase, α-EGR	*0,97 ± 0,04°°°*	*0,99 ± 0,05**	*0,96 ± 0,03*	*0,99 ± 0,05****	*0,99 ± 0,05****
Folates					
Plasmatiques, µg/l	*6,8 ± 2,9*	*5,9 ± 2,1*	*7,1 ± 2,8*	*7,7 ± 3,4**	*7,0 ± 3,2*
Erythrocytaires, µg/l	*299 ± 96*	*269 ± 92*	*408 ± 177****	*358 ± 147****	*293 ± 134*
Totaux, µg/l	*142 ± 45°°°*	*128 ± 36*	*202 ± 98****	*167 ± 67****	*142 ± 64*
Vitamine A					
Rétinol, µg/l	*606 ± 115°°°*	*645 ± 81*	*587 ± 95*	*732 ± 154****	*739 ± 179****
β-Carotène, µg/l	*463 ± 291°°*	*402 ± 259*	*262 ± 86**	*310 ± 180****	*228 ± 164****
Vitamine E					
Tocophérols totaux, mg/l	*10,0 ± 2,2*	*11,9 ± 2,8****	*11,3 ± 2,7*	*11,7 ± 2,7****	*12,1 ± 3,2****
Vitamine D					
25-OH-D[b]*, µg/l*	*14,7 ± 8,0*	–	–	*16,1 ± 6,9*	*14,5 ± 7,7*

** $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ (différences avec CM; test t).*
° $p < 0,05$; °° $p < 0,01$; °°° $p < 0,001$ (différences entre CM et CF; test t; CF, voir tab. XV).

[a] *U/l d'érythrocytes.*
[b] *CM: n = 38; AM_1: n = 44; AM_2: n = 46.*

Tableau XV. *Taux des vitamines sanguines chez les femmes (moyenne ± écart-type)*

	CF	*OF_1*	*OF_2*	*AF_1*	*AF_2*
Vitamine B_1					
Transcétolase, U/l[a]	*160 ± 36°°°*	*155 ± 31*	*145 ± 30**	*155 ± 30*	*168 ± 32*
Effet DPT, %	*13 ± 8*	*14 ± 11*	*15 ± 8*	*19 ± 14**	*12 ± 11*
Vitamine B_2					
Activation de la glutathion-réductase, α-EGR	*0,99 ± 0,05°°°*	*0,98 ± 0,04*	*0,98 ± 0,07*	*0,99 ± 0,04*	*1,02 ± 0,05**
Folates					
Plasmatiques, µg/l	*6,8 ± 3,1*	*6,9 ± 3,2*	*7,4 ± 3,9*	*8,6 ± 3,1*	*6,1 ± 2,6*
Erythrocytaires, µg/l	*282 ± 100*	*299 ± 101*	*341 ± 130***	*281 ± 110*	*230 ± 77**
Totaux, µg/l	*119 ± 42°°°*	*134 ± 40**	*152 ± 59****	*119 ± 46*	*104 ± 36*
Vitamine A					
Rétinol, µg/l	*456 ± 90°°°*	*510 ± 128****	*516 ± 104****	*460 ± 151*	*672 ± 159****
β-Carotène, µg/l	*566 ± 293°°*	*459 ± 286***	*316 ± 149****	*529 ± 284*	*276 ± 124****
Vitamine E					
Tocophérols totaux, mg/l	*9,8 ± 2,0*	*10,6 ± 2,3***	*10,3 ± 2,4*	*10,8 ± 5,1*	*9,6 ± 1,2*
Vitamine D					
25-OH-D[b]*, µg/l*	*15,7 ± 7,9*	–	–	*16,0 ± 3,1*	*16,7 ± 6,1*

** $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ (différences avec CF; test t).*
° $p < 0,05$; °° $p < 0,01$; °°° $p < 0,001$ (différences entre CF et CM; test t; CM, voir tab. XIV).

[a] *U/l d'érythrocytes.*
[b] *CF: n = 36; AF_1: n = 5; AF_2: n = 8.*

Table XIV. Blood vitamin levels in men (means ± SD)

	CM	OM_1	OM_2	AM_1	AM_2
Vitamin B_1					
Transketolase, U/l[a]	172 ± 30°°°	162 ± 28	149 ± 22*	171 ± 33	165 ± 36
TPP effect, %	13 ± 7	14 ± 7	11 ± 7	13 ± 10	13 ± 10
Vitamin B_2					
Activation of glutathion reductase, α-EGR	0.97 ± 0.04°°°	0.99 ± 0.05*	0.96 ± 0.03	0.99 ± 0.05***	0.99 ± 0.05***
Folates					
Plasma, µg/l	6.8 ± 2.9	5.9 ± 2.1	7.1 ± 2.8	7.7 ± 3.4*	7.0 ± 3.2
Erythrocytes, µg/l	299 ± 96	269 ± 92	408 ± 177***	358 ± 147***	293 ± 134
Total, µg/l	142 ± 45°°°	128 ± 36	202 ± 98***	167 ± 67***	142 ± 64
Vitamin A					
Retinol, µg/l	606 ± 115°°°	645 ± 81	587 ± 95	732 ± 154***	739 ± 179***
β-Carotene, µg/l	463 ± 291°°	402 ± 259	262 ± 86*	310 ± 180***	228 ± 164***
Vitamin E					
Total tocopherol, mg/l	10.0 ± 2.2	11.9 ± 2.8***	11.3 ± 2.7	11.7 ± 2.7***	12.1 ± 3.2***
Vitamin D					
25-OH-D[b], µg/l	14.7 ± 8.0	–	–	16.1 ± 6.9	14.5 ± 7.7

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ (differences vs. CM; t test).
° $p < 0.05$; °° $p < 0.01$; °°° $p < 0.001$ (differences between CM and CF; t test; CF values, see table XV).
[a] U/l erythrocytes.
[b] CM: n = 38; AM_1: n = 44; AM_2: n = 46.

Table XV. Blood vitamin levels in women (means ± SD)

	CF	OF_1	OF_2	AF_1	AF_2
Vitamin B_1					
Transketolase, U/l[a]	160 ± 36°°°	155 ± 31	145 ± 30*	155 ± 30	168 ± 32
TPP effect, %	13 ± 8	14 ± 11	15 ± 8	19 ± 14*	12 ± 11
Vitamin B_2					
Activation of glutathion reductase, α-EGR	0.99 ± 0.05°°°	0.98 ± 0.04	0.98 ± 0.07	0.99 ± 0.04	1.02 ± 0.05*
Folates					
Plasma, µg/l	6.8 ± 3.1	6.9 ± 3.2	7.4 ± 3.9	8.6 ± 3.1	6.1 ± 2.6
Erythrocytes, µg/l	282 ± 100	299 ± 101	341 ± 130**	281 ± 110	230 ± 77*
Total, µg/l	119 ± 42°°°	134 ± 40*	152 ± 59***	119 ± 46	104 ± 36
Vitamin A					
Retinol, µg/l	456 ± 90°°°	510 ± 128***	516 ± 104***	460 ± 151	672 ± 159***
β-Carotene, µg/l	566 ± 293°°	459 ± 286**	316 ± 149***	529 ± 284	276 ± 124***
Vitamin E					
Total tocopherol, mg/l	9.8 ± 2.0	10.6 ± 2.3**	10.3 ± 2.4	10.8 ± 5.1	9.6 ± 1.2
Vitamin D					
25-OH-D[b], µg/l	15.7 ± 7.9	–	–	16.0 ± 3.1	16.7 ± 6.1

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ (differences vs. CF; t test).
° $p < 0.05$; °° $p < 0.01$; °°° $p < 0.001$ (differences between CF and CM; t test; CM values, see table XIV).
[a] U/l erythrocytes.
[b] CF: n = 36; AF_1: n = 5; AF_2: n = 8.

Obese Subjects. Red blood cell transketolase activity was lower in the obese subjects than in the controls of both sexes; the difference was significant only for those in the OM_2 and OF_2 groups. Also observed via this parameter for vitamin B_1 assessment, the frequencies of deficient and borderline statuses were relatively higher in groups OM_1, OM_2 and OF_2; the differences were not significant, however (fig. 5). The TPP effect revealed the same trend in women, i.e. the frequencies of deficient and marginal statuses were relatively larger in OF_1 and in OF_2. Group OF_1 had a particularly high number of deficient statuses (9.2%). Group OM_1 had a less satisfactory status than group CM (fig. 5).

The biochemical status of vitamin B_1 in obese subjects thus was not as good as that in the controls; transketolase activity was lower in the obese subjects but no other pathology was found. Although these results for transketolase activity probably have not been reported before, this parameter would be less

Les normes interprétatives retenues ici sont caractéristiques de la méthode utilisée; elles diffèrent un peu de celles qui sont habituellement employées pour les méthodes décrites dans la littérature internationale [149, 183]. Les limites conseillées par Brin *[25] considèrent comme caractéristiques d'un statut déficient et marginal, respectivement des valeurs supérieures à 25% et des valeurs comprises entre 15 et 25%. Avec de telles limites, nos résultats auraient une interprétation sensiblement différente (tab. XVI).*

Comparativement aux données de l'enquête de Heidelberg [6] on constate que la fréquence des résultats caractéristiques d'un statut déficient ou marginal est assez voisine dans les deux études lorsque l'on utilise les limites interprétatives recommandées par Delacoux *[48] alors qu'elle est différente si l'on utilise les normes de* Brin *[25].*

A Bâle [72] avec les limites définies par Brin *[25], le statut biochimique B_1 est déficient chez 1,6% des hommes et 0,5% des femmes; il*

Table XVI. Biochemical vitamin B_1 status in France (ESVITAF, control group) and in the FRG [6] according to the interpretative guidelines used (%)

Status	France (ESVITAF)			FRG (Heidelberg)		
	deficient	borderline	normal	deficient	borderline	normal
Men						
According to *Delacoux*	0.8	19.4	79.8	1.9	10.7	87.4
According to *Brin*	4.3	36.5	59.2	5.7	24.0	70.3
Women						
According to *Delacoux*	6.2	14.0	79.8	3.4	13.1	83.5
According to *Brin*	10.3	28.7	61.0	6.9	25.4	67.7

Delacoux [47, 48]: deficient: > 30%; borderline: 30–20%; normal: < 20%.
Brin [25]: deficient: > 25%; borderline: 25–15%; normal: < 15%.
The underlined values correspond to the recommended criteria for the method used.

accurate [93, 153] than the TPP effect for detecting vitamin B_1 deficiency.

Drinkers. Chronic alcoholism usually affects transketolase activity, causing a decrease in the amount of available apoenzyme [58] and an increase in the activation coefficient [72]. In these cases, alcoholics exhibited serious clinical and/or biological disorders [59, 90, 133, 146]. Transketolase activity of alcoholics with hepatic or neurological complications is lower than that of subjects in good health. Transketolase activity can be improved by injections of vitamin B_1 but cannot be increased to the level of controls [109].

On the other hand, the biochemical status of drinkers without any obvious alcoholic disorders is not well known. *Wood* et al. [184] have shown that 60 g/day of alcohol for 2–3 months had no detectable effect on vitamin B_1 status. With the methods used, we could find no significant change in mean transketolase activity or TPP effect in groups

est marginal chez 19% des hommes et 22,3% des femmes. Dans un autre échantillon de cette même région (1152 adultes en bonne santé) respectivement 2 et 18% des sujets avaient un statut déficient (haut risque) et marginal (risque modéré) [72].

Obèses. *L'activité de la transcétolase érythrocytaire est plus basse dans les groupes d'obèses par rapport aux témoins et ce pour les deux sexes. La différence n'est significative que pour les obèses des groupes OM_2 et OF_2. Par cette même méthode, on note que la fréquence du statut déficient et marginal augmente dans les groupes d'obèses OM_1, OM_2, OF_2, bien que les différences ne soient pas significatives (fig. 5). La même tendance apparaît chez les femmes à la mesure de l'effet DPT qui augmente pour OF_1 et OF_2 (NS). Le groupe OF_1 comporte un nombre particulièrement élevé de résultats caractéristiques d'un statut déficient (9,2%). Le nombre de dosages considérés comme normaux diminue chez les femmes lorsque l'indice pondéral augmente;*

Tableau XVI. *Statut biochimique en vitamine B_1 (effet DPT) en France (ESVITAF, groupe témoin) et en RFA [6] selon les limites interprétatives employées (%)*

Statut	*France (ESVITAF)*			*FRG (Heidelberg)*		
	déficient	*marginal*	*normal*	*déficient*	*marginal*	*normal*
Hommes						
Selon Delacoux	0,8	19,4	79,8	1,9	10,7	87,4
Selon Brin	4,3	36,5	59,2	5,7	24,0	70,3
Femmes						
Selon Delacoux	6,2	14,0	79,8	3,4	13,1	83,5
Selon Brin	10,3	28,7	61,0	6,9	25,4	67,7

Delacoux *[47, 48]: déficient: > 30%; marginal: 30–20%; normal: < 20%.*

Brin *[25]: déficient: > 25%; marginal: 25–15%; normal: < 15%.*

Les valeurs soulignées sont celles qui correspondent aux résultats observés avec les critères recommandés pour la méthode de dosage.

AM_1, AM_2 and AF_1. Since our sample of drinkers did not present any hepatic damage, there is no contradiction with data in the literature. In spite of its small size, group AF_1 seemed to present a problem as to measurement of the TPP effect: the frequency of marginal and deficient statuses was higher. The mean TPP effect was significantly higher in this group than in the controls although there were no borderline or deficient values for transketolase itself (fig. 5). With either parameter of assessment used, the biochemical status of vitamin B_1 was less favorable in male drinkers where the prevalence of borderline and deficient statuses was higher than in group CM.

In a previous study [102] on a group of 307 sick, hospitalized drinkers in France, deficiency prevalence ranged between 30 and 39%. In 87 cases of patients with alcoholic cirrhosis it reached 47%. Such a prevalence was also found in many studies listed in a general review [22]. The assay of plasma TPP would be more sensitive than the tests used, i.e. circulating vitamin B_1 would be modified earlier [173].

Vitamin B_2

The mean activation coefficient of erythrocyte glutathion reductase (α-EGR) indicated a satisfactory vitamin B_2 biochemical status in the controls; we found no case of deficient or borderline status for this vitamin in the controls. The coefficient was slightly higher in women but still satisfactory.

A single result indicating deficiency was obtained in group OF_2. Two cases of borderline deficiency occurred in group AM_1. The vitamin B_2 status of our samples was thus particularly satisfactory.

In countries with high intake of dairy products, the prevalence of deficient or bor-

le groupe OM_1 a un statut moins satisfaisant que CM (fig. 5).

Le statut biochimique B_1 des groupes d'obèses paraît donc moins bon que celui des témoins, on note une diminution d'activité de la transcétolase dans ces groupes sans autre pathologie décelable, ce qui, à notre connaissance, n'a pas été signalé jusqu'ici. Cette remarque doit être pondérée par le fait que cet examen serait moins performant [93, 153] que l'activation de la transcétolase pour détecter des déficiences en vitamine B_1.

Buveurs. *L'alcoolisme chronique affecte en principe l'activité de la transcétolase: diminution de la quantité d'apoenzyme disponible [58] et augmentation du coefficient d'activation [72]. Dans les cas où cette constatation a été faite, il s'agissait d'alcooliques présentant d'importantes perturbations cliniques et/ou biologiques [59, 90, 133, 146]. L'activité enzymatique de la transcétolase, dans ce cas (alcoolisme avec complications hépatiques ou neurologiques) est plus basse que celle des sujets en bonne santé. Un traitement par la vitamine B_1 injectable augmente l'activité de l'enzyme mais ne la restaure pas au niveau de celle des témoins [109].*

Par contre, le statut biochimique des sujets consommateurs d'alcool, sans affection d'origine alcoolique décelable, est peu connu. Wood *et al. [184] ont montré que 60 g journaliers d'alcool pendant 2–3 mois n'avaient pas d'effet détectable sur le statut en vitamine B_1. Avec les méthodes d'évaluation employées, nous n'avons pas objectivé dans les groupes AM_1, AM_2 et AF_1 de modification significative de l'activité moyenne de la transcétolase ni de l'effet DPT. Nos buveurs n'ayant pas d'atteinte clinique manifeste, il n'y a pas là de contradiction avec les données de la littérature. Le groupe AF_1, bien que d'effectif réduit, semble poser un problème sur la mesure de*

derline intakes is low (about 1 % in a healthy population) [72]. In Switzerland it is 1–4%, depending on the population studied [28]. In women of the Heidelberg investigation [6] it was about 1.5%. The status of men was less favorable; 12.8% had borderline or deficient statuses. According to data in the literature, the status of vitamin B_2 in alcoholics is generally not as good as that in the controls [72]. In a population of sick people hospitalized in France, deficiency occurred in 11% [103]. When alcoholic patients were considered, this prevalence rose to 25% [71, 98].

Folates

Controls. The mean plasma and red blood cell levels of folate did not vary between the sexes. However, total folate in men was higher; this finding obviously is related to the difference in hematocrit between men and women. Thus, interpretative guidelines for total folate should be distinct for each sex. With the existing interpretative guidelines, the three methods used for evaluating the folate status gave fairly different results (fig. 6).

There was a close relation between red blood cell and total folate. The standards used for plasma folate were more strict than those used for the other two examinations, even if they were lower than the ones usually employed (deficient status < 3 µg/l; borderline status: 3–5.9 µg/l) [148].

We did not find the same large difference in the mean level of plasma folate in our male and female controls as in the Heidelberg study [6], in which folates were assessed by radioimmunoassay (men: 7.1 ± 7.1 µg/l; women: 3.1 ± 3.5 µg/l). Nor were our results as widely dispersed. The samples of the two studies were quite comparable as to plasma folate in men. However, women in the Hei-

l'effet DPT, la fréquence des résultats marginaux et déficients est élevée. L'effet DPT moyen est significativement plus élevé dans ce groupe que dans CF (fig. 5). Quelle que soit la méthode d'évaluation utilisée, le statut biochimique B_1 est moins favorable dans les groupes de buveurs hommes où la prévalence des dosages déficients est plus grande que dans le groupe CM.

En France, dans un groupe de 307 buveurs malades hospitalisés précédemment étudiés [102], la prévalence de la déficience oscillait entre 30 et 39%. En cas de cirrhose alcoolique (87 cas), elle atteignait 47% des cas. De telles valeurs ont été retrouvées dans de nombreux travaux repertoriés dans une revue générale [22]. Le dosage de la DPT plasmatique devrait être plus sensible que les tests utilisés ici. En effet, l'altération de la vitamine B_1 circulante serait plus précoce [173].

Vitamine B_2

Le coefficient d'activation de la glutathion-réductase érythrocytaire (α-EGR) moyen indique un statut biochimique B_2 tout à fait correct chez les témoins. Il est légèrement supérieur chez les femmes mais reste éloigné des valeurs pathologiques et nous n'avons trouvé aucun cas de statut déficient ou marginal pour la vitamine B_2 chez les témoins.

Un seul résultat caractéristique d'une déficience a été trouvé dans le groupe OF_2. Deux cas de dosages marginaux ont été objectivés dans le groupe AM_1. Le statut B_2 de nos échantillons est donc particulièrement satisfaisant.

Dans les pays où la consommation de laitages est importante, la prévalence des dosages déficients ou marginaux est très faible (1% environ dans la population en bonne santé) [72]. En Suisse, elle est de 1–4% selon la population étudiée [28]. Dans l'enquête de Heidel-

berg [6] chez les femmes, elle est de l'ordre de 1,5%. Chez les hommes, le statut paraît moins favorable: 12,8% de dosages déficients ou marginaux. D'après les données de la littérature, le statut B_2 des alcooliques est généralement moins bon que celui des témoins [72]. Dans une population de malades hospitalisés en France, une déficience est retrouvée dans 11% des cas [103]. S'il s'agit de malades alcooliques, cette prévalence peut atteindre 25% des cas [71, 98].

Folates

Témoins. *Les taux moyens de folates plasmatiques et érythrocytaires ne sont pas différents selon le sexe. Chez les hommes, par contre, les folates totaux sont plus élevés, ceci est évidemment lié aux hématocrites différents entre hommes et femmes. Il conviendrait donc d'établir des normes distinctes pour les deux sexes.*

Ces trois méthodes d'évaluation du statut des folates donnent, avec les normes interprétatives retenues, des résultats relativement différents (fig. 6).

Une relation étroite entre les folates érythrocytaires et les folates totaux est notée. Chez les hommes, les normes retenues pour les folates plasmatiques sont plus sévères que celles utilisées pour les deux autres examens, même si elles sont moins élevées que celles que l'on emploie habituellement (statut déficient: <3 µg/l, statut marginal: 3–5,9 µg/l) [148].

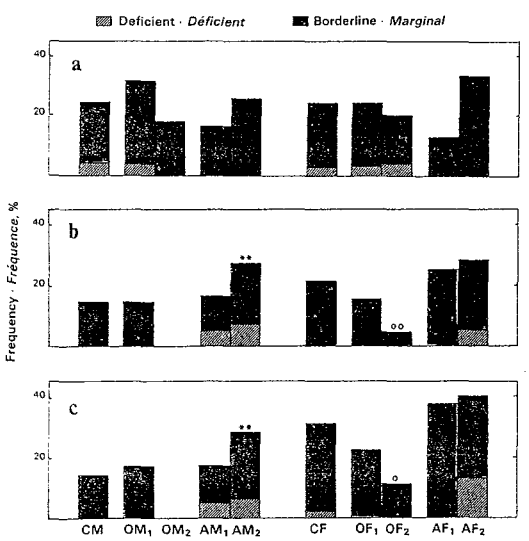


Fig. 6. Biochemical status of folate according to the interpretative guidelines. χ^2 test; $^{**}p < 0.01$ (difference vs. CM); $^{\circ}p < 0.05$, $^{\circ\circ}p < 0.01$ (difference vs. CF). a Plasma folates. b Red blood cell folates. c Total folates.

Fig. 6. *Statut biochimique en folates en fonction des limites interprétatives. Test de χ^2: $^{**}p < 0,01$ (différences avec CM); $^{\circ}p < 0,05$, $^{\circ\circ}p < 0,01$ (différences avec CF). **a** Folates plasmatiques. **b** Folates érythrocytaires. **c** Folates totaux.*

delberg study had mean plasma folate levels twofold lower than those in our study; the mean levels were never as high as those in our control group. In Heidelberg, 15.9% of men and 54.6% of women had values lower than or equal to the 'normal low value' of the method used.

In the investigation entitled 'Nutrition Canada', the prevalence of deficient values was about 18% for women and 12% for men (20–39 years of age). Borderline and deficient intakes were observed in about 65% of cases in both sexes [117].

We are only commenting on the results of these two studies; it is difficult to compare the results because of the differing assay methods, criteria and population samples used. Folate deficiency is the most frequent vitamin deficiency in developed countries [66, 74a, 88, 99]. Many studies have emphasized the role folate may play in women of childbearing age and during pregnancy [75, 151, 152, 163, 186]. The prevalence of megaloblastic anemia or medullary megaloblastosis is estimated at 5–25% in women in developed countries [57]; these abnormalities are mostly attributed to folate deficiency.

Obese Subjects. The mean plasma folate levels did not differ significantly between controls and obese subjects. The mean levels of red blood cell and total folates was higher in groups OM_2 and OF_2 and that of total folate was higher in group OF_1 than in the controls. On the whole, the status of folate in very obese subjects was better than that in the controls (fig. 6). This relationship between weight and folate did not appear in the plasma levels of the Heidelberg study [6].

Drinkers. The plasma folate status of drinkers was not significantly worse than that

Nous ne retrouvons pas, au niveau des folates plasmatiques, chez nos sujets sélectionnés comme témoins, la grande différence de taux moyens mise en évidence à Heidelberg [6] par dosage radioimmunologique, entre les hommes et les femmes (hommes: 7,1 ± 7,1 µg/l, femmes: 3,1 ± 3,5 µg/l). La dispersion de nos résultats est également beaucoup moins importante. Les échantillons étudiés sont très comparables sur le plan des folates plasmatiques pour les hommes. Par contre, chez les femmes, ceux-ci sont deux fois plus faibles que dans notre enquête; les taux moyens ne sont jamais aussi hauts que dans notre groupe sélectionné comme témoin. A Heidelberg, 15,9% des hommes et 54,6% des femmes ont des dosages inférieurs ou égaux à la «valeur normale basse» de la méthode employée.

Dans l'enquête «Nutrition Canada», la prévalence des dosages déficients était de 18% environ chez les femmes et de 12% environ chez les hommes (20–39 ans). Les dosages marginaux et déficients étaient observés dans environ 65% des cas des deux sexes [117].

Volontairement, nous ne commenterons que les résultats de ces deux enquêtes; en effet, les disparités entre les méthodes de dosage, les limites interprétatives, les échantillons de population utilisés dans les études de ce type empêchent souvent toute comparaison. La déficience en folates est la plus fréquente des déficiences vitaminiques dans les pays développés [66, 74a, 88, 99]. De très nombreux travaux ont attiré l'attention sur le rôle qu'elle pouvait avoir chez les femmes en âge de procréer et les femmes enceintes [75, 151, 152, 163, 186) et, dans les pays développés, la prévalence de l'anémie mégaloblastique ou de la mégaloblastose médullaire est estimée à 5–25% chez les femmes [57]. Ces anomalies ont été pour la plus grande part attribuées à la déficience en folates.

of the controls: mean levels were identical if not higher in drinkers (except for group AF_2), and there was no significant difference in the frequencies of deficient or borderline levels (fig. 6).

Total and mean red blood cell folates, which were a little higher in group AM_1 than in CM, were equal or slightly lower in the other groups compared to the controls.

The prevalence of the deficient or borderline status estimated by these methods was higher in all groups of drinkers than in the controls; the difference was significant in group AM_2.

The risk of folate deficiency appears to be higher in the presence of alcohol intakes regarded as being harmless by the French population. However, in the drinkers, the frequency of elevated folate levels was higher than in the control samples. For red blood cell folate, for example, 20% of CM and 40% of AM_1 had levels higher than 400 µg/l.

The relationships between alcoholism and folate metabolism have been thoroughly studied [21]. Alcoholism is a condition in which the incidence of folate deficiency is particularly high [67]. The hematological disorders are multifactorial in these cases and partly related to this deficiency [7, 95]. However, little research has been done regarding the effects of regular alcohol intake on subjects who have no detectable disorder or are not alcohol dependent. Acute alcohol intake affects plasma folate differently according to their folate stores [54].

Also, the type of alcoholic drink influences the plasma folate level. In France, beer drinkers probably have a much better folate status than wine drinkers because beer contains relatively large quantities of folates [34, 96, 185] and less alcohol.

Obèses. *Les taux moyens des folates plasmatiques ne sont pas différents entre témoins et obèses. Par contre, les taux moyens des folates érythrocytaires et totaux sont plus élevés dans les groupes OM_2 et OF_2 et ceux des folates totaux plus élevés pour OF_1. Dans l'ensemble, le statut en folates des grands obèses est meilleur que celui des témoins (fig. 6). Cette relation entre le poids et les folates n'apparaît pas non plus à l'étude des taux plasmatiques dans l'enquête de Heidelberg [6].*

Buveurs. *Le statut en folates des buveurs au regard des dosages plasmatiques ne paraît pas plus péjoratif que celui des témoins; taux moyens au moins identiques sinon plus élevés chez les buveurs (excepté pour AF_2) aucune différence significative au niveau des fréquences des résultats caractéristiques de statut déficient ou marginal (fig. 6).*

Les folates totaux et érythrocytaires moyens un peu plus élevés dans le groupe AM_1 que dans le groupe CM, sont pour les autres groupes, égaux ou discrètement inférieurs à ceux des témoins.

Appréciée par ces méthodes, la prévalence du statut déficient ou marginal est plus importante dans tous les groupes de buveurs; la différence est significative dans le groupe AM_2.

Le risque de déficience en folates paraît donc augmenter pour des consommations alcooliques déclarées tout à fait banales dans la population française. Il faut cependant souligner que, dans les groupes de buveurs, la fréquence des taux de folates élevés est plus grande que dans les échantillons témoins. Pour les folates érythrocytaires par exemple, 20% du groupe CM et 40% du groupe AM_1 ont des taux supérieurs à 400 µg/l.

Les rapports entre l'alcoolisation chronique et le métabolisme des folates ont été très étudiés [21].

Vitamin A

Controls. The mean level of retinol is higher in men than in women. The opposite is true of circulating β-carotene. The retinol/β-carotene ratio is 1.31 in men to 0.81 in women.

Few men have a borderline retinol status compared to the limits used; as opposed to 30% of women (fig. 7). β-Carotene levels depend highly on dietary β-carotene intake. Levels should be considered only in cases where retinol intake is low. In general, with vitamin A levels of at least 400 µg/l. β-carotene levels need not be considered. With lower vitamin A levels, β-carotene levels of less than 400 µg/l are indicative of a deficient vitamin A intake.

Obese Subjects. In groups OM_1 and OM_2, the mean levels of circulating retinol did not significantly differ from those of the controls. No case of deficiency was found. However, in women the retinol level was higher in groups OF_1 and OF_2 than in group CF. Therefore, the frequency of borderline statuses was lower than that in the controls (fig. 7).

Compared to CF subjects, mean β-carotene concentration was significantly lower in all obese subjects. Levels lower than 400 µg/l were found more frequently in groups OM_1, OM_2, OF_1 and OF_2.

Drinkers. The same phenomenon was found in groups AM_1, AM_2 and AF_2 as in the obese groups, i.e. higher circulating retinol and lower circulating β-carotene compared to the controls (fig. 7).

Remarks. The intersex difference found in plasma retinol level (higher in men than in women) has already been reported [125, 177]. The same relative difference is true for obese and controls [178] and drinkers and controls [6, 30].

L'alcoolisme est une situation dans laquelle la déficience en folates est particulièrement fréquente [67]. Les perturbations hématologiques rencontrées dans ce cas, sont multifactorielles et en partie liées à cette déficience [7, 95]. On connaît, par contre, assez mal les effets d'une absorption régulière d'alcool chez des sujets ne présentant ni affection décelable ni alcoolodépendance. L'absorption aiguë d'alcool a sur les folates plasmatiques des effets différents selon l'importance des réserves en cette vitamine [54].

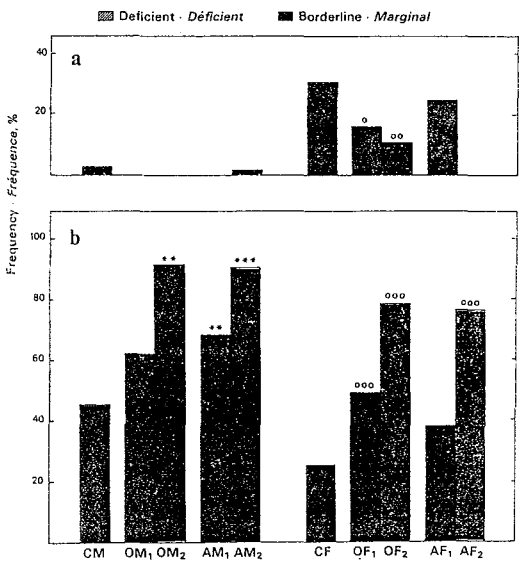
Le type de boisson alcoolique absorbée a une influence sur le taux des folates plasmatiques. Les buveurs de bière ont, probablement du fait de la présence de quantités relativement importantes de folates dans cette boisson, un statut bien meilleur que celui des consommateurs de vin ou d'alcools [34, 96, 185] mais ils absorbent également généralement moins d'alcool.

Vitamine A

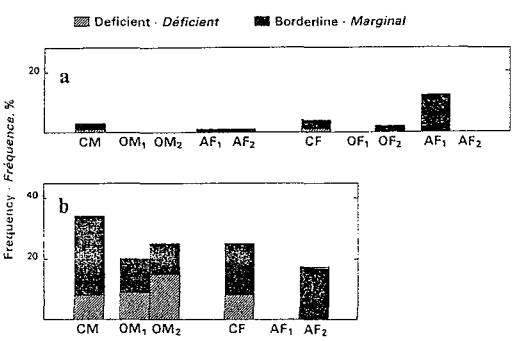
Témoins. *Le taux moyen de rétinol est plus élevé chez les hommes que chez les femmes. Par contre, on observe le contraire pour le β-carotène circulant. Le rapport rétinol/β-carotène passe de 1,31 chez les hommes à 0,81 chez les femmes.*

Peu d'hommes ont un statut marginal en rétinol par rapport aux limites utilisées. Par contre, 30% des femmes ont ce statut (fig. 7). Le statut en β-carotène est difficile à interpréter. En effet, on ne peut définir ici de classe de déficience proprement dite, la limite de 400 µg/l n'est utilisable que lorsque le statut en rétinol est déficient.

Obèses. *Chez les hommes des groupes OM_1 et OM_2, les taux moyens de rétinol circulant ne sont pas différents de ceux des témoins. Aucun cas de déficience n'a été mis en évidence. Chez les femmes, par contre, la*



7



8

Fig. 7. Biochemical status of vitamin A according to the interpretative guidelines. χ^2 test; *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001 (difference vs. CM); °p < 0.05, °°p < 0.01, °°°p < 0.001 (difference vs. CF). a Retinol. b β-Carotene.

Fig. 8. Biochemical status of vitamins E (a) and D (b) according to the interpretative guidelines.

rétinolémie est plus élevée dans les groupes OF_1 et OF_2 que dans le groupe CF. De ce fait, la fréquence des statuts marginaux est plus basse que chez les témoins (fig. 7).

La concentration moyenne en β-carotène est, par contre, significativement plus basse chez les obèses (hommes et femmes). Des taux inférieurs à 400 µg/l sont retrouvés plus fréquemment dans les groupes OM_1, OM_2, OF_1 et OF_2.

Buveurs. *Pour les groupes AM_1, AM_2 et AF_2 on retrouve le phénomène observé sur les groupes d'obèses, c'est-à-dire une augmentation du rétinol et une diminution du β-carotène circulants (fig. 7).*

Remarques. *La différence inter-sexe observée au niveau du rétinol plasmatique, taux plus élevé chez les hommes que chez les femmes, a déjà été signalée [125, 177]. Il en est de même pour celles notées entre obèses et témoins [178] et buveurs et témoins [6, 30].*

Ces phénomènes peuvent être expliqués en partie par la différence de concentration des triglycérides et du cholestérol circulants entre hommes et femmes [156, 157], entre obèses et témoins [101, 156, 157] et entre buveurs et témoins [11, 145, 156]. En effet, le niveau du rétinol plasmatique est corrélé significativement à celui du cholestérol [6, 82, 150] et à celui des triglycérides [6, 177]. L'équilibre entre le rétinol et la provitamine circulants ne peut être expliqué par le seul taux des lipides sanguins; en effet, comme la rétinolémie, le taux du β-carotène est corrélé à celui du cholestérol total,

*Fig. 7. Statut biochimique en vitamine A en fonction des limites interprétatives. Test de χ^2: *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001 (différences avec CM); °p < 0,05, °°p < 0,01, °°°p < 0,001 (différences avec CF). a Rétinol. b β-Carotène.*

Fig. 8. Statut biochimique en vitamines E (a) et D (b) en fonction des limites interprétatives.

These observations can be partly explained by the difference in circulating triglyceride and cholesterol concentrations between men and women [156, 157], between obese subjects and controls [101, 156, 157] and between drinkers and controls [11, 145, 156]. Plasma retinol level is significantly correlated with cholesterol [6, 82, 150] and triglyceride [6, 177] levels. The circulating retinol-provitamin balance cannot be explained solely by the blood lipid level; as with blood retinol, the β-carotene level is correlated to total cholesterol or HDL-cholesterol [177] or LDL-cholesterol [150, 177]. Other factors, such as the state of the liver, also play a role. If the subject has liver cirrhosis, the circulating retinol level is usually lower than in controls [26, 108, 174], while generally high levels of circulating β-carotene are reported in chronic alcoholics with or without cirrhosis [68, 119, 174]. These data, which seem to contradict ours, were mostly obtained from alcoholic patients. Some authors consider that the level of circulating β-carotene is related to food intake and even is a criterion that validates the dietary investigation [177]. We showed this relationship in whole sample studied in both men and women.

Vitamin E

In the controls, circulating vitamin E levels were the same in men and women and there were very few borderline or deficient results (< 2%) (fig. 8).

The biochemical status of tocopherol in the obese subjects was better than in the controls. Mean blood tocopherol was higher in obese men and women (significant in groups OM_1 and OF_1) and there was less borderline or deficient intake. The same was true for drinkers, except for group AF_1.

ou du cholestérol lié au HDL [177], ou au LDL [150, 177]. D'autres facteurs interviennent dans cet équilibre, comme par exemple l'état du foie. Ainsi lorsqu'existe une cirrhose hépatique, le taux de rétinol circulant est généralement plus bas que celui des témoins [26, 108, 174], alors que dans l'ensemble des taux élevés de β-carotène circulant sont signalés chez des alcooliques chroniques avec ou sans cirrhose [68, 119, 174]. Ces constatations, qui semblent en contradiction avec ce que nous avons observé, ont été faites sur des malades alcooliques dans la plupart des cas. Pour certains auteurs, le taux du β-carotène circulant est lié aux apports alimentaires constituant même un critère de validation de l'enquête diététique [177]. Nous avons enregistré une telle relation sur l'ensemble de l'échantillon étudié tant chez les hommes que chez les femmes.

Vitamine E

Dans le groupe témoin, les taux circulants de vitamine E ne sont pas différents entre hommes et femmes et la fréquence des dosages déficients et marginaux est très faible (< 2%) (fig. 8).

Le statut biochimique en tocophérols des sujets de poids excessif paraît meilleur que celui des témoins. En effet, chez les hommes comme chez les femmes, la tocophérolémie moyenne est plus élevée chez les obèses (significativement pour OM_1 et OF_1) et la fréquence des dosages marginaux et déficients est plus faible. Chez les buveurs, on observe le même phénomène excepté pour le groupe AF_1.

D'après une revue de la littérature [46], le taux moyen plasmatique de la vitamine E est, dans les pays développés, d'environ 10,5 ± 3,2 mg/l. Ce taux subit de nombreuses influences. Il augmente avec l'âge [104], il fluctue en fonction de la teneur de l'alimentation en lipides [100] et notamment en acides gras

According to a review of the literature [46], the mean plasma vitamin E level in developed countries is 10.5 ± 3.2 mg/l. This level varies; it increases with age [104], and fluctuates in relation to the dietary lipids [100] and notably of polyunsaturated fatty acids [182]. As in the case of vitamin A, plasma tocopherol variations were related to the concentration of circulating lipids (total, β-lipoproteins, phospholipids, cholesterol and triglycerides) [78, 100, 144, 177].

The fact that tocopherol is lipophilic thus may partly account for the difference noted between obese subjects or drinkers and the controls. The plasma vitamin E/total lipid ratio has sometimes been considered as a more sensitive indicator of vitamin E status than the vitamin assay alone [78].

Some authors observed low circulating levels of vitamin E in alcoholics compared to nonalcoholics, especially in those with hepatic lesions. This difference is less evident in the absence of a liver disease [62, 83]. So it was not surprising that no such difference was observed in our study where drinkers had no obvious hepatic disease.

Vitamin D

For logistic reasons, vitamin D (25-OH-D) was only determined on a probability sample of controls and drinkers. On the whole, drinkers were not significantly different from the controls. The frequency of the deficient or borderline status was high in groups CM, AM_1, AM_2 and CF (fig. 8).

The overall sample showed a relationship between 25-OH-D level and mean weekly sunning; this classic relationship has been often reported [50, 164]. It explains the seasonal variations frequently observed in levels of circulating vitamin D [170]. The correlation coefficient between mean weekly sun-

polyinsaturés [182]. Comme dans le cas de la vitamine A, les variations plasmatiques des tocophérols sont liées à la concentration des lipides circulants (lipides totaux, β-lipoprotéines, phospholipides, cholestérol et triglycérides) [78, 100, 144, 177].

Le caractère lipophile de cette vitamine peut donc expliquer en partie les différences notées entre obèses ou buveurs et témoins. Le rapport vitamine E plasmatique/lipides totaux a été parfois considéré comme indicateur plus sensible du statut vitaminique E que le dosage vitaminique seul [78].

Une diminution du taux circulant de vitamine E a été retrouvée par certains auteurs en cas d'alcoolisme, surtout lorsqu'existent des lésions hépatiques. Cette diminution, que nous n'avons pas retrouvée chez les buveurs non malades, est plus modeste lorsqu'il n'y a pas de pathologie hépatique associée [62, 83], ce qui était le cas de l'échantillon sélectionné pour cette étude.

Vitamine D

Pour des raisons logistiques, la détermination de la vitamine D (25-OH-D) n'a été effectuée que sur un sous-échantillon probabiliste de témoins et de buveurs. En moyenne les buveurs ne sont pas significativement différents des témoins. Dans quatre groupes, CM, AM_1, AM_2 et CF la fréquence du statut déficient ou marginal est élevée (fig. 8).

Pour l'échantillon global, il existe une liaison entre les taux de 25-OH-D et l'ensoleillement moyen hebdomadaire; cette relation classique est souvent notée [50, 164]. Elle explique les variations saisonnières souvent notées pour le taux de vitamine D circulant [170]. Le coefficient de corrélation entre l'ensoleillement moyen hebdomadaire et le taux de 25-OH-D n'est significatif que pour les hommes ($r = 0,33$; $p < 0,001$).

ning and 25-OH-D level was significant only in men ($r = 0.33$; $p < 0.001$).

For the same logistic reasons as above, we did not examine the vitamin D status of obese subjects. A negative correlation between weight and this status was reported in the Heidelberg study [6].

According to several authors [61, 107, 170], the level of circulating vitamin D is lower in alcoholics without hepatic lesions than in the controls. We did not find such a difference; the levels obtained with our technique were relatively lower in the controls. The data in the literature concerning circulating vitamin D levels vary [18, 49, 116]; it is not clear whether the differences are due to the methodology or to the populations studied.

Nous n'avons pas, pour les raisons logistiques exposées plus haut, examiné le statut vitaminique D des obèses. Une corrélation négative entre le poids et ce statut a été objectivée à Heidelberg [6].

Pour plusieurs auteurs [61, 107, 170], le taux de vitamine D circulant est plus bas chez les alcooliques sans lésion hépatique que chez les témoins. Nous n'avons pas remarqué une telle différence; les résultats obtenus par la technique employée semblent relativement bas pour les témoins. Les données de la littérature sont, sur ce plan, très hétérogènes [18, 49, 116] sans que l'on puisse toujours clairement établir si les différences sont d'ordre méthodologique ou en rapport avec le statut vitaminique des populations étudiées.

Iron and Other Hematological Data (tables XVII, XVIII; curves 33–36)

The differences shown in the tables agree with published data. The numbers of red blood cells, hemoglobin, hematocrit and plasma iron were higher in men, while the opposite was true for white blood cells and platelets [6, 51, 86, 161]. As opposed to *Dufer's* [51] study, group CF had a higher mean corpuscular volume than group CM.

Overweight status and alcohol intake are also classic factors in the variation of plasma iron and hematological criteria. In men as in women, the number of red and white blood cells, hemoglobin and hematocrit were generally higher when the subjects were overweight [6]. Hemoglobin, mean corpuscular volume, iron and the number of white blood cells and platelets were higher in male drinkers than in the controls; the number of red blood cells in group AM_2 was decreased. The

Hématologie et fer plasmatique *(tab. XVII, XVIII; courbes 33–36)*

Les différences mises en évidence dans ces tableaux sont en accord avec les données publiées. Le nombre des érythrocytes, l'hémoglobine, l'hématocrite et le fer plasmatique sont plus élevés en moyenne chez les hommes, tandis que l'on observe le contraire pour le nombre des leucocytes et des plaquettes [6, 51, 86, 161]. L'échantillon CF a un volume globulaire moyen plus élevé que celui de CM, contrairement aux travaux de Dufer *[51].*

La surcharge pondérale et la consommation d'alcool sont aussi des facteurs de variation classiques du fer plasmatique et des paramètres hématologiques. Chez les hommes comme chez les femmes, le nombre des érythrocytes et des leucocytes, l'hémoglobine et l'hématocrite sont plus élevés en moyenne chez les obèses [6]. Chez les buveurs hommes,

same differences, with the exception of red blood cell count, were seen in female drinkers (AF_2). This is the classic hematological profile of the alcoholic and has been described in many studies [6, 11, 38, 56, 162].

The prevalence of values below the classic interpretative limits [6, 175] was calculated for red blood cell count, hemoglobin and iron based on the overall sample (396 men and 314 women; table XIX). The drinkers are responsible for the high frequency of red blood cell values of less than 4.6×10^{12}/l in men:

l'hémoglobine, le volume globulaire moyen, le fer, le nombre des leucocytes et des plaquettes sont plus élevés que chez les témoins; le nombre des globules rouges dans le groupe AM_2 est abaissé. Chez les buveurs femmes (AF_2), on observe les mêmes différences, excepté pour la numération des érythrocytes. Ce profil hématologique du buveur d'alcool est classique et a été décrit de multiples fois [6, 11, 38, 56, 162].

Pour la numération des érythrocytes, l'hémoglobine et le fer, nous avons calculé à par-

Table XVII. Blood analysis and plasma iron levels in men (means ± SD)

	CM	CM_1	CM_2	AM_1	AM_2
Erythrocytes, $\times 10^{12}$/l	5.21 ± 0.29°°°	5.34 ± 0.37*	5.38 ± 0.32	5.18 ± 0.37	5.03 ± 0.44***
Hemoglobin, g/l	158 ± 8°°°	161 ± 13	164 ± 14*	162 ± 10***	162 ± 12***
Mean corpuscular volume, fl	87.9 ± 4.3°°	87.4 ± 3.9	88.8 ± 3.5	90.2 ± 5.8***	93.1 ± 5.8***
Hematocrit, %	46.1 ± 2.4°°°	46.6 ± 2.5	47.6 ± 3.8	46.7 ± 2.8	46.7 ± 2.9
Leukocytes, $\times 10^9$/l	5.84 ± 1.23°°	6.62 ± 1.48**	7.45 ± 1.17***	6.69 ± 1.72***	7.08 ± 1.60***
Platelets[a], $\times 10^9$/l	224 ± 51	–	–	245 ± 64*	244 ± 64*
Iron, µmol/l	21.3 ± 6.6°°	22.9 ± 8.4	22.2 ± 6.9	23.4 ± 6.4*	24.8 ± 7.5***

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ (differences vs. CM; t test).
° $p < 0.05$; °° $p < 0.01$; °°° $p < 0.001$ (differences between CM and CF; t test; CF values, see table XVI).
[a] CM: n = 99; AM_1: n = 61; AM_2: n = 86.

Table XVIII. Blood analysis and plasma iron levels in women (means ± SD)

	CF	OF_1	OF_2	AF_1	AF_2
Erythrocytes, $\times 10^{12}$/l	4.51 ± 0.28°°°	4.73 ± 0.41***	5.01 ± 0.33***	4.65 ± 0.28	4.69 ± 0.21*
Hemoglobin, g/l	139 ± 10°°°	140 ± 9	146 ± 11***	139 ± 15	150 ± 12***
Mean corpuscular volume, fl	89.3 ± 4.9°°	89.4 ± 4.6	86.5 ± 5.3**	90.6 ± 5.6	93.5 ± 5.5**
Hematocrit, %	41.4 ± 2.5°°°	42.1 ± 2.7*	43.2 ± 2.9***	40.2 ± 4.1	43.9 ± 2.8***
Leukocytes, $\times 10^9$/l	6.33 ± 1.54°°	7.22 ± 1.48***	7.28 ± 1.61***	6.50 ± 1.39	7.41 ± 1.83*
Platelets[a], $\times 10^9$/l	237 ± 49	–	–	244 ± 28	266 ± 67*
Iron, µmol/l	19.0 ± 7.0°°	18.8 ± 6.3	17.9 ± 5.9	17.7 ± 4.8	23.8 ± 8.4*

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ (differences vs. CF; t test).
° $p < 0.05$; °° $p < 0.01$; °°° $p < 0.001$ (differences between CM and CF; t test; CM values, see table XVII).
[a] CF: n = 81; AF_1: n = 8; AF_2: n = 15.

6% of AM_1 and 16% of AM_2 had a count on the borderline of the fixed limit. Except for red blood cell counts in women, our results agree with those of *Arab* et al. [6].

Glucose, Urea, GPT, GGT (fig. 9, 10)

These four parameters were examined only in drinkers and some controls (CM: n = 110; CF: n = 81). The differences observed in the means were significant in both men and women (except for urea in groups AF_1 and

*tir de l'échantillon global (396 hommes et 314 femmes), la prévalence des valeurs inférieures à des limites interprétatives classiques [6, 175] (tab. XIX). La fréquence élevée, pour les globules rouges, des valeurs inférieures à 4,6 × 10^{12}/l chez les hommes provient du groupe des buveurs, en effet 6% de AM_1 et 16% de AM_2 ont une numération en deçà de la limite fixée. Excepté pour les érythrocytes chez les femmes, nos résultats sont tout à fait comparables à ceux d'*Arab *et al. [6].*

Tableau XVII. *Hématologie et fer plasmatique chez les hommes (moyenne ± écart-type)*

	CM	*CM_1*	*CM_2*	*AM_1*	*AM_2*
Erythrocytes, × 10^{12}/l	*5,21 ± 0,29°°°*	*5,34 ± 0,37**	*5,38 ± 0,32*	*5,18 ± 0,37*	*5,03 ± 0,44****
Hémoglobine, g/l	*158 ± 8°°°*	*161 ± 13*	*164 ± 14**	*162 ± 10****	*162 ± 12****
Volume globulaire moyen, fl	*87,9 ± 4,3°°*	*87,4 ± 3,9*	*88,8 ± 3,5*	*90,2 ± 5,8****	*93,1 ± 5,8****
Hématocrite, %	*46,1 ± 2,4°°°*	*46,6 ± 2,5*	*47,6 ± 3,8*	*46,7 ± 2,8*	*46,7 ± 2,9*
Leucocytes, × 10^9/l	*5,84 ± 1,23°°*	*6,62 ± 1,48***	*7,45 ± 1,17****	*6,69 ± 1,72****	*7,08 ± 1,60****
Plaquettes[a], × 10^9/l	*224 ± 51*	–	–	*245 ± 64**	*244 ± 64**
Fer, µmol/l	*21,3 ± 6,6°°*	*22,9 ± 8,4*	*22,2 ± 6,9*	*23,4 ± 6,4**	*24,8 ± 7,5****

**p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001 (différences avec CM; t test).*

°p < 0,05; °°p < 0,01; °°°p < 0,001 (différences entre CM etCF; t test; CF, voir tab. XVI).

[a] *CM: n = 99; AM_1: n = 61; AM_2: n = 86.*

Tableau XVIII. *Hématologie et fer plasmatique chez les femmes (moyenne ± écart-type)*

	CF	*OF_1*	*OF_2*	*AF_1*	*AF_2*
Erythrocytes, × 10^{12}/l	*4,51 ± 0,28°°°*	*4,73 ± 0,41****	*5,01 ± 0,33****	*4,65 ± 0,28*	*4,69 ± 0,21**
Hémoglobine, g/l	*139 ± 10°°°*	*140 ± 9*	*146 ± 11****	*139 ± 15*	*150 ± 12****
Volume globulaire moyen, fl	*89,3 ± 4,9°°*	*89,4 ± 4,6*	*86,5 ± 5,3***	*90,6 ± 5,6*	*93,5 ± 5,5***
Hématocrite, %	*41,4 ± 2,5°°°*	*42,1 ± 2,7**	*43,2 ± 2,9****	*40,2 ± 4,1*	*43,9 ± 2,8****
Leucocytes, × 10^9/l	*6,33 ± 1,54°°*	*7,22 ± 1,48****	*7,28 ± 1,61****	*6,50 ± 1,39*	*7,41 ± 1,83**
Plaquettes[a], × 10^9/l	*237 ± 49*	–	–	*244 ± 28*	*266 ± 67**
Fer, µmol/l	*19,0 ± 7,0°°*	*18,8 ± 6,3*	*17,9 ± 5,9*	*17,7 ± 4,8*	*23,8 ± 8,4**

**p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001 (différences avec CF; t test).*

°p < 0,05; °°p < 0,01; °°°p < 0,001 (différences entre CM and CF; t test; CM, voir tab. XVII).

[a] *CF: n = 81; AF_1: n = 8; AF_2: n = 15.*

AF_2). These variations are known [9, 143, 145]; the GGT/urea ratio has even been proposed as in index of alcohol intake [10].

Correlations between Biochemical, Biological and Dietary Data

Iron and vitamin intakes, except for β-carotene, were positively correlated with the amount of dietary energy, protein, carbohydrates, and lipids (expressed in absolute values; table XX).

The significant relationships between micronutrient intake and relative energy intake permitted us to formulate some hypotheses as to the main dietary sources of vitamins and iron. When micronutrient intake is positively correlated with that of protein, its main sources are probably animal, as seen for vitamins B_2 and D (table XX). However, when a positive correlation with carbohydrate intake is found, then the micronutrients are of vegetable origin. This is the case for vitamin B_1, folacin, β-carotene, vitamins C, E and iron. The relationships with the three types of lipids lead to converging hypotheses. Generally,

Glucose, urée, GPT, GGT *(fig. 9, 10)*

Ces quatre paramètres n'ont été déterminés que chez les buveurs et une partie des témoins (CM: n = 110; CF: n = 81). Les différences observées sur les moyennes sont significatives chez les hommes et chez les femmes (excepté pour l'urée dans les groupes AF_1 et AF_2). Ces variations sont connues [9, 143, 145], le rapport GGT/urée a même été proposé comme indice de consommation alcoolique [10].

Corrélations entre les paramètres du statut en vitamines et en fer

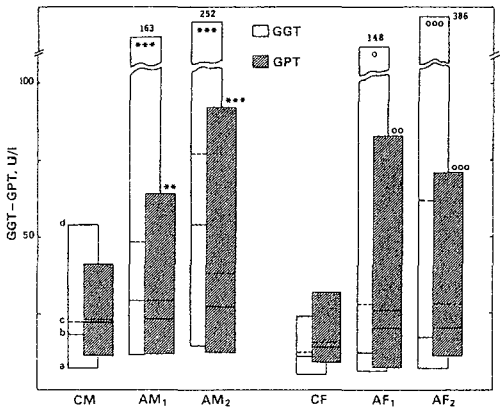
Les apports en fer et en vitamines (β-carotène excepté) sont corrélés positivement à la quantité d'aliments absorbée: énergie, protéines, glucides et lipides, ceux-ci étant exprimés en valeur absolue (tab. XX). Les liaisons significatives observées entre les apports en micronutriments et les apports relatifs en macronutriments (en fonction des apports en énergie) permettent d'émettre des hypothèses sur les principales sources alimentaires des vita-

Table XIX. Erythrocytes, hemoglobin and plasma iron: frequency (%) of low values for pooled samples of men and women

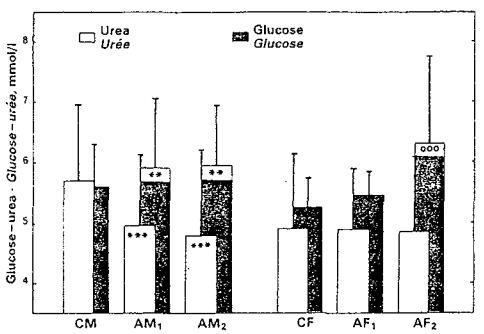
	Men (n = 396)	Women (n = 314)
Erythrocytes		
$< 4.6 \times 10^{12}$/l	5.6	
$< 4.2 \times 10^{12}$/l		3.5
Hemoglobin		
< 130 g/l	0.3	
< 120 g/l		3.2
Plasma iron		
< 10.7 µmol/l	2.6	
< 7.2 µmol/l		2.2

Tableau XIX. *Erythrocytes, hémoglobine et fer plasmatique: fréquence (%) des valeurs basses dans l'échantillon global*

	Hommes (n = 396)	*Femmes (n = 314)*
Erythrocytes		
$< 4{,}6 \times 10^{12}$/l	*5,6*	
$< 4{,}2 \times 10^{12}$/l		*3,5*
Hémoglobine		
< 130 g/l	*0,3*	
< 120 g/l		*3,2*
Fer plasmatique		
< 10,7 µmol/l	*2,6*	
< 7,2 µmol/l		*2,2*



9



10

mines et du fer. Si les apports en un micronutriment sont positivement corrélés avec ceux des protéines, ses sources principales sont vraisemblablement d'origine animale; c'est ce que l'on observe pour les vitamines B_2 et D (tab. XX). Par contre, une liaison positive avec les apports en glucides correspond pour les micronutriments à une origine principalement végétale, c'est le cas pour les vitamines B_1, folates, C, β-carotène, E et le fer. Les liaisons avec les trois types de lipides conduisent à des hypothèses convergentes. On observe une corrélation positive entre la vitamine B_2, le rétinol et les lipides saturés, d'origine principalement animale. Les folates, tocophérols et fer sont corrélés positivement aux lipides polyinsaturés qui proviennent principalement des végétaux. Dans l'ensemble les régimes riches en lipides amènent moins de micronutriments, ceux qui sont riches en alcool et particulièrement en vin amènent plus de fer.

Quand on étudie les micronutriments dans l'échantillon global, les coefficients de corrélation entre les apports alimentaires journaliers et la concentration dans le sang ne sont significatifs que pour la vitamine B_2 et le fer chez

Fig. 9. Activity of GGT and GPT in the controls and drinkers. a, b, d = Centiles 5, 50 and 95, respectively; c = mean. t test; $^{**}p < 0.01$, $^{***}p < 0.001$ (difference vs. CM); $^{\circ}p < 0.05$, $^{\circ\circ}p < 0.01$, $^{\circ\circ\circ}p < 0.001$ (difference vs. CF).

Fig. 10. Urea and glucose in the controls and drinkers. Means + SD. t test; $^{**}p < 0.01$, $^{***}p < 0.001$ (difference vs. CM); $^{\circ\circ\circ}p < 0.001$ (difference vs. CF).

Fig. 9. *Activité de la GGT et de la GPT chez les témoins et les buveurs. a, b, d = centiles 5, 50, 95; c = moyennes. Test de t; $^{**}p < 0,01$, $^{***}p < 0,001$ (différences avec CM); $^{\circ}p < 0,05$, $^{\circ\circ}p < 0,01$, $^{\circ\circ\circ}p < 0,001$ (différences avec CF).*

Fig. 10. *Urée et glucose chez les témoins et les buveurs. Moyennes + écarts-types. Test de t; $^{**}p < 0,01$, $^{***}p < 0,001$ (différences avec CM); $^{\circ\circ\circ}p < 0,001$ (différences avec CF).*

Table XX. Correlations between daily energy and nutrient supply (pooled samples of controls, obese subjects and drinkers)

		Vit. B_1		Vit. B_2		Folate		Retinol		β-Carot.		RE		Vit. E		Iron		Vit. C		Vit. D	
		M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
Energy	E_1	▲	△	▲	△	▲	△	▲	△	–	–	▲	△	▲	△	▲	△	▵	▵	–	△
Proteins	g/day	▲	△	▲	△	▲	△	▲	△	▵	–	▲	△	▲	△	▲	△	▵	▵	▲	△
	% E_2	–	–	▲	△	–	–	–	–	–	–	–	–	▼	▽	–	–	–	–	▲	–
Carbohydrates	g/day	▲	△	▲	△	▲	△	▲	▵	–	–	▲	▵	▲	△	▲	△	▲	▵	–	▵
	% E_2	▲	▵	–	–	–	▵	–	–	▵	–	–	–	▲	△	–	▵	▲	▵	▼	–
Lipids TL	g/day	▲	△	▲	△	▲	△	▲	△	–	–	▵	▵	▲	△	▲	△	–	–	▵	△
	% E_2	▼	▽	▾	▿	–	▿	–	–	▾	–	–	–	▼	▽	–	▿	▼	▿	▾	–
Saturated	% TL	–	–	–	▵	–	–	–	△	–	–	–	–	▼	–	–	–	–	–	–	–
Monounsat.	% TL	–	–	–	–	–	▵	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Polyunsat.	% TL	–	–	–	–	▵	–	–	–	–	–	–	–	▵	–	▵	–	–	–	–	▿
Alcohol	g/day	▵	▵	▵	▵	▵	–	–	–	–	–	–	–	▲	▵	▲	△	–	–	–	–
	% E_1	–	–	–	–	–	–	▾	–	–	–	–	–	–	–	▲	△	–	–	–	–

M = Males; F = females; E_1 = supplies with alcohol; E_2 = supplies without alcohol; TL = total lipids.
▵ ▵ = Positive correlation: $0.05 > p > 0.001$; ▲ △ = positive correlation: $p < 0.001$.
▾ ▿ = Negative correlation: $0.05 > p > 0.001$; ▼ ▽ = negative correlation: $p < 0.001$.

high lipid diets are associated with low micronutrient intake. High alcohol diets, particularly those high in wine, are associated with high iron intake. There is a positive correlation between vitamin B_2, retinol and saturated lipids of mainly animal origin. Folacin, tocopherol and iron are positively correlated with polyunsaturated lipids coming from plants.

When micronutrients in the overall sample are examined, the correlation coefficients between daily dietary intake and blood concentration are only significant for vitamin B_2 and iron in men and for β-carotene in both sexes (table XXI). The correlation concerning riboflavin is negative since the α-EGR is lower when the vitamin B_2 status is higher. Relationships between vitamin intake and

les hommes, et le β-carotène pour les deux sexes (tab. XXI). La corrélation concernant la riboflavine est négative puisque le coefficient α-EGR est d'autant plus faible que le statut vitaminique B_2 est meilleur. Dans la littérature, des liaisons entre les apports alimentaires et les taux circulants ont été notées pour les vitamines B_1, B_2 et C chez des patients hospitalisés [102], pour les caroténoïdes [32, 177] et pour la vitamine E [177]. Une corrélation significative a été rapportée entre l'apport en folates et les folates érythrocytaires [14]. Cette corrélation n'est pas retrouvée pour les folates plasmatiques. Des apports en vitamine A préformée, même importants, modifient très peu la concentration plasmatique en rétinol [177, 178]. Pour la β-carotène et la vitamine E,

Tableau XX. *Corrélations entre les apports alimentaires journaliers (échantillon global)*

			Vit. B_1		Vit. B_2		Folates		Rétinol		β-Carot.		ER		Vit. E		Fer		Vit. C		Vit. D	
			H	F	H	F	H	F	H	F	H	F	H	F	H	F	H	F	H	F	H	F
Energie		E_1	▲	△	▲	△	▲	△	▲	△	–	–	▲	△	▲	△	▲	△	▲	▵	–	△
Protéines		g/j	▲	△	▲	△	▲	△	▲	△	▲	–	▲	△	▲	△	▲	△	▲	▵	▲	△
		% E_2	–	–	▲	△	–	–	–	–	–	–	–	–	▼	▽	–	–	–	–	▲	–
Glucides		g/j	▲	△	▲	△	▲	△	▲	▵	–	–	▲	▵	▲	△	▲	△	▲	▵	–	▵
		% E_2	▲	▵	–	–	–	▵	–	–	▲	–	–	–	▲	△	–	▵	▲	▵	▼	–
Lipides	LT	g/j	▲	△	▲	△	▲	△	▲	△	–	–	▲	▵	▲	△	▲	△	–	–	▲	△
		% E_2	▼	▽	▾	▿	–	▿	–	–	▾	–	–	–	▼	▽	–	▿	▼	▿	▾	–
	Saturés	% LT	–	–	–	▵	–	–	–	△	–	–	–	–	▼	–	–	–	–	–	–	–
	Monoinsat.	% LT	–	–	–	–	–	▵	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	Polyinsat.	% LT	–	–	–	–	▵	–	–	–	–	–	–	–	▲	–	▲	–	–	–	–	▿
Alcool		g/j	▲	▵	▲	▵	▲	–	–	–	–	–	–	–	▲	▵	▲	△	–	–	–	–
		% E_1	–	–	–	–	–	–	▾	–	–	–	–	–	–	–	▲	△	–	–	–	–

H = Hommes; F = femmes; E_1 = apports avec alcool; E_2 = apports sans alcool; LT = lipides totaux.
▲ ▵ = Corrélation positive: 0,05 > p > 0,001; ▲ △ = corrélation positive: p < 0,001.
▾ ▿ = Corrélation négative: 0,05 > p > 0,001; ▼ ▽ = corrélation négative: p < 0,001.

circulating levels have been reported for vitamin B_1, B_2 and C in hospitalized patients [102], for carotenoids [32, 177] and for vitamin E [177]. A significant correlation was reported [14] between folate intake and red blood cell folate but not plasma folate. The intake of preformed vitamin A, even if it is high, hardly affects plasma retinol concentration [177, 178]. Adjustment according to age, sex, caloric intake and plasma lipid levels improves the partial correlation coefficient of β-carotene and vitamin E [177]. We have not been able to show any other relationships by substituting nutritional density for daily intake. The correlations between hemoglobin levels and iron intakes, calculated based on the overall sample, were not significant in *l'ajustement par l'âge, le sexe, les apports caloriques et les lipides plasmatiques améliore le coefficient de corrélation partiel [177]. Nous n'avons pas mis en évidence d'autres liaisons en remplaçant les apports journaliers par les densités nutritionnelles. Les liaisons calculées à partir de l'échantillon global, entre l'hémoglobine et les apports en fer ne sont significatives ni pour les femmes, ni pour les hommes, contrairement aux résultats de travaux anciens [1, 63].*

Les coefficients de corrélation entre alimentation et examens biologiques sont faibles et peu souvent significatifs [87]. En effet, la régulation au niveau individuel de la concentration sanguine des vitamines et du fer fait intervenir d'autres facteurs que les apports ali-

either men or women, as opposed to the data of previous studies [1, 63].

The correlation coefficients between diet and biological examination are low and not often significant [87]. Individual regulation of blood vitamin and iron concentrations includes factors other than weekly or 24-hour dietary intake, i.e. intestinal absorption, micronutrient metabolism itself, stores and individual requirement. The diet preceding the investigation also plays a part if the vitamin is stored.

Positive correlations in men (table XXI) between vitamin E and plasma retinol and folate or iron intakes and negative correlations between plasma β-carotene and iron intake probably result from the wide scatter of these parameters which is due to the drinkers.

mentaires de la semaine ou des 24 h comme l'absorption intestinale, le métabolisme propre du micronutriment, l'état des réserves, les besoins individuels.... L'alimentation de la période précédant l'enquête joue aussi un rôle si la vitamine est stockée.

Les liaisons positives notées chez les hommes (tab. XXI) entre la vitamine E ou le rétinol plasmatique et les apports en folates ou en fer, et les liaisons négatives entre le β-carotène plasmatique et les apports en fer proviennent vraisemblablement de la dispersion importante de ces paramètres, celle-ci est due au groupe des buveurs.

Certaines des corrélations entre les examens biologiques (vitamines et fer) ne sont pas étonnantes (tab. XXII); c'est le cas de celles observées entre l'activité de la transcéto-

Table XXI. Correlations between the blood vitamin and iron levels and the daily dietary supply (pooled samples of controls, obese subjects and drinkers)

Blood determination		Daily dietary supply																	
		Vit. B_1		Vit. B_2		Folate		Retinol		β-Carot.		RE		Vit. E		Iron		Vit. C	
		M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
Vitamin B_1	TPP effect	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	▾	–
	Transketolase	–	–	–	–	–	–	–	–	–	▽	–	–	–	–	–	–	–	–
Vitamin B_2	(α-EGR)	–	–	▾	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	▲	–	–	–
Folate	Plasma	–	–	–	△	–	–	–	–	–	△	–	–	–	–	–	–	–	△
	Total	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	△
	Erythrocytes	–	–	–	–	–	–	▲	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	△
Retinol		–	–	–	–	▲	–	–	–	–	–	–	–	–	–	▲	–	–	–
β-Carotene		–	–	–	–	–	–	–	–	▲	△	▲	△	–	△	▼	–	▲	–
Vitamin E		–	–	–	–	▲	–	–	–	–	–	–	–	–	–	▲	–	–	–
Iron		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	△	–	–	–

M = Males; F = females.
▲ △ = Positive correlation: $0.05 > p > 0.001$; ▲ △ = positive correlation: $p < 0.001$.
▾ ▽ = Negative correlation: $0.05 > p > 0.001$; ▼ ▽ = negative correlation: $p < 0.001$.

Some correlations between biological examinations (vitamins and iron) are not surprising (table XXII), as in the case of those between transketolase activity and the TPP effect and among the three folate assays [84]. The correlations between vitamin E and plasma retinol are due to the lipophilic nature of these vitamins which are transported by blood lipids [177]. Iron and plasma retinol are often correlated [30, 158], but in well-fed populations, retinol and plasma β-carotene should not be related, as opposed to our observations [30]. At this time, we can provide no hypothesis for the other correlations found.

Correlations between vitamin levels, circulating iron and hematological criteria are difficult to interpret (table XXIII).

lase et l'effet DPT et entre les trois dosages de folates [84]. Les liaisons entre la vitamine E et le rétinol plasmatique peuvent être expliquées par leur caractère lipophile; ces deux vitamines sont transportées par les lipides sanguins [177]. Le fer et le rétinol plasmatique sont souvent corrélés ensemble [30, 158], mais, par contre, dans les populations bien nourries le rétinol et le β-carotène plasmatique ne devraient pas être liés, contrairement à ce que nous avons noté [30]. Pour les autres relations mises en évidence, il serait hasardeux pour le moment d'émettre des hypothèses.

Les corrélations entre le niveau des vitamines et du fer circulants et les paramètres hématologiques sont difficiles à interpréter (tab. XXIII).

Tableau XXI. *Corrélations entre les examens biologiques (vitamines et fer) et les apports alimentaires journaliers (échantillon global)*

Examens biologiques		*Apports alimentaires journaliers*																	
		vit. B_1		*vit. B_2*		*folates*		*rétinol*		*β-carot.*		*ER*		*vit. E*		*fer*		*vit. C*	
		H	*F*	*H*	*F*	*H*	*F*	*H*	*F*	*H*	*F*	*H*	*F*	*H*	*F*	*H*	*F*	*H*	*F*
Vitamine B_1	*Effet DPT*	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	▼	–
	Transcétolase	–	–	–	–	–	–	–	–	–	▽	–	–	–	–	–	–	–	–
Vitamine B_2	*(α-EGR)*	–	–	▼	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	▲	–	–	–
Folates	*Plasmatiques*	–	–	–	△	–	–	–	–	–	△	–	–	–	–	–	–	–	△
	Totaux	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	△
	Erythrocytaires	–	–	–	–	–	–	▲	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	△
Rétinol		–	–	–	–	▲	–	–	–	–	–	–	–	–	–	▲	–	–	–
β-Carotène		–	–	–	–	–	–	–	–	▲	△	▲	△	–	△	▼	–	▲	–
Vitamine E		–	–	–	–	▲	–	–	–	–	–	–	–	–	–	▲	–	–	–
Fer		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	△	–	–	–

H = Hommes; F = femmes.
▲ △ = Corrélation positive: $0.05 > p > 0.001$; ▲ △ = corrélation positive: $p < 0.001$.
▼ ▽ = Corrélation négative: $0.05 > p > 0.001$; ▼ ▽ = corrélation négative: $p < 0.001$.

Table XXII. Correlations between blood vitamin and iron levels (pooled samples of controls, obese subjects and drinkers)

		Vit. B_1				Vit. B_2		Folate						Retinol		β-Carot.		Vit. E	
		TPP		trans-ketolase				plasma		total		RBC							
		M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
Vitamin B_1	Transketolase	▼	▽																
Vitamin B_2	(α-EGR)	–	–	–	–														
Folate	Plasma	–	–	▼	–	▼	–												
	Total	–	–	–	–	▾	–	▲	△										
	RBC	–	–	–	–	–		▲	△	▲	△								
Retinol		–	–	–	–	–	–	▵	–	–	–	–	–						
β-Carotene		–	▵	–	▽	–	–	–	△	–	–	–	–	▾	▽				
Vitamin E		–	–	–	–	–	–	▲	–	–	–	–	–	▲	△	–	–		
Iron		–	–	–	–	▲	–	–	–	–	–	–	▽	▲	△	▾	–	▲	–

M = Males; F = females.
▲ △ = Positive correlation: $0.05 > p > 0.001$; ▲ △ = positive correlation: $p < 0.001$.
▾ ▽ = Negative correlation: $0.05 > p > 0.001$; ▼ ▽ = negative correlation: $p < 0.001$.

Table XXIII. Correlations between blood vitamin and iron levels and the hematological parameters (pooled samples of controls, obese subjects and drinkers)

		Leukocytes		Erythrocytes		Hemoglobin		MCV		Hematocrit	
		M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
Vitamin B_1	TPP effect	–	▵	–	–	–	–	–	–	▵	–
	Transketolase	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Vitamin B_2	(α-EGR)	–	–	–	–	▾	–	–	–	▲	–
Folate	Plasma	▾	–	–	–	–	–	–	▽	–	–
	Total	–	–	▲	▵	▲	–	–	–	▲	▵
	Erythrocytes	–	–	▲	–	–	–	–	▽	–	–
Retinol		▲	▵	–	–	–	△	▲	–	–	▵
β-Carotene		▼	▽	–	–	–	▽	▼	–	–	▽
Vitamin E		▲	–	▾	–	–	–	▲	–	–	–
Iron		▲	–	–	–	▲	△	▲	△	▲	△

M = Males; F = females.
▲ △ = Positive correlation: $0.05 > p > 0.001$; ▲ △ = positive correlation: $p < 0.001$.
▾ ▽ = Negative correlation: $0.05 > p > 0.001$; ▼ ▽ = negative correlation: $p < 0.001$.

Tableau XXII. *Corrélations entre les examens biologiques (vitamines et fer, échantillon global)*

		Vit. B_1				Vit. B_2		Folates						Rétinol		β-Carot.		Vit. E	
		DPT		trans-cétolase				plasma-tiques		totaux		érythro-cytaire							
		H	F	H	F	H	F	H	F	H	F	H	F	H	F	H	F	H	F
Vitamine B_1	Transcétolase	▼	▽																
Vitamine B_2	(α-EGR)	–	–	–	–														
Folates	Plasmatiques	–	–	▼	–	▼	–												
	Totaux	–	–	–	–	▾	–	▲	△										
	Erythrocytaires	–	–	–	–	–		▲	△	▲	△								
Rétinol		–	–	–	–	–	–	▴	–	–	–	–	–						
β-Carotène		–	▵	–	▿	–	–	–	△	–	–	–	–	▾	▿				
Vitamine E		–	–	–	–	–	–	▲	–	–	–	–	–	▲	△	–	–		
Fer		–	–	–	–	▴	–	–	–	–	–	–	▿	▲	△	▾	–	▴	–

H = Hommes; F = femmes.
▴ ▵ = Corrélation positive: 0,05 > p > 0,001; ▲ △ *= corrélation positive: p < 0,001.*
▾ ▿ = Corrélation négative: 0,05 > p > 0,001; ▼ ▽ *= corrélation négative: p < 0,001.*

Tableau XXIII. *Corrélations entre les examens biologiques (vitamines et fer) et les paramètres hématologiques (échantillon global)*

		Leucocytes		Erythrocytes		Hémoglobine		VGM		Hématocrite	
		H	F	H	F	H	F	H	F	H	F
Vitamine B_1	Effet DPT	–	▵	–	–	–	–	–	–	▴	–
	Transcétolase	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Vitamine B_2	(α-EGR)	–	–	–	–	▾	–	–	–	▴	–
Folates	Plasmatiques	▾	–	–	–	–	–	–	▿	–	–
	Totaux	–	–	▲	▵	▲	–	–	–	▲	▵
	Erythrocytaires	–	–	▴	–	–	–	–	▿	–	–
Rétinol		▴	▵	–	–	–	△	▲	–	–	▵
β-Carotène		▼	▿	–	–	–	▿	▼	–	–	▿
Vitamine E		▴	–	▾	–	–	–	▴	–	–	–
Fer		▲	–	–	–	▴	△	▲	△	▴	△

VGM = Volume globulaire moyen; H = hommes; F = femmes.
▴ ▵ = Corrélation positive: 0,05 > p > 0,001; ▲ △ *= corrélation positive: p < 0,001.*
▾ ▿ = Corrélation négative: 0,05 > p > 0,001; ▼ ▽ *= corrélation négative: p < 0,001.*

Conclusion

ESVITAF allows one to draw several conclusion and to define future research more clearly.

From the nutritional standpoint, this study showed that the groups investigated generally had adequate vitamin levels but that certain problems did exist, i.e.:

- Low vitamin content was found to be a problem for both normal weight and obese subjects who had a hypocaloric (low) or hypercaloric (high) intake.
- The average consumption of certain vitamins, especially folate, was very much lower than the corresponding RDA. This raises the question as to whether the food composition tables used for the vitamins are valid and whether the corresponding RDA figures are realistic.
- A certain percentage of the subjects preselected for good health had poorly balanced diets and low vitamin intakes. Under these conditions, long-term maintenance of vitamin stores in the body would no longer be possible and the subject's health would deteriorate, especially in the presence of an increased requirement.

From the biological standpoint, the levels of most vitamins in the groups studied were considered deficient, with low levels being particularly prevalent in certain groups. Some of the lower levels are typical of biological risk but not of a real deficiency. For the vitamins considered, these levels can be interpreted, based on the methods used herein, as a recently acquired deficit in the vitamin supply or store. In both cases, the individual runs the risk of a severe vitamin deficiency due to sudden decreases in vitamin supplies

Conclusion

L'enquête ESVITAF permet de dégager un certain nombre de conclusions et de définir quelques axes de recherche.

Sur le plan des apports alimentaires, la situation des groupes étudiés paraît globalement bonne. Pour certains micronutriments, quelques problèmes apparaissent cependant:

- *La densité vitaminique des rations est faible. Avec les aliments utilisés, l'apport vitaminique est bas pour des niveaux caloriques relativement importants. Cet apport est certainement insuffisant si l'on recourt à des régimes hypocaloriques. Dans les groupes étudiés, ceci concerne un certain nombre de sujets de poids normal et des obèses.*
- *Les apports moyens en certaines vitamines et notamment en folates sont beaucoup plus bas que les AC. Ceci pose le problème de la validité des tables de composition utilisées et éventuellement des AC pour ces vitamines.*
- *Parmi les sujets recrutés sur des critères de bonne santé, un certain nombre a des apports nutritionnels déséquilibrés et des apports vitaminiques bas ne permettant sans doute pas, sur des périodes prolongées, de maintenir des stocks corrects ou de répondre à un brusque accroissement des besoins.*

Sur le plan biologique, on retrouve dans tous les groupes étudiés et pour la plupart des vitamines, quelques dosages considérés par les auteurs des méthodes comme caractéristiques de déficiences vitaminiques. La prévalence de tels dosages est relativement importante dans certains groupes. Certains dosages correspondent à des états moins tranchés dans lesquels plus que de déficience vraie, il faut parler de risque biologique. Selon les vitamines et les méthodes considérées, ils peuvent être interprétés comme

and/or increased vitamin requirements due to illness or pregnancy...

The vitamin levels of the deficiency-risk groups were found to be less satisfactory than in the control group.

Although not fully representative of the complete French population, this investigation confirmed that:

- in France as in other industrialized countries, pathological situations resulting from vitamin deficiencies do exist;
- in the groups considered a priori as being at risk to develop a vitamin deficiency, the number of subjects with vitamin deficits was higher.

There is an urgent need to publish more information on the vitamin composition in foods for use in ongoing and future investigations. For instance, the vitamin status should be assessed in additional groups such as: premature babies and young children, adolescents, women taking oral contraceptives, pregnant women, the elderly people, subjects on unconventional diets for medical, social or philosophical reasons, and ill people.

It must be kept in mind that France is unique in its dietary habits and that nutritional studies for other countries cannot be systematically extrapolated to France.

The analysis of the comprehensive food surveys underway in France may stress the need to re-examine the question of whether some foods should be supplemented with vitamins.

liés à une insuffisance des apports vitaminiques récents ou des réserves de l'organisme. Dans les deux cas, cette situation peut, en cas d'augmentation des besoins (grossesse, maladie ...) ou de diminution brusque des apports, déboucher très vite sur une déficience vitaminique dangereuse (cas des folates). Pour certains groupes à risque étudiés, la situation est moins bonne que chez les témoins.

Ce travail, qui ne peut prétendre donner une vision représentative de l'état vitaminique de la population, confirme:

- *que comme dans d'autres pays industrialisés, il existe en France, en dehors de toute pathologie, des déficits vitaminiques;*
- *que dans les groupes considérés, a priori, comme présentant un risque supplémentaire de déficience vitaminique, les sujets carencés sont plus nombreux.*

Parmi les études à entreprendre, et dont certaines sont déjà en cours, la mise à jour et l'édition de documents concernant la composition vitaminique des aliments paraît urgente; la détermination du statut vitaminique d'autres tranches d'âges et l'examen d'autres groupes à risque de déficience – prématurés et jeunes enfants, adolescents, femmes sous contraception hormonale, femmes enceintes, veillards, d'une part, sujets soumis à des alimentations non traditionnelles pour des raisons médicales, sociales ou philosophiques et malades divers d'autre part – est très souhaitable. Les travaux réalisés à l'étranger ne sont pas, en effet, systématiquement extrapolables à la population française.

Les grandes enquêtes de consommation devraient également permettre, à la lumière de l'expérience d'autres pays, d'étudier sous un jour neuf le problème de l'opportunité du renforcement de la ration en certaines vitamines en France. Des programmes d'éducation alimentaire et culinaire orientés vers les problèmes vitaminiques devraient être étudiés.

Distribution of the Dietary and Biological Parameters

The distributions of the main parameters of the study are depicted in the form of cumulative frequency. This type of presentation, also used in the Heidelberg study [6], permits a rapid computation of percentile distributions to be made. The reader can easily compare our data with the interpretative limits of the distributions chosen in the preceding sections.

Because we could not represent all of the groups, we have shown only the distributions of the two control samples, CM and CF. All the histograms have been standardized and are presented in the following order:

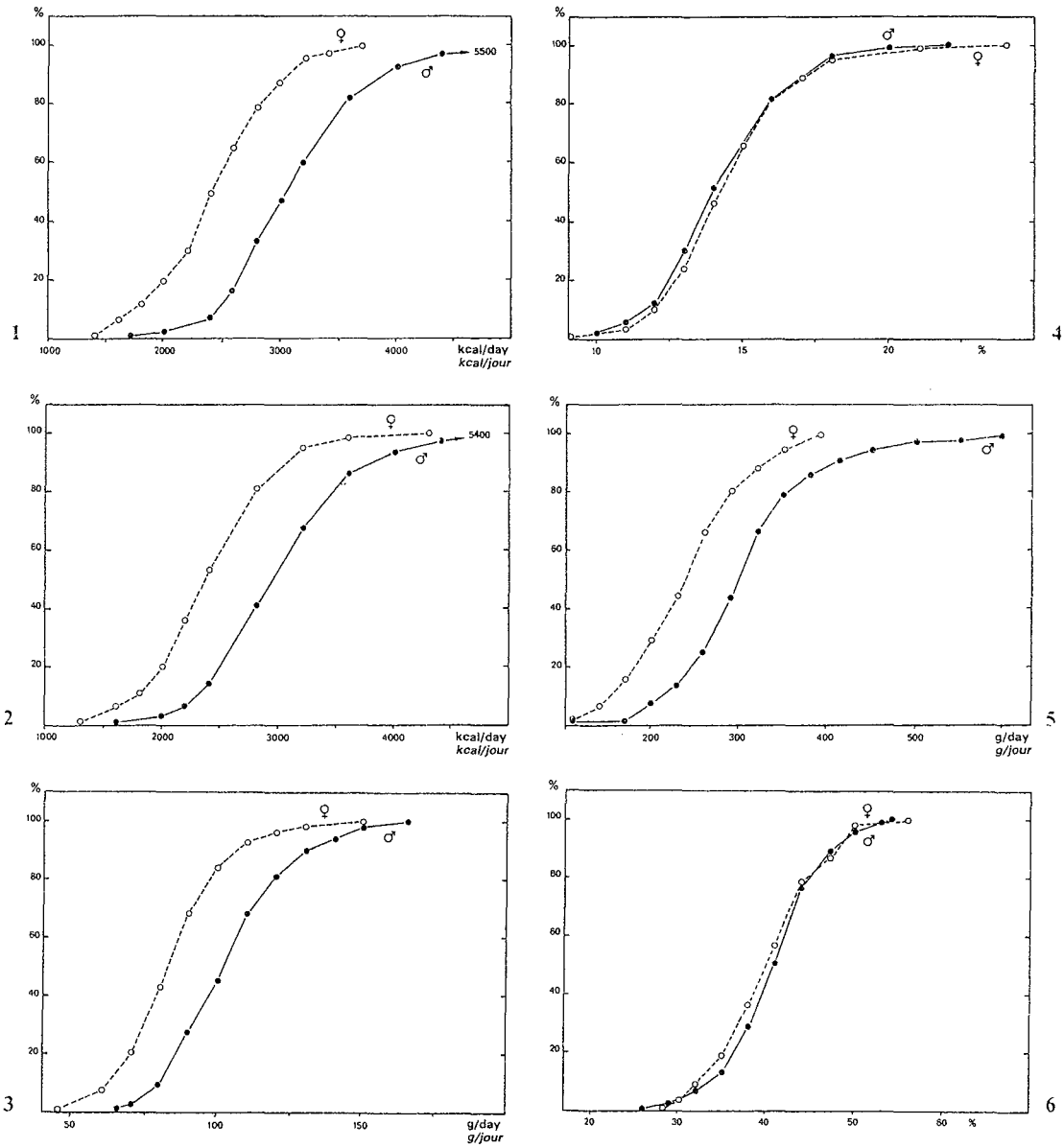
Distribution des paramètres de l'enquête

Dans ce chapitre sont présentées les distributions des principaux paramètres de cette enquête sous forme de courbes de fréquences cumulées. Ce mode de présentation utilisé dans l'enquête de Heidelberg [6] permet de calculer rapidement les centiles des distributions. De plus, le lecteur pourra aisément comparer nos résultats à des limites interprétatives différentes de celles choisies dans les chapitres précédents.

Comme il était impossible de faire figurer tous les groupes, nous n'avons représenté que les distributions des deux échantillons témoins (CF et CM). Tous les graphiques ont été standardisés et se présentent dans l'ordre ci-dessous.

	Curve No.
Dietary intake	
Energy	1, 2
Protein	3, 4
Carbohydrates	5, 6
Lipids	7, 8
Vitamin B_1	9, 10
Vitamin B_2	11, 12
Vitamin A	13, 14
Vitamin C	15, 16
Vitamin E	17, 18
Folates	19, 20
Iron	21, 22
Biology	
Vitamin B_1	23, 24
Vitamin B_2	25
Folates	26–28
Retinol and β-carotene	29, 30
Vitamin E	31
Vitamin D	32
Hematology	
Iron	33
Red blood cells	34
Hemoglobin	35
Mean corpuscular volume	36

	Courbe No.
Apports alimentaires	
Energie	*1, 2*
Protéines	*3, 4*
Glucides	*5, 6*
Lipides	*7, 8*
Vitamine B_1	*9, 10*
Vitamine B_2	*11, 12*
Vitamine A	*13, 14*
Vitamine C	*15, 16*
Vitamine E	*17, 18*
Folates	*19, 20*
Fer	*21, 22*
Biologie	
Vitamine B_1	*23, 24*
Vitamine B_2	*25*
Folates	*26–28*
Rétinol et β-carotène	*29, 30*
Vitamine E	*31*
Vitamine D	*32*
Hématologie	
Fer	*33*
Erythrocytes	*34*
Hémoglobine	*35*
Volume globulaire moyen	*36*



Curve 1. Energy supply with alcohol.

Curve 2. Energy supply without alcohol.

Curve 3. Protein supply.

Curve 4. Protein supply (% of energy supply without alcohol).

Curve 5. Carbohydrate supply.

Curve 6. Carbohydrate supply (% of energy supply without alcohol).

Courbe 1. *Apports énergétiques avec alcool.*

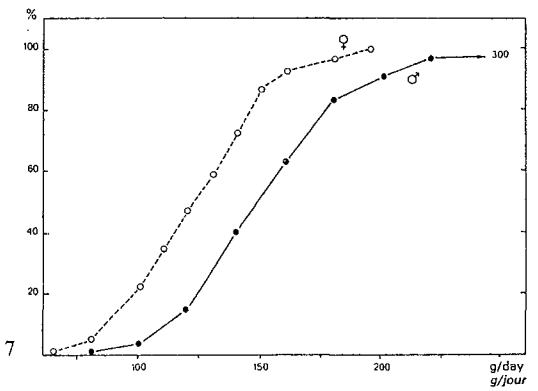
Courbe 2. *Apports énergétiques sans alcool.*

Courbe 3. *Apports en protéines.*

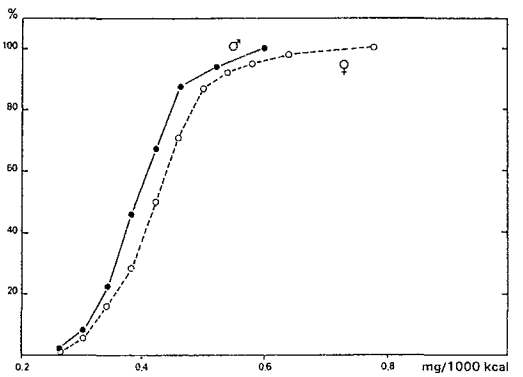
Courbe 4. *Apports en protéines (% des apports énergétiques sans alcool).*

Courbe 5. *Apports en glucides.*

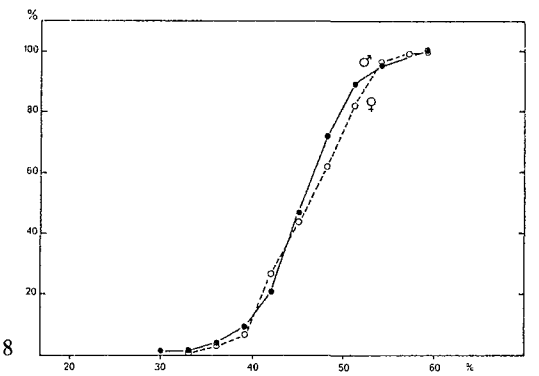
Courbe 6. *Apports en glucides (% des apports énergétiques sans alcool).*



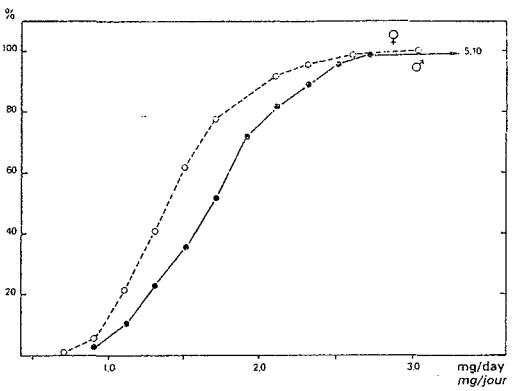
7



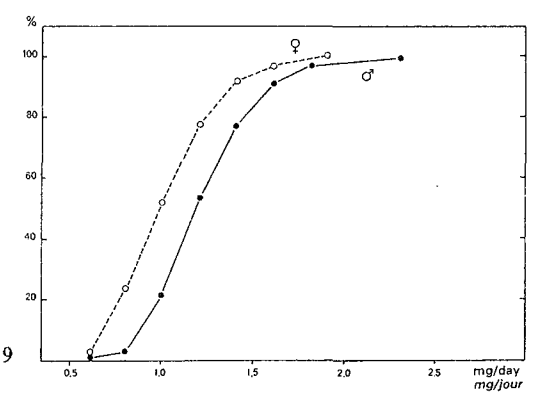
10



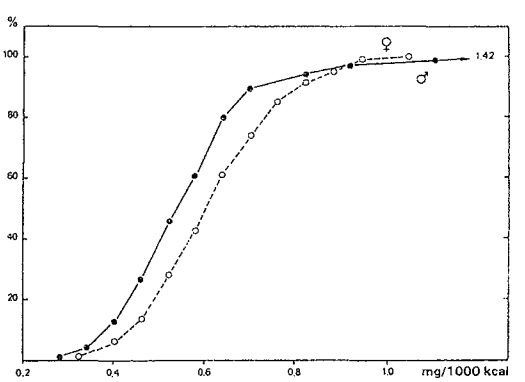
8



11



9



12

Curve 7. Lipid supply.

Curve 8. Lipid supply (% of energy supply without alcohol).

Curve 9. Vitamin B_1 supply.

Curve 10. Nutrient density, vitamin B_1.

Curve 11. Vitamin B_2 supply.

Curve 12. Nutrient density, vitamin B_2.

Courbe 7. Apports en lipides.

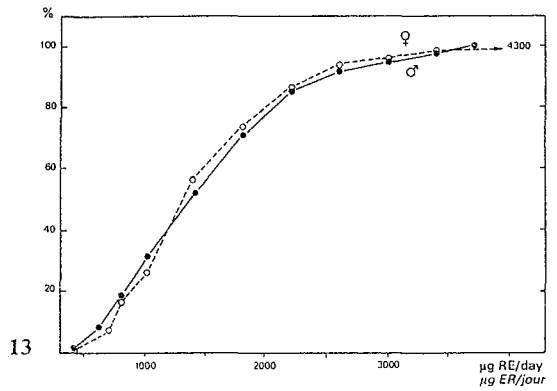
Courbe 8. Apports en lipides (% des apports énergétiques sans alcool).

Courbe 9. Apports en vitamine B_1.

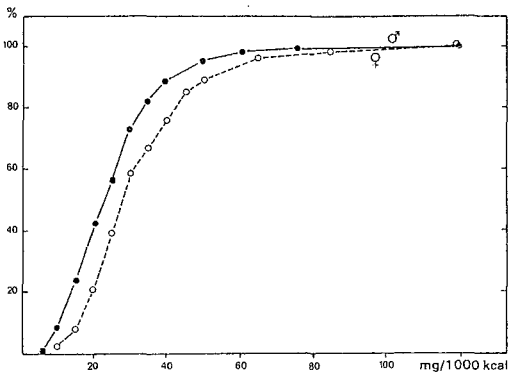
Courbe 10. Densité nutritionnelle en vitamine B_1.

Courbe 11. Apports en vitamine B_2.

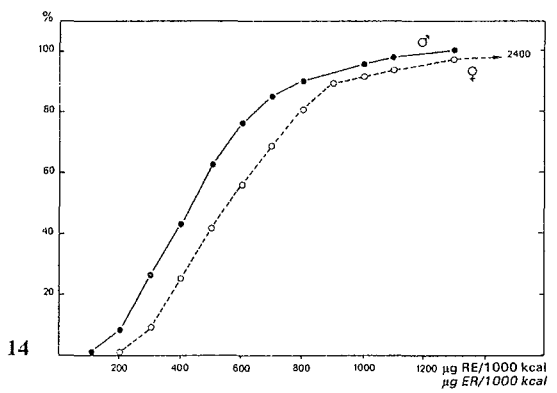
Courbe 12. Densité nutritionnelle en vitamine B_2.



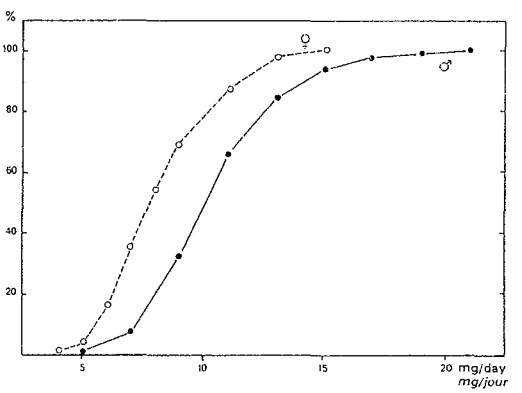
13



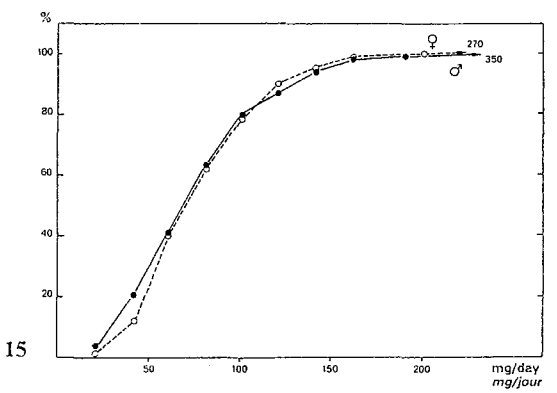
16



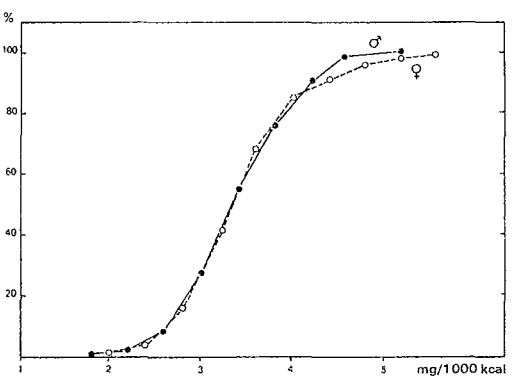
14



17



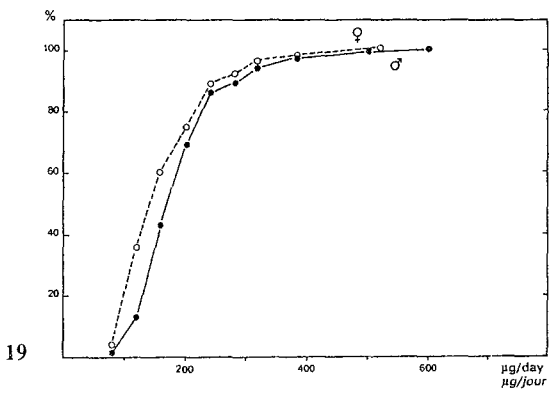
15



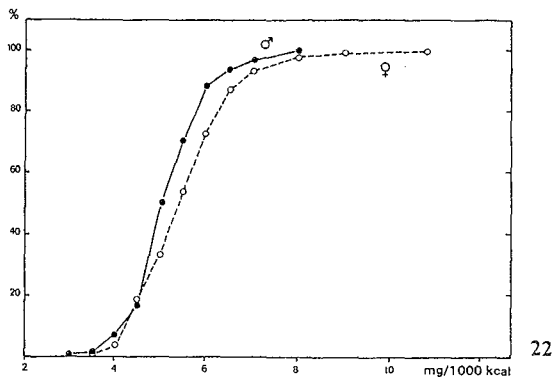
18

Curve 13. Vitamin A supply.
Curve 14. Nutrient density, vitamin A.
Curve 15. Vitamin C supply.
Curve 16. Nutrient density, vitamin C.
Curve 17. Vitamin E supply.
Curve 18. Nutrient density, vitamin E.

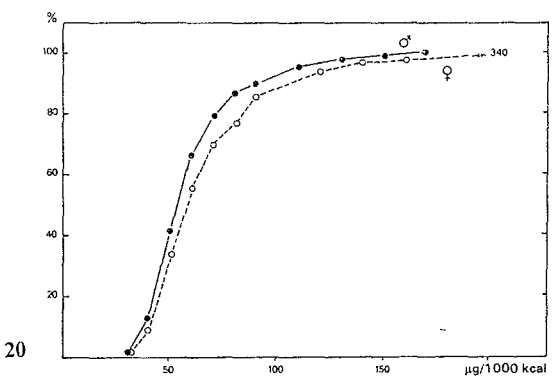
Courbe 13. *Apports en vitamine A.*
Courbe 14. *Densité nutritionnelle en vitamine A.*
Courbe 15. *Apports en vitamine C.*
Courbe 16. *Densité nutritionnelle en vitamine C.*
Courbe 17. *Apports en vitamine E.*
Courbe 18. *Densité nutritionnelle en vitamine E.*



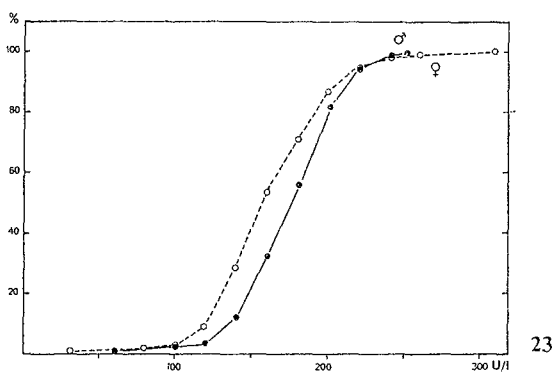
19



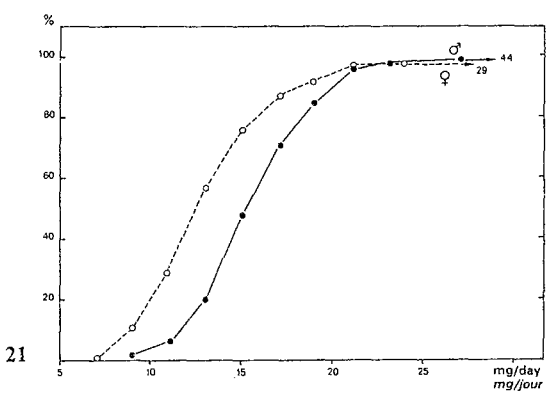
22



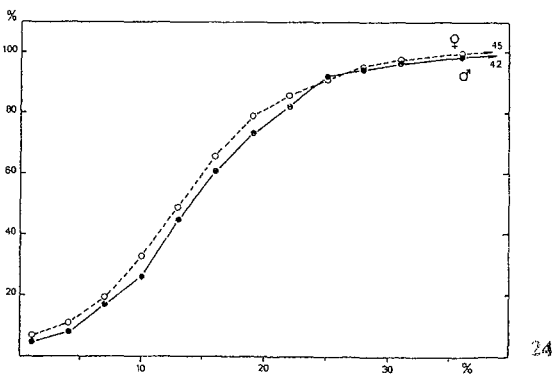
20



23



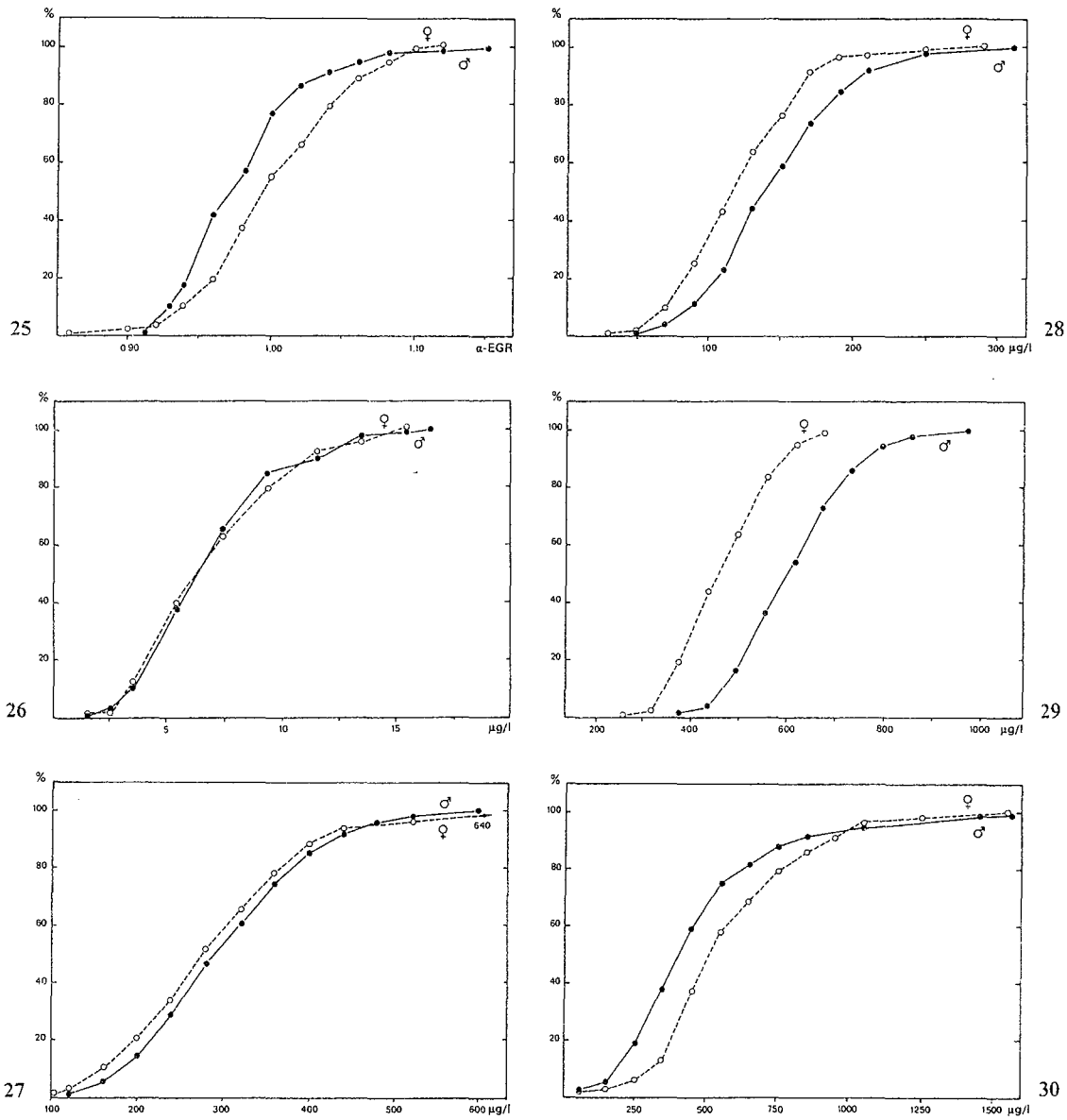
21



24

Curve 19. Folate supply.
Curve 20. Nutrient density, folates.
Curve 21. Iron supply.
Curve 22. Nutrient density, iron.
Curve 23. Vitamin B_1. Erythrocyte transketolase.
Curve 24. Vitamin B_1. Erythrocyte transketolase activation.

Courbe 19. *Apports en folates.*
Courbe 20. *Densité nutritionnelle en folates.*
Courbe 21. *Apports en fer.*
Courbe 22. *Densité nutritionnelle en fer.*
Courbe 23. *Vitamine B_1, transcétolase érythrocytaire.*
Courbe 24. *Vitamine B_1, activation de la transcétolase érythrocytaire.*



Curve 25. Erythrocyte glutathion reductase activation.

Curve 26. Plasma folates.

Curve 27. Erythrocyte folates.

Curve 28. Total folates.

Curve 29. Plasma retinol.

Curve 30. Plasma β-carotene.

Courbe 25. *Vitamine B_2, activation de la glutathion-réductase érythrocytaire.*

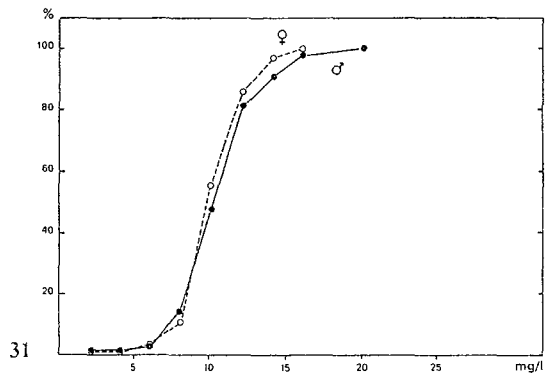
Courbe 26. *Folates plasmatiques.*

Courbe 27. *Folates érythrocytaires.*

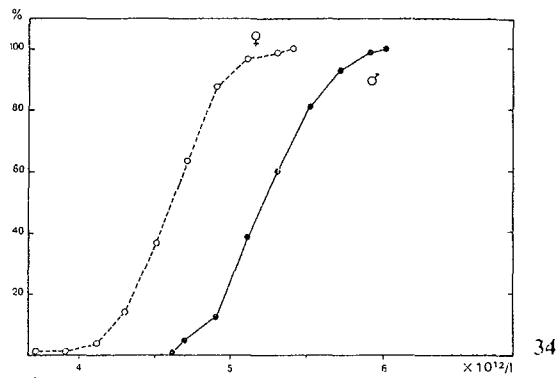
Courbe 28. *Folates totaux.*

Courbe 29. *Rétinol plasmatique.*

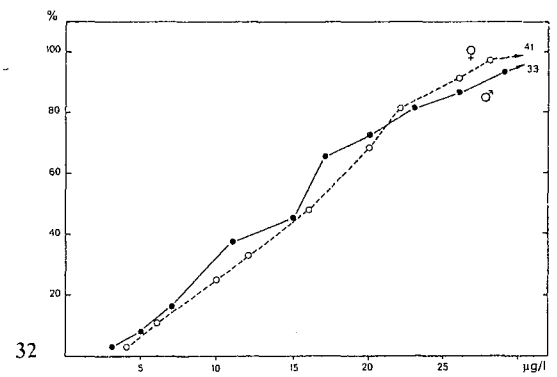
Courbe 30. *β-Carotène plasmatique.*



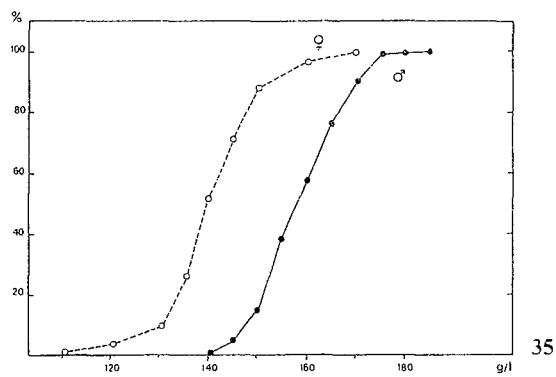
31



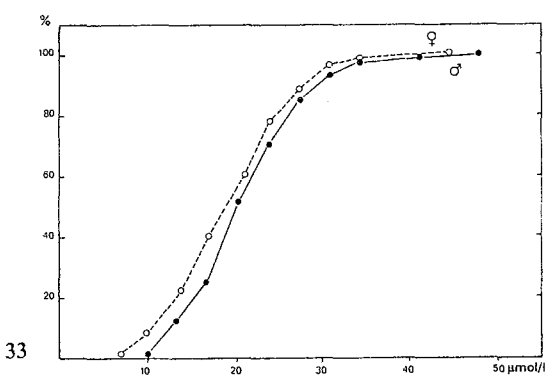
34



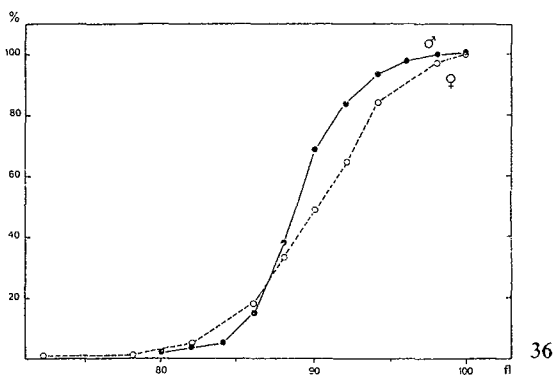
32



35



33



36

Curve 31. Plasma vitamin E.
Curve 32. Plasma vitamin D.
Curve 33. Plasma iron.
Curve 34. Erythrocytes.
Curve 35. Hemoglobin.
Curve 36. Mean corpuscular volume.

Courbe 31. *Vitamine E plasmatique.*
Courbe 32. *Vitamine D plasmatique.*
Courbe 33. *Fer plasmatique.*
Courbe 34. *Erythrocytes.*
Courbe 35. *Hémoglobine.*
Courbe 36. *Volume globulaire moyen.*

References · *Bibliographie*

1 Abramson, J.N.; Slome, C.; Kosovosky, C.: Food frequency as an epidemiologic tool. Am. J. publ. Hlth *53:* 1093 (1963).

2 Adam, J.L.: Les habitudes alimentaires de l'obèse. Etude statistique des données quantitatives; à propos de 499 enquêtes alimentaires; thèse méd. Nancy (1975).

3 Anonyme: Tables de composition des aliments (Geigy, Bâle 1963).

4 Anonyme: Dosages vitaminiques de l'Institut Pasteur de Lyon; communication personnelle (1978–1980).

5 Anonyme: Enquête sur l'emploi d'octobre 1981. Collect. INSEE, sér. D *89* (1982).

6 Arab, L.; Schellenberg, B.; Schlierf, G.: Nutrition and health. A survey of young men and women in Heidelberg. Ann. Nutr. Metab. *26:* suppl. 1, pp. 1–244 (1982).

7 Audebert, M.; Le Parco, J.C.; Gendre, J.P.: Absorption des folates; physiologie et pathologie. Gastroentérol. clin. biol. *2:* 309–320 (1978).

8 Baecke, J.A.H.; Van Staveren, W.A.; Burema, J.: Food consumption, habitual physical activity and body fatness in young Dutch adults. Am. J. clin. Nutr. *37:* 278–286 (1983).

9 Bagrel, A.; d'Houtaud, A.; Gueguen, R.; Siest, G.: Relations between reported alcohol consumption and certain biological variables in an unselected population. Clin. Chem. *25:* 1242–1246 (1979).

10 Bagrel, A.; d'Houtaud, A.; Gueguen, R.; Siest, G.: Rapport GGT/urée: indice de consommation alcoolique. Revue Alcool. *24:* 99–102 (1978).

11 Bagrel, A.; Herbeth, B.: Etude de l'incidence d'une consommation déclarée de boissons alcooliques sur les paramètres d'un bilan biologique systématique. Revue Alcool. *26:* 145–153 (1980).

12 Bamji, M.S.; Brubacher, G.B.; De Luca, H.F.; Fraser, D.R.; Sauberlich, H.E.; Spirichev, V.B.: Research priorities in the field of vitamin deficiency in man. Am. J. clin. Nutr. *32:* 1982–1983 (1979).

13 Banauch, D.; Brummer, W.; Ebeling, W.; Metz, H.; Rindfrey, H.; Lang, H.: Eine Glukose-Deshydrogenase für die Glukose-Bestimmung in Körperflüssigkeiten. Z. klin. Chem. klin. Biochem *13:* 101–107 (1975).

14 Bates, C.J.; Fleming, M.; Paul, A.A.; Black, A.E.; Mandal, A.R.: Folate status and its relation to Vitamin C in healthy elderly men and women. Age Ageing *9:* 241–248 (1980).

15 Bates, C.J.; Black, A.E.; Phillips, D.R.; Wright, A.J.A.; Southgate, D.A.T.: The discrepancy between normal folate intakes and the folate RDA. Hum. Nutr. appl. Nutr. *36A:* 422–429 (1982).

16 Bebb, H.T.; Houser, H.E.; Witschi, J.C.; Littell, A.S.; Fuller, R.K.: Caloric and nutrient contribution of alcoholic beverages to the usual diets of 155 adults. Am. J. clin. Nutr. *24:* 1042–1052 (1971).

17 Bergmeyer, H.U.; Buttner, H.; Hillmann, G.; Kreutz, F.H.; Lang, H.; Laue, D.; Szasz, G.; Pilz, W.; Rick, W.; Schmidt, E.; Schmidt, F.W.; Stamm, D.: Recommendations of the German Society for Clinical Chemistry. Z. klin. Chem. klin. Biochem. *10:* 281–291 (1972).

18 Bernat, M.; Renier, J.C.:Le dosage radio-compétitif de la 25-hydroxy-vitamine D. Nouv. Presse méd. *5:* 212 (1976).

19 Birge, J.: Le dispensaire d'hygiène alimentaire. Une expérience originale d'éducation nutritionnelle. Comparaison des comportements alimentaires des obèses et non-obèses; thèse méd. Nancy (1978).

20 Black, A.E.; Ashby, D.R.; Day, K.C.; Bates, C.J.; Paul, A.A.: Analytical versus food tables values for vitamin C in foods: the effect on calculated vitamin C intake of elderly subjects. Hum. Nutr. appl. Nutr. *37A:* 9–22 (1983).

21 Bonjour, J.P.: Vitamins and alcoholism. II. Folate and vitamin B_{12}. Int. J. Vitam. Nutr. Res. *50:* 96–121 (1980).

22 Bonjour, J.P.: Vitamins and alcoholism. IV. Thiamine. Int. J. Vitam. Nutr. Res. *50:* 321–338 (1980).

23 Bray, G.A.; Zachary, B.; Dahms, W.T.; Atkinson, R.L.; Oddie, T.H.: Eating patterns of massively obese individuals. J. Am. diet. Ass. *72:* 24–27 (1978).
24 Bressard, M.; Gombervaux, C.: Enquête sur la consommation de boissons auprès des mineurs du bassin de la Loire. Bull. Inst. natn. Hyg. *17:* 217–265 (1962).
25 Brin, M.: Functional evaluation of nutritional status: thiamine; in Albanese, Newer methods of nutritional biochemistry. vol. 3, pp. 407–445 (Academic Press, New York 1967).
26 Brissot, P.; Le Treut, A.; Dien, G.; Cottencin, M.; Simon, M.; Bourel, M.: Hypovitaminemia A in idiopathic hemochromatosis and hepatic cirrhosis. Digestion *17:* 469–478 (1978).
27 Brubacher, G.; Brun, P.; Mainguy, P.: Compte-rendu d'une enquête alimentaire effectuée dans la région parisienne sur des adultes jeunes et des femmes enceintes de 1968 à 1970 (Hoffmann-La Roche, Bâle 1978).
28 Brubacher, G.; Ritzel, G.: Zur Ernährungssituation der schweizerischen Bevölkerung; erster schweizerischer Ernährungsbericht (Huber, Bern 1975).
29 Brubacher, G.; Vuilleumier, J.P.: Vitamins A, vol. 2, pp. 975–982; in Curtis, Roth, Clinical biochemistry principles and methods (de Gruyter, Berlin 1974).
30 Brubacher, G.; Vuilleumier, J.P.; Ritzel, G.; Bruppacher, R.; Stähelin, H.; Stansky, M.: Die Frühsymptome einer Vitamin A Hypovitaminose. Aust. J. Sci. *6:* 211–216 (1982).
31 Buzina, R.: The problem of vitamin-mineral supply during reducing dietary regimens. Biblthca Nutr. Dieta, No. 26, pp. 77–84 (Karger, Basel 1978).
32 Buzina, R.; Jüsic, M.; Brodarec, A.; Milanovic, N.; Brubacher, G.; Vuilleumier, J.P.; Wiss, O.; Christeller, S.: The assessment of dietary intake of 24 Istrian farmers. II. Comparison between the dietary intake and biochemical status of ascorbic acid, vitamin A, thiamine, riboflavin and niacin. Int. J. Vitam. Nutr. Res. *41:* 290–300 (1971).
33 Cambien, F.: Relation entre l'excès de poids et l'hypertension artérielle. Nouv. Presse méd. *11:* 3641–3646 (1982).
34 Carney, M.M.P.: Serum folate and cyanocobalamin in alcoholism. Q. Jl Stud. Alcohol. *31:* 816–822 (1970).
35 Carter, P.: Spectrophotometric determination of serum iron submicrogram level with a new reagent (ferrozine). Analyt. Biochem. *40:* 450–458 (1971).
36 Chadrin, F.: Etude des relations entre le niveau d'alcool consommé et la consommation alimentaire dans une population témoin, dans des populations de malades présentant une pathologie liée à l'alcool; thèse méd. Paris (1980).
37 Chanarin, I.: Getting the most out of food, No. 10 (Van den Bergh & Jurgens, Burgess Hill 1974).
38 Chan-Yeung, M.; Ferreira, P.; Frohlich, J.; Schulzer, M.; Tan, F.: The effects of age, smoking and alcohol on routine laboratory tests. Am. J. clin. Path. *75:* 320–326 (1981).
39 Charraud, A.; Valdelievre, H.: La taille et le poids des Français. Econ. Stat. *132:* 23–38 (1981).
40 Chiang, B.N.; Perlman, L.V.; Epstein, F.H.: Overweight and hypertension. Circulation *39:* 403–421 (1969).
41 Commission of the European Communities: Influence on health of different fats in food; Information on Agriculture, No. 40, 45 (Commission of the European Communities, Brussels 1977).
42 Cooper, B.A.: Reassessment of folic acid requirements; in White, Selvey, Nutrition in transition. Proc. Western Hemisphere Congr., No. 4 (American Medical Association, Washington 1978).
43 Criqui, M.H.; Wallace, R.B.; Mishkel, M.; Barrett-Connor, E.; Heiss, G.: Alcohol consumption and blood pressure. The Lipid Research Clinics Prevalence Study. Hypertension *3:* 557–565 (1981).
44 Cummins, R.O.; Shaper, A.G.; Walker, M.; Wale, C.J.: Smoking and drinking by middle-aged British men; effects of social class and town of residence. Br. med. J. *283:* 1497–1502 (1981).
45 Debry, G.: Enquêtes alimentaires, techniques et réalisations. Leur importance en nutrition clinique. Revue méd. Suisse romande *100:* 69–83 (1980).
46 Debry, G.: Polyunsatured fatty acids and vitamin E: their importance in human nutrition. Annls Nutr. Aliment. *34:* 337–350 (1980).
47 Delacoux, E.; Sancho, J.: Communication personnelle (1982).
48 Delacoux, E.; Sancho, J.; Evstigneeff, T.; Coulombier, L.; Langin, S.: Détermination de l'activité de la transcétolase érythrocytaire. Clinica chim. Acta *108:* 483–486 (1980).
49 De Luca, H.F.: Vitamin D metabolism and functions (Springer, Berlin 1979).
50 Devgun, M.S.; Paterson, C.R.; Johnson, B.E.; Cohen, C.: Vitamin D nutrition in relation to season and occupation. Am. J. clin. Nutr. *34:* 1501–1504 (1981).

51 Dufer, J.: Hémogramme: érythrocytes, hémoglobine, volume globulaire moyen, hématocrite. Variations biologiques et valeurs de référence; in Siest, Henny, Schiele, Interprétation des examens de laboratoire. Valeurs de référence et variations biologiques, pp. 224–243 (Karger, Bâle 1981).

52 Dupin, H.: Apports nutritionnels conseillés pour la population française (Technique et documentation, Paris 1981).

53 Duret, F.: Corrélation de données apportées par l'examen de 518 dossiers de sujets consultant pour obésité; thèse méd. Paris (1972).

54 Eichner, E.R.; Hillman, R.S.: Effect of alcohol on serum folate level. J. clin. Invest. *52:* 584–591 (1973).

55 Elsborg, L.; Rosenquist, A.: Folate intake by teenage girls and by pregnant women. Int. J. Vitam. Nutr. Res. *49:* 70–76 (1979).

56 Eschwege, E.; Papoz, L.; Lellouch, J.; Claude, J.R.; Cubeau, J.; Pequignot, G.; Richard, J.C.; Schwartz, D.: Blood cells and alcohol consumption with special reference to smoking habits. J. clin. Path. *31:* 654–658 (1978).

57 FAO/WHO: Report of FAO/WHO Expert Group on requirements of ascorbic acid, vitamin D, vitamin B_{12}, folate and iron (FAO/WHO, Geneva 1970).

58 Fennelly, J.J.; Baker, H.; Frank, O.; Leevy, C.M.; Deficiency of thiamin pyrophosphate apoenzyme in liver disease. Clin. Res. *11:* 182 (1963).

59 Fennelly, J.J.; Franck, O.; Baker, H.; Leevy, C.M.: Red blood cell-transketolase activity in malnourished alcoholics with cirrhosis. Am. J. clin. Nutr. *20:* 946–949 (1967).

60 Galan, P.; Soustre, Y.; Dop, M.C.; Devanley, M.; Hercberg, S.: Etat des réserves en fer d'une population de femmes en âge de procréer; in Dupin, Hercberg, Colloque INSERM/ISTA. Groupe à risque de carence en fer dans les pays industrialisés, vol. 113, pp. 49–54 (INSERM, Paris 1983).

61 Garcia-Pascual, B.; Peytremann, A.; Courvoisier, B.; Lawson, D.E.M.: A simplified competitive protein binding assay for 25-hydroxy-cholecalciferol. Clinica chim. Acta *68:* 99–105 (1976).

62 Gassull, M.A.; Blendis, L.M.; Jenkins, D.J.A.; Leeds, A.R.; Hishon, S.; Metz, G.L.: Vitamin E tolerance test in various gastrointestinal disorders. Int. J. Vitam. Nutr. Res. *46:* 211–214 (1976).

63 Giles, C.; Shuttleworth, E.M.: Megaloblastic anemia of pregnancy and puerperium. Lancet *ii:* 1341–1347 (1958).

64 Glatzle, D.; Vuilleumier, J.P.; Weber, F.; Decker, K.: Glutathione reductase test with whole blood, a convenient procedure for the assessment of riboflavin status in human. Experientia *30:* 665–667 (1974).

65 Goldsmith, G.A.: Vitamin B complex thiamine, riboflavin, niacin, folic acid (folacin), vitamin B_{12}, biotin. Prog. Fd Nutr. Sci. *1:* 559–609 (1975).

66 Hall, C.A.; Bardwell, S.A.; Allen, E.S.; Rapazzo, M.E.: Variations in plasma folate levels among a group of healthy persons. Am. J. clin. Nutr. *28:* 854–857 (1975).

67 Halsted, C.H.: Folate deficiency in alcoholism Am. J. clin. Nutr. *33:* 2736–2740 (1980).

68 Halsted, C.H.; Robles, E.A.; Mezey, E.: Decreased jejunal uptake of labeled folic acid. (^{3}H-PGA) in alcoholic patients: roles of alcohol and nutrition. New Engl. J. Med. *285:* 701–706 (1971).

69 Hansen, R.G.; Wyse, B.W.: Expression of nutrient allowances per 1,000 kilocalories. J. Am. diet. Ass. *76:* 223–227 (1980).

70 Hashim, S.A.; Schuttringer, G.R.: Rapid determination of tocopherols in macro- and microquantities of plasma. Am. J. clin. Nutr. *19:* 137–145 (1966).

71 Hell, D.; Six, P.: Thiamin-, Riboflavin- und Pyridoxin-Versorgung bei chronischem Alkoholismus. Dt. med. Wschr. *102:* 962–966 (1977).

72 Hell, D.; Six, P.; Salkeld, R.: Vitamin B_1, B_2 and B_6 status in chronic alcoholics. Nutr. Metab. *21:* suppl. 1, pp. 134–135 (1977).

73 Henningsen, N.C.; Ohlsson, O.; Mattiasson, I.; Trell, E.; Kristensson, H.; Hood, B.: Hypertension, levels of serum gamma glutamyl transpeptidase and degree of blood pressure control in middle-aged males. Acta med. scand. *207:* 245–251 (1980).

74a Heraud, G.: Carences en acide folique, problèmes actuels. Journée de diététique, Paris 1982.

74b Herbert, V.: Aseptic addition method for *Lactobacillus casei* of folate activity in human serum. J. clin. Path. *19:* 12–16 (1966).

75 Hercberg, S.; Galan, P.; Soustre, Y.; Dupin, H.; Christides, P.; Potier de Courcy, G.: Etude des folates chez la femme enceinte. Résultats préliminaires; communication personnelle.

76 Hercberg, S.; Soustre, Y.; Galan, P.; Berthier, A.M.; Suquet, J.P.; Dupin, H.: Apports alimentaires en fer dans une population de femmes françaises en âge de procréer. Ann. Nutr. Metab. *28:* 77–83 (1984).

77 Hoppner, K.; Lampi, B.; Smith, D.C.: Data on folacin activity in foods: availability, applications and limitations; in folic acid biochemistry and physiology in relation to human nutrition requirement, pp. 22–31 (National Academy of Science, Washington 1977).
78 Horwitt, M.R.; Harvey, C.C.; Dahm, C.H.; Sercy, M.T.: Relationship between tocopherol and serum lipid levels for determination of nutritional adequacy. Ann. N.Y. Acad. Sci. *203:* 223–235 (1972).
79 Hurt, R.D.; Higgins, J.A.; Nelson, R.A.; Morse, R.M.; Dickson, E.R.: Nutritional status of a group of alcoholics before and after admission to an alcoholic treatment unit. Am. J. clin. Nutr. *34:* 386–392 (1981).
80 Jacquemart, J.P.: Etude comparative de l'alimentation de sujets de poids excessif et normal en Picardie; thèse méd. Amiens (1981).
81 Jones, B.R.; Barret-Connor, E.; Criqui, M.H.; Holdbrook, M.J.: A community study of calorie and nutrient intake in drinkers and nondrinkers of alcohol. Am. J. clin. Nutr. *35:* 135–139 (1982).
82 Kark, J.D.; Smith, A.H.; Switzer, B.R.; Hames, C.G.: Retinol carotene and the cancer/cholesterol association. Lancet *i:* 1371 (1981).
83 Kater, R.M.H.; Unterecker, W.J.; Jim, C.Y.; Davidson, C.S.: Relationship of serum tocopherol to β-lipoprotein concentration in liver diseases. Am. J. clin. Nutr. *23:* 913–918 (1970).
84 Kaufmann, N.A.; Guggenheim, K.: The validity of biochemical assessment of thiamine, riboflavin and folacine nutriture. Int. J. Vitam. Nutr. Res. *47:* 40–45 (1977).
85 Keen, H.; Thomas, B.J.; Jarrett, J.R.; Fuller, J.H.: Nutrient intake, adiposity and diabetes. Br. med. J. *i:* 655–658 (1979).
86 Kemona, H.; Prokopowicz, J.; Wotosowicz, N.: The count of blood platelets and sex in humans. Experientia *34:* 257 (1978).
87 Kerr, G.R.; Lee, E.S.; Lam, M.K.; Lorimor, R.J.; Ramdall, E.; Forthofer, R.N.; Davis, M.A.; Magnetti, S.M.: Relationships between dietary and biochemical measures of nutritional status in HANES I data. Am. J. clin. Nutr. *35:* 294–308 (1982).
88 Kling-Steines, B.; Hötzel, D.: Estimation of B vitamin supply in industrial workers (by biochemical methods). Proc. 3rd Eur. Conf. (Cerf Hambraeus 1979).
89 Koh, E.T.; Chi, M.S.: Clinical signs found in association with nutritional deficiencies as related to race, sex and age for adults. Am. J. clin. Nutr. *34:* 1562–1568 (1981).
90 Konttinen, A.; Louhija, A.; Härtel, G.: Blood transketolase in assessment of thiamine deficiency in alcoholics. Annls Med. exp. Fenn. *48:* 172–175 (1970).
91 Kromhout, D.: Changes in energy and macro nutrient in 871 middle-aged men during 10 years of follow-up (the Zutphen study). Am. J. clin. Nutr. *37:* 287–294 (1983).
92 Kromhout, D.: Energy and macronutrients intake in lean and obese middle-aged men (the Zutphen study). Am. J. clin. Nutr. *37:* 295–299 (1983).
93 Kuriyama, M.; Yokomine, R.; Arima, H.; Hamada, R.; Igata, A.: Blood vitamin B_1, transketolase and thiamine pyrophosphate (TPP) effect in beri-beri patients with study employing discriminant analysis. Clinica chim. Acta *108:* 159–168 (1980).
94 Lansky, D.; Brownell, K.D.: Estimates of food quantity and calories: errors in self-report among obese patients. Am. J. clin. Nutr. *35:* 727–732 (1982).
95 Lederer, J.: L'anémie mégalocytaire des alcooliques et le rôle de l'acide folique. Sem. Hôp. Paris *29:* 1259–1265 (1981).
96 Lederer, J.; Bataille, J.P.: Influence respective de la bière, du vin et des spiritueux sur le taux d'acide folique et l'érythrocyte. Revue Alcool. *26:* 135–143 (1980).
97 Lee, S.; Kolonel, L.M.: Nutrient intakes of husbands and wives: implications of epidemiologic research. Am. J. Epidem. *115:* 515–525 (1982).
98 Leevy, C.M.; Baker, H.; Tenhove, W.; Franck, O.; Cherrick, G.R.: B complex vitamins in liver disease of the alcoholic. Am. J. clin. Nutr. *16:* 339–346 (1965).
99 Leevy, C.M.; Cardi, L.; Frank, O.; Gellene, R.; Baker, H.: Incidence and significance of hypovitaminemia in a randomly selected municipal hospital population. Am. J. clin. Nutr. *17:* 259–271 (1965).
100 Lehmann, J.; Marshall, M.W.; Slouer, H.I.; Iacono, J.M.: Influence of dietary fat level and dietary tocopherols on plasma tocopherols of human subjects. J. Nutr. *107:* 1006–1015 (1977).
101 Lellouch, J.; Tran, M.H.; Richard, J.L.: The body fatness of a French professional group of 4000

men aged 46–52. II. Relationship with some biological variables and blood pressure. Path. Biol. *21:* 755–762 (1973).

102 Lemoine, A.; Le Devehat, C.; Codaccioni, J.L.; Monges, A.; Bermond, P.; Salkeld, R.M.: Vit. B_1, B_2, B_6 and C status in hospital in patients. Am. J. clin. Nutr. *33:* 2595–2600 (1980).

103 Lemoine, A.; Monges, A.; Codaccioni, J.L.; Bermond, P.; Koerner, W.F.: Alcoolisme chronique et vitamines. Revue Alcool. *20:* 199–217 (1972).

104 Lewis, J.S.; Pian, A.K.; Baer, M.T.; Acosta, P.B.; Emerson, G.A.: Effect of long-term ingestion of polyunsatured fat age, plasma cholesterol, diabetes mellitus and supplemental tocopherol on plasma tocopherol. Am. J. clin. Nutr. *26:* 136–143 (1973).

105 Lincoln, J.E.: Caloric intake, obesity and physical activity. Am. J. clin. Nutr. *25:* 390–394 (1972).

106 Lowenstein, F.W.: Major nutritional findings from the first Health and Nutrition Examination Survey (Hanes) in the United States of America. 1971–1974. Annu. Symp. Group of Eur. Nutritionists, Santiago de Compostela 1979.

107 Luisier, M.; Vadoz, J.F.; Donath, A.; Courvoisier, B.; Garcia, B.: Carence en 25-hydroxy-vitamine D avec diminution de l'absorption intestinale de calcium et de la densité osseuse dans l'alcoolisme chronique. Schweiz. med. Wschr. *107:* 1529–1533 (1977).

108 McClain, C.J.; Vanthiel, D.H.; Parker, S.; Badzin, L.K.; Gilbert, H.: Alterations in zinc, vitamin A, and retinol binding protein in chronic alcoholics; a possible mechanism for night blindness and hypogonadism. Alcoholism *3:* 135–141 (1979).

109 McLaren, D.S.; Docherty, M.A.; Boyd, D.H.A.: Plasma thiamine pyrophosphate and erythrocyte transketolase in chronic alcoholism. Am. J. clin. Nutr. *34:* 1031–1033 (1981).

110 Mareschi, J.P.; Brun, L.; Belliot, J.P.: Evaluation of the daily amount of ascorbic acid supplied by food in France. Annls Nutr. Aliment. *34:* 89–100 (1980).

111 Mareschi, J.P.; Cousin, F.; Villeon, B. de la; Brubacher, G.: Valeur calorique de l'alimentation et couverture des besoins vitaminiques de l'homme adulte. Principaux vecteurs alimentaires de vitamines. Ann. Nutr. Metab. *28:* 11–23 (1984).

112 Marsh, W.H.; Fingerhut, B.; Miller, H.: Automated and manual direct methods for the determination of blood urea. Clin. Chem. *11:* 624–627 (1965).

113 Mathieu, M.; Guidollet, J.; Junien, C.; Lalégerie, P.; Schiele, F.; Vassault, A.; Bailly, M.; Dorche, C.; Galteau, M.M.; Grafmeyer, D.; Launers, A.; Plomteux, G.; Bretaudière, J.P.: Commission enzymologie de la Société Française de Biologie Clinique. Recommandations pour la détermination dans le sérum humain de la concentration catalytique de l'alanine aminotransférase à 30 °C. Annls Biol. clin. *36:* 457–462 (1978).

114 Maxfield, E.; Konishi, F.: Patterns of food intake and physical activity in obesity. J. Am. diet. Ass. *49:* 406–408 (1966).

115 Miravet, L.: Communication personnelle (1982).

116 Miravet, L.; Bordier, P.: La vitamine D et ses dérivés en thérapeutique. Encyclop. méd.-chir. 25152 D_5 (1977).

117 Mongeau, E: Carences et subcarences en vitamines et minéraux au Canada. Cah. Nutr. Diét. *3:* 145–155 (1983).

118 Morgan, R.W.; Jain, M.; Miller, A.B.; Choi, N.W.; Matthews, V.; Munan, L.; Burch, J.D.; Feather, J.; Howe, G.R.; Keller, A.: A comparison of dietary methods in epidomiologic studies. Am. J. Epidem. *107:* 488–498 (1978).

119 Morrison, S.A.; Russell, R.M.; Carney, E.A.; Oaks, E.V.: Zinc deficiency a cause of abnormal dark adaptation in cirrhotics. Am. J. clin. Nutr. *31:* 276–281 (1978).

120 National Center for Health Statistics: weight and height of adults 18–74 years of age (United States, 1971–1974). Vital and Health Statistics Series 11, No. 211. DHEW Publ. No. (PHS) 79-1059 (Public Health Service, US Government Printing Office, Washington 1979).

121 Nutrition Canada. National survey (Canada Information, Ottawa 1973).

122 Ostrowski, Z.L.: Les aliments, tables des valeurs nutritives (Lanore, Paris 1978).

123 Papoz, L.; Eschwege, E.; Cubeau, J.; Péquignot, G.; Barrat, J.; Le Lorier, G.: Comportement alimentaire au cours de la grossesse. Revue Epidém. Santé publ. *28:* 155–167 (1980).

124 Paul, A.A.; Southgate, D.A.T.; in MacCance, Widdowson, The composition of foods (Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam 1978).

125 Pearson, W.N.: Biochemical appraisal of nutri-

tional status in man. Am. J. clin. Nutr. *11:* 462–469 (1962).

126 Péquignot, G.: La consommation alimentaire des adultes en France. Annls Nutr. Aliment. *30:* 175–184 (1976).

127 Péquignot, G.; Berta, J.L.; Tichet, J.; Chantrel, A.M.; Hagel, L.; Lelièvre, F.; Gache, J.; Bedouet, M.; Cubeau, J.; Guilloud-Bataille, M.; Péquignot, F.: Approche de l'évaluation du besoin d'énergie en fonction de l'âge du sujet et de la corpulence chez 3227 sujets de 20 à 59 ans déclarant avoir un poids stable. Comm. Sté Nutr. Diététique Langue Française, Reims 1983.

128 Péquignot, G.; Serville, Y.; Cubeau, J.; Guilloud-Bataille, M.; Guggenbuhl-Péquignot, F.: La consommation alimentaire des Français en fonction de la taille des agglomérations, reflet de l'évolution longitudinale. Revue Epidém. Santé publ. *28:* 169–183 (1980).

129 Péquignot, G.; Vinit, F.; Manjol, L.; Sommier, T.: Enquête sur l'alimentation et l'état de santé de 98 vieillards vivant isolément. Bull. INSERM *22:* 607–650 (1967).

130 Péquignot, G.; Vinit, F.; Richard, J.J.; Cubeau, J.; Papoz, L.; Laquerrière, A.: Rations alimentaires et enbompoint; in Apfelbaum, Symposium international sur la régulation de l'équilibre énergétique de l'homme (Masson, Paris 1973).

131 Phillips, D.R.; Wright, A.J.P.: Studies on the response of *Lactobacillus casei* to different folate monoglutamates. Br. J. Nutr. *47:* 183–189 (1982).

132 Phillips, D.R.; Wright, A.J.A.: Studies on the response of *Lactobacillus casei* to folate vitamin in foods. Br. J. Nutr. *49:* 181–186 (1983).

133 Pongpaew, P.; Uudhivai, N.; Schelp, F.P.; Vutikes, S.; Suwanabun, N.: Alcohol consumption, liver function tests and nutritional status in Thai males. Int. J. Vitam. Nutr. Res. *51:* 391–400 (1981).

134 Potier de Courcy, G.; Zittoun, J.: Communication personnelle (1982).

135 Preece, M.A.; Tomlinson, S.; Ribot, C.A.; Pietrek, J.; Korn, H.T.; Davies, D.M.; Ford, J.A.; Dunnigan, M.G.; O'Riordan, J.L.H.: Studies of vitamin D deficiency in man. Q. Jl Med. *176:* 575–589 (1975).

136 Randouin, L.; Le Gallic, P.; Dupuis, Y.; Bernardin, A.; Duchene, G.; Brun, P.: Tables de composition des aliments (Lanore, Paris 1976).

137 Raoul, Y.: Les apports vitaminiques recommandables. Annls Nutr. Aliment. *30:* 509–536 (1976).

138 Recommended dietary allowances revised 1980. Food and nutrition Board (National Academy of Sciences, National Research Council, Washington 1980).

139 Renaud, S.; Godsey, F.; Orichanian, E.; Baudier, F.: Tables de composition des aliments (Astra Calvé, Courbevoie 1979).

140 Richard, J.L.; Lellouch, J.; Menard, J.: La pression artérielle dans une population masculine. Quelques données épidémiologiques; in Rorive, Van Cauwemberge, Symposium: the arterial hypertensive disease, pp. 187–206 (Masson, Paris 1976).

141 Richardson, J.F.: The sugar intake of business men and its inverse relationship with relative weight. Br. J. Nutr. *27:* 449–460 (1972).

142 Ritt, R.S.; Jordan, N.A.; Levitz, L.S.: Changes in nutrient intake during a behavioral weight control program. J. Am. diet. Ass. *74:* 325–330 (1979).

143 Rosalki, S.B.; Rau, D.: Serum gammaglutamyltranspeptidase activity in alcoholism. Clinica chim. Acta 39: 41–47 (1972).

144 Rubenstein, H.M.; Diez, A.A.; Srinavasan, S.A.: Relation of vitamin E and serum lipids. Clinica chim. Acta *23:* 1–6 (1969).

145 Ryback, R.S.; Eckardt, H.J.; Pautler, C.P.: Biochemical and hematological correlates of alcoholism. Res. Commun. chem. Pathol. Pharmacol. *21:* 533–550 (1980).

146 Sauberlich, H.E.: Biochemical alterations in thiamine deficiency and their interpretation. Am. J. clin. Nutr. *20:* 528–542 (1967).

147 Sauberlich, H.E.: Detection of folic acid deficiency in populations (National Academy of Sciences, National Research Council, Washington 1980).

148 Sauberlich, H.E.; Dowdy, R.P.; Skala, J.H.: Laboratory tests for the assessment of nutritional status (CRC Press, Cleveland 1974).

149 Sauberlich, H.E.; Herman, Y.F.; Stevens, C.O.; Herman, R.H.: Thiamin requirement of the adult human. Am. J. clin. Nutr. *32:* 2237–2248 (1979).

150 Smith, A.H.; Hoggard, B.M.: Retinol, carotene and cancer/cholesterol association. Lancet *i:* 1372 (1981).

151 Smithells, R.W.; Sheppard, S.; Schorah, C.J.; Read, A.P.; Fielding, D.W.: Apparent prevention of neural tube defects by periconceptional vitamin supplementation. Archs Dis. Childh. *56:* 911–918 (981).

152 Smithells, R.W.; Sheppard, S.; Schorah, C.J.; Seller, M.J.; Nevin, M.C.; Harris, R.; Read, A.P.: Possible prevention of neural tube defects by periconceptional vitamin supplementation. Lancet *i:* 339–340 (1980).

153 Somogyi, J.C.: Early signs of thiamine deficiency. J. nutr. Sci. Vitaminol. *22:* 29–32 (1976).

154 Spring, J.A.; Robertson, J.; Buss, D.H.: Trace nutrients. 3. Magnesium, copper, zinc, vitamin B_6, vitamin B_{12} and folic acid in the British household food supply. Br. J. Nutr. *41:* 487–490 (1979).

155 Stamler, R.; Stamler, J.; Riedlinger, W.F.; Alegra, G.; Roberts, R.H.: Weight and blood pressure. Finding in hypertension screening of 1 million of Americans. J. Am. med. Ass. *240:* 1607–1610 (1978).

156 Steinmetz, J.: P-cholestérol total. Variations biologiques et valeurs de référence; in Siest, Henny, Schiele, Interprétation des examens de laboratoire. Valeurs de référence et variations biologiques, pp. 135–154 (Karger, Bâle 1981).

157 Steinmetz, J.: P-triglycérides. Variations biologiques et valeurs de référence; in Siest, Henny, Schiele, Interprétation des examens de laboratoire. Valeurs de référence et variations biologiques, pp. 383–398 (Karger, Bâle 1981).

158 Stransky, M.; Brubacher, G.; Vuilleumier, J.P.: Zum Vitaminstatus der Schweizer Rekruten. Akt. Ernäh. *7:* 1–6 (1982).

159 Stuff, J.E.; Garza, C.; Smith, E.O.; Nichols, B.L.; Montandon, C.M.: A comparison of dietary methods in nutritional studies. Am. J. clin. Nutr. *37:* 300–306 (1983).

160 Szaz, G.: A kinetic photometric method for serum gammaglutamyl transpeptidase. Clin. Chem. *15:* 124–136 (1969).

161 Tarallo, P.: Leucocytes totaux et formule leucocytaire. Variations biologiques et valeurs de référence; in Siest, Henny, Schiele, Interprétation des examens de laboratoire. Valeurs de référence et variations biologiques, pp. 258–283 (Karger, Bâle 1981).

162 Tarallo, P.; Siest, G.: Les plaquettes; variations biologiques et valeurs de référence. Feuill. Biol. *23:* 35–44 (1982).

163 Tchernia, G.; Blot, I.; Rey, A.; Kaltwasser, J.P.; Zittoun, J.; Papiernik, E.: Maternal folate status, birthweight and gestational age. Dev. Pharmacol. Ther. *4:* 58–65 (1982).

164 Tjellesen, L.; Nielsen, B.; Christiansen, C.: Seasonal variations in serum concentrations of vitamin D metabolites. Br. med. J. *284:* 198 (1982).

165 Tran, M.H.; Lellouch, J.; Richard, J.L.: Fat body mass. Its relationships with some biological parameters, blood pressure, and physical training in a population of 8,660 men aged 20 to 55. Biomedicine *18:* 499–506 (1973).

166 Trinder, P.: Determination of blood glucose using 6-amino-phenazone as oxygen acceptor. J. clin. Path. *22:* 246–252 (1969).

167 Updegraff, A.T.; Neufeld, N.J.: Protein, iron and folate status of patients prior to and following surgery for morbid obesity. J. Am. diet. Ass. *78:* 135–140 (1981).

168 US Dept. Health, Education and Welfare: Ten-State Nutrition Survey 1968–1970. V. Dietary DHEW Publ., No. (HSM) 72, p. 8132 (1972).

169 US Health and Nutrition Examination Survey: Dietary Intake Source Data United States (1971–1974). DHEW Publ. No. 79, p. 1221.

170 Valentzas, C.; Orepoulos, D.G.; Brandes, L.; Wilson, D.R.: Abnormal vitamin D levels. Ann. intern. Med. *86:* 198 (1977).

171 Von Osancova, K.; Hejda, S.: Food intake of obese and non-obese subjects. Dt. Z. Verdau.- u. StoffwechsKrankh. *33:* 277–280 (1973).

172 Waring, P.P.; Fisher, D.; MacDonnell, J.; MacGown, E.L.; Sauberlich, H.E.: A continuous flow (Autoanalyzer II) procedure for measuring erythrocyte transketolase activity. Clin. Chem. *28:* 2206–2213 (1982).

173 Warnock, L.G.; Prudhomme, C.R.; Wagner, G.: The determination of thiamine pyrophosphate in blood and other tissues and its correlation with transketolase activity. J. Nutr. *108:* 421–427 (1978).

174 Weismann, K.; Christensen, E.; Dreyer, V.: Zinc supplementation in alcoholic cirrhosis. Acta med. scand. *205:* 361–366 (1979).

175 WHO Report: Nutritional anemias. Report of the WHO scientific group. Tech. Rep. Ser. Wld Hlth Org. *405* (1968).

176 WHO Report: Nutritional anemias, report of a WHO Group of Experts. Tech. Rep. Ser. Wld Hlth Org. *503* (1971).

177 Willett, W.C.; Stampfer, M.J.; Underwood, B.A.; Taylor, J.O.; Hennekens, C.H.: Vitamins A, E and carotene; effects of supplementation on their plasma levels. Am. J. clin. Nutr. *38:* 559–566 (1983).

178 Willett, W.C.; Stampfer, M.J.; Underwood, B.A.; Speizer, F.E.; Rosner, B.; Hennekens, C.H.: Validation of a dietary questionnaire with plasma carotenoid and α-tocopherol levels. Am. J. clin. Nutr. *38:* 631–639 (1983).

179 Windham, C.T.; Wyse, B.W.; Gaurth-Hansen, R.; Hurst, R.L.: Nutrient density of diets in the USDA Nationwide Food Consumption Survey, 1977–1978. I. Impact of socioeconomic status on dietary density J. Am. diet. Ass. *82:* 28–34 (1983).

180 Windham, C.T.; Wyse, B.W.; Gaurth-Hansen, R.: Nutrient density of diets in the USDA Nationwide Food Consumption survey, 1977–1978. II. Adequacy of nutrient density consumption practices. J. Am. diet. Ass. *82:* 34–43 (1983).

181 Windham, C.T.; Wyse, B.W.; Hurst, R.L.; Hansen, G.R.: Consistency of nutrient consumption patterns in the United States. J. Am. diet. Ass. *78:* 587–595 (1981).

182 Witting, L.A.; Lee, L.: Dietary levels of vitamin E and polyunsaturated fatty acids and plasma vitamin E. Am. J. clin. Nutr. *28:* 571–576 (1975).

183 Wood, B.; Gijsbers, A.; Goode, A.; Davis, S.; Mulhollan, D.J.; Breen, K.: A study of partial thiamin restriction in human volunteers. Am. J. clin. Nutr. *33:* 848–861 (1980).

184 Wood, B.; Goode, A.; Buttigieg, R.; Breen, K.: The effect of short term moderate alcohol consumption on health and thiamin status. J. Stud. Alcohol *43:* 158–163 (1982).

185 Wu, A.; Chanarin, I.; Slavin, G.; Levi, A.J.: Folate deficiency in the alcoholic: its relationship to clinical and haematological abnormalities, liver disease and folate stores. Br. J. Haemat. *29:* 469–478 (1975).

186 Zittoun, J.; Blot, I.; Hill, C.; Zittoun, R.; Papiernik, E.; Tchernia, G.: Iron supplements versus placebo during pregnancy, its effects on iron and folate status on mothers and newborns. Ann. Nutr. Metab. *27:* 320–327 (1983).

187 Zittoun, R.; Zittoun, J.: Carence en vitamine B_{12} et acide folique. Etude étiologique, méthodes d'investigation. Revue Pratn *20:* 573–590 (1970).

Reference intervals for vitamins B1, B2, E, D, retinol, beta-carotene, and folate in blood: usefulness of dietary selection criteria

Herbeth B, Zittoun J, Miravet L, Bourgeay-Causse M, Carre-Guerry G, Delacoux E, Le Devehat C, Lemoine A, Mareschi JP, Martin J, Potier de Courcy G, Sancho J

Clin Chem 1986;32:1756-1759

Cette publication est issue de l'étude ESVITAF (**P2**) et décrit les valeurs de référence d'un certain nombre d'indicateurs biologiques de statut vitaminique utilisé dans les études épidémiologiques descriptives ou à visée étiologique. Le second objectif que nous nous étions fixé était d'évaluer l'effet d'un critère de sélection supplémentaire, les apports alimentaires en vitamines, sur le déplacement des limites de référence.

Un groupe de référence de 189 hommes et 173 femmes âgés de 18 à 44 ans a été sélectionné selon les critères suivants : indice pondéral < 1,17, sans pathologie chronique, ni histoire médicale susceptible d'interférer sur l'état nutritionnel, sans médicament, consommation de tabac < 10 cigarettes/j, consommation d'alcool < 22 g/j pour les femmes et < 44 g/j pour les hommes. Ces sujets provenaient des centres d'examen de santé de Vandoeuvre-les-Nancy et de Lyon, et des services de médecine du Travail de Nevers. Les données alimentaires ont été recueillies à l'aide d'un semainier. Les indicateurs biologiques suivants ont été mesurés : rétinol, α-tocophérol, 25-hydroxyvitamine D et β-carotène plasmatiques, activités et activations par leur coenzyme respectif de la transcétolase et de la glutathion réductase érythrocytaires (indicateurs de statut en vitamines B1 et B2).

Les valeurs de référence sont présentées par sexe. Les activités de transcétolase dans les globules rouges (reflétant le statut en vitamine B1), ainsi que les concentrations de rétinol plasmatique et de folates dans le sang total sont significativement plus élevées chez les hommes que chez les femmes. Pour les indicateurs de statut en vitamine B2 et en β-carotène, on observe le contraire. La prise en compte des apports alimentaires spécifiques pour chaque indicateur, sur la base des apports conseillés pour la population française, fait diminuer l'effectif de façon importante mais ne modifie pas les limites de référence pour tous les indicateurs mesurés.

[Reprinted from CLINICAL CHEMISTRY, 32, 1756 (1986).]
Copyright 1986 by the American Association of Clinical Chemistry and reprinted by permission of the copyright owner.

Reference Intervals for Vitamins B1, B2, E, D, Retinol, Beta-Carotene, and Folate in Blood: Usefulness of Dietary Selection Criteria

Bernard Herbeth,[1] Jacqueline Zittoun,[2] Lysia Miravet,[3] Michèle Bourgeay-Causse,[4] Geneviève Carre-Guery,[4] Etienne Delacoux,[5] Claude Le Devehat,[6] Alain Lemoine,[6] Jean Pierre Mareschi,[7] Jean Martin,[8] Geneviève Potier de Courcy,[9] and Jacqueline Sancho[6]

Reference intervals for normal concentrations in blood of vitamins B1, B2, E, D, retinol, beta-carotene, and folic acid were determined from a selected sample of people attending a Health Examination Center or being examined in occupational health services in France. This reference sample consisted of 362 men and women, ages 18 to 44 years, selected according to the main variation factors known for the vitamins studied: consumption of tobacco and alcohol, ponderal index (relating height and weight), use of drugs and oral contraceptives, and past history of surgical or medical treatment. Reference intervals were determined for each sex. Vitamin B1 (erythrocyte transketolase activity), plasma retinol, and folic acid values in whole blood are significantly higher in men than in women ($p < 0.001$), but vitamin B2 (activation of erythrocyte glutathione reductase) and plasma beta-carotene values are significantly higher in women ($p < 0.001$ and < 0.01 respectively). Dietary intake of vitamins produced no significant displacement of the reference values. For each vitamin we discuss the other major sources of variation factors and the usual values reported in the literature.

Additional Keyphrases: *variation, source of* · *sex-related effects* · *nutritional status*

Interpretation of the vitamin content in blood is as yet difficult because of the lack of well-defined limits. Although there are many reports on "normal values" and "standards," choosing values that can be transposed from one population to another and from one assay method to another remains difficult. Four main kinds of data can currently be found:

- "values representative of the general population," measured on a random sub-sample (*1, 2*);
- "usual values," obtained from samples for which several variation factors have not been checked (*3, 4*);
- "reference values," measured on selected individuals in good health with well-described living conditions;
- "decision limits" characteristic of nutritional deficiency, determined in healthy subjects through experimentally imposed vitamin deficiencies or in patients suffering such deficiencies (*5, 6*).

Published results are not always described in such a way that we can classify them in one or another of the above categories. For obtaining reliable reference values for difficult, expensive, or lengthy analyses such as vitamin measurements, the following procedure is now recommended (*7–9*): list the biological and pathological sources of variation, based on a review of the literature; specify which criteria of selection or exclusion were used, according to the purposes of the study; select the subjects by these criteria; collect the blood samples to be assayed; collect relevant dietetic and biological data; and carry out the statistical analysis. We have used this protocol to determine reference intervals for vitamins B1, B2, E, D, and for retinol, beta-carotene, and folic acid in a sample of young adults selected according to the main usual criteria for good health (*10*). We have also evaluated the utility of dietary selection criteria.

Materials and Methods

The reference group comprised 189 men and 173 women, ages 18–44 years, who kept their usual eating habits, had a Lorentz ponderal index (PI)[10] under 1.17, had no acute or chronic diseases and no medical or surgical past history indicative of possible interference with nutrition and hormonal status, and were taking no medication (drugs or oral contraceptives).[11] Other criteria for exclusion from the study were alcohol consumption (>22 g per day for women, >44 g per day for men) and tobacco consumption (>10 cigarettes daily for both sexes). These volunteers were chosen at the Center for Preventive Medicine in Vandoeuvre-Les-Nancy,

[1] Laboratoire du Centre de Médecine Préventive (Dir. Pr. G. Siest), 2 Avenue du Doyen Jacques Parisot, 54500 Vandoeuvre-Les-Nancy, France.
[2] Hôpital Henri Mondor, Laboratoire Central d'Hématologie, 94000 Créteil, France.
[3] Hôpital Lariboisière, Rhumatologie–INSERM U 18, 6 Rue Guy Patin, 75010 Paris, France.
[4] Institut Pasteur, 77 Rue Pasteur, 69365 Lyon Cédex 2, France.
[5] Hôpital Beaujon, Laboratoire Central de Biochimie, 100 Bd du Général Leclerc, 92110 Clichy, France.
[6] Centre de Diabétologie et des Maladies de la Nutrition, Centre Hospitalier de Nevers, 58320 Pougues les Eaux, France.
[7] B. S. N. Gervais Danone, 7 Rue de Téhéran, 75008 Paris, France.
[8] Laboratoire de Statistique et d'Informatique Médicales. Sciences de l'Information en Médecine et Santé Publique, INSERM U 115, Faculté de Médecine, B. P. 184, 54500 Vandoeuvre-Les-Nancy, France.
[9] Centre de Recherches sur la Nutrition, Service des Vitamines, 9 Rue Jules Hetzel, 92190 Meudon-Bellevue, France.
Received February 3, 1986; accepted May 2, 1986.

[10] Ponderal index (PI) was calculated according to the following Lorentz formula and expressed in relative value of the ideal weight (IW). In these conditions, the ponderal index for ideal weight is 1.00.
IW = [height (cm) − 100] − [height (cm) − 150]/C, with C = 2 for women and C = 4 for men.
PI = weight (kg)/IW

[11] Nonstandard abbreviations: PI, ponderal index; IW, ideal weight; TPP, thiamin pyrophosphate; $ETKA^-$, erythrocytic transketolase activity without TPP; $ETKA^+$, erythrocytic transketolase activity with TPP; α-ETK, activation coefficient of ETK with TPP; FAD, flavin adenine dinucleotide; $EGRA^-$, erythrocytic glutathione reductase activity without FAD; $EGRA^+$, erythrocytic glutathione reductase activity with FAD; α-EGR, activation coefficient of EGR with FAD.

the Health Examination Center in Lyon, and in occupational health services in Nevers and Paris.

To evaluate the effect of dietary vitamin intake on the distribution pattern of biological data, we also determined reference intervals for the selected analytes for various subgroups of subjects within the reference group, whose dietary intake exceeded the limits specified in Table 1, which are generally the recommended dietary allowances for the French population (*11*). Intake of vitamin D was not taken into account, the need for this vitamin being met primarily by endogenous contributions. Daily intakes of vitamins and alcohol were evaluated in a seven-day prospective study through use of a computerized table of food composition, based on compiled data (*12*) and original data described in a recent report (*10*).

Venous blood samples from fasting subjects were collected in tubes containing anticoagulant (lithium heparinate for vitamins B1, B2, A, E, D, and beta-carotene, and EDTA for folic acid).

Vitamin B1 was assessed by measuring the activity of erythrocytic transketolase (EC 2.2.1.1; $ETKA^-$), and its activation by thiamin pyrophosphate (α-ETK) (*4*); vitamin B2 by measuring the activation of erythrocytic glutathione reductase (EC 1.6.4.2) with flavin adenine dinucleotide (α-EGR) (*13*). For both enzymes, one assay is made with the untreated hemolysate, the other with the same hemolysate after in vitro incubation with excess coenzyme (TPP or FAD). The result of the test is expressed as the activation coefficient α, the activity after saturation/activity without saturation.[12] A small response to coenzyme stimulation is taken to indicate an already high saturation with coenzyme, i.e., a good vitamin status.

The concentration of vitamin A in plasma was assayed fluorometrically according to the procedure of Brubacher and Vuilleumier (*14*). We modified slightly the technique for chromatographic separation of the carotenes from vitamin A on an open column of alumina. We deactivated the basic alumina stationary phase with 18 mL of water per 100 g of adsorbent. This eliminates retention of the retinol esters with C_{16} and C_{18} fatty acids on the column so the procedure becomes an assay of retinol alone instead of total vitamin A.

We measured the plasma concentration of vitamin E according to Hashim and Schuttringer (*15*) with slight modifications. Instead of correcting for the carotenoid interference according to the absorbance at 450 nm (beta-carotene), we eliminated the carotenoids from the extract by chromatography through a column of acid-washed floridin (fuller's earth), eluting the tocopherols in benzene.

25-Hydroxyvitamin D was measured by radioimmunoassay, with use of specific binding protein from vitamin D-deficient rat kidney (*16*); folate in plasma and in whole blood was determined with use of *Lactobacillus casei* method (*17*).

Statistical analyses were by parametric and nonparametric methods (*18*). The differences between the sexes and between the reference group and the subgroups were assessed by comparing the distribution means by Student's *t*-test.

[12] $$\alpha\text{-ETK} = \frac{ETKA^- \text{ (with TPP)} \times 100}{ETKA^- \text{ (without TPP)}};$$

$$\alpha\text{-EGR} = \frac{EGRA^+ \text{ (with FAD)} \times 100}{EGRA^- \text{ (without FAD)}}$$

Table 1. Daily Dietary Intake Limits Used as Selection Criteria[a]

	Men	Women
Vitamin B1, mg	1.5	1.3
Vitamin B2, mg	1.8	1.5
Vitamin E, mg[b]	10	10
Vitamin A, μg RE[c]	1000	800
Folic acid, μg	200	200

[a] Recommended dietary allowances for the French population except for folic acid, which is 50% of the recommended allowance.

[b] Expressed in d-α-tocopherol.

[c] Retinol equivalent (μg RE) = retinol (μg) + [beta-carotene (μg)/6].

Results and Discussion

The reference intervals for vitamins as determined in the reference group and in the subgroups (with vitamin intakes exceeding limits specified in Table 1) are shown in Table 2. In the reference group the mean values for $ETKA^-$, whole-blood folate, and plasma retinol were higher in men than in women ($p < 0.001$) whereas α-EGR and plasma beta-carotene were lower in men ($p < 0.001$ and < 0.01, respectively). For the other analytes, the differences between males and females were not significant.

The sample size for the subgroups was hardly reduced, for few people had higher vitamin intakes than the recommended dietary allowances. For each subgroup, the same differences between sexes were observed but were not significant for $ETKA^-$ and whole-blood folate; the α-ETK was lower in the subgroup women than in the subgroup men ($p < 0.05$).

Reference limits determined from the subgroups that had higher dietary intakes were higher than those determined from the reference group only for vitamin E and beta-carotene, but the distribution means for these were not statistically different between the subgroups and the reference group.

Regarding vitamin B1 status, the mean reference values we found for $ETKA^-$ cannot be easily compared with the usual values given in the literature because of the variations of assay methods used and the lack of standardization in units (*19–21*). However, our results agree with those of Delacoux et al. (*4*), who used the same method, although they noted no variation between sexes. Warnock (*22*) had also noted differences in $ETKA^-$ between sexes. Variations of mean α-ETK are very small (111–113%) as previously reported (*1, 4, 20, 21*), with no difference between men and women. However, the measurement of α-ETK seems less sensitive than that of $ETKA^-$ (*19, 23*).

The mean values for α-EGR in our series are lower than those of the Heidelberg and Basel study (*1*) (101–111%), although the same difference by sex appeared.

We assessed folate status in plasma, erythrocytes, and whole blood after hemolysis. We observed no difference between the sexes for mean reference values of plasma and erythrocyte folate. The lower value for whole-blood folate in women can probably be attributed to their lower hematocrits. The mean values published depend on the technique used (microbiological or radioimmunoassay) and range from 4.7 to 7.0 μg/L in plasma, 230 to 347 μg/L in erythrocytes (*2, 24–26*). Contrary to others (*27*)[13] we found no relationship between whole-blood folate and dietary intake of folate.

In our study, values for plasma retinol were close to those

[13] Hercberg S, Galan P, Soustre Y, et al. Iron and folacin status of pregnant women: relationships with dietary intakes (unpublished observation).

Table 2. Reference Intervals for Vitamin before (A) and after (B) Subject Selection According to Dietary Criteria

		Men						Women					
					Percentiles						Percentiles		
		N	Mean	SD	5	50	95	N	Mean	SD	5	50	95
ETKA⁻, U/L of erythrocytes	A[a]	188	172[b]	30	122	173	225	172	160	36	114	157	222
	B	15	175	29	127	175	222	15	171	47	97	159	230
α-ETK, %	A	188	113.2[d]	7.1	101.0	114.2	128.6	172	113.1	8.3	100.7	113.2	129.8
	B	14	114.6	7.4	105.0	114.0	128.2	15	109.0	6.4	100.4	111.0	122.3
Vitamin B2 (α-EGR), %	A	189	97.1[b]	4.3	92.0	97.4	106.2	173	99.2	4.8	92.5	99.1	108.2
	B	51	97.3[d]	3.9	91.7	96.7	104.5	62	98.9	4.1	92.1	98.7	107.1
Folate													
Plasma, μg/L	A	189	6.8	2.9	3.2	6.9	13.0	173	6.8	3.1	3.2	6.7	13.2
	B	33	7.2	2.5	2.8	7.3	10.0	28	7.8	3.6	3.3	7.3	13.6
Whole-blood, μg/L	A	189	142[b]	45	70	135	228	173	119	42	54	115	194
	B	33	142	54	53	147	237	26	126	46	66	120	188
Erythrocyte, μg/L	A	189	299	96	146	282	475	173	282	100	124	265	458
	B	34	305	123	114	290	486	27	298	106	153	287	431
Plasma retinol, μg/L	A	186	606[b]	115	417	609	820	173	456	90	316	449	611
	B	102	606[b]	114	405	608	801	129	451	81	327	442	589
Plasma beta-carotene, μg/L	A	186	463[c]	291	127	407	1057	173	566	293	235	490	1040
	B	104	502[d]	299	160	433	1090	128	587	250	267	513	1050
Plasma vitamin E, mg/L	A	186	10.0	2.2	6.6	10.0	14.3	173	9.8	2.0	6.5	9.7	13.5
	B	64	10.0	2.7	6.4	10.0	19.1	23	9.7	1.8	7.1	9.9	16.0
Plasma 25-OH-vitamin D, μg/L	A	38	14.7	8.0	3.2	15.4	29.9	36	15.7	7.9	4.6	16.6	27.4

[a] A, reference group; B, subgroup with intakes exceeding the limits specified in Table 1.
[b,c,d] Significantly different ([b] $p < 0.001$, [c] $p < 0.01$, [d] $p < 0.05$) from the corresponding mean for women.

observed in the literature, i.e., 550 to 970 μg/L (*1, 28–30*). We found a significant difference between values for men and women, confirming previous reports (*28, 31*), but no effect from dietary intake of vitamin A, just as others have reported (*31, 32*).

Beta-carotene values ranged from 463 μg/L in men to 566 μg/L in women, with a significant difference between sexes. The usual mean values given by other authors vary considerably: from 350 to 1950 μg/L (*1, 3, 33*). Contrary to our findings, neither Willett et al. (*31*) nor West and Ash (*3*) noted a difference in values between men and women. We found plasma beta-carotene status to be linked to dietary intake, but not significantly so. Some investigations point out that massive doses are capable of tripling the concentration of circulating pro-vitamin A (*32*).

Our data for vitamin E agree with the mean values published, i.e., 7.7 to 12.7 mg/L (*1, 34, 35*). Previous data, with values often less than 10 mg/L, are concerned with total tocopherol, whereas modern methodology can distinguish between alpha- and beta-tocopherol. We found an increase of the upper reference limit for plasma tocopherol in the subgroup with a higher dietary intake of vitamin E. Willett et al. (*31*), however, reported a relationship between circulating vitamin E and dietary intake. Like Desai and Lee (*36*) and Lewis et al. (*37*), we noticed no significant difference between values for men and women. Other important sources of variation, apart from those taken into account in this study, are age (*34, 36, 37*) and the concentration of plasma lipids: cholesterol, triglycerides, and lipoproteins (*36–38*). The ratio for tocopherol/total lipid has been suggested as being a more reliable index of vitamin E status than just tocopherolemia (*38, 39*).

The concentration of 25-hydroxyvitamin D varies according to the time of year (*40, 41*) and is directly related to hours of sunshine, which is an important factor when one is interpreting results of vitamin D dosages. The usual mean values found in the literature vary widely, from 12 to 65 μg/L (*1, 42, 43*), owing to the wide range of methods used. Our measured vitamin D concentrations are close to the lower reported concentrations.

During the determination of reference limits for vitamins B1, B2, E, retinol, beta-carotene, and folate in blood, the dietary intake based on recommended dietary allowances does not seem to be a useful criterion of selection. Only few subjects had higher vitamin intake than those recommendations. Moreover, the reference intervals obtained were not significantly different from those obtained on the basis of the classical selection criteria (sex, age, alcohol, drugs, tobacco, obesity, diseases, etc.). Thus the amount of vitaminic dietary intake seems to affect the biological values only moderately.

This work was supported by grants from the Centre National de Coordination des Etudes et Recherches sur la Nutrition et l'Alimentation, the Delegation Générale à la Recherche Scientifique et Technique, the Fédération Française pour la Nutrition, and the Caisse Nationale d'Assurance Maladie. We thank Prof. Brubacher and Dr. Vuilleumier of Hoffmann-La Roche, Basel, for the vitamin B2, E, retinol, and beta-carotene analyses.

References

1. Arab L, Schellenberg B, Schlierf G. Nutrition and health. A survey of young men and women in Heidelberg. Nutr Metab 1982;26 (suppl 1):1–244.

2. Sauberlich HE. Detection of folic acid deficiency in population. Washington, DC: National Academy of Sciences, National Research Council, 1980:213–31.

3. West DW, Ash O. Adult reference intervals for 12 chemistry analytes: influences of age and sex. Am J Clin Pathol 1984;81:71–6.

4. Delacoux E, Sancho J, Evstigneeff T, et al. Determination de l'activité de la transcetolase erythrocytaire. Clin Chim Acta 1980;108:483–6.

5. Wood B, Gijsbers A, Goode A, et al. A study of partial thiamine restriction in human volunteers. Am J Clin Nutr 1980;33:848–61.

6. Herbert V. Biochemical and hematologic lesions in folic acid deficiency. Am J Clin Nutr 1967;20:562–9.

7. Siest G, Henny J, Sachs C, et al. Comité Scientifique de la Société Française de Biologie Clinique. Commission Valeurs de Référence. Production de valeurs de référence de sujets sains. Ann Biol Clin 1981;39:235–44.

8. Siest G. Stratégie pour l'établissement des valeurs de référence de populations. In: Siest G, Henny J, Schiele F, eds. Interpretation des examens de laboratoire. Valeurs de référence et variations biologiques. Basel: Karger, 1981:20–6.

9. Statland BE, Winkel P. Effects of preanalytical factors on the intraindividual variation of analytes in the blood of healthy subjects: consideration of preparation of the subject and time of venipuncture [Review]. Crit Rev Clin Lab Sci 1977;8:105–44.

10. Lemoine A, Le Devehat C, Herbeth B, et al. Vitamin status in three groups of the French population: controls, obese subjects, alcohol drinkers. Ann Nutr Metab 1986;30 (suppl 1): in press.

11. Dupin H. Apports nutritionnels conseillés pour la population française. Paris: Technique et Documentation, 1981.

12. Paul AA, Southgate DAT. McCance and Widdowson's the composition of foods. Amsterdam: Elsevier/North Holland Biomedical Press, 1978.

13. Glatzle D, Vuilleumier JP, Weber F, Decker K. Glutathione reductase test with whole blood, a convenient procedure for the assessment of riboflavin status in humans. Experientia 1974;30:665–7.

14. Brubacher G, Vuilleumier JP. Vitamin A. In: Curtius HC, Roth M, eds. Clinical biochemistry. Principles and methods, vol. 2. Berlin/New York: Walter de Gruyter, 1974:975–82.

15. Hashim SA, Schuttringer GR. Rapid determination of tocopherols in macro and micro quantities of plasma. Am J Clin Nutr 1966;19:137–45.

16. Preece MA, Tomlinson S, Ribot CA, et al. Studies of vitamin D deficiency in man. Q J Med 1975;176:575–89.

17. Zittoun R, Zittoun J. Les carences en vitamine B12 et acide folique. Etude étiologique et méthodes d'investigation. Rev Prat 1970;20:573–90.

18. Albert A, Gueguen R, Sachs C, et al. Traitement des valeurs de référence et détermination de l'intervalle de référence. Comité scientifique de la Société Française de Biologie Clinique, Section de Physiopathologie, Commission Valeurs de Référence. Ann Biol Clin 1983;41:63–79.

19. Kuriyama M, Yokomine R, Arima H, et al. Blood vitamin B1, transcetolase and thiamine pyrophosphate (TPP) effect in beri-beri patients with studies employing discriminant analysis. Clin Chim Acta 1980;108:159–68.

20. Bayoumi RA, Rosalki SB. Evaluation of methods of coenzyme activation of erythrocyte enzymes for detection of deficiency of vitamins B1, B2, B6. Clin Chem 1976;22:327–35.

21. Waring PP, Fisher O, McDonnell J, et al. A continuous-flow (Auto-Analyzer II) procedure for measuring erythrocyte transketolase activity. Clin Chem 1982;28:2206–13.

22. Warnock LG. Transketolase activity of blood hemolysate, a useful index for diagnosing thiamin deficiency. Clin Chem 1975;21:432–6.

23. Vo-Khactu KP, Sims RL, Clayburgh RH, Sandstead HH. Effect of simultaneous thiamin and riboflavin deficiencies on the determination of transketolase and glutathione reductase. J Lab Clin Med 1976;87:741–8.

24. McGown EL, Lewis CM, Dong MH, Sauberlich HE. Results with commercial radioimmunoassay kits compared with microbiological assay of folate in serum and whole blood. Clin Chem 1978;24:2186–91.

25. Sturgeon MF, Luddy BJ, Menz ET, Theobald RA. A red blood cell folate normal range study [Abstract]. Clin Chem 1981;27:1097.

26. Gunter EW, Smarr BJ, Turner WE, Neese JW. Microbiological vs radioassay for serum and red blood cell (RBC) folate and folate data from HANES [Abstract]. Clin Chem 1981;27:1097.

27. Bates CJ, Fleming M, Paul AA, et al. Folate status and its relation to vitamin C in healthy elderly men and women. Age Aging 1980;9:241–8.

28. Brubacher G, Vuilleumier JP, Ritzel G, et al. Early signs of hypovitaminosis A. Nutrition 1982;6:211–6.

29. Wald N, Idle M, Boreham J, Bailey A. Low serum-vitamin A and subsequent risk of cancer. Lancet 1980;ii:813–5.

30. McClean SW, Ruddel ME, Gross EG, et al. Liquid-chromatographic assay for retinol (vitamin A) and retinol analogs in therapeutic trials. Clin Chem 1982;28:693–6.

31. Willett WC, Stampfer MJ, Underwood BA, et al. Validation of a dietary questionnaire with plasma carotenoid and alpha-tocopherol levels. Am J Clin Nutr 1983;38:631–9.

32. Willett WC, Stampfer MJ, Underwood BA, et al. Vitamins A, E, and carotene; effects of supplementation on their plasma levels. Am J Clin Nutr 1983;38:559–66.

33. Mejia LA, Arroyave G. Determination of vitamin A in blood. Some practical considerations on the tissue of collection of the specimens and the stability of the vitamin. Am J Clin Nutr 1983;37:147–51.

34. Chen LH, Hsu SJ, Huang PC, Chen JS. Vitamin E status of Chinese population in Taiwan. Am J Clin Nutr 1977;30:728–35.

35. Vatassery GT, Krezouwski AM, Eckfeldt JH. Vitamin E concentrations in human blood plasma and platelets. Am J Clin Nutr 1983;37:1020–4.

36. Desai ID, Lee M. Plasma vitamin E and cholesterol relationship in Western Canadian Indians. Am J Clin Nutr 1974;27:334–51.

37. Lewis JS, Dian AK, Baer MT, et al. Effect of long-term ingestion of polyunsaturated fat, age, plasma cholesterol, diabetes mellitus, and supplemental tocopherol upon plasma tocopherol. Am J Clin Nutr 1973;26:136–42.

38. Horwitt MK, Harvey CC, Dahm CH, Searcy MT. Relationship between tocopherol and serum lipid levels for determination of nutrition. Ann NY Acad Sci 1972;203:223–36.

39. Bieri JG, Farell PM. Vitamin E [Review]. Vitam Horm 1976;34:31–40.

40. Devgun MS, Paterson CR, Johnson BE, Cohen C. Vitamin D nutrition in relation to season and occupation. Am J Clin Nutr 1981;34:1501–4.

41. Tjellesen L, Nielsen B, Christiansen C. Seasonal fluctuations in serum concentrations of vitamin D metabolites. Br Med J 1982;284:196–7.

42. Bouillon R, Van Kerkhove P, De Moor P. Measurement of 25-hydroxy vitamin D3 in serum. Clin Chem 1976;22:364–8.

43. Velentzas C, Oreopoulos OG, Brandes L. Abnormal vitamin-D levels. Ann Intern Med 1977;86:198.

Dietary behavior of French men according to alcohol drinking pattern

Herbeth B, Didelot-Barthelemy L, Lemoine A, Le Devehat C

J Stud Alcohol 1988;49:268-272

Cette publication est issue de l'étude ESVITAF et porte sur l'échantillon de 216 hommes de 18 à 44 ans recrutés au Centre de Médecine Préventive de Vandoeuvre. Un nouveau codage des aliments du semainier et une analyse statistique supplémentaire ont permis d'étudier plus précisément le comportement alimentaire lié à la consommation d'alcool : détail des boissons consommées, regroupement des aliments par catégories, apports en énergie et macro-nutriments et apports en vitamines et fer. Pour les besoins de l'analyse, l'échantillon a été divisé en 3 groupes de consommation : 128 témoins (≤ 43 g/j d'alcool pur), 47 buveurs modérés (44-87 g/j) et 41 gros buveurs (≥ 88 g/j).

Les 3 groupes diffèrent significativement en qui concerne l'âge et la catégorie socio-professionnelle (CSP) : les buveurs sont plus âgés que les témoins et comptent moins de cadres et professions libérales et plus d'ouvriers. Cette différence de structure d'âge et CSP justifie l'ajustement des analyses statistiques.
C'est le vin qui apporte la majorité des apports alcooliques pour les 2 groupes de buveurs (environ 75 % de l'alcool ingéré), suivi par la bière (14 à 19 %), les apéritifs et spiritueux (6 à 11 %) et le cidre (moins de 1 %). Les proportions consommées des différentes boissons alcooliques ne diffèrent pas significativement entre buveurs et témoins.
Les buveurs modérés et les gros buveurs consomment significativement plus de viande et de produits dérivés, de pain et produits apparentés, de légumes secs et de pommes de terre que les témoins petits buveurs. En revanche, ils absorbent moins de boissons non alcoolisées et moins de lait, yaourts, légumes cuits, fruits crus et cuits, pâtisseries et produits sucrés. Les apports énergétiques totaux sont plus élevés chez les buveurs que chez les témoins ; les apports énergétiques sans l'apport alcoolique n'étant pas significativement différents entre les 3 groupes. L'apport alcoolique semble simplement s'additionner à une ration de base due aux protéines, glucides et lipides. La part des lipides et des protéines dans la ration calorique (alcool excepté) est significativement plus élevée dans les 2 groupes de buveurs comparativement aux témoins, en revanche, la part des glucides est plus faible. En ce qui concerne les micronutriments, les buveurs modérés et les gros buveurs ont des apports significativement plus importants en folates et fer que les témoins et des apports en vitamines A et C plus faibles. Les apports en vitamines B1, B2, D et E ne sont pas significativement différents entre les 3 groupes.
Les différences de comportement alimentaire entre buveurs et témoins sont retrouvées même après ajustement sur l'âge et le statut socioprofessionnel et semblent spécifiquement liées à la consommation de boissons.

Malgré les difficultés de comparaison de nos résultats avec ceux de la littérature, en particulier celles liées aux différences culturelles de comportement d'alcoolisation, aux types de sélection des populations et aux outils de recueil des données alimentaires, on retrouve globalement chez nos buveurs des grandes tendances. L'apport calorique dû à l'alcool vient simplement s'additionner à l'apport de base venant des macronutriments, sans en remplacer une partie. Le comportement alimentaire associé à la prise de boissons alcoolisées est plus traditionnel et plus éloigné des recommandations diététiques : plus de viande et produits carnés, de pain, de légumes secs et de pommes de terre, moins de laits et yaourts, de fruits et légumes et de produits sucrés. En terme d'apports nutritionnels, ceci se traduit par une ration journalière plus riche en lipides et plus pauvre en glucides, vitamines A et C.

Dietary Behavior of French Men According to Alcohol Drinking Pattern*

BERNARD HERBETH,† LUCETTE DIDELOT-BARTHELEMY, ALAIN LEMOINE,† AND CLAUDE LE DEVEHAT†

Centre de Médecine Préventive, BP 7, F-54501, Vandoeuvre-Les-Nancy Cédex, France

ABSTRACT. Relationships of alcohol consumption with diet were studied in 216 French men aged 18–44. The sample was divided on the basis of alcohol intake in the preceding 7 days: controls (≤ 43 g/day), moderate drinkers (44–87 g/day) and heavy drinkers (88–200 g/day). Moderate and heavy drinkers consumed more meat and meat products, bread and toast, dried vegetables and potatoes than controls but fewer nonalcoholic drinks and less milk, yogurt, cooked vegetables, raw and cooked fruits, pastries and confectioneries. Total energy intake was higher in drinkers than in controls but nonalcoholic energy intake was not significantly different; alcohol was simply added to food intake. Moderate and heavy drinkers consumed significantly less carbohydrates but more fat and protein than controls. Vitamins A and C intakes were lower in the moderate and heavy drinkers than in controls but folate and iron intakes were higher. The differences in dietary habits between controls and drinkers were not related to age nor to socioprofessional status since after adjustment for these two parameters the same relationships were still found. (*J. Stud. Alcohol* 49: 268–272, 1988)

THE RELATIONSHIPS between alcohol consumption and diet are complex and are influenced by many factors, such as alcohol intake level, sociocultural and socioeconomic status. Nutritional deficiencies are common in alcoholic patients with high alcohol consumption (Bunout et al., 1983; Hurt et al., 1981). In samples of middle class drinkers or in the general population, studies generally agree that alcohol derived energy is added to the diet and does not replace energy derived from other nutrients: protein, fat and carbohydrate (Bebb et al., 1971; Fisher and Gordon, 1985; Jones et al., 1982; Gex-Fabry et al., personal communication, 1987). But the data are somewhat controversial. According to two studies (Barboriak et al., 1978; Hillers and Massey, 1985) the total energy intake (alcohol included) does not differ between drinkers and nondrinkers and as alcohol consumption increases, there is a decrease of energy derived from protein, fat and carbohydrate and therefore of the nutritional quality of the diet.

The purpose of the present study is to describe, according to alcohol intake, and taking into account age and socioprofessional status, the dietary behavior of a sample of men in apparent good health who live in eastern France.

Received: 15 January 1987. Revision: 12 July 1987.

* This study was supported by grants from the Centre National de Coordination des Etudes et Recherches sur la Nutrition et l'Alimentation, the Délégation Générale à la Recherche Scientifique et Technique, the Fondation Française pour la Nutrition and the Caisse Nationale d'Assurance Maladie.

† Dr. Herbeth is also with the INSERM U. 115, Facultés de Médecine, Vandoeuvre-Les-Nancy. Dr. Lemoine and Dr. Le Devehat are with the Centre de Diabétologie et des Maladies de la Nutrition, Pougues-Les-Eaux.

Method

A group of 216 men aged 18–44 were sampled nonconsecutively from the files of the Lorraine population under the general administration of the Social Security. The subjects were invited with their families for a 5-year health check-up at the Center for Preventive Medicine in Nancy-Vandoeuvre. The 216 men who gave informed consent were selected according to the following criteria: French by birth, no special diet, no medical treatment, no acute or chronic illness and no surgical or medical history likely to modify their nutritional or endocrine status, smoking less than 20 cigarettes a day and having a Lorentz ponderal index (PI) under 1.30. PI = weight (kg)/[height (cm) − 100 − (height (cm) − 150)/4].

Dietary information was collected by means of a 7-day prospective survey. After selection each person received a 7-day diary upon which he noted his daily food and beverage consumption and the quality, quantity, origin and method of preparation and cooking of the food. On the morning of the eighth day, a dietician interviewed each subject for details on seasoning, drinks, cooking and the use of fresh or canned products and recorded this information expressed in quantity of food ingested per day. From this 7-day collection of information, daily quantities of food and beverage consumed and daily intake of energy, macronutrients, iron and vitamins were calculated, using a computerized food composition table (Lemoine et al., 1986) based on the McCance and Widdowson's table (Paul and Southgate, 1978).

TABLE 1. Age and socioprofessional status of the three groups

	Controls	Moderate drinkers	Heavy drinkers
Age (mean ± SD)	29.9 ± 6.1	31.4 ± 4.9	34.0 ± 7.1
Socioprofessional status, in percent			
Self-employed and management	31	18	8
White-collar workers	27	35	31
Manual workers	42	47	61

For analysis, the sample was divided into three groups according to daily alcohol consumption: controls (0–43 g, N = 128), moderate drinkers (44–87 g, N = 47) and heavy drinkers (88–200 g, N = 41). The two cut off points of 44 and 88 g corresponded to the consumption of ½ litre and 1 litre respectively of wine with an average alcohol concentration of 88 g/l (i.e., 11% in volume). The differences between the three groups were assessed by comparing the distribution means by Student's t test or using the Wilcoxon's test when the distributions were not Gaussian. Since the two groups of drinkers differed significantly from control groups (Table 1) for two variables which are usually associated with dietary behavior (i.e., age and socioprofessional status), relationships between alcohol and diet were studied after adjustment for these two parameters with the Boyd and Doll (1954) method. For each dietary variable (foods, beverages and nutrients) the KHI2 test of independence was used on contingency tables with three lines and three columns. The three lines corresponded to the three groups of subjects based on alcohol consumption, the 3 columns to the three tertiles, based on the studied variable distribution for the 216 subjects. For example, the limits of total energy intake tertiles were: 3000 Kcal or less, 3000 to 3600 Kcal and 3600 Kcal or more.

Results

Moderate and heavy drinkers obviously consumed more alcoholic drinks (wine, beer, aperitifs and distilled spirits) than controls (Table 2) and the proportion of wine in relation to total alcoholic intake was high for both drinking groups (74.8% of daily alcohol intake), whereas the proportion of beer (13.5% for moderate drinkers, 19% for heavy drinkers) and aperitifs/distilled spirits (10.9% and 6.1% respectively) was much lower and that of cider was insignificant (less than 1%). The respective proportions of alcohol intake of the four beverage types did not differ significantly between drinkers and nondrinkers. Except for coffee, controls consumed more nonalcoholic drinks than drinkers, the difference being significant only for water, fruit and vegetable juices and milk. Coffee consumption was higher among drinkers but the difference was not significant. However, the overall liquid consumption (milk included) was higher in drinkers.

Table 3 presents the daily food consumption of the three groups. Moderate and heavy drinkers ate more meat and meat products, pork, bread and toast, dried vegetables, potatoes and sugar than controls but less yogurt, cooked vegetables, raw and cooked fruits,

TABLE 2. Daily beverage consumption (ml) according to alcohol drinking pattern

	Daily beverage consumption[a,b]			KHI2 test significance		
	Controls	Moderate drinkers	Heavy drinkers	Without adjustment	Adjustment for age	Adjustment for socioprofessional status
Alcoholic						
Wine	129 ± 158	566 ± 212‡	913 ± 338‡	≤ .001	≤ .001	≤ .001
(%)[c]	66.9 ± 32	74.8 ± 21.8	74.8 ± 17.2	.480	.451	.443
Beer	92 ± 212	193 ± 261†	504 ± 493‡	≤ .001	≤ .001	≤ .001
(%)	18.6 ± 27.7	13.5 ± 20.1	19 ± 15.9	.290	.310	.312
Cider	3 ± 35	17 ± 65	1 ± 7	.666	.603	.681
(%)	2.8 ± 13.2	0.8 ± 3.1	0.1 ± 0.2	.440	.460	.451
Aperitifs, spirits	5 ± 9	21 ± 25‡	23 ± 23‡	≤ .001	≤ .001	≤ .001
(%)	11.7 ± 20.9	10.9 ± 12	6.1 ± 6.1	.512	.531	.491
Nonalcoholic						
Water	592 ± 430	302 ± 350‡	172 ± 317‡	≤ .001	≤ .001	≤ .001
Soda and limeades	29 ± 106	4 ± 22	14 ± 43	.315	.510	.230
Fruit and vegetable juices	21 ± 46	12 ± 63†	7 ± 38	.005	.007	.012
Tea	19 ± 49	11 ± 40	11 ± 50	.541	.530	.523
Coffee	234 ± 208	294 ± 209	340 ± 326	.283	.245	.231
Infusion	19 ± 112	17 ± 75	2 ± 11	.240	.251	.231
Milk	141 ± 133	102 ± 107	69 ± 87‡	.056	.087	.093
Total	1284 ± 554	1539 ± 564*	2056 ± 800‡	≤ .001	≤ .001	≤ .001

[a] Mean ± SD

[b] Wilcoxon's test, differences vs controls, *$p \leq .05$. †$p \leq .01$. ‡$p \leq .001$.

[c] Percentage of alcohol consumption

TABLE 3. Daily food consumption in grams according to alcohol drinking pattern

	Daily food consumption[a,b]			KHI2 test significance		
	Controls	Moderate drinkers	Heavy drinkers	Without adjustment	Adjustment for age	Adjustment for socioprofessional status
Yogurt	34 ± 53	14 ± 26†	9 ± 22‡	.003	.004	≤ .001
Cheese	62 ± 45	66 ± 43	64 ± 42	.900	.961	.931
Eggs	24 ± 17	19 ± 16	27 ± 29	.539	.591	.578
Meat, organs, poultry	139 ± 61	167 ± 60†	150 ± 68	.007	.007	.016
Pork-butcher's meat	52 ± 33	60 ± 36	72 ± 38†	.162	.154	.186
Fish	24 ± 22	34 ± 37	26 ± 29	.277	.260	.401
Bread, toast	163 ± 79	192 ± 131*	199 ± 107	.092	.063	.125
Pasta, other cereal products	91 ± 58	77 ± 51	71 ± 52	.661	.714	.793
Dried vegetables	20 ± 31	28 ± 29*	37 ± 39†	.011	.017	.008
Potatoes	112 ± 71	123 ± 76	139 ± 82*	.109	.099	.064
Raw vegetables	60 ± 45	69 ± 52	61 ± 47	.243	.364	.351
Cooked vegetables[c]	112 ± 71	105 ± 72	81 ± 46*	.031	.043	.104
Raw fruits	124 ± 108	74 ± 68†	61 ± 67‡	.059	.063	.134
Cooked fruits	21 ± 38	11 ± 16	8 ± 17*	.517	.367	.311
Vegetable oils	22 ± 13	24 ± 14	26 ± 14	.275	.360	.197
Margarine	8 ± 10	11 ± 11	20 ± 11	.126	.138	.059
Other animal fats	26 ± 18	29 ± 13	28 ± 19	.266	.199	.237
Pastries	93 ± 62	76 ± 51	46 ± 52‡	.001	.007	.004
Sugar	19 ± 14	24 ± 13*	24 ± 20	.099	.120	.234
Honey, jams, sweets	19 ± 22	19 ± 29	7 ± 15‡	≤ .001	≤ .001	.008

[a] Mean ± SD (g)
[b] Wilcoxon's test, differences vs controls, *$p \leq .05$. †$p \leq .01$. ‡$p \leq .001$.
[c] Other than potatoes

pastries and confectioneries, differences being significant for moderate and/or heavy drinkers.

In Table 4, both drinking groups had higher total energy intake (alcohol included) than controls because of the drinking groups' high level of alcohol consumption. Energy derived from protein, fat and carbohydrates did not differ significantly between drinkers and nondrinkers (130 to 140 Kcal). Expressed as a percentage of nonalcoholic energy, total lipid intake increased and carbohydrates intake decreased in drinkers. Moderate drinkers ate less polyunsaturated fat.

Vitamin A intake among heavy drinkers and vitamin

TABLE 4. Daily energy and macronutrients intake according to alcohol drinking pattern

	Daily energy and macronutrients intake[a,b]			KHI2 test significance		
	Controls	Moderate drinkers	Heavy drinkers	Without adjustment	Adjustment for age	Adjustment for socioprofessional status
Total energy (Kcal)	3093 ± 529	3569 ± 564‡	3897 ± 720‡	≤ .001	≤ .001	≤ .001
Nonalcohol energy (Kcal)	2986 ± 521	3116 ± 526	3126 ± 697	.560	.560	.545
Protein (g)	102 ± 19	109 ± 16*	106 ± 23	.020	.024	.031
(%)[c]	13.8 ± 1.9	14.2 ± 1.8	13.6 ± 1.8	.257	.257	.264
Carbohydrates (g)	305 ± 70	296 ± 75	290 ± 88	.378	.378	.579
(%)[c]	40.7 ± 4.8	37.9 ± 5.4†	36.9 ± 5.5‡	≤ .001	≤ .001	.001
Total fat (g)	151 ± 29	165 ± 33†	171 ± 39‡	.005	≤ .001	.013
(%)[c]	45.5 ± 4.6	47.8 ± 5.1†	49.4 ± 4.9‡	≤ .001	≤ .001	.001
Saturated fat (%)[d]	42.8 ± 5.7	44.3 ± 5.6	42.1 ± 5.9	.547	.546	.644
Monounsaturated fat (%)[d]	39.5 ± 5.8	40.8 ± 5.7	40 ± 6.4	.526	.526	.352
Polyunsaturated fat (%)[d]	17.6 ± 7.3	14.8 ± 5.5*	17.8 ± 6.5	.130	.131	.162
Alcohol (g)	15 ± 13	65 ± 13‡	110 ± 17‡	≤ .001	≤ .001	≤ .001
Fiber (g)	5.5 ± 2.3	5.3 ± 2.1	5.6 ± 2.1	.528	.530	.465

[a] Mean ± SD
[b] t test, differences vs controls, *$p \leq .05$. †$p \leq .01$. ‡$p \leq .001$.
[c] Percentage of nonalcohol energy
[d] Percentage of total fat energy

C intake in both groups of drinkers were lower than in controls (Table 5). On the other hand, iron and folate intakes were higher among drinkers.

Using the KHI2 test, and after adjusting for age and socioprofessional status, the same relationship between dietary behavior and alcohol consumption was found except for cooked vegetables and folate intake.

Discussion

The moderate and heavy drinkers involved in our study had typically French drinking habits, with wine representing about 75% of the total amount of alcohol ingested, beer about 15%, aperitifs and distilled spirits about 8% and cider less than 1%. This behavior, which hardly differed between drinkers and nondrinkers, is quite similar to that noted for the French population in general, according to sales and production statistics for 1980 (63% wine, 14% beer) (Comité de Défense contre l'Alcoolisme, 1982). Our typical drinker therefore had a drinking pattern different from that of the typical North American whose drinks have a higher concentration of alcohol (Windham et al., 1983) and from that of the typical German drinker who drinks more beer (Arab et al., 1982).

Overall energy intake was significantly higher in the two drinking groups than in the controls, findings that are consistent with earlier studies from the United States, West Germany and France (Arab et al., 1982; Bebb et al., 1971; Fisher and Gordon, 1985; Jones et al., 1982; Pequignot, 1981; Windham et al., 1983). Nonalcohol derived energy, on the other hand, hardly differed between drinkers and controls; with an increase of about 130–140 Kcal for drinkers due to a higher intake of fat and protein. Alcoholic intake seems therefore to add on to energy intake derived from protein, carbohydrates and fat, regardless of alcohol consumption level. These results thus confirm the conclusions drawn by Bebb et al., (1971), Fisher and Gordon (1985) and Jones et al. (1982) in the United States and Gex-Fabry et al. (personal communication, 1987) in Switzerland. In Brittany, Pequignot (1981) showed a positive correlation between alcohol consumption and nonalcoholic energy intake. Identical dietary behavior was also noted in Greek students (Cowan et al., 1985). Controls had higher intake of carbohydrates in both absolute and relative terms in spite of the decreased consumption of bread, potatoes and dry vegetables. In fact, the control group consumed more pasta, cereals, raw and cooked fruits, pastries, honey, jams and sweets than the drinking groups. Fat intake however was higher in drinkers, who ate more meat products and therefore more fat, whereas the quantities of seasoning lipids ingested (vegetable oils, margarine and animal fats) did not vary according to alcohol consumption. This particular behavior—increase of fat and reduction of carbohydrates, especially sucrose—was observed in France in 1960 among minors (Bresard and Gombervaux, 1962) and in the United States (Fisher and Gordon, 1985; Jones et al., 1982).

Vitamin A and C intake was lower in drinkers than in controls because the drinking groups consumed less raw and cooked fruit, fruit and vegetable juices, vegetables, milk and yogurt. On the other hand, iron and folate intake increased with alcohol consumption. The increase in iron intake was probably due to the large amount of wine ingested. This difference in behavior between drinkers and controls is not explained by age or by socioprofessional status, which are different for each of the three groups.

The present findings are, naturally, specific to the sample selected and the method used (men of Lorraine

TABLE 5. Daily vitamins and iron intake according to alcohol drinking pattern

	Daily vitamins and iron intake[a,b]			KHI2 test significance		
	Controls	Moderate drinkers	Heavy drinkers	Without adjustment	Adjustment for age	Adjustment for socioprofessional status
A Total (RE μg)[c]	1471 ± 747	1399 ± 752	1135 ± 517†	.352	.352	.354
Retinol (%)[d]	52.2 ± 19.9	55.1 ± 20.5	50.6 ± 22.4	.144	.144	.151
B1 (mg)	1.19 ± .26	1.22 ± .29	1.23 ± .39	.192	.191	.187
B2 (mg)	1.67 ± .52	1.72 ± .49	1.62 ± .43	.220	.219	.233
C (mg)	73 ± 42	57 ± 27*	53 ± 27†	.005	.006	.004
D (μg)	4.4 ± 3.4	5.2 ± 3.8	4.7 ± 3.3	.199	.203	.200
E (mg)	10.2 ± 2.5	10.8 ± 3	10.9 ± 3.2	.570	.567	.200
Folate (μg)	186 ± 93	199 ± 79	213 ± 98	.025	.025	.122
Iron (mg)	15.3 ± 3.4	19.4 ± 3.8‡	20.2 ± 6.7‡	≤ .001	≤ .001	≤ .001

[a] Mean ± SD

[b] *t* test, differences vs controls, $*p \leq .05$. $\dagger p \leq .01$. $\ddagger p \leq .001$.

[c] RE (μg) = retinol (μg) + beta-carotene/6 (μg)

[d] Retinol (%) = retinol (μg) / RE (μg)

attending a health check-up, 7-day prospective survey). Effectively, the relationships between alcohol consumption and diet are complex and influenced by many factors which must be taken into account during results interpretation and literature analysis. First, the sociocultural characteristics of the country or region where the study takes place (e.g., dietary and drinking habits, types of drinks consumed). Second, the way the samples are selected (e.g., whether it is a random sample drawn from a particular region, a group of hospitalized alcoholics or alcoholics in a treatment unit, or workers). Depending on the type of sample, great differences in drinking habits, alcoholization-level and dietary behavior may occur within the same sociocultural entity. These differences are in part linked with the subject's socioeconomic status. Third, methodology related factors may influence the results obtained (e.g., the type of dietary survey carried out, the degree of precision in alcohol consumption measurement). For example, in a 24-hour dietary recall (Arab et al., 1982; Jones et al., 1982) occasional drinkers may not be detected. It is often difficult therefore to transpose results obtained on one particular sample, using a specific method, onto another sample, without taking these factors into account.

Regardless of age and socioprofessional factors, the two groups of drinkers had dietary behavior that is more traditional in the East of France than that of the control group. The men in the drinking groups were mainly wine drinkers and ate more meat and meat products, bread, dry vegetables and potatoes than the controls but they consumed less milk, yogurt, cooked vegetables, raw and cooked fruits, pastries and confectionery, fruit and vegetable juices. Energy derived from alcohol was simply added to the normal dietary intake in drinkers and they consumed less carbohydrates, vitamins A and C and more fat, folate and iron.

Acknowledgments

The authors are grateful to Geneviève Carre-Guery and Véronique Michaux for their help in diet data collection, Thomas Mikstacki for the computer analysis, Géraldine Junger for manuscript typing, Catherine Guenot and an anonymous reviewer for their helpful critique of this article.

References

Arab, L., Schellenberg, B., Schlierf, G., Blum, M., Geiss, R., Heinrich, B., Hemler, W., Holch, A., Kohlmeier, M., Muchowski, H., Oster, J., Oster, P., Vogel, G., and Wankmuller, I. Nutrition and health: A survey of young men and women in Heidelberg. Ann. Nutr. Metab. **26** (Suppl. 1): 1-244, 1982.

Barboriak, J. J., Rooney, C. B., Leitschuh, T. H. and Anderson, A. J. Alcohol and nutrient intake of elderly men. J. Amer. Diet. Assoc. **72:** 493-495, 1978.

Bebb, H. T., Houser, H. B., Witschi, J. C., Littell, A. S. and Fuller, R. K. Calorie and nutrient contribution of alcoholic beverages to the usual diets of 155 adults. Amer. J. clin. Nutr. **24:** 1042-1052, 1971.

Boyd, J. T. and Doll, R. Gastro-intestinal cancer and the use of liquid paraffin. Brit. J. Cancer **8:** 231-237, 1954.

Bresard, M. and Gombervaux, C. Enquête sur la consommation des boissons auprès des mineurs du Bassin de la Loire (1960). Bull. Inst. nat. Hyg. **17:** 217-265, 1962.

Bunot, D., Gattas, V., Iturriaga, H., Perez, C., Pereda, T. and Ugarte, G. Nutritional status of alcoholic patients: It's possible relationship to alcoholic liver damage. Amer. J. clin. nutr. **38:** 469-473, 1983.

Comite National de Defense contre l'Alcoolisme. Quelques Statistiques Économiques, Sanitaires, Financières, Paris, 1982, pp. 1-25.

Cowan, R., Massey, L. K. and Greenfield, T. K. Average, binge and maximum alcohol intake in healthy young men: Discriminant function analysis. J. Stud. Alcohol **46:** 467-472, 1985.

Fisher, M. and Gordon, T. The relation of drinking and smoking habits to diet: the Lipid Research Clinics Prevalence Study. Amer. J. clin. Nutr. **41:** 623-630, 1985.

Hillers, V. N. and Massey, L. K. Interrelationships of moderate and high alcohol consumption with diet and health status. Amer. J. clin. Nutr. **41:** 356-362, 1985.

Hurt, R. D., Higgins, J. A., Nelson, R. A., Morse, R. M. and Dickson, E. R. Nutritional status of a group of alcoholics before and after admission to an alcoholism treatment unit. Amer. J. clin. Nutr. **34:** 386-392, 1981.

Jones, B. R., Barrett-Connor, E., Criqui, M. H. and Holdbrook, M. J. A community study of calorie and nutrient intake in drinkers and nondrinkers of alcohol. Amer. J. clin. Nutr. **35:** 135-139, 1982.

Lemoine, A., Le Devehat, C., Herbeth, B., Bourgeay-Causse, M., Delacoux, E., Mareschi, J. P., Martin, J. Y., Miravet, L., Potier de Courcy, G. and Zittoun, J. "ESVITAF" Vitamin status in three groups of French adults: Controls, obese subjects, alcohol drinkers. Ann. Nutr. Metab. **30** (Suppl. 1): 1-94, 1986.

Paul, A. A. and Southgate, D. A. T. McCance and Widdowson's: The Composition of Foods, Amsterdam: Elsevier Biomedical Press, 1978.

Pequignot, G. Risques pathologiques en fonction des doses d'alcool consommées. Cah. Nutr. Diet. **16:** 43-52, 1981.

Windham, C. T., Wyse, B. W. and Hansen, R. G. Alcohol consumption and nutrient density of diets in the Nationwide Food Consumption Survey. J. Amer. Diet. Assoc. **82:** 364-371, 1983.

Plasma fat-soluble vitamins and alcohol consumption

Herbeth B, Didelot-Barthelemy L, Lemoine A, Le Devehat C

Lettre à l'éditeur : Am J Clin Nutr 1988;47:343-344

Les données de l'étude ESVITAF ont permis d'apporter un éclairage nouveau sur les relations entre la consommation d'alcool et la concentration des vitamines liposolubles dans le plasma. Cette lettre à l'éditeur fait suite à un travail finlandais montrant que les buveurs excessifs avaient des niveaux de rétinol circulant plus élevés que les non buveurs et, au contraire, des niveaux de β-carotène plus bas. Selon cette équipe, ce phénomène pouvait être dû à des apports alimentaires en vitamine A différents selon la consommation d'alcool.

Nos données sont issues de l'échantillon d'hommes recrutés au Centre de Médecine Préventive : 121 témoins (0-43 g/j d'alcool), 43 buveurs modérés (44-87 g/j) et 37 gros buveurs (≥ 88 g/j). Nous avons présenté également dans cette lettre les résultats pour la vitamine E.

Chez les buveurs, les concentrations de rétinol et d'α-tocophérol plasmatiques sont significativement plus élevées que chez les témoins, contrairement aux concentrations de β-carotène. Par régression multiple, en tenant compte des autres facteurs de variation (lipides plasmatiques, apports alimentaires, âge et corpulence), on constate que la consommation d'alcool a un effet indépendant sur les concentrations de rétinol et de β-carotène mais pas sur la vitamine E plasmatique.

C'est suite à ces premiers résultats que nous avons initié une nouvelle étude sur l'alcool, incluant des sujets alcooliques en cure de sevrage et un nombre d'indicateurs biologiques de statut pro- et antioxydant plus élevés.

Plasma fat-soluble vitamins and alcohol consumption

Dear Sir:

In a recent article Rissanen et al (1) reported higher serum retinol levels in Finnish excessive drinkers than in control subjects but lower levels of β-carotene. According to these authors, this indicated differing sources of circulating vitamins in the two groups. In this study α-tocopherol levels were not different between drinkers and control subjects. For retinol and β-carotene other authors obtained similar results (2, 3) but without explanation.

We would like to present results that could clear up, in part, relationships among fat-soluble vitamins (retinol, carotenoids, and vitamin E), alcohol consumption, and variables associated with alcohol drinking pattern, ie, age, ponderal index, plasma lipids, and dietary intakes. Plasma retinol, carotenoids, and vitamin E (4) were assessed on a sample of French males aged 18–44 y selected in the Centre for Preventive Medicine of Nancy-Vandoeuvre by the following criteria: no special diet, no medical treatment, no acute or chronic illness, no surgical or medical history, smoking < 20 cigarettes/d, and Lorentz ponderal index < 1.30.

The sample was divided into three groups according to daily alcohol consumption: control subjects (0–43 g, n = 121), moderate drinkers (44–87 g, n = 43), and heavy drinkers (88–200 g, n = 37) (**Table 1**). Retinol and vitamin E levels were higher in drinkers than in control subjects but levels of carotenoids were lower. To explore interrelationships between plasma fat-soluble vitamins and the variables that were associated with alcohol drinking pattern, stepwise multiple regression analysis was employed. For each vitamin, plasma concentration was the dependent variable and age, ponderal index, plasma cholesterol, plasma triglyceride, vitamins intake, energy intake, and alcohol consumption were the independent variables (**Table 2**). Alcohol intake was an independent significant predictor of plasma retinol and carotenoids, but not of vitamin E. Vitamin A intake was significantly associated with plasma concentration only for carotenoids. The other variables associated in the multiple regression analysis were cholesterol, triglyceride, age, ponderal index, and energy intake.

TABLE 1
Plasma retinol, carotenoids, and vitamin E according to alcohol consumption (mean ± SD)

	Subjects		
	Control	Moderate drinker	Heavy drinker
	0–43 g/d	*44–87 g/d*	*88–200 g/d*
Retinol			
(μg/L)	598 ± 119	741 ± 175*	758 ± 168*
(μmol/L)	2.09 ± 0.415	2.59 ± 0.610	2.65 ± 0.586
Carotenoids			
(μg/L)	462 ± 266	328 ± 203†	245 ± 201*
Vitamin E			
(mg/L)	10.2 ± 2.3	11.7 ± 2.6*	12.4 ± 3.1*
(μmol/L)	23.7 ± 5.3	27.2 ± 6.0	28.8 ± 7.2

* $p \leq 0.001$, Student's t test, different from control subjects.
† $p \leq 0.01$, Student's t test, different from control subjects.

TABLE 2
Predictors of plasma retinol, carotenoids, and vitamin E in stepwise multiple regression analysis

Retinol		Carotenoids		Vitamin E	
Variable	Coefficient (SD) p	Variable	Coefficient (SD) p	Variable	Coefficient (SD) p
Plasma triglyceride	90.4 (14.4) ≤ 0.001	Alcohol consumption	−2.77 (0.44) ≤ 0.001	Plasma cholesterol	0.85 (0.13) ≤ 0.001
Alcohol consumption	1.01 (0.26) ≤ 0.001	Plasma cholesterol	60.0 (14.9) ≤ 0.001	Plasma triglyceride	1.23 (0.21) ≤ 0.001
Ponderal index	1.95 (0.95) ≤ 0.05	Vitamin A intake (RE)*	0.066 (0.023) ≤ 0.005	Age	0.07 (0.02) ≤ 0.001
Intercept	315.6 (95.8)	Energy intake	0.056 (0.028) ≤ 0.005	Ponderal index	0.041 (0.001) ≤ 0.001
		Intercept	−88.3 (122.9)	Intercept	−1.49 (1.43)
Multiple R^2 = 0.38		Multiple R^2 = 0.23		Multiple R^2 = 0.55	

* Retinol equivalent.

Bernard Herbeth, PhC
INSERM U115, Faculté de Médecine
BP 184
F 54505 Vandoeuvre-les-Nancy, France
Lucette Didelot-Barthelemy, RD
Centre de Médecine Préventive
2, Avenue du Doyen Jacques Parisot
F 54501 Vandoeuvre-les-Nancy, France
Alain Lemoine, MD
Claude Le Devehat, MD
Centre de Diabétologie et des Maladies de la Nutrition
F 58300 Pougues-les-Eaux, France

References

1. Rissanen A, Sarlio-Lähteenkorva S, Alfthan G, Gref CG, Keso L, Salaspurao M. Employed problem drinkers: a nutritional risk group? Am J Clin Nutr 1987;45:456–61.
2. Brubacher G, Vuilleumier JP, Ritzel G, Bruppacher R, Stähelin H, Stansky M. Early signs of hypovitaminosis A. Nutrition 1982;6: 211–6.
3. Stähelin HB, Rösel F, Buess E, Brubacher G. Cancer, vitamins, and plasma lipids: prospective Basel study. J Natl Cancer Inst 1984;73: 463–8.
4. Herbeth B, Zittoun J, Miravet L, et al. Reference intervals for vitamins B1, B2, E, D, retinol, beta-carotene and folate in blood: usefulness of dietary selection criteria. Clin Chem 1986;32:1756–9.

Effect of alcohol consumption on blood antioxidant nutrients and oxidative stress indicators

Lecomte E, Herbeth B, Pirollet P, Chancerelle Y, Arnaud J, Musse N, Paille F, Siest G, Artur Y

Am J Clin Nutr 1994;60:255-261

Les effets toxiques de l'alcool sur les tissus, en particulier le tissu hépatique, peuvent être en partie attribués aux radicaux libres générés au cours de son métabolisme. Chez l'alcoolique ou le buveur excessif, les systèmes antioxydants d'origine exogène (alpha-tocophérol, acide ascorbique, caroténoïdes, sélénium,...) ou endogènes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase,...) sont susceptibles de jouer un rôle important. En effet, une perturbation de ces systèmes protecteurs, notamment une carence en micronutriments antioxydants consécutive à des apports insuffisants, à un métabolisme modifié ou à des activités enzymatiques diminuées, peut favoriser les dommages cellulaires liés aux phénomènes de peroxydation lipidique, mais également l'oxydation des lipoprotéines, phénomène renforçant leur pouvoir athérogène.

Cette étude a été menée chez 417 témoins du Centre de Médecine Préventive (petit buveurs et buveurs modérés) et 102 patients alcooliques exempts de pathologie hépatique, avant et après une cure de sevrage de 21 jours. Outre les paramètres classiques du bilan de santé, nous avons mesuré sur ces 2 groupes, les apports alimentaires et certains indicateurs biologiques du statut antioxydant (α-tocophérol, acide ascorbique et sélénium plasmatiques, GPX et SOD plasmatiques et érythrocytaires) et de stress oxydatif (malondialdéhyde, bases de Schiff protéiques et auto-anticorps dirigés contre les adduits de malondialdéhyde aux protéines : Ig-NH_2-MDA).

Pour tous les micronutriments antioxydants (vitamine E, vitamine C et sélénium), les concentrations plasmatiques diminuent significativement avec la consommation d'alcool. En particulier, chez les alcooliques avant cure, le niveau des indicateurs antioxydants est abaissé comparativement au groupe témoin. En revanche, les niveaux de 2 marqueurs de stress oxydatif sont augmentés (MDA et Ig-NH_2-MDA). La cure de sevrage de 21 jours ne modifie pas les concentrations plasmatiques de vitamine E et de sélénium et permet seulement une diminution des 2 marqueurs de stress oxydatif (MDA et Ig-NH_2-MDA) à des niveaux proches de ceux des témoins. De façon paradoxale, le sevrage conduit à une baisse de la vitamine C et à une augmentation des bases de Schiff plasmatiques. Les activités de SOD et GPX plasmatiques sont plus élevées chez les alcooliques que chez les témoins et diminuent avec la cure de sevrage.

Même après ajustement sur les facteurs de confusion (tabac, indice pondéral, lipides plasmatiques, alimentation ...), on retrouve un effet propre de la consommation d'alcool et du sevrage sur les indicateurs biologiques du statut en antioxydants. Plusieurs mécanismes sont impliqués dans ce phénomène - absorption et stockage perturbés, activation du métabolisme, utilisation et dégradation excessives induites par les radicaux libres et la peroxydation lipidique - et peuvent être responsables en partie des perturbations hépatiques dues à l'alcoolisation. Le sevrage alcoolique accompagné d'une prise en charge de 21 jours en service hospitalier ne permet pas de restaurer le statut en vitamine E, vitamine C et sélénium. Dans une telle situation, quel peut être le bénéfice en terme de statut biologique d'une supplémentation en micronutriments antioxydants à dose nutritionnelle au cours du sevrage ? En 1994, les maigres données de la littérature ne permettaient pas de répondre à cette question.

Effect of alcohol consumption on blood antioxidant nutrients and oxidative stress indicators[1-3]

Edith Lecomte, Bernard Herbeth, Pascal Pirollet, Yves Chancerelle, Josiane Arnaud, Nadine Musse, François Paille, Gérard Siest, and Yves Artur

ABSTRACT The effects of alcohol consumption on plasma concentrations of antioxidant vitamins (α-tocopherol and ascorbic acid), selenium, and markers of oxidative stress, especially malondialdehyde (MDA) and autoantibodies directed to MDA adducts to proteins (Ig-NH_2-MDA) were investigated in a large population of 417 supposedly healthy men who consumed only low or moderate amounts of alcohol as compared with 102 alcoholic patients without severe liver disease, who were studied both before and after 21 d of withdrawal treatment. Plasma concentrations of α-tocopherol, ascorbic acid, and selenium were lower in alcoholics than in men who drank low amounts of alcohol ($P \leq 0.001$), whereas MDA and Ig-NH_2-MDA were higher ($P \leq 0.001$). Plasma concentrations of α-tocopherol and selenium remained unchanged after the withdrawal period, whereas ascorbic acid ($P \leq 0.01$), MDA, and Ig-NH_2-MDA concentrations decreased ($P \leq 0.001$). Adjustment of data for circulating lipids and nutritional intake suggests a specific effect of alcohol on antioxidant vitamins, independent of nutritional status. *Am J Clin Nutr* 1994;60:255–61.

KEY WORDS Vitamin E, vitamin C, selenium, oxidative stress, alcohol consumption, withdrawal, blood, nutritional intake

Introduction

Ethanol can affect a wide range of organ systems. Some of its effects are directly due to the action of either ethanol or its metabolites, whereas others are related to nutritional deficiencies associated with alcohol intake. Some of the tissue damage occurring in alcohol abusers may be due to generation of free radicals during the metabolism of ethanol and subsequent lipid peroxidation (1); concentrations of antioxidants may be inadequate, especially when highly reactive oxidant species are generated in large amounts. For this reason, several authors have attempted to study alcohol-related variations of α-tocopherol, ascorbic acid, and selenium, which are important factors in the defense against oxidative injury (1–6), and those of endogenous enzymatic antioxidants such as glutathione peroxidase (GPX) and superoxide dismutase (SOD) (3, 5, 7–10). The results of these investigations appear to be rather contradictory, probably because of the restricted size of the populations studied, and/or because of their heterogeneity with regard to alcohol consumption and the extent of liver troubles. In addition, authors have generally measured a very limited number of antioxidant compounds and markers of oxidative stress, and have rarely taken into account possible confounding factors such as plasma lipids or tobacco consumption.

The aim of this work was to study the blood concentrations of antioxidant nutrients and of potential markers of oxidative stress in a large population of supposedly healthy subjects and alcoholic patients without severe liver disease, and to compare the results obtained before and after a 21-d withdrawal treatment on the subjects in the latter group.

Although the literature in this field is quite abundant, this study presents some original points: the population is very large, thus allowing a distribution of healthy subjects into two groups according to alcohol intake; the group of alcoholic patients is homogeneous and did not include subjects with clinical or biological evidence of severe liver disease. It is interesting to note that the effects of withdrawal have rarely been considered in previous studies. Among the markers of antioxidant defenses, plasma concentrations of α-tocopherol, ascorbic acid, and selenium, and blood activities of SOD and GPX were measured. Also examined were the variations of potential markers of oxidative stress: malondialdehyde (MDA), which is an end product of the peroxidation of polyunsaturated fatty acids; autoantibodies directed to MDA adducts to proteins (Ig-NH_2-MDA); and protein Schiff's bases, which are an indication of the presence of these adducts. Finally, an attempt was made to clarify the relationships between the markers related to oxidative status and alcohol consumption, taking into account other factors associated with alcohol-drinking patterns, ie, age, Quetelet index, plasma lipids, dietary intake, and tobacco consumption.

[1] From the Laboratoire du Centre de Médecine Préventive (URA CNRS 597) and the Unité 115 INSERM, Vandoeuvre-les-Nancy, France; the Centre d'Hygiène Alimentaire et d'Alcoologie, CHRU, Nancy, France; the Centre de Recherche du Service de Santé des Armées, La Tronche, France; the Laboratoire de Biochimie C, CHRU, Grenoble, France; and the Unité 308 INSERM, Nancy, France.

[2] Supported by grants from the Caisse Nationale d'Assurance Maladie des Travailleurs Salariés, the Haut Comité d'Etude et d'Information sur l'Alcoolisme, and the Ministère de la Recherche et de la Technologie.

[3] Address reprint requests to Y Artur, Laboratoire du Centre de Médecine Préventive (URA CNRS 597), BP 7, 2 Avenue du Doyen Jacques Parisot, 54501 Vandoeuvre-les-Nancy Cedex, France.

Received May 10, 1993.

Accepted for publication January 27, 1994.

Subjects and methods

Population groups

The control population consisted of 417 supposedly healthy men attending the Center for Preventive Medicine of Vandoeuvre-les-Nancy, France, for a routine check-up. These individuals were identified from the files of the State Health Insurance Fund between March 1990 and June 1991. The population was divided into two groups: 317 low drinkers, who consumed < 33 g pure alcohol/d ($\bar{x} \pm$ SD = 10.6 ± 9.2 g/d) and 100 moderate drinkers, who consumed > 33 g/d ($\bar{x} \pm$ SD = 59.0 ± 25.7 g/d).

The patients were 102 male chronic alcoholics, hospitalized for a rehabilitation program and showing no clinical or biological evidence of liver cirrhosis. For ethical reasons, liver biopsies were not performed. All patients consumed excessive quantities of alcohol until the day of hospitalization ($\bar{x} \pm$ SD = 194.3 ± 140.7 g/d) and were dependent on alcohol according to DSM-III-R (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 3rd ed, revised) criteria (11). The mean duration of alcohol abuse was 13.2 ± 8.3 y. Blood samples were taken on the morning of arrival at the hospital and after 21 d of abstinence.

All patients and control subjects were white, and underwent a complete medical examination and biological screening. A detailed standardized interview was carried out by a trained interviewer using the diet-history method (12), with particular emphasis on drinking history, tobacco and drug consumption, and usual dietary intake during the previous 3 mo. None of the subjects of the various groups took vitamin-mineral supplements. Nutrient intakes were calculated by using CIQUAL's food-composition table (13). All chronic alcoholic patients were questioned about their diet at the beginning and after 21 d of abstinence. Informed consent was obtained from the subjects. The research protocol was approved by the Scientific Committee of the Center for Preventive Medicine, and was in accord with the Helsinki Declaration.

Blood samples

Venous blood samples were collected after a 12-h fast into heparinized EDTA-containing or dry vials (Becton-Dickinson, Rutherford, NJ) between 0730 and 0830. Subjects consuming alcohol had not modified their drinking habits until the day before blood sampling. The blood was centrifuged at 1000 × *g* for 15 min. Plasma samples for α-tocopherol, ascorbic acid, and selenium determinations were promptly stored at −80 °C and sera for MDA, protein Schiff's bases, and $IgNH_2$-MDA determinations were stored at −196 °C until analyzed. For ascorbic acid, plasma samples were stabilized by adding metaphosphoric acid (5%, mass:volume) immediately after separation from the cells (1:9, vol:vol).

Analytical methods

A reversed-phase HPLC method was used for the simultaneous determination of retinol and α-tocopherol in plasma as described by Rudy et al (14). Analytes were isolated by liquid-liquid extraction, concentrated by evaporation and then chromatographed on a C_{18}, 15 cm × 4.6 mm ODS 5-μm column (Beckman Instruments, Gagny, France) by using a solvent system comprising water, methanol-ethyl acetate, and isopropanol. Alpha-tocopherol was spectrophotometrically detected at 292 nm. Standards (α-tocopherol and α-tocopherol acetate) were purchased from Fluka Chemie AG (Buchs, Switzerland) and solvents (HPLC grade) from Merck (Darmstadt, Germany).

Ascorbic acid concentrations were determined by using the method described by Deutsch and Weeks (15). GPX and SOD activities of plasma and erythrocytes were determined in a Cobas-Fara centrifugal analyzer (Hoffman La Roche, Basel, Switzerland) as previously described (16). MDA was assayed according to the fluorimetric method described by Dousset et al (17). $Ig\text{-}NH_2$-MDA concentrations were determined by using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) as previously described (18). Schiff's bases were evaluated by fluorescence measurements, as described by Tsuchida et al (19), with a Jobin-Yvon JY3CS spectrofluorimeter (Longjumeau, France) with excitation and emission wavelengths of 400 and 466 nm, respectively.

Serum total cholesterol, triglycerides, albumin, glucose, and total protein concentrations, and activities of γ-glutamyltransferase (GGT), alanine aminotransferase (ALT), and aspartate aminotransferase (AST) were measured by using an AU5000 apparatus (Merck). Mean corpuscular volumes (MCV) were determined in a Technicon H6010 analyzer (Bayer Diagnostics, Paris). Apolipoproteins A-I and B were determined by nephelemetry using the BNA analyzer and reagents from Behring (Rueil-Malmaison, France). Selenium was measured in a randomly selected part of the total population by using Zeeman-effect atomic-absorption spectroscopy as previously described (20).

Statistical methods

Statistical analysis was performed with *BMDP* statistical software (Los Angeles). Values of the different biological variables were expressed as mean ± SD. The statistical significance of differences between groups was tested with the Dunnett's pairwise test (comparisons between low and moderate drinkers, or between low drinkers and alcoholics before withdrawal) or with *t* tests for paired data (comparisons between alcoholics before and after the withdrawal). Tests were carried out on the crude values, and after adjustment for diet (intake of vitamins E and C) and possible confounding factors such as age, tobacco consumption, and biological indexes (cholesterol, triglycerides, and apolipoproteins A-I and B).

Results

Daily alcohol intake and types of alcoholic beverage consumed are presented in **Table 1.** Consumption of alcohol was 10.6 ± 9.9 and 59.0 ± 25.7 g/d for the low and moderate drinkers, respectively; it was 194.3 ± 140.7 g/d for the alcoholics before withdrawal and ≈0, after withdrawal. In comparison with low drinkers, the proportion of wine in relation to total alcoholic intake was higher in moderate drinkers ($P \leq 0.001$) and the proportion of beer was higher in alcoholics ($P \leq 0.001$). The proportion of aperitifs and spirits was lower for moderate drinkers and alcoholics ($P \leq 0.001$).

Values for age, Quetelet index, consumption of tobacco, and various analytes are presented in **Table 2.** The markers of excessive alcohol consumption (GGT and MCV) and hepatocellular injury (AST and ALT) were higher in the alcoholics than in the low drinkers ($P \leq 0.001$), but decreased after the withdrawal period. Total protein and albumin appeared slightly

TABLE 1
Daily alcohol intake and types of alcoholic beverage consumed

	Control subjects		Alcoholics before withdrawal
	Low drinkers (n = 317)	Moderate drinkers (n = 100)	(n = 102)
Pure alcohol			
(MJ)	0.31 ± 0.27[1]	1.73 ± 0.75[2]	5.68 ± 4.12[2]
(kcal)	74 ± 64	413 ± 180[2]	1360 ± 985[2]
(g)	10.6 ± 9.2	59.0 ± 25.7[2]	194.3 ± 140.7[2]
(g)[3]	8.4 (0.0–32.5)	51.2 (33.6–172.6)	166.5 (52.0–723.5)
Wine			
(mL)	78 ± 120	397 ± 252[2]	1088 ± 1124[2]
(%)[4]	45.5 ± 42.5	72.4 ± 25.6[2]	50.7 ± 37.7
Beer			
(mL)	43 ± 104	161 ± 245[2]	1822 ± 2140[2]
(%)[4]	17.9 ± 29.9	14.1 ± 18.7	43.7 ± 36.1[2]
Aperitifs and spirits			
(mL)	8 ± 9	22 ± 13	62 ± 185[2]
(%)[4]	36.6 ± 41.2	13.5 ± 21.1[2]	5.6 ± 14.1[2]
Nondrinkers (%)[5]	14.8	0.0	0.0

[1] $\bar{x}$ ± SD.
[2] Significantly different from low drinkers, $P \leq 0.001$ (Dunnett's pair-wise test).
[3] Median, range in parentheses.
[4] Percent of pure alcohol intake by drinkers.
[5] Daily pure alcohol intake < 1 g.

lower in the alcoholic groups ($P \leq 0.001$). The variations of triglycerides, cholesterol, and apolipoproteins A-I and B among the different groups were complex, and withdrawal significantly affected only apolipoproteins A-I and B. The mean percentages of nonsmokers were 65.0%, 38.0%, and 17.2% in low drinkers, moderate drinkers, and alcoholics, respectively. The alcoholic patients smoked much more than did the control subjects and even increased their tobacco consumption during the abstinence period.

Daily dietary intakes are shown in **Table 3.** Energy intakes (alcohol excluded) were significantly higher in moderate drinkers in comparison with low drinkers ($P \leq 0.05$); variations of protein

TABLE 2
Age, Quetelet index, consumption of tobacco, and biological indexes

	Control subjects		Alcoholics	
	Low drinkers (n = 317)	Moderate drinkers (n = 100)	Before withdrawal (n = 102)	After withdrawal (n = 102)
Age (y)	36.2 ± 6.7[1]	37.9 ± 6.1	40.5 ± 8.8[2]	
Quetelet index[3]	24.6 ± 3.2	24.8 ± 3.1	23.1 ± 3.3[2]	23.5 ± 3.3[4]
Tobacco (g/d)	6.1 ± 10.6	10.8 ± 11.6[5]	24.6 ± 17.6[2]	27.6 ± 19.1[6]
Nonsmokers (%)	65.0	38.0	17.2	16.2
Glucose (mmol/L)	5.13 ± 0.63	5.39 ± 0.82[5]	4.94 ± 0.91[2]	5.04 ± 1.26
Cholesterol (mmol/L)	5.67 ± 0.97	6.16 ± 1.06[2]	5.52 ± 1.46	5.58 ± 1.10
Triglycerides (mmol/L)	1.24 ± 0.85	1.48 ± 0.97	1.39 ± 1.54	1.48 ± 0.73
Apolipoprotein A-I (g/L)	1.54 ± 0.25	1.58 ± 0.24	1.76 ± 0.52[2]	1.26 ± 0.28[4]
Apolipoprotein B (g/L)	1.21 ± 0.31	1.31 ± 0.32[7]	0.98 ± 0.35[2]	1.23 ± 0.34[4]
Aspartate aminotransferase (U/L)	24.4 ± 8.1	26.9 ± 9.4	74.1 ± 78.3[2]	28.8 ± 19.0[4]
Alanine aminotransferase (U/L)	31.0 ± 18.2	33.1 ± 20.9	56.5 ± 72.8[2]	33.5 ± 25.7[4]
γ-Glutamyltransferase (U/L)	39.8 ± 38.7	58.9 ± 43.4[2]	294.6 ± 402.7[2]	120.6 ± 123.2[4]
Mean corpuscular volume (μm^3)	90.4 ± 3.3	92.3 ± 3.4[2]	98.1 ± 6.1[2]	97.8 ± 5.7
Total protein (g/L)	72.5 ± 3.7	72.7 ± 4.4	67.6 ± 5.1[2]	67.1 ± 4.8
Albumin (g/L)	45.1 ± 1.9	45.2 ± 1.9	40.9 ± 3.7[2]	41.5 ± 3.5

[1] $\bar{x}$ ± SD.
[2,5,7] Significantly different from low drinkers (Dunnett's pair-wise test): [2] $P \leq 0.001$, [5] $P \leq 0.01$, [7] $P \leq 0.05$.
[3] In kg/m^2.
[4,6] Significantly different from prewithdrawal values (paired t test): [4] $P \leq 0.001$, [6] $P \leq 0.05$.

TABLE 3
Daily dietary intake[1]

	Control subjects		Alcoholics	
	Low drinkers (n = 317)	Moderate drinkers (n = 100)	Before withdrawal (n = 102)	After withdrawal (n = 102)
Total energy				
(MJ)	11.42 ± 2.71	13.56 ± 2.70[2]	15.98 ± 5.61[2]	12.11 ± 3.41[3]
(kcal)	2731 ± 648	3245 ± 646[2]	3823 ± 1342[2]	2898 ± 815[3]
Nonalcohol energy				
(MJ)	11.11 ± 2.71	11.84 ± 2.44[4]	10.30 ± 4.41	12.11 ± 3.41[3]
(kcal)	2657 ± 647	2832 ± 584[4]	2463 ± 1054	2897 ± 816[3]
Protein (%)[5]	17.1 ± 2.4	18.0 ± 2.0[2]	15.7 ± 3.2[2]	15.3 ± 2.0
Carbohydrate (%)[5]	47.1 ± 5.9	44.1 ± 5.5[2]	53.2 ± 11.7[2]	51.7 ± 6.3
Fat (%)[5]	35.7 ± 4.8	37.9 ± 4.9[2]	31.1 ± 9.6[2]	33.0 ± 5.0
Vitamin E				
(mg)	10.6 ± 3.9	11.8 ± 4.4[4]	9.3 ± 6.9	8.6 ± 2.9
(mg/MJ)	0.98 ± 0.36	1.02 ± 0.36	0.88 ± 0.64	0.74 ± 0.26[6]
(mg/1000 kcal)	4.1 ± 1.6	4.3 ± 1.5	3.8 ± 2.7	3.1 ± 1.1[6]
Vitamin C				
(mg)	82.4 ± 45.5	78.2 ± 47.6	71.3 ± 76.8	77.2 ± 64.0
(mg/MJ)	7.7 ± 4.5	6.7 ± 3.6	6.7 ± 8.3	6.7 ± 2.6
(mg/1000 kcal)	32.2 ± 19.1	27.9 ± 15.2	27.9 ± 34.8	27.4 ± 10.9

[1] $\bar{x}$ ± SD.
[2,4] Significantly different from low drinkers (Dunnett's pair-wise test: [2] $P \leq 0.001$, [4] $P \leq 0.05$.
[3,6] Significantly different from prewithdrawal values (paired t test): [3] $P \leq 0.001$, [6] $P \leq 0.01$.
[5] Percentage of nonalcohol energy.

and fat intakes were the inverse of those of carbohydrates. For the alcoholic patients, energy intake (alcohol excluded) before abstinence did not differ from that of low drinkers but the balance of the various nutrients differed and significantly increased after withdrawal ($P \leq 0.001$).

Concerning vitamin intake, the most important difference observed concerned vitamin E nutrient density, which decreased in alcoholics after withdrawal ($P \leq 0.01$). Vitamin E intake was higher in moderate drinkers than in low drinkers but there was no significant difference in nutrient densities. Vitamin C intake tended to be lower in alcoholics and moderate drinkers than in low drinkers, but the difference was not statistically significant. This intake was not modified after the abstinence period.

The variations of plasma antioxidant vitamins and selenium and of various markers of oxidative stress and defense systems are shown in **Table 4.** In comparison with low drinkers, plasma

TABLE 4
Antioxidant vitamins, selenium, and potential markers of oxidative stress and defense systems in blood[1]

	Control subjects		Alcoholics	
	Low drinkers (n = 317)	Moderate drinkers (n = 100)	Before withdrawal (n = 102)	After withdrawal (n = 102)
Plasma α-tocopherol (μmol/L)	29.1 ± 7.9	32.2 ± 8.8[2]	24.6 ± 11.3[3]	25.4 ± 8.6
Plasma ascorbic acid (μmol/L)	41.4 ± 17.0	32.4 ± 16.5[3]	24.4 ± 19.9[3]	20.4 ± 16.5[4]
Plasma selenium (μmol/L)[5]	0.99 ± 0.1	0.94 ± 0.1	0.68 ± 0.2[3]	0.69 ± 0.2
Serum malondialdehdye (μmol/L)	3.2 ± 0.8	3.5 ± 0.8[2]	4.1 ± 1.3[3]	3.5 ± 1.0[6]
Serum protein Schiff's bases (RFI)	204.9 ± 45.2	212.4 ± 42.7	215.9 ± 42.2	249.2 ± 56.5[6]
Serum Ig-NH_2-MDA (DO 10^3)	232.1 ± 126.8	213.9 ± 127.6	295.6 ± 161.3[3]	251.2 ± 125.1[6]
Erythrocyte GPX (U/g Hb)	38.1 ± 14.0	35.2 ± 10.2[7]	34.30 ± 10.6	32.2 ± 10.5[4]
Plasma GPX (U/L)	641.4 ± 135.3	617.2 ± 145.1	695.2 ± 265.8[2]	546.1 ± 162.8[6]
Erythrocyte SOD (kU/g Hb)	18.8 ± 7.2	19.6 ± 6.9	18.0 ± 6.0	18.1 ± 6.9
Plasma SOD (U/L)	28.1 ± 17.4	29.5 ± 15.7	33.0 ± 22.9[7]	29.3 ± 22.4[6]

[1] $\bar{x}$ ± SD.
[2,3,7] Significantly different from low drinkers (Dunnett's pair-wise test): [2] $P \leq 0.01$, [3] $P \leq 0.001$, [7] $P \leq 0.05$.
[4,6] Significantly different from prewithdrawal values (paired t test): [4] $P \leq 0.01$, [6] $P \leq 0.001$.
[5] n = 79 for low drinkers, n = 26 for moderate drinkers, and n = 102 for alcoholics.

α-tocopherol was slightly higher in moderate drinkers ($\pm$10.6%, $P \leq 0.01$), but was lower in alcoholics (−15.5%, $P \leq 0.001$); its concentration was not modified by the withdrawal. The difference in plasma α-tocopherol between low and moderate drinkers disappeared (adjusted mean values: 29.5 and 29.9 μmol/L, respectively) and the difference between low drinkers and alcoholics before withdrawal remained virtually unchanged (adjusted mean values: 29.5 and 24.8 μmol/L, respectively) after adjustment for plasma lipid concentrations (triglycerides and cholesterol), apolipoproteins A-I and B, vitamin E intake, age, and consumption of tobacco.

Plasma ascorbic acid was lower in moderate drinkers and alcoholics than in low drinkers ($P \leq 0.001$) and diminished after withdrawal ($P \leq 0.01$), although the nutritional intake of the vitamin remained unchanged during this period, as shown in Table 3. After adjustment for age, vitamin C intake, and tobacco consumption, the mean concentrations of ascorbic acid were 40.3 and 32.9 μmol/L in low and moderate drinkers, respectively, and 28.4 and 19.9 μmol/L in alcoholics before and after withdrawal, respectively. The degrees of statistical significance remained unchanged.

No difference in serum selenium concentrations in the control groups (according to alcohol consumption) was found, but the concentrations were dramatically lower in alcoholic patients. The concentrations were not modified by the withdrawal treatment. Selenium concentration was not modified by adjustment for age and tobacco consumption. Dietary selenium data were not available.

Plasma concentrations of MDA were higher in alcoholics and in moderate drinkers than in low drinkers ($P \leq 0.001$ and $P \leq 0.01$, respectively). Autoantibodies directed against the MDA adducts to proteins (Ig-NH_2-MDA) were elevated in alcoholics ($P \leq 0.001$) whereas protein Schiff's bases were not modified. After withdrawal, MDA and Ig-NH_2-MDA decreased whereas protein Schiff's bases increased ($P \leq 0.001$).

MDA, protein Schiff's bases and Ig-NH_2-MDA concentrations were not modified by adjustment for triglycerides, cholesterol, age and tobacco consumption. In the alcoholics, activities of SOD and GPX in erythrocytes were not modified but GPX diminished slightly after withdrawal ($P \leq 0.01$). Plasma activities of SOD and GPX were higher among these patients than in control subjects ($P \leq 0.05$ and $P \leq 0.01$, respectively) and significantly decreased after the abstinence period ($P \leq 0.001$).

Discussion

Because previously published data concerning variations of blood antioxidants or markers of oxidative stress in alcoholics were somewhat contradictory, we examined the relevant indexes in three different populations: two groups comprised supposedly healthy subjects who differed in their alcohol consumption, and the other comprised alcoholics without clinical or biological evidence of severe liver disease who were hospitalized for rehabilitation. Indeed, although they were statistically significant, decreases of total protein and albumin in alcoholics were of limited amplitude.

In control subjects we observed a moderate elevation of plasma α-tocopherol with alcohol intake, as shown previously by Herbeth et al (21), but this difference disappeared after adjustment of values for vitamin intake and plasma lipid concentrations. These latter factors are important because α-tocopherol in plasma is carried by lipoproteins (22).

In alcoholics, the lower concentration of plasma α-tocopherol in comparison with control subjects is not significantly modified by adjustment, because of a specific effect of alcohol on plasma vitamin concentrations in these patients.

Indeed the concentrations of α-tocopherol in alcoholics could be influenced, for instance, by intestinal malabsorption (23); variations in hepatic storage (1, 24); increased liver metabolism, as shown in rodents by Hagen et al (25); or enhanced degradation of the vitamin due to lipid peroxidation induced by alcohol (2). Our results are not consistent with data from other studies (3, 26), which attributed the decrease of plasma α-tocopherol in alcoholics only to malnutrition. Our results are consistent with and confirm those of Johansson et al (2) and Girre et al (5), because we did not observe any significant modification of plasma α-tocopherol concentrations after a period of abstinence of $<$ 1 mo, although observance of abstinence was demonstrated by the normalization of liver-injury tests (eg, determination of AST and ALT activities) and by the large decrease in GGT activity.

We found a sharp decrease of plasma ascorbic acid as a function of alcohol consumption even after adjustment of data for confounding factors such as ascorbic acid intake and tobacco consumption, suggesting a metabolic effect of alcohol on the circulating vitamin. This finding agrees with data published before 1981 (27, 28), but it does not corroborate the more recent finding of Johansson et al (2). Furthermore, the withdrawal period led to a drop of the plasma vitamin concentration, although the nutritional intake was not significantly modified. To our knowledge, this phenomenon has not been previously reported. It must be emphasized that the concentrations of plasma ascorbic acid are more affected by alcohol intake than are those of α-tocopherol. Such results would suggest that α-tocopherol is preserved to the detriment of other antioxidants such as ascorbic acid (1).

There is a consensus in the literature concerning the lower concentration of plasma selenium in alcoholics, even in the absence of severe hepatopathy (1–3, 5) as well as in some cases of modest alcohol consumption (6). This decrease (confirmed by our study) may be related to insufficient dietary intake (2, 3, 5, 6), reduced intestinal absorption (documented for many nutrients; 6), changes in plasma proteins (much of the circulating selenium is bound to GPX and other proteins; 2), and increased requirements (5).

In addition, we observed no change in plasma selenium after the withdrawal period. This finding agrees with the results of Girre et al (5) but contradicts those of Johansson et al (2). Indeed the restoration of whole-blood selenium concentrations after abstinence seems to occur to the detriment of plasma concentrations (5) but the total blood concentration of selenium was not assayed in this study.

Plasma MDA, a frequently used marker of in vivo oxidative stress, was found to increase with alcohol intake and diminish after abstinence. This finding agrees with data published by others (3, 29, 30). Autoantibodies to MDA adducts to proteins (Ig-NH_2-MDA) showed similar variations, whereas the concentration of protein Schiff's bases increased in plasma after abstinence. This discrepancy merits further investigation. The variations of the potential markers of oxidative stress are probably the result of an increased free radical activity in alcohol drinkers.

The results concerning blood antioxidant enzymes in control subjects and alcoholics largely corroborate those published previously in more restricted populations (31). Plasma activities of SOD and GPX were higher in alcoholics and significantly decreased after withdrawal. Conversely, erythrocyte activities showed very limited variation in alcoholics, abstinence affecting only GPX. Data from the literature concerning alcohol-related variations of blood antioxidant enzymes are very confusing (31). This may be due to the heterogeneity and the limited size of the studied populations, but also to the fact that the observed variations are of limited amplitude.

In summary, chronic alcoholics showed high concentrations of serum analytes, considered to reflect an increase of lipid peroxidation phenomena, such as MDA and Ig-NH_2-MDA bases, which decreased after withdrawal. We found concomitant lower plasma concentrations of α-tocopherol, ascorbic acid, and selenium in alcoholics than in control subjects, even after adjusting for the carrier systems and dietary intake. This suggests a potentially important lack of protection against free radicals and oxygen-derived reactive species, which is not only related to the well-known interference of alcohol consumption with the nutritional status, especially in fat-soluble vitamins and trace elements (4, 32). Even in moderate drinkers, certain indexes of antioxidant defense such as ascorbic acid were altered, whereas markers of plasma peroxide products tended to be elevated. It seems that consumption of alcohol is capable of generating a state favorable to the development of oxidative stress, which could be responsible for liver cell damage and participate in the development of liver injury (30).

We gratefully acknowledge S Michel and V Michaux for technical assistance and A Thouvenin and D Claude for dietary data collection. We are also indebted to the staff of the preclinic and laboratory departments of the Center for Preventive Medicine of Nancy and the clinical staff of the Centre d'Hygiène Alimentaire et d'Alcoologie of the University Hospital of Nancy.

References

1. Ward RJ, Jutla J, Peters TJ. Antioxidant status in alcoholic liver disease. Adv Biosci 1989;76:343–51.
2. Johansson U, Johnsson F, Joelsson B, Berglund M, Akesson B. Selenium status in patients with liver cirrhosis and alcoholism. Br J Nutr 1986;55:227–33.
3. Tanner AR, Bantock I, Hinks L, Lloyd B, Turner NR, Wright R. Depressed selenium and vitamin E levels in a alcoholic population. Dig Dis Sci 1986;31:1307–12.
4. Bjorneboe GE, Johnsen J, Bjorneboe A, Bache-Wiig JE, Morland J, Drevon CA. Diminished serum concentration of vitamin E in alcoholics. Ann Nutr Metab 1988;32:56–61.
5. Girre C, Hispard E, Thérond P, Guedj S, Bourdon R, Dally S. Effect of abstinence from alcohol on the depression of glutathione peroxidase activity and selenium and vitamins E levels in chronic alcoholic patients. Alcohol Clin Exp Res 1990;14:909–12.
6. Ringstad J, Knutsen SF, Nilssen OR, Thomassen Y. A comparative study of serum selenium and vitamin E levels in a population of male risk drinkers and abstainers. Biol Trace Elem Res 1993;36:65–71.
7. Emerit J, Braquet M, Congy F, Clavel JP. Erythrocyte superoxide dismutase in chronic alcoholics with liver injuries. (Superoxide dismutase érythrocytaire chez l'alcoolique chronique avec lésions hépatiques.) Presse Med 1984;13:1277–8.
8. Öhman M, Marklund SF. Plasma extracellular superoxide dismutase and erythrocyte Cu, Zn-containing superoxide dismutase in alcoholics treated with disulfiram. Clin Sci 1986;70:354–69.
9. Bjorneboe GE, Johnsen J, Bjorneboe A, et al. Some aspects of antioxidant status in blood from alcoholics. Alcohol Clin Exp Res 1988;12:806–10.
10. Ledig M, Doffoel M, Doffoel S, Kopp P, Bockel R, Mandel P. Blood cell superoxide dismutase and enolase activities as markers of alcoholic and nonalcoholic liver diseases. Alcohol 1988;5:387–91.
11. American Psychiatric Association Task Force on Nomenclature and Statistics. Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-III-R). 3rd ed. Washington, DC: APA, 1987.
12. Cubeau J, Pequignot G. Quantitative dietary questionnaire used by the nutrition division of INSERM. Rev Epidemiol Santé Publique 1980;28:367–72.
13. Feinberg M, Favier JC, Ireland-Ripert J. General index of foods. Table composition. (Répertoire général des aliments: table de composition.) Technique et documentation, Lavoisier, Paris, 1991.
14. Rudy JL, Ibarra F, Zeigler M, Howard J, Argyle C. Simultaneous determination of retinol, retinyl palmitate and alpha-tocopherol in serum or plasma by reversed phase high performance liquid chromatography. LC-CG Intern 1990;3:36–8.
15. Brubacher G, Vuilleumier JP. Vitamin C. In: Curtius HC, Roth M, eds. Clinical biochemistry, principles and methods. Berlin: W de Gruyter, 1974:989–97.
16. Guémouri L, Artur Y, Herbeth B, Jeandel C, Cuny G, Siest G. Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in human blood. Clin Chem 1991;37:1932–7.
17. Dousset JC, Thouilh M, Foglietti MJ. Plasma malondialdehyde levels during myocardial infarction. Clin Chim Acta 1983;129:319–22.
18. Chancerelle Y, De Lorgeril M, Viret R, et al. Increased lipid peroxidation in cyclosporin-treated heart transplant recipients. Am J Cardiol 1991;68:813–6.
19. Tsuchida M, Miuta T, Mizutani K, Aibara K. Fluorescent substances in mouse and human sera as a parameter of in vivo lipid peroxidation. Biochim Biophys Acta 1985;834:196–204.
20. Arnaud J, Prual A, Preziosi P, Favier A, Hercberg S. Selenium determination in human milk in Niger: influence of maternal status. J Trace Elem Electrolytes Health Dis (in press).
21. Herbeth B, Didelot-Barthélémy L, Lemoine A, Ledevehat C. Plasma fat-soluble vitamins and alcohol consumption. Am J Clin Nutr 1988;43:343–4.
22. Ogihara T, Miki M, Kitagawa M, Mino M. Distribution of tocopherol among human plasma lipoproteins. Clin Chim Acta 1988;174:299–306.
23. Majumdar SK, Shaw GK, Thomson AD. Plasma vitamin E status in chronic alcoholic patients. Drug Alcohol Depend 1983;12:269–72.
24. Majumdar SK, Shaw GK, O'Gorman P, Aps EJ, Offerman EL, Thomson AD. Blood vitamin status (B1, B2, B6, folic acid and B12) in patients with alcoholic liver disease. Int J Vitam Nutr Res 1982;52:266–71.
25. Hagen FB, Bjorneboe A, Bjorneboe GE, Drevon CA. Effect of chronic alcohol consumption on the content of alpha-tocopherol in subcellular fractions of rat liver. Alcohol Clin Exp Res 1989;13:246–51.
26. Bjorneboe GE, Johnsen J, Bjorneboe A, Morland J, Drevon CA. Effect of heavy alcohol consumption on serum concentrations of fat-soluble vitamins and selenium. Alcohol Alcohol 1987;1:533–7.
27. Beattie AD, Sherlock S. Ascorbic acid deficiency in liver disease. Gut 1976;17:571–5.
28. Bonjour JP. Ascorbic acid. Int J Vitam Nutr Res 1979;49:434–41.
29. Matsumura T, Suetmatsu T, Sato N, Kamada T, Abe H. Lipid peroxidation in alcoholic liver disease in man. Adv Exp Med Biol 1980;132:287–93.
30. Suematsu T, Matsumura T, Sato N, et al. Lipid peroxidation in alcoholic liver disease in humans. Alcohol Clin Exp Res 1981;5:427–30.

31. Guémouri L, Lecomte E, Artur Y, et al. Blood activities of antioxidant enzymes in alcoholics before and after a withdrawal cure. J Stud Alcohol 1993;54:626–9.

32. Mendenhall CL, Anderson S, Weesner RE, Goldberg SJ, Crolic KA. Protein-calorie malnutrition associated with alcoholic hepatitis. Am J Med 1984;76:211–22.

The relation of alcohol consumption to serum carotenoïds and retinol levels. Effects of withdrawal

Lecomte E, Grolier P, Herbeth B, Pirollet P, Musse N, Paille F, Braesco V, Siest G, Artur Y

Int J Vitam Nutr Res 1994;64:170-175

Les interactions complexes entre le métabolisme de l'alcool et celui du rétinol et de sa provitamine, le β-carotène, peuvent expliquer, en partie, l'effet néfaste de ce xénobiotique sur la fonction hépatique et au cours des processus de carcinogénèse. L'éthanol et le rétinol (également un alcool) peuvent être métabolisés par les deshydrogénases en leur aldéhyde correspondant. De plus, la vitamine A peut aussi emprunter la voie des cytochromes P450, également une voie métabolique de l'alcool et d'autres nombreux xénobiotiques. De telles interactions sont aussi possibles avec le principal précurseur du rétinol, le β-carotène.

Les effets de la consommation d'alcool sur les concentrations de rétinol et de 5 fractions caroténoïdes (α et β-carotène, lutéine, lycopène, zéaxanthine et β-cryptoxanthine) ont été étudiés chez 118 hommes en bonne santé du Centre de Médecine Préventive et 95 alcooliques avant et après une cure de sevrage de 21 jours.

En résumé, avant la cure, les alcooliques ont des concentrations plasmatiques en caroténoïdes (α- et β-carotène, lutéine, lycopène, zéaxanthine et β-cryptoxanthine) significativement plus faibles que les témoins petits buveurs. Pour le rétinol plasmatique, il n'y a aucune différence entre les deux groupes, alcooliques et témoins. Après la cure de sevrage, les alcooliques consomment plus de carotène et rétinol. Au niveau plasmatique, les concentrations de caroténoïdes augmentent et, curieusement, celle du rétinol diminue. Même après ajustement sur les facteurs de confusion potentiels (tabac, indice pondéral, lipides plasmatiques, alimentation ...), on retrouve un effet propre de la consommation d'alcool et du sevrage sur les indicateurs biologiques du statut en vitamine A et caroténoïdes.
Suite à cette première publication, des investigations complémentaires sur l'effet du sevrage ont été effectuées, ces résultats n'ont pas été publiés. Avec l'arrêt de l'alcool, la concentration d'apolipoprotéine A1 diminue parallèlement à celle du rétinol plasmatique et de celle de la "retinol-binding-protein" (RBP). En revanche, le rapport rétinol/RBP augmente. Ce phénomène serait lié a une augmentation du rétinol libre dans les fractions lipidiques.

La baisse du taux plasmatique de rétinol suite à l'arrêt de l'alcoolisation serait due à une redistribution de la vitamine vers le compartiment hépatique (reconstitution des stocks) au détriment de la forme circulante. L'autre mécanisme mis en jeu ferait intervenir la baisse du transporteur, la RBP, suite à une modification du métabolisme des protéines. La diminution de la concentration d'apo A1 consécutive à l'arrêt de l'alcool serait un témoin de ce phénomène. D'autres mécanismes comme une fraction de rétinol libre plus importante après sevrage pourrait intervenir. En ce qui concerne les caroténoïdes, l'effondrement des concentrations plasmatiques chez l'alcoolique serait lié à un taux de conversion en rétinol accru et à une consommation augmentée par les réactions impliquant les radicaux libres. L'arrêt de l'alcool, associé à une meilleure alimentation, permet une restauration rapide des taux circulants. Les moyens de correction des déficiences en vitamine A chez l'alcoolique sont toujours sujets à débats : le rétinol peut être hépatotoxique, en particulier en présence d'alcool, le β-carotène qui semblait être inoffensif, peut interférer avec le métabolisme de l'éthanol et commence à être suspecté dans les phénomènes d'hépatoxicité et de promotion des processus tumoraux.

Internat. J. Vit. Nutr. Res. *64*
(1994) 170–175
Received for publication
June 21, 1993

Alcohol drinking
Carotenoids
Retinol
Withdrawal
Nutritional intake

The Relation of Alcohol Consumption to Serum Carotenoid and Retinol Levels. Effects of Withdrawal

Edith LECOMTE[1], Pascal GROLIER[2], Bernard HERBETH[1,3], Pascal PIROLLET[4], Nadine MUSSE[5], François PAILLE[4], Véronique BRAESCO[2], Gérard SIEST[1] and Yves ARTUR[1]

1 Laboratory of the Center for Preventive Medicine, URA CNRS 597, Vandœuvre-les-Nancy, France,
2 Laboratory of Nutrition and Food Safety, INRA, Jouy en Josas, France,
3 Unité 115 INSERM, Vandoeuvre-les-Nancy, France,
4 Centre d'Alcoologie, CHRU, Nancy, France
5 Unité 308 INSERM, Nancy, France

Summary: The effects of alcohol consumption on plasma concentrations of retinol and various carotenoids (beta-carotene, alpha-carotene, zeaxanthin-lutein, lycopene and beta-cryptoxanthin) were studied in a control population of 118 supposedly healthy men consuming low or moderate amounts of alcohol, and 95 alcoholic patients without severe liver disease before and after a withdrawal treatment of 21 days. There was no significant difference between alcoholics and controls regarding plasma retinol level. Conversely, plasma concentrations of all the carotenoid fractions were significantly lower in the alcoholic group than in the low drinker group. After withdrawal, plasma levels of all the carotenoids increased whereas retinol concentration diminished.

Adjustment of data for various potential confounding factors especially including nutritional intake suggests an effect of alcohol on plasma carotenoids and a specific effect of withdrawal on plasma retinol, both of them being not only related to nutritional status.

Abbreviations used: AST, aspartate aminotransferase, ALT, alanine aminotransferase.

Introduction

Ethanol metabolism is responsible for generation of free radicals, which are highly reactive molecules that cause tissue damage and seem to have some role in carcinogenesis [1, 2]. Toxicity of these compounds is partly related to their oxidative properties towards fatty acids of cell membranes. Carotenoids could protect directly biomembranes against lipoperoxidation because of their subcellular location and antioxidative properties [3]. For example several observations have shown the ability of beta-carotene to react directly with oxygen radicals and peroxyl or alkoxyl radicals generated during lipid peroxidation [4, 5]. Besides, in addition of its usual physiological functions, retinol might play a role in preventing cancer by suppressing the expression of neoplasia in carcinogen-induced cells or by scavenging free radicals as they arise in the body [6]. Data of literature concerning the effects of alcohol consumption on plasma retinol concentrations appear rather conflicting [7–16] and studies on carotenoids in alcoholism essentially concern beta-carotene [6, 11, 13, 14, 18].

The purpose of this study was to examine the effects of alcohol consumption on plasma concentrations of retinol and 5 carotenoid fractions

(beta-carotene, alpha-carotene, zeaxanthin-lutein, lycopene and beta-cryptoxanthin) and to evaluate the influence of a withdrawal treatment of 21 days. This last point has been considered in previous studies, but the alcoholics were generally treated with vitamins during the weaning period [7, 10, 17, 19].

Materials and Methods

Populations and study design: The control population consisted of 118 supposedly healthy men attending the Center for Preventive Medicine of Vandoeuvre-les-Nancy (France) for a health examination. The controls were identified from the files of the State Health Insurance Fund between March 1990 and June 1991; 89 individuals ("low drinkers") consumed less than 33 g/day of pure alcohol (mean±SD = 10.6±9.3 g/day) and 29 individuals ("moderate drinkers") more than 33 g/day (mean±SD = 52.6±15.6 g/day).

Patients were 95 chronic alcoholic men, hospitalized in the Centre d'Alcoologie (University Hospital of Nancy, France) for a rehabilitation programme and showing no clinical or biological evidence of severe liver disease (CHILD-PUGH indices [20] = 5 or 6), no encephalopathy, no ascites, plasma albumin >35g/L, bilirubin <50µmol/L, Quick time >65%, AST and ALT <200 U/L). Liver biopsies were not performed for ethical reasons. All patients consumed excessive quantities of alcohol until the precise day of hospitalization (mean±SD = 189.4±134.8 g/day) and were dependent on alcohol according to DSM III 3R dependence criteria. Blood samples were taken on the morning of arrival in the hospital and after 21 days of abstinence.

Informed consent was obtained from subjects. The research protocol was approved by the Scientific Committee of the Center for Preventive Medicine and was in agreement with the Helsinki Declaration.

Dietary assessment and other data collection: All patients and control subjects underwent a complete medical examination and a biological screening. A detailed standardized interview especially aimed at drinking history, tobacco and drug consumption, and usual dietary intake during the three past months was assessed by a trained interviewer using the diet history method [21]. Nutrient intakes were calculated using CIQUAL's food composition table [22].

All chronic alcoholic patients were questioned about their diet at the beginning and after the 21 days of abstinence. Vitamin A intakes are reported in International Units (µg) of retinol equivalent (1 µg retinol equivalent = retinol µg + carotene µg/6). Carotene is expressed in the form of beta-carotene equivalents, that are the sum of the beta-carotene and half the amounts of alpha-carotene and alpha- and beta-cryptoxanthin present.

Laboratory analyses: Venous blood samples were collected into heparinized, EDTA or dry vials (Becton-Dickinson, Rutherford, NJ) between 7:30 and 8:30 a.m. from fasting individuals. The blood was centrifuged at 1000 g for 15 min. Plasma and sera samples, respectively for retinol and carotenoid determinations, were promptly stored at -80°C until analysis. Plasma retinol was measured by a reversed-phase high performance liquid chromatographic (HPLC) method using retinol acetate as internal standard (Fluka Chemie AG, Buchs, Switzerland), as adapted from RUDY *et al.* [23]. Serum carotenoids were assayed by HPLC using canthaxanthin and echinenone as internal standards (Hoffmann-La Roche AG, Basel, Switzerland) and acetonitrile/methylene chloride/methanol mixture (70:20:10) as mobile phase [24]. Total cholesterol and triglycerides in serum were measured using kits commercially available (Merck, Darmstadt, Germany) on an AU 5000 apparatus (Merck). Apolipoproteins A1 and B were quantitated by nephelemetry using the BNA analyser and reagents from Behring (Rueil-Malmaison, France).

Statistical methods: Values were expressed as arithmetic mean±SD and as geometric mean and range of 1 SD for carotenoids. The data of the 3 groups (low, moderate drinkers and alcoholics before withdrawal) were analyzed by ANOVA followed by a Scheffe's pairwise test. The effect of withdrawal was tested by ANOVA for repeated measures. The statistical analysis was performed on crude values, and after adjustment for potentially confounding factors (ANOVA with covariates: diet intake, age, tobacco, Quetelet index, plasma cholesterol, triglycerides, apolipoproteins A1, and B). Only variables that were significantly related to plasma retinol or carotenoid levels were used as covariates and we checked that the slope of the regression line for each covariate was the same in each group (test of parallelism).

Results

Characteristics of the 3 groups (age, Quetelet index, consumption of tobacco, daily dietary intake and various plasma analytes) are presented in Table I. Alcoholic patients smoked much more than controls ($p \leq 0.001$) and still increased their consumption during the abstinence ($p \leq 0.05$). Energy intake (alcohol excluded) of the alcoholic patients before abstinence was not significantly different from that in control groups but it increased after withdrawal ($p \leq 0.001$), reaching values higher than those noted in low drinkers. Vitamin A and carotene intakes were lower in alcoholics before abstinence than in low drinkers although differences were of limited – or did not reach – statistical significance. After abstinence we observed an increase of amounts of retinol and carotene ingested ($p \leq 0.001$).

In alcoholic patients before abstinence, the concentration of apolipoprotein A1 was higher

Table I: Age, Quetelet Index, consumption of tobacco, daily dietary intake and plasma lipids[a]

	Controls		Alcoholics	
	Low drinkers (n=89)	Moderate drinkers (n=29)	Before withdrawal (n=95)	After withdrawal (n=95)
Age (Years)	35.7±6.8	38.0± 5.5	41.7±8.2***	41.7± 8.2
Tobacco (g/day)	4.4±9.7	12.0±10.0**	23.7±16***	26.6±17.4°
Quetelet (kg/M²)	24.4±3.1	23.9± 3.4	23.3±3.2*	23.4± 3.1°°°
Alcohol intake (g)	10.6±9.3	52.6±15.6***	189.4±134.8***	0.1± 0.3°°°
Non-alcohol energy (Kcal)	2590±610	2614±579	2405.4±1012.0	2811±787°°°
Protein (%)[b]	16.9±2.3	17.6± 2.3	15.9±3.1	15.2± 2.2
Carbohydrate (%)[b]	48.2±6.2	43.8± 6.2**	51.9±12.3*	52.4± 7.0
Fat (%)[b]	34.9±5.3	38.6± 5.9	32.3±10.2	32.4± 5.2
Vitamin A				
µgER[c]	1603±747	1593±791	1290±1034	1907±973°°°
µgER/1000Kcal[d]	626±274	631±365	528±401	693±337°°
Carotene				
mg	4.86±2.55	5.12±3.16	3.79±3.70	5.80±2.56°°°
mg/1000Kcal[d]	1.95±1.14	1.97±1.16	1.50±1.32*	2.15±1.05°°°
Cholesterol (mmol/L)	5.80±1.17	5.98±1.0	5.67±1.39	5.70±1.20
Triglycerides (mmol/L)	1.20±0.61	1.32±0.64	1.39±1.26	1.54±0.8
Apolipoprotein A1 (g/L)	1.55±0.25	1.57±0.22	1.78±0.55***	1.24±0.26°°°
Apolipoprotein B (g/L)	1.26±0.35	1.28±0.34	1.06±0.43**	1.28±0.35°°°

a Arithmetic Mean±SD
b Percentage of non-alcohol energy
c µg equivalent retinol = retinol (µg) + carotene (ug)/6
d Nutrient densities for 1000 Kcal or non-alcohol energy
* p≤0.05, **p≤0.01, ***p≤0.001: Significantly different from low drinker values (Scheffe's pairwise test)
° p≤0.05, °°p≤0.01, °°°p≤0.001: Significantly different from prewithdrawal values (ANOVA for repeated measures)

(p≤0.001) whereas that of apo B was lower (p≤0.001) than in controls. After withdrawal treatment plasma apolipoprotein A1 level decreased (p≤0.001) whereas plasma apolipoprotein B increased (p≤0.001).

Means of plasma retinol and carotenoids are presented in Table II for crude data and values adjusted for confounding factors. No significant difference in plasma retinol level between the various groups of subjects was found before weaning either for crude or adjusted values. After withdrawal, plasma retinol concentration diminished even after adjustment for plasma triglycerides and apolipoprotein A1.

For all the carotenoid fractions, crude plasma values were significantly lower in the alcoholic group than in the low drinker group (p≤0.001) whereas no statistically significant difference was found between low and moderate drinkers. After adjustment the concentrations of carotenoids remained significantly lower in alcoholics than in low drinkers. After withdrawal, concentrations of all the carotenoid fractions increased (p≤0.001) and reached levels comparable to those of controls, except for beta-cryptoxanthin. Adjustment for confounding factors, especially plasma lipids and diet intake, did not modify the level of significance, thus confirming the specific effect of withdrawal independently of other related factors such as diet or plasma lipids.

Discussion

In this study, we did not find any significant effect of alcohol consumption on plasma retinol level. Previous reports showed that acute ingestion of alcohol raises the vitamin A content of the blood in dogs or in men [25, 26] due to a shift of retinol from the liver to the circulation. It seems that regular consumption of alcoholic beverages enhances plasma retinol levels perhaps by releasing vitamin A from the liver [11–14, 27, 28]. But, in chronic alcoholics, this

Table II: Plasma retinol and carotenoids levels (crude and adjusted values)[a]

	Controls		Alcoholics	
	Low drinkers (n=89)	Moderate drinkers (n=29)	Before withdrawal (n=95)	After withdrawal (n=95)
Retinol (µmol/L)				
A Mean (SD)	2.38 (0.44)	2.58 (0.59)	2.55 (0.91)	1.95 (0.62)^{000}
AA Mean (SD)	2.47 (0.66)	2.63 (0.64)	2.45 (0.66)	2.12 (0.67)^{000}
Beta-carotene (nmol/L)				
A Mean (SD)	552 (321)	403 (252)	190 (251)	594 (353)
G Mean (range of 1SD)	440 (199–973)	315 (141–705)	115 (41–332)***	487 (246–966)^{000}
AG Mean (range of 1SD)	398 (167–948)	280 (119–659)	131 (54–321)***	421 (174–1013)^{000}
Alpha-carotene (nmol/L)				
A Mean (SD)	158 (131)	132 (90)	67 (160)	174 (118)
G Mean (range of 1SD)	107 (38–299)	102 (46–288)	28 (8–104)***	129 (52–326)^{000}
AG Mean (range of 1SD)	101 (35–290)	94 (33–270)	30 (11–88)***	115 (42–323)^{000}
Zeaxanthin-lutein (nmol/L)				
A Mean (SD)	600 (221)	598 (295)	309 (170)	518 (240)
G Mean (range of 1SD)	544 (320–929)	543 (349–835)	269 (153–467)***	468 (294–747)^{000}
AG Mean (range of 1SD)	513 (311–869)	510 (307–849)	285 (169–480)***	436 (267–714)^{000}
Lycopene (nmol/1)				
A Mean (SD)	555 (306)	532 (297)	366 (246)	500 (246)
G Mean (range of 1SD)	451 (205–990)	468 (280–780)	263 (91–753)***	422 (206–866)^{000}
Beta-cryptoxanthin (nmol/L)				
A Mean (SD)	145 (109)	121 (124)	34 (48)	58 (57)
G Mean (range of 1SD)	84 (21–340)	57 (12–268)	14 (4–55)***	29 (7–119)^{000}

a Adjusted for plasma triglycerides and apolipoprotein A1 (retinol), plasma triglycerides, cholesterol, apolipoprotein A1 and carotene intake (beta-carotene), carotene intake (alpha-carotene), plasma apolipoprotein B and carotene intake (zeaxanthin-lutein)

*** $p \leq 0.001$: Significantly different from low drinkers values (Scheffe's pairwise test)

^{000} $p \leq 0.001$: Significantly different from prewithdrawal values (ANOVA for repeated measures)

A Mean: Arithmetic mean

AA Mean: Adjusted arithmetic mean

G Mean: Geometric mean

AG Mean: Adjusted geometric mean

effect may be disturbed by low vitamin A or protein intake or by liver damage [7–9, 15–17] leading to normal or low plasma retinol and retinol-binding protein levels. However, despite the existence of normal values of plasma retinol, a depletion of the hepatic vitamin may occur in alcoholic liver troubles [8], this being caused by the pathological release of the stored retinol from hepatocytes [10].

After 21 days of abstinence plasma retinol level decreased in our alcoholic group. After adjustment of data especially for plasma lipids, the weaning-related decrease of the plasma vitamin remained statistically significant. This specific effect of withdrawal could be related to the reconstitution of the hepatic stock to the detriment of the circulating vitamin [29] or to a modification of protein metabolism which could lead to a decrease of retinol binding protein. Besides, a supplementation of vitamin A during withdrawal has been shown to limit or suppress the plasma retinol fall [7, 10, 19].

In our study, all the various carotenoids were affected by alcohol consumption in agreement with previous results [12, 14, 15, 18, 30]. Even when liver damage was slight, beta-carotene was hugely decreased in serum from alcoholics [12, 14, 15]. In accordance with WARD *et al.* [14], the decrease was not related to nutritional deficiencies since the difference remained statistically significant after adjustment for carotene intakes. All these results, i.e. lower levels of plasma carotenoids and unchanged, or higher levels of retinol could be related to an active state of conversion of provitamin A to retinol. Indeed, it has been reported that the conversion activity is induced by various physiological actions such as metabolic activation [15]. It could also be re-

lated to the consumption of some carotenoids by reactions involving oxygen-derived reactive species. After withdrawal, crude and adjustment values of almost all carotenoids returned to control levels, demonstrating that the alcohol-related effects may be reversed in alcoholics.

In summary, chronic alcoholics showed low plasma concentrations of various carotenoids. After withdrawal, carotenoid levels increased whereas retinol level diminished. Since the results were not modified after adjustment for confounding factors such as nutritional intake or plasma lipids, this suggests a specific effect of alcohol on plasma retinol and carotenoids. Our findings could have implications for the question of the adequacy of beta-carotene supplementation in healthy drinkers. However its use as a nutritional supplement should therefore be considered with care since a recent study in baboons has shown that beta-carotene could enhance hepatic toxicity of alcohol [31].

Acknowledgements: The authors are grateful to Véronique Michaux and Sylvie Michel for technical assistance, Annie Thouvenin, Marlène Klein and Denise Claude for dietary data collection and Evelyne Staab for secretarial help. We are also indebted to the staff of the preclinic and laboratory departments of the Center for Preventive Medicine of Nancy and the clinical staff of the Centre d'Alcoologie of the University Hospital of Nancy.

The authors thank the Caisse Nationale d'Assurance Maladie des Travailleurs Salariés, the Haut Comité d'Etude et d'Information sur l'Alcoolisme and the Ministère de la Recherche et de la Technologie for their financial support.

References

1. NORDMANN, R., RIBIERE, C. and ROUACH, H. (1987) Involvement of oxygen free radicals in the metabolism and toxicity of ethanol, in Genetics and Alcoholism (GOEDDE, H.W. and AGARWAL, D.P., eds.), pp. 201–213, Alan R. Liss Publ., New York.
2. SITUNAYAKE, R.D., CRUMP, B.J., THURNHAM, D.I., DAVIES, J.A., GEARTY, J. and DAVIS, M. (1990) Lipid peroxidation and hepatic antioxidants in alcoholic liver disease. Gut *31*, 1311–1317.
3. TAYLOR MAYNE, S. and PARKER, R.S. (1989) Antioxidant activity of dietary canthaxanthin. Nutr. Cancer *12*, 225–236.
4. BORS, W., MICHEL, C. and SARAN, M. (1984) Inhibition of the bleaching of the carotenoid crocin. A rapid test for quantifying antioxydant activity. Biochim. Biophys. Acta *796*, 312–319.
5. KRINSKY, N.I. (1989) Antioxidant functions of carotenoids. Free Radical Biol. Med. *7*, 617–635.
6. WATTENBERG, L.W. (1983) Inhibition of neoplasia by minor dietary constituents. Cancer Res. *43*, 2448–2453.
7. RUSSELL, R.M. (1980) Vitamin A and zinc metabolism in alcoholism. Am. J. Clin. Nutr. *33*,, 2741–2749.
8. LEO, M.A. and LIEBER, C.S. (1982) Hepatic vitamin A depletion in alcoholic liver injury. N. Eng. J. Med. *307*, 597–601.
9. LEO, M.A. and LIEBER, C.S. (1983) Interaction of ethanol with vitamin A. Alcoholism *7*, 15–21.
10. MAJUMDAR, S.K., SHAW, G.K. and THOMSON, A.D. (1983) Vitamin A utilization status in chronic alcoholic patients. Internat. J. Vit. Nutr. Res. *53*, 273–279.
11. BJORNEBOE, G.E., JONSEN, J., BJORNEBOE, A., ROUSSEAU, B. and PEDERSEN, J.I. (1986) Effect of alcohol consumption on serum concentration of 25-hydroxyvitamin D3, retinol, and retinol-binding protein. Am. J. Cin. Nutr. *44*, 678–682.
12. RISSANEN, A., SARLIO-LAHTEENKORVA, S., ALFTHAN G., GREF, C.G., KESO, L. and SALASPURA, M. (1987) Employed problem drinkers: a nutritional risk group. Am. J. Clin. Nutr. *45*, 456–461.
13. BJORNEBOE, G.A., JOHNSEN, J., BJORNEBOE, A., MORLAND, J. and DREVON, C.A. (1987) Effect of heavy alcohol consumption on serum concentrations of fat-soluble vitamins and selenium. Alcohol Alcohol *suppl 1*, 533–537.
14. WARD, R.J., JUTLA, J. and PETERS, T.J. (1989) Antioxidant status in alcoholic liver disease. Adv Biosci *76*, 343–351.
15. ROCCHI, E., BORGHI, A., PAOLILLO, F., PRADELLI, M. and CASALGRANDI, G. (1991) Carotenoids and liposoluble vitamins in liver cirrhosis. J. Lab. Clin. Med. *118*, 176–185.
16. ROUGEREAU, A., PERSON, O., ROUGEREAU, G. and RIGAL, J. (1992) Taux plasmatiques des vitamines A, E et bêta-carotène chez les éthyliques (rétinol, bêta-carotène et tocophérols). Med. Nut. *XXVIII*, 169–173.
17. CHAPMAN, K.McC., PRABHUDESAI, M. and ERDMAN, J.W. (1993) Vitamin A status of alcoholics upon admission and after two weeks of hospitalization. J. Am. Coll. Nutr. *12*, 77–83.
18. STRYKER, W.S., KAPLAN, L.A., STEIN, E.A., STAMPFER, M.J. SOBER, A. and WILLETT, W.C. (1988) The relation of diet, cigarette smoking and alcohol consumption to plasma beta-carotene and alpha tocopherol levels. Am. J. Epidemiol. *127*, 283–296.
19. MOBARHAN, S., RUSSELL, R.M., UNDERWOOD, B.A., WALLINGFORD, J., MATHIESON, R.D. and AL-MIDANI, H. (1981) Evaluation of the relative dose response test for vitamin A nutriture in cirrhotics. Am. J. Clin. Nutr. *34*, 2264–2270.
20. PUGH, R.N.H., MURRAY-LYON, I.M., DAWSON, J.L., PIETRONI, M.C. and WILLIAM, R. (1979) Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. Brit. J. Surg. *60*, 646–649.
21. CUBEAU, J. and PEQUIGNOT, G. (1980) Quantitative dietary questionnaire used by the nutrition division of INSERM. Rev. Epidemiol. Santé Publique *28*, 367–372.
22. FEINBERG, M., FAVIER, J.C. and Ireland-Ripert, J. (1991) Répertoire général des aliments: table de composition. Technique et Documentation, Lavoisier, Paris.
23. RUDY, J.L., IBARRA, F., ZEIGLER, M., HOWARD, J. and ARGYLE, C. (1990) Simultaneous determination of retinol, retinyl palmitate, and alpha-tocopherol in serum or plasma by reversed-phase high performance liquid chromatography, LC-LG International *3*, 36–38.
24. OLMEDILLA, B., GRANADA, F., ROJAS-HIDALGO, E. and BLANCO, I. (1990) A rapid separation of ten carotenoids, three retinoids, alpha-tocopherol and d-alpha-tocopherol acetate by high performance liquid chromatography and its application to serum and vegetable samples. J. Liq. Chromatogr. *13*, 1455–1483.

25. CLAUSEN, S.W., BAUM, W.S., MCCOORD, A.B., RYDEEN, J.D. and BREESE, B.B. (1940) Mobilization of vitamin A from its stores in the tissues by ethyl alcohol. Science, *91,* 318–319.
26. CLAUSEN, S.W., BREESE, B.B., BAUM, W.S., MCCORD, A.B. and RYDEEN, J.D. (1941) Effect of alcohol on vitamin A content of blood in human subjects. Science *93,* 21–22.
27. BRUBACHER, G. (1976) Early signs of deficiency of fat-soluble vitamins. Biblthca Nutr. Dieta *23,* 51–60.
28. BRUBACHER, G., VUILLEUMIER, J.P., RITZEL, G., BRUPPACHER, R., STÄHELIN, H. and STRANSKY, M. (1982) Early signs of hypovitaminosis A. Ernährung/Nutrition *6,* 211–216.
29. LEMOINE, A., LE DEVEHAT, C. and HERBETH, B. (1986) Vitamin status in three groups of french adults. Ann. Nutr. Metab. *30,* 1–94.
30. ITO, Y., SASAKI, R., SUZUKI, S. and AOKI, K. (1991) Relationship between serum xanthophyll levels and the consumption of cigarettes, alcohol or foods in healthy inhabitants of Japan. Int. J. Epidemiol. *20,* 615–620.
31. LEO, M.A., KIM, C.I., LOWE, N. and LIEBER, C.S. (1992) Interaction of ethanol with β-carotene: Delayed blood clearance and enhanced hepatotoxicity. Hepatology *15,* 883–891.

Pr. Yves Artur, Laboratoire du Centre de Médecine Préventive (URA CNRS 597), BP 7, 2 Avenue du Doyen Jacques Parisot, F-54501 Vandoeuvre-les-Nancy Cédex, France

Diet, antioxidant status, and smoking habits in French men

Marangon K, Herbeth B, Lecomte E, Paul-Dauphin A, Grolier P, Chancerelle Y, Artur Y, Siest G

Am J Clin Nutr 1998;67:231-239

La consommation de cigarettes est un facteur de risque prépondérant d'athérosclérose pouvant affecter les artères périphériques (membres inférieurs par exemple), coronaires ou cérébrales. Un des mécanismes pouvant expliquer l'effet néfaste du tabac sur ces artères passe par la voie des radicaux libres et de la peroxydation lipidique ; l'oxydation des lipoprotéines de basse densité (LDL) étant l'étape initiale de ce processus. Parmi les quelques 4 000 constituants identifiés dans la fumée de tabac on trouve des substances oxydantes, et de ce fait, les besoins en systèmes antioxydants pour protéger les cellules contre les dommages du stress oxydatif, en particulier les vitamines, seraient plus importants chez les fumeurs. De plus, dans la littérature le tabagisme est souvent associé à un mode de vie moins bénéfique pour la santé et en particulier à une alimentation pauvre en fruits et légumes, aliments vecteurs de ces antioxydants. Sur un échantillon français, nous avons voulu vérifier si on retrouvait ce phénomène décrit dans les pays anglo-saxons.

Quatre cent cinquante neuf hommes âgés de 20 à 60 ans, consultants du Centre de Médecine Préventive de Vandoeuvre-les-Nancy, ont été interrogés sur leurs habitudes alcooliques et tabagiques, ainsi que sur leurs consommations alimentaires par la méthode de l'histoire diététique. Sur la base des habitudes tabagiques, 4 groupes ont été constitués : non-fumeurs, ex-fumeurs, fumeurs modérés (<20 cig/j) et gros fumeurs (≥20 cig/j). De plus, sur un échantillon de plasma ont été déterminées les concentrations en vitamines antioxydantes (α-tocophérol, acide ascorbique, β-carotène, α-carotène, zéaxanthine-lutéine, lycopène et β-cryptoxanthine) et de trois marqueurs de stress oxydatif (dialdéhyde malonique, bases de Schiff protéiques et autoanticorps anti-adduits de dialdéhyde malonique aux protéines).

Dans notre étude, les fumeurs ont tendance à manger moins de fruits et légumes que les non-fumeurs, la quantité absorbée est inversement corrélée au nombre de cigarettes. Ceci se traduit par des apports en vitamines C et E et en carotène plus faibles chez les fumeurs que chez les non-fumeurs ; même en tenant compte des différences d'âge, de consommation d'alcool et de niveau socioprofessionnel qui peuvent exister entre les fumeurs et non fumeurs. Dans le sang, les concentrations de vitamine C et de β-carotène sont diminuées chez les fumeurs et inversement corrélées à la quantité de cigarettes fumées. En revanche, la concentration de vitamine E plasmatique n'est pas significativement modifiée par la consommation de tabac ni celle des autres caroténoïdes et du rétinol (même si les valeurs d'α-carotène, de lycopène et de β-cryptoxanthine sont plus faibles chez les fumeurs). Parmi les 3 marqueurs de stress oxydatif mesurés seules les bases de Schiff se trouvent significativement augmentées dans le sang des fumeurs. Selon Cross et al., auteurs de l'éditorial qui accompagnait la publication de nos résultats, l'augmentation dans le plasma des bases de Schiff (produits de conjugaison entre les groupes amine des protéines et les aldéhydes) proviendrait des aldéhydes présents dans la fumée de tabac mais aussi de l'acétaldéhyde issu du métabolisme de l'alcool consommé.

Les principaux points dans ce travail soulignent que les fumeurs sont triplement à risque : ils fument, ils ont une alimentation éloignée des recommandations comportant moins d'antioxydants tel l'acide ascorbique et, ils boivent plus d'alcool que les non-fumeurs. En guise de conclusion, on ne peut que recommander une consommation accrue de fruits et légumes chez les fumeurs et, pourquoi pas, l'arrêt pur et simple du tabagisme, mais c'est une autre histoire.

Diet, antioxidant status, and smoking habits in French men[1-3]

Karine Marangon, Bernard Herbeth, Edith Lecomte, Agnes Paul-Dauphin, Pascal Grolier, Yves Chancerelle, Yves Artur, and Gérard Siest

See corresponding editorial on page 184.

ABSTRACT The aim of this study was to assess the association between smoking, food consumption, and antioxidant vitamin intake and plasma indexes of oxidative stress and antioxidant defenses in French adults. Food and nutrient intakes of 459 healthy men aged 23–57 y were estimated by the diet history method and analyzed by smoking status. Plasma α-tocopherol, ascorbic acid, and carotenoids were measured as antioxidants and malondialdehyde, protein Schiff bases, and autoantibodies against malondialdehyde-protein adducts as oxidative stress indexes. Smokers ate less fruit and vegetables than nonsmokers, leading to lower vitamin E, vitamin C, and carotene intakes, even after adjustment for age, education, and marital status. Unlike vitamin E, plasma ascorbic acid and β-carotene concentrations were reduced in smokers compared with nonsmokers and were inversely related to cigarette consumption. This difference remained significant after adjustment for alcohol and dietary intakes. Among the measured oxidative stress indexes, only Schiff base concentration was positively related to the number of cigarettes smoked. In our sample of French men, smoking had an adverse effect on antioxidant status; vitamin intakes were reduced in smokers and plasma antioxidant indexes were altered independently of dietary intakes. As in other countries, in France smokers require particular attention in terms of public health intervention. *Am J Clin Nutr* 1998;67:231–9.

KEY WORDS Smoking, diet, vitamins, antioxidants, biochemical markers, men, α-tocopherol, carotenoids, ascorbic acid

INTRODUCTION

Cigarette smoking is a well-known risk factor for both cardiovascular disease and cancer. Cigarette smoke contains a large number of oxidants, leading to the hypothesis that many adverse effects of smoking result from oxidative damage. Cigarette smoke also contains large amounts of free radicals that could directly initiate and propagate the process of lipid peroxidation. It has been proposed that smoking may favor LDL oxidation in vivo (1). Thus, this phenomenon might contribute to the causative link between smoking and atherogenesis. Evidence that smokers are subjected to oxidative stress includes the findings that smokers have lower concentrations of antioxidants than do nonsmokers and the risk of coronary artery disease in smokers correlates inversely with their intake of antioxidants (2). Indeed, smokers were found to have poorer dietary habits and less healthy lifestyles than nonsmokers, and several studies reported a decreased intake of antioxidant vitamins and other antioxidants in smokers (3–6). An imbalance between prooxidants and antioxidants, linked to decreased smoke-related antioxidant capacity and increased free radical generation, especially in the arterial tissue, might render smokers more prone to peroxidative stress (7). This imbalance may be important in the etiology of cancer and cardiovascular diseases. The purpose of our study was to describe the relations between smoking and both dietary intakes and plasma concentrations of indexes of antioxidant defenses and oxidative stress in a sample population of healthy French men consisting of current smokers, exsmokers, and nonsmokers.

SUBJECTS AND METHODS

Subjects and diets

Data were collected from 459 supposedly healthy men, aged 20–60 y, attending the Center for Preventive Medicine of Vandoeuvre-les-Nancy, France, for a health checkup. Subjects were identified from the files of the National State Health Insurance Fund. Among them, 146 were nonsmokers, 125 were former smokers, and 188 were current smokers. Smokers were categorized as moderate smokers ($n = 104$) when they smoked < 20 cigarettes/d and as heavy smokers ($n = 84$) when they smoked more. Informed consent was obtained from the subjects and the research protocol was approved by the Scientific Committee of the Center for Preventive Medicine and was in agreement with the Helsinki Declaration.

A questionnaire checked by a nurse at the examination provided information about smoking history, marital status,

[1] From the Centre de Médecine Préventive, Vandoeuvre-les-Nancy, France; the Ecole de Sante Publique, Faculte de Médecine, Vandoeuvre-les-Nancy, France; the INRA, Clermont-Ferrand, France; and the Centre de Recherche du Service de Santé des Armées, La Tronche, France.

[2] Supported by grants from the Caisse Nationale d'Assurance Maladie des Travailleurs Salariés, the Institut de Recherche Scientifique sur les Boissons, and the Ministère de la Recherche et de la Technologie.

[3] Address reprint requests to B Herbeth, Centre de Médecine Préventive, BP 7, 2 Avenue du Doyen Jacques Parisot, 54501 Vandoeuvre-les-Nancy Cedex, France. E-mail: bernard.herbeth@cmp.u-nancy.fr.

Received April 1, 1997.

Accepted for publication July 21, 1997.

education, working status, drinking habits, vitamin-mineral supplement consumption, and drug consumption. All subjects underwent a complete medical examination and a biological screening.

The diet history method was used to collect information on each subject's diet during the previous year (8). Intakes of different food items and mixed food dishes were determined in interviews guided by a preformed questionnaire. Intakes of foods with strong seasonal fluctuation were determined separately for different seasons. The time taken for the interview averaged 40–45 min. Daily intakes of different food items and nutrients were calculated using the CIQUAL food composition table, which includes recipes for mixed food dishes and gives nutrient contents for separate food groups (9). Vitamin E values, in α-tocopherol equivalents, were calculated from measurements of α-tocopherol and other compounds with vitamin E activity by use of recommended conversion factors (10). Dietary carotenoids were estimated in β-carotene equivalents, consisting of β-carotene and half of the amounts of α-carotene, γ-carotene, and cryptoxanthin. Vitamin intakes were based on the vitamin contents of cooked and uncooked foods.

Blood measurements

Venous blood samples were collected after a 12-h fast into heparin-containing, EDTA-coated tubes or dry vials (Becton Dickinson, Rutherford, NJ) between 0730 and 0830. The blood was centrifuged at 1000 × *g* for 15 min at +4 °C. Plasma samples for α-tocopherol, retinol, carotenoids, and ascorbic acid determinations were promptly stored at −80 °C until analyzed and sera for determination of malondialdehyde, protein Schiff bases, and autoantibodies against malondialdehyde-protein adducts were stored at −196 °C until analyzed. For ascorbic acid, plasma samples were stabilized by adding metaphosphoric acid (5%, mass:vol) immediately after separation from the cells (1:9, by vol).

Reversed-phase HPLC was used for the simultaneous determination of retinol and α-tocopherol in plasma as described by Rudy et al (11). Analytes were isolated by liquid-liquid extraction, concentrated by evaporation, and then subjected to chromatography on a C_{18}, 15 cm × 4.6 mm ODS 5-μm column (Beckman Instruments, Gagny, France) with a water:methanol-ethyl acetate:isopropanol solvent system. α-Tocopherol and retinol were spectrophotometrically detected at 292 and 325 nm, respectively. Standards (α-tocopherol, retinol, α-tocopherol acetate, and retinol acetate) were purchased from Fluka Chemie AG (Buchs, Switzerland) and solvents (HPLC grade) were from Merck (Darmstadt, Germany). Ascorbic acid concentrations were determined by using the method of Deutsch and Weeks described by Brubacher and Vuilleumier (12). Plasma carotenoids were assayed by HPLC with canthaxanthin and echinenone as internal standards (Hoffmann-La Roche AG, Basel, Switzerland) and an acetonitrile:methylene chloride:methanol mixture (70:20:10) as the mobile phase (13).

Malondialdehyde was assayed according to the fluorimetric method described by Dousset et al (14). Autoantibodies against malondialdehyde-protein adducts were determined with an enzyme-linked immunosorbent assay as published previously (15). Schiff bases were evaluated by fluorescence measurements, as described by Tsuchida et al (16), with a Jobin-Yvon JY3CS spectrofluorometer (Lonjumeau, France) with excitation and emission wavelengths of 400 and 466 nm, respectively.

Serum total cholesterol and triacylglycerol were measured with commercially available kits on an AU 5000 apparatus, all from Merck. Apolipoproteins A-I and B were determined by nephelometry with the BNA analyzer and reagents from Behring (Rueil-Malmaison, France).

Statistical analysis

Statistical analyses were performed with BMDP statistical software (Los Angeles). Chi-square statistics were used to compare sociodemographic and behavioral characteristics of study subjects by smoking groups. Mean daily food and nutrient intakes and blood indexes were analyzed by analysis of variance (ANOVA) followed by a Student-Neuman-Keuls multiple-range test. Differences were tested for crude values and after adjustment for possible confounding factors such as age, education, and marital status for dietary data and after adjustment for age, vitamin intakes, alcohol consumption, and plasma lipids for biological indexes. A P value ≤ 0.05 was used as a threshold of significance.

RESULTS

Demographic, physiologic, and behavioral characteristics

The smoking status of the four groups is presented in **Table 1**. Exsmokers smoked in the past significantly less than the current heavy smokers but more than moderate smokers. Heavy smokers had smoked a longer time than moderate smokers, and a greater proportion inhaled the smoke. Exsmokers were significantly older than both nonsmokers and the two groups of smokers. Height did not differ by smoking status but exsmokers weighed 3.1–4.7 kg more than nonsmokers and smokers and thus had higher body mass indexes (BMIs; in kg/m^2). Smokers and exsmokers differed from nonsmokers with respect to the demographic and health behavioral characteristics assessed. Education level differed significantly across smoking groups: a lower proportion of heavy smokers had a high education level. There was a significant difference in marital status between the four groups, the proportion of males who were married being higher in nonsmokers and moderate smokers. However, no significant differences in working status were noticed between the four groups. Intakes of supplemental multivitamins were slightly more frequent in nonsmokers and exsmokers than in smokers (this difference was not tested for statistical significance because of the limited number of subjects) but there were no significant differences in vitamin C supplementation among groups.

Food groups

Analyses of food group intakes according to smoking status are presented in **Table 2**. ANOVA showed significant differences in consumption of dairy products, meat products, pastries and cookies, potatoes, and other vegetables. Heavy smokers consumed less milk, yogurt and fresh uncured cheese, cheese (soft, semisoft, hard, and processed cheese), pastries and cookies, and vegetables than nonsmokers. Conversely, the intake of meat, organs, and poultry; pork butcher's meat; and potatoes was lower in nonsmokers than in smokers. Student-Neuman-Keuls tests showed that exsmokers did not have significantly different intakes of cheese, meat products, potatoes, and other vegetables than nonsmokers; they resembled heavy smokers with respect to

TABLE 1
Characteristics of the study population by smoking status[1]

	Nonsmokers	Exsmokers	Smokers		*P* (ANOVA or chi-square)
			Moderate < 20 cigarettes/d	Heavy ≥ 20 cigarettes/d	
	(*n* = 146)	(*n* = 125)	(*n* = 104)	(*n* = 84)	
Smoking behavior					
Current or past cigarette consumption (g/d)	—	21.6 ± 13.0[2 b]	9.1 ± 4.8[a]	26.1 ± 8.2[c]	≤0.001
Current or past smoking duration (y)	—	11.8 ± 6.3[a]	15.9 ± 7.9[b]	18.2 ± 5.9[c]	≤0.001
Stopping duration (y)	—	8.2 ± 6.2	—	—	—
Smoke inhalation (%)	—	—	73.1	86.9	0.020
Demographic characteristics					
Age (y)	35.1 ± 7.1[a]	38.6 ± 6.3[b]	35.8 ± 7.1[a]	36.2 ± 6.3[a]	≤0.001
Marital status (%)					
Currently married	78.1	94.4	77.9	89.3	≤0.001[3]
Not married	21.9	5.6	22.1	10.7	—
Education (%)					
Primary school	38.6	43.4	39.6	42.7	0.051[3]
Secondary school	25.5	34.4	25.7	37.8	—
University	35.9	22.1	34.7	19.5	—
Working status (%)					
Manual workers	27.4	30.4	31.7	35.7	0.834[3]
White collar	11.6	11.2	5.8	7.1	—
Middle management and technicians	38.4	36.8	38.5	38.1	—
Self-employed and top management	22.6	21.6	24.0	19.0	—
Health behavior					
Take multivitamin supplement (%)	2.1	1.6	0.0	0.0	—
Take vitamin C supplement (%)	4.8	4.8	6.7	4.8	0.893[3]
Physiologic characteristics					
Height (m)	1.74 ± 0.07	1.75 ± 0.07	1.75 ± 0.06	1.74 ± 0.08	0.790
Weight (kg)	74.5 ± 11.0[a]	77.7 ± 10.7[b]	74.6 ± 11.9[a]	73.0 ± 10.6[a]	0.017
Body mass index (kg/m^2)	24.4 ± 3.0[a]	25.5 ± 3.1[b]	24.3 ± 3.6[a]	24.0 ± 3.1[a]	0.003

[1] Means within a row with different superscript letters are significantly different, $P \leq 0.05$ (Student-Neuman-Keuls multiple-range test).
[2] $\bar{x}$ ± SD.
[3] Total *P* value of chi-square test.

milk consumption and were between nonsmokers and heavy smokers for intakes of yogurt and fresh cheese and pastries and cookies. For the food groups for which intakes were different among the smoking status groups, intakes of moderate smokers were often between those of nonsmokers and heavy smokers. Multivariate adjustment for age, marital status, and education level did not reduce the strength of associations between dietary components and smoking status.

Macronutrients, alcohol, and vitamins

As shown in **Table 3**, the two groups of smokers tended to have higher total energy intakes than nonsmokers and exsmokers, although the difference was not significant. Subtracting the energy intake contributed by alcohol from total energy intake reduced this difference. Exsmokers and moderate smokers consumed nearly twice as much alcohol as did men who did not smoke, and heavy smokers nearly three times as much. In comparison with nonsmokers and exsmokers, smokers consumed a significantly higher proportion of their total alcoholic intake as beer. Smoking was not associated with intakes of total protein, protein from animal products, carbohydrate, sugar, or total fat, expressed in g or % of intake. However, the percentage of fat as saturated fat was lower in exsmokers than in nonsmokers whereas the percentage as polyunsaturated fat was higher. Heavy smokers consumed a larger proportion of monounsaturated fat and less fiber than the other groups, but there was no significant difference in intake of cholesterol. After confounders (age, marital status, and education status) were adjusted for, smoking remained significantly associated with fatty acid and fiber intakes.

Dietary intakes and nutrient densities of vitamin C, vitamin A, and carotene differed significantly across the smoking groups (**Table 4**): heavy smokers had significantly lower intakes than the other groups. Variations in moderate smokers were limited. Exsmokers consumed more vitamin E and had a higher nutrient density for this vitamin than did heavy smokers. This inverse association between smoking and dietary vitamin intake persisted after adjustment for age, marital status, and education status.

Plasma factors

Total cholesterol concentrations were unrelated to smoking status but triacylglycerol concentrations were significantly higher in exsmokers and smokers than in nonsmokers. Apolipoprotein A-I and B concentrations differed significantly across groups, apolipoprotein A-I being lower and apolipoprotein B higher in heavy smokers (**Table 5**). Concerning blood oxidative

TABLE 2
Daily intake of food groups by smoking status[1]

Food group intake (g)	Nonsmokers (n = 146)	Exsmokers (n = 125)	Smokers		P (ANOVA)
			Moderate < 20 cigarettes/d (n = 104)	Heavy ≥ 20 cigarettes/d (n = 84)	
Milk	133.2 ± 158.7[a]	91.2 ± 130.9[b]	88.1 ± 126.5[b]	83.1 ± 126.5[b]	0.014
Yogurt and fresh or uncured cheese	87.7 ± 86.5[a]	69.2 ± 76.9[ab]	65.9 ± 77.5[ab]	44.1 ± 60.8[b]	≤0.001
Cheese	76.5 ± 51.7[a]	71.8 ± 42.7[a]	76.1 ± 50.0[a]	57.8 ± 43.0[b]	0.023
Eggs	14.8 ± 12.1	16.3 ± 13.7	14.1 ± 10.2	16.8 ± 11.9	0.359
Fish	28.4 ± 24.3	32.3 ± 23.5	29.7 ± 21.2	29.4 ± 33.4	0.649
Meat, organs and poultry	111.6 ± 51.0[a]	119.1 ± 55.4[ab]	131.2 ± 51.2[b]	146.8 ± 53.2[c]	≤0.001
Snacks	74.0 ± 47.8	64.3 ± 44.8	63.1 ± 44.1	66.3 ± 44.3	0.203
Pork butcher's meat	34.6 ± 30.7	39.8 ± 36.1	44.1 ± 28.6	45.7 ± 33.3	0.040
Cereals and pasta	113.9 ± 68.3	108.6 ± 61.1	125.1 ± 69.5	122.6 ± 88.4	0.272
Bread and toast	187.7 ± 81.4	191.9 ± 89.2	191.1 ± 82.3	188.9 ± 87.3	0.977
Pastries and cookies	66.3 ± 51.5[a]	55.7 ± 38.7[ab]	56.1 ± 49.3[ab]	47.9 ± 46.0[b]	0.031
Sugar and confectionery	49.6 ± 32.3	49.9 ± 36.8	50.8 ± 31.4	52.1 ± 36.6	0.943
Pulses	20.2 ± 23.6	23.3 ± 19.5	23.2 ± 22.9	21.6 ± 18.6	0.607
Potatoes	85.4 ± 49.7[a]	82.9 ± 44.1[a]	97.6 ± 52.8[ab]	104.1 ± 55.1[b]	0.006
Other vegetables	232.1 ± 113.8[a]	228.4 ± 116.3[a]	219.4 ± 121.8[a]	172.1 ± 99.8[b]	≤0.001
Fruit	139.5 ± 109.4	143.1 ± 114.3	128.9 ± 122.3	107.5 ± 100.5	0.116
Dry fruit and seeds	5.9 ± 10.7	6.6 ± 8.9	5.0 ± 10.1	4.0 ± 4.9	0.201
Fats and oils	33.9 ± 13.6	32.0 ± 13.5	35.2 ± 14.2	33.4 ± 13.4	0.360

[1] $\bar{x}$ ± SD. Means within a row with different superscript letters are significantly different, $P \leq 0.05$ (Student-Neuman-Keuls multiple-range test).

stress indexes, only protein Schiff base concentrations increased significantly with smoking status; malondialdehyde and autoantibodies against malondialdehyde-protein adducts were not related to smoking status.

As shown in **Table 6**, plasma α-tocopherol concentrations were significantly higher in exsmokers than in nonsmokers, smokers and exsmokers having intermediate concentrations. Plasma ascorbic acid and β-carotene concentrations differed significantly among groups, with smokers having lower concentrations than nonsmokers. No significant differences were found for plasma retinol, α-carotene, zeaxanthin-lutein, lycopene, or β-cryptoxanthin according to smoking status; however, heavy smokers tended to have lower plasma concentrations of α-carotene, lycopene, and β-cryptoxanthin than nonsmokers.

The decrease in plasma ascorbic acid and β-carotene concentrations in smokers persisted even after statistical adjustment for the confounders (vitamin intake, alcohol consumption, age, and plasma lipid concentrations), whereas the difference in plasma α-tocopherol between exsmokers and heavy smokers disappeared. In smokers, the increase in protein Schiff bases remained after statistical adjustment for the potential confounders of this index: vitamin intake and plasma concentrations, alcohol consumption, age, and plasma lipid and albumin concentrations.

DISCUSSION

This study was the first to focus on a large French sample of supposedly healthy nonsmokers, exsmokers, and current smokers who were selected randomly from a population attending a center for preventive medicine. Our data confirm results obtained in populations in the United Kingdom, United States, Australia, Netherlands, and Finland suggesting that heavy smokers (those who smoke >20 cigarettes/d) have poorer dietary patterns than nonsmokers concerning several indexes that may increase cancer and cardiovascular risk.

We found that smokers tended to consume more total energy than nonsmokers, as reported by most studies (4, 5, 17, 18). However, this difference can be attributed to higher alcohol consumption in smokers (18–21). Confirming results of others (4, 5, 18, 22, 23), we found little difference by current smoking status in intakes of fat, saturated fat, and cholesterol—dietary variables associated with coronary artery disease—whereas percentage of fat as monounsaturated fatty acid was higher in smokers than in nonsmokers (3, 23). Our findings that heavy smokers have lower antioxidant vitamin and fiber intakes than nonsmokers are consistent with data obtained in other countries; other studies reported that smokers consume significantly less vitamin C (3–5, 17, 18, 22, 24–27), vitamin E (17, 22, 24, 25), carotene (3, 4, 17, 24, 26), vitamin A (5, 18, 22, 27), and fiber (3–5, 22, 23) than do nonsmokers.

The significant differences in food intakes reported here between heavy smokers and nonsmokers were shown also in other communities in which smokers had higher intakes of meat, meat products, and potatoes and lower intakes of fruit, vegetables, and milk products (3–5, 18, 21, 28–32). Poorer dietary practice associated with smoking, which is observed around the world in various cultures, could be a reflection of the different personality types of smokers and nonsmokers, with less healthy lifestyles and a lack of dietary knowledge more common in persons who smoke. Because differences in food consumption remained significant after adjustment for demographic characteristics in our study, the lifestyle of healthy smokers seems to be independent of marital or educational status. The hypothesis involving the effect of smoking (via nicotine) on taste is more likely to be true (33); for example, according to Whichelow et al (31) and Grungberg et al (34, 35), smokers may find sweet foods,

TABLE 3
Energy, macronutrient, cholesterol, fiber and alcohol intakes by smoking status[1]

	Nonsmokers	Exsmokers	Smokers		
			Moderate (<20 cigarettes/d)	Heavy (≥20 cigarettes/d)	*P*
	(*n* = 146)	(*n* = 125)	(*n* = 104)	(*n* = 84)	(ANOVA)
Total energy (kJ)	11 482 ± 2683	11 503 ± 2700	12 193 ± 2800	12 130 ± 2884	0.083
Nonalcohol energy (kJ)	11 148 ± 2612	10 876 ± 2587	11 516 ± 2800	11 232 ± 2750	0.345
Alcohol (g)	11.4 ± 14.9[a]	21.4 ± 21.1[b]	23.2 ± 20.9[b]	30.7 ± 27.0[c]	≤ 0.001
Wine (%)[2]	52.8 ± 40.9	53.4 ± 40.7	55.7 ± 38.5	50.3 ± 38.3	0.872
Beer (%)[2]	13.6 ± 23.0[a]	13.0 ± 24.8[a]	23.4 ± 31.1[b]	25.6 ± 30.5[b]	0.004
Spirits (%)[2]	33.6 ± 40.2	33.4 ± 40.0	20.9 ± 31.3	24.0 ± 31.2	0.048
Total protein					
(g)	111.9 ± 25.6	112.5 ± 24.5	116.9 ± 26.9	117.1 ± 24.3	0.251
(%)[3]	17.0 ± 2.3	17.6 ± 2.6	17.2 ± 2.4	17.7 ± 2.4	0.070
Protein from animal products					
(g)	77.2 ± 21.2	77.3 ± 20.8	81.3 ± 21.9	81.9 ± 18.4	0.184
(%)[4]	71.1 ± 6.5	70.5 ± 7.2	71.8 ± 6.6	72.7 ± 6.0	0.102
Total carbohydrate					
(g)	316.0 ± 84.0	305.2 ± 94.3	322.1 ± 92.5	310.2 ± 96.2	0.538
(%)[3]	47.3 ± 5.5	46.7 ± 7.0	46.5 ± 5.7	45.8 ± 5.6	0.276
Sugar					
(g)	118.7 ± 45.7	111.6 ± 53.4	118.1 ± 52.6	111.2 ± 49.4	0.521
(%)[5]	37.4 ± 9.1	36.3 ± 9.7	35.9 ± 9.3	35.7 ± 9.6	0.521
Total fat					
(g)	106.1 ± 30.6	103.4 ± 28.1	111.0 ± 29.9	108.6 ± 29.4	0.251
(%)[3]	35.7 ± 4.7	35.8 ± 5.7	36.3 ± 4.6	36.5 ± 4.7	0.558
Saturated fat					
(g)	50.8 ± 16.5	47.9 ± 14.7	52.1 ± 15.1	51.10 ± 15.8	0.194
(%)[6]	47.5 ± 4.6[a]	45.9 ± 4.9[b]	46.8 ± 4.7[ab]	46.7 ± 4.5[ab]	0.065
Monounsaturated fat					
(g)	39.2 ± 11.8	38.5 ± 11.4	41.6 ± 12.1	42.0 ± 11.9	0.068
(%)[6]	36.9 ± 2.4[a]	37.1 ± 2.6[a]	37.3 ± 2.3[a]	38.7 ± 2.5[b]	≤ 0.001
Polyunsaturated fat					
(g)	16.1 ± 5.6	17.1 ± 5.5	17.3 ± 6.1	15.6 ± 5.1	0.103
(%)[6]	15.6 ± 4.8[a]	17.0 ± 4.9[b]	15.9 ± 4.7[ab]	14.7 ± 4.2[a]	0.005
Cholesterol (mg)	5.62 ± 1.11	5.91 ± 1.04	5.82 ± 1.06	5.92 ± 0.96	0.086
Fibers (g)	19.5 ± 6.7[a]	19.2 ± 5.5[a]	18.9 ± 6.1[a]	17.0 ± 4.6[b]	0.017

[1] $\bar{x}$ ± SD. Means within a row with different superscript letters are significantly different, $P \leq 0.05$ (Student-Neuman-Keuls multiple-range test).
[2] Percentage of total alcohol intake by drinkers.
[3] Percentage of nonalcoholic energy intake.
[4] Percentage of total protein intake.
[5] Percentage of total carbohydrate intake.
[6] Percentage of total fat intake.

fruit, fruit juice, and brown bread less palatable than fried foods and white bread.

Our finding that exsmokers consumed more antioxidant-rich foods and had higher intakes of vitamin E, vitamin C, and carotene than heavy smokers agrees with previous studies suggesting that exsmokers have a healthier diet than current smokers (4, 5, 17, 26, 36–38). Moreover, the percentage of fat intake as polyunsaturated fatty acids was higher in exsmokers than in heavy smokers.

Our results show that moderate smokers are similar to nonsmokers in antioxidant as well as total dietary intake. This finding generally corresponds with results from Zondervan et al's study (4), in which light smokers were considered as a separate group, but do not agree with those of many other authors who found significant differences between light or moderate smokers and nonsmokers (3, 17, 31, 39).

Our data confirm that cigarette smoking is associated with decreased plasma vitamin C concentrations (7, 17, 24–27, 40–43). This association persisted despite correction for factors that independently affected plasma ascorbic acid concentrations, such as alcohol and vitamin intakes, but the strength of linkage was reduced. This observation suggests that smoking directly lowers plasma vitamin C concentrations by mechanisms that do not depend on dietary vitamin C intake, such as impaired vitamin C absorption (44) or decreased turnover (41, 45).

Our estimate of the effect of smoking on circulating concentrations of β-carotene generally agrees with the conclusions of other studies (17, 24–26); lowered plasma β-carotene concentrations in smokers have been ascribed in part to enhanced metabolic turnover resulting from smoking-induced oxidative stress (24). We found no significant effect of smoking on either crude or adjusted values of plasma concentrations of α-carotene, zeax-

TABLE 4
Vitamin intake by smoking status[1]

	Nonsmokers	Exsmokers	Smokers		
			Moderate (< 20 cigarettes/d)	Heavy (≥ 20 cigarettes/d)	*P*
	(*n* = 146)	(*n* = 125)	(*n* = 104)	(*n* = 84)	(ANOVA)
Vitamin E[2]					
(mg)	10.6 ± 4.1[ab]	11.4 ± 4.1[a]	11.1 ± 4.1[a]	9.7 ± 3.6[b]	0.011
(mg/1000 kJ)	0.98 ± 0.41[ab]	1.08 ± 0.41[a]	0.98 ± 0.36[ab]	0.91 ± 0.36[b]	0.003
Vitamin C					
(mg)	85.4 ± 45.7[a]	81.2 ± 45.3[a]	81.9 ± 44.8[a]	68.4 ± 41.3[b]	0.007
(mg/1000 kJ)	7.7 ± 4.4[a]	7.8 ± 4.9[a]	7.2 ± 3.8[a]	6.2 ± 3.5[b]	0.003
Carotene[3]					
(μg)	4867 ± 2604[a]	5073 ± 3606[a]	4949 ± 3179[a]	3874 ± 2355[b]	0.015
(μg/1000 kJ)	455 ± 268[a]	515 ± 519[a]	454 ± 372[a]	364 ± 237[b]	0.014
Retinol equivalents[4]					
(μg)	1755 ± 966[a]	1603 ± 791[a]	1593 ± 720[a]	1363 ± 644[b]	0.002
(μg/1000 kJ)	163 ± 99[a]	156 ± 96[a]	144 ± 73[a]	127 ± 65[b]	0.002

[1] $\bar{x}$ ± SD. Means within a row with different superscript letters are significantly different, $P \leq 0.05$ (Student-Neuman-Keuls multiple-range test). ANOVA on log-transformed values.
[2] α-Tocopherol equivalents.
[3] Carotene equivalents.
[4] Retinol equivalents = preformed retinol (μg) + carotene equivalents (μg)/6.

anthin, lycopene, and β-cryptoxanthin, despite a trend for α-carotene and β-cryptoxanthin to decrease in heavy smokers. In previous papers serum plasma α-carotene or β-cryptoxanthin appeared to be significantly reduced in smokers to the same degree as β-carotene (6, 46–50), in agreement with the nonsignificant trend shown by our results. Smaller and usually nonsignificant differences between smokers and nonsmokers were found for lycopene and zeaxanthin-lutein (25, 47–49).

Our results confirm previous reports of no effect of smoking on serum concentrations of vitamin E (17, 24, 25, 47, 49, 51, 52); the only difference between exsmokers and nonsmokers for crude values disappeared after adjustment for the effects of alcohol and vitamin E intakes and plasma lipids. We also observed no association between smoking and plasma retinol concentrations, in agreement with previous studies in men (17, 24, 47, 50, 52) and women (6). Two previous studies, however, found a slight but significant negative association between smoking and plasma retinol (51, 53).

Concerning indicators of lipid peroxidation, the interpretation of our results is more complicated. Protein Schiff bases measured by fluorescence were increased in smokers compared with nonsmokers, even after adjustment for the confounders (vitamin intake and plasma concentrations, alcohol consumption, age, and plasma lipid and albumin concentrations). Only Mezzetti et al (7) also reported an increase in fluorescent products of lipid peroxidation in smokers; assuming that these compounds reflect the interaction of peroxidation aldehydes with phospholipids, they could be a more sensitive marker of peroxidation than malondi-

TABLE 5
Lipid and protein profiles and indexes of oxidative stress in plasma by smoking status[1]

	Nonsmokers	Exsmokers	Smokers		
			Moderate (< 20 cigarettes/d)	Heavy (≥ 20 cigarettes/d)	*P*
	(*n* = 146)	(*n* = 125)	(*n* = 104)	(*n* = 84)	(ANOVA)
Cholesterol (mmol/L)	5.62 ± 1.11	5.91 ± 1.04	5.82 ± 1.06	5.92 ± 0.96	0.086
Triacylglycerol (mmol/L)	1.09 ± 0.71[a]	1.39 ± 0.89[b]	1.35 ± 0.72[b]	1.36 ± 0.52[b]	0.002
Apolipoprotein A-I (g/L)	1.57 ± 0.22[a]	1.58 ± 0.27[a]	1.53 ± 0.25[ab]	1.49 ± 0.23[b]	0.037
Apolipoprotein B (g/L)	1.15 ± 0.31[a]	1.28 ± 0.32[b]	1.27 ± 0.32[b]	1.29 ± 0.28[b]	0.001
Total protein (g/L)	73.3 ± 3.9[a]	72.7 ± 4.0[ab]	71.8 ± 3.9[b]	71.4 ± 3.6[b]	≤0.001
Albumin (g/L)	45.4 ± 2.0	45.1 ± 2.2	44.9 ± 2.2	44.9 ± 1.8	0.271
Malondialdehyde (μmol/L)	3.15 ± 0.88	3.41 ± 1.02	3.31 ± 0.99	3.39 ± 0.94	0.117
Protein Schiff bases (RFI)[2]	186 ± 30[a]	195 ± 31[b]	216 ± 40[c]	250 ± 46[d]	≤0.001
Ig-NH_2-MDA (AU × 10^3)[3]	234 ± 126	245 ± 153	236 ± 130	215 ± 115	0.450

[1] $\bar{x}$ ± SD. Means within a row with different superscript letters are significantly different, $P \leq 0.05$ (Student-Neuman-Keuls multiple-range test).
[2] RFI, relative fluorescence unit.
[3] Ig-NH_2-MDA, autoantibodies directed to malondialdehyde adducts to proteins; AU, absorbance unit.

TABLE 6
Antioxidant vitamins in plasma by smoking status[1]

	Nonsmokers	Exsmokers	Smokers		
			Moderate (< 20 cigarettes/d)	Heavy (≥ 20 cigarettes/d)	*P*
	(n = 146)	(n = 125)	(n = 104)	(n = 84)	(ANOVA)
α-Tocopherol (μmol/L)	28.1 ± 7.8[a]	31.7 ± 9.6[b]	29.5 ± 7.8[ab]	29.5 ± 7.6[ab]	0.006
	(29.5)[2]	(30.7)	(29.2)	(28.9)	(0.158)
Ascorbic acid (μmol/L)	44.2 ± 16.2[a]	38.9 ± 16.5[b]	38.6 ± 17.5[b]	31.5 ± 17.9[c]	≤0.001
	(42.1)	(39.0)	(38.9)	(34.7)	(0.012)
Retinol (μmol/L)	2.41 ± 0.65	2.59 ± 0.60	2.46 ± 0.56	2.56 ± 0.59	0.069
	(2.49)	(2.53)	(2.45)	(2.51)	(0.737)
β-Carotene (nmol/L)[2]	651 ± 338[a]	498 ± 309[b]	441 ± 241[b]	354 ± 254[b]	0.002
	(626)	(486)	(459)	(408)	(0.045)
α-Carotene (nmol/L)[2]	186 ± 159	145 ± 105	130 ± 92	115 ± 85	0.133
	(185)	(142)	(129)	(123)	(0.229)
Zeaxanthin-lutein (nmol/L)[2]	595 ± 227	651 ± 235	558 ± 291	574 ± 173	0.487
	(584)	(646)	(565)	(598)	(0.590)
Lycopene (nmol/L)[2]	624 ± 347	510 ± 296	511 ± 225	501 ± 324	0.284
	(623)	(510)	(510)	(502)	(0.357)
β-Cryptoxanthin (nmol/L)[2]	163 ±101	145 ± 121	128 ± 124	77 ± 90	0.071
	(156)	(144)	(133)	(89)	(0.309)

[1] $\bar{x}$ ± SD; mean adjusted for the effect of confounders (*see* Statistical analysis section in text) in parentheses. Means within a row with different superscript letters are significantly different, $P \leq 0.05$ (Student-Neuman-Keuls multiple-range test).

[2] Measured in subsamples of the four populations: n = 41, 30, 30, and 16, respectively.

aldehyde or thiobarbituric acid–reactive substances. The lack of specificity of methods for estimating plasma malondialdehyde concentrations could explain the absence of variation observed with tobacco consumption in our sample. Increased lipid peroxidation in smokers was shown by Morrow et al (54), who assayed F2 isoprostanes that are produced independently of the cyclooxygenase enzyme by the peroxidation of arachidonic acid, catalyzed by free radicals. F2 isoprostanes are initially formed in situ on phospholipids and are subsequently released preformed.

In smokers, traces of oxidation have also been noticed at the level of proteins, as evidenced by the formation of carbonyl groups (55). Oyer Scanlon et al (56) reported an increased number of oxidized LDL epitopes in the aorta of young dead people categorized as smokers by thiocyanate measurements. In smokers, elevation of oxidation and peroxidation products and reduction of antioxidant levels lead to an imbalance. But some additional mechanisms could be involved because this imbalance is not related clearly to the formation of more malondialdehyde adducts to LDL or antibodies to malondialdehyde-protein adducts in the blood. The quality of our analytic methods does not seem to be in doubt because other studies also failed to show a significant effect of tobacco consumption on amounts of autoantibodies against modified LDL (57–61). Only Salonen et al (62) found a positive correlation between the number of cigarettes smoked per day and the concentration of autoantibodies.

As shown in this study, in France as in other countries the antioxidant nutrient status of smokers may be compromised in two ways: *1*) smoking depletes the body's supply of circulating β-carotene and vitamin C, presumably by creating an extra demand for antioxidants, and *2*) smokers tend to consume diets that contain less than optimal amounts of antioxidant-rich foods. However, although three major studies found no benefits on lung cancer and coronary artery disease prevention of antioxidant supplementation in populations of long-term cigarette smokers (63–65), the scientific community still recommends the dietary intake of fruit and vegetables and, obviously, cessation and prevention of smoking.

We gratefully acknowledge S Michel and V Michaux for technical assistance and D Claude and Nadine Musse for dietary data collection. We are also indebted to the staff of the preclinic and laboratory departments of the Center for Preventive Medicine of Nancy.

REFERENCES

1. Harats D, Ben-Naim M, Dabach Y, Hollander G, Stein O, Stein Y. Cigarette smoking renders the LDL susceptible to peroxidative modification and enhances metabolism by macrophages. Atherosclerosis 1989;79:245–52.
2. Thompson RL, Margetts BM, Wood DA, Jackson AA. Cigarette smoking and food and nutrient intake in relation to coronary heart disease. Nutr Res Rev 1992;5:131–52.
3. Margetts B, Jackson A. Interactions between people's diet and their smoking habits: the dietary and nutritional survey of British adults. Br Med J 1993;307:1381–4.
4. Zondervan K, Ocké M, Smit H, Seidell J. Do dietary and supplementary intakes of antioxidants differ with smoking status? Int J Epidemiol 1996;25:70–9.
5. Subar AF, Harlan LC, Mattson ME. Food and nutrient intake differences between smokers and non-smokers in the US. Am J Public Health 1990;80:1323–9.
6. Pamuk ER, Byers T, Coates RJ, et al. Effect of smoking on serum nutrient concentrations in African-American women. Am J Clin Nutr 1994;59:891–5.
7. Mezzetti A, Lapenna D, Pierdomenico S, et al. Vitamins E, C and lipid peroxidation in plasma and arterial tissue of smokers and nonsmokers. Atherosclerosis 1995;112:91–9.
8. Cubeau J, Pequignot G. Quantitative dietary questionnaire used by

the nutrition division of INSERM. Rev Epidemiol Sante Publique 1980;28:367–72.
9. Favier JC, Ireland-Ripert J, Toque C, Feinberg M. Répértoire général des aliments: table de composition. Technique et documentation. (General list of foods: composition tables.) Paris: Lavoisier, 1991 (in French).
10. Holland B, Welch AA, Unwin ID, Buss DH, Paul AA, Southgate DAT. McCance and Widdowson's the composition of foods. London: Royal Society of Chemistry, 1991.
11. Rudy JL, Ibarra F, Zeigler M, Howard J, Argyle C. Simultaneous determination of retinol, retinyl palmitate and alpha-tocopherol in serum or plasma by reversed phase high performance liquid chromatography. LC-CG Intern 1990;3:36–8.
12. Brubacher G, Vuilleumier JP. Vitamin C. In: Curtius HC, Roth M, eds. Clinical biochemistry principles and methods. Berlin: W de Gruyter, 1974:989–97.
13. Olmedilla B, Granada F, Rojas-Hidalgo E, Blanco I. A rapid separation of ten carotenoids, alpha-tocopherol and *d*-alpha-tocopherol acetate by high performance liquid chromatography and its application to serum and vegetable samples. J Liq Chromatogr 1990;13:1455–83.
14. Dousset JC, Thouilh M, Foglietti MJ. Plasma malondialdehyde levels during myocardial infarction. Clin Chem 1983;129:319–22.
15. Chancerelle Y, De Lorgeril M, Viret R. Increased lipid peroxidation in cyclosporin-treated heart transplant recipients. Am J Cardiol 1991;68:813–6.
16. Tsuchida M, Miuta T, Mizutani K, Aibara K. Fluorescent substances in mouse and human sera as a parameter of in vivo lipid peroxidation. Biochim Biophys Acta 1985;834:196–204.
17. Bolton-Smith C, Casey CE, Gey KF, Smith WC, Tunstall-Pedoe H. Antioxidant vitamin intakes assessed using a food-frequency questionnaire: correlation with biochemical status in smokers and nonsmokers. Br J Nutr 1991;65:337–46.
18. McPhillips J, Eaton C, Gans K, et al. Dietary differences in smokers and nonsmokers from two southeastern New England communities. J Am Diet Assoc 1994;94:287–92.
19. Haarbo J, Hassager C, Schlemmer A, Christiansen C. Influence of smoking, body fat distribution, and alcohol consumption on serum lipids, lipoproteins, and apolipoproteins in early postmenauposal women. Atherosclerosis 1990;84:239–44.
20. Fisher M, Gordon T. The relation of drinking and smoking habits to diet: the Lipid Research Clinics Prevalence Study. Am J Clin Nutr 1985;41:623–30.
21. Nuttens MC, Romon M, Ruidavets JB, et al. Relationship between smoking and diet: the MONICA-France project. J Intern Med 1992;231:349–56.
22. Emmons KM, Thompson B, Feng Z, Hebert JR, Heimendiger J, Linnan L. Dietary intake and exposure to environmental tobacco smoke in a worksite population. Eur J Clin Nutr 1995;49:336–45.
23. Oliver M. Cigarette smoking, polyunsaturated fats, linoleic acid and coronary heart disease. Lancet 1989;6:1241–3.
24. Chow KK, Thacker RR, Changchit C, et al. Lower levels of vitamin C and carotenes in plasma of cigarette smokers. J Am Coll Nutr 1986;5:305–12.
25. Strycker WS, Kaplan LA, Stein EA, Stampfer MJ, Sober A, Willett WC. The relation of diet, cigarette smoking, and alcohol consumption to plasma (-carotene and (-tocopherol levels. Am J Epidemiol 1988;127:283–96.
26. Järvinen R, Knekt P, Seppänen R, et al. Antioxidant vitamins in the diet: relationship with other personal characteristics in Finland. J Epidemiol Community Health 1994;48:549–54.
27. Schectman G, Myrd JC, Gruchow HW. The influence of smoking on vitamin C status in adults. Am J Public Health 1989;79:158–62.
28. Larkin FA, Basiotis PP, Riddick HA, Sykes KE, Pao ME. Dietary patterns of women smokers and nonsmokers. J Am Diet Assoc 1990;90:230–7.
29. Morabia A, Wynder EL. Dietary habits of smokers, people who never smoked, and exsmokers. Am J Clin Nutr 1990;52:933–7.
30. Dallongeville J, Marecaux N, Richard F, et al. Cigarette smoking is associated with differences in nutritional habits and related to lipoprotein alterations independently of food and alcohol intake. Eur J Clin Nutr 1996;50:647–54.
31. Whichelow M, Golding JF, Trasure FP. Comparison of some dietary habits of smokers and nonsmokers. Br J Addict 1988;83:295–304.
32. Woodward M, Bolton-Smith C, Tunstall-Pedoe H. Deficient health knowledge, diet and other lifestyles in smokers: a multifactor approach required? Prev Med 1994;23:354–61.
33. Redington K. Taste differences between cigarette smokers and nonsmokers. Pharmacol Biochem Behav 1984;21:230–8.
34. Grungberg NE, Morse DE. Cigarette smoking and food consumption in the United States. J Appl Soc Psychol 1984;14:310–7.
35. Grungberg NE. The effects of nicotine and cigarette smoking and food consumption and tastes preferences. Addict Behav 1982;7:317–31.
36. Fehily AM, Phillips KM, Yamell JWG. Diet, smoking, social class, and body mass index in the Caerphilly Heart Disease Study. Am J Clin Nutr 1984;40:827–33.
37. Cade JE, Margetts BM. Relationship between diet and smoking—Is the diet of smokers different? J Epidemiol Community Health 1991;45:270–2.
38. Kato I, Tominaga S, Suzuki T. Characteristics of past smokers. Int J Epidemiol 1989;18:345–54.
39. Gridley G, McLaughlin JK, Blot WJ. Dietary vitamin C intake and cigarette smoking. Am J Public Health 1990;81:1526 (letter).
40. Duthie GG, Arthur JR, James WP. Effects of smoking and vitamin E on blood antioxidant status. Am J Clin Nutr 1991;53(suppl):1061S–3S.
41. Tribble D, Giuliano LJ, Fortmann SP. Reduced plasma ascorbic acid concentrations in nonsmokers regularly exposed to environmental tobacco smoke. Am J Clin Nutr 1993;58:886–90.
42. Ross MA, Crsoley LK, Duthie SJ, Collins AC, Arthur JR, Duthie GG. Plasma concentration of carotenoids and antioxidant vitamins in Scottish males: influences of smoking. Eur J Clin Nutr 1995;49:861–5.
43. Buiatti E, Munoz N, Kato I, et al. Determinations of plasma antioxidant vitamin levels in a population at high risk for stomach cancer. Int J Cancer 1996;65:371–82.
44. Pelletier O. Vitamin C and tobacco. Int J Vitam Nutr Res 1977;16:147–69.
45. Kallner AB, Hartmann D, Hornig DH. On the requirements of ascorbic acid in man: steady-state turnover and body pool in smokers. Am J Clin Nutr 1981;34:1347–55.
46. Ito Y, Sasaki R, Suzuki S, Aoki K. Relationship between serum xanthophyll levels and the consumption of cigarettes, alcohol, or foods in healthy inhabitants of Japan. Int J Epidemiol 1991;20:615–20.
47. Asherio A, Strampfer MJ, Colditz GA, Rimm EB, Litin L, Willett WC. Correlations of vitamin A and E intakes with the plasma concentrations of carotenoids and tocopherols among American men and women. J Nutr 1992;122:1792–801.
48. Aoki K, Ito Y, Sasaki R, Ohtani M, Hamajima M, Asano A. Smoking, alcohol drinking and serum carotenoids levels. Jpn J Cancer Res 1987;78:1049–56.
49. Sanders TAB, Haines AP, Wormald R, Wright LA, Obeid O. Essential fatty acids, plasma cholesterol, and fat-soluble vitamins in subjects with age-related maculopathy and matched control subjects. Am J Clin Nutr 1993;57:428–33.
50. Roidt L, White E, Goodman GE, et al. Association of food frequency questionnaire estimates of vitamin A intakes with serum levels. Am J Epidemiol 1988;128:645–54.
51. Comstock GM, Menkes MS, Schober SE, Vuilleumier JP, Helsing KJ. Serum levels of retinol, beta-carotene, and alpha-tocopherol in older adults. Am J Epidemiol 1988;127:114–23.

52. Riemerma RA, Wood DA, MacIntyre CCA, Elton RA, Gey KF, Oliver MF. Risk of angina pectoris and plasma concentrations of vitamin A, C and E and carotene. Lancet 1991;337:1–5.
53. Nierenberg DW, Stukel TA, Baron JA, Dain BJ, Greenberg RE, Skin Cancer Prevention Study Group. Determinants of plasma levels of beta-carotene and retinol. Am J Epidemiol 1989;130:511–21.
54. Morrow J, Frei B, Longmire A, et al. Increase in circulating products of lipid peroxidation (F2-isoprostanes) in smokers. N Engl J Med 1995;332:1198–203.
55. Reznick AZ, Cross CE, Hu ML. Modification of plasma proteins by cigarette smoke as measured by protein carbonyl formation. Biochem J 1992;286:607–11.
56. Oyer Scanlon C, Berger B, Malcom G, Wissler R. Evidence for more extensive deposits of epitopes of oxidized low density lipoprotein in aortas of young people with elevated serum thiocyanate levels. Atherosclerosis 1996;121:23–33.
57. Boullier A, Hamon M, Walters-Laporte E, et al. Detection of autoantibodies against low density lipoproteins and of Ig G-bound low density lipoproteins in patients with coronary artery disease. Clin Chim Acta 1995;238:1–10.
58. Bergmark C, Wu R, DeFaire U, Lefvert AK, Swedenborg J. Patients with early-onset peripheral vascular disease have increased levels of autoantibodies against oxidized LDL. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1995;15:441–5.
59. Maggi E, Chiesa R, Melissano G, et al. LDL oxidation in patients with severe carotid atherosclerosis. A study of in vitro and in vivo oxidation markers. Arterioscler Thromb 1994;14:1892–9.
60. Craig W. Autoantibodies against oxidized low density lipoprotein: a review of clinical findings and assay methodology. J Clin Lab Anal 1995;9:70–4.
61. Puurunen M, Mänttäri M, Manninnen V, et al. Antibody against oxidized low density lipoprotein predicting myocardial infarction. Arch Intern Med 1994;154:2605–9.
62. Salonen JL, Ylä-Herttuala S, Yamamoto R, et al. Autoantibodies against oxidised LDL and progression of carotid atherosclerosis. Lancet 1992;339:883–7
63. Omen GS, Goodman GE, Thornquist MD, et al. Effects of a combination of beta-carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. N Engl J Med 1996;334:1150–5.
64. Hennekens CH, Buring JE, Manson JE, et al. Lack of effect of long-term supplementation with beta-carotene on the influence of malignant neoplasms and cardiovascular disease. N Engl J Med 1996;334:1145–9.
65. The Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study Group. The effect of vitamin E and beta-carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. N Engl J Med 1994;330:1029–35.

Determinants of plasma retinol, β-carotene and α-tocopherol during adolescence

Herbeth B, Spyckerelle Y, Deschamps JP

Am J Clin Nutr 1991;54:884-889

Les données sur les facteurs de variation des vitamines liposolubles, vitamines A, E et β-carotène sont relativement rares chez l'adolescent. C'est pour cette raison que nous avons envisagé cette étude sur 263 garçons et 246 filles, âgés de 10 à 15 ans et sélectionnés au Centre de Médecine Préventive. Quatre indicateurs biologiques ont été mesurés, rétinol, RBP (retinol binding protein), α-tocophérol et β-carotène, ainsi que les déterminants potentiels de ces indicateurs : âge, sexe, composition corporelle, apports alimentaires, cholestérol et triglycérides plasmatiques, stades de maturation pubertaire (stade de Tanner), prise de médicaments ...

Les concentrations de rétinol et de son transporteur, la RBP, augmentent significativement en fonction des stades de maturation sexuelle dans les 2 sexes. Globalement, sans tenir compte du sexe, le β-carotène et l'α-tocophérol plasmatiques diminuent significativement avec les stades de Tanner. L'analyse par sexe montre que la différence n'est significative que chez les garçons et pour la vitamine E. Toujours en fonction des stades pubertaires, la masse grasse s'accroît (plus chez les filles que chez les garçons) et la concentration de cholestérol diminue (plus chez les garçons que chez les filles). Les triglycérides varient peu en fonction des indices de maturation.

Après analyse par régression multiple pas à pas, la concentration de rétinol est corrélée positivement à la concentration de cholestérol et de triglycérides, à l'indice de maturation sexuelle, à la masse grasse et, est plus élevée chez les garçons que chez les filles. Pour la RBP, on retrouve les mêmes déterminants. Les concentrations de β-carotène sont associées positivement au niveau du cholestérol plasmatique et aux apports alimentaires en carotène et négativement à la masse grasse et aux triglycérides plasmatiques. Les 3 déterminants de l'α-tocophérol sont : cholestérol plasmatique et vitamine E alimentaire positivement corrélés et indice de maturation sexuelle négativement corrélé.

Notre étude est une des premières à montrer l'importance des facteurs hormonaux dans la régulation des concentrations plasmatiques de rétinol, RBP et α-tocophérol chez l'adolescent, indépendamment des phénomènes associés comme l'augmentation de la masse grasse et l'évolution des lipides circulants, cholestérol et triglycérides. Dans la littérature, l'effet des hormones stéroïdiennes sur les concentrations en rétinol et RBP dans le plasma a été montré dans des échantillons de sujets plus âgés. Par exemple, la prise de contraceptifs oraux est associée à des niveaux de RBP plus élevés, l'augmentation étant plus importante avec de fortes doses d'estrogènes.

Ces données confirment l'importance des facteurs de développement et de croissance dans la régulation des concentrations de vitamines liposolubles dans le plasma, ces déterminants devront être pris en compte impérativement dans les études épidémiologiques entre 10 et 15 ans.

Determinants of plasma retinol, β-carotene, and α-tocopherol during adolescence[1-3]

Bernard Herbeth, Yves Spyckerelle, and Jean-Pierre Deschamps

ABSTRACT The relationships of plasma retinol, retinol-binding protein (RBP), β-carotene, and α-tocopherol with their potential determinants, plasma cholesterol and triglyceride, body fat, dietary intake, stages of pubertal development, and drugs, were examined in a French sample of 263 boys and 246 girls aged 10–15 y. By use of multiple-regression analysis, plasma retinol concentration was positively related to plasma cholesterol and triglyceride, sexual-maturation index, body fat, and being male. For plasma RBP the same predictors were identified. Plasma β-carotene was positively related to plasma cholesterol and β-carotene nutrient density and negatively related to body fat and plasma triglyceride. Three predictors of plasma α-tocopherol were identified: plasma cholesterol and vitamin E nutrient density, which were positively related to its concentration, and sexual-maturation index, which was negatively related. These results confirm that physiological developmental age should be considered in epidemiologic studies of plasma fat-soluble vitamins in adolescents. *Am J Clin Nutr* 1991;54:884–9.

KEY WORDS Retinol, retinol-binding protein, β-carotene, α-tocopherol, cholesterol, triglyceride, body fat, dietary intake, plasma, adolescence

Introduction

In recent years interest in the potential roles of retinol, β-carotene, and α-tocopherol in cancer prevention has increased. Consequently, a great part of the epidemiologic literature pertaining to these vitamins has dealt with the relations of cancer to either their dietary intakes (1–5) or their concentrations in blood (6–10). In addition, more attention has been focused on factors influencing concentrations of these three vitamins in plasma or serum in normal free-living humans. Several cross-sectional surveys, conducted in adults, provided consistent information about the main determinants that should be considered in studies relating vitamin index to risk of disease.

By use of bivariate or multivariate statistical analysis, it was shown that plasma retinol concentration is positively related to being male, plasma lipids, body mass index, alcohol consumption, and drug use (particularly oral contraceptives) and negatively related to cigarette smoking (11–15). Plasma β-carotene concentration is positively associated with carotenoids and supplement intake, being female, and plasma cholesterol and negatively associated with tobacco or alcohol consumption and ponderal index (11–17). Finally plasma α-tocopherol concentration positively correlates with vitamin E intake, plasma cholesterol, plasma triglyceride, and ponderal index and negatively correlates with smoking (12–14, 16, 17). On the other hand, data in children are more scarce, particularly during puberty, where marked changes in serum or plasma lipids, lipoproteins (18–20), and fat-soluble vitamins (21–24) take place, parallel to the alteration in gonadal hormones (25–27).

The present study is one of the first to examine changes of plasma retinol, β-carotene, and α-tocopherol for ages 10–15 y by using sexual-maturity stages as the index of development and by taking into account the main other determinants, such as plasma lipids, body fat, and diet intake.

Subjects and methods

The study population consisted of 263 boys and 246 girls (**Table 1**) aged 10–15 y examined between March 1988 and July 1989 at the Center for Preventive Medicine in Nancy-Vandoeuvre. At this institution family health checkups have been conducted since 1969 for families and individuals from the Lorraine region (28). Individuals were excluded from the sample if they smoked or were taking oral contraceptives. Informed consent was obtained from boys and girls and their parents. The protocol was conducted in accord with the ethical standards of the scientific committee of the Center for Preventive Medicine and with the Helsinki Declaration.

In addition to the usual health checkup, the children were asked about their drug use during the last 3 mo, especially use of vitamin supplements. Sexual maturation was determined by visual assessment of secondary sex characteristics by using the method codified by Tanner (29). The ratings for sexual maturation ranged from 1 (no development) to 5 (complete development) according to the stages of either pubic hair or of female breast and male genitalia development. A combined score was used, the sum of the preceding two, ranging from 1 to 10. Body

[1] From the Centre de Médecine Préventive and the Unité 115 INSERM, Vandoeuvre-les-Nancy, France.

[2] Supported by the Caisse Nationale d'Assurance Maladie and the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale.

[3] Address reprint requests to B Herbeth, Centre de Médecine Préventive, BP 7, 2 avenue J. Parisot, 54501 Vandoeuvre-les-Nancy Cedex, France.

Received November 29, 1990.

Accepted for publication February 7, 1991.

 © 1991 American Society for Clinical Nutrition

TABLE 1
Participant distribution according to age, gender, and sexual-maturation index

Sexual-maturation index	10–11 y		12–13 y		14–15 y		Total	
	M	F	M	F	M	F	M	F
1–2	49	14	7	1	0	0	56	15
3–4	31	43	28	3	7	0	66	46
5–6	7	18	24	12	20	2	51	32
7–8	8	18	35	28	6	0	49	46
9–10	0	6	4	28	37	73	41	107
Total	95	99	98	72	70	75	263	246

fat was calculated according to Cheek's formula (30) by using height and weight. Usual dietary intake during the past year was assessed by a trained interviewer using the diet-history method (31). Nutrient intakes were calculated by using the McCance and Widdowson's food composition table (32).

During the health checkup fasting venous blood was collected into heparinized evacuated tubes (Becton-Dickinson, Rutherford, NJ) between 0815 and 0915 or between 1145 and 1300. After centrifugation within 15 min, plasma samples were promptly stored at −20 °C for ≤ 2 mo until shipped on dry ice to the laboratories of Hoffmann-La Roche Ltd (Basel, Switzerland) for determination of retinol, retinol-binding protein (RBP), β-carotene, and α-tocopherol. Separate lines for high-pressure liquid chromatography were used for each of the two vitamins and β-carotene (33). RBP was measured by radial immunodiffusion (Behring AG, Marburg, FRG). Total cholesterol and triglyceride concentrations were determined by enzymatic methods (34, 35). The coefficients of variation of duplicate assays from day to day were < 5% for all biological analytes.

Statistical significance of variation between classes of sexual maturation and sex was assessed by F ratios calculated for the crude values. Standard stepwise-multiple-regression analysis was used to examine the relationship between plasma concentrations of retinol, β-carotene, α-tocopherol, and RBP and potential variation factors: plasma triglyceride and cholesterol, dietary intake (energy, protein, carbohydrates, fat, vitamins), sexual-maturation index, body fat, vitamin supplements, and type of drug use. All data reported were analyzed with the *BMDP* statistical software (Statistical Software Ltd, Cork, Ireland).

Results

Dietary intakes for boys and girls are shown in **Table 2.** Energy, carbohydrates expressed in percent, retinol, and β-carotene intake and retinol nutrient density of the diet were higher in boys than in girls whereas fat intake expressed in percent and β-carotene and α-tocopherol nutrient density were lower. Energy, β-carotene, and α-tocopherol intake increased in both sexes with increasing maturation index.

Figure 1 shows crude concentrations of plasma retinol, RBP, β-carotene and α-tocopherol for boys and girls according to the stages of sexual-maturation index. Plasma retinol and its carrier, RBP, significantly increased from immature to mature Tanner stages in both sexes ($P \leq 0.001$). Plasma β-carotene and α-tocopherol concentrations significantly decreased with increasing sexual maturation for the whole sample (respectively, $P \leq 0.05$ and $P \leq 0.001$) but analysis by sex showed that the decrease was

TABLE 2
Daily dietary intakes in boys and girls

	Boys	Girls	ANOVA significance	
			Between sexes	Among maturation stages
Energy				
(MJ)	12.37 ± 2.80*	9.90 ± 1.04	$P \leq 0.001$	$P \leq 0.001$
(kcal)	2959 ± 670	2369 ± 249	$P \leq 0.001$	$P \leq 0.001$
Protein (%)	15.2 ± 1.8	15.0 ± 1.8	NS	NS
Carbohydrate (%)	50.1 ± 4.2	49.4 ± 5.1	$P \leq 0.01$	NS
Fat (%)	34.0 ± 3.5	35.5 ± 4.4	$P \leq 0.001$	NS
Retinol				
(μg)	1165 ± 893	745 ± 363	$P \leq 0.001$	NS
(μg/5 MJ)†	477 ± 373	379 ± 177	$P \leq 0.001$	NS
(μg/1000 kcal)†	399 ± 312	317 ± 148	$P \leq 0.001$	NS
Beta-carotene				
(mg)	3.22 ± 1.45	2.88 ± 1.25	$P \leq 0.001$	$P \leq 0.01$
(mg/5 MJ)†	1.34 ± 0.61	1.51 ± 0.73	$P \leq 0.05$	NS
(mg/1000 kcal)†	1.12 ± 0.51	1.26 ± 0.61	$P \leq 0.05$	NS
Alpha-tocopherol				
(mg)	10.9 ± 3.8	10.7 ± 4.2	NS	$P \leq 0.001$
(mg/5 MJ)†	4.4 ± 1.3	5.4 ± 1.9	$P \leq 0.001$	NS
(mg/1000 kcal)†	3.7 ± 1.1	4.5 ± 1.6	$P \leq 0.001$	NS

* $\bar{x}$ ± SD.
† Nutrient density.

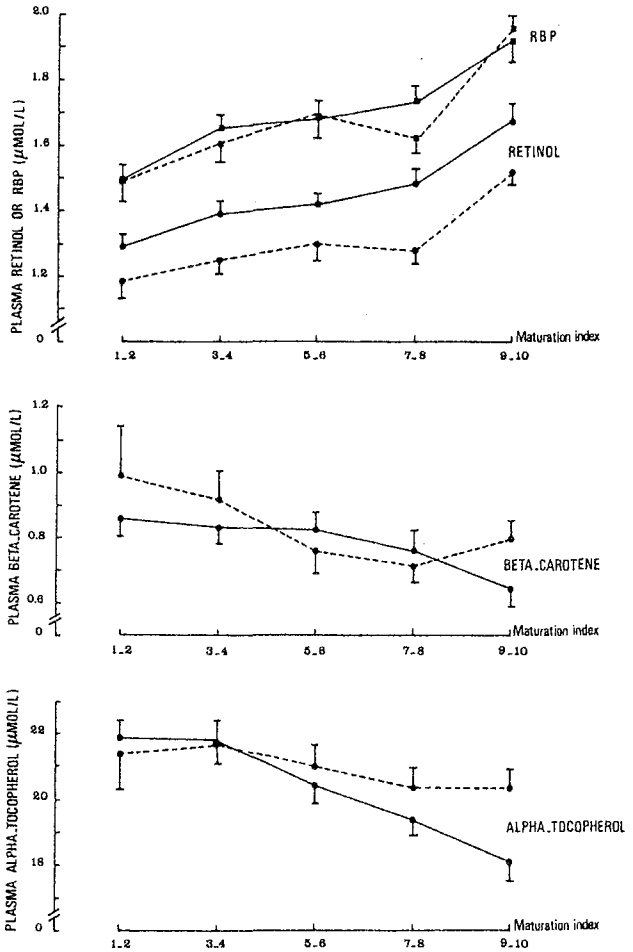


FIG 1. Plasma retinol, RBP, β-carotene, and α-tocopherol according to sexual-maturation index in males (● —— ●) and females (● - - ●). Vertical bars represent SE.

only significant in males for α-tocopherol ($P \leq 0.001$). As assessed by analysis of variance, males had higher retinol concentrations than did females for the whole sample and for the different maturation-index stages. For α-tocopherol only, boys classified as stage 9–10 had lower concentrations than did girls in the same stage ($P \leq 0.001$). No significant changes in plasma RBP and β-carotene concentrations were seen between genders. After adjustment for plasma cholesterol and triglyceride, effect of sex and maturation index remained for plasma retinol but disappeared for plasma β-carotene and α-tocopherol (data not shown).

As shown in **Figure 2,** crude values of body fat, plasma cholesterol, and triglyceride, which were reported to be correlated with fat-soluble vitamins, were related to sexual maturation. Body fat increased with increasing maturity in the whole sample, in males, and in females (all at $P \leq 0.001$). On the contrary, plasma cholesterol concentrations decreased from stages 1–2 to stages 9–10 but the difference was significant only in males ($P \leq 0.001$). Plasma triglyceride concentrations did not show any significant difference between maturation stages in both sexes. Females classified as stages 1–2 or 3–4 had significantly less body fat than did males in the same stages (respectively, $P \leq 0.01$ and $P \leq 0.05$), whereas after stages 5–6, body fat increased significantly in females ($P \leq 0.01$ at 7–8 and $P \leq 0.001$ at 9–10). Plasma cholesterol concentrations in males and females were statistically different only at stages 7–8 and 9–10, females showing higher concentrations than did males (respectively, $P \leq 0.05$ and $P \leq 0.01$). Plasma triglyceride did not differ significantly between sexes except at stages 5–6 where females had higher concentrations than did males ($P \leq 0.01$).

The results of multiple-regression analysis between blood vitamins and potential determinants appear in **Table 3,** where only the indices with statistically significant coefficients ($P \leq 0.05$) are mentioned. Energy, protein, carbohydrate, and fat intakes; vitamin supplements; and specific drugs use (especially hypolipidemic agents, antibiotics, analgesics, and anti-inflammatory drugs) were removed from the model because of nonsignificant regression coefficients. Plasma retinol concentration was positively related to plasma cholesterol and triglyceride, sexual-maturation index, body fat, and being male. For plasma RBP the same predictors were identified. Plasma β-carotene was positively related to plasma cholesterol and β-carotene nutrient density and negatively related to body fat and plasma triglyceride. Three predictors of plasma α-tocopherol were identified: plasma cholesterol and vitamin E nutrient density, which were positively related to its concentration, and sexual-maturation index, which was negatively related.

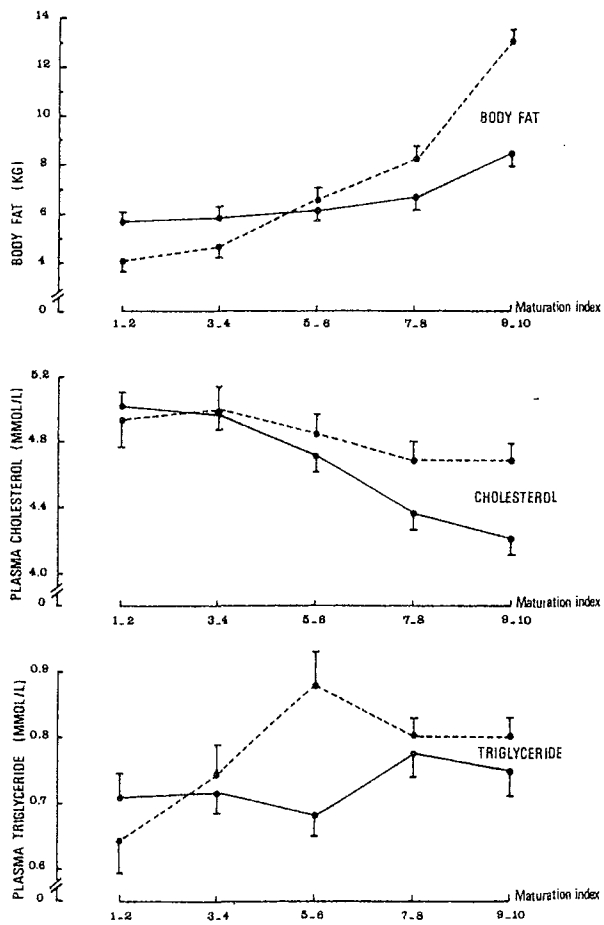


FIG 2. Body fat, plasma cholesterol, and triglyceride according to sexual-maturation index in males (● —— ●) and females (● - - ●). Vertical bars represent SE.

TABLE 3
Predictors of plasma retinol, RBP, β-carotene, and α-tocopherol in multiple-regression analysis in children

Predictor variables	Plasma retinol	Plasma RBP	Plasma β-carotene	Plasma α-tocopherol
	μmol/L	μmol/L	μmol/L	μmol/L
Plasma cholesterol (mmol/L)	0.052 ± 0.014*†	0.068 ± 0.019†	0.173 ± 0.022†	2.933 ± 0.146†
Plasma triglyceride (mmol/L)	0.269 ± 0.039†	0.270 ± 0.054†	−0.132 ± 0.065‡	0.916 ± 0.409‡
Sexual maturation index	0.032 ± 0.005†	0.039 ± 0.007†	—§	−0.142 ± 0.042†
Body fat (kg)	0.017 ± 0.003†	0.019 ± 0.005†	−0.017 ± 0.005†	—
Vitamin nutrient density‖	—	—	0.254 ± 0.033†	0.509 ± 0.082†
Gender (1:male, 2:female)	−0.193 ± 0.023†	−0.065 ± 0.032‡	—	—
Intercept	0.911	0.899	−0.092	4.759
Multiple R^2	0.320	0.241	0.204	0.506

* Regression coefficient ± SE.
† $P \leq 0.001$.
‡ $P \leq 0.05$.
§ Nonsignificant regression coefficient.
‖ Vitamin A (RE, μg/5 MJ) for plasma retinol and RBP, β-carotene (mg/5 MJ) for plasma β-carotene, vitamin E (mg/5 MJ) for plasma α-tocopherol.

Discussion

This study, based on a sample of 509 children, demonstrated that dynamic changes occur for plasma retinol, RBP, β-carotene, and α-tocopherol in children during adolescence and sexual maturation and that these changes are sex related. To our knowledge, no cross-sectional studies in adolescents regarding fat-soluble vitamins have been carried out previously that used a developmental index, either skeletal maturity or sexual maturation. However, other studies that used chronologic age (in y) corroborate our findings concerning the sharp increase of plasma retinol and RBP concentrations at the age of puberty in both boys and girls (~25%) (21, 22, 36–39).

For plasma β-carotene and α-tocopherol, only small age-dependent changes were reported in previous studies at adolescence. Plasma β-carotene concentrations were found to be decreased after age 9 y in both sexes in two surveys (21, 23). Literature provides more data about α-tocopherol concentrations: slight decreases were shown between ages 12 and 14 in boys only (24) or after age 11 y in both sexes (40). Other papers did not report homogeneous trends in girls (24) or in both sexes (21, 38).

Gender differences in mean vitamin A concentrations that begin to appear during adolescence (22, 34) were not found in previous surveys (21, 38, 39). Consistent with our results, no sexual differences during adolescence were indicated in the literature for plasma RBP (37, 39), α-tocopherol (24, 40), or β-carotene (23).

Also agreeing with our own data, cross-sectional and longitudinal studies based on sexual maturation or age showed that, as children pass through puberty, sex-related changes of plasma lipids and body fat occur (18–20, 41–43). These changes seem to be related to the alterations in gonodal hormones during this period of life (25–27). Administration of testosterone or progestin is known to decrease α-lipoprotein cholesterol in adults, whereas estrogen has an opposite effect (44, 45).

Results of multiple-regression analysis support and extend many of the findings of previous surveys in adolescents and older people. Plasma cholesterol and triglyceride were strong determinants of plasma retinol, β-carotene, and α-tocopherol concentrations (12–14, 16, 17, 21, 24). Body fat was positively related to retinol concentrations and negatively related to β-carotene (11–14, 16). Diet intake was a significant determinant of plasma concentration only for β-carotene and α-tocopherol (11–17). For the retinol carrier RBP, the same variation factors as those associated with retinol were found again.

After adjustment for the effects of confounding factors, the positive relationship between maturity index, plasma retinol, and RBP remained significant. For plasma α-tocopherol the trend to decrease with increasing maturity also remained. Moreover, in the same model, males had higher adjusted values for retinol and RBP than did females. It seems logical that these changes in plasma vitamins A and E and RBP occurring between 10 and 15 y are closely related to the alterations in gonadal hormones independently of the other determinants such as plasma lipids and body fat. Further clinical studies including hormonal analyses are needed to define the mechanisms of the factors operating during this period and influencing plasma vitamins and carriers.

In older individuals an influence of sex steroid hormones on plasma RBP and retinol concentrations was previously noted. In women, oral-contraceptive therapy induced a significant increase of RBP concentrations, which was correlated with the increase of vitamin A (46, 47). The change was more important for the formulas containing higher estrogen concentrations (47, 48). Bicyclic variation of the RBP concentration was reported during the menstrual cycle, probably induced by preovulatory and estradiol peaks (46). For β-carotene and α-tocopherol, results are less consistent (48, 49).

In summary, in our sample of adolescent children, important determinants of plasma retinol, RBP, β-carotene, and α-tocopherol were identified (plasma lipids, body fat, dietary intake, and sex), agreeing with previous studies in adults. After the confounding effect of other determinants were controlled for, plasma retinol and RBP increased with increasing maturity in both sexes whereas α-tocopherol decreased, supporting the evidence of

hormone regulation during this period of life. This study especially emphasizes the usefulness of the sexual-maturation index in surveys concerning vitamins A and E during adolescence.

We gratefully acknowledge I Bairati for her help in organizing the study; L Dostalova for her assistance in arranging for the vitamins assays at F Hoffmann-La Roche Ltd (Basel); L Didelot-Barthelemy, N Parisot, and D Claude for dietary data collection; and M Manciaux and Y Artur for their critical review of the manuscript. We are also indebted to the staff of the Preclinic and Laboratory Departments of the Center for Preventive Medicine of Nancy-Vandoeuvre for collection and processing of blood samples and to study participants: without them the study would not have been possible.

References

1. Shekelle RB, Lepper M, Liu S, et al. Dietary vitamin A and risk of cancers in the Western Electric Study. Lancet 1981;2:1185–90.
2. Hinds MW, Kolonel LN, Hankin JH, et al. Dietary vitamin A, carotene, vitamin C and risk of lung cancer in Hawaii. Am J Epidemiol 1984;119:227–37.
3. Samet JM, Shipper BJ, Humble CG, et al. Lung cancer risk and vitamin A consumption in New Mexico. Am Rev Respir Dis 1985;31:198–200.
4. Ziegler RG, Mason TJ, Stemhagen A, et al. Carotenoid intake, vegetables, and the risk of lung cancer among white men in New Jersey. Am J Epidemiol 1986;123:1080–93.
5. Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC. Diet and lung cancer; a review of the epidemiologic evidence in humans. Arch Intern Med 1987;147:157–60.
6. Stahelin HB, Rosel F, Buess E, et al. Cancer, vitamins, and plasma lipids: prospective Basel study. J Natl Cancer Inst 1984;73:1463–8.
7. Willett WC, Polk BF, Underwood BA, et al. Relation of serum vitamins A and E and carotenoids to the risk of cancer. N Engl J Med 1984;310:430–4.
8. Wald NJ, Boreham J, Hayward JL, et al. Plasma retinol, beta-carotene, and vitamin E levels in relation to the future risk of breast cancer. Br J Cancer 1984;49:321–4.
9. Nomura AMY, Stemmermann GN, Heilbrun LK, et al. Serum vitamin levels and the risk of cancer of specific sites in men of Japanese ancestry in Hawaii. Cancer Res 1985;45:2369–72.
10. Menkes MS, Comstock GW, Vuilleumier JP, et al. Serum beta-carotene, vitamins A and E, selenium, and the risk of lung cancer. N Engl J Med 1986;315:1250–4.
11. Nierenberg DW, Stukel TA, Baron JA, et al. Determinants of plasma levels of beta-carotene and retinol. Am J Epidemiol 1989;130:511–21.
12. Herbeth B, Didelot-Barthelemy L, Le Devehat C, Lemoine A. Plasma retinol, carotenoids and tocopherols: biological variation factors between 18 and 45 years. Ann Nutr Metab 1988;32:297–304 (in French).
13. Herbeth B, Chavance M, Musse N, Mejean L, Vernhes G. Dietary intake and other determinants of blood vitamins in an elderly population. Eur J Clin Nutr 1989;43:175–86.
14. Herbeth B, Didelot-Barthelemy L, Lemoine A, Le Devehat C. Plasma fat-soluble vitamins and alcohol consumption. Am J Clin Nutr 1988;47:343–4.
15. Roidt L, White E, Goodman GE. Association of food frequency questionnaire estimates of vitamin A intake with serum vitamin A levels. Am J Epidemiol 1988;128:645–54.
16. Stryker WS, Kaplan LA, Stein EA, Stampfer MJ, Sober A, Willett WC. The relation of diet, cigarette smoking, and alcohol consumption to plasma beta-carotene and alpha-tocopherol levels. Am J Epidemiol 1988;127:283–96.
17. Russell-Briefel R, Bates MW, Kuller LH. The relationship of plasma carotenoids to health and biochemical factors in middle-aged men. Am J Epidemiol 1985;122:741–9.
18. Berenson GS, Srinivasan SR, Cresanta JL, Foster TA, Webber LS. Dynamic changes of serum lipoproteins in children during adolescence and sexual maturation. Am J Epidemiol 1981;113:157–70.
19. Viikari J, Akerblom HK, Nikkari T, et al. Atherosclerosis precursor in Finnish children and adolescents. IV. Serum lipids in newborn, children and adolescents. Acta Paediatr Scand Suppl 1985;318:103–9.
20. Tell GS, Mittelmark NB, Vellard OB. Cholesterol, high density lipoprotein cholesterol and triglycerides during puberty: the Oslo Youth Study. Am J Epidemiol 1985;122:750–61.
21. Malvy JMD, Mourey MS, Carlier C, et al. Retinol, beta-carotene and alpha-tocopherol status in a French population of healthy children. Int J Vitam Nutr Res 1989;59:29–34.
22. Garry PJ, Hunt WC, Bandrofchak JL, Vanderjagt D, Goodwin JS. Vitamin A intake and plasma retinol levels in healthy elderly men and women. Am J Clin Nutr 1987;46:989–94.
23. Ito Y, Minohara M, Ogitsu N, et al. Serum concentrations of alpha-carotene, beta-carotene, lycopene, and retinol-binding protein in human subjects. Jap J Clin Chem 1987;16:18–25.
24. Widhalm K, Hölzl M, Brubacher G. Lipids, lipoproteins and alpha-tocopherol: relationship and changes during adolescence. A longitudinal study. Ann Nutr Metab 1985;29:12–8.
25. Lee PA, Xenakis T, Winer J, et al. Puberty in girls: correlation in serum level of gonodatropins, prolactin, androgens, estrogens, and progestins. J Clin Endocrinol Metab 1976;43:775–84.
26. Lee PA, Migeon CJ. Puberty in boys. Correlation of plasma levels of gonadotropins (LH, FSH), androgens (testosterone, androstene dione, dehydroepiandrosterone, and its sulfate), estrogens (estrone and estradiol), and progestins (progesterone and 17-hydroxyprogesterone). J Clin Endocrinol Metab 1975;41:556–62.
27. Gupta D, Attanasio A, Raaf S. Plasma estrogen and androgen concentrations in children during adolescence. J Clin Endocrinol Metab 1975;40:636–43.
28. Deschamps JP. Experience in France with periodic monitoring of family health. In: Harris EK, Yosaka T, eds. Maintaining a healthy state within the individual. Amsterdam: Elsevier Science/North Holland, 1987:3–8.
29. Tanner JM. Growth at adolescence. 2nd ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1962.
30. Cheek DB. Human growth. Philadelphia: Lea and Febiger, 1968.
31. Cubeau J, Pequignot G. Quantitative dietary questionnaire used by the nutrition division of INSERM. Rev Epidemiol Sante Publique 1980;28:367–72 (in French).
32. Paul AA, Southgate DAT. McCance and Widdowson's the composition of foods. London: Elsevier/North Holland Biomedical Press, 1978.
33. Vuilleumier JP, Keller HE, Gysel D, Hunziker F. Clinical chemical methods for the routine assessment of the vitamin status in human populations. Part 1: The fat-soluble vitamins A and E and beta-carotene. Int J Vitam Nutr Res 1983;53:265–72.
34. Douste-Blazy L, Beucler I, Blaton V, et al. Selected enzymatic method for total cholesterol determination. Inform Scient Biol 1979;4:23–31.
35. Steinmetz J, Panek E. Enzymatic determination of plasma triglyceride on GSA II. Effect of storage and analytic interferences. J Clin Chem Clin Biochem 1978;16:613–9.
36. Pilch S, ed. Assessment of the vitamin A nutritional status of the US population based on data collected in the health and nutrition examination surveys. Bethesda, MD: Federation of American Societies for Experimental Biology, 1985.
37. Lockitch G, Halstead AC, Quigley G, Mac Callum C. Age- and sex-specific pediatric reference intervals: study design and methods illustrated by measurement of serum proteins with the Behring LN nephelometer. Clin Chem 1988;34:1618–21.
38. Lockitch G, Halstead AC, Wadsworth L, Quigley G, Reston L, Jacobson B. Age- and sex-specific pediatric reference intervals and correlations for zinc, copper, selenium, iron, vitamins A and E, and related proteins. Clin Chem 1988;34:1625–8.

39. Vahlquist A, Rask L, Peterson PA, Berg T. The concentrations of retinol-binding protein, prealbumin and transferrin in the sera of newly delivered mothers and children of various ages. Scand J Clin Lab Invest 1975;35:569–75.
40. Looker AC, Underwood BA, Wiley J, Fulwood R, Sempos CT. Serum α-tocopherol levels of Mexican Americans, Cubans, and Puerto Ricans aged 4–74 years. Am J Clin Nutr 1989;50:491–6.
41. Akerblom HK, Viikari J, Uhari M, et al. A study of cardiovascular risk factors and their determinants in Finnish children. Ann Clin Res 1984;16:23–33.
42. Deschamps JP, Andre JL, Gueguen R. Relationships between blood pressure and weight characteristics among children and adolescents. Blood pressure, fat index, lean body mass, and body fat. Rev Epidemiol Sante Publique 1982;30:11–9 (in French).
43. Spyckerelle Y, André JL, Deschamps JP. Blood pressure and puberty: relationships with stature and weight characteristics. Pediatrie 1989;44:505–11 (in French).
44. Barr DP. Some chemical factors in the pathogenesis of atherosclerosis. Circulation 1953;8:641–54.
45. Furman RH, Alaupovic P, Howard RP. Effects of androgens and estrogens on serum lipids and the composition and concentration of serum lipoproteins in normolipemic and hyperlipidemic states. Progr Biochem Pharmacol 1967;2:215–49.
46. Vahlquist A, Johnsson A, Nygren KG. Vitamin A transporting plasma proteins and female sex hormones. Am J Clin Nutr 1979;32: 1433–8.
47. Cumming FJ, Briggs MH. Changes in plasma vitamin A in lactating and nonlactating oral contraceptive users. Br J Obstet Gynecol 1983;90:73–7.
48. Yeung DL, Chan PL. Effects of a progestogen and a sequential type oral contraceptive on plasma vitamin A, vitamin E, cholesterol and triglycerides. Am J Clin Nutr 1975;28:686–91.
49. Tangney CC, Driskell JA. Vitamin E status of young women on combined type oral contraceptives. Contraception 1978;17:499–512.

Dietary intake and other determinants of blood vitamins in an elderly population

Herbeth B, Chavance M, Musse N, Mejean L, Vernhes G

Eur J Clin Nutr 1989;43:175-186

Dans les années 80, la communauté scientifique a commencé à s'intéresser au statut nutritionnel de la personne âgée et aux facteurs associés aux déficiences en micronutriments. En effet, le changement du comportement alimentaire du point de vue qualitatif et quantitatif, et la modification du métabolisme peuvent engendrer des déficiences. Les facteurs de variation des indicateurs biologiques de statut en vitamines étaient peu connus chez les personnes âgées, c'est ce qui a justifié ce travail.

Les relations entre d'une part, l'alimentation, les lipides plasmatiques, l'âge, le sexe, l'indice pondéral, la consommation de cigarettes et d'alcool, la prise de médicaments et les infections et d'autre part, les indicateurs de statut en rétinol, β-carotène, α-tocophérol, acide ascorbique et vitamines B1, B2 et B6 ont été étudiés chez 291 hommes et femmes âgés de 60 à 82 ans.

Après ajustement sur les autres paramètres, les apports alimentaires et les indicateurs sanguins sont significativement corrélés pour le β-carotène, l'α-tocophérol, l'acide ascorbique, les vitamines B2 et B6, mais pas pour le rétinol et la vitamine B1. Les autres facteurs déterminant ces indicateurs biologiques sont : la consommation de cigarettes qui a un effet négatif sur le statut en rétinol, β-carotène, α-tocophérol, acide ascorbique et vitamine B2 ; la consommation d'alcool pour le rétinol et le β-carotène (baisse du taux plasmatique) ; les lipides plasmatiques et la prise d'hypolipémiants pour les vitamines liposolubles ; l'indice pondéral pour le β-carotène et la vitamine B6 ; le sexe et la prise d'antibiotiques pour l'acide ascorbique. Les relations entre le sexe et les indicateurs du statut en rétinol, β-carotène, α-tocophérol et vitamine B6 ne sont plus significatives après ajustement sur la consommation d'alcool et de tabac. Le tabac et l'alcool apparaissent comme 2 facteurs associés qui doivent être pris en compte dans les études sur les relations entre ces vitamines et les affections liées aux habitudes tabagiques et alcooliques.

En résumé, les apports alimentaires en carotène, vitamines E, C, B2 et B6 sont corrélés avec les niveaux sanguins des indicateurs de statut en chacune de ces vitamines : β-carotène, α-tocophérol et acide ascorbique plasmatiques et test d'activation des enzymes érythrocytaires glutathion réductase et glutamate oxaloacétate aminotransférase (enzymes ayant respectivement comme coenzymes, la vitamine B2 et la vitamine B6). Les autres déterminants mis en évidence, consommation de tabac et d'alcool, indice pondéral, lipides plasmatiques, sont également des facteurs de risque de pathologies diverses et devront être pris en compte dans les études épidémiologiques sur les relations entre statut en vitamines et santé.

European Journal of Clinical Nutrition (1989) **43**, 175–186.
Received 24 September 1988; accepted 15 December 1988.

DIETARY INTAKE AND OTHER DETERMINANTS OF BLOOD VITAMINS IN AN ELDERLY POPULATION

B. HERBETH[1,2], M. CHAVANCE[3], N. MUSSE[4], L. MEJEAN[4] and G. VERNHES[5]

[1]*Centre de Médecine Préventive, 2 avenue du Doyen Jacques Parisot, BP 7, F-54501 Vandoeuvre-les-Nancy Cédex,* [2]*INSERM U 115, Facultés de Médecine, BP 184, F-54505 Vandoeuvre-les-Nancy Cédex,* [3]*INSERM U 169, 16 avenue Paul-Vaillant-Couturier, F-94807 Villejuif Cédex,* [4]*INSERM U 308, 38 rue Lionnois, F-54000 Nancy and* [5]*Centre d'Examen de Santé, Place de la Bibliothèque, F-57000 Metz, France*

The relationships of diet, plasma lipids, age, gender, ponderal index, cigarette and alcohol consumption, drug use and infections to blood concentrations of retinol, beta-carotene, alpha-tocopherol, ascorbic acid and vitamins B_1, B_2, B_6 status were studied among 291 men and women aged 60–82 years. Statistically significant correlations between dietary intake and blood indicator levels were found respectively for beta-carotene, alpha-tocopherol, ascorbic acid, vitamins B_2 and B_6, but not for retinol and thiamin, when the effects of other parameters were controlled. The main other determinants were cigarette consumption which had a negative effect on status for retinol, beta-carotene, alpha-tocopherol, ascorbic acid and vitamin B_2; alcohol consumption for retinol, vitamin B_6 (positive effect on status) and beta-carotene (decrease of plasma level); plasma lipids and use of hypolipaemic drugs for fat-soluble vitamins; ponderal index for beta-carotene and vitamin B_6; gender and use of antibiotics for ascorbic acid. The apparent relation between gender and level of retinol, beta-carotene, alpha-tocopherol and vitamin B_6 status was not any more significant after adjustment for alcohol or cigarette consumption. Tobacco and alcohol appear to be associated factors which should be controlled for in studies investigating relations between these vitamins and diseases influenced by smoking and drinking habits.

Interest in the vitamin status of the elderly has increased in recent years since this population may be particularly vulnerable to micronutrient deficiencies due to decrease energy intake and impaired metabolism. Usually vitamin status of individuals or populations has been assessed by examining dietary intake and/or vitamin levels in plasma, serum or erythrocytes (Arab, Schellenberg & Schlierf, 1982; Ferro-Luzzi *et al.*, 1988) with the hypothesis that in most instances, blood vitamin levels reflect biological status which results from different phenomena, ie, intake, absorption, storage, utilization and elimination. However, interpretation of the vitamin content in blood is still difficult because of lack of well-defined limits and data about variation factors, particularly in the elderly. The purpose of this study was to determine the major determinants of retinol, beta-carotene, alpha-tocopherol, ascorbic acid and vitamins B_1, B_2, B_6 blood levels in an elderly population using multiple regression analysis with particular attention to dietary intake.

Subjects and methods

The group under study consisted of a subsample of 291 self-sufficient individuals aged 60–82 years participating in a survey about relationships between nutrition and immunity between 1983 and 1985. For the needs of this survey, the subjects were

© The Macmillan Press Ltd. 1989

invited by letter to have a free health check-up in the Health Examination Centres of Nancy or Metz (Deschamps, 1987) (Eastern France), from the elderly population under the general administration of the Social Security (60–82 years, mixed socioeconomic status). The subjects had to live in Nancy or Metz (urban population) in their own homes. Only volunteers who came to the Health Examination Centres, who did not suffer from any disease which could modify their immunity or nutritional status (cancer, arthritis, liver diseases) and who gave informed consent were included in the survey. A total of 411 elderly subjects answered and agreed to participate (about 20 per cent of the letters sent). Of these, 291 were interviewed about their diet and were included in the statistical analysis set out here.

During the health check-up, fasting venous blood specimens were collected between 8:00 and 9:00 a.m. in two lithium heparinate tubes (10 ml). After a physical examination (age, height, weight) the ponderal index was calculated according to Lorentz ie, ponderal index (%) = weight (kg) × 100/[height (cm) − 100 − (height(cm) − 150)/C], where C = 4 for men, C = 2 for women. The subjects were asked about their cigarette consumption expressed in g/d (1 cigarette = 1 g, 1 cigar = 3 g, 1 pipe = 5 g) Dietary information was collected by means of a 7-d prospective survey. At the end of the health examination, each person received a 7-d diary to record his daily food and beverage consumption and the quality, quantity, origin and method of preparation of the food. In the morning of the 8th day, a dietitian interviewed each subject for details on seasoning, drinks, cooking and the use of fresh or canned products, and evaluated the quantity of food ingested per day. From this 7-d collection of information, daily intake of energy and vitamins were calculated from a computerized food composition table based on the Souci's table (Souci, Fachmann & Kraut, 1981; Marcocchi *et al.*, 1987). Use of drugs and vitamin supplements was recorded in the subjects' home, where it was possible to carry out any verification. The number of infections during the last month was also recorded in the subject's home by means of a detailed questionnaire including fourteen headings.

The first heparinate tube was centrifuged within 15 min to separate the plasma. Total cholesterol and triglyceride levels were determined by an enzymatic method (Steinmetz, 1985 *a*,*b*). Aliquots for retinol, beta-carotene and alpha-tocopherol determinations were stored at −20 °C until analysed using high-pressure liquid chromatography (Vuilleumier *et al.*, 1983*a*). Aliquots for ascorbic acid determination were immediately frozen at −20 °C (within 30 min) with fresh cold metaphosphoric acid solution (5 per cent) until analysed by the method of Deutsch and Weeks (Brubacher & Vuilleumier, 1974).

The assays for vitamins A, E, C and beta-carotene were made within 2 months from blood collection.

For the determination of vitamins B_1, B_2, B_6 status, the blood in the second heparinate tube was homogenized and an aliquot was immediately transferred into sterile brown glass septum ampoules containing ACD-stabilizer. The vials were stored at 4–6 °C (7 d at most) until analysed. Vitamins B_1, B_2 and B_6 were assessed by respectively measuring the activation of erythrocytic transketolase (ETK) by thiamin pyrophosphate (TPP), the activation of erythrocytic glutathione reductase (EGR) by flavin adenosine dinucleotide (FAD) and the activation of erythrocytic glutamate oxoloacetate aminotransferase (EGOT) by pyridoxal-5-phosphate (PLP), using Cobas Bio apparatus (Vuilleumier *et al.*, 1983*b*). For the three enzymes, one assay was made with untreated haemolysate, the other with the same haemolysate after incubation *in vitro* with excess coenzyme (TPP, FAD or PLP). Results of tests were expressed as activation coefficients alpha-ETK, alpha-EGR and alpha-EGOT (alpha: activity after saturation/activity without saturation). A small response to coenzyme

stimulation was taken to indicate an already high saturation with coenzyme, ie, a good vitamin status. Alpha-ETK and alpha-EGR were not determined at the beginning of the study and for the other vitamins, a few values were missing because of bad transport or thawing.

The coefficients of variation of duplicate assays from day to day were below 5 per cent for all vitamins (Vuilleumier *et al.*, 1983*a,b*; Brubacher, 1985, personal communication).

Pearson correlation coefficient and standard stepwise multiple regression analysis were used to analyse interrelationships between blood vitamins and variation factors: plasma lipids only for fat-soluble vitamins (triglycerides and cholesterol), diet factors (energy, protein, carbohydrate, fat, alcohol and vitamin intake), physical parameters (age, gender and ponderal index), cigarette consumption, vitamin supplements (only for vitamin B_6) and type of drug use (tranquillizer, hypnotic, antihypertensive agents, cardiotonic, hypolipaemic, diuretic, antibiotic, analgesic, hormone, anti-inflammatory), number of drugs, and presence of an infection during the last month.

Results

The 139 men were slightly older than the 152 women of the study (68.7 ± 4.6 years *vs* 67.5 ± 4.5 years). One subject was using vitamin A supplement, two vitamin B_1, and five vitamin B_6; no subject took vitamin C or E supplements. The subjects using retinol and vitamin B_1 supplements were not taken into account in the stepwise regression analysis respectively for plasma retinol and alpha-ETK, but the subjects using vitamin B_6 supplements were kept for alpha-EGOT analysis. There was no significant change in blood vitamin levels with advancing age. Mean plasma level of retinol was higher in males than in females; on the contrary for beta-carotene, alpha-tocopherol, ascorbic acid and alpha-EGOT, mean levels were higher in females (Table 1). Alpha-ETK, alpha-EGR and the basal activity of ETK, EGR and EGOT were identical in both sexes.

The daily intakes of energy, macronutrients and selected vitamins of the two groups – males and females – are shown in Table 2. Males had higher intakes than females of total energy as well as protein, carbohydrate, fat, alcohol, vitamins B_1, B_2 and B_6. Intake of macronutrients expressed as a percentage of non-alcoholic energy and vitamins A, E, C and beta-carotene intake were similar in both sexes.

Correlates of blood vitamin indicators are presented in Table 3. Variables with statistically non-significant correlation coefficients ($P > 0.05$) are not presented (carbohydrate, fat and protein intakes, age, use of tranquillizers, hypnotics, diuretics and hormones and number of drugs).

Table 1. *Blood vitamin indices in men and women.*

	Males		*Females*	
	No.	*Mean ± s.d.*	*No.*	*Mean ± s.d.*
Plasma retinol, µmol/l	139	2.43 ± 0.57*	152	2.30 ± 0.49
Plasma beta-carotene, µmol/l	139	0.74 ± 0.42***	152	1.05 ± 0.63
Plasma alpha-tocopherol, µmol/l	139	31.6 ± 8.6***	152	35.3 ± 7.4
Plasma ascorbic acid, µmol/l	136	36.7 ± 22.6***	141	50.3 ± 24.3
Vitamin B_1 ETK, U/l[a]	104	75 ± 10	112	76 ± 10
alpha-ETK	104	1.12 ± 0.05	112	1.11 ± 0.04
Vitamin B_2 EGR, U/l[a]	104	849 ± 166	112	870 ± 186
alpha-EGR	104	1.28 ± 0.16	112	1.28 ± 0.18
Vitamin B_6 EGOT, U/l[a]	139	291 ± 125	151	262 ± 100
alpha-EGOT	139	1.60 ± 0.26*	151	1.66 ± 0.23

[a]Basal activity in arbitrary units: µmol substrate transformed per min and per litre of erythrocyte suspension of haematocrit 40 per cent at temperature of test.
Significance of difference according to gender: * $P \leq 0.05$; *** $P \leq 0.001$ by *t*-test.

Table 2. *Daily dietary intakes of men and women (mean ± s.d.).*

	Males (n = 139)	*Females (n = 152)*
Total energy, kcal	2283 ± 546***	1800 ± 441
Protein, g	82.6 ± 17.9***	68.8 ± 15.2
% energy[a]	15.9 ± 2.3	16.0 ± 2.6
Carbohydrate, g	234.6 ± 68.9***	191.2 ± 55.8
% energy[a]	44.3 ± 6.1	43.5 ± 6.5
Fat, g	92.9 ± 26.8***	78.5 ± 22.7
% energy[a]	39.6 ± 6.0	40.3 ± 6.3
Alcohol, g	25.2 ± 19.9***	7.6 ± 13.2
Vitamin A, RE μg[b]	1212 ± 649	1155 ± 588
Carotene, mg	4.18 ± 2.77	4.39 ± 2.60
Vitamin E, mg	15.3 ± 6.4	14.4 ± 6.7
Vitamin C, mg	128 ± 49	125 ± 49
Vitamin B_1, mg	1.17 ± 0.29***	1.02 ± 0.24
Vitamin B_2, mg	1.49 ± 0.41***	1.29 ± 0.46
Vitamin B_6, mg	1.68 ± 0.42***	1.42 ± 0.34

[a] Percentage of non-alcohol energy
[b] RE (μg) = retinol (μg) + carotene (μg)/6
Significance of difference according to gender ***$P \leq 0.001$ by *t*-test.

The results of multiple regression analysis between blood vitamins and variation factors appear in Tables 4 and 5; only parameters with statistically significant coefficients ($P \leq 0.05$) are mentioned.

For fat-soluble vitamins, Table 4 shows that 21 per cent of the variance of plasma retinol was explained by six parameters: plasma triglyceride and cholesterol, use of hypolipidaemic drugs and alcohol consumption were positively related to its concentration, while cigarette consumption and infection during the last month were negatively related to it. Six predictors of beta-carotene, explaining 30 per cent of the variance, were identified: beta-carotene intake and plasma cholesterol were positively related, but alcohol or cigarette consumption, ponderal index and hypolipaemic drug use were negatively related to its plasma concentration. For alpha-tocopherol, four variables explained 62 per cent of the variance: vitamin E intake and the two plasma lipids were positively related and cigarette consumption negatively related to its plasma concentration.

For water-soluble vitamins, Table 5 shows that vitamin C intake was positively related while cigarette consumption and antibiotic use were negatively related to plasma ascorbic acid; its concentration was also higher in females than in males, but these four variables explained only 14 per cent of the variance; vitamin B_6 status was positively related (ie, alpha-EGOT negatively related) to vitamin B_6 intake, vitamin B_6 supplement use and alcohol consumption, but negatively related to ponderal index (13 per cent of the variance explained). Vitamin B_2 status was positively related (ie, alpha-EGR negatively related) to vitamin B_2 intake and negatively related to cigarette consumption (7 per cent of the variance explained). None of these parameters had any significant effect on vitamin B_1 status, ie, on alpha-ETK.

Discussion

In this cross-sectional study we found statistically significant correlations between dietary intake and blood indicator levels respectively for beta-carotene, alpha-tocopherol, ascorbic acid, vitamins B_2 and B_6, when the effects of other factors were controlled. Moreover, vitamin B_6 supplement increased vitamin B_6 status (decrease of alpha-EGOT level). Other studies among elderly or younger people

Table 3. *Predictors of blood vitamin indicators in bivariate regression analysis (correlation coefficient).*

Variable	*Plasma retinol*[a]	*Plasma beta-carotene*[a]	*Plasma alpha-tocopherol*[a]	*Plasma ascorbic acid*[a]	*Alpha-ETK*[a]	*Alpha-EGR*[a]	*Alpha-EGOT*[a]
Plasma triglycerides[a]	0.232***	—	0.491***	—	—	—	—
Plasma cholesterol[a]	0.201***	0.312***	0.699***	—	—	—	—
Energy intake[a]	—	—	—	—	—	—	−0.135*
Alcohol consumption[a]	0.228***	−0.230***	−0.127*	−0.165**	—	—	−0.207***
Vitamin intake[a,b]	—	0.206***	—	0.149*	—	−0.209***	−0.170**
Gender (1: males, 2: females)	—	0.255***	0.251***	0.263***	—	—	−0.317***
Ponderal index[c]	—	−0.198***	—	—	—	—	0.143*
Cigarette consumption	−0.141*	−0.315***	−0.157**	−0.200***	—	0.172**	−0.119*
Drug consumption (0 : no, 1 : yes)							
Antihypertensive agent	0.126*	—	—	—	—	—	—
Cardiotonic	—	−0.141*	—	—	—	—	—
Hypolipaemic	0.149*	−0.152*	—	—	—	—	—
Antibiotic	—	—	—	−0.175**	—	—	—
Analgesic	—	—	—	—	—	0.178**	—
Antiinflammatory	—	−0.173**	—	—	—	—	—
Vitamin B_6	—	—	—	—	—	—	0.213***
Infection during the last month (0 : no, 1 : yes)	−0.157**	−0.128*	—	—	—	—	—

[a] Log transformation used to increase normality.
[b] Vitamin A (RE) for retinol, carotene for beta-carotene, vitamin E for alpha-tocopherol, vitamin C for ascorbic acid, vitamin B_1 for alpha-ETK, vitamin B_2 for alpha-EGR and vitamin B_6 for alpha-EGOT.
[c] According to Lorentz's formula.
*$P \leq 0.05$, **$P \leq 0.01$, ***$P \leq 0.001$.

Table 4. *Predictors of plasma retinol, beta-carotene and alpha-tocopherol in multiple regression analysis.*

Variable	*Retinol*[a] *(μmol/l) Regression coefficient (s.d.)*	*Beta-carotene*[a] *(μmol/l) Regression coefficient (s.d.)*	*Alpha-tocopherol*[a] *(μmol/l) Regression coefficient (s.d.)*
Plasma triglycerides[a], mmol/l	0.1012 (0.0291)***	—	0.1843 (0.0205)***
Plasma cholesterol[a], mmol/l	0.1856 (0.0746)*	0.9551 (0.1811)***	0.8142 (0.0526)***
Alcohol consumption[a], g/d	0.0492 (0.0092)***	−0.0584 (0.0233)*	—
Cigarette consumption[a], g/d	−0.0450 (0.0140)**	−0.2014 (0.0353)***	−0.0250 (0.0097)
Ponderal index[a], %	—	−0.8444 (0.2099)***	—
Vitamin intake[a,b]	—	0.1627 (0.0464)***	0.0714 (0.0187)***
Hypolipaemic drug use (1 = yes, 0 = no)	0.1420 (0.0534)**	−0.4037 (0.1360)***	—
Infection during the last month (1 = yes, 0 = no)	−0.0891 (0.0354)*	—	—
Intercept	0.3964 (0.1412)	2.003 (1.087)	1.7703 (0.1088)
Multiple r^2	0.207	0.298	0.618

[a] Log transformaion used to increase normality.
[b] Vitamin A (RE, μg/d) for retinol, carotene (μg/d) for beta-carotene, vitamin E (mg/d) for alpha-tocopherol.
* $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$.

Table 5. *Predictors of plasma ascorbic acid, alpha-ETK, alpha-EGR and alpha-EGOT in multiple regression analysis.*

Variable	*Ascorbic acid*[a] (μmol/l) *Regression coefficient (s.d.)*	*Alpha-ETK*[a] *Regression coefficient (s.d.)*	*Alpha-EGR*[a] *Regression coefficient (s.d.)*	*Alpha EGOT*[a] *Regression coefficient (s.d.)*
Alcohol consumption[a], g/d	—	—	—	−0.0188 (0.0064)**
Cigarette consumption[a], g/d	−0.1107 (0.0463)*	—	0.0217 (0.0085)*	—
Ponderal index[a], %	—	—	—	0.1566 (0.0565)**
Vitamin intake, [a,b]	0.3189 (0.1068)**	—	−0.0897 (0.0269)***	−0.0715 (0.0343)*
Vitamin B_6 supplement use (1: yes, 0: no)	—	—	—	−0.2745 (0.0675)***
Antibiotic use (1: yes, 0: no)	−1.0770 (0.3543)**	—	—	—
Gender (1: male, 2: female)	0.3501 (0.0870)***	—	—	—
Intercept	−1.5659 (0.5358)	—	0.2561 (0.0119)	−0.2045 (0.2730)
Multiple r^2	0.141	—	0.071	0.126

[a] Log transformation used to increase normality.
[b] Vitamin C (mg/d) for ascorbic acid, vitamin B_1 (mg/d) for alpha-ETK, vitamin B_2 (mg/d) for alpha-EGR, vitamin B_6 (mg/d) for alpha-EGOT.
*$P \leq 0.05$, **$P \geq 0.01$, ***$P \leq 0.001$.

have demonstrated the same associations (dietary intake and blood level) for beta-carotene (Willett *et al.*, 1983*a*; Russell-Briefel, Bates & Kuller, 1985; Stryker *et al.*, 1988), alpha-tocopherol (Willett *et al.*, 1983*a*; Stryker *et al.*, 1988), ascorbic acid (Garry *et al.*, 1982*b*; Jacob, Skala & Amaye, 1987), vitamin B_2 (Garry, Goodwin & Hunt, 1982*a*). Several previous studies have shown that beta-carotene, vitamin A, E and C supplements raised respectively plasma levels of beta-carotene (Willett *et al.*, 1983*b*; Russell-Briefel *et al.*, 1985), retinol (Garry *et al.*, 1987), alpha-tocopherol (Willett *et al.*, 1983*b*; Comstock *et al.*, 1988) and ascorbic acid (Mann *et al.*, 1987; Vanderjagt, Garry & Bhagavan, 1987), while vitamins B_1, B_2 and B_6 supplements decreased respectively alpha-ETK (Hoorn, Flikweert & Werterink, 1975), alpha-EGR (Garry, Goodwin & Hunt, 1982*a*; Mann *et al.*, 1987) and alpha-EGOT (Hoorn *et al.*, 1975)(increase of B_1, B_2 and B_6 status).

We did not find any relationship between preformed vitamin A intake and plasma retinol, like Garry *et al.* (1987) and Willett *et al.* (1983*a*) and between thiamin intake and alpha-ETK. In most instances, plasma vitamin A levels do not reflect liver stores because plasma levels are controlled homoeostatically. If intakes remain low for a prolonged period of time, stores eventually will become exhausted and plasma levels will decrease (Garry *et al.*, 1987).

The negative effects of smoking on blood levels of retinol, beta-carotene, alpha-tocopherol, ascorbic acid and alpha-EGR are consistent with observations from other investigations (Arab *et al.*, 1982; Russell-Briefel *et al.*, 1985; Comstock *et al.*, 1988; Stryker *et al.*, 1988), but the reason for this is not yet known: whether it is related to metabolism or increase of requirements, impairment of absorption or excretion (Stryker *et al.*, 1988). For vitamin C, Kallner, Hartmann & Horning (1981) demonstrated that heavy smokers require a greater daily intake of ascorbic acid to reach plasma levels comparable to those of non-smokers; this phenomenon has been attributed to an increased metabolic turnover of ascorbic acid induced by tobacco.

In our study, alcohol consumption was associated with higher plasma retinol level, lower plasma beta-carotene level and lower alpha-EGOT. Similar results for retinol and beta-carotene were observed (Stähelin *et al.*, 1984; Russell-Briefel *et al.*, 1985; Ferro-Luzzi *et al.* 1988; Stryker *et al.*, 1988) and were partly explained by possibly enhanced mobilization of vitamin A from the liver to the circulating blood as a result of hepatocytic microsomal enzyme induction, with or without depletion of hepatic stores (Majumdar, Shaw & Thomson, 1983; Sherlock, 1984). Using EGOT activation, Hell & Six (1977) described a decrease of activation coefficient (an apparent better vitamin B_6 status) in chronic alcoholics, probably due to alcohol or metabolic processes induced by it and recommended that the test should not be used in the presence of chronic alcoholism.

The linear relations of plasma lipids with blood levels of fat-soluble vitamins – triglycerides and cholesterol with retinol and alpha-tocopherol, cholesterol with beta-carotene – are consistent with many reports (Arab *et al.*, 1982; Willett *et al.*, 1983*a*; Stähelin *et al.*, 1984; Russell-Briefel *et al.*, 1985; Garry *et al.*, 1987; Stryker *et al.*, 1988). Using bivariate analysis on the one hand and controlling the effects of other factors, particularly plasma lipids, on the other hand, we noted an association of plasma retinol and beta-carotene with the use of hypolipaemic drugs (increase of retinol and decrease of beta-carotene plasma concentrations).

Data concerning the use of hypocholesterolaemic drugs in the literature are rare and difficult to compare with ours. Probstfield *et al.* (1985) observed non-significant decreases in serum retinol and total carotenoids (adjusted for LDL cholesterol) after clofibrate therapy (a hypolipaemic agent with structure similar to fenofibrate) among 28 type IIa hyperlipoproteinaemic patients. But these authors did not control for the effects of other lipids like plasma triglycerides. However, using

another type of hypocholesterolaemic agent (cholestipol: a bile-acid sequestering agent) serum total carotenoid levels were reduced after 6 months of therapy, adjusting for LDL cholesterol. It was suggested that changes in the level of serum carotenoids are related to alterations in the absorption of carotenoids during bile-acid sequestrant administration (Probstfield *et al.*, 1985). Schwartz *et al.* (1980) noticed significant reductions in serum concentrations of vitamins A and E among children with heterozygous familial hypercholesterolaemia during 24 months of cholestipol therapy but without adjustment for other factors. The increase of plasma retinol and decrease of beta-carotene observed in subjects using clofibrate or related drugs might be connected to the alteration of hepatic metabolism induced by these products.

The effect of the other drugs reported in bivariate analysis (antihypertensive agent, cardiotonic, analgesic and antiinflammatory) disappeared when the effect of factors related to diseases like hypertension (plasma lipids, ponderal index, use of hypolipaemic drugs) was controlled.

The inverse relationship between beta-carotene and ponderal index observed in our data after adjustment for associated factors like alcohol and cigarette consumption, gender and plasma lipids, has been noted previously (Willett *et al.*, 1983*a*; Stryker *et al.*, 1988) and it may represent a 'dilutional' effect of a given amount of beta-carotene being distributed to a large fat store according to Stryker *et al.* (1988). The association of relative weight with alpha-EGOT had not previously been reported, as far as we know.

The apparent relation of gender with retinol, beta-carotene, alpha-tocopherol and vitamin B_6, observed in bivariate analysis, was not any more significant after adjustment for other factors including alcohol or tobacco consumption. This phenomenon can be explained by the important differences in alcohol and tobacco consumption observed in this sample as in most populations (Arab *et al.*, 1982; Stryker *et al.*, 1988). We have already reported the same results among 217 males and females aged 18–45 years (Herbeth *et al.*, 1988). Other investigators also reported higher plasma levels in males for retinol (Vuilleumier *et al.*, 1983*a*; Comstock *et al.*, 1988; Stryker *et al.*, 1988), while the levels were higher in females for beta-carotene (Vuilleumier *et al.*, 1983*a*; Comstock *et al.*, 1988; Stryker *et al.*, 1988), alpha-tocopherol (Comstock *et al.*, 1988), ascorbic acid (Garry *et al.*, 1982*b*) and alpha-EGOT (Arab *et al.*, 1982).

In a sample of younger people, Willett *et al.* (1983*a*) found a significant association between gender and plasma retinol and beta-carotene after adjustment for plasma lipids, Quetelet's index, age, vitamin intake and energy intake. But they did not adjust for alcohol or cigarette consumption. Garry *et al.* (1987) have recently shown that crude serum retinol concentrations are similar in preschool boys and girls.

Sex differences in serum beta-carotene level have been reported to be small before puberty (Aoki *et al.*, 1987) and in older age groups (Ito *et al.*, 1987). Garry *et al.* (1987) and Ito *et al.* (1987) have hypothesized that plasma retinol and carotenoids could be hormonally regulated, probably by oestrogens (Ram & Bamji, 1979; Cummings & Briggs, 1983). Nevertheless, the smaller sex differences in younger subjects and the fading of these differences (in adults) after adjustment for alcohol and cigarette consumption both support the hypothesis of an effect of these two environmental factors unevenly distributed among sexes.

For vitamin C, the difference between males and females remains significant after adjustment for other factors. This last observation could be related to the lower volume of distribution in the steady-state turnover of ascorbic acid in females than in males (Kallner, Hartmann & Horning, 1979; Garry *et al.*, 1982*b*).

In controlled human studies, tetracycline therapy led to a significant depletion of leucocytes and plasma ascorbic acid after 4 d of treatment (Shah, Barbbaiya & Srinivasan, 1968; Windsor *et al.*, 1972), in

parallel there was an increase in the urinary excretion of the vitamin. As an explanation, the authors suggested that tetracyclines may block the renal reabsorption of ascorbic acid and also may act as a catalyst in the degradation of ascorbic acid to dehydroascorbic acid. In our study we noticed that the use of antibiotics significantly decreased plasma ascorbic acid, but no subject took tetracyclines. The main antibiotic types used belonged to the penicillins, macrolides and chloramphenicol class. Do these antimicrobial drugs have effects similar to those of tetracyclines on vitamin C metabolism? We have not found any report in the literature about antibiotics other than tetracyclines.

In summary, in our cross-sectional study among elderly: (1) Dietary intakes of carotenoids, vitamins E, C, B_2 and B_6 were associated with blood indicator levels (plasma beta-carotene, alpha-tocopherol, ascorbic acid, alpha-EGR and alpha-EGOT) and this contributes to the validation of these biochemical indicators. (2) Important other determinants were identified, most of them, like alcohol or cigarette consumption, ponderal index, plasma triglycerides and cholesterol, are well-known risk factors for numerous diseases. Thus they represent associated factors which should be considered in studies relating vitamin index to risk of disease.

Acknowledgments—The authors are grateful to G. Brubacher and J.P. Vuilleumier (F. Hoffman-La Roche and Co., Basle) for the vitamins analysis, V. Michaux and M.P. Recouvreur for processing of blood samples, F. Dete, R. Sansone, F. Michel and A. Schwertz for their help in data collection, E. Staab for manuscript typing and the staff of Dietetic and Nutrition Department of the Centre d'Examen de Santé de Metz.

References

Aoki, K., Ito, Y., Sasaki, R., Ohtani, M., Hamajima, N. & Asano, A. (1987): Smoking, alcohol drinking and serum carotenoids levels. *Jap. J. Cancer Res.* **78,** 1049–1056.

Arab, L. Schellenberg, B. & Schlierf, G. (1982): Nutrition and health. A survey of young men and women in Heidelberg. *Ann. Nutr. Metab.* **26,** suppl. 1, 1–244.

Brubacher, G. & Vuilleumier, J. P. (1974): Vitamin C. In *Clinical biochemistry, principles and methods*, ed H.C. Curtius & M. Roth, pp. 889–997. Berlin-New York: W. de Gruyter.

Comstock, G.W., Menkes, M.S., Schober, S.E., Vuilleumier, J.P. & Helsing, K.J. (1988): Serum levels of retinol, beta-carotene and alpha-tocopherol in older adults. *Am. J. Epidemiol.* **127,** 114–123.

Cummings, F.J. & Briggs, M. (1983): Changes in plasma vitamin A in lactating and non-lactating oral contraceptive users. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* **90,** 73–77.

Deschamps, J.P. (1987): Experience in France with periodic monitoring of family health. In *Maintaining a healthy health state within the individual*, ed E.K. Harris & T. Yasaka, pp. 3–8. Amsterdam: Elsevier Science/North Holland.

Ferro-Luzzi, A., Mobarhan, S., Maiani, G., Scaccini, C., Sette, S., Nicastro, A., Ranaldi, L., Polito, A., Azzini, E., Torre, S.D. & Jama, M.A. (1988): Habitual alcohol consumption and nutritional status of the elderly. *Eur. J. Clin. Nutr.* **42,** 5–13.

Garry, P.J., Goodwin, J.S. & Hunt, W.C. (1982*a*): Nutritional status in a healthy elderly population: riboflavin. *Am. J. Clin. Nutr.* **36,** 902–909.

Garry, P.J., Goodwin, J.S., Hunt, W.C. & Gilbert, B.A. (1982*b*): Nutritional status in a healthy elderly population: vitamin C. *Am. J. Clin. Nutr.* **36,** 332–339.

Garry, P.J., Hunt, W.C., Bandrofchak, J.L., Vanderjagt, D. & Goodwin, J.S. (1987): Vitamin A intake and plasma retinol levels in healthy elderly men and women. *Am. J. Clin. Nutr.* **46,** 989–994.

Hell, D. & Six, P. (1977): Thiamin-, Riboflavin- und Pyridoxin-Versorgung bei chronischen Alkololismus. *Dtsch Med. Wochenschr.* **102,** 962–966.

Herbeth, B., Didelot-Barthelemy, L., Le Devehat, C. & Lemoine, A. (1988): Retinol, carotenoides et tocopherols plasmatiques: facteurs de variation biologique entre 18 et

45 ans. *Ann. Nutr. Metab.* (in press).

Hoorn, R.K.J., Flikweert, J.P. & Westerink, D. (1975): Vitamin B_1, B_2 and B_6 deficiencies in geriatric patients, measured by coenzyme stimulation of enzyme activities. *Clin. Chim. Acta* **61**, 151–162.

Ito, Y., Minohara, M., Ogitsu, N., Kusuhara, Y., Sasaki, R., Otani, M., Ito, M. & Aoki, K. (1987): Serum concentrations of alpha-carotene, beta-carotene, lycopene and retinol-binding protein in human subjects. *Jap. J. Clin. Chem.* **16**, 18–25.

Jacob, R.A., Skala, J.H. & Omaye, S.T. (1987): Biochemical indices of human vitamin C status. *Am. J. Clin. Nutr.* **46**, 818–826.

Kallner, A., Hartmann, D. & Horning, D. (1979): Steady-state turnover and body pool of ascorbic acid in man. *Am. J. Clin. Nutr.* **32**, 530–539.

Kallner, A., Hartmann, D. & Horning, D. (1981): On the requirements of ascorbic acid in man: steady-state turnover and body pool in smokers. *Am. J. Clin. Nutr.* **34**, 1347–1355.

Majumdar, S.K., Shaw, G.W. & Thomson, A.D. (1983): Vitamin A utilization status in chronic alcoholic patients. *Internat. J. Vit. Nutr. Res.* **53**, 273–279.

Mann, B.A., Garry, P.J., Hunt, W.C., Owen, G.M. & Goodwin, J.S. (1987): Daily multivitamin supplementation and vitamin blood levels in the elderly: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J. Am. Geriatr. Soc.* **35**, 302–306.

Marocchi, N., Musse, J.P., Kohler, F., Michaud, C., Michel, F., Schwertz, A., Drouin, P. & Mejean, L. (1987): Une expérience d'enquête nutritionnelle informatisée à la foire de Nancy. Consommation alimentaire d'un groupe de population. Cah. Nutr. Diet. **22**, 185–195.

Probstfield, J.L., Lin, T.L., Peters, J., & Hunninghake, D.B. (1985): Carotenoids and vitamin A: the effect of hypocholesterolemic agents on serum levels. *Metabolism* **34**, 88–91.

Ram, M.M. & Bamji, M.S. (1979): Serum vitamin A and retinol-binding protein in malnourished women treated with oral contraceptives: effects of estrogen dose and duration of treatment. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **135**, 470–472.

Russell-Briefel, R., Bates, M.W. & Kuller, L.H. (1985): The relationship of plasma carotenoids to health and biochemical factors in middle-aged men. *Am. J. Epidemiol.* **122**, 741–749.

Schwartz, K.B., Goldstein, P.D., Witztum, J.L. & Schonfeld, G. (1980): Fat-soluble vitamin concentrations in hypercholesterolemic children treated with colestipol. *Pediatrics* **65**, 243–250.

Shah, K.U., Barbbaiya, H.C. & Srinivasan, U. (1968): Ascorbic acid levels in blood during tetracycline administration. *J. Ind. Med. Assoc.* **15**, 127–129.

Sherlock, S. (1984): Nutrition and the alcoholic. *Lancet* **1**, 436–439.

Souci, S.W., Fachmann, W. & Kraut, H. (1981): *Food composition and nutrition tables 1981–1982*, p. 1352. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Mbh.

Stähelin, H.B., Rosel, F., Buess, E. & Brubacher, G. (1984): Cancers, vitamins and plasma lipids: prospective basal study. *J. Natl Cancer Inst.* **73**, 1463–1468.

Steinmetz, J. (1985*a*): Cholesterol. In *Interpretation of clinical laboratory tests*, ed G. Siest, J. Henny, F. Schiele & D.S. Young, pp. 177–195. Foster City: Biomedical Publications.

Steinmetz, J. (1985*b*): Triglycerides. In *Interpretation of clinical laboratory tests*, ed G. Siest, J. Henny, F. Schiele & D.S. Young, pp. 413–427. Foster City: Biomedical Publications.

Stryker, W.S., Kaplan, L.A., Sten, E.A., Stampfer, M.J., Sober, A. & Willett, W.C. (1988): The relation of diet, cigarette smoking and alcohol consumption to plasma beta-carotene and alpha-tocopherol levels. *Am. J. Epidemiol.* **127**, 283–296.

Vanderjagt, D.J., Garry, P.J. & Bhagavan, H.N. (1987): Ascorbic acid intake and plasma level in healthy elderly people. *Am. J. Clin. Nutr.* **46**, 290–294.

Vuilleumier, J.P., Keller, H.E., Gysel, D. & Hunziker, F. (1983*a*): Clinical chemical methods for the routine assessment of the vitamin status in human populations. Part I: The fat-soluble vitamins A and E and beta-carotene. *Internat. J. Vit. Nutr. Res.* **53**, 265–272.

Vuilleumier, J.P., Keller, H.E., Rettenmaier, R. & Hunziker, F. (1983*b*): Clinical chemical methods for the routine assessment of the vitamin status in human populations. Part II: The water-soluble vitamins B_1, B_2 and B_6. *Internat. J. Vit. Nutr. Res.* **53**, 359–370.

Willett, W.C., Stampfer, M.J., Underwood, B.A., Speizer, F.E., Rosner, B. R. & Hennekens, C.H. (1983*a*): Validation of a dietary questionnaire with plasma carotenoid and alpha-tocopherol levels. *Am. J. Clin. Nutr.* **38**, 631–639.

Willett, W.C., Stampfer, M.J., Underwood, B.A., Taylor, J.O. & Hennekens, C.H. (1983*b*): Vitamins A, E and carotene: effects of supplementation on their plasma levels. *Am. J. Clin. Nutr.* **38**, 559–566.

Windsor, A.C.M., Hobbs, C.B., Treby, D.A. & Cowper, R.A. (1972): Effect of tetracycline on leucocyte ascorbic acid levels. *Br. Med. J.* **1**, 214–215.

Résumé: Les relations entre d'une part l'alimentation, les lipides plasmatiques, l'âge, le sexe, l'indice pondéral, la consommation de cigarettes et d'alcool, la prise de médicaments et les infections et, d'autre part les indicateurs sanguins du statut en retinol, bêta-carotène, alpha-tocopherol, acide ascorbique et vitamines B_1, B_2 et B_6 ont été étudiés chez 291 hommes et femmes âgés de 60 à 82 ans. Après ajustement sur les autres paramètres, les apports alimentaires et les indicateurs sanguins sont significativement corrélés pour le bêta-carotène, l'alpha-tocopherol, l'acide ascorbique, les vitamines B_2 et B_6, mais pas pour le retinol et la vitamine B_1. Les principaux autres facteurs de variation sont: la consommation de cigarettes qui a un effet négatif sur le statut en retinol, bêta-carotène, alpha-tocopherol, acide ascorbique et vitamine B_2; la consommation d'alcool pour le retinol et la bêta-carotène (baisse du taux plasmatique); les lipides plasmatiques et la prise d'hypolipémiants pour les vitamines liposolubles; l'indice pondéral pour le bêta-carotène et la vitamine B_6; le sexe et la prise d'antibiotiques pour l'acide ascorbique. Les relations entre le sexe et les indicateurs du statut en rétinol, bêta-carotène, alpha-tocophérol et vitamine B_6 ne sont plus significatives après ajustement sur la consommation d'alcool et de tabac. Le tabac et l'alcool apparaissent comme deux facteurs associés qui doivent être pris en compte dans les études sur les relations entre ces vitamines et les affections liées aux habitudes tabagiques et alcooliques.

Determinants of plasma retinol, beta-carotene and alpha-tocopherol

Herbeth B, Chavance M, Musse N, Mejean L, Vernhes G

Lettre à l'éditeur : Am J Epidemiol 1990;132:394-396

Deux articles publiés en 1988 par Strycker et al. et Comstosk et al. nous ont donné l'occasion d'approfondir les analyses statistiques à propos de 2 facteurs de variation des taux circulants des vitamines A, E et β-carotène : la consommation de médicaments et le tabagisme.

Un sous-échantillon de 282 personnes âgées (60-87 ans) recruté dans les centre d'examen de santé de Metz et de Vandoeuvre-les-Nancy et issu de l'étude précédemment décrite (**P10**) a servi de base de travail. Sur cet échantillon, nous disposions des données alimentaires, de la consommation de tabac et de médicaments ainsi que des dosages biologiques de vitamines A, E et β-carotène.

L'analyse par régression multiple montre que l'α-tocophérol et le β-carotène plasmatiques sont tous deux corrélés aux apports respectifs en vitamine E et en carotène. La consommation de tabac a un effet négatif sur les concentrations des 3 micronutriments, la consommation d'alcool, en revanche, est associée à une augmentation du rétinol plasmatique et à une diminution du β-carotène. Contrairement aux résultats de Strycker et al. nous n'avons pas retrouvé de terme d'interaction entre le tabagisme et les apports en carotène pour les concentrations en β-carotène dans le plasma. Au contraire, les coefficients de corrélation ajustés sur les cofacteurs (sexe, lipides plasmatiques, apports en énergie et alcool, indice pondéral et prise d'hypolipémiants) sont supérieurs chez les fumeurs (0,329) comparativement aux non-fumeurs (0,158). Ce résultat ne soutient pas l'hypothèse émise dans la publication de Strycker et al. selon laquelle il faudrait des apports en carotène plus importants chez les fumeurs que chez les non-fumeurs pour maintenir un taux constant de β-carotène circulant. Pour la vitamine E, le même phénomène est observé : corrélations apports/concentrations plasmatiques plus élevées chez les fumeurs que chez les non-fumeurs.

Parmi les différents médicaments testés dans la régression multiple (après ajustement), seule la prise d'hypolipémiants est positivement associée à la concentration de rétinol et négativement à celle du β-carotène. Sans ajustement, on retrouve les mêmes résultats que ceux de Comstock et al., c'est à dire, une augmentation du rétinol et de l'α-tocophérol circulants chez les sujets qui prennent des antihypertenseurs. Après ajustement sur les facteurs associés à l'hypertension, lipides plasmatiques, prise d'hypolipémiants et indice pondéral, l'effet des médicaments de cette classe disparaît. Comstock et al. n'avaient pas ajusté sur ces cofacteurs avant de publier ces résultats ! Leur hypothèse sur la régulation par le rein des taux de rétinol chez les sujets prenant des hypolipémiants n'est pas confortée par nos résultats.

AMERICAN JOURNAL OF EPIDEMIOLOGY
Vol. 132, No. 2
Copyright © 1990 by The Johns Hopkins University School of Hygiene and Public Health
All rights reserved
Printed in U.S.A.

Letters to the Editor

DETERMINANTS OF PLASMA RETINOL, BETA-CAROTENE, AND ALPHA-TOCOPHEROL

In two recent articles, Stryker et al. (1) and Comstock et al. (2) presented interesting results about determinants of plasma retinol, beta-carotene, and alpha-tocopherol among 330 and 415 adults, respectively. They looked at the relations between plasma vitamins and smoking (1), diet intake (1), and antihypertensive drug use (2) in particular. Using a cross-sectional design (3), we recently studied the main variation factors of these three fat-soluble vitamins in a sample of 282 elderly subjects (age range, 60–82 years), selected at the Centers for Preventive Medicine of Nancy-Vandoeuvre and Metz (eastern France).

Food intakes were estimated by use of a 7-day diary and a computerized food composition table based on a table in the paper by Souci et al. (4). Plasma levels of retinol, beta-carotene, and alpha-tocopherol were measured by the high-pressure liquid chromatography method. Our observations confirm the main results of Stryker et al. (1) and Comstock et al. (2), as well as those of previous studies (5, 6), but on some points different conclusions were reached.

Table 1 presents the results of the three stepwise linear regression analyses performed. For beta-carotene and alpha-tocopherol, dietary intake was related to plasma concentrations ($p < 0.01$), while for the three vitamins, cigarette smoking had a negative effect on plasma levels ($p < 0.01$ or $p < 0.001$). Alcohol consumption was negatively related to beta-carotene plasma concentration ($p < 0.05$) and positively related to retinol plasma concentration ($p < 0.001$). It must be emphasized that our observations come from 281 subjects who were not taking vitamin supplements.

Contrary to the results of Stryker et al. (1), the interaction term for smoking and vitamin intake did not approach statistical significance for beta-carotene. The partial correlation coefficient between carotene

TABLE 1

Predictors of plasma retinol, beta-carotene and alpha-tocopherol in multiple regression analysis among 282 elderly subjects: data collected between 1983 and 1985 in the Centers for Preventive Medicine of Nancy and Metz

Predictor variables†	Retinol† (μg/liter)	Beta-carotene† (μg/liter)	Alpha-tocopherol† (mg/liter)
Plasma triglyceride (mmol/liter)	0.104 (0.029)***‡	—‖	0.178 (0.020)***
Plasma cholesterol (mmol/liter)	0.199 (0.074)*	0.955 (0.181)***	0.805 (0.051)***
Alcohol consumption (g/day)	0.048 (0.009)***	−0.058 (0.023)*	—
Cigarette consumption (g/day)	−0.048 (0.014)**	−0.201 (0.035)***	−0.172 (0.056)**
Ponderal index (%)	—	−0.844 (0.210)***	—
Vitamin intake§	—	0.163 (0.046)***	0.071 (0.021)***
Energy intake (kcal/day)	—	—	−0.086 (0.039)*
Hypolipemic drug use (1 = yes, 0 = no)	0.146 (0.054)**	−0.404 (0.136)***	—
Vitamin intake§ × cigarette consumption	—	—	0.055 (0.021)**
Intercept	6.017 (0.140)	8.269 (1.087)	0.926 (0.109)
Multiple r^2	0.207	0.298	0.618

* $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$.

† All variables except hypolipemic drug use were $\log_e$-transformed before regression.

‡ Regression coefficient (standard error).

§ Vitamin A (retinol equivalent, μg/day) for retinol, carotenoids (μg/day) for beta-carotene, vitamin E (mg/day) for alpha-tocopherol.

‖ Nonsignificant regression coefficient.

intake and blood level of beta-carotene, adjusted for sex, plasma lipids, alcohol and energy intake, ponderal index, and use of hypolipemic drug was greater for smokers (0.329, $p < 0.05$) than for nonsmokers (0.158, $p < 0.05$). Thus, our data do not support the hypothesis that for a given increment of dietary carotene the plasma level of beta-carotene increases less for smokers than for nonsmokers. The discrepancy between the results of our study and those of Stryker et al. cannot be related to a different use of beta-carotene supplement in the populations studied since there was no user of such supplement in both samples. Concerning alpha-tocopherol, the interaction term between vitamin intake and smoking was significant ($p < 0.05$); this observation was due to a larger partial correlation between intake and blood levels for smokers (0.513, $p < 0.001$) than for nonsmokers (0.195, $p < 0.01$), but in the study by Stryker et al. (1), the association of intake of vitamin E with plasma levels was similar over categories of cigarette consumption. For vitamin A, we did not observe any significant correlation between intake and plasma levels.

Concerning the effect of drugs, we observed, using bivariate analysis, that subjects taking antilipemic agents had higher plasma retinol concentrations (mean ± standard deviation: 774 ± 149 vs. 671 ± 165 μg/liter, $p \leq 0.01$) and lower beta-carotene concentrations (mean ± standard deviation: 310 ± 143 vs. 489 ± 299 μg/liter, $p \leq 0.05$) than the others. These effects remained significant after adjustment for plasma lipids (table 1). Subjects who used antihypertensive agents had higher plasma retinol levels (mean ± standard deviation: 718 ± 158 vs. 667 ± 149 μg/liter, $p < 0.05$) and higher plasma alpha-tocopherol levels (mean ± standard deviation: 15.3 ± 4.3 vs. 14.3 ± 3.3 mg/liter, borderline significance) than did other subjects. However, this effect disappeared when the effect of factors related to hypertension (plasma lipids, ponderal index, and use of hypolipemic drugs) was controlled (table 1). Comstock et al. (2) also observed higher plasma retinol and alpha-tocopherol levels in subjects using antihypertensive drugs, but they did not control for the effect of factors related both to hypertension and liposoluble vitamins such as plasma lipids or corpulence.

A common conclusion reached in our study and in the preceding ones is that ponderal index and alcohol and cigarette consumption are important determinants of retinol, beta-carotene, and alpha-tocopherol blood levels. These levels are also strongly related to plasma lipids. It should be emphasized that these three variables are well-known risk factors for many diseases and that, as stated by Stryker et al. "incomplete control of (these) factors could lead to false estimates of increased cancer risk with decreased blood beta-carotene levels because of the confounding effects of tobacco and alcohol use" (1, pp. 294–5).

REFERENCES

1. Stryker WS, Kaplan LA, Stein EA, et al. The relation of diet, cigarette smoking, and alcohol consumption to plasma beta-carotene and alpha-tocopherol levels. Am J Epidemiol 1988;127:283–96.
2. Comstock GW, Menkes MS, Schober SE, et al. Serum levels of retinol, beta-carotene, and alpha-tocopherol in older adults. Am J Epidemiol 1988;127:114–23.
3. Herbeth B, Chavance M, Musse N, et al. Dietary intake and other determinants of blood vitamins in an elderly population. Eur J Clin Nutr 1989;43:179–86.
4. Souci SW, Fachmann W, Kraut H. Food composition and nutrient tables 1981/82. Stuttgart: Wissenschaftliche

Verlagsgesellschaft Mbh., 1981.
5. Russell-Briefel R, Bates MW, Kuller LH. The relationship of plasma carotenoids to health and biochemical factors in middle-aged men. Am J Epidemiol 1985; 122:741–9.
6. Willett WC, Stampfer MJ, Underwood BA, et al. Validation of a dietary questionnaire with plasma carotenoid and alpha-tocopherol levels. Am J Clin Nutr 1983;38: 631–9.

Bernard Herbeth
Centre de Médecine Préventive
INSERM U 115
2, Avenue du Doyen J. Parisot
BP 7
F 54501 Vandoeuvre-les-Nancy Cedex, France

Michel Chavance
INSERM U 169
16, Avenue Paul-Vaillant-Couturier
F 94807 Villejuif, France

Nadine Musse
Luc Mejean
INSERM U 308
38, rue Lionnois
F 54000 Nancy, France

Gérald Vernhès
Centre d'Examen de Santé
3, Place de la Bibliothèque
F 57000 Metz, France

Editors' note: In accordance with Journal *policy, Dr. Stryker and his associates and Dr. Comstock and his associates were asked if they would like to respond to the letter by Dr. Herbeth et al., but chose not to do so.*

Vitamin status, immunity and infections in an elderly population

Chavance M, Herbeth B, Fournier C, Janot C, Vernhes G

Eur J Clin Nutr 1989;43:827-835

Dans les années 80, les relations entre nutrition et immunité commencent à être bien décrites dans les pays en voie de développement, cependant dans les pays industrialisés, peu de choses sont connues dans ce domaine. La seule étude épidémiologique de référence avait été menée aux USA chez des personnes âgées dont 60% prenaient des suppléments vitaminiques. Les résultats issus d'individus prenant des mégadoses de vitamines n'étaient pas transposables à la population française du moment.

Ce travail a donc été initié afin d'estimer les relations entre le statut vitaminique, les paramètres immunologiques et le nombre des infections dans un échantillon de personnes autonomes et en bonne santé, âgées de plus de 60 ans. Au total 411 individus ont participé à cette étude, mais 202 ont été éliminés de l'exploitation statistique sur des critères pouvant interférer sur les fonctions immunitaires et le statut nutritionnel : infection récente, vaccination ou prise de certains médicaments. Les indicateurs plasmatiques de statut en vitamines, rétinol, α-tocophérol, acide ascorbique et vitamine B6 ont été déterminés. Trois marqueurs de l'immunité cellulaire ont été mesurés : pourcentage de lymphocytes T, prolifération des lymphocytes en présence de phytohémaglutinine, hypersensibilité retardée à 7 antigènes ubiquitaires. De plus, un questionnaire sur la fréquence des infections passées a été rempli par chaque personne.

Compte tenu des limites de décision pour les indicateurs biologiques mesurés, 5 % des sujets de notre étude sont à risque de déficience pour la vitamine B6, 10 % pour la vitamine C et seulement 0,5 % pour le rétinol ; aucune personne n'est à risque pour la vitamine E. Deux résultats importants, en accord avec les observations expérimentales de la littérature, méritent d'être soulignés. Tout d'abord, le statut en vitamine B6 est positivement associé au pourcentage de sous-populations de lymphocytes T : les personnes situées dans le premier tertile de statut en vitamine B6 (statut bas) présentent des proportions de cellules CD5 et CD4 plus basses (50,6 et 32,6 %, respectivement) comparativement à celles situées dans le dernier tertile (62,0 et 41,0 %). Les individus du tertile médian présentent des valeurs intermédiaires (57,6 et 39,5 %). Les concentrations en vitamine E dans le plasma sont négativement corrélées au nombre des infections passées : les personnes situées dans le dernier tertile de la distribution déclarent avoir eu moins d'infections dans les 3 dernières années que celles situées dans le premier tertile (respectivement 1,0 et 2,3 infections en moyenne). Aucune autre relation n'a été mise en évidence entre les 2 groupes d'indicateurs nutritionnels et immunologiques.

Malgré ces 2 résultats cohérents avec les données expérimentales, il semble que les indicateurs d'immunité cellulaire dans notre échantillon sont peu affectés par le statut en vitamines. Dans la littérature, les travaux montrant des relations entre statut nutritionnel et fonction immunitaire portent, la plupart du temps, sur des populations présentant des déficiences sévères. Ceci peut expliquer nos propres résultats.

European Journal of Clinical Nutrition (1989) **43**, 827–835.
Received 13 April, 1989; accepted 1 September, 1989

VITAMIN STATUS, IMMUNITY AND INFECTIONS IN AN ELDERLY POPULATION

M. CHAVANCE[1], B. HERBETH[2], C. FOURNIER[3], C. JANOT[4] and G. VERNHES[5]

[1]INSERM U169, 16 Av. P. Vaillant-Couturier, F94807 Villejuif, [2]Centre de Médecine Préventive, 2 Av. Parisot, F54500 Vandœuvre, [3]INSERM U283, Hôpital Cochin, 27 rue du Fg St Jacques, F75674 Paris, [4]Centre de Transfusion Sanguine, Plateau de Brabois, F54511 Vandœuvre, and [5]Centre d'Examens de Santé Metz, 3 Place de la Bibliothèque, F5700 Metz, France.

The relations between vitamin status and immunological parameters or number of infections have been investigated in self-sufficient healthy individuals aged 60 and over. A total of 411 subjects agreed to participate, but 202 were discarded from the main statistical analysis since they could have had their immune or nutritional status modified by a recent infection, vaccination or drug consumption. Plasma concentrations of retinol, α-tocopherol, ascorbic acid and vitamin B_6 were determined. Three indices of cellular immunity were measured: percentages of T-cell subsets, lymphoproliferative response to phytohaemaglutinin and delayed-type hypersensitivity to 7 ubiquitous antigens. A questionnaire about past infections was presented.

Two results, supported by previous experimental observations, should be underlined. Vitamin B_6 status was positively related to percentages of T-cell subsets: the lowest percentages of CD5 and CD4 cells were observed in the low B_6 status group (50.6 and 32.6 per cent) and the highest percentages in the high B_6 status group (62.0 and 41.0 per cent), with intermediate values in the medium group (57.6 and 39.5 per cent). Vitamin E status was negatively related to the number of past infections: subjects with a high α-tocopherol plasma concentration had fewer infections during the last 3 years (1.0) than those with a medium (2.2) or a low (2.3) concentration. In spite of these two observations, cellular immunity did not seem to be strongly related to vitamin status in the supposedly healthy population studied.

The existence of a relationship between nutrition and immunity is widely recognized (Gross & Newberne, 1980; Beisel, 1982; Panush & Delafuente, 1985), but little is known about its impact in industrialized countries. Some studies have shown that marginal deficits, without clinical signs of malnutrition, can affect human natural defences (McMurray, Watson & Reyes, 1981; Buzina, 1981). The variability in physiological measurement is generally greater in old age (Siest *et al.*, 1983); thus, if in a country like France some groups of subjects have their immunity impaired because of marginal nutritional deficiencies, it is probably among the elderly that such a phenomenon can be best observed. Clinical trials performed in Belgium or Canada have shown that nutritional support can improve immune responses of elderly subjects (Kennes *et al.*, 1983; Chandra & Puri, 1985*a*). As far as we know, the only epidemiological survey on the relations between nutrition and immunity in the elderly performed in a western country was the one by Goodwin & Garry (1983), but in this study 60 per cent of the subjects were ingesting one or more vitamin or mineral supplements; thus, the authors

© The Macmillan Press Ltd. 1989

were only able to study the relationship between megadose vitamin supplementation and immunological function.

We present here the results of an epidemiological survey performed in France to measure indicators of cellular immunity and susceptibility to infections of healthy elderly subjects according to their vitamin status. The relationships between blood vitamins and dietary intakes have been already presented (Herbeth *et al.*, 1989).

Subjects and methods

Population

Self-sufficient individuals, living in their own homes, were invited by letter to have a free health check-up in the Screening Centres of Nancy or Metz (Eastern France). Only volunteers who did not suffer from any disease which could modify their immunity were included in the study. A short questionnaire about known illness was presented and subjects with cancer, arthritis or liver disease were not included. All subjects who during the last month had suffered from any kind of infection, were vaccinated or had been taking anti-infectious medication (antibiotics, anti-tubercular, anti-parasitic, anti-viral, sulfamides), analgesics, hormones or anti-inflammatory drugs were identified. Subjects with an abnormal erythrocyte sedimentation rate or an abnormal blood count according to the criteria used by the Nancy Screening Centre (Siest *et al.*, 1983) were also identified. These subjects might have had their immune and nutritional status modified; unless explicitly stated, they were not considered in the statistical comparisons.

Immunological parameters

During the health check-up, fasting blood specimens were collected between 8:00 and 9:00 a.m. in three lithium heparinate tubes. For mononuclear cell isolation and identification, heparinized blood was diluted one-third in Hanks' balanced salt solution and layered onto a Ficoll-Hypaque gradient (Pharmacia, Uppsala, Sweden). After centrifugation at 320 g for 15 min, the cells at the interface were collected, pooled and washed in Hanks' solution. An aliquot of them was diluted in an appropriate medium (RPMI 1640, Flow, Rockville, MD) supplemented with 20 per cent fetal calf serum (FCS) in the presence of 15 per cent dimethyl sulphoxide, preserved by freezing, and stored in liquid nitrogen.

T-cell subsets. Cells were thawed rapidly at 37 °C and incubated overnight at 37 °C in Hanks' balanced salt solution containing 10 per cent FCS. T-cell subsets were then evaluated by indirect immunofluorescence using monoclonal antibodies from the anti-Leu series (Becton Dickinson, Sunnyvale California, USA). Leu1, Leu2a and Leu3a respectively identify CD5, CD8 and CD4 cells. Mononuclear cells were incubated for 30 min in ice with saturating amounts of monoclonal antibody. After washing, the cells were incubated for 30 min at 4 °C with goat anti-mouse IgG fluorescein conjugated (GAM, Nordic) and again washed twice. All the labelled suspensions were scored for the evaluation of stained mononuclear cells under the fluorescent microscope and results were expressed as percentages of fluorescent cells. CD4 antigen, first thought to be a marker of helper T cells, is associated with HLA class II restricted T cell recognition, while CD8 antigen is associated with HLA class I restricted T cell recognition (Lifson & Engleman, 1989). CD5 antigen is found on all T cells but also on a small proportion (1–3 per cent) of B lymphocytes. T-cell subsets data were only available on a subsample.

Lymphoproliferative response. Fresh mononuclear cells were stimulated by optimal doses of phytohaemaglutinin (PHA). A final concentration of 0.5 g/ml PHA (Wellcome) in RPMI 1640 supplemented with antibiotics and 10 per cent FCS was used. After 72 h incubation at 37 °C, the cultures were pulsed with 2μCi of tritiated thymidine and further incubated for 18 h. Cells were harvested and the incorporated radioactivity was measured. Background counts were subtracted.

Delayed-type hypersensitivity (DTH). Skin tests were performed using Multitest (Inst. Mérieux, Lyon). Responses to the seven antigens, tetanus, diphtheria, streptococcus, tuberculin, candida, tricophyton and proteus were assessed 48 h later by a single collaborator, in the subject's home. A response was considered positive if an induration diameter of at least 2 mm was observed.

Susceptibility to infections

A detailed questionnaire, including 14 headings, about past infections or symptoms of infection was presented to the subjects by the single medical doctor who came to their home to assess DTH. The number of infections during the last month and the last 3 years were recorded separately.

The drug and vitamin supplement consumptions during the last week were also recorded in the subjects' home, where it was possible to carry on any verification if they did not remember the name of a product.

Indicators of vitamin status

The second heparinate tube was immediately centrifuged within 15 min to separate the plasma. Total cholesterol and triglyceride levels were determined by the enzymatic method (Steimetz, 1983*a*,*b*). Aliquots for retinol and α-tocopherol determinations were frozen at −20 °C until analysis using high pressure liquid chromatography (Vuilleumier *et al.*, 1983*a*). Aliquots for ascorbic acid determination were frozen within 30 min at −20 °C, with fresh and cold metaphosphoric acid solution (5 per cent) until analysis by the method of Deutsch & Weeks (Brubacher & Vuilleumier, 1974). For vitamin B_6 status determination, the contents of the third heparinate tube were homogenized and an aliquot of blood was immediately transferred into sterile brown glass septum ampoules containing ACD-stabilizer. The vials were stored at 4–6 °C, 7 d at most, until analysis. Vitamin B_6 status was assessed by measuring the activation of erythrocytic glutamate oxalacetate aminotransferase (EGOT) by pyridoxal-5-phosphate (PLP), using the Cobas Bio apparatus (Vuilleumier *et al.*, 1983*b*). One assay was made with untreated haemolysate, the other with the same haemolysate after *in vitro* incubation with excess coenzyme (PLP). Results were expressed as activation coefficients (α-EGOT=activity after saturation/activity without saturation). A low response to coenzyme stimulation indicates an already high saturation with coenzyme, ie a good vitamin B_6 status.

Statistical analysis

The sample was divided into three groups for each of the measured vitamins: the first quartile, the two medium ones and the last one. Variance analysis for unbalanced data was performed by the SAS procedure GLM (SAS Institute, Cary, N. Carolina, USA), to compare immune indices in the three groups thus defined for each vitamin, while adjusting for sex and age. In order to stabilize the variance for variables with a Poisson-type distribution, such as the number of infections or the number of positive responses to the skin test, a square root transformation was performed.

Results

During the 27 months of the survey, 411 subjects were seen: 197 men with a mean age of 68.4 years (s.d. 4.6 years) and 214 women with a mean age of 67.6 years (s.d. 4.7 years). Ages ranged from 60 to 82 years.

A total of 202 subjects could have had their immune or nutritional status modified: 63 because of an infection during the last month, 130 because of vaccination (60) or drug consumption (53 use of analgesics, 29 use of anti-inflammatory drugs and 12 anti-infectious medication), 50 because of an abnormal erythrocyte sedimentation rate or an abnormal blood count. These numbers do not total 202 since the categories are not exclusive.

Ten subjects were using vitamin supplements according to the interview performed at home. One was taking vitamin

A, one vitamin D and one folate; the seven others were taking some form of vitamin B supplement: three a cocktail of vitamins B_1, B_6 and B_{12}, two B_6 alone and two B_{12} alone. No subject was taking vitamin C or E supplements.

Table 1 gives the numbers and percentages of subjects at risk of vitamin deficiency. It can be noticed that 99.5 per cent of the subjects were not at risk for retinol and 100 per cent for α-tocopherol according to the limits indicated in the Table. The percentage of subjects at risk was highest for vitamin C (10 per cent). Since a small number of subjects were at risk of vitamin deficiency, we compared subjects with the highest, medium or lowest observed vitamin status. The thresholds used to define these three groups (1st and 3rd observed quartiles) were 1.44 and 1.76 (α-EGOT) for vitamin B_6, 4 and 11 mg/l for ascorbic acid, 580 and 767 μg/l for retinol and 12.2 and 16.7 mg/l for α-tocopherol.

No significant relationship was observed between vitamin C or retinol concentrations and any of the immunological parameters: T-cell subsets, PHA responsiveness, delayed-type hypersensitivity or number of infections.

Table 1. *Numbers and percentages of subjects at risk of vitamin deficiency.*

	At risk	*Not at risk*
Vitamin B_6		
α-EGOT	>2.0	≤2.0
n	10	197
%	5	95
Ascorbic acid		
mg/l	<2.0	≥2.0
n	19	179
%	10	90
Retinol		
μg/l	<300	≥300
n	1	207
%	0.5	99.5
α-tocopherol		
mg/l	<4.0	≥4.0
n	0	207
%	0	100

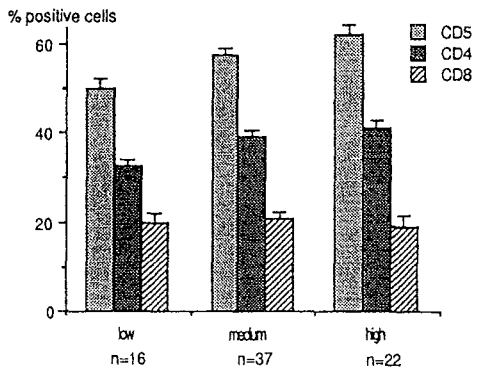


Fig. 1. *Percentage of T-cell subsets, adjusted for age and sex, according to vitamin B_6 status.* Vertical bars represent s.e.m.

Vitamin B_6 status was found by variance analysis to be positively related to percentages of CD5 ($P < 0.003$) and CD4 ($P < 0.05$) cells (Fig. 1): the lowest percentages of CD5 and CD4 cells were observed in the lowest B_6 status group (50.6 and 32.6 per cent) and the highest percentages in the highest B_6 status group (62.0 and 41.0 per cent), with intermediate values in the medium group (57.6 and 39.5 per cent). Percentages of CD8 cells did not seem to vary according to vitamin B_6 status (19.9, 20.8 and 19.1 per cent). Vitamin B_6 as estimated by α-EGOT was also significantly related to the number of infections during the past 3 years (Table 2, $P < 0.05$ by variance analysis), but in the lowest status group the incidence of infections was lower (0.9) than in the medium (2.3) or in the highest (2.2) status groups.

Alpha-tocopherol concentration was significantly related to the number of infections during the past 3 years (Fig. 2, $P < 0.05$ by variance analysis). After adjustment for age and sex, the mean number of infections in the lowest and medium concentration groups was respectively 2.3 and 2.2 against 1.0 in the highest concentration group. This relation was not modified after adjustment for cholesterol and triglyceride or for month of survey. Vitamin E status was not related to the other immunological parameters investigated.

Table 2. *Number of infections during the last 3 years (adjusted for age and sex) according to vitamin B_6 status.*

Vitamin B_6 status	*Low*	*Medium*	*High*
α-EGOT	>1.76	1.44–1.76	<1.44
n	51	98	58
infections (±s.e.m.)	0.9 ± 0.5	2.3 ± 0.4	2.2 ± 0.5

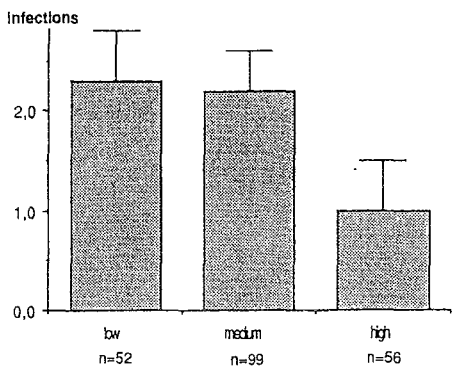


Fig. 2. *Number of infections during the last 3 years according to vitamin E status (adjusted for age and sex).* Vertical bars represent s.e.m.

Table 3. *Mean plasma concentration of α-tocopherol and mean EGOT activation coefficient for subjects with or without infection during the last month.*

Infection during the last month	*No*	*Yes*
n	346	63
α-tocopherol, mg/l	1.46	1.38
s.d.	0.35	0.33
α-EGOT (AC)	1.64	1.63
s.d.	0.29	0.28

Among the subjects who were not included in the statistical analysis, 63 were excluded because of an infection during the last month. Table 3 gives the mean α-tocopherol concentration and the mean activation coefficient α-EGOT for the subjects with and without infection. There was no difference between the two groups for vitamin B_6, but the difference for vitamin E was borderline significant ($P < 0.10$, two-tail test).

Discussion

Severe deprivation of vitamin E appears to affect immune function, while various indices of cellular immunity and resistance to infections were found increased in vitamin E supplemented animals (for review see Beisel, 1982; Tengerdy, Mathias & Nockels, 1984; Carpenter, 1986). Few studies have dealt with the effect of vitamin E supplementation on man. Boxer (1986) reported that after administration of α-tocopherol for 2 weeks, phagocytosis was increased but ability to kill bacteria was reduced. Prasad (1980) reported that adult young males, after receiving DL-α-tocopheryl acetate, had a decrease in PHA responsiveness. The validity of this result is questionable because of the lack of controls and of an inappropriate statistical methodology (use of a paired *t*-test to compare non-normal distributions on a sample of only 8 subjects), but it can be put together with our inability to confirm the positive correlation found in animal experiments between vitamin E status and PHA responsiveness (Corvin, Gordon & Schloss, 1981; Bendich, Gabriel & Machlin, 1986; Meydani *et al.*, 1986). Harman & Miller (1986) compared the effect of a supplementation with either 0 mg, 200 mg, or 400 mg/d for 6 months on 103 patients in a chronic care facility. They did not observe any difference between the three groups for the incidence of infections during the trial. The discrepancy between this clinical study and our epidemiological survey might be due to the difference between the populations. But it should be noted that, although the difference was not significant, the treated patients had repeatedly more infections than controls during the first 3 months of treatment (with a total of 30 against 21), a similar amount during the fourth month (16) and fewer infections during the last 3 months (23 against 31).

We did not observe any correlation between α-tocopherol concentration and

T-cell subsets, PHA responsiveness or delayed-type hyperreactivity, but subjects with the highest vitamin E status had fewer infections during the last 3 years (1.0) than those in the two other groups (2.2 and 2.3). These findings would suggest that the vitamin E-related resistance to infections is not the consequence of improved T-cell functions. It was verified that this result could not be ascribed to an effect of triglyceride and cholesterol or to a recall bias (which could have been the case if both α-tocopherol concentration and the number of past infections had been found to follow seasonal patterns or if the investigator and/or subject had been informed of the observed vitamin status). Furthermore, this result was supported by the fact that the subjects who had been discarded from the statistical comparisons because of a recent infection had a lower vitamin E status than the others, the difference being of borderline significance.

Pyridoxine deprivation, with or without the use of a pyridoxine antagonist, has been shown to affect many aspects of immune mechanisms in different strains of animals (for review, see Gross, 1980; Beisel, 1982; Chandra & Puri, 1985*b*). Depressed DTH reactions have been reported in vitamin B_6 deficient guinea pigs (Axelrod *et al.*, 1963). Decreased proliferation of lymphocytes in response to PHA stimulation (Chandra, Au & Heresi, 1981) has also been observed. A small clinical study was performed by Talbott, Miller & Kerkvliet (1987) on 11 healthy elderly treated subjects and 4 comparable controls. Lymphocyte proliferation differed in the two groups at the end of treatment because of an increase with reference to the presupplemental values in the treated subjects. A significant increase of the proportion of CD3 and CD4 positive cells was also observed, only in the treated subjects, but no statistical comparison between the supplemented and control groups was performed.

We observed a positive relation between vitamin B_6 status and the proportion of CD5 and CD4 positive cells. CD5 are almost identical to CD3 positive cells (total T cells), but the former include a small proportion (1–3 per cent) of B cells. Pyridoxine status was also statistically related to the number of past infections, but we did not observe any effect of vitamin B_6 status on the proportion of CD8 cells, PHA stimulation, or DTH. We did not find any report about the influence of pyridoxine status on resistance to infections. It should be noticed that the relation observed in our survey was paradoxical since the lowest rate of infections corresponded to the lowest vitamin B_6 status group and the highest rate to the medium group. This relation, not supported by previous results, nor by the comparison of vitamin B_6 status of subjects with or without an infection during the previous month has to be considered very cautiously; it could be due to chance only.

Talbott *et al.* (1987) observed a positive relation between pyridoxine supplementation and response to PHA stimulation while we did not find any, but their clinical work led to the same conclusions as our epidemiological survey about the relation between pyridoxine and T-cell subsets. In both studies, percentages of total T cells, as defined by CD3 or CD5 and of CD4 cells, correlated with vitamin B_6 status, while no relation was observed with CD8 cells. The mechanisms involved in the relations of pyridoxine with mitogenicity and with T-cell subsets might be different. Pyridoxal 5-phosphate plays a critical role in DNA synthesis and thus in RNA and probably protein synthesis (Gross, 1980). It is conceivable that a deficiency in pyridoxine can impair many immunological functions like immunoglobulin synthesis or cell proliferation, but this simple hypothesis does not work properly to explain the different relations of vitamin B_6 with percentages of CD4 and CD8 cells.

Experiments to determine the consequences of vitamin C deprivation generally apply to scorbutic animals (for review, Gross, 1980; Beisel, 1982). In man, a metabolic study on five subjects, showed absolutely no effect of vitamin C deprivation on PHA responsiveness, although

plasma concentrations of ascorbic acid fell below levels where symptoms of scurvy are sometimes observed (Kay *et al.*, 1982). A trial comparing the effect of injections of vitamin C or of a placebo revealed an effect on PHA responsiveness (Kennes *et al.*, 1983). In another clinical trial, ascorbic acid had no significant effect on proliferation responses of lymphocytes (O'Brien & McMurray, 1988). As stated by Beisel (1982), the consensus of scientific opinion fails to support the view that ascorbic acid supplementation with 1–2 g/d doses is effective in reducing susceptibility to common colds. We did not observe any correlation between vitamin C status and percentages of T-cell subsets, PHA responsiveness, delayed-type hypersensitivity or number of past infections.

The influence of vitamin A on immune mechanisms and resistance to infections is well established (for review see Gross, 1980; Beisel, 1982). Several studies dealt with children living in developing countries. One of them failed to demonstrate any effect of supplementation on antibody response or delayed-type hypersensitivity, but underlined the fact that doses necessary to increase responses in mice would be likely to induce undesirable side effects in children (Brown *et al.*, 1980). Significant relations were observed between vitamin A deficiency and percentage of T lymphocytes (Bhaskaram & Reddy, 1975), or infectious diseases (Sommer, Katz & Tarwotjo, 1984; Milton, Reddy & Naidu, 1987); two clinical trials gave some evidence that systematic vitamin A supplementation of deficient populations might reduce mortality (Sommer *et al.*, 1986; Barclay, Foster & Sommer, 1987).

We did not observe any relation between vitamin A status and number of past infections nor any of our indices of cell-mediated immunity. Our preliminary observation(Chavance *et al.*, 1984) of a relation between retinol concentration and DTH was not confirmed by the final analysis. Plasma retinol is not a good index of hepatic stores and is considered as a reliable indicator of vitamin A status mainly for low values, after depletion of these stores. Here, only 1.5 per cent of the subjects had a retinol concentration below 300 μg/l, indicating a risk of hepatic depletion.

In conclusion, two results, supported by other observations, have to be underlined. In this healthy elderly population, vitamin B_6 status was positively related to percentages of CD5 and CD4 cells. Vitamin E status was negatively related to the number of past infections. Nevertheless, the majority of the performed comparisons did not reveal any significant relation. Evidence of relations between vitamins and immunity comes mainly from studies with severe nutritional deficiency or from clinical trials; but this sample did not seem to include subjects at risk of deficiency for vitamins B_6, A and E, only 10 subjects were taking vitamin supplements, and cellular immunity was not strongly related to vitamin status. Goodwin & Garry (1983) wrote about the relative lack of effect of megadose vitamins on immunological function. In our study, healthy elderly subjects with concentrations of ascorbic acid, retinol or α-tocopherol below the first quartile did not show any impairment of cellular immunity.

Acknowledgements—The authors would like to thank Professor G. Brubacher and Hoffmann La Roche & Co. for performing all vitamin analyses. They are indebted to Mrs M. Chartier, G. Corby, F. Dété and S. Mistou for their excellent technical assistance. They express their gratitude to G. Siest, J. Locuti, A Floch and all their collaborators from the 'Centre de Médecine Préventive' as well as to the staff of the 'Centre d'Examens de Santé et de Médicine Préventive de Metz', most particularly to the dietetic department.

References

Axelrod, A.E., Trakatellis, A.C., Bloch, H. & Stinebring, W.R. (1963): Effect of pyridoxine deficiency upon delayed hypersensitivity in guinea pigs. *J. Nutr.* **79,** 161–167.

Barclay, A.J.G., Foster, A. & Sommer, A. (1987): Vitamin A supplements and mortality related to measles: a randomised clinical trial. *Br. Med. J.* **294,** 294–296.

Beisel, W.R. (1982): Single nutrients and immunity. *Am. J. Clin. Nutr.* **35** Suppl. 417–468.

Bendich, A., Gabriel, E. & Machlin, L.J. (1986): Dietary vitamin E requirement for optimum immune responses in the rat. *J. Nutr.* **116,** 675–681.

Bhaskaram, C. & Reddy, V. (1975): Cell-mediated immunity in iron and vitamin-deficient children. *Br. Med. J.* **3,** 522.

Boxer, L.A. (1986): Regulation of phagocyte function by alpha-tocopherol. *Proc. Nutr. Soc.* **45,** 333–344.

Brown, K.H., Rajan, M.M., Chakraborty, J. & Aziz, K.M.A. (1980): Failure of a large dose of vitamin A to enhance the antibody response to tetanus toxoid in children. *Am. J. Clin. Nutr.* **33,** 212–217.

Brubacher, G. & Vuilleumier, J.P. (1974): Vitamin C. In *Clinical biochemistry, principles and methods.* ed H.C. Curtius & M. Roth, pp. 989–997. Berlin: W. de Gruyter.

Buzina, R. (1981): The impact of marginal malnutrition on health and behaviour. In *Problems in nutrition research today* ed H.E. Aebi, G.B. Brubacher & M.R. Turner, pp. 57–74 London: Academic Press.

Carpenter, M.P. (1986): Effects of vitamin E on the immune system. In *Vitamins and cancer. Human prevention by vitamins and micronutrients.* ed F.L. Meyskens and K.N. Prasad. pp. 199–211. Clifton: Human Press.

Chandra, R.K., Au, B. & Heresi, G. (1981): Single nutrient deficiency and cell-mediated immune responses. II. Pyridoxine. *Nutr. Res.***1,** 101–106.

Chandra, R.K. & Puri, S. (1985*a*): Nutritional support improves antibody response to influenza virus vaccine in the elderly. *Br. Med. J.* **291,** 705–706.

Chandra, R.K. & Puri, S (1985*b*): Vitamin B_6 modulation of immune response and infection. In *Vitamin B_6: its role in health and disease.* pp. 163–175. New York: A.R. Liss.

Chavance, M., Brubacher, G., Herbeth, B. Vernhes, G., Mikstacki, T., Dete, F., Fournier, C. & Janot, C. (1984): Immunological and nutritional status among the elderly. In *Lymphoid cell functions in aging.* ed. A.L. de Weck. pp. 231–237. Rijswijk: EURAGE.

Corvin, L.M., Gordon, R.K. & Shloss, J. (1981): Studies of the mode of action of vitamin E in stimulating T cell mitogenesis. *Scand. J. Immunol.* **14,** 567–572.

Goodwin, J.S. & Garry, P.J. (1983): Relationship between megadose vitamin supplementation and immunological function in a healthy elderly population. *Clin. Exp. Immunol.* **51,** 647–653.

Gross, R.L. & Newberne, P.M. (1980): Role of nutrition in immunologic function. *Physiol. Rev.* **60,** 188–302.

Harman, D. & Miller, R.W. (1986): Effect of vitamin E on the immune response to influenza virus vaccine and the incidence of infectious disease in man. *Age* **9,** 21–23.

Herbeth, B., Chavance, M., Musse, N., Mejean, L. & Vernhes, G. (1989): Dietary intake and other determinants of blood vitamins in an elderly population. *Eur. J. Clin. Nutr.* **43,** 175–186.

Kay, N.E., Holloway, D.E., Hutton, W.E., Bone, N.D. & Duane, W.C. (1982): Human T-cell function in experimental ascorbic acid deficiency and spontaneous scurvy. *Am. J. Clin. Nutr.* **36,** 127–130.

Kennes, B., Dumont, I., Brohee, D., Hubert, C. & Neve, P. (1983): Effect of vitamin C supplements on cell-mediated immunity in old people. *Gerontology.* **29,** 305–310.

Lifson, J.D. & Engleman, E.G. (1989): Role of CD4 in normal immunity and HIV infection. *Immunol. Rev.* **109,** 93–117.

McMurray, D.N., Watson, R.R. & Reyes, M.A. (1981): Effect of renutrition on humoral and cell-mediated immunity in severely malnourished children. *Am. J. Clin. Nutr.* **34,** 2117–2126.

Meydani, S.N., Meydani, M., Verdon, C.P., Shapiro, A.A., Blumberg, J.B. & Hayes, K.C. (1986): Vitamin E supplementation suppresses prostaglandin E_2^1 synthesis and enhances the immune response of C 57 BL/6 male mice. *Mech. Age Dev.* **34,** 191–201.

Milton, R.C., Reddy, V. & Naidu, A.N. (1987): Mild vitamin A deficiency and childhood morbidity: an Indian experience. *Am. J. Clin.* **46,** 827–829.

O'Brien, B.C. & McMurray, D.N. (1988): Human plasma lipid and immunologic responses to eggs and ascorbic acid. *Nutr. Res.* **8,** 353–366.

Panush, R.S. & Delafuente, J.C. (1985) Vitamins and immunocompetence. *Wld Rev.*

Nutr. Diet. **35,** 96–132.

Prasad, J.S. (1980): Effect of vitamin E supplementation on leukocyte function. *Am. J. Clin. Nutr.* **33,** 606–608.

Siest, G., Henny, J., Schiele, F. & Young, D.S., eds (1983): *Reference values and their biological evaluation.* Foster City: *Biomedical publications.*

Sommer, A., Katz, J. & Tarwotjo, I. (1984): Increased risk of respiratory disease and diarrhea in children with preexisting mild vitamin A deficiency. *Am. J. Clin. Nutr.* **40,** 1090–1095.

Sommer, A., Tarwotjo, I., Djunaedi, E., West, K.P., Loeden, A.A., Tilden, R., Mele, L. & the ACEH study group. (1986): Impact of vitamin A supplementation on childhood mortality. A randomised controlled community trial. *Lancet* **2,** 1169–1173.

Steimetz, J. (1983*a*): Cholesterol. In *Interpretation of clinical laboratory tests. Reference values and their biological evaluation.* ed G. Siest, J. Henny, F. Schiele & D.S. Young, pp.177–195. Foster City: Biomedical publications.

Steimetz, J. (1983*b*): Triglycerides. In *Interpretation of clinical laboratory tests. Reference values and their biological evaluation.* eds G. Siest, J. Henny, F. Schiele & D.S. Young. pp. 413–427. Foster City: Biomedical publications.

Talbott, M.C., Miller, L.T. & Kerkvliet, N.I. (1987): Pyridoxine supplementation: effect on lymphocyte responses in elderly persons. *Am. J. Clin. Nutr.* **46,** 659–664.

Tengerdy, R.P., Mathias, M.M. & Nockels, C.F. (1984): Effect of vitamin E on immunity and disease resistance. In *Vitamins, nutrition and cancer.* ed K.N. Prasad. pp. 123–133. Basel: S. Karger.

Vuilleumier, J.P., Keller, H.E., Gysel, D. & Hunziker, F. (1983*a*): Clinical chemical methods for the routine assessment of the vitamin status in human populations. I. The fat soluble vitamins A and E and beta carotene. *Int. J. Vit. Nutr. Res.* **53,** 265–272.

Vuilleumier, J.P., Keller, H.E., Rettenmaier, R. & Hunziker, F. (1983*b*): Clinical chemical methods for the routine assessment of the vitamin status in human populations. II. The water-soluble vitamins B_1, B_2 and B_6. *Int. J. Vit. Nutr. Res.* **53,** 359–370

Does multivitamin supplementation prevent infections in healthy elderly subjects? A controlled trial

Chavance M, Herbeth B, Lemoine A, Bao-Ping Z

Int J Vit Nutr Res 1993;63:11-16

Ce travail fait suite à une première étude transversale sur les relations entre le statut vitaminique et les fonctions immunitaires et porte sur un échantillon de personnes autonomes et en bonne santé, âgées de plus de 60 ans. Parmi les résultats marquants, décrits dans la publication précédente (**P12**), nous avions montré que le statut en vitamine E, mesuré par les concentrations en α-tocophérol plasmatique, était inversement associé au nombre d'infections contractées au cours des 3 dernières années. La question du bénéfice d'une supplémentation en vitamine E sur la fréquence des épisodes infectieux était posée. Dans la littérature, les travaux du moment dans le domaine, portaient essentiellement sur la vitamine C et le rhume et n'étaient pas concluants.

Nous avons donc initié et conduit cette étude, randomisée en double aveugle, dans le but d'estimer l'efficacité d'une supplémentation multivitaminique sur la fréquence des infections courantes chez la personne âgée en bonne santé. Le supplément retenu était relativement fréquemment prescrit et avait une composition classique : 5 000 UI de vitamine A, 400 UI de vitamine D2, 30 UI de vitamine E, 90 mg de vitamine C, 2,25 mg de thiamine, 2,6 mg de riboflavine, 3 mg de pyridoxine, 9 µg de cyanocobalamine, 400 µg d'acide folique, 20 mg de nicotinamide, 45 µg de biotine, 10 mg d'acide panthoténique ainsi que des minéraux, calcium, phosphore, iode, fer, magnésium, cuivre, manganèse, potassium et zinc. Dans la région de Nevers, 218 personnes de plus de 60 ans ont été sélectionnées et assignées dans les 2 groupes, placebo et traité. Le traitement a duré 4 mois, les sujets de l'étude ont bénéficié de 3 bilans : à T0, T2 mois et T4 mois. Le critère principal d'efficacité a été le nombre d'infections recueilli à l'aide d'un questionnaire aux trois temps. Le suivi biologique du statut en vitamines a été assuré également aux 3 temps par la mesure des concentrations plasmatiques et/ou érythrocytaires des vitamines A, E, C et folates et des activités enzymatiques spécifiques pour les vitamines B1, B2 et B6.

A T0, les 2 groupes, traité et placebo, ne diffèrent pas significativement en terme d'âge, de sexe, de corpulence, de tabagisme, d'infections passées, de statut en vitamines et d'apports alimentaires. Après 2 et 4 mois de traitement, les indicateurs biologiques du statut en vitamines E, B1, B2, B6 et en folates sont améliorés, comparativement au groupe placebo. L'acide ascorbique plasmatique n'augmente significativement qu'après 4 mois de supplémentation et le rétinol circulant ne varie pas, quelle que soit la durée du traitement.
En ce qui concerne l'objectif principal de l'étude, aucune différence significative n'est mise en évidence entre les 2 groupes pour le nombre d'infections recueilli par questionnaire à 2 ou 4 mois ; en plus, c'est le groupe traité qui déclare le plus d'infections. L'analyse statistique effectuée sur les non fumeurs ou en tenant compte de la saison - les épisodes infectieux étant plus fréquents à la mauvaise saison - ne met pas en évidence d'effet particulier de la supplémentation.

En conclusion, la prise de suppléments multivitaminiques du commerce permet d'augmenter les niveaux des indicateurs biologiques de statut pour les vitamines E, C, B1, B2, B6 et folates chez la personne agée en bonne santé. Un traitement à court terme, 2 à 4 mois, ne permet pas de réduire le nombre d'infections déclarées.

Internat. J. Vit. Nutr. Res. *63*
(1993) 11–16
Received for publication
March 24, 1992

Vitamins
Supplementation
Infections
Elderly Subjects
Controlled trial

Does Multivitamin Supplementation Prevent Infections in Healthy Elderly Subjects? A Controlled trial

Michel CHAVANCE[1], Bernard HERBETH[2], Alain LEMOINE[3] and Bao-Ping ZHU[1]

1 INSERM U 169, Recherches en épidemiologie, 16 Av. P. Vaillant-Couturier, F-94807 Villejuif, France
2 INSERM U 115, Faculté de Médecine and Centre de Médecine Préventive, F-54500 Vandœuvre-les-Nancy, France
3 Centre Hospitalier, Service de Nutrition, 1 Av. Colbert, F-58020 Nevers, France

Summary: We performed a double blind randomized study in order to assess the efficacy of a multivitamin supplement for the prevention of common infections in healthy elderly subjects. Non-institutionalized, independent subjects over 60 years of age, living in the Nevers area (central France) were recruited by announcements and randomly assigned to a treatment or a placebo group. The treatment or placebo tablets were to be taken daily for 4 months.

The principal criterion of response was the incidence of infections, as recorded from a detailed questionnaire presented at entrance, in the middle (2 months) and at the end (4 months) of the study. Blood samples were taken at the entrance in the study and after two and four months in order to monitor vitamin status.

No significant difference was found between the two groups for the incidence of infections. In fact the observed incidences during the two two-month periods were higher in the treatment (0.38 and 0.21) than in the placebo group (0.29 and 0.13). After two months and after four months of supplementation, blood vitamin indicators of the subjects were significantly higher in the treatment than in the placebo group for vitamins B_1, B_2, B_6, E and folates ($p < 0.001$). The improvement of the vitamin C status was slightly higher in the treatment than in the placebo group. For vitamin A status, the evolution was similar in the two groups.

In conclusion, short-term supplementation of healthy elderly subjects with the investigated supplement is not likely to afford a meaningful protection against common infections.

Introduction

It has been known for years that nutrition and especially vitamin status influences immunity [1–3]. In developing countries, vitamin A has been found to protect children against diarrhea and respiratory diseases [4], severity of infections [5], complications of measles [6, 7] and mortality ascribed to different types of infections [8]. In industrialized countries, the elderly are the most likely to have their immunity marginally impaired by marginal nutritional deficiencies. For this reason, and because of the decline of immunity with age [9], they also are the most likely to have their immunity enhanced by nutritional supplementation. Although epidemiological surveys failed to demonstrate convincing relations between vitamin status and impairment of immunity in healthy elderly subjects [10–12], one of them found a negative relationship between experience of infections and vitamin E status [11]. Besides, the main motive for supplementing elderly subjects should be direct clinical benefit and not mere improvement of immunological indices. For instance does vitamin supplementation decrease the incidence of infections? This question has been investigated for vitamin C and common colds; W. R. Beisel, reviewing the trials, con-

cluded that 1–2 g/d of ascorbic acid supplements appeared to be ineffective for the prevention of common colds [3]. From a pragmatic point of view, multivitamin supplements are more widely used than single vitamin supplements. Thus we chose to investigate the effect of multivitamin supplementation on the incidence of common infections in a population of healthy elderly subjects.

Subjects and Methods

This survey was performed in the Nevers area (central France), from January to December 1989. The subjects were volunteers, recruited by an announcement in the newspaper, lectures in senior citizens' clubs, or collaboration of general practitioners. They had to be independent, over 60 years of age, without any known disease or condition which might modify their nutritional status, and they should not have used any vitamin supplementation for three months prior to entrance in the study. The trial was presented as a study of the effect of a multivitamin supplement on health and the subjects knew that the treatment they would receive might not be efficient. Among 238 subjects who were informed of the objectives and of the protocol of the study, 218 gave oral consent and were eligible for the study. Their general practitioners were also informed. They were randomly assigned either to the treatment ($n=110$) or to the placebo group ($n=108$) according to a sampling scheme insuring balance within groups of 6 consecutive subjects.

The supplement, Azedavit®, combined hydrosoluble and liposoluble vitamins, oligoelements and minerals. Each tablet included 5,000 I.U. of vitamin A (retinol acetate), 400 I.U. of vitamin D_2 (ergocalciferol), 30 I.U. of vitamin E (dl α-tocopherol acetate), 90 mg of ascorbic acid, 2.25 mg of thiamin, 2.6 mg of riboflavin, 3 mg of pyridoxine, 9 µg of cyanocobalamin, 0.4 mg of folic acid, 20 mg of nicotinamid, 45 µg of biotin, 10 mg of pantothenic acid, 162 mg of calcium, 125 mg of phosphorus, 150 µg of iodine, 27 mg of iron, 100 mg of magnesium, 3 mg of copper, 7.5 mg of manganese, 7.5 mg of potassium, and 22.5 mg of zinc. The treatment and the placebo tablets were kindly provided and randomized by «Laboratoires Léderlé», Rungis; they had the same appearence and were to be taken daily for four months.

At the entrance into the study (t_0), a detailed questionnaire about experience of infections during the last three years was presented; it included 14 headings dealing with diagnosis or symptoms of respiratory, nose, throat, ear, skin, mouth, urinary and gynecologic infections. For instance *during the last three years did you ever have a cold (consider it a cold only if it lasted more than 3 days)? if yes how many times? did you have it during the last month? did your general practitioner tell you it was the flu? during the last three years, did you ever have the flu? if yes, how many times? did you have the flu during the last month?* ... The questionnaire investigated also socioeconomic characteristics. A clinical examination was performed and blood specimens were collected. The same questionnaire, restricted to the last two months, was presented and blood was collected again two months later (t_2) and at the end of the study, four months later (t_4). A new supply of tablets was given at t_2. Unused tablets were counted at t_2 and t_4 to asses compliance. A phone call was made or a short visit paid to the subjects one month and three months after entrance, in order to prevent withdrawal.

Dietary intake was assessed at t_0 and t_4 from food records collected over 7 successive days. All food items and quantities were recorded on standard forms. At the end of the 7-day recording period, a trained dietitian visited the subjects at home to collect the diet records and review them for completeness and accuracy. All food records were analyzed after coding, using a computerized version of the McCance and Widdowson dietary composition tables [13].

Plasma concentrations of α-tocopherol and retinol were determined with HPLC [14], and plasma ascorbic acid by a fluorometric method [15]. Plasma and erythrocyte folate were measured by the lactobacillus casei method [16]. Thiamin, riboflavin and vitamin B_6 status were assessed by measuring the coenzyme stimulation of vitamin dependent enzymes in erythrocytes: transkelotase (ETK), glutathione reductase (EGR) and glutamate oxaloacetate aminotransferase (EGOT) respectively [17]; low values are indicative of a good vitamin status. Some blood samples were lost or thawed during transportation and the corresponding measurements are missing.

Sample size insured a statistical power $1-\beta=0.95$ for a one-sided test of size $\alpha=0.05$ if the 4-month incidence was reduced from 0.6 to 0.4, assuming a standard deviation $\sigma=0.75$. Statistical comparisons were performed using two-sided t-tests (unless specified) and analysis of variance programs from the BMDP® statistical software.

Results

In each group, 7 subjects (6.5%) withdrew from the trial before its end. Five withdrawals were due to medical reasons, three in the treatment group (two digestive problems, one street accident) and two in the placebo group (one digestive problem, one cardiac insufficiency), the other withdrawals were due to non-compliance or impossibility to be present at appointments. The remaining subjects in the treatment and the placebo group were similar in terms of age (72.6 ± 6.8 vs 72.4 ± 6.3, mean ± sd), sex (32 men and 71 women vs 37 men and 64 women), body mass index (25.5 ± 4.6 vs 25.2 ± 3.6), smoking history (7 vs 3 smokers), experience of infections during the last 3 years (1.96 ± 2.47 vs 2.08 ± 2.80) as well as for socioeconomics status

Table I: Socioeconomic status of the subjects in the treatment and placebo groups

	treatment	placebo
farmers	1	3
craftsmen	14	6
white collars	57	67
blue collars	10	7
no profession	13	8
information missing	8	10

(Tab. I), nutrient intake (Tab. II), medical history and medication use (data not shown).

Table III gives the vitamin status of the subjects at t_0, t_2 and t_4 for vitamins A, E, C, B_1, B_2, B_6 and folates. At the entrance in the study, no significant difference was observed between the treatment and the placebo groups for the performed measurements. Vitamin blood indicators were significantly improved in the treatment as compared to the placebo group for vitamins E, B_1, B_2, B_6 and folates at t_2 ($p < 0.001$) and t_4 ($p < 0.001$). The increase of plasma ascorbic acid concentration 4 months after entrance in the study was only slightly higher in the treatment than in the placebo group ($p < 0.05$, one-sided test). The evolution of the concentrations of plasma retinol was similar in the two groups.

Table IV gives the number of infections experienced during the last three years and observed during the study. Neither past experience nor incidence of common infections were significantly different in the two groups. Moreover, greater incidences of infections were recorded during each of the two-month periods in the treatment (0.38 ± 0.64 and 0.21 ± 0.57) than in the placebo group (0.29 ± 0.59 and 0.13 ± 0.37). The 90% symmetric confidence interval for the difference between the number of infections in the treated and in the placebo groups during the whole study was [-0.02,

Table II: Daily nutrients intake at baseline in placebo and treatment groups

	Treatment	Placebo
Energy (MJ/d)	8.11 ± 2.25*	8.07 ± 1.96
Protein (%)[1]	17.3 ± 2.9	17.6 ± 2.6
Carbohydrate (%)	44.6 ± 6.8	44.8 ± 6.2
Fat (%)	38.2 ± 6.4	37.6 ± 6.1
Vitamin A (μRE/d)[2]	1459 ± 1300	1301 ± 946
(μRE/5MJ)[3]	968 ± 982	830 ± 631
Vitamin E (mg TE/d)[4]	11.1 ± 5.9	11.4 ± 5.7
(mg TE/5MJ)	7.0 ± 3.8	7.1 ± 2.9
Vitamin C (mg/d)	80.5 ± 38.7	79.0 ± 35.9
(mg/5MJ)	51.9 ± 26.4	51.2 ± 25.8
Folic acid (μg/d)	201 ± 63	202 ± 67
(μg/5MJ)	128 ± 39	127 ± 37
Vitamin B_{12} (μg/d)	7.56 ± 6.81	7.23 ± 4.78
(μg/5MJ)	5.00 ± 5.11	4.57 ± 3.12
Vitamin B_1 (mg/d)	1.11 ± 1.03	0.98 ± 0.44
(mg/5MJ)	0.68 ± 0.47	0.61 ± 0.20
Vitamin B_2 (mg/d)	1.66 ± 0.50	1.62 ± 0.50
(mg/5MJ)	1.06 ± 0.34	1.02 ± 0.26
Vitamin B_6 (mg/d)	1.31 ± 0.36	1.36 ± 0.39
(mg/5MJ)	0.83 ± 0.17	0.85 ± 0.15

* mean ± sd
1 in percent of non alcohol energy
2 RE = retinol equivalent
3 nutrient density
4 TE = tocopherol equivalent

Table III: Evolution of blood vitamin indicators in the treatment and placebo groups

	group	n	mean ± sd t_0*	t_2[1]	t_4[2]
plasma α-tocopherol mg/l	placebo	95	13.4 ± 2.5	14.2 ± 2.5	14.7 ± 2.6
	treatment	83	13.7 ± 2.9	16.2 ± 2.8[3]	16.2 ± 2.6[3]
plasma retinol µg/l	placebo	99	615 ± 168	636 ± 164	646 ± 172
	treatment	88	602 ± 154	625 ± 151	624 ± 147
plasma ascorbic acid mg/l	placebo	76	6.05 ± 3.31	7.14 ± 5.07	8.23 ± 4.78
	treatment	88	5.29 ± 3.14	7.14 ± 3.16	8.98 ± 5.89[4]
plasma folates µg/l	placebo	100	7.53 ± 4.07	8.86 ± 5.65	8.66 ± 4.50
	treatment	98	7.04 ± 4.51	21.76 ± 11.31[3]	26.67 ± 11.75[3]
erythrocyte folates µg/l	placebo	96	300 ± 124	318 ± 176	352 ± 189
	treatment	91	290 ± 132	640 ± 311[3]	1042 ± 724[3]
B_1 status α ETK[5]	placebo	99	1.13 ± 0.09	1.14 ± 0.10	1.12 ± 0.08
	treatment	96	1.14 ± 0.10	1.07 ± 0.08[3]	1.07 ± 0.06[3]
B_2 status α EGR[5]	placebo	99	1.36 ± 0.17	1.24 ± 0.22	1.18 ± 0.12
	treatment	96	1.26 ± 0.17	1.11 ± 0.09[3]	1.09 ± 0.08[3]
B_6 status α EGOT[5]	placebo	99	1.78 ± 0.23	1.76 ± 0.21	1.74 ± 0.23
	treatment	96	1.78 ± 0.29	1.53 ± 0.16[3]	1.56 ± 0.19[3]

* entrance in the study
1 entrance + 2 months
2 entrance + 4 months
3 $p < 10^{-3}$ for comparison of the differences t_2-t_0 or t_4-t_0 in the placebo and treatment groups by t-test
4 $p < 0.10$ for comparison of the differences t_4-t_0 in the placebo and treatment groups by t-test
5 activation coefficient = activity after coenzyme saturation/basal activity

Table IV: Number of infections in the treatment and placebo groups

	treatment n = 103	placebo n = 101
last 3 years	1.96 ± 2.47*	2.08 ± 2.80
first 2 months	0.38 ± 0.64	0.29 ± 0.59
last 2 months	0.21 ± 0.57	0.13 ± 0.37

* mean ± standard deviation

+0.37]. Results were not essentially different if a square root transformation was applied, as recommanded for Poisson-type distributions or if analysis was restricted to current non smokers (data not shown). If subjects were separated in 3 subsamples, according to period of follow-up, the observed incidence of infections during the second two-month period was always greater in the treatment than in the placebo group. The observed incidence during the first two-month period was greater in the treatment than in the placebo group for 2 of the 3 subsamples (Tab. V).

Discussion

Does short term multivitamin supplementation prevent infections in healthy elderly subjects? As far as we know, this is the first trial investigating this question. In spite of the differences of evolution of the vitamins E, C, B_1, B_2, B_6 and folic acid blood indicators in the two groups, the incidence of infections was not significantly different in the treatment and in the placebo group. The observed difference (+0.17) was not in the expected direction, and the lower bound of the 90% symmetric confidence interval for the difference between the 4-month incidence in the two groups was only -0.02. In other words, if the true difference was -0.02 or less, the chances of observing a positive difference as great as 0.17 would be smaller than 5%, thus even if supplementation had some effect, the treatment of 100 subjects would not be likely to prevent more than two common infections in four months; quite a small clinical benefit.

Several elements could contribute to the discrepancy between this survey and several animal or experimental studies.

Table V: Number of infections in the treatment and placebo groups according to period of follow up

Period of follow up		1*	2[1]	3[2]
First 2 months	Treatment	0.51 ± 0.74[3] (43)[4]	0.22 ± 0.49 (32)	0.36 ± 0.62 (28)
	Placebo	0.34 ± 0.68 (35)	0.32 ± 0.64 (34)	0.19 ± 0.40 (32)
Last 2 months	Treatment	0.21 ± 0.60 (43)	0.16 ± 0.57 (32)	0.29 ± 0.53 (28)
	Placebo	0.09 ± 0.37 (35)	0.15 ± 0.36 (34)	0.16 ± 0.37 (32)

* entrance in winter
1 follow up in spring and summer
2 entrance in summer, last visit in november or december
3 mean ± sd
4 number

Animal experiments establishing the existence of relations between nutrition and immunity generally imply severe deprivation or supplementation with relative doses quite larger than those used in this study. For vitamin C, for instance, many studies were performed on scorbutic guinea pigs [18]. Obviously, no sign of scurvy was observed in our subjects or in those studied in the trials of common cold prevention by vitamin C supplementation. Vitamin E supplementation was found to protect different species of laboratory as well as farm animals [19, 20]. In humans, supplementation of vitamin E neither alone [21] nor in association with other nutrients in this trial, led to a significantly decreased incidence of infections. Among the numerous elements that can contribute to this contradiction (species differences, animals' stress, ...) one should underline the fact that most animal studies relied on experimental infections. According to Tengerdy, «vitamin E is most beneficial in infectious diseases, mostly bacterial, where immune phagocytosis is the chief defensive mechanism» [19]. HARMAN and MILLER's trial and ours investigated the incidence of all types of infections, bacterial as well as viral. But from a pragmatic point of view, they provided an estimate of the global benefit that could be expected from vitamin E supplementation.

Human studies reporting a protective effect of vitamin A were all performed in children at risk of vitamin A deficiency [4–8]. None of our subjects was classified in the high risk group (plasma retinol concentration < 287 µg/l) or in the medium risk group ($287 \leq$ plasma retinol concentration < 401 µg/l). The evolution of plasma retinol concentration was similar in the two groups, an observation that goes along with adequate hepatic stores in the studied population.

Improvement of immune indices have been observed in several controlled trials investigating the effect of single vitamin supplementation, but some of these results have not been duplicated yet [22]. Besides, a modification of some biological measurements does not necessarily imply a clinical benefit. For instance delayed-type hypersensitivity and lymphocyte proliferation in response to different mitogens have been found enhanced after vitamin C supplementation [23, 24], although such a supplementation does not seem to protect against the common cold [3].

Slightly different results might have been observed if the whole trial had taken place during fall and winter, when respiratory infections are most frequent. Statistical power could have been increased, but use of supplements is not generally restricted to any season. In any case, observations performed during the «bad season» (first two month-period for subjects who entered the study in winter, second period for those last seen in November or December) are consistent with the other observations.

Subjects were supplemented for four months only. Results might also have been different if we had studied the effect of long term sup-

plementation. GOODWIN and GARRY were able to investigate the effect of long term vitamin supplementation on the immunity of healthy elderly subjects in a cross-sectional epidemiological survey [10], but they did not report any dramatic effect of supplementation and concluded that the few significant differences «could have been due to chance».

In conclusion, this study does not support the hypothesis that short-term multivitamin supplementation of healthy elderly subjects might prevent a meaningful number of infections.

Acknowledgements: The clinical trial was performed thanks to the financial help of CEIV, Produits Roche, Neuilly, Laboratoires Léderlé, Rungis and Laboratoire de Thérapeutique Moderne, Suresnes. We are grateful to G. Potier de Courcy, J. Zittoun and Hoffmann La Roche and Co, Basel, for blood vitamins determinations. We would also like to thank A. Bertrand, N. Testu, F. Pédelaborde, D. Patru, J. Dugougeat and the dieteticians of Nevers hospital for their assistance, R. Wilczewski for her contribution to statistical analysis, and, most of all, the volunteers who participated in this survey.

References

1. GROSS, R. L. and NEWBERNE, P. M. (1980) Nutrition and immunologic function. Physiol. Rev. *60,* 188–302.
2. CHANDRA, R. K. (1981) Immunodeficiency in undernutrition and overnutrition. Nutrition Reviews *39,* 225–231.
3. BEISEL, W. R. (1982) Single nutrients and immunity. Am. J. Clin. Nutr. *35 Suppl.,* 417–468.
4. BLOEM, M. W., WEDEL, M., EGGER, R. J. *et al* (1990) Mild vitamin A deficiency and risk of respiratory tract diseases and diarrhea in preschool and school children in northeastern Thailand. Am. J. Epidemiol. *131,* 332–339.
5. ARTHUR, P., KIRKWOOD, B., ROSS, D. *et al* (1992) Impact of vitamin A supplementation on childhood morbidity in northern Ghana. Lancet *339,* 361–362.
6. BARCLAY, A. J. G., FOSTER, A. and SOMMER, A. (1987) Vitamin A supplements and mortality related to measles: a randomised clinical trial. Brit. Med. J. *287,* 294–296.
7. HUSSEY, G. D. and KLEIN, M. (1990) A randomized controlled trial of vitamin A in children with severe measles. New Engl. J. Med. *323,* 160–164.
8. WEST, K. P., POKHREL, R. P., KATZ, J. *et al* (1991). Efficacy of vitamin A in reducing preschool child mortality in Nepal. Lancet *338,* 67–71.
9. SALTZMAN, R. L. and PETERSON, P. K. (1987) Immunodeficiency of the elderly. Rev. Infect. Dis. *9,* 1127–1139.
10. GOODWIN, J. S. and GARRY, P. J. (1983) Relationship between megadose vitamin supplementation and immunological function in a healthy elderly population. Clin. Exp. Immunol. *51,* 647–653.
11. CHAVANCE, M., HERBETH, B., FOURNIER, C., JANOT, C. and VERNHES, G. (1989) Vitamin status immunity and infections in an elderly population. Eur. J. Clin. Nutr. *43,* 827–835.
12. FIDANZA, F., SARCHIELLI, P., JORDAN, P., LÜDIN, E., SCHALCH, W. and WEIMANN, B. J. (1991) Vitamin nutritional status and immunocompetence of elderly in Perugia (Italy): an epidemiological approch. Intern. J. Vit. Nutr. Res. *61,* 224–231.
13. PAUL, A. A. and SOUTHGATE, D. A. T. (1978) McCance and Widdowson's the composition of foods, Elsevier/North Holland Biomedical Press, London.
14. VUILLEUMIER, J. P., KELLER, H. E., GYSEL, D., HUNZIK, F. (1983) Clinical chemical methods for the routine assessment of the vitamin status in human populations. Part I: the fat-soluble vitamins A and E and beta-carotene. Int. J. Vit. Nutr. Res. *53,* 265–272.
15. BRUBACHER, G. and VEUILLEUMIER, J. P. (1974) Vitamin C. In: Clinical biochemistry, principles and methods (Curtius, H. C., Roth, M., eds.), pp. 889–997, W. de Gruyter, Berlin.
16. ZITTOUN, R. and ZITTOUN, J. (1970) Les anémies par carence en vitamine B_{12} et en acide folique. Rev. Prat. *20,* 573–590.
17. VUILLEUMIER, J. P., KELLER, H. E. and KECK, E. (1990) Clinical assessment of the vitamin status in human populations. Part III: the apoenzyme stimulation tests for vitamin B_1, B_2 and B_6 adapted to the Cobas-bio analyzer. Int. J. Vit. Nutr. Res. *60,* 126–135.
18. PANUSH, R. S. and DELAFUENTE, J. C. (1985) Vitamins and immunocompetence. Wld. Rev. Nutr. Diet. *45,* 97–132.
19. TENGERDY, R. P. (1990) Immunity and disease resistance in farm animals fed vitamin E. Adv. Exp. Med. Biol. *62,* 103–110.
20. TENGERDY, R. P. (1989) Vitamin E, immune response and disease resistance. Ann. N. Y. Acad. Sci. *570,* 335–344.
21. HARMAN, D. and MILLER, R. W. (1986) Effect of vitamin E on the immune response to influenza virus vaccine and the incidence of infectious disease in man. Age. *9,* 21–23.
22. HERBETH, B., LEMOINE, A., ZHU, B. P. and CHAVANCE, M. (1992) Vitamin status, immunity and infections in the elderly. In: Nutrition and Immunology (Chandra, R K., ed.), pp. 225–237, ARTS biomedical Publishers and Distributors; St. John's, Newfoundland, Canada.
23. PANUSH, R. S., DELAFUENTE, J. C., KATZ, P. and JOHNSON, J. (1982) Modulation of certain immunologic responses by vitamin C; III: potentiation of in vitro and in vivo lymphocyte responses. Int. J. Vit. Nutr. Res. *52,* 35–47.
24. KENNES, B., DUMONT, I., BROHÉE, D., HUBERT, C. and NEVÉ, P. (1983) Effect of vitamin C supplements on cell-mediated immunity in old people. Gerontol. *29,* 305–310.

Michel Chavance, INSERM U 169, 16 Av. P. Vaillant-Couturier, F-94807 Villejuif, France

Effect of 6 month supplementation with different combinations of an association of antioxidant nutrients on biochemical parameters and markers of the antioxidant defence system in the elderly

Monget AL, Richard MJ, Cournot MP, Arnaud J, Galan P, Preziosi P, Herbeth B, Favier A, Herberg S

Eur J Clin Nutr 1996;50:443-449

Si les effets d'une supplémentation en micronutriments antioxydants à des doses pharmacologiques sur les paramètres biologiques de stress oxydatif sont relativement bien connus chez les personnes âgées, il n'en est pas de même pour les traitements à doses nutritionnelles. Cette étude multicentrique a été menée par l'équipe de Serge HERCBERG (ISTNA, Paris) en collaboration avec le Centre de Médecine Préventive afin de tester l'effet d'une supplémentation de différentes associations de micronutriments antioxydants, à des doses faibles, sur les paramètres et indicateurs biologiques de stress oxydatif et les enzymes antioxydantes.

L'étude est de type essai contrôlé en double aveugle, contre placebo, et inclut 575 personnes âgées, vivant à domicile ou en long séjour hospitalier. Ces sujets, hommes et femmes de 65 à 103 ans, ont été sélectionnés dans différentes régions françaises ; le Centre de Médecine Préventive a participé au recrutement et au recueil des données sur la région Lorraine.
Quatre groupes ont été constitués et comparés, recevant chaque jour : soit une association de vitamines (vitamine E : 15 mg, vitamine C : 120 mg et β-carotène : 6 mg), soit une association de minéraux (zinc : 20 mg et sélénium : 100 µg), soit une association de vitamines E, C, β-carotène, zinc et sélénium, soit un placebo. Les indicateurs sériques de statut antioxydant et de stress oxydatif ont été mesurés à l'inclusion et après 6 mois de supplémentation : β-carotène, rétinol, α-tocophérol, vitamine C, zinc, sélénium, superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, glutathion réduit et oxydé et malondialdéhyde.

Après 6 mois de supplémentation, on observe chez les sujets qui prennent l'association de vitamines une augmentation significative de la concentration de β-carotène, d'α-tocophérol et de vitamine C dans le sérum. Dans le groupe prenant des minéraux, les concentrations sériques de zinc et sélénium et les activités de glutathion peroxydase érythrocytaire sont également augmentées comparativement au groupe placebo. De plus, on note que les sujets qui prennent les suppléments contenant des vitamines ont des activités érythrocytaires de superoxyde dismutase plus élevées en référence au groupe placebo. Les concentrations de glutathion réduit et oxydé et de malondialdéhyde ne sont pas significativement modifiées après les 6 mois de prise de supplément.
Nos résultats sont en accord avec les données de la littérature, en particulier avec celles publiées par notre équipe précédemment (**P13**). L'administration de vitamines C et E, de β-carotène, de zinc et sélénium fait augmenter les concentrations plasmatiques de ces micronutriments respectifs et minimise les risques de déficience. La prise de sélénium, seule ou avec d'autres micronutriments, est associée à des activités accrues de la glutathion peroxydase dans les érythrocytes ; ce qui est tout à fait logique compte tenu des propriétés séléno-dépendantes de cette enzyme. En revanche, contrairement à la tendance générale de la littérature, nous n'avons pas noté de baisse de concentration de MDA sérique après les 6 mois de supplémentation.
Une supplémentation sur 6 mois, avec des doses de micronutriments proches du niveau des apports conseillés, permet chez la personne âgée, un meilleur statut antioxydant évalué à l'aide des indicateurs biologiques classiques : vitamines, minéraux et enzymes antioxydantes circulantes.

European Journal of Clinical Nutrition (1996) 50, 443–449
© 1996 Stockton Press. All rights reserved 0954-3007/96 $12.00

Effect of 6 month supplementation with different combinations of an association of antioxidant nutrients on biochemical parameters and markers of the antioxidant defence system in the elderly

AL Monget[1], MJ Richard[2], MP Cournot[1], J Arnaud[2], P Galan[1], P Preziosi[1], B Herbeth[3], A Favier[2], S Hercberg[1] and the Geriatrie/Min.Vit.Aox* Network

[1] *Institut Scientifique et Technique de la Nutrition et de l'Alimentation, CNAM, 2 rue Conté, F-75003 Paris, France,* [2] *Laboratoire de Biochimie C, CHRU Grenoble, France,* [3] *Centre de Médecine Préventive de Vandoeuvre-les-Nancy, France*

Objectives: To study the effect of supplementation with an association of small physiological amounts of antioxidant nutrients upon biochemical parameters and indicators of oxidative stress and antioxidant enzymes.
Design: The study included a double-blind placebo-controlled design.
Setting: Nursing homes in different areas in France.
Subjects: 575 elderly long term hospitalized subjects aged 65–103 years.
Intervention: Four groups were compared. They received daily: (V) vitamins (vitamin E, 15 mg and vitamin C, 120 mg) and β-carotene, 6 mg; (T) trace elements (zinc, 20 mg, selenium, 100 μg); (VT) vitamins associated with trace elements; or (P) a placebo. Biological markers of vitamin and trace element status, and free radical parameters were measured initially and after 6 months of supplementation.
Results: An analysis of variance indicated a significant effect of vitamin supplementation on serum α-tocopherol, β-carotene and vitamin C, a significant effect of trace element supplementation on serum zinc and both a significant trace element and a vitamin-trace element interaction on serum selenium. We observed significant effects of both trace element and vitamin supplementation on GPx activity ($P < 0.01$), an effect of vitamin supplementation on SOD activity ($P < 0.05$).
Conclusion: Our results indicate that short-term supplementation with moderate doses of antioxidant vitamins and trace elements in elderly subjects clearly improves both non-enzymatic (α-tocopherol, β-carotene, vitamin C) levels and enzymatic antioxidant (GPx and SOD) activity.
Sponsorship: Grants from Produits Roche SA and Labcatal (France).
Descriptors: vitamin C, vitamin E, β-carotene, selenium, zinc, antioxidants, elderly people

Introduction

The antioxidant defense system is comprised of a number of interconnected, overlapping components that include both enzymatic and non-enzymatic factors. Trace elements Cu, Zn, Se and Mn and vitamins such as vitamin E, vitamin C and β-carotene are critical components in a number of these processes, and a deficit in any one of these elements can result in impairment of functioning of the overall antioxidant system (Hageman, Bast & Vermeulen, 1992; Chow, 1992; Cheer & Keen, 1992; Sies, Stahl & Sundquist, 1992).

Ageing is associated with a high risk of micronutrient deficiency, particularly in institutionalized subjects; it may affect nutrient intake, increase the need for specific nutrients and interfere with their absorption, storage and utilization. Borderline antioxidant vitamin or trace element deficiencies have been found in this population (Brubacher, 1989; Asciutti-Moura *et al*, 1989; Johnson, 1990; Volkert *et al*, 1992). Some studies suggest a relationship between poor antioxidant vitamin and/or trace element status and such health parameters as life span (Harman, 1993), morbidity (Prasad *et al*, 1993), mental and cognitive behavior and immune responses (Chandra, 1992). Moreover, recent studies have focused on the biological variability of both antioxidant defense (Lang *et al*, 1992; Guemouri *et al*, 1991) and lipoperoxidation with ageing (Artur *et al*, 1992; Zarling *et al*, 1993). However, only a few clinical studies, showing a causative relationship have been performed up until now. These indicate the efficiency of supplementation with a single nutrient (an antioxidant vitamin or trace element) (Simonoff *et al*, 1992), but high pharmacological doses were often used (Meydani *et al*, 1990, 1993).

More recently, several studies using an association of oxidative nutrients in geriatric patients showed clinical improvement and a significant reduction in the serum

* Dr Alix (Le Mans), Dr Boulos (Allones), Dr Constans (Tours), Dr Lettre (Colombes), Dr Grosshans (Mulhouse), Dr Jeandel (Nancy), Dr Richard (Dijon), Dr Jean (Paris), Dr Lebatard-Sartre (Saint Nazaire), Dr Rietsch (Strasbourg), Dr Carnein (Colmar), Dr Patouraux (Nevers), Dr Fauchier (Brest), Dr Schatz (Bischwiller), Dr Dourthe (Cognac), Dr Nairi (Saint Jean d'Angély), Dr Luizy (Rochefort), Dr Thomas (Poitiers), Dr Poupet (Poitiers), Dr Vassort (Niort), Dr Bouthier-Quintard (Limoges).

Correspondence to: S Hercberg.
Received 27 May 1995; revised 28 December 1995; accepted 7 January 1996

content of lipid peroxides (Sram *et al*, 1990) as well as a beneficial effect on cellular and humoral immunity (Penn *et al*, 1991) and a decreased frequency of infectious diseases (Meydani, 1993). It is not clear whether the observed effects were caused by the correction of a nutritional deficiency or by the pharmacological effects of high doses of vitamin and/or trace elements. The relative contribution of antioxidant vitamins or trace elements (or the combination of the two) is well documented (Hageman, Bast & Vermeulen, 1992; Sies, Stahl & Sundquist, 1992; Palozza & Krinsky, 1992; Zhu *et al*, 1992; Buettner, 1993).

Our study assessed the effect of supplementation with an association of small physiological amounts of antioxidant nutrients, vitamins (vitamin E, vitamin C) and provitamin A (β-carotene) and/or trace elements (zinc and selenium) upon biochemical parameters and indicators of oxidative stress and antioxidant enzymes in institutionalized elderly persons.

Methods

A total of 575 elderly long term hospitalized subjects, 153 males and 422 females, with a mean age of 82.9 ± 7.8 (range 65–103) years, were recruited in 20 nursing homes in different areas in France. A medical history was obtained for each subject prior to enrolment. Subjects, at least 65 years of age, presented only age-related disease (osteoarthritis, hypertension, residual stroke, etc). Excluded from enrolment in the study were subjects with a history of cancer or those taking medication that might interfere with nutritional status or vitamin or mineral supplements. Written informed consent was obtained from subjects prior to participation in the study. The research protocol was approved by the Committee on Human Experimentation of the Cochin Hospital, Paris.

The study, included a double-blind placebo-controlled design. The elderly subjects were stratified by sex and age, and randomly assigned to one of four treatment groups using a table of random numbers. Depending upon the treatment group, each person received one capsule each day over a period of 6 months. The capsule contained one of four preparations: group vitamin (V) containing ascorbic acid (120 mg), β-carotene (6 mg = 1000 retinol equivalents) and DL α-tocopherol (15 mg); group trace element (T) containing zinc sulfate and sodium selenite (providing 20 mg zinc and 100 µg selenium); group vitamin and trace element (VT) containing the addition of group vitamin (V) and group trace element (T); and group placebo (P). The placebo tablets were composed of dicalcic phosphate and cellulose. The supplements and the placebo were identical in appearance, indistinguishable from each other by look or taste and were prepared especially for this study. Vitamin and trace element status and measurement of indicators of oxidative stress and antioxidant enzymes were determined at baseline and after 6 month supplementation.

For each subject, 45 ml of whole blood were withdrawn by venipuncture between 07.00 and 08.00 from fasting subjects.

Vitamin determination

Serum β-carotene, retinol, α-tocopherol, were measured on serum by HPLC on reversed phase starting from one extract. Two detectors with programmable wavelength are used sequentially a spectrophotometer for the detection of the β-carotene in the visible region and a fluorometer for the assay of retinol and the α-tocopherol (Hess *et al*, 1991). Standard serum samples obtained from the National Institute of Standards and Technology (NIST) in Gaithersburg, Maryland (USA), were assayed to compare values with several other laboratories in a round robin. The seven standard serum number 120–122 and number 130–133 showed the following differences between the method described here and the average of the laboratories: for total β-carotene from +1.7 to −11.7%, for retinol from +5.2 to −6.4% and for α-tocopherol from +3.6 to −6.6%. According to the interpretation of the NIST a bias of 0–5% of the assigned value represents an excellent performance and a bias of >5–10% represents an acceptable performance. Consequently, the results from the laboratory by this method are considered as acceptable to excellent. Vitamin C status was evaluated on serum after mixed with metaphosphoric acid (5%) by determination using an automated method based on the continuous flow principle, segmented with air bubbles (Bourgeois *et al*, 1989). Roche cut-offs used for β-carotene, retinol, vitamin E and C were defined according to the literature (Bamji, 1981; Suter & Russell, 1987; NHANES III, 1985; Schrijver, 1991; Haller *et al*, 1991; Machlin, 1991).

Selenium and zinc determinations

Blood was collected in trace-element-free BD vacutainer tubes (Becton & Dickinson, Meylan, France). Aliquots of serum were transferred to polystyrene tubes (CML, Nemours, France) using a polyethylene transfer pipette (Becton & Dickinson, Pont de Claix, France). Serum zinc levels were performed on diluted samples by flame atomic absorption spectrometry (Perkin Elmer 460, Norwalk, CT, USA) (Arnaud *et al*, 1986). The accuracy of the technique was checked against Seronorm Trace Element Control Serum, batch 112 (measured value 11.4 + 0.4 µmol/l, certified value 12.0 µmol/l, $n = 10$). Serum selenium concentrations were determined by a direct graphite-furnace atomic-absorption-spectroscopic procedure on a Perkin Elmer 5100 (Norwalk, CT, USA) equipped with an HGA 600 furnace, an EDL lamp and a Zeeman background correction (Neve, Chamart & Molle 1987). The detection limit for selenium by this method was 0.08 µmol/l. The technique accuracy was tested by analysis of Seronorm Trace Element Serum, batch 112 (Nycomed pharma, Oslo, Norway) (measured value: 1.08 + 0.04 µmol/l, certified value: 1.1 µmol/l, with a number of investigation $n = 38$). Low levels in zinc and selenium were defined according to the literature results (NHANES III, 1985; Neve, 1991).

Red blood cell selenium dependent glutathione peroxidase (GPx), superoxide dismutase (SOD), total glutathione (reduced glutathione (GSH) + oxidized glutathione (GSSG)), oxidized (GSSG) glutathione, and thiobarbituric acid reactants (TBARs) measurements

Red blood cell selenium glutathion peroxidase (GPx) was measured by a modified method (Gunzler, Kremers & Flohe, 1974) using tert butyl hydroperoxide (Sigma Chemical Co, France) as substrate instead of hydrogen

peroxide. Absorbance was monitoring at 366 nm. Results were expressed as μmol of NADPH (Boehringer-Mannheim, Germany) oxidized per minute per gram of hemoglobin. Erythrocyte superoxide dismutase (SOD) activity was measured after hemoglobin precipitation by monitoring the autoxidation of pyrogallol according to the technique of Marklund & Marklund (1974). One Unit of (SOD) is defined as the amount of the enzyme required to inhibit the rate of pyrogallol autoxidation by 50%. Total glutathione (reduced glutathione (GSH) + oxidized glutathione (GSSG)) was determined by the GSH reductase [5,5]-dithio-bis (2-nitrobenzoic acid) recycling technique using 2-vinylpyridine to determine oxidized glutathion (GSSG) (Akerboom & Sies, 1981). Plasma overall lipid peroxidation was determined by measuring thiobarbituric acid reactants (TBARs), after hydrolysis of plasma lipoperoxides to form malondialdehyde (MDA), which reacts with thiobarbituric acid (TBA) to yield a red MDA–TBA. This adduct was measured by fluorimetry and expressed as μmol (Sobioda MDA kit, Grenoble, France) (Richard *et al*, 1992). The control serum used was liophilized Probiocal AB 43 (BioMerieux, Lyon, France), reconstituted daily according to the manufacturer's instructions.

Statistical analysis

Statistical analysis was conducted using SPSS Software on an IBM compatible microcomputer. Results are presented as mean ± s.d. Mean comparisons were performed by two-way analysis of variance testing for a trace element effect, a vitamin effect and a trace element–vitamin interaction. Validity of the assumptions was checked by a normal probability plot of residuals and Bartlett's *F*-test of homogeneity of variances. When normal distribution was not checked, logarithm or $\sqrt{}$ transformations were used to improve normality.

Results

Table 1 summarizes the characteristics of the subjects upon admission to the study. The majority of the patients were no more physically autonomous. Almost 40% of them were anorexic with a higher prevalence in women ($P < 0.05$). They were suffering from cerebrovascular diseases, respiratory-tract problems.

Serum concentrations (means ± s.d.) of β-carotene, retinol, α-tocopherol, vitamin C, zinc and selenium for men and women are presented in Table 2. Women had higher levels than men of β-carotene, α-tocopherol, vitamin C and zinc levels. Expressed as a ratio of cholesterol, the difference between sexes for α-tocopherol disappeared. Simple regression analysis showed that most of the vitamins and trace elements were significantly negatively correlated with age.

At baseline, 12.4% of subjects had serum β-carotene < 161 μg/l; 10.8% of the subjects presented low levels of serum retinol (287–401 μg/l), 2.1% had values < 287 μg/l; 67.6% of the subjects had low levels of serum vitamin C (< 3.5 μg/ml), 50.5% had serum vitamin C < 2 μg/ml. None of the study subjects had serum α-tocopherol concentrations below the limit cut-off point (< 4 mg/l). Low serum zinc levels (< 10 μmol/l) were found in 39.5% of the subjects in the total sample. Low serum selenium levels (< 0.86 μmol/l) were found in 80.1% of patients.

Table 3 shows laboratory variables before and after 6 months of supplementation for the four groups. At baseline, mean values and prevalences of low levels for biochemical markers of vitamin and trace element status and indicators of oxidative stress and antioxidant enzymes, clinical data (including smoking and alcohol history) did not differ between the four groups for any of the nutrients tested.

Serum β-carotene, α-tocopherol and vitamin C concentrations were significantly higher after 6 months of supplementation in groups (V) and (VT) compared to groups (P) and (T). Zinc and selenium concentrations were significantly higher after 6 months of supplementation in the groups supplemented by trace elements (T) and (VT) compared to other groups (V) or (P). Variance

Table 1 Clinical data upon admission (percentage for 575 subjects)

	Men $n = 153$ %	*Women* $n = 422$ %
Good health	89.4	88.7
Autonomia	35.3	37.9
Walk without help	44.1	39.3
Anorexia	33.3	42.4*
Anemia	30.0	20.0*
CVA	18.3	15.2
CHD	28.0	28.0
Cancer	4.6	6.4
Cataract	26.1	34.4
COBP	11.1	2.6**

Anemia was defined when hemoglobin levels were less than 120 g/l in women and less than 130 g/l in men.
CVA, cerebral vascular accident; CHD, coronary heart disease; COBP, chronic obstructive broncho pneumopathy.
Percentage value significantly different between sexes: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ (χ^2 test).

Table 2 Demographic, anthropometric, vitamin and mineral status upon admission to the study (means values with their standard errors for 575 subjects)

	Men $n = 153$		*Women* $n = 422$	
	Mean	*s.d.*	*Mean*	*s.d.*
Age (y)	80.7	7.5	83.7	7.8***
Weight (kg)	67.1	13.5	59.7	16.1***
BMI (kg/m^2)	24.3	4.9	24.1	6.7
β-carotene (μg/l)	421.2	260.3	483.3	288.5*
Retinol (μg/l)	600.9	194.2	578.8	185.5
α-tocopherol (mg/l)	11.5	3.1	13.3	3.6***
α-tocopherol/cholesterol (mmol/mol)	5.69	1.12	5.78	1.14
Vitamin C (μg/ml)	2.7	2.7	3.5	3.4**
Zinc (μmol/l)	10.5	2.1	10.9	2.0**
Selenium (μmol/l)	0.7	0.2	0.7	0.3

Mean value significantly different between sexes * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ (Student's unpaired *t*-test).

Table 3 Vitamin and trace element status before and after 6 months of supplementation (mean values with their standard errors for 575 subjects)

	Before supplementation		*After supplementation*	
	Mean	*s.d.*	*Mean*	*s.d.*
β-carotene (μg/l)				
P	445.9	284.5	402.1	200.9
V	480.9	284.6	1582.9	901.7
T	471.9	274.8	452.9	290.6
VT	467.5	287.2	1716.9	983.3
Retinol (μg/l)				
P	589.2	209.3	563.0	181.7
V	601.4	187.1	613.8	197.6
T	573.4	175.1	600.8	198.3
VT	575.0	179.4	596.9	189.2
α-tocopherol (mg/l)				
P	13.00	3.72	12.90	3.45*
V	12.86	3.38	15.12	3.63
T	12.70	3.83	12.75	3.74
VT	12.60	3.18	14.77	3.62
α-tocopherol/cholesterol (mmol/mol)				
P	5.94	1.23	5.78	1.17*
V	5.85	1.17	6.80	1.22
T	5.80	1.26	5.72	1.28
VT	5.75	1.12	6.72	1.21
Vitamin C (μg/ml)				
P	3.36	3.23	3.56	3.31*
V	2.95	3.27	8.33	3.27
T	3.45	3.19	3.30	3.32
VT	3.33	3.33	8.62	3.33
Zinc (μmol/l)				
P	10.69	1.94	10.59	2.10**
V	10.74	1.95	10.70	2.17
T	10.67	1.98	10.97	2.17
VT	10.93	2.22	11.11	2.31
Selenium (μmol/l)				
P	0.73	0.54	0.74	0.20**,[a]
V	0.72	0.19	0.77	0.25
T	0.73	0.19	1.18	0.20
VT	0.70	0.20	1.11	0.23

P, group placebo; V, group vitamin; T, group trace element; VT, group vitamin–trace element.
Mean values within each blood taking were compared (two-way analysis of variance testing for a vitamin effect, a trace element effect, and a vitamin–trace element interaction).
* Significant vitamin effect.
** Significant trace element effect.
[a] Significant vitamin–trace element interaction.

Table 4 Antioxidant enzymes and lipid peroxides before and after 6 months of supplementation (mean values with their standard errors for 575 subjects)

	Before supplementation		*After supplementation*	
	Mean	*s.d.*	*Mean*	*s.d.*
GPx (U/g Hb)				
P	33.44	10.43	31.25	9.04*,**
V	34.70	10.30	34.34	9.70
T	34.01	9.86	42.57	10.07
VT	34.09	10.35	46.26	11.16
SOD (U/mg Hb)				
P	1.26	0.20	1.08	0.20*
V	1.25	0.21	1.12	0.22
T	1.24	0.18	1.06	0.23
VT	1.25	0.19	1.12	0.13
GSH/GSSG				
P	49.12	18.69	59.59	21.84
V	50.05	20.84	64.50	26.86
T	52.10	22.28	63.05	27.57
VT	51.54	23.13	68.10	31.54
TBARs (μmol/l)				
P	2.90	0.50	2.71	0.42
V	2.92	0.50	2.69	0.43
T	2.89	0.45	2.75	0.76
VT	2.87	0.48	2.69	0.46

P, group placebo; V, group vitamin; T, group trace element; VT, group vitamin–trace element.
Mean values within each group were compared (two-way analysis of variance testing for a vitamin effect, a trace element effect, and a vitamin–trace element interaction).
* Significant vitamin effect.
** Significant trace element effect.

analysis indicated a vitamin effect for serum β-carotene, α-tocopherol and vitamin C, a significant trace element effect for serum zinc, and a significant trace element effect and vitamin-trace element interaction for serum selenium.

After 6 months, there was a marked reduction in the frequency of low levels of serum vitamin C and less than 5% of patients remained deficient in groups (V) and (VT) (compared to 56 and 50%, respectively, before supplementation). The percent of subjects with low serum concentrations after trace element supplementation alone or associated with vitamins decreased in group (T) from 78 to 4% for selenium, and from 43 to 36% for zinc; and in group (VT) from 80 to 14% for selenium and from 43 to 29% for zinc.

For indicators of antioxidant enzymes (Table 4), we observed a significant vitamin effect and a significant mineral effect upon (GPx) activity ($P < 0.01$), and a vitamin effect on (SOD) activity ($P < 0.05$). The ratio (GSH/GSSG), was higher in groups supplemented with vitamins and/or trace elements than in the placebo group, but the vitamin effect was not significant ($P = 0.07$). No modification were observed after 6 months of supplementation for (TBARs). Before supplementation, (GPx) was significantly positively correlated with selenium ($r = 0.25$; $P < 0.01$), β-carotene ($r = 0.23$; $P < 0.01$), α-tocopherol ($r = 0.15$; $P < 0.01$) and vitamin C ($r = 0.20$; $P < 0.01$).

Discussion

Our data on the vitamin and trace element status of the institutionalized elderly are consistent with data published in other countries on the same type of institutionalized population (Asciutti-Moura *et al*, 1989; Brubacher, 1989). Less favorable biological status has generally been found in subjects living in institutions compared to free-living elderly populations (Campbell *et al*, 1989; EURONUT SENECA, 1991; Goode *et al*, 1991; Hercberg *et al*, 1994). Löwik *et al* (1992) described the nutritional status (assessed by anthropometric indices, and biochemical and hematological variables in

blood) of three groups of elderly women (aged ⩾65 y); one group living in nursing homes, a second living in service flats and receiving dinner from a nursing home kitchen, and a third living independently. Mean blood concentration of α-tocopherol, vitamin C, selenium were significantly lower among women living in nursing homes.

Numerous studies have shown the beneficial effects of supplementation with a single nutrient, administered at pharmacologic doses, upon biological status (Meydani *et al*, 1990; Hunt *et al*, 1994).

Our investigation of a group of institutionalized elderly provides information on the effect of supplementation with different combinations of an association of antioxidant nutrients (vitamin E, β-carotene, vitamin C and/or zinc and selenium), given at physiological doses (1 to 2 times the recommended dietary allowances) upon biochemical status and the antioxidant defence system.

In our study, the effect of vitamin supplementation (alone or associated with trace elements) during a 6-month period on serum concentrations of biochemical markers for assessing vitamin status was particularly significant for vitamins C, E and β-carotene. We did not find low levels after 6 months of supplementation with modest doses of vitamins. Such improvement in vitamin and trace element status, with a decrease in low values for biological markers after supplementation with physiological amount of vitamins from 3 months to one year have been previously described in the elderly (Chandra, 1992; Schneider, Schlettwein-Gsell & Stähelin, 1992; Chavance *et al*, 1993).

For trace elements, administration of selenium and zinc (T group) alone or associated with vitamins (VT group) clearly increases plasma selenium and zinc concentrations, with very good efficiency at reducing the percentage of low serum selenium concentration and to a lesser extent, low serum zinc concentration in both groups receiving mineral supplementation (T and VT groups). Other investigators also reported that zinc supplementation moderately improved the concentration of zinc in serum (Swanson *et al*, 1988; Bogden *et al*, 1990; Chandra, 1992). In elderly subjects supplemented for one year, Bogden *et al* (1990) described, an increase in plasma zinc concentration in the group receiving 100 mg daily, but no change in the group receiving 15 mg daily. Almost all the zinc in serum is protein bound, 60–80% is loosely bound to albumin making up a metal protein complex. Albumin seems to be concerned with zinc transport, furthermore, the quantity of free albumin regulate the quantity of zinc entering the organism during zinc absorption in small intestine. Statistical significant negative correlation between age and albumin might explain the lowered serum zinc levels and the moderate increase of zinc supplementation (Vir & Love, 1979; Folin, Contiero & Vaselli, 1994).

In line with other studies of the elderly (Tolonen *et al*, 1988; Clausen, Nielsen & Kristensen, 1989; Bortoli *et al*, 1991), the trace element supplementation induced an increase of the level of serum selenium. In an elderly population, Peretz *et al* (1991) demonstrated the efficiency of selenium-enriched yeast in increasing plasma selenium concentrations. Healthy elderly subjects (84-years-old), who received 120 μg of selenium per day (as selenite) for one month showed an 80% increase in plasma selenium (Simonoff *et al*, 1992).

The effects of supplementation with antioxidant nutrients upon enzymatic antioxidants has already been described, especially concerning selenium-dependent glutathione peroxidase of erythrocytes. Clausen, Nielsen & Kristensen (1989) supplemented patients for one year with an antioxidative cocktail consisting of 300 μg selenium (as L-selenomethione), 45 mg zinc, 270 mg vitamin C, 2.7 mg vitamin A, 6 mg vitamin B6 and 465 mg vitamin E. In the verum group, and for one year, whole blood selenium, selenium-dependent glutathione peroxidase of erythrocytes and vitamin E levels in serum were increased compared to the placebo group. We also observed a significant increase in GPx in groups receiving trace elements (alone or associated with vitamins). Previous studies performed on elderly subjects also reported an increase in GPx activity after supplementation with antioxidant nutrients (Neve, Vertongen & Capel, 1988; Bortoli *et al*, 1991). The vitamin effect on glutathione peroxidase activity is consistent with the correlation between (GPx) activity and vitamin described at baseline, in part vitamin E and C, and might be explained by an interaction with glutathione metabolism. This is in line with the vitamin effect on the ratio GSH : GSSG. Presumably, ascorbate spare glutathion *in vivo* by minimizing the GSH-dependent reduction of dehydroascorbate to ascorbate and by providing an alternative cellular reducing agent, then there is more substrate for glutathione peroxidase (Johnston, Meyer & Srilakshmi, 1993). In our study, we noted a significant vitamin effect on Cu–Zn SOD activity. This increase revealed a complex system of interactions confirmed by an increase in the ratio of GSH : GSSG. GSH is considered a non-enzymatic antioxidant, as it is known to be involved in various antioxidant defence systems (GPx activity, glutathione reductase).

Although different studies described a significant decrease in plasma TBARs after supplementation with antioxidant nutrients (Tolonen *et al*, 1988; Bortoli *et al*, 1991), we found no effects of antioxidant vitamin and trace element supplementation on the level of TBARs. This result is consistent with data of Peretz *et al* (1991), who observed no significant changes in TBARs levels after 6 months of selenium supplementation. Conversely, in a group of elderly women receiving 66 μg of inorganic selenium and 20 mg of vitamin E, Bortoli *et al* (1991) observed an increase in TBARs after 60 days of supplementation. In that study, however, the baseline TBARs level was higher and the GPx activity lower than in our results. In a randomized double blind one-year study performed on a group of geriatric patients supplemented with an antioxidative cocktail consisting of β-carotene (9 mg/d), vitamin B_6(2 mg/d) C (90 mg/d), E (460 mg/d), zinc (15 mg/d) and selenium (900 μg/d), Tolonen *et al*, (1988) indicated a high initial level of TBARs in geriatric patients, which decreased after three months of supplementation and stayed at this level until the end of the study. In that study the doses of vitamin E and selenium were higher than in our supplementation: indeed, and vitamin E is known to be the most effective non-enzymatic antioxidant against lipoperoxidation: moreover, the synergy between vitamin E and selenium has been described. These authors observed a negative correlation between TBARs concentration and whole blood selenium (Tolonen *et al*, 1988). Plasma TBARs concentrations are affected by iron, haem proteins and purines which may bind to thiobarbituric acid

during the heating stage of the assay. It is possible that the TBARs results in this study are artefactually high and mask any underlying amelioration of lipid peroxidation by supplementation.

In conclusion, our data indicate that short-term supplementation (6 months) with moderate doses of antioxidant vitamins and trace elements in elderly subjects clearly improves vitamin and mineral status and enzymatic and non-enzymatic defence against free radicals.

If such studies should confirm the beneficial effect of supplementation on defence against oxidative stress in the elderly, this may lead to substantial health benefits for this population, since impaired antioxidant defence in this age group is associated with higher morbidity and mortality.

Acknowledgements—This work was supported by grants from Produits Roche SA and Labcatal (France).

References

Akerboom TPM & Sies H (1981): Assay of glutathione disulfide and glutathione mixed disulfides in biological samples. In *Methods in enzymology*, pp 373–382. New York: Academic Press.

Arnaud J, Bellanger J, Bienvenu F, Chappuis P & Favier A (1986): Méthode recommandée de dosage du zinc sérique par absorption atomique en flamme. *Ann. Biol. Clin.* **44,** 77–87.

Artur Y, Herbeth B, Guemoury L, Lecomte E, Jeandel C & Siest G (1992): Age-related variations of enzymatic defenses against free radicals and peroxydates. In *Free radicals and aging*, eds I Emerit and B Chance, pp 359–368. Basel: Birkhäuser.

Asciutti-Moura LS, Guilland JC, Fuchs F, Klepping J & Richard D (1989): Vitamin A intake and vitamin A status in an elderly, institutionalized population. *Nutr. Rep. Int.* **39,** 1107–1115.

Bamji MS (1981): Laboratory tests for the assessment of vitamin nutritional status. In *Vitamins in human biology and medicine*, ed MH Briggs, pp 1–27. Boca Raton: Florida.

Bogden JD, Oleske JM, Lavenhar MA, Munves EM, Kemp BS, Bruening KS, Holding KJ, Denny TN, Guarino MA & Holland BK (1990): Effects of one year of supplementation with zinc and other micronutrients on cellular immunity in the elderly. *J. Am. Coll. Nutr.* **9,** 214–225.

Bourgeois CF, Chartois HR, Coustans MF & George PR (1989): Automated determination of vitamin C in foodstuffs and biological tissues. *Analusis* **9,** 519–525.

Bortoli A, Fazzin G, Marchiori M, Mello F, Brugiolo R & Martelli F (1991): Selenium status and effect of selenium supplementation in a group of elderly women. *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.* **5,** 19–21.

Brubacher G. (1989) Vitamin deficiency in the elderly, its impact on health and its prevention. In *Nutrition in the prevention of disease*, ed JC Somogyi and S Hejda, pp 60–75. Basel: Karger.

Buettner GR (1993): The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, alpha tocopherol, and ascorbate. *Arch. Biochem. Biophys.* **300,** 535–543.

Campbell D, Bunker VW, Thomas AJ & Clayton BE (1989): Selenium and vitamin E status of institutionalized elderly subjects: analysis of plasma, erythrocytes and platelets. *Br. J. Nutr.* **62,** 221–227.

Chandra RK (1992): Effect of vitamin and trace element supplementation on immune rsponse and infection in elderly subjects. *Lancet* **340,** 1124–1127.

Chavance M, Herbeth B, Lemoine A & Zhu BP (1993): Does multivitamin supplementation prevent infections in healthy elderly subjects? A controlled trial. *Int. J. Vit. Nutr. Res.* **63,** 11–16.

Cheer SZ & Keen CL (1992): Essential trace elements in antioxidant processes. In *Trace elements, micronutrients and free radicals*, ed IE Dreosti, pp 107–125. Totowa, NJ: Humana Press.

Chow CK (1992): Vitamins and related dietary antioxidants. In *Trace elements, micronutrient, and free radicals*, ed IE Dreosti, pp 129–147. Totowa, New Jersey: Humana Press.

Clausen J, Nielsen S & Kristensen M (1989): Biochemical and clinical effects of an antioxidative supplementation of geriatric patients. *Biol. Trace Elem. Res.* **20,** 135–151.

EURONUT SENECA (1991): Nutrition and the elderly in Europe. *Eur. J. Clin. Nutr.* **45,** 31–42.

Folin M, Contiero E & Vaselli GM (1994): Zinc content of normal human serum and its correlation with some hematic parameters. *Biometals* **7,** 75–79.

Goode HF, Penn ND, Kelleher J & Walker BE (1991): Evidence of cellular zinc depletion in hospitalized but not in healthy elderly subjects. *Age Ageing* **20,** 345–348.

Guemouri L, Artur Y, Herbeth B, Jeandel C, Cuny G & Siest G (1991): Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase in blood. *Clin. Chem.* **37,** 1932–1937.

Gunzler WA, Kremers H & Flohe L (1974): An improved test procedure for glutathione peroxidase in blood. *Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.* **12,** 444–448.

Hageman JJ, Bast A & Vermeulen NPE (1992): Monitoring of oxidative free radical damage *in vivo:* analytical aspects. *Chem. Biol. Interactions* **82,** 243–293.

Haller J, Löwik MRH, Ferry M & Ferro-Luzzi A. (1991): Euronut Seneca Study on nutrition and the elderly. Nutritional status: blood vitamins A, E, B6, B12, folic acid and carotene. *Eur. J. Clin. Nutr.* **45,** 63–82.

Harman D (1993): Free radical involvement in aging. *Drugs Aging* **3,** 60–80.

Hercberg S, Preziosi P, Galan P, Devanlay M, Keller H, Bourgeois C, Potier de Courcy G & Cherouvrier F (1994): Vitamin status of a healthy French population: dietary intakes and biochemical markers. *Int. J. Vit. Nutr. Res.* **64,** 220–232.

Hess D, Keller HE, Oberlin B, Bonfanti R & Schüep W (1991): Simoultaneous determination of retinol, tocopherols, carotenes and lycopene in plasma by means of high-performance liquid chromatography on reversed phase. *Int. J. Vit. Nutr. Res.* **61,** 232–238.

Hunt C, Chakravorty NK, Annan G, Habibzadeh N & Schorah CJ (1994): The clinical effects of vitamin C supplementation in elderly hospitalized patients with acute respiratory infections. *Int. J. Vit. Nutr. Res.* **64,** 212–219.

Johnson LE (1990): Vitamin disorders in the elderly. In *Geriatric nutrition*, ed JE Morley, Z Glick and LZ Rubenstein, pp 117–147. New York: Raven Press.

Johnston CS, Meyer CG & Srilakshmi JC (1993): Vitamin C elevates red blood glutathione in healthy adults. *Am. J. Clin. Nutr.* **58,** 103–105.

Lang CA, Naryshkin S, Schneider DL, Mills BJ & Lindeman RD (1992): Low blood glutathione levels in healthy aging adults. *J. Lab. Clin. Med.* **120,** 720–725.

Löwik MRH, van den Berg H, Schrijver J, Odink J, Wedel M & Van Houten P (1992): Marginal nutritional status among institutionalized elderly women as compared to those living more independently (Dutch Nutrition Surveillance System). *J. Am. Coll. Nutr.* **11,** 673–681.

Machlin LJ (1991): Vitamin E. In *Handbook of Vitamins*, ed LJ Machlin, pp 100–144. Marcel Dekker, New York:

Marklund S & Marklund G (1974): Involvement of superoxide anion radical in the autooxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.* **74,** 469–474.

Meydani SN (1993): Vitamin/mineral supplementation, the aging immune response, and risk of infection. *Nutr. Rev.* **51,** 106–115.

Meydani SN, Barkland MP, Liu S, Meydani M, Miller RA, Cannon JG, Morrow FD, Rocklin R & Blumberg JB (1990): Vitamin E supplementation enhances cell-mediated immunity in healthy elderly subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* **52,** 557–563.

Meydani M, Meydani SN, Leka L, Gong J & Blumberg JB (1993): Effect of long-term vitamin E supplementation on lipid peroxidation and immune responses of young and old subjects. *FASEB J,* **7,** A415–A421.

Neve J (1991): Methods in determination of selenium states. *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.* **5,** 1–17.

Neve J, Chamart S & Molle L (1987): Optimisation of a direct procedure of selenium in plasma and erythrocyte using Zeeman effect atomic absorption spectrometry. In *Trace element analytical chemistry in medicine and biology*, ed P Bratter & P Schamer, pp 1–10. Berlin: Walter de Gruyte.

Neve J, Vertongen F & Capel P (1988): Selenium supplementation in healthy Belgian adults: response in platelet glutathione peroxidase activity and other blood parameters. *Am. J. Clin. Nutr.* **48,** 139–144.

NHANES III (1985): Suggested measures of nutritional status and health conditions for the third national health and nutrition examination survey, ed SA Klasing & SM Pilch. Life Sciences Research

Office, Federation of American Societies for Experimental Biology, Bethesda.

Palozza P, Krinsky N (1992): Beta-carotene and alpha tocopherol are synergistic antioxidants. *Arch. Biochem. Biophys.* **297**, 184–187.

Penn ND, Purkins L, Kelleher J, Heatley RV, Masie-Taylor BH & Belfield PW (1991): The effect of dietary supplementation with vitamins A, C, and E on cell-mediated immune function in elderly long-stay patients: a randomized controlled trial. *Age Ageing* **20**, 169–174.

Peretz A, Neve J, Desmedt J, Duchateau J, Dramaix M & Famaey JP (1991): Lymphocyte response is enhanced by supplementation of elderly subjects with selenium-enriched yeast. *Am. J. Clin. Nutr.* **53**, 1323–1328.

Prasad A, Fitzgerald JT, Hess JW, Kaplan J, Pelen F & Dardenne M (1993): Zinc deficiency in elderly patients. *Nutrition* **9**, 218–224.

Richard MJ, Portal B, Meo J, Coudray C, Hodjian A & Favier A (1992): Determination of thiobarbituric acid reactant in plasma and lipoprotein fractions. Evaluation of the Sobioda MDA Kit. *Clin. Chem.* **38**, 704–710.

Schneider H, Schlettwein-Gsell D & Stähelin HB (1992): The effect of multi-vitamin and trace element supplementation on nutrition status of 47 healthy men aged 66–75 in Switzerland. *Age Nutr.* **3**, 129–132.

Schrijver J (1991): Biochemical markers for micronutrient status and their interpretation. In *Modern lifestyles, lower energy intake and micronutrient status*, ed Pietrik, pp 55–85. London: Springer.

Sies H, Stahl W & Sundquist AR (1992): Antioxidant functions of vitamins: Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids. *Ann. NY Acad. Sci.* **669**, 7–20.

Simonoff M, Sergeant N, Garnier N, Moretto P, Llabador Y, Simonoff G & Conri C (1992): Antoxidant status (selenium, vitamins A and E) and aging. In *Free radicals and aging*, ed I Emerit and B Chance, pp 368–397. Basel: Birkhâuser.

Sram R, Binkova B, Topinka J, Kotesovec F, Hanel I, Fojtikova I, Klaschka J & Gebhart J (1990): Effect of antioxidant supplementation in an elderly population. 20th Meeting of European Environmental Mutagen Society, York, UK.

Suter PM & Russel RM (1987): Vitamin requirements of the elderly. *Am. J. Clin. Nutr.* **45**, 501–512.

Swanson CA, Mansourian R, Dirren H & Rapin CH (1988): Zinc status of healthy elderly adults: response to supplementation. *Am. J. Clin. Nutr.* **48**, 343–349.

Tolonen M, Sarna S, Keinonen M, Halme M & Norberg UR (1988): Antioxidant supplementation reduced serum lipid peroxides in elderly. A randomized double-blind one-year study. In *Selenium in medicine and biology*, eds J Neve and A Favier, pp 329–332. Berlin: Walter de Gruyter.

Vir SC & Love AHG (1979): Nutritional status of institutionalized and noninstitutionalized aged in Belfast, Northern Ireland. *Am. J. Clin. Nutr.* **32**, 1934–1947.

Volkert D, Kruse W, Oster P & Schlierf G (1992): Malnutrition in geriatric patients: diagnostic and pronostic significance of nutritional parameters. *Ann. Nutr. Metab.* **36**, 97–112.

Zarling EJ, Morbarhan S, Bowen P & Kamath S (1993): Pulmonary pentane excretion increases with age in healthy subjects. *Mech. Ageing Dev.* **67**, 141–147.

Zhu LZ, He YP, Piao JC, Cai QY, Sun CP, Chang JZ, Wu K & Cong JP (1992): Difference of antioxidative effect between vitamin E and selenium. In *Lipid-soluble antioxidants: biochemistry and clinical applications*, eds ASH Ong and L Packer, pp 92–104. Basel: Birkhäuser.

Effects of supplementation with a combination of antioxidant vitamins and trace elements, at nutritional doses, on biochemical indicators and markers of the antioxidant system in healthy adult subjects

Preziosi P, Galan P, Herbeth B, Valeix P, Roussel AM, Malvy D, Paul-Dauphin A, Arnaud J, Richard MJ, Briançon S, Favier A, Hercberg S

J Am Coll Nutr 1998;17:244-249

Ce travail a été mené pendant la phase de tests de faisabilité de l'étude SU.VI.MAX. Il avait pour objectif de mesurer chez des sujets présentant des déficiences en micronutriments faibles à modérées - comme on peut en rencontrer dans les pays développés- l'impact d'une supplémentation en micronutriments sur les marqueurs biologiques de statut en vitamines et éléments trace.

L'étude est de type randomisé, en double aveugle, et avait pour objectif de comparer 2 groupes : l'un a reçu une combinaison de vitamines (β-carotène : 6 mg, acide ascorbique : 120 mg, vitamine E : 30 mg), l'autre un placebo. L'échantillon était composé de 166 hommes de 45 à 60 ans et 235 femmes de 35 à 60 ans. Les marqueurs biologiques classiques de statut en micronutriments ont été mesurés sur les 2 groupes traité et placebo : β-carotène, rétinol, α-tocophérol, acide ascorbique, zinc et sélénium sériques, glutathion peroxydase plasmatique et érythrocytaire, superoxyde dismutase érythrocytaire, glutathion total et oxydé et malondialdéhyde. Ces indicateurs ont été mesurés avant tout traitement, après 3 mois de supplémentation et après 6 mois.

A l'inclusion, les 2 groupes randomisés ne diffèrent pas significativement pour les indicateurs biologiques de statut en antioxydants. Les limites de décision, spécifiques à chaque indicateurs, ont permis pour chaque nutriment de définir la proportion des sujets ayant des concentrations basses : vitamine C (18,2 % pour les hommes et 5,1 % pour les femmes), rétinol (2,4 % et 17,0 %), β-carotène (18,7 % et 10,0 %), α-tocophérol (0,0 % et 0,0 %), zinc (15,1 % et 23,8 %) et sélénium (6,0 % et 6,4 %).
Après 3 mois de supplémentation avec la combinaison des 5 micronutriments, les concentrations sériques d'α-tocophérol, d'acide ascorbique, de β-carotène, de zinc et de sélénium augmentent significativement, comparativement au groupe placebo. La différence entre les 2 groupes persiste après 6 mois de supplémentation ; l'effet étant peu différent à 3 ou 6 mois. Dans le plasma et les globules rouges, la prise de supplément fait augmenter les activités de glutahion peroxydase. Le rétinol sérique est peu sensible à la supplémentation, que ce soit à 3 ou 6 mois. Il en est de même pour les activités de superoxyde dismutase érythrocytaire et pour les concentrations de MDA et de glutathion réduit et oxydé. Le pourcentage d'individus présentant des taux bas d'indicateurs biologiques de statut antioxydant est réduit dans le groupe recevant le supplément pendant 6 mois : de 12 à 1 % pour le β-carotène, de 10 à 1 % pour la vitamine C, de 2,5 à 0 % pour le sélénium et de 18 à 9 % pour le zinc.

Ce travail, préliminaire à l'étude SU.VI.MAX, démontre l'efficacité des apports en vitamines antioxydantes et éléments trace, à doses nutritionnelles, sur les indicateurs biologiques classiques du statut en ces micronutriments. Le bénéfice en terme d'augmentation des niveaux sanguins en ces nutriments est rapide (moins de 3 mois) et se maintient dans des limites raisonnables, sans atteindre des valeurs très élevées comme celles obtenues au cours des essais de supplémentation bien connus menés en Finlande et aux USA.

Original Paper

Effects of Supplementation with a Combination of Antioxidant Vitamins and Trace Elements, at Nutritional Doses, on Biochemical Indicators and Markers of the Antioxidant System in Adult Subjects

Paul Preziosi, MD, Pilar Galan, MD, PhD, Bernard Herbeth, PhD, Pierre Valeix, PhD, Anne-Marie Roussel, PhD, Denis Malvy, MD, PhD, Agnès Paul-Dauphin, MD, Josiane Arnaud, PhD, Marie-Jeanne Richard, PhD, Serge Briancon, MD, Alain Favier, PhD, and Serge Hercberg, MD, PhD

Institut Scientifique et Technique de la Nutrition et l'Alimentation, Conservatoire National des Arts et Métiers, (P.P., P.G., P.V., S.H.), Paris; Centre de Médecine Préventive de Vandoeuvre-les-Nancy (B.H.); Laboratoire de Biochimie (A-M.R., J.A., M-J.R., A.F.), CHRU de Grenoble; INSERM U330 (D.M.), Université de Bordeaux 2; and Ecole de Santé Publique (A.P-D., S.B.), CHRU de Nancy, FRANCE

Key words: vitamin C, vitamin E, beta-carotene, selenium, zinc, antioxidants, healthy subjects

Objective: To test the impact of supplementation with nutritional doses of antioxidant nutrients on biochemical indicators of vitamin and trace element levels.

Design: A randomized double-blind trial was performed comparing two groups receiving daily either a combination of vitamins (beta-carotene, 6 mg; vitamin C, 120 mg; and vitamin E, 30 mg) and trace elements (zinc, 20 mg; and selenium, 100 μg); or a placebo.

Subjects: 401 subjects (166 males aged 45 to 60 years and 235 females aged 35 to 60 years).

Measure of outcome: Biological markers of vitamin and trace element status and free radical parameters were measured initially, 3 months, and 6 months after supplemention.

Results: Mean serum concentrations of alpha-tocopherol, vitamin C, beta-carotene, zinc and selenium increased significantly after 3 months of supplementation in the group receiving multivitamins associated with minerals. At baseline, 18.2% of the men and 5.1% of the women had low concentrations of serum vitamin C (<20 μmol/l); 2.4% of the men and 17% of the women presented low concentrations of serum retinol (<1.4 μmol/l); 18.7% of men and 10% of women had serum beta-carotene <0.30 μmol/l. None of the study subjects had serum alpha-tocopherol concentrations below the limit cut-off point (<9.3 μmol/l). Low serum zinc concentrations (<10.7 μmol/l) were found in 15.1% of men and 23.8% of women. Low serum selenium concentrations (<0.75 μmol/l) were found in 6% of men and 6.4% of women. A significant increase in plasma and red cell GPx activity was observed in groups receiving supplementation. No modifications were observed after 6 months of supplementation for malondyaldehyde.

Conclusion: This study demonstrates the efficacy of an intake of antioxidant vitamins and trace elements, given at nutritional doses, on biochemical indicators of vitamin and trace elements status.

INTRODUCTION

In the last 20 years, many basic, clinical and epidemiological research has suggested a potential protective effect of antioxidant nutrients such as beta-carotene, vitamin C, vitamin E, selenium and zinc on the risk of cancer and cardiovascular diseases [1–5]. Data provided by cross-sectional, case-control and prospective epidemiological studies raise strong supportive arguments for the relationship between the intake of antioxidant vitamins and trace elements and the risk of pathologies [6–9]. However, the observational nature of these studies does not permit the establishment of causal relationships. Results of several randomized placebo-controlled trials recently published appear to be conflicting [10–13]. Some of these intervention

Address reprint requests to: Serge Hercberg, MD, PhD, ISTNA/CNAM, 2 rue Conté, F-75003 Paris, FRANCE.

Journal of the American College of Nutrition, Vol. 17, No. 3, 244–249 (1998)
Published by the American College of Nutrition

studies have reported, in high risk populations (smokers or asbestos-exposed workers) receiving high doses of antioxidants, higher relative risk of some pathologies [11,12]. In these studies with a negative effect, the supplementation was responsible, after several months, for a marked increase in blood concentrations of indicators of vitamin status.

Thus it is advantageous to develop randomized, controlled trials in the general population which use a combination of nutrients at levels similar to those contained in a healthy diet and associated in observational studies, with the lowest risk of disease.

The objective of the present study is to assess, in subjects with slight-to moderate micronutrient deficiencies (as frequently observed in populations of developed countries), the impact of supplementation with antioxidant nutrients on biochemical indicators of vitamin and trace element levels to ensure that doses were adequate for correcting potential deficiencies, but not high enough to result in abnormally high concentrations of blood indicators.

MATERIALS AND METHODS

Population

A brief media campaign was organized to recruit volunteers for this study. Four hundred and one subjects (166 males aged 45 to 60 years and 235 females aged 35 to 60 years) were recruited for this test. To be eligible, the subjects had to declare themselves free of any severe pathology and not be taking supplements containing any of the studied vitamins or minerals. They were randomly selected in four French urban areas (Paris, n=149; Grenoble, n=107; Nancy, n=88 and Tours, n=57).

The research protocol was approved by the Committee on Human Experimentation of the Cochin Hospital of Paris. The study had a double-blind, placebo-controlled design. Participants were stratified by sex and age and randomly assigned to one of the two treatment groups using block randomization. They received one capsule per day for a period of 6 months.

Group S received 120 mg of ascorbic acid, 6 mg of beta-carotene (1000 retinol equivalents) and 30 mg of alpha tocopherol; 20 mg of zinc (as gluconate) and 100 μg of selenium (as yeast). Group P received the placebo (P group). Supplements and placebo appeared identical and were prepared especially for this study.

Biological Measurements and Laboratory Procedures

Biological indicators of vitamin and trace element status and markers of oxidative stress and defenses against oxidative stress were measured initially and at 3 and 6 months after the beginning of the supplementation. For each measurement, 35 ml of whole blood was withdrawn by venipuncture between 7 and 11 a.m. from fasting subjects.

Vitamin Determination. Vitamin C status was evaluated by serum ascorbic acid determination using an automated method based on the continuous flow principle, segmented with air bubbles [14]. Serum retinol was measured by HPLC with normal phase (silicagel), isocratic elution with n-hexane/isopropanol (970:30) and detection by UV at 330 nm. Serum beta-carotene was measured by normal phase HPLC on Silicagel, isocratic elution with n-hexane/dioxane (990:10) and detection in visible light at 436 nm. Serum tocopherol was measured by normal phase HPLC on Silicagel, isocratic elution with n-hexane/ethyl acetate (930:70) and fluorescence detection with excitation at 298 nm and emission at 328 nm [15].

Selenium and Zinc Determination. Blood was collected in trace element free BD vacutainer tubes (Becton & Dickinson, Meylan, France). Aliquots of serum were transferred to polystyrene tubes (CML, Nemours, France) using a polyethylene transfer pipet (Becton & Dickinson, Pont de Claix, France). Serum zinc concentrations were determined [16] by flame atomic absorption spectrometry (Perkin Elmer 460, Norwalk, CT). Serum selenium concentrations were determined on a Perkin Elmer 5100 (Norwalk, CT) equipped with an HGA 600 furnace, an EDL lamp and Zeeman background correction [17].

Red Blood Cell Selenium Dependent Glutathione Peroxidase (GPx), Superoxide Dismutase (SOD), Total (GSHT) and Oxidized Glutathione and Malondialdehyde (MDA) Measurements. GPx was measured by a modified method of Gunzler et al [18] using tert-butyl hydroperoxide (Sigma Chemical Co, France) as substrate instead of hydrogen peroxide; results were expressed as μmol of NADPH (Boehringer-Mannhein, Germany) oxidized per minute per g of hemoglobin. Erythrocyte Cu-Zn SOD activity was measured after hemoglobin precipitation by monitoring the autoxidation of pyrogallol according to the technique described by Marklund and Marklund [19]. GPx and SOD assay were adapted to the Hitachi 704 automated analyser (Boehringer Mannheim, Meylan, France). For whole blood reduced (GSH) and oxidized (GSSG) glutathione determination, just after venipuncture, 400 μl of whole blood were transferred to a tube containing 3600 μl 6% (v/v) of metaphosphoric acid in water. Total glutathione (GSH+GSSG) was determined by a modified method of et al [20] in the acidic protein-free supernatant. An aliquot of the deproteinized extract was neutralized with a solution containing 0.4 M N-morpholoinopropanesulfonic acid and 2 mM EDTA adjusted to pH 6.75 with KOH 1M. Glutathione was determined using enzymatic cycling of GSH by means of NADPH and glutathione reductase coupled with DTNB. To assay oxidized glutathione, GSH was masked by adding 10 μl of 2-vinyl-pyridine to 500 μl of deproteinized extract adjusted to pH 6 with triethanolamine. Plasma lipid peroxidation was determined by measuring thiobarbituric acid reactants (TBARs) and expressed as μmol of malondialdehyde. We used the Sobioda MDA kit (Grenoble, France), as described by Richard et al [21].

Statistical Analysis

Data were collected on an Apha-VMS system using SAS for statistical analysis. Since some variable distributions were markedly positively skewed, logarithm transformation of these variables was used.

RESULTS

Table 1 summarizes the biological characteristics of the subjects upon admission to the study. Serum concentrations of beta-carotene and vitamin C were significantly higher in women than in men; conversely, serum retinol concentrations were lower in women. No difference was found between men and women for plasma vitamin E, zinc and selenium concentrations, nor for red blood GPx, SOD, GSHT, GSSG and MDA.

At baseline, 18.2% of the men and 5.1% of the women had low concentrations of serum vitamin C (<20 μmol/l); 8.5% of men and 1.3% of women had particularly low serum vitamin C <2 μmol/l; 2.4% of men and 17% of women presented low concentrations of serum retinol (<1.4 μmol/l); 18.7% of men and 10% of women had serum beta-carotene <0.30 μmol/l. None of the study subjects had a serum alpha-tocopherol concentration below the limit cut-off point (<9.3 μmol/l). Low serum zinc concentrations (<10.7 μmol/l) were found in 15.1% of men and 23.8% of women. Low serum selenium concentrations (<0.75 μmol/l) were found in 6% of men and 6.4% of women.

Table 2 shows laboratory variables before and after 3 and 6 months of supplementation in the supplemented group and in the placebo group. At baseline, mean values and prevalences of low concentrations for biochemical markers of vitamin and trace element status and indicators of oxidative stress and antioxidant enzymes did not differ between the two groups for any of the parameters tested.

After 3 months, serum concentrations were significantly higher in the supplemented group for beta-carotene, vitamins C and E, zinc and selenium. This difference between the two groups persisted after 6 months of supplementation, but serum concentrations did not differ in the supplemented group between 3 and 5 months. Supplementation did not have any effect on retinol concentrations at 3 or 6 months.

Compared to baseline, plasmatic GPx activity was significantly higher in the supplemented group at 3 and 6 months, as were red cell GPx activity at 6 months (Table 3). No significant difference existed at 3 and 6 months for concentrations of SOD, GSH, GSSG, GSHT and MDA. The percentage of subjects with low serum concentrations decreased in the group receiving supplementation (Fig. 1): from 12% to 1% for beta-carotene; from 10% to 1% for vitamin C; from 2.5% to 0% for selenium; and from 18 to 9% for zinc.

DISCUSSION

In this study, mean values observed for initial serum vitamin and trace element concentrations were similar to those previously described for French adult populations [22,23]. The effect of supplementation of antioxidant micronutrients during a 6-month period on serum concentrations of biochemical markers assessing vitamin and trace element status was significant for all of the studied nutrients, vitamin C, E, beta-carotene, zinc and selenium. We did not find any low concentrations after 6 months of supplementation with the tested doses of vitamins and trace elements. The effectiveness of supplementation began at 3 months and persisted through 6 months. It is important to note that these positive biological effects were observed with daily multi-vitamin and mineral supplements containing one to two times the recommended dietary allowances. These doses corresponded to levels of dietary antioxidant micronutrients associated, in observational studies, with the lowest risk of cancer and cardiovascular diseases.

Moreover, two intervention studies recently developed in

Table 1. Serum Concentrations (Mean±SD) of Vitamins and Trace Elements and Markers of Oxidative Stress and Defenses Against Oxidative Stress in Men and Women

	Men n=166	Women n=235
Serum beta-carotene (μmol/l)	0.591 ± 0.370	0.958 ± 0.604
Serum rétinol (μmol/l)	2.236 ± 0.441	1.816 ± 0.420
Serum alpha-tocopherol (μmol/l)	32.4 ± 9.1	30.5 ± 5.8
Serum alphatocopherol/serum cholesterol (mmol/mol)	6.5 ± 1.2	6.6 ± 1.0
Serum vitamin C (μmol/l)	37.5 ± 15.9	44.9 ± 15.3
Serum selenium (μmol/l)	1.12 ± 0.18	1.12 ± 0.19
Serum zinc (μmol/l)	12.5 ± 1.8	12.0 ± 1.7
Plasma selenium-dependent glutathione peroxidase (GPX) (u/l)	338 ± 45	335 ± 51
Red blood cell selenium dependent glutathione peroxidase (GPX) (u/g Hb)	42.5 ± 8.9	45,5 ± 9.0
Superoxide dismutase (SOD) (u/mg Hb)	1.12 ± 0,10	1,13 ± 0,13
Total glutathione (GSHT) (μmol/l)	921 ± 152	948 ± 149
Oxidized glutathione (GSSG) (μmol/l)	22.8 ± 14.9	20.1 ± 12.8
Malondialdehyde (MDA) (μmol/l)	2.69 ± 0.38	2.71 ± 0.41

Table 2. Comparison of Serum Concentrations (Mean±SD) for Vitamin and Trace Elements and Markers of Oxidative Stress and Defenses Against Oxidative Stress in Supplemented and Placebo Groups at Baseline and after 3 and 6 Months

	Placebo group (P) n=200	Supplementation group (S) n=201
Serum beta-carotene (μmol/l)		
Baseline	0.796 ± 0.593	0.815 ± 0.504
3 months	1.018 ± 0.691	1.833 ± 1.047***
6 months	1.060 ± 0.734	1.840 ± 1.088***
Serum retinol (μmol/l)		
Baseline	2.005 ± 0.515	1.978 ± 0.445
3 months	2.072 ± 0.535	2.069 ± 0.494
6 months	2.012 ± 0.515	1.974 ± 0.497
Serum alpha-tocopherol (μmol/l)		
Baseline	31.5 ± 7.7	31.2 ± 6.5
3 months	31.2 ± 7.0	34.7 ± 7.7***
6 months	31.9 ± 8.2	34.5 ± 8.9*
Serum alphatocopherol/serum cholesterol (mmol/mol)		
Baseline	6.8 ± 1.3	6.6 ± 0.9
3 months	6.9 ± 1.2	7.4 ± 1.0***
6 months	7.1 ± 1.4	7.4 ± 1.1
Serum vitamin C (μmol/l)		
Baseline	40.9 ± 17.0	40.3 ± 16.5
3 months	39.2 ± 15.9	47.7 ± 18.2***
6 months	36.4 ± 15.3	43.7 ± 13.6***
Serum selenium (μmol/l)		
Baseline	1.12 ± 0.18	1.12 ± 0.19
3 months	1.11 ± 0.18	1.75 ± 0.23***
6 months	1.04 ± 0.19	1.59 ± 0.22***
Serum zinc (μmol/l)		
Baseline	12.3 ± 1.7	12.1 ± 1.8
3 months	12.6 ± 2.4	15.2 ± 5.2***
6 months	12.3 ± 1.8	13.8 ± 2.9***

Significant difference vs placebo group values: * $p<0.05$; *** $p<0.001$.

Table 3. Effect of Supplementation on Plasmatic and Red Cell GPx

	T0	3 months	6 months
Plasmatic GPx (u/l)			
Placebo group	336 ± 48	315 ± 46	318 ± 48
Supplemented group	337 ± 49	332 ± 43***	341 ± 52***
Red cell GPx (U/g Hb)			
Placebo group	44,3 ± 9,0	42,5 ± 8,2	41,3 ± 9,1
Supplemented group	44,0 ± 9,2	44,0 ± 8,2	44,4 ± 9,8*

Significant difference vs placebo group values: * $p<0.05$; *** $p<0.001$.

Finland (ATBC [11]) and in the USA (CARET [12]) have shown an apparent negative effect of beta-carotene supplementation on the lung cancer incidence rate in high-risk subjects. In these two studies of men with a high risk of lung cancer (heavy smokers and/or asbestos-exposed workers), initial serum beta-carotene medians were similar (0.32 μmol/l) and much lower than those in our study (0.59 μmol/l) in men from our sample. Our values are consistent with those observed in the cohort of subjects participating in the Physician Health Study [24], in whom no positive or negative effects were observed after supplementation for 12 years with relatively high doses of beta-carotene.

In CARET, as in ATBC, the relatively high levels of supplementation were associated with a substantial increase in the plasma concentrations of beta-carotene. For example, the initial concentrations of plasma carotene were multiplied by 18 in ATBC and by 12 in CARET. The final concentrations were higher than those associated, in observational studies, with the lower risk of diseases. They were also higher than those observed in our study. Conversely, in the Physician Health Study, initial values were multiplied only by four, reaching 2.25 μmol/l compared to 1.84 μmol/l in our study. The latter is very close to those described in the only trial showing a positive effect of supplementation on mortality and cancer incidence. That study, carried out for more than 5 years in China [24], provided nutritional doses of beta-carotene (associated with selenium and vitamin E). Our data thus indicate that short-term supplementation (6 months), with moderate doses of antioxidant vitamins and trace elements in presumably healthy subjects, clearly though moderately alter vitamin and mineral status so that blood levels reach concentrations consistent with a positive effect.

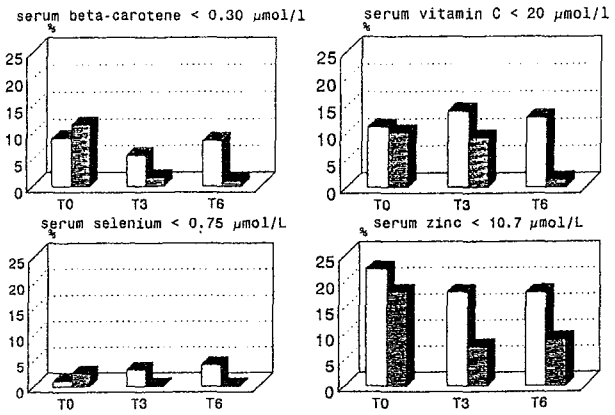


Fig. 1. Frequency of low values for serum concentrations of vitamin C, beta-carotene, zinc and selenium at inclusion (BASELINE) and after 3 months (T3) and 6 months (T6).

Concerning the effect of antioxidant vitamin and trace element supplementation on indicators of peroxidation, we did not find any effect on plasma malondialdehyde. However, we observed a significant increase in plasmatic and red cell GPx in the groups receiving trace elements associated with vitamins. This improvement may be related to the selenium contained in supplementation, given the fact that GPx is a seleno-dependent enzyme.

This study demonstrates the efficacy of an intake of antioxidant vitamins and trace elements, given at nutritional doses, on biochemical indicators of vitamin and trace element status. Supplementation quickly improved these biochemical indicators, but after 6 months, they remained at a reasonable level without reaching concentrations as high as those observed in the Finnish and American intervention studies, which tested relatively high doses of antioxidants, and ended up with higher risk of pathology.

REFERENCES

1. Ames BN: Dietary carcinogens and anticarcinogens. Science 221: 1256–1264, 1987.
2. Sies H, Staahl W, Sundquist AR: Antioxidant functions of vitamins: vitamin E and C, beta-carotene, and other carotenoids. Ann N Y Acad Sci 669:7–20, 1992.
3. Diplock AT: Antioxidant nutrients and disease prevention: an overview. Am J Clin Nutr 53:189S–193S, 1991.
4. Weisburger JH: Nutritional approach to cancer prevention with emphasis on vitamins, antioxidants, and carotenoids. Am J Clin Nutr 53:226S–237S, 1991.
5. Byers T, Perry G: Dietary carotenes, vitamin C, and vitamin E as protective antioxidants in human cancers. Ann Rev Nutr 12:139–159, 1992.
6. Block G, Patterson B, Subar A: Fruit, vegetables, and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence. Nutr Cancer 18:1–29, 1992.
7. Stampfer MJ, Rimm B: Epidemiologic evidence for vitamin E in prevention of cardiovascular disease. Am J Clin Nutr 62:1365S–1369S, 1995.
8. Kohlmeier L, Hastings SB: Epidemiologic evidence of a role of carotenoids in cardiovascular disease prevention. Am J Clin Nutr 62:1370S–1376S, 1995.
9. Stampfer MJ, Rimm B: A review of the epidemiology of dietary antioxidants and risk of coronary heart disease. Can J Cardiol 9:14B–18B, 1993.
10. Blot WJ, Li JY, Taylor PR, Guo W, Dawsey S, Wang GQ, Yang CS, Zhang SF, Gail M, Li GY, Yu Y, Liu BQ, Tangrea J, Sun YH, Liu F, Fraumeni JF, Zhang YH, Li B: Nutrition intervention trials in Linxian, China: supplementation with specific vitamin/mineral combinations, cancer incidence, and disease-specific mortality in the general population. J Natl Cancer Inst 85:1483–1492, 1993
11. The Alpha-Tocopherol, Beta Carotene Cancer Prevention Study Group: The effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. N Engl J Med 330(15):1029–1035, 1994.
12. Omenn GS, Goodman GE, Thorquist MD, Balmes J, Cullen MR, Glass A, Keogh JP, Meyskens FL, Valaxis B, James PH, Williams JH, Barnhart S: Effects of a combination of beta-carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. N Eng J Med 334:1150–1155, 1996.
13. Hennekens CH, Buring JE, Manson JE, Stampfer M, Rossner B, Cook NR, Belanger C, LaMotte F, Gaziano JM, Ridker PM, Willett W, Peto R: Lack of effect of long-term supplementation with beta-carotene on the incidence of malignant neoplasms and cardiovascular disease. N Engl J Med 334:1145–1149, 1996.
14. Bourgeois CF, Chartois RR, Counstans MF, George PR: Automated determination of vitamin C in foodstuffs and biological tissues. Analusis 9:519–525, 1989.
15. Vuilleumier JP, Keller HE, Gysel D, Hunziker F: Clinical chemical methods for the routine assessment of the vitamin status in human population. Part I: the fat-soluble vitamins A and E and beta-carotene. Int J Vit Nutr Res 53:265–272, 1983.
16. Arnaud J, Bellanger J, Bienvenu F, Chappuis P, Favier A: Méthode recommandée de dosage du zinc sérique par absorption atomique en flamme. Ann Biol Clin 44:77–87, 1986.
17. Nève J, Chamart S , Molle L: Optimisation of a direct procedure of selenium in plasma and erythrocyte using Zeeman effect atomic absorption spectrometry. In Bratter P, Schamer P (eds): "Trace Element Analytical Chemistry in Medicine and Biology." Berlin: Walter de Gruyter 4:1–10, 1987.
18. Gunzler WA, Kremers H, Flohe L: An improved test procedure for glutathione peroxidase in blood. Z Klin Chem Klin Biochem 12: 444–448, 1974.
19. Marklund S, Marklund G: Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur J Biochem 47:469–474, 1974.
20. Akerboom TPM, Sies H: Assay of glutathione, glutathione disulfide and glutathione mixed disulfides in biological samples. In Jakoby WB (ed). "Methods in Enzymology," vol 77. New York: Academic Press, Inc, pp 373–382, 1981.
21. Richard MJ, Portal B, Meo J, Coudray C, Hadjian A, Favier A:

Malondialdehyde kit evaluated for determining plasma and lipoprotein fractions that react with thiobarbituric acid. Clin Chem 38:704–710, 1992.

22. Hercberg S, Preziosi P, Galan P, Devanlay M, Keller H, Bourgeois C, Potier de Courcy, Cherouvrier F: Vitamin status of a healthy French population: dietary intakes and biochemical markers. Int J Vit Nutr Res 220–232, 1994.
23. Favier A, Hercberg S, Arnaud J, Preziosi P, Galan P: Zinc and copper intakes and status of French population (Val de Marne 1988 Survey). In Momcilovic B (ed): "Trace Elements in Man and Animal 7." Zagreb: IMI, pp 13–15, 1991.
24. Blot WJ, Li J-Y, Taylor PR, Guo W, Dawsey S, Wang G-Q: Nutrition intervention trials in Linxian, China: supplementation with specific vitamin/mineral combinations, cancer incidence, and disease-specific mortality in the general population. J Natl Cancer Inst 85:1483–1492, 1993.

Received June 1997; revision accepted October 1997.

Discussion - Perspectives

Au terme de ce travail, sans revenir sur les discussions respectives de chaque publication, il nous a semblé important de commenter nos résultats portant sur la consommation de tabac et d'alcool à la lumière des travaux récents ou des revues de la littérature qui ont suivi la publication des résultats des essais de prévention par les antioxydants.

Consommation de tabac

Les points les plus importants mis en évidence au travers de nos différentes études confirment que les fumeurs cumulent trois facteurs de risque simultanément : ils fument avec toutes les conséquences métaboliques et physiopathologiques associées à l'inhalation de la fumée de tabac, ils ont une alimentation éloignée des recommandations avec des apports réduits en micronutriments antioxydants comme la vitamine C et en plus, ils boivent plus d'alcool que les non fumeurs.

La fumée de cigarette contient des substances oxydantes parmi les quelques 4000 constituants identifiés (1,2) et les mécanismes oxydatifs sont une des voies possibles pour expliquer les effets néfastes du tabac sur la santé, dans le domaine de l'athérosclérose et des cancers en particulier. La physiopathologie des dérivés de l'oxygène a été particulièrement bien étudiée chez le fumeur (1) par le biais de multiples indicateurs - évaluation du statut antioxydant et mesure des modifications oxydatives des protéines, des lipides ou de l'ADN - soit sur des échantillons transversaux, soit au cours d'essais de supplémentation ou de cures de sevrage tabagique (3-5). Cependant, les résultats de la littérature sont loin d'être unanimes en particulier en ce qui concerne les données portant sur les tests d'oxydabilité des LDL (lipoprotéines de basse densité) (6-9).

Des trois indicateurs biologiques de stress oxydatif basés sur la péroxydation lipidique - dialdéhyde malonique (MDA) qui est le produit final de la réaction de péroxydation, bases de Schiff mesurant les adduits d'aldéhydes aux protéines et autoanticorps dirigés contre les adduits de MDA aux protéines - seules les bases de Schiff protéiques sont significativement plus élevées chez les fumeurs mais aussi chez les anciens fumeurs. Cette relation isolée entre la consommation de tabac et un seul des 3 indices nous a posé des problèmes d'interprétation. D'une part, il est bien connu que la méthode de mesure fluorimétrique des bases de Schiff est peu spécifique ; des sucres, des acides aminés et des produits autres que des alhéhydes ou des aldhéhydes conjugués peuvent interférer sur la réaction finale colorée. D'autre part, en plus des aldhéhydes de la fumée de tabac (10), l'acétaldéhyde issu du métabolisme de l'alcool (11) peut également contribuer à la formation de bases de Schiff protéiques. Les processus immunitaires et inflammatoires présents chez le fumeur (10,12) ainsi que les autres voies du métabolisme de l'alcool peuvent également avoir un effet sur le niveau des indicateurs biologiques de stress oxydatif (11).

Une particularité de l'échantillon étudié en 1998 (**P8**) qui a été soulignée par Cross et al. (13) est la consommation d'alcool bien plus importante que chez les équivalents fumeurs américains (14). Dans toutes les analyses statistiques, la consommation d'alcool a été prise en compte comme covariable et ce facteur ne peut pas expliquer, même en partie comme le suggèrent Cross et al. (13), les concentrations plus élevées des bases de Schiff dans le plasma. Dans l'étude précédente sur l'effet de la consommation d'alcool sur le statut pro- et antioxydant (**P6**) nous avions montré que la concentration des bases de Schiff dans le plasma n'était pas modifiée par la consommation d'alcool, même en cas de doses très élevées. Après 3 semaines de sevrage, les concentrations des bases de Schiff étaient significativement augmentées, même après ajustement sur la consommation de tabac.

Au niveau du plasma, les fumeurs ont en général des concentrations en vitamine C abaissées de 15 à 20 % et ceci indépendamment des apports alimentaires (15) ; l'acide ascorbique (16) et probablement l'α-tocophérol (17) ont un "turnover" augmenté chez le fumeur. De plus, la proportion d'acide déhydroascorbique (forme oxydée) est plus importante chez le fumeur (15). Après l'arrêt du tabac, les concentrations d'acide ascorbique s'élèvent dans le plasma (18). Généralement, en accord avec nos résultats, les concentrations de certains caroténoïdes, β-carotène en particulier, sont significativement plus basses chez les fumeurs que chez les non fumeurs et ceci indépendamment des apports alimentaires (19). Le "turnover" de cet antioxydant serait augmenté par les phénomènes oxydatifs induits par la fumée de tabac. Pour l'α-carotène, la β-cryptoxanthine et le lycopène on observe seulement une baisse non significative chez le fumeur.

Les grandes tendances du comportement alimentaire du fumeur sont mises en évidence dans la plupart des études, quelles que soient les caractéristiques culturelles des pays d'où sont issus les échantillons de population. Une méta-analyse récente portant sur 51 études, 15 pays et 83 120 sujets (20) montre que les fumeurs ont des apports en énergie, lipides totaux, lipides saturés, cholestérol et alcool plus élevés que les non fumeurs et, en revanche, des apports en lipides polyinsaturés, fibres, vitamine C, vitamine E et β-carotène plus faibles. En général les fumeurs consomment plus de féculents, de viande et de produits dérivés de la viande et moins de fruits et légumes, lait et produits lactés que les non fumeurs (21). L'arrêt du tabagisme est souvent associé à une amélioration de l'alimentation (22). Les raisons de cette caractéristique alimentaire que l'on note au travers des cultures ne sont pas encore bien établies : manque de connaissances sur les relations alimentation-santé, mode de vie en général éloigné des recommandations, effet spécifique de la nicotine sur la régulation de l'appétit ou altération du goût par les produits de la fumée de tabac (23-25). Quels qu'en soient les mécanismes sous-jacents, cette alimentation pauvre en fruits et légumes conduit à diminuer le statut antioxydant général de l'individu.

Avant 1994 la supplémentation en micronutriments antioxydants semblait la réponse logique et tout à fait raisonnable pour contrer ces divers mécanismes néfastes pouvant conduire aux cancers et à l'athérosclérose et à ses conséquences cardiaques, cérébrales et périphériques, à coté d'autres moyens de prévention comme l'arrêt du tabagisme. Comme nous l'avons décrit dans le chapitre introductif, les essais de prévention contre placebo chez le fumeur n'ont pas donné les résultats escomptés. Une des hypothèses qui pourrait expliquer les discordances entre les conclusions des études d'observation et celles des essais de prévention, dans le domaine du cancer du poumon en particulier, repose sur l'effet prooxydant du β-carotène en présence de fumée de tabac (26-28). Les produits formés par l'action de la fumée de cigarette

sur le β-carotène pourraient être promoteurs et accélérer le développement des lésions pré-néoplasiques du poumon (28). Cependant les expérimentations in vitro ne permettent pas pour le moment d'abonder dans ce sens.

Le plasma humain exposé à la phase gazeuse de fumée de cigarette conduit à une déplétion des antioxydants lipophiles dans l'ordre suivant : lycopène > α-tocophérol > β-carotène > lutéine-zéaxanthine = cryptoxanthine > γ-tocophérol = rétinol ; les lipides étant peu affectés par la péroxydation (29). La vitamine C, elle aussi, peut être dégradée par la fumée de tabac (30). La fumée brute, composée de goudrons incluant le système rédox quinone/hydroquinone, mais également la phase gazeuse, obtenue par filtration contenant des espèces radicalaires issues de l'oxydation des petite molécules hydrocarbonées par les oxydes d'azote, peuvent générer des produits d'oxydation du β-carotène. In vitro, en milieu organique, l'autooxydation du β-carotène induite par la fumée de cigarette n'amplifie ni l'oxydation des lipides membranaires, ni la disparition des autres antioxydants (vitamines E et C) dans les liposomes (31). Selon ces derniers auteurs, il est peu probable que l'oxydation du β-carotène par les composés de la fumée de tabac soit responsable de l'accroissement de l'incidence du cancer du poumon chez le fumeur supplémenté. Très récemment une expérimentation conduite chez le furet a montré que la supplémentation en β-carotène et l'exposition à la fumée de tabac induit des lésions métaplasiques du poumon (32).

La vitamine E dans des conditions particulières peut présenter des propriétés prooxydantes qui cependant sont inhibées en présence d'autres antioxydants comme l'ubiquinol-10 (33).

Consommation d'alcool

La publication portant sur la consommation d'alcool et le statut en vitamine A (**P7**) montre que les alcooliques ont des concentrations plasmatiques en caroténoïdes (α- et β-carotène, lutéine, lycopène, zéaxanthine et β-cryptoxanthine) significativement plus faibles que les témoins petits buveurs. Pour le rétinol plasmatique, il n'y a aucune différence entre les deux groupes, alcooliques et témoins. Après la cure de sevrage, les alcooliques consomment plus de carotène et rétinol ; au niveau plasmatique, les concentrations de caroténoïdes augmentent et, curieusement, celle du rétinol diminue. L'ajustement sur les facteurs de confusion potentiels ne modifie pas ces relations. Suite à cette première publication, des investigations complémentaires sur l'effet du sevrage ont été effectuées. Avec l'arrêt de l'alcool, la concentration d'apolipoprotéine A1 diminue parallèlement à celle du rétinol plasmatique et de celui de la "retinol-binding-protein" (RBP). En revanche, le rapport rétinol/RBP augmente. Ce phénomène serait lié à une augmentation du rétinol libre dans les fractions lipidiques.

Ces résultats montrent bien que le métabolisme de l'alcool peut interférer sur celui du rétinol et du β-carotène. En effet, les isoenzymes de l'alcool déshydrogénase et des autres déshydrogénases ainsi que les cytochromes P450 métabolisent l'éthanol mais aussi le rétinol (34). De telles interactions peuvent aussi affecter le β-carotène en bloquant sa conversion en rétinol (34). Ces interactions entre rétinoïdes, caroténoïdes et alcool peuvent conduire chez l'alcoolique à la déplétion des stocks hépatiques de vitamine A, à une perturbation des niveaux circulants et à un accroissement des processus de carcinogénèse(35). C'est aussi une des hypothèses pour expliquer l'excès de mortalité par cancer du poumon associé à la prise de

β-carotène dans les essais de prévention CARET et ATBC. Dans ces études, l'augmentation de l'incidence du cancer du poumon est reliée à la quantité d'alcool consommée (36-37).

Le métabolisme de la vitamine C peut également interférer avec celui de l'alcool. En 1999 une étude effectuée chez le rat a conclu que la vitamine C à dose très élevée (500 mg/kg) peut induire le cytochrome P4502E1 lié aux monooxygénases et générer des quantités importantes d'anion radicalaire superoxyde (38). Le phénomène est réversible avec l'arrêt de la supplémentation. Le cytochrome P4502E1 étant responsable d'une voie du métabolisme de l'alcool et de la production du radical hydroxyéthyl hautement réactif (39), la prise de vitamine C chez le buveur excessif pourrait avoir des conséquences fâcheuses.

L'acide ascorbique est également suspecté d'induire des dommages au niveau de l'ADN et des protéines, mais les travaux dans le domaine sont contradictoires (40). L'affaire a fait grand bruit quand Podmore et al. (41) ont montré que dans l'ADN de lymphocytes de sujets prenant 500 mg/j de vitamine C on observait que la baisse de 8-hydroxyguanine était accompagnée d'une augmentation de 8-hydroxyadénine (8OHA) qui est mutagène. Ce phénomène qui peut être expliqué par les propriétés oxydantes de la vitamine C en présence de métaux de transition (fer en particulier) mérite confirmation en utilisant toute la batterie d'index de dommage oxydatif de l'ADN (42). La baisse de 8-hydroxydesoxyguanine (8OHdG), comme d'autres bases oxydées, au sein de l'ADN est un indice de diminution du niveau d'oxydation mais aussi du niveau de réparation accru (43).

Ces quelques données montrent que les moyens de correction des déficiences en vitamine A et en vitamine C chez l'alcoolique doivent être employés avec prudence.

Perspectives

Dans le domaine des maladies cardiovasculaires, il est peu probable que les essais de prévention décrits auparavant soient trop courts ou utilisent des doses trop faibles de β-carotène pour démontrer un effet préventif. Généralement après 2 ans, les essais d'intervention ciblés sur la maladie coronaire, commencent à donner des résultats ; les essais utilisant du β-carotène ont duré au minimum 4 ans. Au cours de ces essais les concentrations plasmatiques de β-carotène augmentent de façon importante, environ 5 à 10 fois plus que les niveaux associés à un risque cardiovasculaire accru (44-45). Un certain nombre de facteurs de confusion potentiels, non pris en compte ou mal maîtrisés pourrait expliquer les discordances entre les études d'observation et les essais d'intervention. Les autres caroténoïdes qui sont associés au β-carotène dans l'alimentation comme dans le plasma, ainsi que d'autres composés dérivés des plantes, pourraient être des facteurs importants (46-47). Le β-carotène ne représente que 15 à 30 % des caroténoïdes totaux circulants ; les autres caroténoïdes en quantités importantes étant le lycopène (20 à 40 %), la cryptoxanthine (13 à 20 %), la lutéine (10 à 20 %), l'α-carotène (5 à 10 %) et la zéaxanthine (1 à 5 %) (48-50). Dans un autre domaine, des travaux récents ont suggéré que 2 autres facteurs physiologiques pouvaient interférer sur la relation entre le tabagisme et la maladie cardiovasculaire : la densité des LDLs et la réaction inflammatoire. D'une part, le contenu des LDLs en caroténoïdes diminue avec la densité des LDLs (51). Ces LDLs petites et denses sont plus oxydables que les LDLs moins denses et sont impliquées dans les processus d'athérosclérose (47). Des concentrations basses en caroténoïdes pourraient être un indicateur de densité des LDLs plutôt que d'être un

facteur de risque de coronaropathies. D'autre part, plusieurs études ont montré une relation entre l'inflammation et la réduction des concentrations de β-carotène circulant (46) ; on voit également les problèmes d'interprétation quand on sait que les marqueurs de l'inflammation peuvent être des déterminants indépendants des accidents coronaires (52).

L'étude des mécanismes qui sont à la base des phénomènes oxydatifs observés chez les fumeurs devront dorénavant essayer de faire la part entre les différents facteurs décrits précédemment : effet propre de la fumée de tabac, effet de l'activation des systèmes immunitaire et inflammatoire et interférence du métabolisme de l'alcool. Des méthodes de mesure de marqueurs spécifiques dans le domaine des produits dérivés de l'oxydation des lipides et des protéines - aldéhydes, isoprostanes, acides aminés oxydés - doivent pour cela être développées. Parmi les types d'études en population générale, l'effet du sevrage tabagique est un bon modèle pour analyser l'évolution des marqueurs biologiques comme c'est le cas pour le sevrage alcoolique. Des essais de supplémentation devront être conduits afin d'évaluer l'effet, bénéfique ou néfaste, d'une supplémentation en antioxydants ou d'une alimentation enrichie en aliments vecteurs. Il en est de même dans le domaine de la consommation d'alcool et de l'interférence de son métabolisme sur le statut pro et antioxydant.

Il existe une variabilité interindividuelle importante du taux plasmatique de β-carotène en réponse à une supplémentation orale (53-55), ce qui laisse supposer l'existence d'une régulation complexe à différents niveaux du métabolisme de ce nutriment. A ce jour, les facteurs modulant la réponse à la supplémentation sont mal connus, notamment par le fait que dans une population supplémentée il est possible de discerner deux groupes (répondeurs/non-répondeurs) pour les taux circulants retrouvés (56). De la même façon, pour la vitamine E, on observe une variabilité interindividuelle importante en réponse à une supplémentation, réponse qui n'est pas proportionnelle à la dose ingérée (57). Pour ces deux antioxydants, le niveau de base semble être un élément important influençant la réponse (58). Certains auteurs évoquent différents paramètres tels que l'alimentation, les indices de corpulence, les paramètres lipidiques circulants, la consommation de tabac (57,58). Les facteurs liés au métabolisme des lipides et des triglycérides modulant l'absorption et le clivage intestinal des nutriments antioxydants pourraient jouer un rôle important (53,56,59) mais les facteurs contrôlant ce phénomène (génétiques et/ou environnementaux) restent inconnus.

Ces différents axes de recherche – essai de supplémentation chez le buveur excessif et/ou le fumeur, intérêt d'autres micronutriments antioxydants comme les caroténoïdes, détermination de nouveaux marqueurs de stress oxydant, interférence du métabolisme lipidique et des phénomènes inflammatoires, déterminants familiaux, génétiques ou de mode de vie du statut pro et antioxydant – vont être développés dans un futur proche par notre équipe.

Références

1. Pryor WA. Cigarette smoke radicals and the role of free radicals in chemical carcinogenicity. Environ Health Perspect 1997;105 Suppl 4:875-882
2. Hoffmann D, Djordjevic MV, Hoffmann I. The changing cigarette. Prev Med 1997;26:427-434
3. Reilly M, Delanty N, Lawson JA, FitzGerald GA. Modulation of oxidant stress in vivo in chronic cigarette smokers. Circulation 1996;94:19-25
4. Prieme H, Loft S, Nyyssonen K, Salonen JT, Poulsen HE. No effect of supplementation with vitamin E, ascorbic acid, or coenzyme Q10 on oxidative DNA damage estimated by 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine excretion in smokers. Am J Clin Nutr 1997;65:503-507
5. Lee BM, Lee SK, Kim HS. Inhibition of oxidative DNA damage, 8-OHdG, and carbonyl contents in smokers treated with antioxidants (vitamin E, vitamin C, beta-carotene and red ginseng). Cancer Lett 1998;132:219-227
6. Sasaki A, Kondo K, Sakamoto Y, Kurata H, Itakura H, Ikeda Y. Smoking cessation increases the resistance of low-density lipoprotein to oxidation. Atherosclerosis 1997;130: 109-111
7. Marangon K, Herbeth B, Artur Y, Esterbauer H, Siest G. Low and very low density lipoprotein composition and resistance to copper-induced oxidation are not notably modified in smokers. Clin Chim Acta 1997;265:1-12
8. Prieme H, Nyyssonen K, Gronbaek K, Klarlund M, Loft S, Tonnesen P, Salonen JT, Poulsen HE. Randomized controlled smoking cessation study: transient increase in plasma high density lipoprotein but no change in lipoprotein oxidation resistance. Scand J Clin Lab Invest 1998;58:11-18
9. Carr AC, Frei B. Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. Am J Clin Nutr 1999;69:1086-1107
10. Eiserich JP, van der Vliet A, Handelman GJ, Halliwell B, Cross CE. Dietary antioxidants and cigarette smoke-induced biomolecular damage: a complex interaction. Am J Clin Nutr 1995;62(Suppl):1490S-1500S
11. Fridovich I. Oxygen radicals from acetaldehyde. Free Radic Biol Med 1989;7:557-558
12. Elneihoum AM, Falke P, Hedblad B, Lindgarde F, Ohlsson K. Leukocyte activation in atherosclerosis: correlation with risk factors. Atherosclerosis 1997;131:79-84
13. Cross CE, van der Vliet A, Eiserich JP. Cigarette smokers and oxidant stress: a continuing mystery. Am J Clin Nutr 1998;67:184-185
14. Stamler J, Rains-Clearman D, Lenz-Litzow K, Tillotson JL, Grandits GA. Relation of smoking at baseline and during trial years 1-6 to food and nutrient intakes and weight in the special intervention and usual care groups in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. Am J Clin Nutr 1997;65(Suppl):374S-402S
15. Lykkesfeldt J, Loft S, Nielsen JB, Poulsen HE. Ascorbic acid and dehydroascorbic acid as biomarkers of oxidative stress caused by smoking. Am J Clin Nutr 1997;65:959-963
16. Kallner AB, Hartmann D, Hornig DH. On the requirements of ascorbic acid in man: steady-state turnover and body pool in smokers. Am J Clin Nutr 1981;34:1347-1355
17. Munro LH, Burton G, Kelly FJ. Plasma RRR-alpha-tocopherol concentrations are lower in smokers than in non-smokers after ingestion of a similar oral load of this antioxidant vitamin. Clin Sci (Colch) 1997;92:87-93
18. Lykkesfeldt J, Prieme H, Loft S, Poulsen HE. Effect of smoking cessation on plasma ascorbic acid concentration. BMJ 1996;313:91
19. Jarvinen R, Knekt P, Seppanen R, Reunanen A, Heliovaara M, Maatela J, Aromaa A. Antioxidant vitamins in the diet: relationships with other personal characteristics in Finland. J Epidemiol Community Health 1994;48:549-554
20. Dallongeville J, Marecaux N, Fruchart JC, Amouyel P. Cigarette smoking is associated with unhealthy patterns of nutrient intake: a meta-analysis. J Nutr 1998;128:1450-1457
21. Dallongeville J, Marecaux N, Richard F, Bonte D, Zylberberg G, Fantino M, Fruchart JC, Amouyel P. Cigarette smoking is associated with differences in nutritional habits and related to lipoprotein alterations independently of food and alcohol intake. Eur J Clin Nutr 1996;50:647-654
22. Morabia A, Curtin F, Bernstein MS. Effects of smoking and smoking cessation on dietary habits of a Swiss urban population. Eur J Clin Nutr 1999;53:239-243
23. Woodward M, Bolton-Smith C, Tunstall-Pedoe H. Deficient health knowledge, diet, and other lifestyles in smokers: is a multifactorial approach required? Prev Med 1994;23:354-361
24. Redington K. Taste differences between cigarette smokers and nonsmokers. Pharmacol Biochem Behav 1984;21:203-208
25. Grunberg NE. The effects of nicotine and cigarette smoking on food consumption and taste preferences. Addict Behav 1982;7:317-331
26. Handelman GJ. High-dose vitamin supplements for cigarette smokers: caution is indicated. Nutr Rev 1997;55:369-370
27. Omaye ST, Krinsky NI, Kagan VE, Mayne ST, Liebler DC, Bidlack WR. Beta-carotene: friend or foe? Fundam Appl Toxicol 1997;40:163-174
28. Mayne ST, Handelman GJ, Beecher G. Beta-Carotene and lung cancer promotion in heavy smokers: a plausible relationship? J Natl Cancer Inst 1996;88:1513-1515
29. Handelman GJ, Packer L, Cross CE. Destruction of tocopherols, carotenoids, and retinol in human plasma by cigarette smoke. Am J Clin Nutr 1996;63:559-565
30. Frei B, Stocker R, Ames BN. Antioxidant defenses and lipid peroxidation in human blood plasma. Proc Natl Acad Sci U S A 1988;85:9748-9752
31. Baker DL, Krol ES, Jacobsen N, Liebler DC. Reactions of beta-carotene with cigarette smoke oxidants. Identification of carotenoid oxidation products and evaluation of the prooxidant/antioxidant effect. Chem Res Toxicol 1999;12:535-543
32. Wang XD, Liu C, Bronson RT, Smith DE, Krinsky NI, Russell M. Retinoid signaling and activator protein-1 expression in ferrets given beta-carotene supplements and exposed to tobacco smoke. J Natl Cancer Inst 1999;91:60-66
33. Upston JM, Terentis AC, Stocker R. Tocopherol-mediated peroxidation of lipoproteins: implications for vitamin E as a potential antiatherogenic supplement. FASEB J 1999;13:977-994
34. Leo MA, Lieber CS. Alcohol, vitamin A, and beta-carotene: adverse interactions, including hepatotoxicity and carcinogenicity. Am J Clin Nutr 1999;69:1071-1085
35. Mayne ST, Graham S, Zheng TZ. Dietary retinol: prevention or promotion of carcinogenesis in humans? Cancer Causes Control 1991;2:443-450

36. Albanes D, Heinonen OP, Taylor PR, Virtamo J, Edwards BK, Rautalahti M, Hartman AM, Palmgren J, Freedman LS, Haapakoski J, Barrett MJ, Pietinen P, Malila N, Tala E, Liippo K, Salomaa ER, Tangrea JA, Teppo L, Askin FB, Taskinen E, Erozan Y, Greenwald P, Huttunen JK. Alpha-tocopherol and beta-carotene supplements and lung cancer incidence in the alpha-tocopherol, beta-carotene cancer prevention study: effects of base-line characteristics and study compliance. J Natl Cancer Inst 1996;88:1560-1570

37. Omenn GS, Goodman GE, Thornquist MD, Balmes J, Cullen MR, Glass A, Keogh JP, Meyskens FL Jr, Valanis B, Williams JH Jr, Barnhart S, Cherniack MG, Brodkin CA, Hammar S. Risk factors for lung cancer and for intervention effects in CARET, the Beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial. J Natl Cancer Inst 1996;88:1550-1559

38. Paolini M, Pozzetti L, Pedulli GF, Marchesi E, Cantelli-Forti G. The nature of prooxidant activity of vitamin C. Life Sci 1999;64:273-278

39. Knecht KT, Bradford BU, Mason RP, Thurman RG. In vivo formation of a free radical metabolite of ethanol. Mol Pharmacol 1990;38:26-30

40. Carr A, Frei B. Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? FASEB J 1999;13:1007-1024

41. Podmore ID, Griffiths HR, Herbert KE, Mistry N, Mistry P, Lunec J. Vitamin C exhibits pro-oxidant properties. Nature 1998;392:559

42. Halliwell B. Vitamin C: poison, prophylactic or panacea? Trends Biochem Sci 1999;24:255-259

43. Cooke MS, Evans MD, Podmore ID, Herbert KE, Mistry N, Mistry P, Hickenbotham PT, Hussieni A, Griffiths HR, Lunec J. Novel repair action of vitamin C upon in vivo oxidative DNA damage. FEBS Lett 1998;439:363-367

44. Hennekens CH, Buring JE, Manson JE, Stampfer M, Rosner B, Cook NR, Belanger C, LaMotte F, Gaziano JM, Ridker PM, Willett W, Peto R. Lack of effect of long-term supplementation with beta carotene on the incidence of malignant neoplasms and cardiovascular disease. N Engl J Med 1996;334:1145-1149

45. Virtamo J, Rapola JM, Ripatti S, Heinonen OP, Taylor PR, Albanes D, Huttunen JK. Effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of primary nonfatal myocardial infarction and fatal coronary heart disease. Arch Intern Med 1998;158:668-675

46. Kritchevsky SB. Beta-Carotene, carotenoids and the prevention of coronary heart disease. J Nutr 1999;129:5-8

47. Pahor M, Elam MB, Garrison RJ, Kritchevsky SB, Applegate WB. Emerging noninvasive biochemical measures to predict cardiovascular risk. Arch Intern Med 1999;159:237-245

48. Yeum KJ, Booth SL, Sadowski JA, Liu C, Tang G, Krinsky NI, Russell RM. Human plasma carotenoid response to the ingestion of controlled diets high in fruits and vegetables. Am J Clin Nutr 1996;64:594-602

49. Michaud DS, Giovannucci EL, Ascherio A, Rimm EB, Forman MR, Sampson L, Willett WC. Associations of plasma carotenoid concentrations and dietary intake of specific carotenoids in samples of two prospective cohort studies using a new carotenoid database. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1998;7:283-290

50. Brady WE, Mares-Perlman JA, Bowen P, Stacewicz-Sapuntzakis M. Human serum carotenoid concentrations are related to physiologic and lifestyle factors. J Nutr 1996;126:129-137

51. Goulinet S, Chapman MJ. Plasma LDL and HDL subspecies are heterogenous in particle content of tocopherols and oxygenated and hydrocarbon carotenoids. Relevance to oxidative resistance and atherogenesis. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1997;17:786-796

52. Danesh J, Collins R, Appleby P, Peto R. Association of fibrinogen, C-reactive protein, albumin, or leukocyte count with coronary heart disease: meta-analyses of prospective studies. JAMA 1998;279:1477-1482

53. Borel P, Grolier P, Mekki N, Boirie Y, Rochette Y, Le Roy B, Alexandre-Gouabau MC, Lairon D, Azais-Braesco V. Low and high responders to pharmacological doses of beta-carotene: proportion in the population, mechanisms involved and consequences on beta-carotene metabolism. J Lipid Res 1998;39:2250-2260

54. Brown ED, Micozzi MS, Craft NE, Bieri JG, Bucher G, Edwards BK, Rose A, Taylor PR, Smith JC. Plasma carotenoids in normal men after a single ingestion of vegetables or purified beta-carotene. Am J Clin Nutr 1989;49:1258-1265

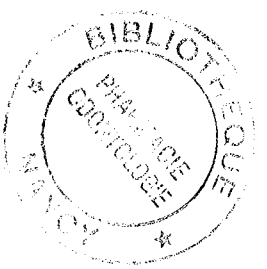
55. Nierenberg DW, Stukel TA, Baron JA, Dain BJ, Greenberg ER and the Skin Cancer Prevention Study Group. Determinants of increase in plasma of β-carotene after chronic oral supplementation. Am J Clin Nutr 1991;53:1443-1449

56. Johnson EJ, Russel RM. Distribution of orally administered β-carotene among lipoproteins in healthy men. Am J Clin Nutr 1992;56:128-135

57. Dimitrov NV, Meyer C, Gilliland D, Ruppenthal M, Chenoweth W, Malone W. Plasma tocopherol concentrations in response to supplemental vitamin E. Am J Clin Nutr 1991;53:723-729

58. Albanes D, Virtamo J, Rautalahti M, Haukka J, Palmgren J, Gref CG, Heinonen OP. Serum beta-carotene before and after beta-carotene supplementation. Eur J Clin Nutr 1992;46:15-24

59. Van Vliet T, Schreurs WHP, Van den Berg H. Intestinal β-carotene absorption and cleavage in men: response of β-carotene and retinyl esters in the triglyceride-rich lipoprotein fraction after a single oral dose of β-carotene. Am J Clin Nutr 1995;62:110-116



Conclusion

Au cours de ces différentes études, nous avons pu décrire la consommation alimentaire et les apports en nutriments, antioxydants en particulier, de groupes de population : obèses, buveurs excessifs et alcooliques, fumeurs, personnes âgées et adolescents. Nos conclusions générales rejoignent celles de l'étude du Val de Marne publiées pendant la même période (1). La situation des groupes étudiés paraît en moyenne satisfaisante, cependant la densité vitaminique des rations est globalement faible. Avec les aliments utilisés, l'apport en certaines vitamines est bas pour des niveaux caloriques relativement importants. Parmi les sujets étudiés, un certain nombre a des apports nutritionnels déséquilibrés et des apports vitaminiques qui ne permettent pas sur des périodes prolongées de maintenir des stocks corrects ou de répondre à un brusque accroissement des besoins. Sur le plan biologique, on retrouve dans tous les groupes étudiés et pour la plupart des vitamines, des valeurs considérées comme caractéristiques de déficiences vitaminiques.

L'étude ESVITAF en particulier, sans donner une vision représentative de la population, a été la première enquête nationale qui a confirmé que, comme dans d'autres pays industrialisés, il existait en France en dehors de toute pathologie des déficits vitaminiques. Il faut également signaler qu'à la suite de l'étude ESVITAF et avec l'expérience acquise au cours de cette enquête, nous avons mené un travail sur la comparaison des diverses tables de composition des aliments utilisées en France (2). Cette étude a été le point de départ de la constitution d'une base de données unique et spécifique à la France (3).

Sur les différents groupes de population, nous avons mis en évidence les principaux déterminants des indicateurs biologiques du statut vitaminique, en ciblant les vitamines antioxydantes. La synthèse des données de la littérature incluant également nos résultats ont été publiés dans un ouvrage il y a quelques années (4-6). Les apports alimentaires en β-carotène, α-tocophérol et acide ascorbique sont corrélés avec les niveaux plasmatiques de chacune de ces vitamines. Les principaux autres déterminants mis en évidence sont la consommation de tabac et d'alcool, la prise de suppléments, l'indice pondéral, les lipides plasmatiques, le sexe et les stades de croissance.

Nous avons particulièrement exploré l'influence de l'alcool et du tabac. Chez les buveurs excessifs et les fumeurs, le comportement alimentaire est plus traditionnel et éloigné des recommandations diététiques : plus de viande et produits carnés, de pain, de légumes secs et de pommes de terre, moins de laits et yaourts, de fruits et légumes et de produits sucrés. En terme d'apports nutritionnels, ceci se traduit par une ration journalière riche en lipides et pauvre en glucides, β-carotène et vitamine C. De plus, les indicateurs biologiques de statut antioxydant sont particulièrement perturbés par le métabolisme de l'alcool et de la fumée de cigarette. Pour la vitamine E, la vitamine C, les caroténoïdes et le sélénium, les concentrations plasmatiques diminuent significativement avec la consommation d'alcool ; avec en parallèle des concentrations de marqueurs de stress oxydant plus élevées. Les 21 jours de sevrage alcoolique ne permettent pas de restaurer le statut en vitamine E, vitamine C et sélénium.

Suite à l'arrêt de l'alcoolisation, le taux plasmatique de rétinol diminue probablement du fait d'une redistribution vers le compartiment hépatique et des interactions entre les métabolismes de la vitamine A et de l'éthanol. Chez les fumeurs, les concentrations de vitamine C et de β-carotène sont diminuées et inversement corrélées à la quantité de cigarettes fumées.

Les 3 essais de supplémentation randomisés portant respectivement sur des personnes âgées vivant à domicile ou en long séjour et des adultes d'âge moyen ont montré que l'on peut, avec des doses nutritionnelles, diminuer les risques de déficience. L'administration de vitamines C et E, de β-carotène, de zinc et sélénium fait augmenter les concentrations plasmatiques de ces micronutriments respectifs. On observe le même phénomène pour les vitamines du groupe B (B1, B2, B6 et folates). La prise de sélénium, seule ou avec d'autres micronutriments, est également associée à des activités accrues de la glutathion peroxydase dans les érythrocytes. Cependant, la prise d'un supplément multivitaminique sur 4 mois ne permet pas de réduire le nombre d'infections déclarées chez les sujets âgés. Auparavant, nous avions montré, sur un échantillon transversal de personnes âgées que les concentrations en vitamine E dans le plasma étaient négativement corrélées au nombre des infections des 3 dernières années.

En résumé, ce travail a permis de mettre en évidence et de quantifier l'influence de déterminants importants du statut antioxydant comme la consommation de tabac et d'alcool. Ces facteurs sont impliqués dans des pathologies diverses et doivent être pris en compte dans les études épidémiologiques à visée étiologique. L'interaction des composés de l'alcool et de la fumée de cigarette sur le métabolisme des vitamines pourrait expliquer en partie l'échec des grands essais de prévention par les antioxydants.

Références

1. Hercberg S, Preziosi P, Galan P, Deheeger M, Papoz L, Dupin H. Dietary intake of a representative sample of the population of Val-de-Marne: III. Mineral and vitamin intake. Rev Epidemiol Sante Publique 1991;39:245-261
2. Herbeth B, Musse N, Cubeau J, Fabien-Soule V, Faivre J, Fantino M, Giachetti I, Hercberg S, Lemoine A, Mejean L, Pequignot G, Romon-Rousseaux M, Schlienger JI, Tichet J, Walker P. Les problèmes posés par les tables de composition. Position du problème. Comparaison des tables existantes. Cah Nutr Diet 1991;26:263-269
3. Favier JC, Ireland-Ripert J, Toque C, Feinberg M. Répértoire général des aliments : table de composition. INRA édition & Technique et documentation - Lavoisier, Paris 1995
4. Herbeth B. Bêta-carotène et caroténoïdes. "Référence en Biologie Clinique", Siest G, Henny J, Schiele F Eds, Elsevier, Paris 1990:139-152
5. Herbeth B. Rétinol (vitamine A). "Référence en Biologie Clinique", Siest G, Henny J, Schiele F Eds, Elsevier, Paris 1990:551-568
6. Herbeth B. Tocophérols (vitamine E). "Référence en Biologie Clinique", Siest G, Henny J, Schiele F Eds, Elsevier, Paris 1990:581-598

Prénom, Nom : ***Bernard HERBETH***

Nature de la thèse :

Doctorat de l'Université Henri Poincaré, Nancy I
en Biologie et Santé

VU, APPROUVE et PERMIS D'IMPRIMER

Nancy, le 13 janvier 2000 n° 313

Le Président de l'Université Henri Poincaré, Nancy I

UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ, NANCY 1 — LE PRÉSIDENT

Claude BURLET

UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ · NANCY 1

24-30, rue Lionnois B.P. 3069 54013 Nancy cedex · Tél. 03 83 85 48 00 · Fax 03 83 85 48 48

Adresse électronique : _____ @uhp.u-nancy.fr