

# 3

## Besoins, carences et suppléments en vitamines et minéraux

L'un des problèmes majeurs posés par l'évaluation des apports nutritionnels conseillés en micronutriments est l'évaluation du statut à partir d'outils biologiques sensibles et spécifiques. Ainsi, il n'existe pas, à l'heure actuelle, de marqueur unique et c'est plutôt sur la conjonction d'arguments cliniques et biologiques, ainsi que sur les résultats d'enquêtes épidémiologiques et de travaux de recherches cliniques réalisés dans les différentes situations où existe une malnutrition que sont définis les besoins d'une population. La carence en micronutriments, souvent isolée, est dans les pays développés le résultat d'une malabsorption augmentant les pertes ou, plus rarement, d'une augmentation des besoins non compensés par les apports. Le diagnostic clinique d'une carence, que celle-ci soit isolée ou associée à une dénutrition globale, est souvent difficile, car les signes cliniques sont très variés et plus ou moins présents selon les individus et les situations pathologiques associées. Ainsi, par exemple, une carence en coenzyme B peut être « inaugurée » cliniquement par une anémie, par une neuropathie périphérique ou encore par des signes digestifs ou une atteinte de l'état général. L'évolution des méthodes biologiques d'évaluation du statut en micronutriments a permis également de définir des états subcarenciels et des états carenciels infracliniques, contribuant ainsi à la définition de groupes à risques où se pose le problème d'un dépistage et d'une supplémentation systématique (Le Moël et coll., 1998).

Nous envisagerons successivement les principales vitamines responsables de carences en France, puis nous aborderons trois situations où ont été évoquées des carences en micronutriments : la grossesse, les maladies cardiovasculaires et le cancer.

### Généralités

Les besoins journaliers en micronutriments représentent la dose minimale quotidienne requise pour prévenir l'installation d'une carence. Les besoins

sont variables selon les individus et les populations de l'ensemble du globe, et dépendent de facteurs nutritionnels, génétiques et environnementaux. Afin de permettre la couverture des besoins sur l'ensemble d'une population, les apports quotidiens moyens sur une période de temps prolongée, nécessaires à la prévention de la carence, définissent le concept d'apport nutritionnel conseillé. Ils correspondent théoriquement aux besoins journaliers moyens + 2 déviations standards.

### **Besoins journaliers et apports conseillés**

L'évaluation des apports nutritionnels conseillés pour les micronutriments est particulièrement difficile. Elle nécessite de disposer de moyens efficaces pour déterminer le statut en micronutriments. Parmi ces moyens, on peut citer la courbe de croissance (pour les enfants), la concentration sanguine et plasmatic en micronutriments, la concentration dans les cheveux et les phanères avant et après complémentation en micronutriments, la balance chimique, la détermination de perturbations des systèmes dépendants du statut en micronutriments, tels que le système immunitaire, les signes cliniques objectifs et les troubles cognitifs du comportement (O'Dell, 1996). La méthode la plus utilisée a été jusqu'à ce jour la balance chimique, particulièrement pour les éléments traces minéraux. Elle est cependant limitée par l'impérative nécessité d'une détermination précise des pertes, souvent difficile à mettre en œuvre, et par une évaluation des ingesta à partir de tables de composition où il est difficile de tenir compte de la biodisponibilité, du fait d'interférences entre micronutriments, macronutriments et fraction non digestible de l'alimentation (Aras et Olmez, 1995 ; Shimbo et coll., 1996). Les apports nutritionnels conseillés sont en cours de réévaluation aux États-Unis ainsi qu'en France. Les données qui seront indiquées ici, datant en général de 1989, seront donc prochainement révisées.

Les dosages sur prélèvements biopsiques, notamment les prélèvements hépatiques, sont d'excellents indicateurs pour des éléments traces comme le fer, le cuivre et le sélénium, mais évidemment impossibles à mettre en œuvre en dehors d'un contexte pathologique. La détermination des marqueurs sériques est souvent utile, mais non suffisante, car le taux circulant, à l'exception du fer, n'est pas représentatif des stocks tissulaires de l'organisme entier (O'Dell, 1996).

L'utilisation d'isotopes stables pour mesurer les pools et la compartimentation des éléments traces minéraux est un outil sophistiqué et précis, mais onéreux et uniquement accessible à des laboratoires très spécialisés. On peut utiliser plusieurs isotopes stables pour un élément trace donné ; par exemple, l'administration de zinc 67, 68 et 70 permet de faire la part de l'excrétion, de l'absorption et de la répartition dans les différents compartiments. Finalement, ces techniques s'avèrent soit trop imprécises, soit trop complexes pour permettre une évaluation du statut sur un échantillonnage suffisamment large de la population. L'outil épidémiologique réalisé à partir d'enquêtes, telle

SU.VI.MAX, s'avère particulièrement utile dans la mesure où il permet de confronter des marqueurs biologiques simples aux ingesta et au statut clinique de la population considérée. Les besoins journaliers dépendent de plusieurs facteurs de variabilité.

Il existe de nombreuses interactions entre les différents micronutriments, mais également entre les micro- et les macronutriments et la fraction non digérée de l'alimentation. Ainsi, par exemple, le zinc influe sur l'absorption en folates, la vitamine C sur celle du fer, les phytates et les oxalates sur un grand nombre de nutriments... La biodisponibilité d'un micronutriment doit tenir compte également du rendement digestif de l'absorption et, par conséquent, du rendement physiologique propre à chaque individu. C'est ainsi que la biodisponibilité des micronutriments chez le sujet âgé ne peut être extrapolée à partir de celle déterminée chez les adultes d'âge inférieur. De même, le statut métabolique conditionne les besoins et l'évaluation du statut en micronutriments dans différentes circonstances de la vie, permettant de définir des groupes à risques, où les besoins sont augmentés sans augmentation des pertes. Ainsi, la croissance de l'enfant, la grossesse, l'allaitement, l'exercice physique intense et répété sont des circonstances où le statut métabolique est modifié.

### **Facteurs étiologiques d'une carence**

Si l'inadéquation entre les besoins et les pertes est un cas possible de carence infraclinique et/ou de sub-carence dans la population, les carences en micronutriments sont souvent le résultat d'une augmentation des pertes secondaires à une pathologie digestive entraînant une malabsorption. D'un point de vue physiopathologique, les gastrites chroniques avec hypochlorhydrie affectent notamment l'assimilation du fer, du calcium, de la vitamine B12 et des folates. L'insuffisance pancréatique peut, dans le cas d'une malabsorption globale, affecter l'absorption des vitamines liposolubles. Les pathologies hépatobiliaires et pancréatiques peuvent, en interrompant la circulation entéro-hépatique, provoquer une perte de micronutriments tels que la vitamine A, la vitamine D, les folates, la vitamine B12 excrétés dans la bile. Les atrophies villositaires, les entérocolites, mais aussi les séquelles de traitements médico-chirurgicaux (grêle inflammatoire, grêle court, syndrome de l'anse borgne, grêle radique) peuvent également être responsables d'un syndrome de carence par malabsorption souvent multiple en micronutriments (Guéant et coll., 1998).

Enfin, un dernier élément est à prendre en compte dans la survenue d'une carence. Les stocks tissulaires en micronutriments sont très variables selon le type de micronutriments conseillés et ces stocks peuvent être diminués dans certaines pathologies. Le foie est un site de stockage prédominant pour un grand nombre de micronutriments, parmi lesquels la vitamine A, les coenzymes B, le fer. Ainsi, les hépatopathies chroniques, notamment celles provoquées par l'alcoolisme, peuvent constituer une cause favorisante de carence

par diminution des capacités de stockage. Le délai d'apparition entre l'installation d'un déficit apports/besoins et l'apparition d'une carence clinique varie en fonction de ces stocks tissulaires. Classiquement, on considère que les carences en vitamines hydrosolubles apparaissent plus précocement que les carences en vitamines liposolubles, car leurs stocks tissulaires sont plus faibles (Alpers et coll., 1995).

### **Diagnostic positif d'une carence en micronutriments**

Le diagnostic positif d'une carence repose sur des arguments essentiellement cliniques et biologiques, voire paracliniques. Ces signes sont très variables selon le micronutriment considéré et/ou l'existence d'un syndrome de carence affectant plusieurs nutriments. Sur le plan biologique, trois types de tests apportent une contribution au diagnostic positif : le dosage des micronutriments dans le sang, le dosage d'effecteurs métaboliques et les tests enzymatiques de complémentation.

#### ***Dosage des micronutriments dans le sang***

Selon les cas, ces dosages se font par spectrométrie d'absorption atomique (éléments traces minéraux), par méthodologie microbiologique (coenzymes B), radio-immunologique (vitamine D3, vitamine B12, folates), radio-enzymatique (vitamine B6) ou par CLHP (la plupart des vitamines). La CLHP est de mise en œuvre plus difficile, mais elle est, en général, une méthode de choix, car elle permet de séparer les différentes formes circulantes (vitamers), coenzymatiques ou non, des vitamines, dont certaines constituent d'excellents paramètres d'appréciation de leur métabolisme. Citons notamment le dosage des vitamers de la riboflavine, des folates, de la vitamine B12, de la vitamine A, de la vitamine D. Le dosage dans les érythrocytes est une approche très indirecte de l'évaluation du stock tissulaire, il se pratique notamment pour les folates, pour la vitamine B12, pour la vitamine B1.

#### ***Dosage d'effecteurs métaboliques***

Le dosage d'effecteurs métaboliques intervient souvent en complément des dosages sériques, ainsi peut-on doser les acides organiques urinaires pour évaluer le statut en coenzymes B, notamment en thiamine et en riboflavine. L'acide lactique, le pyruvate, l' $\alpha$ -cétoglutarate et l'alanine, sont des marqueurs indirects de la carence en vitamine B1. L'homocystéine, l'acide méthylmalonique et la cystathionine sont des marqueurs utiles au dépistage des carences en folates, vitamine B12 et vitamine B6 (Schneede et coll., 1994).

#### ***Tests de complémentation enzymatique***

Les tests de complémentation sont parfois de meilleurs indicateurs d'une carence tissulaire que le taux circulant de la vitamine ou de l'élément trace considéré. Les activités enzymatiques sont déterminées avant et après complémentation en micronutriments, permettant la détermination d'un rapport  $\alpha$

entre, respectivement, l'activité en présence ou en absence du micronutriment. Le rapport augmente en situation de carence. Ces tests concernent la transcétolase érythrocytaire pour la vitamine B1, la glutathion réductase pour la vitamine B12 et les transaminases érythrocytaires pour la vitamine B6.

### **Diagnostic étiologique d'une carence**

Il repose sur la mise en évidence d'une malabsorption en micronutriments et fait appel à des tests de charge (Guéant et coll., 1998). Le test de charge le plus connu est le test de Schilling qui permet de dépister la malabsorption en vitamine B12 par ingestion de vitamine B12 radiomarquée au cobalt 57 ou 58. L'excrétion urinaire du traceur est déterminée après saturation des protéines de transport endogènes par injection de vitamine B12 non radioactive.

D'autres tests de charge sont également utiles : test de charge en rétinol, avec dosage du rétinol plasmatique, avant et cinq heures après l'administration de rétinyl palmitate afin de déterminer un index RDR (réponse relative à la dose). D'autres tests de charge existent, comme ceux évaluant l'absorption des folates et l'absorption du fer, avec mesure de la concentration plasmatique du fer après ingestion de fer ferrique comparée à celle du fer ferreux.

Les dosages des protéines de transport et des enzymes cibles sont souvent utiles pour le diagnostic des maladies génétiques affectant soit le transport, soit l'activité métabolique du co-enzyme ou de l'élément trace minéral.

Plus récemment ont été mises au point des techniques de génotypage des protéines de transport et des enzymes cibles qui permettront, dans un avenir proche, de tenir compte des facteurs génétiques dans la définition des besoins et de l'identification de groupes à risques. Cela concerne notamment le génotypage de la MTHFR (méthylène tétrahydrofolate réductase) et de la transcobalamine.

Les tests cellulaires réalisés souvent sur fibroblastes permettent de rechercher les anomalies du transport et du métabolisme intracellulaire des coenzymes. Ils consistent à étudier l'incorporation de précurseurs métaboliques radiomarqués et de déterminer le taux de conversion en produit métabolique. Ces taux sont notamment utiles pour dépister les affections congénitales du transport intracellulaire des cobalamines.

### **Carences en principaux micronutriments inorganiques**

Les carences en principaux micronutriments concernent le calcium, le magnésium, le fer et le zinc. Elles peuvent résulter d'une baisse d'apport nutritionnel ou de circonstances pathologiques ou physiopathologiques qui augmentent les besoins.

## Calcium

Les besoins en calcium, cation majoritaire du tissu osseux, sont corrélés aux apports énergétiques. Le calcium est principalement apporté par les aliments d'origine lactée, ainsi que par les fruits et légumes, la viande et le poisson. L'absorption du calcium dépend du pH gastrique. À pH acide, inférieur à 3,5, le citrate et le phosphate de calcium sont solubles et le calcium est sous forme ionisée. Le rôle de la caséine est mal précisé, ainsi que l'effet de l'hydrolyse de la caséine par la pepsine. À pH neutre, le calcium est principalement sous forme de phosphate de calcium en suspension dans des micelles de caséine. Le calcium peut également se complexer avec d'autres anions tels que le citrate. Le calcium d'origine végétale peut se complexer avec des phytates, des oxalates et autres fibres non digestibles qui peuvent diminuer sa biodisponibilité. Dans les aliments d'origine animale, le calcium est complexé avec les protéines et il est probable que l'hydrolyse des protéines augmente sa biodisponibilité. La digestion des lipides affecte également l'absorption du calcium. En effet, le calcium peut coprécipiter avec les acides gras. À l'opposé, le lactose, le fructose et le glucose ont un effet favorable sur l'absorption du calcium (Alpers et coll., 1995).

Parmi les sources principales de calcium dans l'alimentation, on citera les yaourts, les fromages, le lait, les fruits secs, le chocolat. Les apports moyens journaliers sont estimés à 800 mg/j chez l'adulte ; ils sont compris entre 800 et 1 500 mg/j chez le sujet âgé, sans qu'il y ait de consensus (Aras et Olmez, 1995). Les apports nutritionnels sont augmentés de respectivement 300 et 200 mg/j au cours de la grossesse et de l'allaitement. Ils augmentent de 400 à 800 mg/j au cours de la première décennie et se situent à 1 200 mg/j pendant la période de croissance de l'adolescence.

L'évaluation du statut en calcium repose sur le dosage du calcium ionisé plasmatique. Le calcium non ionisé est complexé aux protéines de manière pH-dépendante, ce qui explique que l'acidose ou l'hypoprotéïnémie peuvent donner une fausse hypocalcémie. La phosphatase alcaline sérique représente à la fois l'activité enzymatique d'origine hépatique et d'origine osseuse. Il y a une augmentation de cette activité en cas de résorption du tissu osseux. L'élévation de l'activité est observée pour une modification importante du statut en calcium et la détermination des isoenzymes par électrophorèse permet de faire la part entre les activités d'origine hépatique et osseuse. Le dosage en PTH (hormone parathyroïdienne) est également utile en cas d'hypercalcémie, ainsi que le dosage de la 25 OH-D<sub>3</sub> et de la 1,25 OH<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>. En cas de carence d'apport ou de malabsorption en calcium, on observe une hypocalcémie, une hypophosphatémie, une diminution de la vitamine D et une augmentation de la parathormone dans le sang. L'hypocalcémie provoquée par une hypoparathyroïdie s'accompagne d'une hyperphosphatémie et d'une diminution de la parathormone sérique. Il est utile de pouvoir estimer la densité

osseuse par absorptiométrie biphotonique ou par tomодensitométrie. Parmi les aires osseuses, la colonne lombaire est classiquement utilisée comme aire de référence.

Les principales causes de carence en calcium sont les carences d'apport, dans la mesure où les apports sont souvent proches des besoins. Toutes les circonstances pathologiques ou physiopathologiques qui augmentent les besoins en calcium sont donc susceptibles de générer une carence. La carence en vitamine D s'accompagne d'une carence en calcium à la fois par trouble de l'absorption, trouble du métabolisme et trouble de l'incorporation osseuse du calcium. Ainsi, on décrit deux types d'ostéoporose : le type 1 correspond principalement à la ménopause avec une densité osseuse normale ou subnormale, une diminution de la parathormone sérique, une calcémie normale ou diminuée et un effet favorable du traitement œstrogénique ; au contraire, l'ostéoporose de type 2 concerne le sujet âgé, se traduit par une diminution de la densité osseuse, la survenue fréquente de fractures (col du fémur notamment), une augmentation du taux de parathormone sérique, une diminution du taux de vitamine D sérique et un effet favorable du traitement combiné par vitamine D et apport calcique.

L'intérêt d'une supplémentation en calcium pendant et après la période d'allaitement était classiquement admis. Cependant, un travail récent a montré que chez des femmes recevant un apport alimentaire insuffisant, inférieur à 800 mg/j, une supplémentation de 1 000 mg/j n'avait pas d'effet significatif sur la densité osseuse, à la fois pendant et après l'allaitement. Il n'y avait pas non plus d'effet sur le contenu en calcium du lait maternel. Dans cette étude, le groupe de femmes allaitantes était comparé à un groupe de femmes non allaitantes, et la densité osseuse était déterminée respectivement au bout de 3 mois et 6 mois de post-partum (Prentice, 1997 ; Kalkwarf et coll., 1997). La supplémentation en calcium est cependant de plus en plus utilisée, à la fois dans la prévention de l'ostéoporose et pour son effet protecteur vis-à-vis de l'hypertension artérielle. Un effet protecteur du calcium vis-à-vis des cancers colo-rectaux a également été évoqué et pourrait être expliqué par une modification de l'excrétion en acides biliaires, avec notamment une diminution de l'acide chénodésoxycholique et de l'acide lithocholique (Lupton et coll., 1996).

## Magnésium

Comme pour le calcium, les apports en magnésium sont étroitement corrélés aux apports énergétiques. Les principales sources en magnésium sont la viande, les produits de la mer, les végétaux, les fruits secs, les céréales. Le magnésium est complexé aux protéines et aux fibres, ainsi qu'aux porphyrines dans les plantes. L'absorption a lieu principalement au niveau de l'intestin distal, au contraire du calcium. Comme pour le calcium, il existe une complexation avec des anions, notamment les phosphates, les phytates et les oxalates, qui peuvent retarder son absorption. L'absorption est passive, mais il

existe une interférence avec celle du calcium. Le stock de l'organisme en magnésium est estimé à 2 000 mEq, dont plus de 90 % au niveau intracellulaire, ce qui explique la difficulté à évaluer le statut en magnésium et illustre la faible valeur de la concentration du magnésium sérique. Le contenu du magnésium dans les cellules mononucléées sanguines semble être plus représentatif du statut. L'excrétion urinaire du magnésium dépend des apports et de l'absorption en l'absence de pathologie rénale (Shils et Rude, 1996).

Les principales causes de carence en magnésium sont les malabsorptions et la pathologie rénale par diminution de la réabsorption tubulaire. La maladie alcoolique chronique est également une cause classique plurifactorielle, à la fois digestive, rénale et métabolique, et avec diminution des apports. La carence d'apport, en dehors de ce contexte, est en revanche exceptionnelle. Certains traitements peuvent provoquer une carence en magnésium : diurétiques, cysplatine, aminoglycoside, amphotéricine (Al-Ghamdi et coll., 1994).

Plusieurs travaux ont évoqué le rôle possible d'une carence relative en magnésium par un apport insuffisant dans les maladies cardiovasculaires et dans l'hypertension, mais ceci reste très controversé. Deux études randomisées ont utilisé du magnésium intraveineux chez des patients présentant un infarctus du myocarde, avec des effets thérapeutiques discutables. L'effet du magnésium portait sur la diminution de la morbidité, de la mortalité et de la survenue de troubles du rythme (Shils et Rude, 1996). Parmi les effets biologiques évoqués, la carence en magnésium provoquerait une prolifération endothéliale, une altération des fibres d'élastine, une augmentation de l'infiltrat inflammatoire et des calcifications. De plus, le magnésium affecterait la sécrétion de PDGF (*Platelet-derived growth factor*) au niveau des myocytes (Yokoyama et coll., 1996). Il faut cependant se poser le problème d'un déficit en magnésium, en cas de pathologie digestive, notamment en cas de diarrhée chronique, stéatorrhée, syndrome de grêle court ou fistule. L'alimentation parentérale nécessite également une supplémentation en magnésium. Une hypomagnésémie ou déficit en magnésium peut provoquer une hypokaliémie et une hypocalcémie réfractaires qui ne peuvent être traitées que par une supplémentation en magnésium. Un déficit en magnésium est depuis longtemps supposé être associé aux diabètes de type 1 et de type 2. L'hypomagnésémie semble plus fréquente dans les diabètes mal contrôlés et pourrait aggraver le syndrome d'insulinorésistance (Tostello, 1996).

## Fer

Au contraire des autres oligo-éléments, la régulation du statut en fer est la seule qui porte principalement sur l'adaptation de l'absorption intestinale. Les principales pertes sont digestives, urinaires et cutanées, et, chez la femme, menstruelles. Les besoins en fer, estimés à partir des pertes quotidiennes, sont donc très variables. Les apports nutritionnels conseillés varient entre 6 mg dans la première décennie, 15 mg dans la deuxième décennie, 15 mg chez la

femme adulte préménopausique et 10 mg chez l'adulte. Les besoins quotidiens sont fortement augmentés, à 30 mg, pendant la grossesse. Dans l'alimentation de type occidentale, le fer est apporté à la fois par les végétaux, tels que les céréales, les haricots verts, certains fruits (abricots, fruits secs), et par la viande (Lynch et Baynes, 1996). L'absorption du fer est fortement favorisée par l'acide ascorbique qui réduit le fer ferrique en fer ferreux. Environ 40 % à 70 % du fer est sous forme héminique et subit une absorption qui pourrait mettre en jeu un récepteur digestif spécifique. L'absorption du fer ionique est plus complexe. Le fer ferrique est réduit en fer ferreux sous l'influence du pH acide de l'estomac. L'acide ascorbique joue un rôle adjuvant très efficace. Il existe une interférence avec les autres oligo-éléments minéraux : le molybdène, le nickel et le cuivre (Bonkovski et coll., 1996). L'absorption est optimale au niveau du grêle proximal. Le rendement digestif ou la biodisponibilité du fer ionique est inférieure à celle du fer héminique, et le fer incorporé dans les aliments, tels que les céréales, a souvent une mauvaise biodisponibilité (Donovan et Gibson, 1995). Un certain nombre d'autres nutriments peuvent diminuer son absorption, tels que le calcium, les phosphates, les phytates, les polyphénols contenus dans le thé (Gabrielli et De Sandre, 1995). Les traitements médicamenteux par anti-acides diminuent également cette absorption. L'évaluation du statut en fer comprend classiquement la détermination des taux sériques de fer, de transferrine, sa protéine de transport au niveau sanguin et de ferritine, protéine reflet des stocks intracellulaires. S'y adjoint l'évaluation du coefficient de saturation en fer de la transferrine. En cas de carence en fer, il existe une diminution du coefficient de saturation du fer sérique et de concentrations sériques en transferrine et en ferritine. Plus récemment, un nouveau marqueur du statut en fer a été proposé, il s'agit du récepteur soluble de la transferrine dont la concentration sérique est théoriquement corrélée au stock en fer de l'organisme. Ce marqueur extrêmement sensible, mais non spécifique, car également augmenté dans certaines hémopathies, permettra probablement de réviser les données actuelles sur les apports nutritionnels conseillés (Lynch et Baynes, 1996).

La carence en fer, outre l'anémie hypochrome microcytaire, peut être responsable de syndromes variés, notamment de troubles cognitifs, troubles de la croissance staturo-pondérale, alopecie, asthénie, anorexie, troubles de l'immunité avec sensibilité aux infections, stomatite, koïlonychie.

Les carences en fer sont classiquement fréquentes dans plusieurs groupes à risque, dont les enfants en période de croissance, les femmes en période d'activité génitale et les femmes enceintes. Cependant, dans certains pays, dont les États-Unis, la supplémentation en fer par l'intermédiaire d'aliments enrichis ou de gélules multivitaminiques est fréquente. Il semble d'autre part, selon certains auteurs, que les apports nutritionnels conseillés soient surestimés (Lynch et Baynes, 1996). Récemment, des données épidémiologiques ont suggéré qu'une augmentation, même modeste, dans les stocks de fer de l'organisme, dans une proportion considérée jusqu'à présent sans effet secondaire,

serait un possible facteur de risque de maladie coronarienne ischémique et de cancer. Ainsi, certains recommandent désormais de réviser les apports nutritionnels conseillés en fer chez l'adulte masculin et chez la femme en période de grossesse et d'allaitement (Lynch et Baynes, 1996). La carence en fer semble plus fréquente dans la dénutrition protéino-énergétique. Par ailleurs, elle serait responsable de troubles du développement chez l'enfant, mettant en cause l'acquisition des fonctions motrices et cognitives. Récemment, Bruner et coll. (1996) ont montré qu'une supplémentation en fer de jeunes adolescentes avait un effet significatif sur les fonctions cognitives, dans un contexte de carence relative avec ferritinémie basse et absence de syndrome anémique. Les troubles cognitifs fréquemment observés dans la malnutrition pourraient ainsi être en rapport avec les carences en fer (Pollitt, 1993, 1995 ; Adamson, 1996).

Les principales causes de carence en fer sont, outre l'augmentation des besoins en rapport avec la croissance, les saignements d'origine gynécologique ou la grossesse, l'augmentation des pertes ou les saignements digestifs (hémorroïdes...) ou autres (épistaxis, hématuries). Les syndromes de malabsorption peuvent s'accompagner de carence en fer, c'est notamment le cas de la maladie cœliaque et des gastrites chroniques. Les carences en fer semblent également relativement fréquentes chez les enfants végétariens (Nathan et coll., 1996).

## Zinc

Le zinc est l'élément trace le plus abondant, après le fer, dans l'organisme. Il intervient comme cofacteur dans l'activité de nombreuses enzymes et joue un rôle essentiel, y compris au niveau de la régulation des gènes. Ceci explique que la carence en zinc puisse se manifester par des symptômes très variés, en dehors d'une affection génétique très rare, l'acrodermatite entéropathique, qui met en cause son absorption. Les besoins en zinc sont estimés à 15 mg/j chez l'adulte de sexe masculin et 12 mg/j chez la femme, les apports nutritionnels conseillés étant à rapporter au poids. Les besoins sont augmentés chez l'enfant en période de croissance et chez le prématuré (Prasad, 1996 ; Wasney et coll., 1996) et la période de développement foetal est particulièrement cruciale, notamment les vingt premières semaines de gestation (Nishi, 1996 ; Golub et coll., 1995). Les apports nutritionnels conseillés sont ainsi augmentés de 3 mg par jour pendant la grossesse et de 7 mg par jour pendant l'allaitement (Prasad, 1996).

La biodisponibilité du zinc alimentaire est d'environ 30 % à 40 %. Le zinc est présent dans de nombreux aliments, principalement dans les dérivés du lait, les œufs, les fruits secs, les fruits de mer, les abats, les céréales. Le lait maternel est pauvre en zinc. Les apports quotidiens sont proches des apports nutritionnels conseillés. L'évaluation du statut en zinc repose sur la mesure du zinc plasmatique qui est un signe tardif de la carence en zinc. La charge en zinc des neutrophiles a été proposée, mais reste peu utilisée. L'excrétion urinaire du

zinc est également peu utile. Le dosage du zinc dans les phanères est possible mais reste du domaine de la recherche. L'absorption du zinc se fait principalement au niveau du grêle proximal, à la fois par un mécanisme saturable spécifique et un mécanisme non saturable. Il existe une métallothionéine au niveau de la bordure en brosse qui lie le zinc en compétition avec le cuivre. Ceci explique l'efficacité d'un traitement par le zinc pour diminuer l'absorption du cuivre dans la maladie de Wilson. L'absorption du zinc est également diminuée par les phosphates, les phytates, les acides aminés. Dans le plasma, le zinc se lie à l' $\alpha_2$ microglobuline et à la transferrine, mais 60 % sont associés de façon très labile à l'albumine. Il est stocké dans le foie par une métallothionéine.

Les manifestations cliniques de carence en zinc sont très variées et peuvent être cutanées ou muqueuses : eczéma, ulcérations, atrophie muqueuse. On décrit également des troubles de la croissance, un hypogonadisme, des troubles neurologiques (syndrome confusionnel, dépression), des troubles des phanères avec alopecie, un syndrome dysimmunitaire avec une sensibilité accrue aux infections.

Les principales causes de carence en zinc sont, outre la malnutrition dans les pays en voie de développement où il existe une carence d'apport (Chevalier, 1995), les syndromes de malabsorption, les maladies inflammatoires digestives, les syndromes néphrotiques, la maladie alcoolique au stade de cirrhose hépatique décompensée et l'hémodialyse.

### **Autres micronutriments inorganiques**

Les apports en iode sont étroitement dépendants de la teneur de l'eau en iode. Les apports nutritionnels conseillés sont de 100  $\mu\text{g}$  par jour chez l'adulte et l'adolescent, de 60 à 100  $\mu\text{g}$  chez les enfants de 1 à 10 ans et de 35 à 40  $\mu\text{g}$  chez le nourrisson. Les manifestations de la carence sont polymorphes (Delange, 1994). Elles incluent outre les dysfonctions thyroïdiennes, le goitre endémique et le crétinisme, des troubles du développement mental, ainsi que des troubles cognitifs, une augmentation de la mortalité périnatale et infantile et une diminution de la fertilité (Dunn, 1994). Le goitre endémique est la résultante de plusieurs facteurs et n'est pas expliqué uniquement par une adaptation à la carence en iode. Il existe un trouble de la synthèse de la thyroglobuline, de la sécrétion en iode et en hormones thyroïdiennes. L'adaptation de la thyroïde à un apport insuffisant en iode comporte une augmentation de la sécrétion des hormones thyroïdiennes. La synthèse préférentielle est la sécrétion de triiodothyronine et l'augmentation de sécrétion de TSH qui participent, à long terme, à la genèse du goitre (Dumont et coll., 1995 ; Kristensen et coll., 1995). Des facteurs aggravants peuvent s'ajouter, notamment l'existence d'auto-anticorps et l'existence d'une carence surajoutée en sélénium. Les carences modérées en iode peuvent être responsables de troubles cognitifs et d'un déficit intellectuel en l'absence de signe évident de crétinisme endémique. Les groupes à risque de carence en iode sont les

femmes enceintes, les nouveau-nés et les enfants en période de croissance. Le statut en iode a été récemment évalué dans les pays européens (Delange, 1994). L'un des marqueurs les plus utiles est la concentration urinaire en iode. L'excrétion urinaire était supérieure à 100 µg par jour dans les Pays-Bas, la Finlande, la Suède et la Suisse. L'Allemagne et les pays du sud de l'Europe présentent les taux d'excrétion les plus bas. Il existe par ailleurs des zones endémiques de carence en iode, notamment en Belgique, en France, dans le Royaume-Uni et dans les pays de l'Est européen. Il semble que le risque de cancer de la thyroïde, lors d'un accident nucléaire, soit augmenté lors des carences en iode. La meilleure prévention de la carence en iode est l'addition du sel de cuisine dans une proportion d'une part d'iodure pour 10 000 à 50 000 parts de sodium (Dunn, 1996). Il serait souhaitable que le même type de démarche soit fait dans l'industrie alimentaire, notamment l'industrie des fromages, du pain et des aliments d'élevage.

La teneur en cuivre des aliments est très variable. Il est principalement présent dans la viande, le chocolat, les fruits de mer et sa teneur est faible dans le lait de vache. Les apports nutritionnels conseillés sont fonction des apports énergétiques chez l'enfant, ils sont de l'ordre de 0,3 µmole par kilojoule. Le syndrome de Menkes est une cause génétique liée au chromosome X de carence en cuivre par malabsorption et troubles du transport. L'évaluation du statut en cuivre est classiquement réalisée par détermination des concentrations sériques en cuivre et en céruléoplasmine (Olivares et Uauy, 1996 ; Linder et Hazegh-Azam, 1996). Les cas de carence en cuivre sont multiples ; parmi ceux-ci, les carences d'apport et les syndromes de malabsorption sont les cas les plus fréquents. L'augmentation des besoins, conjointement à une capacité de stock hépatique limitée, explique la fréquence des carences en cuivre chez les prématurés. Les carences d'apport chez l'enfant sont notamment dues à des apports alimentaires comportant une fraction excessive en produits dérivés du lait de vache. Les suppléments oraux en zinc, en fer et en vitamine C diminuent l'absorption du cuivre et constituent un facteur aggravant. On décrit également des carences en cuivre dans la maladie cœliaque, la mucoviscidose, le syndrome du grêle court, les diarrhées chroniques. Les effets de la carence en cuivre sont très variables. Ils comportent, entre autres, une anémie, une neutropénie, des troubles du métabolisme osseux avec ostéoporose, des fractures des os longs (Percival, 1995). Il existe également, plus rarement, une hypopigmentation cutanée, une hypotonie, des troubles de la croissance, une augmentation de la sensibilité aux infections, des troubles du métabolisme des lipoprotéines. La production d'interleukine 2 serait également diminuée en cas de carence en cuivre (O'Dell, 1994).

Les apports en sélénium sont très variables selon les régions et dépendent notamment de la teneur en sélénium du sol (Burk, 1993). Ce micronutriment joue un rôle important dans le métabolisme des radicaux libres, car il est nécessaire à la synthèse de sélénoprotéines, telles que la glutathion peroxydase, et à la synthèse d'un ARN de transfert correspondant à l'incorporation

de sélénocystéine dans les protéines (Badmaev et coll., 1996). Les apports sont de l'ordre de 50 à 200 µg par jour dans les pays industrialisés, mais dans certains de ces pays, telle la Nouvelle-Zélande, la teneur en sélénium du sol est basse et les apports sont de l'ordre de 25 µg par jour. Dans une région de la Chine, les apports sont très bas, de l'ordre de 7 µg par jour (Levander et Whanger, 1996). La carence en sélénium a permis d'individualiser la maladie de Keshan qui comporte une cardiomyopathie avec nécrose diffuse des cellules myocardiques, qui peut être prévenue par une supplémentation en sélénium (Burk, 1993). La maladie de Kashin-Beck se traduit par une nécrose du cartilage et des troubles de la croissance osseuse épiphysaire. L'implication de la carence en sélénium dans cette maladie est discutée.

## Carences en principales vitamines

Des carences vitaminiques peuvent apparaître soit au cours de situations pathologiques, plus rarement, en raison d'apport nutritionnels insuffisants.

### Vitamine B1

Elle est abondante dans les sons, les germes de céréales, la levure de bière, mais aussi les abats, la viande de porc, le lait et les œufs avec une grande variabilité de la teneur selon les aliments. La carence entraîne des signes neurologiques et neuropsychiques, dermatologiques et hématologiques. Des cas d'anémie mégalo-blastique ont été rapportés. Le statut en vitamine B1 est évalué par son dosage dans les urines (représentation des apports), dans le sang ou par le test de complémentation des transcétolases érythrocytaires.

Les besoins sont corrélés au métabolisme énergétique. Ils sont de 0,5 mg/1 000 kcal chez l'homme et la femme, 0,6 mg/1 000 kcal chez la femme enceinte et la femme allaitante, et compris entre 0,4 et 0,5 mg/1 000 kcal selon l'âge, chez l'enfant. Les apports nutritionnels conseillés chez le sujet âgé sont mal précisés, mais probablement supérieurs à 0,5 mg/1 000 kcal (Rudman, 1987 ; Wilson, 1987).

La carence doit être recherchée, notamment chez l'alcoolique chronique. Elle est rare en dehors de ce contexte. Quelques cas de carence en vitamine B1 ont été rapportés chez les femmes enceintes où les troubles cardiovasculaires observés posent un problème de diagnostic différentiel avec l'éclampsie. La carence peut s'accompagner d'une acidose lactique qui aggrave l'insuffisance cardiaque.

### Riboflavine

Les besoins sont corrélés aux apports énergétiques. Ils sont également fonction d'une importante production endogène d'origine bactérienne. Les apports moyens journaliers sont de l'ordre de 2,7 mg/j dans une alimentation de

type occidental, tandis que les apports nutritionnels conseillés sont d'environ 0,6 mg/1 000 kcal. Ils correspondent à un apport de 1,8 mg/j chez l'homme adulte, 1,4 mg/j chez la femme adulte, 1,6 et 1,8 mg/j respectivement chez la femme enceinte et la femme allaitante. Les apports nutritionnels conseillés chez l'enfant varient de 0,4 à 1,2 mg/j selon l'âge et les pays occidentaux considérés (Hauser, 1985 ; Bates, 1987).

L'évaluation du statut vitaminique repose sur la détermination des taux sanguin et urinaire de la vitamine B2. L'excrétion urinaire est surtout intéressante dans les études épidémiologiques. Les dosages sanguins font appel à la CLHP des vitamers plasmatiques et érythrocytaires permettant d'apprécier le taux de conversion de flavine en mono- et dinucléotides, conversion qui dépend d'une activité kinase inductible par les hormones thyroïdiennes. Notre groupe a ainsi récemment montré que le syndrome de basse T3, fréquemment observé dans un cadre de dénutrition est corrélé à la diminution de conversion de la riboflavine en vitamer nucléotidique. La détermination du test de complémentation de l'activité glutathion réductase est également utile (Glatzle et Körner, 1970). La valeur seuil du coefficient  $\alpha$  pour déterminer un syndrome de carence est variable, comprise entre 1,2 et 1,5, selon les équipes.

La carence provoque des lésions cutanées, muqueuses (stomatite, chéilite, glossite, dermite séborrhéique), oculaires, ainsi qu'une anémie hypochrome. Les principales causes de carence sont l'alcoolisme et les pathologies digestives responsables de malabsorption (Le Moël, 1998).

Il existe une controverse sur le statut en vitamine B2 et l'utilisation prolongée des contraceptifs oraux, néanmoins il ne semble pas que les œstroprogestatifs soient responsables de carence avérée.

## **Pyridoxine**

Les besoins en pyridoxine sont corrélés avec les apports protéiques. Ils dépendent de l'environnement, dans la mesure où la production endogène par la flore saprophyte constitue une part importante des apports quotidiens. Ils sont estimés à 0,016 mg/g de protéines chez l'adulte, à 0,015 mg/g chez le nourrisson et à 0,02 mg/g chez le jeune enfant. Les apports nutritionnels conseillés sont par conséquent, estimés de 1 à 3 mg/j selon les pays et les auteurs chez l'adulte de sexe masculin et de 1,1 à 2 mg/j chez l'adulte de sexe féminin. En période de grossesse et d'allaitement, les besoins sont respectivement augmentés à 2,2 et 2,1 mg/j. Chez l'enfant, ils varient de 1 à 1,4 mg/j selon la tranche d'âge considérée (Driskell, 1994).

Comme pour la plupart des coenzymes B, la carence associe des signes muqueux, dont une glossite, à une neuropathie périphérique ; il existe de rares cas d'anémie mégalo-blastique, même si, classiquement, l'anémie observée est hypochrome, associée à une augmentation du fer sérique et à un syndrome dysimmunitaire. La vitamine B6 est, avec la vitamine B12 et les folates, l'un des coenzymes clés du métabolisme de l'homocystéine et une carence en

vitamine B6 peut se traduire par une hyperhomocystéinémie, conjointement à une augmentation de la cystathionine sérique (Ubbink et coll., 1993 ; Joosten et coll., 1993).

La vitamine B6 est nécessaire à la conversion du tryptophane en acide nicotinique (Freese et coll., 1990 ; Vandekamp et Snider, 1995), ce qui rend possible l'association d'une carence en pyridoxine et en acide nicotinique responsable d'une pellagre. Ce lien métabolique peut expliquer également une diminution de synthèse de sérotonine pouvant potentiellement participer aux signes neurologiques.

Les principales étiologies de carence en vitamine B6 sont les malabsorptions. L'atrophie villositaire peut être en cause, car l'absorption de ce micronutriments se fait par transport passif au niveau du grêle proximal. L'alcoolisme et les causes iatrogènes sont également des étiologies fréquentes. Enfin, il existe des troubles héréditaires du métabolisme qui se manifestent sur le plan biologique par une homocystéinurie, une cystathioninurie, voire une xanthurie, et, sur le plan clinique, par un retard mental et des manifestations cardiovasculaires. Les carences en vitamine B6 seraient relativement fréquentes chez le sujet âgé à un stade infraclinique avec élévation de l'homocystéinémie, sans que l'implication de la maladie coronarienne ait pu être clairement établie (Joosten et coll., 1993).

## Folates

Les besoins en folates sont compris entre 1 µg/kg chez l'adulte et 4 µg/kg chez l'enfant. Ils sont multipliés par 3 en période de grossesse et d'allaitement. Ils ont fait l'objet de plusieurs enquêtes dans la population française, dont l'étude Val-de-Marne et l'étude SU.VI.MAX qui estiment les apports chez l'adulte entre 260 et 340 µg/j. La révision des apports nutritionnels conseillés en France propose une estimation à 200-250 µg/j chez l'adulte de sexe masculin, 150 à 200 µg/j chez la femme et 120 à 150 µg/j chez l'enfant (Food and Nutrition Board, 1989 ; Zittoun, 1998 ; O'Keefe et coll., 1995).

La biodisponibilité de l'acide folique est variable selon la forme alimentaire. La plus grande partie des folates alimentaires se présentent sous forme de polyglutamates avec 2 à 7 résidus glutamates par molécule, dont l'hydrolyse par une enzyme membranaire conjugase et une enzyme lysosomale constitue une étape limitante de l'absorption intestinale (Rosenberg, 1990). La biodisponibilité est de 30 % dans le jus d'orange et de 60 % dans le lait de vache. Avec la vitamine B12, l'acide folique est l'un des coenzymes donneurs d'unités monocarbonées, et notamment de groupements méthyles, et participe ainsi à la synthèse d'un certain nombre d'acides aminés dont la méthionine, qui a pour précurseur déméthylé l'homocystéine, et à la synthèse de l'acide thymidilique, lui-même nécessaire à la synthèse de l'ADN. Ce rôle métabolique explique que le syndrome carenciel affecte principalement les cellules à renouvellement rapide et provoque ainsi des troubles de l'érythropoïèse, avec

une anémie macrocytaire sévère, voire mégaloblastique, une neuropathie et une altération des muqueuses.

Le diagnostic de carence repose sur le dosage des folates sériques et érythrocytaires, sur le dosage de l'homocystéine et de la cystathionine sériques. Au stade infraclinique et clinique, l'existence d'une macrocytose, même isolée (sans anémie), est un bon critère diagnostique. L'existence d'une mégaloblastose médullaire représente un stade avancé de la carence. Les causes principales de carence en folates sont les malabsorptions digestives, notamment par atrophie villositaire. La maladie coéliqua se traduit souvent par une carence en folates pouvant participer au syndrome dysimmunitaire. La carence en folates est fréquente chez l'alcoolique et est la résultante de plusieurs facteurs, parmi lesquels une diminution de l'absorption digestive et une diminution de la capacité de stockage hépatique, facteur physiopathologique prédominant, car les stocks en folates ne permettent normalement qu'une couverture d'environ 3 mois des besoins.

Parmi les groupes à risque où il existe un déséquilibre entre les apports et les besoins, il faut citer la femme enceinte ou allaitante. La contraception œstroprogestative a également été incriminée comme facteur de risque. Enfin, il existe des causes iatrogènes de carence, mettant en cause soit l'absorption, soit l'inhibition des activités enzymatiques folates-dépendantes. Il existe une malabsorption des folates chez les patients infectés par le virus du sida dès le stade de la séropositivité et de l'existence de troubles du transit digestif. La carence en folates chez les malades atteints par le sida a été prouvée dans plusieurs études et il est probable, même si cela n'est pas encore démontré, que la trithérapie améliorerait le statut nutritionnel de ces patients, non seulement en ce qui concerne les macronutriments, mais également pour ce qui est des micronutriments. Parmi ces dérivés, les folates représentent une des vitamines d'intérêt majeur. Les enquêtes françaises ont montré qu'environ 2 % à 5 % des femmes en période d'activité génitale présentent un risque élevé de déficience en folates, lesquelles sont basées sur les apports nutritionnels conseillés et il est difficile de conclure sur le pourcentage réel des carences infracliniques dans cette fraction de la population. Les besoins sont, de toute façon, fonction du polymorphisme génétique et, de ce point de vue, le génotype de la méthylène tétrahydrofolate réductase est un paramètre important à prendre en compte. La carence en acide folique peut être potentiellement impliquée dans les anomalies de fermeture du tube neural embryonnaire, dans les premières semaines de la grossesse, avec notamment pour conséquence une anencéphalie, une encéphalocèle ou, plus fréquemment, un spina bifida (Mills et coll., 1995). Une étude multicentrique a récemment montré en Grande-Bretagne un abaissement important des spina bifida chez les enfants nés de mères supplémentées en acide folique dans les périodes péri-conceptionnelles. Parce qu'elle s'accompagne d'une augmentation même modérée de l'homocystéinémie, la carence en folates est également considérée comme un

possible facteur indépendant de survenue de maladie cardiovasculaire touchant les territoires coronariens ou périphériques. Dans une étude récente réalisée sur 18 000 sujets norvégiens, les sujets présentaient un taux plasmatique en folates inversement corrélé à celui de l'homocystéine. Les personnes dont la concentration en l'homocystéine sérique dépassait 40  $\mu\text{mol/l}$  (0,4 % des cas) présentaient une mutation homozygote C677T de la méthyltétrahydrofolate réductase. Ceci pose le problème d'une supplémentation systématique en acide folique chez les patients présentant ce génotype dans le but de réduire le risque de maladie cardiovasculaire (Guttormsen et coll., 1996). La prévalence comparée de la carence en acide folique aux États-Unis et en France est difficile à établir, mais il semble que, globalement, l'alimentation en France apporte plus de folates et pourrait masquer le déficit en folates chez des sujets prédisposés à une telle carence. Récemment, plusieurs travaux nord-américains ont prôné l'intérêt d'une supplémentation systématique dans la population et des évaluations à grande échelle ont été réalisées par enrichissement d'un ou plusieurs aliments, tels que les produits dérivés des céréales utilisés au petit déjeuner. Dans un travail récent, il a été montré qu'une supplémentation correspondant au double des apports nutritionnels conseillés avait un effet significatif sur l'abaissement du taux circulant d'homocystéine, sans que l'on puisse conclure sur le réel intérêt que cet abaissement pourrait entraîner sur la prévention des maladies cardiovasculaires (Malinow et coll., 1998). Plusieurs années seront nécessaires pour pouvoir évaluer l'impact réel d'un tel effet. On peut cependant conseiller en France une alimentation riche en folates comportant des légumes verts, des œufs, du fromage fermenté, des produits à base de foie et certains fruits tels que les oranges, les melons.

La carence en folates (Joosten et coll., 1993 ; Rosenberg, 1990) est relativement fréquente chez le sujet âgé où elle peut se traduire par une anémie macrocytaire sévère. Elle résulte d'un trouble de l'absorption pouvant mettre en cause une gastrite achlorhydrique et/ou un déséquilibre de la flore intestinale et/ou une atrophie villositaire. Il n'y a cependant pas nécessité à une supplémentation systématique, mais plutôt à un dépistage attentif chez les sujets en institution, chez lesquels se surajoute souvent une diminution des apports.

## Vitamine B12

La vitamine B12 est l'un des micronutriments dont les apports et les besoins sont les plus faibles chez l'homme, ce qui, si l'on tient compte de son importance considérable dans le métabolisme peut, d'un point de vue finaliste, expliquer la très grande complexité de son métabolisme, dans les phases digestives plasmatiques et cellulaires (Aimone-Gastin et coll., 1998). Le contenu total de l'organisme en vitamine B12 est de l'ordre de 2 à 2,5 mg avec un site de stockage hépatique prédominant, où ce micronutriment est complexé à des protéines, et un deuxième, le rein, site où il est stocké sous forme

libre. La demi-vie de la vitamine B12 stockée est ainsi estimée à une période allant de 480 à 1 284 jours, avec une perte quotidienne moyenne en cobalamine d'environ 1,3 µg. Les sources en cobalamine sont les aliments d'origine animale, notamment les abats (foie, rein de bœuf...), les fruits de mer, les poissons et, dans une proportion plus modeste, les dérivés du lait et les œufs. L'alimentation apporte environ 5 à 15 µg/j de vitamine B12. Il existe une synthèse endogène de vitamine dont le siège est colique et n'est, par conséquent, pas utilisable par l'organisme, puisque l'absorption se fait spécifiquement par une endocytose récepteur-médiée de la vitamine B12 combinée au facteur intrinsèque au niveau de l'iléon distal (Guéant et Nicolas, 1990). Le niveau de biodisponibilité de la vitamine B12 est difficile à estimer. La cuisson des aliments entraîne une dénaturation d'environ 50 % de la vitamine, et la sécrétion gastrique acido-peptique est indispensable au relargage de la vitamine B12 alimentaire. Il peut exister des interférences avec d'autres vitamines : ainsi l'ingestion de doses pharmacologiques de vitamine C peut oxyder et dénaturer la vitamine B12 alimentaire (Guéant et coll., 1998).

Les apports nutritionnels conseillés sont estimés à 2 µg/j chez l'adulte et 0,3 µg/j chez le nouveau-né. Les besoins chez la femme enceinte et allaitante n'ont pas fait l'objet d'estimation précise, ils seraient modérément augmentés d'un facteur de 30 % à 40 % (FAO/WHO, 1988).

La carence en vitamine B12 se traduit par une macrocytose, puis une anémie mégalo-blastique, souvent associée à une leucopénie et une thrombopénie (Herbert, 1994). Les signes neurologiques sont souvent dissociés des manifestations hématologiques et peuvent précéder ces derniers (Lindenbaum et coll., 1988). Il existe une neuropathie périphérique par démyélinisation médullaire. L'atteinte du système nerveux central se traduit également par des signes cognitifs, la possibilité d'un syndrome dépressif, des troubles de la mémoire et, à un stade avancé, un syndrome démentiel (Savage et Lindenbaum, 1995). Sur le plan digestif, il existe une atrophie muqueuse avec notamment une atrophie villositaire qui peut poser un problème de diagnostic différentiel avec une maladie coeliaque et, plus classiquement, une glossite. Le traitement de la carence se fait classiquement par voie orale, mais il est également possible de proposer une vitaminothérapie par voie orale (Kuzminski et coll., 1998).

Les principales causes de carence en cobalamine sont les malabsorptions, parmi celles-ci l'anémie de Biermer représente une entité spécifique. Cette pathologie se manifeste par l'apparition d'une gastrite chronique avec une atrophie fundique provoquant un tarissement de la sécrétion du facteur intrinsèque. Il s'agit par conséquent d'une forme particulière de gastrite auto-immune de type A. Il ne semble pas exister, dans la plupart des cas, de liens étiopathogéniques évidents entre les gastrites de type B, où l'infection à *Helicobacter pylori* est quasi systématique, et l'auto-immunité antifacteur intrinsèque. Il existe cependant une augmentation de la prévalence avec l'âge. Chez le sujet âgé, les gastrites antro-fundiques avec déficit de la sécrétion

chlorhydropeptique, même en l'absence de troubles sécrétoires du facteur intrinsèque, peuvent être responsables d'une malabsorption de la vitamine B12 par défaut de libération de la vitamine B12 alimentaire. Ceci peut être déposé à l'aide d'un test de Shilling utilisant la vitamine B12 radiomarquée, incorporée à un aliment tel que la chair de poisson (Aimone-Gastin et coll., 1997). Nous avons récemment montré dans une étude prospective sur 300 patients que ceci concernerait 0,5 % des patients âgés en milieu institutionnel. La pullulation microbienne intestinale, également appelée syndrome de l'anse borgne, la maladie coéliquie étendue, la maladie de Crohn à forme iléale prédominante, les séquelles de résection intestinale, certaines infections parasitaires sont d'autres causes classiques de carence en vitamine B12. L'insuffisance pancréatique exocrine et la cholestase sont des causes beaucoup plus rarement incriminées. Certains médicaments, tels que la cholestyramine, la colchicine, la metformine peuvent inhiber l'absorption de ce micronutrimet. L'exposition répétée au protoxyde d'azote peut provoquer une neuropathie chez des patients qui ont une carence en vitamine B12 à un stade infraclinique. En effet, le protoxyde d'azote inhibe la méthionine synthase et la méthylmalonyl-coenzyme-A-mutase qui sont les deux principales enzymes cibles de la vitamine B12. Chez le nourrisson, des cas de carence d'apport avec anémie mégaloblastique et neuropathie ont été rapportés en cas d'allaitement par des mères végétariennes strictes ou qui présentaient une carence en vitamine B12 par malabsorption (anémie de Biermer, pathologie ou résection du grêle) (Gallagher et Ehrenkrantz, 1995). Il existe également des affections héréditaires très rares affectant l'absorption de la vitamine B12 (maladie de Gräsbeck-Imerslund) (Guéant et coll., 1995), son transport sanguin (déficit congénital en transcobalamine) ou son métabolisme intracellulaire (Vidailhet et Touati, 1998). Les carences d'apport sont beaucoup plus rares. Une étude récente réalisée en Norvège a montré que des enfants soumis à un régime de type macrobiotique pouvaient présenter une carence infraclinique, avec élévation conjointe de l'homocystéine et de l'acide méthylmalonique. Cette étude a permis de montrer que ces marqueurs sont beaucoup plus sensibles que la macrocytose et permettent de distinguer, parmi les cas à concentration basse en vitamine B12, ceux qui correspondent à une carence tissulaire débutante (Schneede et coll., 1994).

## Vitamine C

La vitamine C a été le premier micronutriment dont la carence a été historiquement rendue responsable d'une maladie nutritionnelle, le scorbut. Si le scorbut était particulièrement fréquent chez les marins du XVI<sup>e</sup> et XVII<sup>e</sup>, il est devenu rarissime dans les pays développés, bien qu'une recrudescence soit actuellement signalée et considérée comme un signe de paupérisation d'une partie de la population. Cette recrudescence a été signalée, non seulement dans les pays anglo-saxons, mais également en France.

Il existe une grande variabilité du contenu en vitamine C des aliments. Les principales sources d'acide ascorbique sont les fruits, notamment les agrumes, le kiwi, les baies, mais aussi les légumes et les abats (Vanderslice et Higgs, 1991). La biodisponibilité diminue en fonction des apports, se traduisant par une augmentation de l'excrétion urinaire.

Les apports moyens journaliers sont estimés à environ 250 mg pour une alimentation variée comportant des fruits et des légumes. Des expériences de déplétion-réplétion ont été réalisées, associant successivement un régime sans vitamine C et un régime avec des doses croissantes de vitamine, en mesurant parallèlement les teneurs plasmatiques leucocytaires et urinaires (Jacob et coll., 1992 ; Levine et coll., 1996). Ces différentes études montrent que la dose de 100 mg de vitamine C constitue chez l'adulte l'apport seuil au-delà duquel l'excrétion urinaire augmente. La population française a des apports estimés entre 86 et 102 mg/j (enquête Val-de-Marne). L'étude SU.VI.MAX, réalisée plus récemment, indique des apports moyens de 95-99 mg/j.

C'est une vitamine largement utilisée dans la population, consommée sur autoprescription, sans prise en compte de sa possible toxicité à des doses dépassant 2 g/j (hyperoxalurie, diarrhée, uricosurie, augmentation des pertes sodées rénales). La teneur plasmatique de 10 mg/l est une concentration considérée comme correspondant à des apports satisfaisants en vitamine C (Jacob et coll., 1992). Elle est obtenue pour des apports de 80 mg chez la femme et 100 mg chez l'homme.

Les apports nutritionnels conseillés sont estimés entre 35 et 100 mg par jour chez l'enfant et l'adolescent, à 110 mg par jour chez la femme enceinte et allaitante, et à 120 mg chez le fumeur (Birlouez-Aragon, 1998).

La carence en vitamine C est classiquement rapportée au syndrome scorbutique avec baisse de l'état général, myalgies, arthralgies, œdèmes des membres, syndrome hémorragique, gingivite et parodontolyse. Il existe également une atteinte de la peau et des phanères, des troubles psychiatriques et, à un stade avancé, des complications infectieuses.

Les carences d'apport sont rares. Elles correspondent à une alimentation peu variée, trop riche en féculants et en aliments de conserve. Chez l'enfant, elles peuvent accompagner un état de malnutrition globale (Gallagher et Ehrenkrantz, 1995). Des cas sont régulièrement rapportés dans la population française, qui concernent aussi bien l'enfant que l'adulte d'âge normal et le sujet âgé. Ils se manifestent souvent par un syndrome hémorragique, notamment avec des hématomes des membres inférieurs, associé à une altération de l'état général. Le sujet âgé institutionnalisé reçoit souvent des apports insuffisants (Shorah et coll., 1979). L'alcoolisme est également une cause de carence subclinique en vitamine C.

Une altération du statut en vitamine C a été évoquée dans plusieurs pathologies telles que les maladies cardiovasculaires, la cataracte, les cancers des voies digestives supérieures et du rectum, et reste cependant controversée (Taylor et

coll., 1991 ; Shorah et coll., 1996). On attribue à la vitamine C de nombreuses actions de type pharmacologique sur l'immunité et le statut antioxydant plasmatique et cellulaire. Elle aurait ainsi un effet protecteur vis-à-vis des lipides et globalement un effet antistress. Elle a été proposée comme traitement adjuvant de l'acné, du psoriasis et de la métaplasie bronchique du fumeur, sans qu'une preuve formelle de son efficacité dans ces indications n'ait été validée.

## Vitamine A

C'est une vitamine qui a un métabolisme très complexe, mettant en jeu plusieurs protéines de transport extra-cellulaire et intra-cellulaire. Son mode d'action est de type pseudo-hormonal puisque, sous la forme acide rétinoïque, elle est le ligand de deux familles de récepteurs nucléaires transrégulateurs de l'expression des gènes. Elle est apportée dans les aliments d'origine animale sous forme d'ester de rétinyl et est particulièrement abondante dans le foie de poisson, mais également dans les abats, les produits laitiers, les œufs. Elle peut être fournie par les végétaux sous forme de provitamine A de type caroténoïde, dont la plus fréquente est le  $\beta$ -carotène. Une concentration de 1  $\mu\text{g}$  de rétinol équivaut ainsi à 6  $\mu\text{g}$  de  $\beta$ -carotène (Brown et coll., 1989). On utilise le terme d'équivalent rétinol pour évaluer les apports en vitamine A à partir de caroténoïdes.

La biodisponibilité est comprise entre 20 % et 60 % selon la nature de la ration alimentaire (Ong, 1993). L'absorption est similaire à celle des macronutriments lipidiques et nécessite une solubilisation micellaire et une hydrolyse des rétinyls esters par des hydrolases pancréatiques. Il existe un cycle entéro-hépatique de la vitamine A. Celle-ci est distribuée dans l'organisme par les chylomicrons, stockée dans le foie, (cellules de Ito) et redistribuée sous forme de rétinol combinée à une protéine, la RBP (Blomhoff, 1994). Au niveau cellulaire, la vitamine A agit sous forme d'acide rétinoïque, en s'associant à deux formes de récepteurs nucléaires, les RAR et les RXR, sous forme de rétinol qui est un médiateur des mécanismes transductionnels de la vision au niveau rétinien, ou sous forme de rétinyl-phosphate pour l'incorporation du mannose dans des glycoprotéines. Les effets de la vitamine A sont ainsi ubiquitaires : action sur la vision, glycosylation des protéines et mécanismes de différenciation cellulaire.

Les apports nutritionnels conseillés sont de 400 à 800 équivalents rétinol chez l'enfant, 1 000 équivalents rétinol chez l'homme adulte, 800 équivalents rétinol chez la femme adulte, 1 000 et 1 300 équivalents rétinol respectivement chez la femme enceinte et la femme allaitante (Potier de Courcy, 1994 ; Van den Berg, 1996). Il faut signaler qu'un excès d'apport en vitamine A est toxique et qu'il existe une teneur anormalement élevée dans certains abats (foie de veau).

La carence se traduit par des troubles de la vision (héméralopie et lésions oculaires telles que xérophtalmie et kératite) (Fuchs et coll., 1994), un retard de croissance, une altération des fonctions immunitaires avec infections bronchiques à répétition et atteintes cutanées (Semba, 1994 ; Wiedermann et coll., 1996). L'évaluation du statut vitaminiq ue repose sur le dosage du rétinol plasmatique et des esters du rétinol par CLHP. La recherche d'une malabsorption en vitamine A peut se faire par test de charge.

Les carences en vitamine A, en dehors des carences de l'enfant malnutri des pays en développement, sont principalement dues à un syndrome de malabsorption, notamment secondaire à une pancréatite chronique alcoolique, mucoviscidose, maladie cœliaque, maladie de Crohn (Olson, 1994). Une maldigestion des lipides doit systématiquement faire rechercher une carence en vitamine A. L'importance du foie dans le stockage et le métabolisme de la vitamine A explique la fréquence de carences subcliniques en vitamine A chez l'alcoolique et, plus généralement, dans les cas d'hépatopathie chronique (Got et coll., 1995). Ainsi ont été rapportés récemment trois cas de xérophtalmie par carence en vitamine A dans un contexte de cirrhose biliaire primitive, de cholangite sclérosante et de résection du grêle (Waton et coll., 1995). La carence d'apport est essentiellement un problème rencontré dans les pays en voie de développement où elle est majorée par l'existence d'une malnutrition protéino-énergétique (Flores et coll., 1984 ; Filteau et coll., 1994). Elle ne se pose pas, en pratique, en France.

## Vitamine D

La vitamine D doit être considérée à la fois comme une vitamine et comme une hormone, dans la mesure où, d'une part, les capacités de synthèse de l'organisme peuvent subvenir aux besoins, en fonction de l'ensoleillement, et, d'autre part, son mode d'action est celui d'une hormone de type stéroïde (Fraser, 1995). Comme la vitamine A, la vitamine D a un métabolisme digestif similaire à celui des macronutriments lipidiques. Le calciférol est formé sous la peau par photoconversion d'un précurseur, le 7-déhydrocholestérol, grâce à l'action d'ultraviolets ayant une longueur d'onde de 300 à 302 nanomètres. Les besoins journaliers varient donc en fonction du taux d'ensoleillement et de l'exposition au soleil. L'ergocalciférol est, quant à lui, un précurseur exclusivement apporté par l'alimentation d'origine végétale. La vitamine D, dans sa forme active, le 1,25-dihydroxycholécalficérol est un facteur essentiel de l'homéostasie du calcium dans l'organisme. Son rôle dans la croissance et la différenciation du tissu osseux, puis dans la différenciation cellulaire, en général, a été mis en évidence secondairement. En effet, ce n'est qu'au décours des deux dernières décennies qu'a été élucidée son action ubiquitaire comme ligand de récepteurs nucléaires transrégulateurs. Ainsi, même si la carence en vitamine D se manifeste essentiellement par des troubles de minéralisation du tissu osseux (Holick, 1994 ; Ghalaut et coll., 1995 ; Genever et Dickson, 1996), les autres

conséquences de cette carence, notamment sur la différenciation cellulaire et sur le statut immunitaire, restent mal précisées. Il est en effet difficile de comprendre comment une vitamine, dont le métabolisme (en particulier les réactions d'hydroxylation, qui convertissent successivement le cholécalciférol en 25-hydroxy- au niveau du foie puis en 1,25-dihydroxycholécalciférol (1,25 (OH)<sub>2</sub> D) au niveau du rein) est étroitement interdépendant de celui du calcium, peut parallèlement avoir des effets ubiquitaires, y compris sur des populations cellulaires qui ne participent pas à l'homéostasie du calcium. Un apport insuffisant en calcium peut provoquer une diminution de 25 (OH) D, à la fois par augmentation du taux de conversion en 1,25 (OH)<sub>2</sub> D mais aussi probablement par un effet inhibiteur encore mal connu de la forme 1,25 (OH)<sub>2</sub> D sur la 25-hydroxylation hépatique. Ceci illustre les liens existants entre apports en calcium et besoins en vitamine D. La vitamine D, en se liant au récepteur nucléaire, a un effet inducteur sur le gène de l'ostéocalcine, sur l'expression des protéines de transport du calcium. Elle diminue la prolifération cellulaire et contribue à la différenciation de plusieurs populations de cellules, dont les lymphocytes, les kératinocytes, les cellules myocardiques et intimes. Ainsi, un analogue structural, le 1,25-dihydroxy, 22-ène, 24-cyclopropyl-cholécalciférol a une action limitée sur l'homéostasie du calcium mais efficace sur la prolifération des kératinocytes et est utilisé dans le traitement local du psoriasis.

Les apports nutritionnels recommandés chez l'adulte sont de 5 µg (200 unités aux États-Unis), cependant ces apports sont probablement insuffisants dans des zones à faible ensoleillement. En France, ils sont estimés à 10 µg chez l'adulte et chez l'enfant, à 20 et 15 µg respectivement chez la femme enceinte et allaitante, et à 12 µg chez la personne âgée valide. Les besoins sont probablement variables selon le profil génétique (Mariott, 1997). Ainsi, il existe un polymorphisme génétique du récepteur de la 1,25 (OH)<sub>2</sub> D et un variant allélique de ce polymorphisme est corrélé avec la déminéralisation du sujet âgé (Fraser, 1995).

La nette diminution de la prévalence de la carence en vitamine D est attribuée à la supplémentation et à l'ajout de vitamine D dans les laits pour nourrissons. Elle serait due aussi et surtout à l'augmentation de l'exposition au soleil et à des apports accrus en calcium dans l'alimentation des enfants, dans les pays développés.

La carence d'apport en vitamine D se traduit classiquement par le rachitisme chez l'enfant et l'ostéomalacie chez l'adulte. En outre, certains auteurs ont émis l'hypothèse qu'un déficit en vitamine D pouvait favoriser le cancer et les maladies cardiovasculaires. Malgré une supplémentation systématique dans les premiers mois de la vie, une enquête épidémiologique réalisée dans plusieurs centres en France a montré que le rachitisme persiste et peut être partiellement expliqué par une mauvaise compliance à la supplémentation (Michel Vidailhet, communication personnelle). D'autres facteurs y contri-

buent dans la mesure où les besoins sont étroitement dépendants de l'ensoleillement, mais aussi des apports en calcium. Ceci justifie une prise en charge attentive de la part du médecin. Chez l'adulte, la carence en vitamine D, responsable d'une ostéomalacie se traduit par une déminéralisation du tissu osseux, à distinguer de l'ostéoporose où la minéralisation est normale et où il y a une réduction de la masse osseuse. Là encore, les besoins dépendent des apports en calcium, souvent insuffisants chez le sujet âgé en institution. Un statut déficitaire en vitamine D chez le sujet âgé peut se traduire initialement par une faiblesse musculaire, puis par un hyperparathyroïdisme secondaire (Chapuy et coll., 1996) et par une prédisposition à des fractures, notamment la fracture du col du fémur (Chapuy et coll., 1994). La prévalence élevée des carences relatives en vitamine D chez le sujet âgé justifie la prescription d'une supplémentation en période automnale et hivernale (Chapuy et coll., 1992). En dehors des carences d'apport, les carences par augmentation des pertes sont rencontrées dans la pathologie digestive où il existe une malabsorption des lipides, telles la pancréatite chronique, la mucoviscidose ou la maladie cœliaque.

Cependant, il existe souvent dans ce contexte une malabsorption du calcium qui majore le syndrome carenciel par une augmentation relative des besoins en vitamine D et qui illustre le contexte souvent plurifactoriel de cette carence. Enfin, il existe de rares cas héréditaires de rachitisme vitamino-résistant, le plus souvent en rapport avec un défaut d'hydroxylation de la provitamine ou d'affinité pour le récepteur nucléaire.

L'excès d'une supplémentation en vitamine D peut être toxique, avec notamment hypercalcémie, calcifications métastatiques disséminées dans les tissus (Adams et Lee, 1997). La toxicité de la vitamine D est généralement attribuée à la forme 25 (OH) D, dont la concentration plasmatique est très supérieure à la forme 1,25 (OH)<sub>2</sub> D dans les cas d'hypervitaminémie. La 25 (OH) D peut minimiser les effets de la forme dihydroxylée mais aussi déplacer sa liaison avec la D *binding protein* plasmatique et augmenter ainsi sa captation tissulaire. La fréquence et la toxicité des hypervitaminoses D seraient sous-estimées dans les pays développés, et certains auteurs, à partir de données obtenues chez l'animal, suggèrent un rôle de l'hypervitaminose dans la genèse de maladies cardiovasculaires (Mariott, 1997).

## Vitamine E

La vitamine E est uniquement synthétisée par les plantes et la source alimentaire principale est représentée par les huiles et les margarines végétales (dérivés de soja, germe de blé, arachide, maïs, noix...).

La vitamine E regroupe un ensemble de composés chimiques apparentés caractérisés par un noyau chromane et une chaîne latérale phytyle saturée (tocophérols) ou insaturée (tocotriénols). L' $\alpha$ -tocophérol présente l'activité

vitaminique la plus élevée (Bourre et Clement, 1996). L'hétérogénéité chimique et l'activité biologique de ces différents composés, ainsi que la grande variabilité de leur concentration dans les aliments en fonction des conditions de récolte (teneur optimale en été), stockage et préparation, rend l'estimation des apports moyens journaliers difficile. Ces derniers sont estimés à environ 8 mg/j chez l'adulte, dans l'alimentation des pays occidentaux. Les besoins sont fonction de la ration alimentaire, et notamment des apports en acides gras poly-insaturés et en sélénium. En effet, la vitamine E est le principal antioxydant liposoluble de l'organisme et inhibe la peroxydation des acides gras insaturés, à la fois au niveau membranaire et lipoprotéique. La forme oxydée tocophéroxyle peut être régénérée en présence de réducteurs hydrophiles tels que le glutathion réduit et l'acide ascorbique. Environ 1 mg de vitamine E est nécessaire pour 0,6 g d'acides gras poly-insaturés ingérés. La teneur des graines animales et des dérivés du lait en tocophérol et tocotriénols est directement fonction de la ration alimentaire des animaux d'élevage. Le lait de vache est six fois moins riche en vitamine E que le lait de femme.

Les apports nutritionnels conseillés sont de 3 mg pour le nourrisson et de 12 mg pour l'adulte. Les apports sont donc fréquemment inférieurs aux recommandations.

L'évaluation du statut en vitamine E repose sur le dosage plasmatique de l' $\alpha$ -tocophérol. Une autre méthode consiste à tester l'hémolyse par détermination de la libération de l'hémoglobine en présence d'eau oxygénée. Ce test n'est pas spécifique de la carence en vitamine E. L' $\alpha$ -tocophérol peut également être dosé dans les globules rouges ou sur des prélèvements biopsiques de tissu adipeux (Fotouhi et coll., 1996).

Le transport et l'absorption digestive de la vitamine E suivent les mêmes étapes que pour les autres lipides. L'hydrolyse des esters par une estérase de la muqueuse duodéno-jéjunale permet l'absorption du tocophérol libre par diffusion passive. Le tocophérol est ensuite transporté par les chylomicrons et recyclé, au niveau hépatique, dans les LDL puis échangé avec des autres lipoparticules. L'internalisation cellulaire intervient soit par hydrolyse des esters par la lipoprotéine lipase soit par endocytose des lipoparticules. Le transport intracellulaire fait intervenir des tocophérols-binding proteins, notamment au niveau du foie. Une compétition avec les rétinoïdes existerait pour la liaison avec certaines « *retinoïd-binding* » protéines.

La carence en vitamine E peut être très polymorphe et se traduit par des signes neuromusculaires (hyporéflexie, diminution de la sensibilité proprioceptive, parésie, parfois myopathie, troubles de la motricité digestive et oculaire), hématologiques (anémie hémolytique), immunitaires et parfois ophtalmologiques (rétinopathie pigmentaire) (Werninghaus et coll., 1994 ; Amarakoon et coll., 1995).

Les carences d'apports sont rarissimes dans les pays occidentaux. L'augmentation des besoins chez le prématuré et le nouveau-né constitue une situation à

risque. En fait, les carences sont principalement le résultat d'un syndrome de malabsorption des lipides, dont les étiologies sont classiquement la maladie cœliaque, la mucoviscidose, les abétalipoprotéïnémies et les cholestases primitives chez l'enfant, l'alcoolisme, la cirrhose, l'insuffisance pancréatique, la cholestase, la maladie de Crohn et les résections du grêle chez l'adulte. Des cas de carence idiopathique familiale ont été rapportés, correspondant à un défaut d'incorporation dans les VLDL naissantes qui mettrait en cause le gène de la protéine de transfert hépatique. Des états subcarenciels par insuffisance relative d'apport sont rapportés dans différentes études de cohorte. Le tocophérol est considéré comme non toxique, à dose relativement élevée. Des études de supplémentation à 100 mg/j n'ont pas montré d'effet iatrogène. Il existe cependant une synergie entre vitamine K et vitamine E contre-indiquant sa prescription chez des patients sous anticoagulants. L'intérêt de la vitamine E dans la prévention des maladies cardiovasculaires est évoqué depuis deux décennies.

## Supplémentation vitaminique

Une supplémentation vitaminique est parfois nécessaire au cours de la grossesse et en prévention des maladies cardiovasculaires.

### Vitamines et grossesse

Généralement, les apports nutritionnels conseillés sont augmentés au cours de la grossesse, ceci par augmentation des besoins (Jovanovic-Peterson et coll., 1996 ; Jardel, 1998). Un déséquilibre besoins/apports peut générer une situation à risque de carence pour certaines vitamines. Le fait que, dans la population, les vitamines soient considérées comme inoffensives et bénéfiques peut amener à des comportements d'autosupplémentation et il convient d'alerter les médecins et les femmes enceintes sur le risque tératogène potentiel d'une supplémentation excessive (Czeizel et coll., 1996). La carence en vitamine A est beaucoup plus rare que la supplémentation abusive. Les deux situations ont paradoxalement les mêmes conséquences : malformations fœtales (anencéphalie, spina bifida, ano- ou microphthalmie, malformations ventriculaires...) (Shaw et coll., 1996). La supplémentation en vitamine A est rarement justifiée, surtout sans avis médical éclairé et sans suivi biologique.

Les effets tératogènes des supplémentations en riboflavine, en pyridoxine et en vitamine B12 sont limités. Les apports moyens journaliers sont suffisants pour couvrir l'augmentation des besoins en dehors d'un contexte pathologique particulier.

La carence en acide folique semble relativement fréquente au cours de la grossesse et résulte d'une augmentation des besoins non couverts par l'alimentation. Selon Herbert, elle concernerait entre 25 % et 50 % des femmes

enceintes, elle est souvent subclinique mais également peut se traduire par une anémie macrocytaire, voire mégalo-blastique (Herbert, 1990). Plusieurs facteurs favorisent la carence : régime hypocalorique et déséquilibré (non-consommation de produits frais), antécédents de contraception prolongée et d'hyperménorrhée, multiparité, prise d'antiépileptiques. Des études sont actuellement en cours sur l'implication possible de mutations d'enzymes telles que la méthylène-tétrahydrofolate réductase et la méthionine synthase. Les malformations liées à cette carence sont les anomalies de fermeture du tube neural (encéphalocèle, anencéphalie, hydrocéphalie, spina bifida), malformations cranio-faciales (notamment labio-palatines). La supplémentation est recommandée en cas d'antécédents de grossesse pathologique avec anomalie de fermeture du tube neural et doit alors débiter avant la conception. Elle est également recommandée dans les situations à risque évoquées précédemment, et notamment en cours de grossesse gémellaire. La supplémentation excessive ne semble pas tératogène mais augmente le poids du nouveau-né et peut allonger la durée de la grossesse.

Une carence en vitamine D peut survenir au cours de la grossesse, notamment si le dernier trimestre est en période hivernale et s'accompagne d'hypocalcémie avec rachitisme néonatal et accidents néonataux hypocalcémiques. La supplémentation ne peut se faire cependant qu'après un bilan biologique approprié. La supplémentation excessive est en effet pathogène pour le fœtus, avec notamment anomalies du squelette et néphrocalcinose.

Les vitamines B5 (acide panthothénique), B8 (biotine), E, ne sont pas tératogènes et ne justifient pas une supplémentation. La vitamine B1, la vitamine C, la vitamine K et la vitamine PP peuvent faire l'objet de supplémentation quand le contexte clinique le justifie.

### **Vitamines et maladies cardiovasculaires**

L'athérogenèse est un processus complexe mettant en jeu des facteurs, pariétaux ou non aboutissant à la constitution puis à la rupture de la plaque athéromateuse. L'oxydation des lipides ainsi que la concentration plasmatique d'homocystéine sont deux facteurs favorisant ce processus, directement ou indirectement liés au statut vitaminique. La littérature sur le sujet est considérable. Elle correspond le plus souvent à l'exploitation de modèles animaux ou à des études de cohortes et ce n'est qu'assez récemment qu'ont été mises en œuvre des études de supplémentation à grande échelle.

### **Vitamines antioxydantes et maladies cardiovasculaires**

Les vitamines antioxydantes, tocophérols et caroténoïdes sont supposées protéger les lipides membranaires et les lipoparticules vis-à-vis du processus oxydatif (Herberth et coll., 1998). L'acide ascorbique participerait aussi à cette protection en permettant la régénération des tocophérols à partir des tocophéroxyles (Thomas et coll., 1995). Une étude réalisée il y a cinq ans à

Édimbourg (EAS) a mis en évidence une relation entre consommation de vitamine E et pression systolique au bras et à la cheville (Donnan et coll., 1993). La même relation a été trouvée pour la vitamine C, uniquement chez les fumeurs. Une étude française (EVA) a montré une relation inverse entre l'épaisseur intima media des carotides et la concentration érythrocytaire en tocophérol (Bonithon-Kopp et coll., 1997). De plus, la supplémentation en vitamine E à 100 UI/j, au contraire de celle en vitamine C, montrait un taux de progression de l'épaisseur intima-média moindre que dans le groupe placebo. Plusieurs études de cohortes à grande échelle ont été réalisées sur statut vitaminiq ue et morbidité et mortalité cardiovasculaires. Ainsi, l'étude MONICA fait état d'une relation inverse entre concentration plasmatique d' $\alpha$ -tocophérol et mortalité cardiovasculaire (Gey et coll., 1991 ; Gey, 1995). Une corrélation inverse a également été montrée avec le degré de sténose coronaire (Regnström et coll., 1996).

D'autres études ont montré une corrélation positive entre les apports en vitamine E et la morbidité et la mortalité (Jha et coll., 1995). Des résultats voisins ont été rapportés avec les caroténoïdes et les flavonoïdes (Jha et coll., 1995 ; Keli et coll., 1996). Cependant, des résultats contradictoires ont été obtenus dans des études cas-témoins réalisées au sein de cohortes, en mesurant respectivement l' $\alpha$ -tocophérol et le rétinol plasmatiques. En revanche, il n'y a pas de données objectives montrant une réduction de morbidité ou de mortalité liée aux apports en vitamine C, lorsque ceux-ci sont pris en compte indépendamment des apports en vitamine E (Enstrom et coll., 1986 ; Rimm et coll., 1993 ; Gey et coll., 1993).

L'existence d'une corrélation ne permet pas d'établir un lien de causalité. Les essais randomisés de prévention ont donc tenté d'estimer l'efficacité possible d'une supplémentation. Ces essais ont été réalisés avec des doses et des durées très variables, sur des populations très différentes. La plupart d'entre elles ont montré un effet bénéfique de la vitamine E, soit à des doses modérées (50 mg/j) (Rapola et coll., 1996) ou importantes (400-800 mg/j) (Stephens et coll., 1996). Une réduction du risque de resténose a également été rapportée, après traitement en double aveugle avec 1 200 mg/j de vitamine E pendant quatre mois. La supplémentation en caroténoïdes n'a pas montré d'effet bénéfique (DeMaio et coll., 1992). Une augmentation de la mortalité a même été rapportée dans l'étude CARET (Omenn et coll., 1996). Enfin, des effets délétères par augmentation du risque de carence ont été observés chez des patients fumeurs supplémentés en caroténoïdes et vitamine E à des doses supraphysiologiques (Rapola et coll., 1996). Au total, il y a donc discordance entre les premières études de cohortes et les études randomisées de supplémentation. Ceci pose objectivement le problème de l'incidence du statut en vitamines antioxydantes dans les maladies cardiovasculaires et demande à reconsidérer les doses utilisées dans la supplémentation, ainsi que la durée des études pour apporter une conclusion définitive (Herbeth et coll., 1998).

L'étude SU.VI.MAX présente un intérêt certain car elle prend en compte ces deux données.

### **Homocystéine, coenzymes B et maladies cardiovasculaires**

L'association entre homocystinurie congénitale et complications vasculaires est connue depuis longtemps (McCully, 1969 ; Uhlemann et coll., 1976). Ce n'est qu'au début des années quatre-vingt qu'une association entre maladies cardiovasculaires de l'adulte et homocystéinémie a été évoquée. Ainsi, après test de charge en méthionine, une augmentation de l'homocystéinémie est observée chez 42 % de patients ayant une maladie cérébrovasculaire et chez 30 % des insuffisants coronariens (Clarke et coll., 1991). Le risque relatif de survenue d'une coronopathie chez les sujets hyperhomocystéinémiques est de 3,2 chez les personnes de plus de 65 ans et de 2,9 chez les personnes d'âge inférieur (Robinson et coll., 1995). Il existe également un lien avec l'hypertension et une potentialisation du risque lorsque l'hyperhomocystéinémie est prise en compte conjointement avec les marqueurs lipidiques (Malinow et coll., 1989). La concentration de l'homocystéine plasmatique dépend de facteurs nutritionnels et génétiques. Sur le plan nutritionnel, une carence en coenzymes B (folates, B12, B6) peut entraîner une augmentation de l'homocystéine (Selhub et coll., 1993). Chacun de ces coenzymes est inversement corrélé avec l'homocystéine et le risque de maladie cardiovasculaire. Il existe cependant, dans plusieurs études, une implication évidente des folates (Jacobsen et coll., 1994 ; Wu et coll., 1994). Sur le plan génétique, les gènes de la cystathionine  $\beta$ -synthase, de la méthyltétrahydrofolate réductase (MTHFR) et de la méthionine synthase sont potentiellement impliqués. Un polymorphisme de la MTHFR, en position 677 (substitution d'une alanine par une valine) pourrait jouer un rôle, dans la mesure où il se traduit par une réduction de l'activité enzymatique (Kang et coll., 1993). Dans une étude récente sur 18 000 personnes, 73 % des cas présentant une homocystéinémie élevée ( $> 40 \mu\text{mol/l}$ ) étaient porteurs de l'homozygotie défavorable (Guttormsen et coll., 1996). Ces cas représentaient 0,4 % de la population étudiée. De plus, ce polymorphisme était étroitement corrélé avec les résultats des tests de charge en méthionine et concernait 16 % à 17 % des patients insuffisants coronariens.

Plusieurs essais thérapeutiques ont été mis en œuvre, basés, pour la plupart, sur une supplémentation en coenzymes B. Les protocoles les plus efficaces comportaient une supplémentation en folates, seuls ou associés à la vitamine B12 et la vitamine B6. Les groupes de patients testés étaient des insuffisants rénaux, des patients transplantés rénaux, des patients atteints de coronaropathies (Brattström et coll., 1990, 1994 ; Stabler et coll., 1988 ; Ubbink et coll., 1993). Une étude de supplémentation systématique par apport de folates dans des produits alimentaires dérivés de céréales, type « *corn flakes* » a également été récemment publiée (Malinow et coll., 1998). Toutes ces études montrent l'efficacité des folates pour diminuer le taux d'homocystéine plasmatique mais

il faudra encore attendre plusieurs années pour évaluer leur intérêt réel dans la prévention des maladies cardiovasculaires.

### **Vitamines et cancers**

Au stade de maladie déclarée, le patient cancéreux présente souvent une dénutrition globale qui affecte également les micronutriments, dont la vitamine A et la vitamine E. Il semble cependant exister une baisse de la concentration plasmatique en vitamines antioxydantes, y compris dans les cas récemment diagnostiqués et ne présentant pas de dénutrition (Malvy et coll., 1993). Sur le plan physiopathologique, la vitamine A et la vitamine D agissent sur la prolifération et la différenciation cellulaires. Cependant, il est difficile de conclure au rôle favorisant d'une carence sur la carcinogénèse. Les modèles animaux de carence en vitamine A augmentent l'effet carcinogène et la supplémentation à haute dose la diminue. Certains rétinoïdes de synthèse inhibent l'expression de l'ornithine décarboxylase, enzyme clé du métabolisme des polyamines. Les rétinoïdes sont aussi efficaces pour faire régresser des carcinomes murins, cutanés, mammaires et vésicaux (Bollag, 1983 ; Cope et coll., 1986). Les  $\beta$ -carotènes et la vitamine E auraient également un effet favorable, en piégeant les radicaux libres. Le stress oxydant agit théoriquement à tous les stades de la cancérogenèse et, inversement, les cellules cancéreuses produisent des radicaux libres en grandes quantités.

Les rétinoïdes, dans les essais cliniques randomisés, se sont avérés efficaces sur les dysplasies cervicales, les adénomes de la prostate, les cancers épidermoïdes de la sphère ORL, les leucoplasies de la muqueuse buccale. Les  $\beta$ -carotènes apportés par une alimentation riche en fruits et légumes pourraient réduire le risque de cancer du poumon chez le non-fumeur. Des résultats contradictoires ont été rapportés chez les fumeurs (Van Poppel et coll., 1992a, b). Les  $\beta$ -carotènes pourraient également réduire les lésions préneoplasiques de la muqueuse buccale. Il convient cependant d'être prudent sur les effets préventifs possibles d'une supplémentation en vitamines antioxydantes. En effet, deux études, l'une réalisée sur 29 000 fumeurs et l'autre sur 18 400 fumeurs ou travailleurs exposés à l'amiante, ont montré une augmentation des cancers du poumon, de la prostate et de l'estomac dans les groupes recevant du  $\beta$ -carotène (*The Alpha-tocopherol  $\beta$  Carotene Cancer Prevention Group*, 1994 ; Albanes et coll., 1995 ; Omenn et coll., 1996).

Enfin, une étude contradictoire, réalisée sur 22 000 médecins, n'a montré aucun effet bénéfique du  $\beta$ -carotène prescrit en alternance avec l'aspirine (Hennekens et coll., 1996). La supplémentation en vitamine E diminuerait la fréquence des cancers de la prostate et du colo-rectum et augmenterait la fréquence des cancers de l'estomac (Albanes et coll., 1995). La vitamine C diminue l'excrétion fécale des mutagènes, réduit le nombre de polypes du côlon et la prolifération des cellules des cryptes de la muqueuse colique (Cahill et coll., 1993). L'association des vitamines avec le zinc et/ou le sélénium s'est avérée efficace dans une étude de supplémentation réalisée dans

une région de la Chine où existe une mortalité élevée par cancers gastrique et œsophagien. Les doses en vitamine E et  $\beta$ -carotène étaient plus faibles que celles utilisées dans les séries publiées chez les fumeurs (Blot et coll., 1993). Au total, ces données contradictoires montrent la prudence avec laquelle il faut considérer les suppléments vitaminiques à visée préventive, notamment en cancérologie, pour ce qui concerne les doses administrées qui doivent être aussi proches que possible des apports nutritionnels conseillés, et les groupes de patients concernés, dans la mesure où l'absence d'un déficit relatif du statut en micronutriment ne justifie pas de mettre en œuvre une supplémentation. L'étude SU.VI.MAX, actuellement en cours en France, permettra de parfaire la réponse sur l'intérêt des suppléments en micronutriments antioxydants dans la prévention des cancers.

Les coenzymes B (folates, vitamine B12 et vitamine B6) sont impliqués dans le métabolisme de la méthionine, qui est le précurseur de la S-adénosylméthionine, substrat de la CpG-ADN méthyltransférase. La méthylation de l'ADN est essentielle dans la régulation de l'expression du génome. Elle intervient dans les processus de différenciation cellulaire. Une hypométhylation des proto-oncogènes *c-myc*, *c-fos* et *c-Hras* a été rapportée, sur des modèles animaux porteurs de carcinomes, ainsi que dans les tumeurs hépatiques, les leucémies et les cancers du côlon. Un déficit en S-adénosylméthionine peut également favoriser la conversion C -- > V ou C -- > T en induisant l'activité désaminase de l'ADN-méthyltransférase (Poirier et Beland, 1992).

Sur le plan nutritionnel, il a été montré, chez le rongeur, qu'un régime déficient en donneurs de méthyle (méthionine, choline, bétaïne) augmentait l'expression de *c-myc* et *c-fos* et la fréquence de survenue d'hépatocarcinomes. Sur le plan clinique, il y a peu de données permettant de supposer qu'un déficit en folates ou B12 puisse s'accompagner d'un risque de survenue de cancer. Le tabagisme entraîne une diminution des folates et de la vitamine B12, parallèlement à une augmentation des cellules micronucléées de la muqueuse buccale. Les patients qui présentent une carence en vitamine B12 par anémie de Biermer ont un risque accru de cancers gastriques et oropharyngés. Les études de biologie cellulaire et moléculaire sur l'expression de la méthionine synthase et la carence cellulaire provoquée en coenzymes B12, ainsi que les études de supplémentation en folates actuellement réalisées aux États-Unis, devraient permettre de préciser l'implication possible des cobalamines et des folates dans le risque de survenue de cancers.

**En conclusion**, les carences avérées en micronutriments sont relativement rares en France, en dehors de contextes pathologiques établis. La définition de nouveaux marqueurs d'évaluation du statut en micronutriments, ainsi que les études épidémiologiques en cours, devraient permettre de mieux évaluer les besoins et de parfaire l'identification de groupes à risque. La supplémentation

systématique de la population n'a pas d'intérêt, et il conviendrait également de sensibiliser l'opinion aux possibles effets iatrogènes d'une autosupplémentation abusive.

## BIBLIOGRAPHIE

ADAMS JS, LEE G. Gains in bone mineral density with resolution of vitamin D intoxication. *Ann Intern Med* 1997, **127** : 203-206

ADAMSON J. Erythropoietin, iron metabolism and red blood cell production. *Semi Hematol* 1996, **33** : 5-9

AIMONE-GASTIN I, PIERSON H, JEANDEL C, BRONOWICKI JP, PLENAT F et coll. Prospective evaluation of protein bound vitamin B12 (cobalamin) malabsorption in the elderly using trout flesh labelled in vivo with <sup>57</sup>Co-cobalamin. *Gut* 1997, **41** : 475-479

AIMONE-GASTIN I, GUEANT JL, ILARDO C, NICOLAS JP. Vitamine B12. In : Le statut vitaminique. LE MOEL G, SAVEROT-DAUVERGNE A, GOUSSON T, GUEANT JL, Eds. Paris : EM inter 1998, 303-316

AL-GHAMDI SMG, CAMERON EC, SUTTON RAL. Magnesium deficiency : pathophysiologic and clinical overview. *Am J Kidney Dis* 1994, **24** : 737-752

ALBANES D, NEINONEN OP, HUTTUNEN JK, TAYLOR PR, VIRTAMO J et coll. Effects on alpha-tocopherol and beta-carotene supplements on cancer incidence in the alpha-tocopherol beta-carotene cancer prevention study. *Am J Clin Nutr* 1995, **62** : 1427S-1430S

ALPERS DH, SENSON WF, BIER DM. Manual of nutritional therapeutics. ALPERS DH, STENSON WF, BIER DM, Boston : Little, Brown and Company 1995, 1-613

AMARAKOON AMT, TAPPIA PS, GRIMBLE RF. Endotoxin induced production of interleukin-6 is enhanced by vitamin E deficiency and reduced by black tea extract. *Inflamm Res* 1995, **44** : 301-305

ARAS NK, OLMEZ I. Human exposure to trace elements through diet. *Nutrition* 1995, **11** : 506-511

BADMAEV V, MAJEED M, PASSWATER RA. Selenium : a quest for better understanding. *Alternative Therapies* 1996, **2** : 59-67

BATES CJ. Human requirements for riboflavin. *Am J Clin Nutr* 1987, **46** : 122-123

BIRLOUEZ-ARAGON I. Apports nutritionnels conseillés en vitamine C. CNERNA, 1998, à paraître

BLOMHOFF R. Transport and metabolism of vitamin A. *Nutr Rev* 1994, **52** : S13-S23

BLOT W, LI JY, TAYLOR P, GUO W, DAWSEY S, WANG G et coll. 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* 1993, **85** : 1483-1492

BOLLAG W. Vitamin A and retinoids ; from nutrients to pharmacotherapy in dermatology and oncology. *Acta Dermatol* 1983, **74** : 163

BONITHON-KOPP C, COUDRAY C, BERR C, TOUBOUL PJ, FEVE JM et coll. 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* 1997, **65** : 211-227

BONKOVSKI HL, PONKA P, BACON BR, DRYSDALE J, GRACE ND, TAVILL AS. An update on iron metabolism : summary of the fifth international conference on disorders of iron metabolism. *Hepatology* 1996, **24** : 718-729

BOURRE JM, CLEMENT M. La vitamine E : comparaison de l'efficacité d'incorporation de l'alpha-tocophérol dans les organes par rapport au gamma-tocophérol. *Bull Acad Natl Med* 1996, **180** : 813-829

BRATTSTRÖM L, ISRAELSSON B, NORRVING B, BERGQVIST D, THORNE J et coll. Impaired homocysteine metabolism in early-onset cerebral and peripheral occlusive arterial disease : effects of pyridoxine and folic acid treatment. *Atherosclerosis* 1990, **81** : 51-60

BRATTSTRÖM L, LINDGREN A, ISRAELSSON B, HULTBERG B. Homocysteine and cysteine : determinants of plasma levels in middle-aged and elderly subjects. *J Intern Med* 1994, **236** : 633-641

BROWN ED, ROSE A, CRAFT N, SEIDEL KE, SMITH JC. Concentrations of carotenoids. Retinol, and tocopherol in plasma in response to ingestion of a meal. *Clin Chem* 1989, **35** : 310-312

BRUNER AB, JOFFE A, DUGGAN AK, CASELLA JE, BRANDT J. Randomised study of cognitive effects of iron supplementation in non-anaemic iron-deficient adolescent girls. *Lancet* 1996, **348** : 992-996

BURK RF. Clinical effects of selenium deficiency. In : Essential and toxic trace elements in human health and disease 1993, 181-190

CAHILL RJ, O'SULLIVAN KR, MATHIAS PM, BEATTIE S, HAMILTON H, O'MORAIN C. Effects of vitamin antioxidant supplementation on cell kinetics of patients with adenomatous polyps. *Gut* 1993, **34** : 963-967

CHAPUY MC, ARLOT ME, DUBCEUF F, BRUN J, CROUZET B et coll. Vitamin D, and calcium to prevent hip fractures in elderly women. *N Engl J Med* 1992, **327** : 1637-1642

CHAPUY MC, ARLOT ME, DELMAS PD, MEUNIER PJ. Effect of calcium and cholecalciferol treatment for three years on hip fractures in elderly women. *Br Med J* 1994, **308** : 1081-1082

CHAPUY MC, SCHOTT AM, GARNERO P, HANS D, DELMAS PD et coll. Healthy elderly french women living at home have secondary hyperparathyroidism and high bone turnover in winter. *J Clin Endocrinol Metab* 1996, **81** : 1129-1133

CHEVALIER P. Zinc and duration of treatment of severe malnutrition. *Lancet* 1995, **345** : 1046-1047

CLARKE R, DALY L, ROBINSON K, NAUGHTEN E, CAHALANE S et coll. Hyperhomocysteinemia : an independent risk factor for vascular disease. *N Engl J Med* 1991, **324** : 1149-1155

COPE PC, HOWARD BD, BOUTWELL RK. The *in vitro* characterization of the inhibition of mouse brain kinase-C by retinoid Ro 10-9359. *Experimentia* 1986, **42** : 1023

- CZEIZEL AE, METNEKI J, DUDAS I. The effect of preconceptional multivitamin supplementation on fertility. *Internat J Vit Nutr Res* 1996, **66** : 55-58
- DEMAIO SJ, KING SB, LEMBO NJ, ROUBIN GS, HEARN JA et coll. Vitamin E supplementation, plasma lipids and incidence of restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty (PTCA). *J Am Coll Nutr* 1992, **11** : 68-73
- DELANGE F. The disorders induced by iodine deficiency. *Thyroid* 1994, **4** : 107-128
- DONNAN PT, THOMSON M, FOWKES GR, PRESCOTT RJ, HOUSLEY E. Diet as a risk factor for peripheral arterial disease in the general population : the Edinburgh Artery Study. *Am J Clin Nutr* 1993, **57** : 917-921
- DONOVAN UM, GIBSON RS. Iron and zinc status of young women aged 14 to 19 years consuming vegetarian and omnivorous diets. *J Am Coll Nutr* 1995, **14** : 463-472
- DRISKELL JA. Vitamin B6 requirements of humans. *Nutr Res* 1994, **14** : 293-324
- DUMONT JE, ERMANA AM, MAENHAUT C, COPPEE F, STANBURY JB. Large goitre as a maladaptation to iodine deficiency. *Clin Endocrinol* 1995, **43** : 1-10
- DUNN JT. Iodine supplementation and the prevention of cretinism. *Ann NY Acc Sc* 1994, **4** : 107-128
- DUNN JT. Seen deadly sins in confronting endemic iodine deficiency, and how to avoid them. *J Clin Endocrinol Metab* 1996, **81** : 1332-1335
- ENSTROM JE, KANIM LE, BRESLOW L. The relationship between vitamin C intake, general health practices and mortality in Alameda Country, California. *Am J Public Health* 1986, **76** : 1124-1130
- FILTEAU SM, MORRIS SS, TOMKINS AM, ARTHUR P, KIRKWOOD BR et coll. Lack of association between vitamin A status and measures of conjunctival epithelial integrity in young children in Northern Ghana. *Eur J Clin Nutr* 1994, **48** : 669-677
- FLORES H, CAMPOS F, ARAUJO CR, UNDERWOOD B. Assessment of marginal vitamin A deficiency in Brazilian children using the relative dose response procedure. *Am J Clin Nutr* 1984, **40** : 1281-1289
- FAO/WHO. Requirements of vitamin A, iron, folate and vitamin B12. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultations. *Food and Nutrition Series Rome*. 1988, 23
- FOOD AND NUTRITION BOARD. Recommended dietary allowances. 10<sup>th</sup> Ed. Washington DC : National Academy of Sciences, 1989, 1-285
- FOTOUHI N, MEYDANI M, SANTOS MS, MEYDANI SN, HENNEKENS CH, GAZIANO JM. Carotenoid and tocopherol concentrations in plasma peripheral blood mononuclear cells, and red blood cells after long-term  $\beta$ -carotene supplementation in men. *Am J Clin Nutr* 1996, **63** : 553-558
- FRASER DR. Vitamin D. *Lancet* 1995, **345** : 104-107
- FREESE A, SWARTEZ KJ, DURING MJ, MARTIN JB. Kynurenine metabolites of tryptophan : implications for neurologic diseases. *Neurology* 1990, **40** : 691-695
- FUCHS GJ, AUSAYAKHUN S, RUCKPHAOPUNT S, TANSUHAJ A, SUSKIND RM. Relationship between vitamin A deficiency, malnutrition, and conjunctival impression cytology. *Am J Clin Nutr* 1994, **60** : 293-298

GABRIELLI GB, DE SANDRE G. Excessive tea consumption can inhibit the efficacy of oral iron treatment in iron-deficiency anemia. *Haematologica* 1995, **80** : 518-520

GALLAGHER PG, EHRENKRANTZ RA. Nutrition anemias in infancy. *Clin Perinatol* 1995, **22** : 671-692

GENEVER PG, DICKSON IR. Influence of vitamin D status on hyaluron localization in bone. *Bone* 1996, **18** : 429-435

GEY KF, PUSKA P, JORDAN P, MOSER UK. Inverse correlation between plasma vitamin E and mortality from ischemic heart disease in cross-sectional epidemiology. *Am J Clin Nutr* 1991, **53** : 326S-334S

GEY KF, MOSER UK, JORDAN P, STÄHELIN HB, EICHHOLZER M, LUDIN E. 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* 1993, **57** : 787S-797S

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

GHALAUT VS, GHALAUT PS, KHARB S, SINGH GP. Vitamin E in intestinal fat malabsorption. *Ann Nutr Metab* 1995, **39** : 296-301

GLATZLE D, KÖRNER WF, CHRISTELLER S, WISS O. Method for the detection of a biochemical riboflavin deficiency. Stimulation of NADPH<sub>2</sub>-dependent glutathione reductase from human erythrocytes by FAD in vitro. Investigation on the vitamin B2 status in healthy people and geriatric patients. *Int J Vitam Nutr Res* 1970, **40** : 166-183

GOLUB MS, KEEN CL, GERSHWIN ME, HENDRICKX AG. Developmental zinc deficiency and behavior. *J Nutr* 1995, **125** : 2263S-2271S

GOT L, GOUSSON T, DELACOUX E. Simultaneous determination of retinyl esters and retinol in human livers by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B : Biomed Appl* 1995, **668** : 233-239

GUEANT JL, NICOLAS JP. Cobalamin and related binding proteins in clinical nutrition. GUEANT JL, NICOLAS JP, Eds, Amsterdam : Elsevier 1990, 1-128

GUEANT JL, GASTIN I, VIDAILHET M. Méthodes biologiques de diagnostic positif et étiologique des carences vitaminiques. *Nutr Clin Métabol* 1995, **9** : 29-42

GUEANT JL, AIMONE-GASTIN I, NAMOUR F, AMOUZOU E. Malabsorption des vitamines. In : Le statut vitaminique. LE MOEL G, SAVEROT-DAUVERGNE A, GOUSSON T, GUEANT JL, Eds. Paris : EM Inter 1998, 426-440

GUTTORMSEN AB, UELAND PM, NESTHUS I, NYGARD O, SCHNEEDE J et coll. Determinants and vitamin responsiveness of intermediate hyperhomocysteinemia (> 40 µmol/liter). *J Clin Invest* 1996, **98** : 2174-2183

HAUSER GA. Vitamin requirement in human pregnancy. *Int J Vitam Res* 1985, **27** : 207-212

HENNEKENS CH, BURING JE, MANSON JE, STAMPFER M, ROSNER B et coll. 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

HERBERT V. Development of folate human deficiency. In : Folic acid metabolism health and disease. PICCIANO M, STOKSTAD E, GREGORY J, Eds. Wiley-Liss 1990, 195-210

HERBERT V. Staging vitamin B-12 (cobalamin) status in vegetarians. *Am J Clin Nutr* 1994, **59** : 1213S-1222S

HERBETH B, MARANGON K, ROUSSEL AM, ARTUR Y. Vitamines anti-oxydantes et risque cardiovasculaire. In : Le statut vitaminique. LE MOEL G, SAVEROT-DAUVERGNE A, GOUSSON T, GUEANT JL, Eds. Paris : EM Inter 1998, 455-476

HOLICK MF. Vitamin D. New horizons for the 21st century. *Am J Clin Nutr* 1994, **60** : 619-630

JACOB RA, PIANALTO FS, AGEE RE. Cellular ascorbate depletion in healthy men. *J Nutr* 1992, **122** : 1111-1118

JACOBSEN DW, GATAUTIS VJ, GREEN R, ROBINSON K, SAVON SR et coll. Rapid HPLC determination of total homocysteine and other thiols in serum and plasma : sex differences and correlation with cobalamin and folate concentration in healthy subjects. *Clin Chem* 1994, **40** : 873-881

JARDEL A. Vitamines et grossesse. In : Le statut vitaminique. LE MOEL G, SAVEROT-DAUVERGNE A, GOUSSON T, GUEANT JL, Eds. Paris : EM Inter 1998, 343-353

JENG KC, YANG CY, SIU WY, TSAI YS, LIAO WJ, KUO JS. Supplementation with vitamins C and E enhances cytokine production by peripheral blood mononuclear cells in healthy adults. *Am J Clin Nutr* 1996, **64** : 960-965

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

JOOSTEN E, VAN DEN BERG A, RIEZLER R, NAURATH HJ, LINDENBAUM J et coll. Metabolic evidence that deficiencies of vitamin B12 (cobalamin) folate and vitamin B6 occur commonly in elderly people. *Am J Clin Nutr* 1993, **58** : 468-476

JOVANOVIC-PETERSON L, FACN, PETERSON CM. Vitamin and mineral deficiencies which may predispose to glucose intolerance of pregnancy. *J Am Coll Nutr* 1996, **15** : 14-20

KALKWARF HJ, SPECKER BL, BIANCHI DC, RIANZ J, HO M. The effect of calcium supplementation on bone density during lactation and after weaning. *N Engl J Med* 1997, **337** : 523-528

KANG SS, PASSEN EL, RUGGIE N, WONG P, SORA H. Thermolabile defect of methylenetetrahydrofolate reductase in coronary artery disease. *Circulation* 1993, **88** : 1463-1469

KELI SO, HERTOGL MGL, FESKENS EJM, KROMHOUT D. Dietary flavonoids, antioxidant vitamins, and incidence of stroke. The Zutphen Study. *Arch Intern Med* 1996, **156** : 637-642

KRISTENSEN HL, VADSTRUP S, KNUDSEN N, SIERBAEK-NIELSEN K. Development of hyperthyroidism in nodular goiter and thyroid malignancies in an area of relatively low iodine intake. *J Endocrinol Invest* 1995, **18** : 41-43

- KUZMINSKI AM, DEL GLACCO EJ, ALLEN RH, STABLER SP, LINDENBAUM J. Effective treatment of cobalamin deficiency with oral cobalamin. *Blood* 1998, **92** : 1-9
- LE MOEL G. Vitamine B2 ou riboflavine. In : Le statut vitaminiq. LE MOEL G, SAVEROT-DAUVERGNE A, GOUSSON T, GUEANT JL, Eds. Paris : EM inter 1998, 197-221
- LE MOEL G, SAVEROT-DAUVERGNE A, GOUSSON T, GUEANT JL. Le statut vitaminiq. Paris : EM inter 1998, 1-550
- LEVANDER OA, WHANGER PD. Deliberations and evaluations of the approaches, endpoints and paradigms for selenium and iodine dietary recommendations. *J Nutr* 1996, **126** : 2427S-2434S
- LEVINE M, CANTILENA-CONRY C, WANG Y, WELCH R, WASHKO P et coll. Vitamin C pharmacokinetics in healthy volunteers : evidence for a recommended requirement. *Proc Natl Acad Sci* 1996, **93** : 3704-3709
- LINDENBAUM J, HEALTON EB, SAVAGE DG. Neuropsychiatric disorders caused by cobalamin deficiency in the absence of anemia or macrocytosis. *N Engl J Med* 1988, **318** : 1720-1728
- LINDER MC, HAZEGH-AZAM M. Copper biochemistry and molecular biology. *Am J Clin Nutr* 1996, **63** : 797S-811S
- LUPTON JR, STEINBACH G, CHANG WC, O'BRIEN BC, WIESE S et coll. Calcium supplementation modifies the relative amounts of bile acids in bile and affects key aspects of human colon physiology. *J Nutr* 1996, **126** : 1421-1428
- LYNCH SR, BAYNES RD. Deliberations and evaluations of the approaches endpoints and paradigms for iron dietary recommendations. *J Nutr* 1996, **126** : 2404S-2409S
- MALINOW MR, DUELL PB, HESS DL, ANDERSON PH, KRUGER WD et coll. Reduction of plasma homocyst(e)ine levels by breakfast cereal fortified with folic acid in patients with coronary heart disease. *N Engl J Med* 1998, **338** : 1009
- MALINOW MR, KANG SS, TAYLOR LM, WONG PWK, COULL B et coll. Prevalence of hyperhomocyst(e)inemia in patients with peripheral arterial occlusive disease. *Circulation* 1989, **79** : 1180-1188
- MALVY DJM, BURTSCHY B, ARNAUD J, SOMMELET D, LEVERGER G et coll. Serum B carotene and antioxidant micronutrients in children with cancer French study group : serum beta-carotene and antioxidant vitamins in children with cancer. *Int J Epidemiol* 1993, **22** : 761-771
- MARIOTT BM. Vitamin D supplementation : a word of caution. *Ann Intern Med* 1997, **127** : 231-233
- MCCULLY KS. Vascular pathology of homocysteinemia : implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol* 1969, **56** : 111-128
- MILLS JL, MCPARTLIN JM, KIRKE PN, LEE YJ, CONLEYMR, WEIR DG. Homocysteine metabolism in pregnancies complicated by neural-tube defects. *Lancet* 1995, **345** : 149-151
- NATHAN I, HACKETT AF, KIRBY S. The dietary intake of a group of vegetarian children aged 7-11 years compared with matched omnivores. *Br J Nutr* 1996, **75** : 533-544
- NISHI Y. Zinc and growth. *J Am Coll Nutr* 1996, **15** : 340-344

- O'DELL B. Interleukin-2 production is altered by copper deficiency. *Nutr Rev* 1994, **51** : 307-309
- O'DELL BL. Endpoints for determining mineral element requirements : an introduction. *J Nut* 1996, **126** : 2342S-2344S
- O'KEEFE CA, BAILEY LB, THOMAS EA, HOFER SA, DAVIS BA et coll. Controlled dietary folate affects folate status in nonpregnant women. *J Nutr* 1995, **125** : 2717-2725
- OLIVARES M, UAUY R. Copper as an essential nutrient. *Am J Clin Nutr* 1996, **63** : 791S-796S
- OLSON JA. Hypovitaminosis A : contemporary scientific issues. *J Nutr* 1994, **124** : 1461S-1466S
- OMENN GS, GOODMAN G, THORNQUIST M, BALMES J, CULLEN M et coll. Effects of a combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. *N Engl J Med* 1996, **334** : 1150-1155
- ONG DE. Retinoid metabolism during intestinal absorption. *J Nutr* 1993, **123** : 351-355
- PERCIVAL SS. Neutropenia caused by copper deficiency : possible mechanisms of action. *Nutr Rev* 1995, **53** : 59-66
- POIRIER MC, BELAND FA. DNA adducts measurements and tumor incidence during chronic carcinogen exposure in animal models : implications for DNA adduct-based human cancer risk. *Chem Res Toxicol* 1992, **5** : 749-755
- POLITT E. Iron deficiency and cognitive function. *Annu Rev Nutr* 1993, **13** : 521-537
- POLITT E. Functional significance of the covariance between protein energy malnutrition and iron deficiency anemia. *J Nutr* 1995, **125** : 2272S-2277S
- POTIER DE COURCY G. Apports conseillés en vitamines. DUPIN H, ABRAHAM J, GIACHETTI I, Eds. Paris : Lavoisier Techniques et Documentation 1994, 55
- PRASAD AS. Zinc deficiency in women, infants and children. *J Am Coll Nutr* 1996, **15** : 113-120
- PRENTICE A. Calcium supplementation during breast-feeding. *N Engl J Med* 1997, **337** : 558-559
- RAPOLA JM, VIRTAMO J, HAUKKA JK, HEINONEN OP, ALBANES D et coll. Effect of vitamin E and beta-carotene on the incidence of angina pectoris. A randomized, double-blind, controlled trial. *JAMA* 1996, **275** : 693-698
- REGNSTRÖM J, NILSSON J, MOLDEUS K, STRÖM K, BAVENHOLM P, TORNVALL P. Inverse relation between the concentration of low-density-lipoprotein vitamin E and severity of coronary artery disease. *Am J Clin Nutr* 1996, **63** : 377-385
- RIMM EB, STAMPFER MJ, ASCHERIO A, GIOVANNUCCI E, COLDITZ GA et coll. Vitamin E consumption and the risk of coronary heart disease in men. *N Engl J Med* 1993, **328** : 1450-1456
- ROBINSON K, MAYER EL, MILLER PD, GREEN R, VAN LENTE F et coll. Hyperhomocysteinemia and low pyridoxal phosphate : independent and reversible risk factors for coronary artery disease. *Circulation* 1995, **92** : 2825-2830

ROSENBERG IH. Folate absorption : clinical questions and metabolic answers. *Am J Clin Nutr* 1990, **51** : 531-534

RUDMAN D. Nutritional requirements. In : Harrison's principles of internal medicine. BRAUNWALD E, ISSELBACHER KJ, PETERSDORF RG, WILSON JD, MARTIN JB, FAUCI AS, Eds. Hambourg : McGraw Hill Book Company GmBH 1987, 383-390

SAVAGE DG, LINDENBAUM J. Neurological complications of acquired cobalamin deficiency : clinical aspects. *Baillieres Clin Haematol* 1995, **8** : 657-678

SCHNEEDE J, DAGNELIE PC, VAN STAVEREN A, VOLLSET SE, REFSUM H et coll. Methylmalonic acid and homocysteine in plasma as indicators of functional cobalamin deficiency in infants on macrobiotic diets. *Pediatr Res* 1994, **36** : 194-201

SELHUB J, JACQUES PF, WILSON PWF, RUSH D, ROSENBERG IH. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteine in an elderly population. *JAMA* 1993, **270** : 2693-2698

SEMBA R. Vitamin A, immunity and infection. *Clin Inf Dis* 1994, **19** : 489-199

SHAW G, WASSERMAN C, BLOCK G, LAMMER E. High maternal vitamin A intake and risk of anomalies of structures with a cranial neural crest cell contribution. *Lancet* 1996, **347** : 899-900

SHILS ME, RUDE RK. Deliberations and evaluations of the approaches, endpoints and paradigms for magnesium dietary recommendations. *J Nutr* 1996, **126** : 2398S-2403S

SHIMBO S, HAYASE A, MURAKAMI M, HATAI I, HIGASHIKAWA K et coll. Use of a food composition data base to estimate daily intake of nutrient or trace elements in Japan, with reference to its limitation. *Food Addit Contam* 1996, **13** : 775-786

SHORAH CJ, SCOTT DL, NEWILL A, MORGAN DB. Clinical effects of vitamin C in elderly inpatients with low vitamin C levels. *Lancet* 1979, **24** : 403-405

STABLER SP, MARCELL PD, PODELL ER, ALLEN RH, SAVAGE DG, LINDENBAUM J. Quantitation of total homocysteine in the serum of patients with cobalamin or folate deficiency detected by capillary gas chromatography-mass spectrometry. *J Clin Invest* 1988, **81** : 466-474

STEPHENS NG, PARSONS A, SCHOFIELD PM, KELLY F, CHEESEMAN K et coll. Randomised controlled trial of vitamin E in patients with coronary disease. Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS). *Lancet* 1996, **374** : 781-786

TAYLOR A, JACQUES PJ, NADLER D, MORROW F, SULSKY SI, SHEPARD D. Relationship between ascorbic acid consumption and levels of total and reduced ascorbic acid in lens, aqueous humour and plasma. *Curr Eye Res* 1991, **10** : 751-759

THE ALPHA-TOCOPHEROL BETA CAROTENE CANCER PREVENTION GROUP. The effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of lung cancer and other cancer in male smokers. *N Engl J Med* 1994, **330** : 1029-1035

THOMAS SR, NEUZIL J, MOHR D, STOCKER R. Co-antioxidants make alpha-tocopherol an efficient antioxidant for low-density lipoprotein. *Am J Clin Nutr* 1995, **62** : 1357S-1364S

TOSTELLO L. Hypomagnesemia and diabetes mellitus. *Arch Intern Med* 1996, **156** : 1143-1148

UBBINK JB, HAYWARD VERMAAK WJ, VAN DER MERWE A, BECKER PJ. Vitamin B-12, vitamin B-6, and folate nutritional status in men with hyperhomocysteinemia. *Am J Clin Nutr* 1993, **57** : 47-53

UBBINK JB, VERMAAK WJH, VAN DER MERWE A, BECKER PJ, DELPORT R, POTGIETER HC. Vitamin requirements for the treatment of hyperhomocysteinemia in humans. *J Nutr* 1993, **124** : 1927-1933

UHLEMANN ER, TENPAS JH, LUCKY AW, SCHULMAN JD, MUDDH, SHULMAN R. Platelet survival and morphology in homocystinuria due to cystathionine synthase deficiency. *N Engl J Med* 1976, **295** : 1283-1286

VAN DEN BERG H. Vitamin A intake and status. *Eur J Clin Nutr* 1996, **50** : 7S-12S

VANDERSLICE JT, HIGGS DJ. Vitamin C content of foods : sample variability. *Am J Clin Nutr* 1991, **54** : 1323S-1327S

VAN POPPEL G, KOK FJ, DUIJZINGS P, DE VOGEL N. No influence of beta carotene on smoking-induced DNA damage as reflected by sisterchromatid exchanges. *Int J Cancer* 1992a, **51** : 355-358

VAN POPPEL G, KOK FJ, HERMUS RJ. Beta-carotene supplementation in smokers reduces the frequency of micronuclei in sputum. *Br J Cancer* 1992b, **66** : 1164-1168

VANDEKAMP JL, SNIDER A. Response of kynurenine pathway enzymes to pregnancy and dietary level of vitamin B6. *Pharmacol Biochem Behaviour* 1995, **51** : 753-758

VIDAILHET M, TOUATI G. Vitamines et erreurs innées du métabolisme. In : Le statut vitaminique. LE MOEL G, SAVEROT-DAUVERGNE A, GOUSSON T, GUEANT JL, Eds. Paris : EM inter 1998, 391-409

WASTNEY ME, ANGELUS P, BARNES RM, SIVA SUBRAMANIAN KN. Zinc kinetics in pre-term infants : a compartmental model based on stable isotope date. *Am J Physiol* 1996, **271** : R1452-R1459

WATON NJ, HUTCHINSON CH, ATTA HR. Vitamin A deficiency and xerophthalmia in the United Kingdom. *Br Med J* 1995, **310** : 1050-1051

WERNINGHAUS K, MEYDANI M, BHAWAN J, MARGOLIS R, BLUMBERG JB, GILCHREST BA. Evaluation of the photoprotective effect of oral vitamin E supplementation. *Arch Dermatol* 1994, **130** : 1257-1261

WIEDERMANN U, TARKOWSKI A, BREMELL T, HANSON LA, KAHU H, DAHLGREN UI. Vitamin A deficiency predisposes to *Staphylococcus aureus* infection. *Infection and Immunity* 1996, **64** : 209-214

WILSON JD. Vitamin deficiency and excess. In : Harrison's principles of internal medicine. BRAUNWALD E, ISSELBACHER KJ, PETERSDORF RG, WILSON JD, MARTIN JB, FAUCI AS, Eds. Hambourg : McGraw Hill Book Company GmbH 1987, 410-418

WU LL, WU J, HUNT SC, JAMES BC, VINCENT GM et coll. Plasma homocysteine as a risk factor for early familial coronary artery disease. *Clin Chem* 1994, **40** : 552-561

YOKOYAMA S, SMITH TL, KAWANO KKH, KUMMEROW FA. Effect of magnesium on secretion of platelet-derived growth factor by cultured human arterial smooth muscle cells. *Magnes Res* 1996, **9** : 93-99

ZITTOUN J. Acide folique. In : Le statut vitaminique. LE MOEL G, SAVEROT-DAUVERGNE A, GOUSSON T, GUEANT JL, Eds. Paris : EM inter 1998, 287-302