

# Concentraciones plasmáticas de carotenos y vitaminas antioxidantes en personas de edad avanzada: influencia del tabaquismo. Proyecto HALE

V. Rodríguez-Castilla, C. Cuadrado, S. del Pozo y O. Moreiras

Departamento de Nutrición. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. Madrid. España.

---

**Introducción.** Los carotenos y las vitaminas antioxidantes se asocian con un menor riesgo de aterosclerosis y enfermedad coronaria. Hay estudios que apoyan que el hábito tabáquico modifica el estado nutricional de estos micronutrientes. En este estudio se analizan las concentraciones plasmáticas de los carotenos y las vitaminas antioxidantes en varones y mujeres no fumadores, ex fumadores y fumadores.

**Pacientes y métodos.** Se seleccionó aleatoriamente para participar en el estudio base (1988-1989) del proyecto SENECA (Survey in Europe on Nutrition and the Elderly, a Concerted Action), de la Unión Europea, a 2.200 habitantes de 19 ciudades europeas, Hamme (Bélgica), Roskilde (Dinamarca), Chateau Renault-Amboise, Haguenau y Romans (Francia), Markopoulou (Grecia), Anogia-Archanes (Creta), Monor (Hungría), Padua, Fara Sabina-Magliano y Sabina-Poggio Mirteto (Italia), Culemborg (Países Bajos), Elverum (Noruega), Vila Franca de Xila (Portugal), Betanzos (España), Yverdon-les-Bains, Burdorf y Bellinzona (Suiza), 1.091 varones y 1.109 mujeres, nacidos entre 1913 y 1918. El hábito tabáquico fue valorado usando un cuestionario estandarizado y categorizado en no fumadores, ex fumadores y fumadores. Se llevó a cabo una extracción de sangre y en laboratorios centrales determinaron los marcadores bioquímicos: concentraciones plasmáticas de carotenos, retinol y  $\alpha$ -tocoferol con

cromatografía líquida de alta presión (HPLC), y del ácido fólico mediante radioinmunoanálisis. El análisis estadístico de los datos se llevó a cabo con el programa R-SIGMA 2.

**Resultados.** Los varones fumadores presentaron concentraciones ( $P_{50}$ ) más bajas de carotenos (0,34  $\mu\text{mol/l}$ ;  $p < 0,001$ ) y retinol (1,98  $\mu\text{mol/l}$ ;  $p < 0,01$ ) que los no fumadores (0,53 y 2,0  $\mu\text{mol/l}$ ), respectivamente; los carotenos fueron los más fuertemente relacionados con el consumo de tabaco ( $r = -0,170$ ;  $p = 0,006$ ; Spearman). Los valores marginales y deficientes fueron menos prevalentes en los grupos de no fumadores. Fueron más prevalentes las concentraciones de  $\alpha$ -tocoferol  $> 30 \mu\text{mol/l}$  y cocientes de vitamina E/colesterol  $> 5,2 \text{ mmol/mol}$ , con efectos protectores frente a enfermedades cardiovasculares según distintos estudios epidemiológicos entre los no fumadores que entre los fumadores.

**Conclusiones.** A la vista de estos resultados la primera medida terapéutica debe ir dirigida al cese del consumo de tabaco. Los fumadores deberían consumir una dieta rica en frutas y vegetales con elevado contenido en vitaminas antioxidantes que les permitiera igualar el estado nutricional de estos micronutrientes al del grupo de los no fumadores.

*Palabras clave:*

Antioxidantes. Tabaquismo. Personas de edad avanzada.

---

Correspondencia: Dra. O. Moreiras Tuny.  
Departamento de Nutrición. Facultad de Farmacia.  
Universidad Complutense de Madrid.  
Ciudad Universitaria. 28040 Madrid. España.  
Correo electrónico: moreiras@farm.ucm.es

Recibido el 29 de enero de 2004 y aceptado el 28 de diciembre de 2004.

## PLASMA CONCENTRATIONS OF CAROTENE AND ANTIOXIDANT VITAMINS IN ELDERLY PEOPLE: THE INFLUENCE OF SMOKING. HALE PROJECT

**Introduction.** Carotene and antioxidant vitamins are associated with lower arteriosclerotic risk and

coronary disease. This association is supported by studies showing that smoking modifies the nutritional status of these micronutrients. Plasma levels of carotene and antioxidant vitamins in non-smokers, former smokers, and current smokers were analysed.

*Patients and methods.* 2,200 elderly inhabitants 1,091 men, 1,109 women born between 1913 and 1918 of 19 European towns: Hamme (Belgium); Roskilde (Denmark); Chateau Renault-Amboise, Haguenau and Romans (France); Markopoulo (Greece); Anogia-Archanes (Crete); Monor (Hungary); Padua, Fara Sabina-Magliano Sabina-Poggio Mirteto (Italy); Culemborg (The Netherlands); Elverum (Norway); Vila Franca de Xila (Portugal); Betanzos (Spain); Yverdon-les-bains, Burdorf and Bellinzona (Switzerland) were randomly selected to participate in the baseline study (1988-1989) of the SENECA project (Survey in Europe on Nutrition and the Elderly, a Concerted Action) from the European Union. Smoking was assessed using a standardised questionnaire and categorised as-non, former and current smoker. Blood samples were collected and biochemical parameters: plasma levels of carotene, retinol and  $\alpha$ -tocopherol by HPLC and folic acid by radioimmuno assay kits were measured at central laboratories, according to a strictly standardised methodology. Statistical analysis was performed out using the R-SIGMA 2 programme.

*Results.* Male current smokers had levels (P50) of carotene ( $0.34 \mu\text{mol/l}$ ;  $p < 0.001$ ) and retinol ( $1.98 \mu\text{mol/l}$ ;  $p < 0.01$ ) lower than non-smokers ( $0.53$ ;  $2.0 \mu\text{mol/l}$ ), respectively, whereas intermediate levels were observed in former smokers; carotene was the strongest parameter related to smoking consumption ( $r = -0.170$ ;  $p < 0.006$ ; Spearman). The marginal and deficient levels were less prevalent among non-smokers.  $\alpha$ -tocopherol levels over  $30 \mu\text{mol/l}$  or  $\alpha$ -tocopherol/cholesterol ratios over  $5.2 \text{ mmol/mol}$ , with protective effects against cardiovascular disease, were more prevalent among non-smokers than current smokers.

*Conclusions.* According to the results, smoking cessation would be the first measure advised. Current smokers, even former smokers, would require a diet rich in fruit and vegetables with a high antioxidant vitamin content, which would allow them to achieve the same nutritional status as non-smokers.

*Key words:*  
Antioxidants. Smoking. Elderly.

## Introducción

El tabaquismo ha sido identificado como factor de riesgo de enfermedades cardiovasculares, incluso en edades tempranas. El humo del tabaco contiene grandes cantidades de radicales libres y especies oxigenadas. Los radicales libres son los factores más críticos, desencadenantes de una depleción en los antioxidantes, una peroxidación lipídica y una modificación en las proteínas, cuyos productos se suman a los componentes del tabaco en la toxicidad responsable de la respuesta inmune inflamatoria. Para disminuir el estrés oxidativo muchos investigadores proponen el efecto protector de antioxidantes como el  $\alpha$ -tocoferol, el ácido ascórbico y los carotenoides<sup>1,2</sup>. Sin embargo, entre los fumadores se sospecha una menor concentración en plasma de antioxidantes debido, por un lado, a la mayor implicación de los antioxidantes disponibles en el bloqueo de la cadena de radicales libres inducida por el tabaco<sup>3</sup> y, por otro, a una dieta posiblemente disminuida en estos compuestos<sup>4</sup>.

Con referencia a la edad, los cambios que a lo largo de la vida se producen en la composición corporal, en el metabolismo y en las funciones tisulares, no excluyen la alteración de los requerimientos nutricionales<sup>5</sup>. En el estudio SENECA, de 1988 a 1993, las concentraciones plasmáticas de retinol en personas que pasaron de 70-75 a 75-80 años disminuyeron significativamente; las de carotenos no cambiaron, y las de  $\alpha$ -tocoferol y ácido fólico se incrementaron significativamente<sup>6</sup>. En cualquier caso, Lowenstein<sup>7</sup> señaló que una ingesta de energía por debajo de  $6,3 \text{ MJ/día}$  difícilmente cubriría los requerimientos de las vitaminas y los minerales, especialmente de los nutrientes cuya ingesta ya fuera marginal<sup>8</sup>. Amorim Cruz et al<sup>9</sup> calcularon la ingesta energética en la población objeto de nuestro estudio y observaron que el 9,2% de los varones y el 27,7% de las mujeres no superaron los  $6,3 \text{ MJ/día}$ . La valoración de la ingesta energética por Moreiras et al<sup>10</sup> en la muestra española del proyecto SENECA, 89 varones y 121 mujeres residentes en Betanzos (A Coruña), la situó entre las más altas de todos los centros participantes. Sin embargo, se dieron situaciones poco satisfactorias en algunos de los grupos de la población de edad estudiada. Un 74% de la muestra presentó bajos consumos de retinol, un 33% de  $\beta$ -carotenos, un 43% de ácido fólico y un 66% de vitamina E; la ingesta de ácido ascórbico es la más adecuada. La edad, en este sentido, puede ser un factor adicional al tabaco en la disminución de las concentraciones plasmáticas de vitaminas antioxidantes en

sangre, si bien se ha comprobado que los valores sanguíneos de vitaminas fueron en conjunto bastante satisfactorios<sup>11</sup> y dependientes de múltiples factores. Uno de ellos, el tabaco, fue estudiado por Moreiras y Carbajal<sup>12</sup>. Las concentraciones plasmáticas de  $\alpha$ -tocoferol y carotenos se relacionaron negativamente ( $p \leq 0,05$ ) con el número de cigarrillos fumados ( $r = -0,188$  y  $-0,289$ , respectivamente) y con el número de años de fumador ( $r = -0,304$  y  $-0,369$ , respectivamente).

Con el fin de ampliar estos resultados al total de la muestra europea, el objeto de este trabajo fue analizar el efecto del tabaco en el estado nutricional de carotenos, retinol,  $\alpha$ -tocoferol y ácido fólico en personas de edad.

## Pacientes y métodos

### Muestra

Entre diciembre de 1988 y marzo de 1989 se realizó el estudio base del proyecto SENECA (Survey in Europe on Nutrition and the Elderly, a Concerted Action). Formaron parte de éste 2.586 personas nacidas entre 1913 y 1918. Procedían de 19 ciudades de 12 países europeos que, sin pretender ser representativas de los países participantes, debían tener una población entre 10.000 y 20.000 habitantes, no ser ciudad dormitorio ni predominantemente industrial o turística, sino tradicional y con unos hábitos dietéticos bien enraizados. La muestra utilizada en este trabajo procede de este grupo, 2.200 personas (1.091 varones y 1.109 mujeres) de edades comprendidas entre 70 y 75 años, habitantes de las siguientes ciudades europeas: Hamme (Bélgica), Roskilde (Dinamarca), Chateau Renault-Amboise, Haguenau y Romans (Francia), Markopoulos (Grecia), Anogia-Archanes (Creta), Monor (Hungria), Padua, Fara Sabina-Magliano, Sabina-Poggio y Mirteto (Italia), Culemborg (Países Bajos), Elverum (Noruega), Vila Franca de Xira (Portugal), Betanzos (España) e Yverdon-les-Bains, Burgdorf y Bellinzona (Suiza).

### Cuestionario general

Para la recogida de datos se utilizó el protocolo de Groot y Van Staveren<sup>13</sup>. El hábito tabáquico se evaluó a través de 6 preguntas cerradas que permitieron clasificar a los individuos en 3 categorías (no fumadores, ex fumadores y fumadores) y, en el caso de las 2 últimas, conocer durante cuántos años habían sido fumadores y cuántos cigarrillos, puros y/o pipas habían fumado diariamente y con regularidad al menos durante un año.

### Análisis de sangre

La extracción de sangre en la vena antecubital se realizó con el sujeto sentado y después de una noche en ayuno. Las muestras de plasma de 25 ml fueron recogidas en tubos evacuados al vacío, vacutainers, y 10 ml de éstas fueron transferidas a tubos con EDTA y centrifugados a 3.000 rpm durante 10 min. El plasma así obtenido se dividió en alícuotas. Una de 1 ml se utilizó para la determinación de retinol,  $\alpha$ -tocoferol, colesterol y carotenoides, y otra de 0,5 ml, para la de ácido fólico. Las muestras de plasma, congeladas y almacenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$  se analizaron antes de transcurridos 16 me-

**Tabla 1. Criterios de definición de riesgo en el estado vitamínico**

Vitaminas (referencias bibliográficas)	Concentraciones plasmáticas
Carotenos <sup>15</sup>	< 0,3 $\mu\text{mol/l}$
Retinol <sup>24</sup>	< 1,04 $\mu\text{mol/l}$
$\alpha$ -tocoferol <sup>16</sup>	< 11,6 $\mu\text{mol/l}$
$\alpha$ -tocoferol/colesterol <sup>21</sup>	< 2,5 mmol/mol
Ácido fólico <sup>23</sup>	< 9,1 nmol/l

ses de la extracción de sangre (de 3 a 5 meses mayoritariamente).

Todos los análisis se realizaron en laboratorios centrales. Las vitaminas A y E, y los carotenos se analizaron en los laboratorios de F. Hoffmann-La Roche, Ltd., Basilea (Suiza), usando los métodos cromatográficos (cromatografía líquida de alta presión [HPLC]) descritos por Vuilleumier et al<sup>14</sup>. Los límites de detección del laboratorio fueron de 0,04  $\mu\text{l}$  para los carotenos, 0,07  $\mu\text{mol/l}$  para el retinol, 1,16  $\mu\text{mol/l}$  para el  $\alpha$ -tocoferol y 0,05 mmol/l para el colesterol. Los coeficientes de variación interdia con respecto a un duplicado fueron del 3,3% para el retinol, del 3% para los carotenos y del 1,8% para el  $\alpha$ -tocoferol. La técnica para carotenos no separa el  $\alpha$  y el  $\gamma$  del  $\beta$ -caroteno. Con este método pueden medirse todos los isómeros del  $\alpha$ -tocoferol y el retinol. La calibración se realizó usando transretinol, DL- $\alpha$ -tocoferol y  $\beta$ -caroteno. Las determinaciones de ácido fólico se realizaron mediante radioinmunoanálisis (Diagnostic Products Corporation). Sus límites de detección fueron 0,3 ng/l.

La prevalencia de concentraciones marginales de carotenos y retinol, y deficientes de  $\alpha$ -tocoferol,  $\alpha$ -tocoferol/colesterol y ácido fólico se dio en número de casos y porcentajes respecto al total de la muestra analizada. Los valores de referencia utilizados en el estudio se recogen en la tabla 1.

### Análisis estadístico

El análisis de los datos se llevó a cabo con el programa estadístico RSIGMA-2. Realizando una distribución de frecuencias se determinó el porcentaje de personas –en conjunto y por sexos– que habían fumado con regularidad casi a diario, al menos durante un año; el de no fumadores, ex fumadores y fumadores en la fecha del estudio; el de fumadores de cigarrillos, puros y pipas, así como el número de ellos fumados y el número de años de fumador.

Con el fin de conocer la bondad de ajuste a la normal de las distribuciones estudiadas se aplicó la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

Para las variables de las concentraciones en plasma de vitaminas, carotenos y colesterol, se calcularon las medias, las desviaciones estándar (DE) y los percentiles 3, 50 y 97 ( $P_3$ ,  $P_{50}$  y  $P_{97}$ , respectivamente).

La significación de las diferencias entre medias se determinó mediante la prueba de la t de Student, el análisis de la varianza (ANOVA) y la prueba de Mann-Whitney en caso de distribución no homogénea. La versión no paramétrica del análisis ANOVA paramétrico se utilizó en caso de comparaciones múltiples. En todas las pruebas estadísticas, un valor de  $p < 0,05$  se consideró significativo.

Con el coeficiente de correlación de Spearman se determinó la correlación entre el consumo de tabaco y la concentración en plasma de colesterol total, carotenos, retinol, ácido fólico y el cociente  $\alpha$ -tocoferol/colesterol.

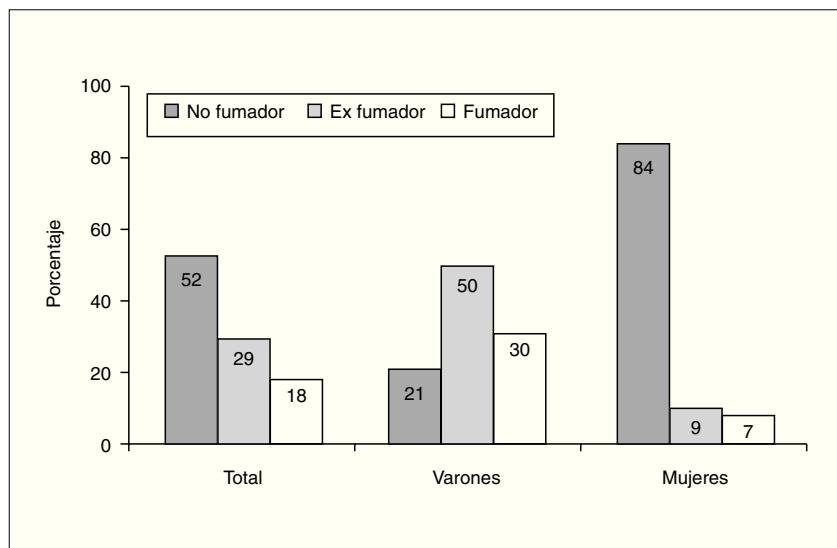


Figura 1. Distribución de la frecuencia del hábito tabáquico en la población estudiada.

## Resultados

### Perfil tabáquico

El 47% de las personas encuestadas había fumado con regularidad, casi a diario, al menos durante 1 año (fig. 1). En la fecha del estudio sólo un 18% de la población total seguía siendo fumadora. Al estudiar el perfil tabáquico por sexos, el 84% de las mujeres nunca había fumado, el 50% de los varones había fumado con anterioridad y el 30% fumaba en el momento del estudio. El 76% de los fumadores, varones y mujeres, lo eran de cigarrillos. La mayoría fumaba entre 5 y 14 cigarrillos al día. Un 13% de los fumadores de cigarrillos también fumaba puros, mayoritariamente de 1 a 4 diarios. Los fumadores de puros y pipas, varones en un 93 y un 100%, eran el 30 y el 12%, respectivamente, de la población fumadora.

Respecto al número de años de fumador, un 24% de los varones había fumado entre 40 y 50 años, y un 28%, entre 50 y 60. Por el contrario, la prevalencia del hábito tabáquico entre las mujeres fue mucho menor, y cerca del 45% de las mujeres fumadoras lo fueron durante menos de 20 años.

### Estado vitamínico

1. *Según sexo:* las distribuciones por sexos correspondientes a cada una de las variables dependientes, a excepción de las concentraciones plasmáticas de colesterol en varones, presentaron según la prueba de Kolmogorov-Smirnov una distribución no normal, distribución que se mantuvo con la transformación logarítmica. En la tabla 2 se exponen las concentraciones medias y la desviación estándar de carotenos, retinol,  $\alpha$ -tocoferol, ácido fólico, coleste-

Tabla 2. Concentraciones plasmáticas de carotenos ( $\mu\text{mol/l}$ ), retinol ( $\mu\text{mol/l}$ ),  $\alpha$ -tocoferol ( $\mu\text{mol/l}$ ), ácido fólico ( $\text{nmol/l}$ ), colesterol ( $\text{mmol/l}$ ) y razón  $\alpha$ -tocoferol/colesterol ( $\text{mmol/mol}$ ) en varones y mujeres. Estudio SENECA, 1988-1989

	Varones						Mujeres					
	N	Media	DE	P <sub>3</sub>	P <sub>50</sub>	P <sub>97</sub>	N	Media	DE	P <sub>3</sub>	P <sub>50</sub>	P <sub>97</sub>
Carotenos	854	0,55	0,47	0,09	0,43	1,49	828	0,79 <sup>c</sup>	0,58	0,17	0,67	2,27
Retinol	855	2,12	0,56	1,28	2,08	3,35	828	1,97 <sup>c</sup>	0,50	1,16	1,92	3,08
$\alpha$ -tocoferol	855	28,76	8,32	15,23	27,86	46,38	828	32,62 <sup>c</sup>	9,17	18,57	31,81	51,08
$\alpha$ -tocoferol/colesterol	855	5,67	1,39	3,46	5,62	8,37	828	5,79 <sup>a</sup>	1,37	3,65	5,75	8,32
Ácido fólico	372	14,66	6,98	8,64	12,69	31,14	347	16,51 <sup>b</sup>	8,45	8,16	14,27	37,75
Colesterol	855	5,67	1,04	3,77	5,66	7,66	828	6,30 <sup>c</sup>	1,24	4,22	6,28	8,71

<sup>a</sup>p = 0,066.

<sup>b</sup>p = 0,001.

<sup>c</sup>p < 0,001.

DE: desviación estándar; P<sub>3</sub>, P<sub>50</sub> y P<sub>97</sub>: percentiles 3, 50 y 97, respectivamente.

**Tabla 3. Concentraciones plasmáticas de carotenos ( $\mu\text{mol/l}$ ), retinol ( $\mu\text{mol/l}$ ),  $\alpha$ -tocoferol ( $\mu\text{mol/l}$ ), ácido fólico ( $\text{nmol/l}$ ), colesterol ( $\text{mmol/l}$ ) y razón  $\alpha$ -tocoferol/colesterol ( $\text{mmol/mol}$ ) en varones no fumadores, ex fumadores y fumadores**

	No fumadores				Ex fumadores				Fumadores				p
	N	P <sub>50</sub>	P <sub>3</sub>	P <sub>97</sub>	N	P <sub>50</sub>	P <sub>3</sub>	P <sub>97</sub>	N	P <sub>50</sub>	P <sub>3</sub>	P <sub>97</sub>	
Carotenos	166	0,53	0,13	1,86	434	0,47	0,09	1,45	254	0,34	0,09	1,24	<0,001
Retinol	166	2	1,36	3	434	2,15	1,28	3,47	255	1,98	1,24	3,2	<0,01
$\alpha$ -tocoferol	166	28,79	16,94	42,09	434	28,68	15,79	46,2	255	26,93	14,07	48,23	<0,1
$\alpha$ -tocoferol/colesterol	166	5,71	3,86	7,89	434	5,68	3,48	8,59	255	5,5	3,12	7,9	<0,05
Ácido fólico	77	12,91	8,9	29,98	191	12,14	8,84	29,56	104	11,78	7,99	30,93	<0,05
Colesterol	166	5,61	4,02	7,61	434	5,68	3,67	7,63	255	5,69	3,89	7,68	NS

P<sub>3</sub>, P<sub>50</sub> y P<sub>97</sub>: percentiles 3, 50 y 97, respectivamente; NS: no significativo.

**Tabla 4. Concentraciones plasmáticas de carotenos ( $\mu\text{mol/l}$ ), retinol ( $\mu\text{mol/l}$ ),  $\alpha$ -tocoferol ( $\mu\text{mol/l}$ ), ácido fólico ( $\text{nmol/l}$ ), colesterol ( $\text{mmol/l}$ ) y razón  $\alpha$ -tocoferol/colesterol ( $\text{mmol/mol}$ ) en mujeres no fumadoras, ex fumadoras y fumadoras**

	No fumadoras				Ex fumadoras				Fumadoras				p
	N	P <sub>50</sub>	P <sub>3</sub>	P <sub>97</sub>	N	P <sub>50</sub>	P <sub>3</sub>	P <sub>97</sub>	N	P <sub>50</sub>	P <sub>3</sub>	P <sub>97</sub>	
Carotenos	688	0,67	0,17	2,25	75	0,6	0,15	2,2	65	0,6	0,2	2,4	NS
Retinol	688	1,91	1,14	3,01	75	2,19	1,16	3,32	65	1,90	1,36	2,89	<0,01
$\alpha$ -tocoferol	688	31,58	19,04	51,08	75	33,43	17,03	54,9	65	31,11	16,16	44,22	NS
$\alpha$ -tocoferol/colesterol	688	5,75	3,8	8,36	75	5,59	3,51	8,17	65	5,76	3,25	7,17	NS
Ácido fólico	282	14,73	8,35	38,74	35	13,37	8,84	28,76	30	12,69	7,93	20,74	<0,05
Colesterol	688	6,26	4,21	8,72	75	6,52	4,27	8,42	65	6,21	4,88	8,38	<0,05

P<sub>3</sub>, P<sub>50</sub> y P<sub>97</sub>: percentiles 3, 50 y 97, respectivamente; NS: no significativo.

rol y relación  $\alpha$ -tocoferol/colesterol ( $\text{mmol/mol}$ ) en plasma, en varones y mujeres. Los valores más elevados correspondieron a las mujeres ( $0,79 \pm 0,58$ ;  $1,97 \pm 0,50$ ;  $32,62 \pm 9,17$ ;  $16,51 \pm 8,45$ ;  $6,30 \pm 1,24$   $5,79 \pm 1,37$ , respectivamente). Sólo las concentraciones de retinol fueron superiores en varones ( $2,12 \pm 0,56$ ).

2. *Según hábito tabáquico:* en las tablas 3 y 4 se expone la distribución en percentiles de las concentraciones plasmáticas de carotenos, retinol,  $\alpha$ -tocoferol, ácido fólico, colesterol y razón  $\alpha$ -tocoferol/colesterol en no fumadores, ex fumadores y fumadores, varones y mujeres, respectivamente.

3. *Carotenos:* su concentración en plasma disminuyó desde el grupo de varones no fumadores al de ex fumadores y, desde éste, al de fumadores, con una significación  $p < 0,001$  (tabla 3). En el caso de las mujeres, el valor de carotenos disminuyó ligeramente entre las fumadoras (tabla 4).

Al dividir a los individuos en función del número de cigarrillos fumados al día (figs. 2 y 3) (1-4, 5-14 y 15-24) y realizar una comparación múltiple entre sus medias, se observó que la concentración en plasma de carotenos disminuía al aumentar el consumo de cigarrillos, con una diferencia altamente signifi-

cativa ( $p < 0,01$ ) en los varones y significativa ( $p < 0,05$ ) en las mujeres. Para el resto de las vitaminas estudiadas, incluyendo la relación  $\alpha$ -tocoferol/colesterol, las diferencias en función del número de cigarrillos fumados no fueron significativas.

El coeficiente de correlación de Spearman  $r = -0,177$  (tabla 5) puede indicar la existencia de una relación inversa entre el número de cigarrillos fumados por la población fumadora y la concentración plasmática de carotenos. Un coeficiente muy similar ( $r = -0,171$ ) se obtuvo al determinar la correlación con el número de años de fumador. Por sexos, el coeficiente para varones fue  $r = -0,170$  ( $p = 0,006$ ) y  $r = -0,120$  ( $p = 0,055$ ), respectivamente. No se obtuvo significación al determinar la correlación en el grupo de mujeres.

No existe enfermedad carencial directamente asociada a la disminución de carotenos. Según resultados epidemiológicos, la concentración mínima que se considera adecuada es de  $0,3 \mu\text{mol/l}$ <sup>15</sup>. Según esto, la prevalencia de valores marginales fue mayor en los varones (27,6%) que en las mujeres (12,2%). Respecto al hábito tabáquico, la condición de fumador agrupó los mayores porcentajes (el 37,4 y el 16,9%), seguida de la de ex fumadores (el

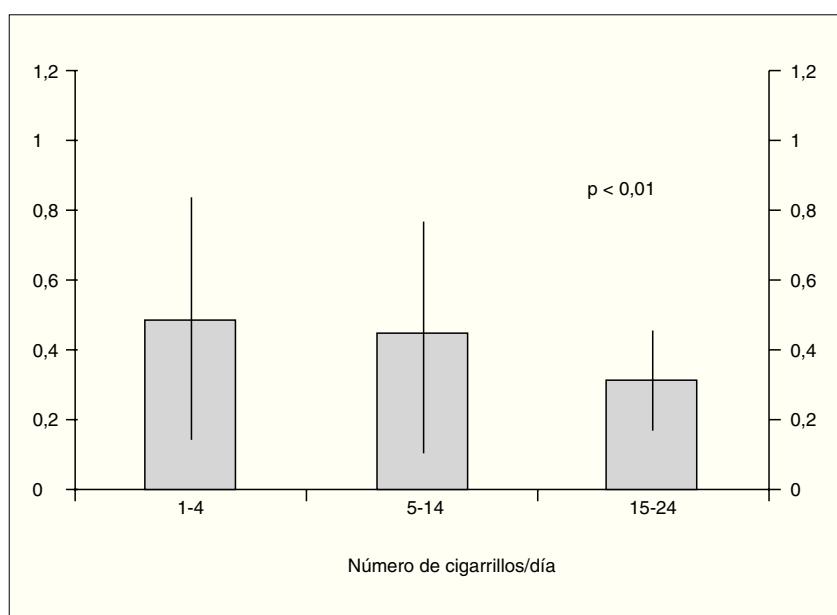


Figura 2. Comparación múltiple entre medias de las concentraciones plasmáticas (media ± desviación estándar) de carotenos ( $\mu\text{mol/l}$ ) en varones fumadores de 1-4, 5-14, 15-24 cigarrillos/día.

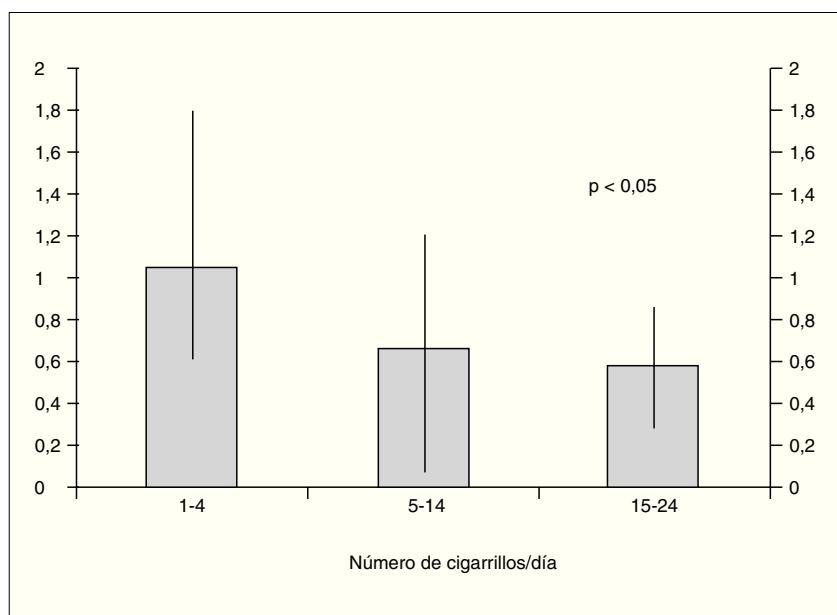


Figura 3. Comparación múltiple entre medias de las concentraciones plasmáticas (media ± desviación estándar) de carotenos ( $\mu\text{mol/l}$ ) en mujeres fumadoras de 1-4, 5-14, 15-24 cigarrillos/día.

25,8 y el 13,3%) y, por último, los no fumadores (el 17,5 y el 11,6%), tanto en varones como en mujeres, respectivamente (tabla 6).

4. *Retinol:* la versión no paramétrica del análisis de varianza mostró significativas las leves diferencias existentes entre las concentraciones comparadas; en los grupos de fumadores y fumadoras se encontraron las concentraciones más bajas (tablas 3 y 4).

La correlación de Spearman puso de manifiesto una relación inversa entre la concentración plasmá-

tica de retinol y el consumo de tabaco determinado por el número de cigarrillos fumados y el número de años de fumador; esta relación fue significativa tanto entre la población total ( $r = -0,148$  y  $-0,122$ , respectivamente) como entre la población masculina ( $r = -0,159$  y  $-0,133$ , respectivamente) (tabla 5).

Concentraciones de retinol por debajo de 0,35  $\mu\text{mol/l}$  se consideran deficientes<sup>16,17</sup>; en la muestra de estudio no se encontró a ningún sujeto con concentraciones tan bajas. Sólo 2 varones (ex fumadores) y 2 mujeres (no fumadora y ex fumadora) pre-

**Tabla 5. Coeficientes de correlación de Spearman (R) entre el número de cigarrillos fumados/número de años de fumador, y la concentración plasmática de vitaminas, carotenos y colesterol en varones y mujeres fumadores**

	Población fumadora	Varones fumadores	Mujeres fumadoras
Carotenos	-0,177 <sup>0,001*</sup> /-0,171 <sup>0,002</sup>	-0,170 <sup>0,006/-0,120<sup>0,055</sup></sup>	-0,190 <sup>0,129/0,088<sup>0,485</sup></sup>
Retinol	-0,148 <sup>0,008/-0,122<sup>0,029</sup></sup>	-0,159 <sup>0,011/-0,133<sup>0,032</sup></sup>	-0,099 <sup>0,433/-0,1220,333</sup>
α-tocoferol	-0,115 <sup>0,039/-0,138<sup>0,013</sup></sup>	-0,094 <sup>0,135/-0,108<sup>0,085</sup></sup>	-0,136 <sup>0,280/0,053<sup>0,678</sup></sup>
α-tocoferol/colesterol	-0,121 <sup>0,030/-0,085<sup>0,130</sup></sup>	-0,139 <sup>0,026/-0,099<sup>0,112</sup></sup>	-0,018 <sup>0,885/-0,0000,999</sup>
Ácido fólico	-0,102 <sup>0,240/-0,112<sup>0,195</sup></sup>	-0,102 <sup>0,307/-0,099<sup>0,318</sup></sup>	-0,078 <sup>0,681/-0,1220,520</sup>
Colesterol	-0,037 <sup>0,511/-0,117<sup>0,035</sup></sup>	0,028 <sup>0,658/-0,078<sup>0,217</sup></sup>	-0,260 <sup>0,037/0,103<sup>0,416</sup></sup>

\*Significación del coeficiente de correlación.

**Tabla 6. Prevalencia, en número de personas (n) y porcentaje (%) de los valores marginales de carotenos y retinol, y de los valores deficientes de α-tocoferol, relación α-tocoferol/colesterol y ácido fólico**

	Carotenos	Retinol	α-tocoferol	α-tocoferol/colesterol	Ácido fólico
Varones, n (%)	236 (27,6)	7 (0,8)	12 (1,4)	12 (1,4)	55 (14,8)
No fumadores	29 (17,5)	1 (0,6)	2 (1,2)	2 (1,2)	7 (9,1)
Ex fumadores	112 (25,8)	2 (0,5)	6 (1,4)	5 (1,2)	22 (11,5)
Fumadores	95 (37,4)	4 (1,6)	4 (1,6)	5 (2)	26 (25)
Mujeres, n (%)	101 (12,2)	8 (1)	5 (0,6)	7 (0,8)	44 (12,7)
No fumadoras	80 (11,6)	7 (1)	5 (0,6)	7 (0,8)	44 (12,7)
Ex fumadoras	10 (13,3)	1 (1,3)	–	–	3 (8,6)
Fumadoras	11 (16,9)	–	–	1 (1,5)	4 (13,3)

sentaron valores inferiores a 0,7 µmol/l, cifra sugerida en la bibliografía como asociada a una mayor probabilidad de disfuncionalidad<sup>18,19</sup>. Utilizando el valor de 1,04 µmol/l, por debajo del que no se consideran adecuadas las concentraciones de retinol en sangre, se clasificó a 7 varones y 8 mujeres. Entre los primeros, 4 eran fumadores (el 1,6% de su grupo) (tabla 6).

5. **Vitamina E:** como indicador del estado nutricional de la vitamina E hemos utilizado la concentración sérica de α-tocoferol, la forma más abundante y biológicamente activa de dicha vitamina.

El P<sub>50</sub> del α-tocoferol en varones no fumadores fue de 28,79 µmol/l, prácticamente igual en ex fumadores y de 26,93 en fumadores (tabla 3), con una diferencia cercana a la significación estadística ( $p < 0,1$ ).

La correlación entre el número de cigarrillos fumados y concentraciones séricas de α-tocoferol

para la población total fue  $r = -0,115$  ( $p = 0,039$ ); la correlación por sexos no fue significativa. El número de años de fumador mostró una asociación superior, tanto en la población total como en la masculina (tabla 5).

El valor que define el riesgo de deficiencia de α-tocoferol es de 11,6 µmol/l<sup>16</sup>. Con concentraciones por debajo de este valor aparecieron 17 sujetos, 12 varones (1,4%) y 5 mujeres (0,6%). Entre los primeros, la mayor prevalencia correspondió al grupo de los fumadores (1,6%). En el caso de las mujeres, todas las deficiencias se dieron entre no fumadoras (tabla 6).

Dado que el α-tocoferol (vitamina E) se ha relacionado estrechamente con moléculas lipídicas, como β-lipoproteínas, colesterol y triglicéridos, o con las 3 conjuntamente<sup>20</sup>, y lo mismo se ha observado en el presente estudio con el colesterol to-

**Tabla 7. Correlación de Spearman entre concentraciones plasmáticas de α-tocoferol y colesterol**

		R	p
Población total	Colesterol frente a α-tocoferol	0,644	< 0,001
	α-tocoferol frente a relación α-tocoferol/colesterol	0,668	< 0,001
Varones	Colesterol frente a α-tocoferol	0,598	< 0,001
	α-tocoferol frente a relación α-tocoferol/colesterol	0,716	< 0,001
Mujeres	Colesterol frente a α-tocoferol	0,648	< 0,001
	α-Tocoferol frente a relación α-tocoferol/colesterol	0,630	< 0,001

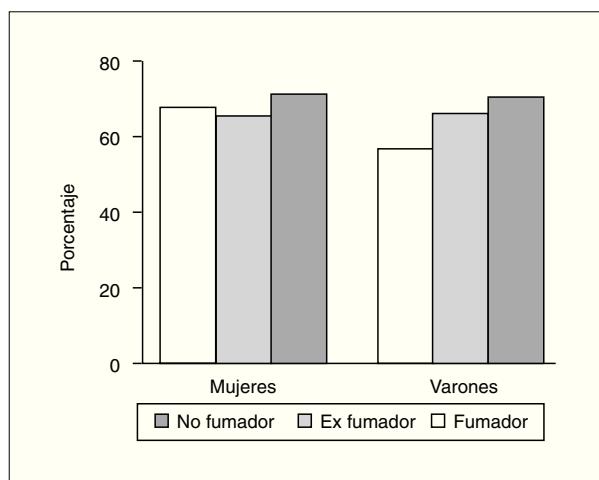


Figura 4. Prevalencia de la razón  $\alpha$ -tocoferol/colesterol  $> 5,2$  mmol/mol en varones y mujeres con distintos hábitos tabáquicos.

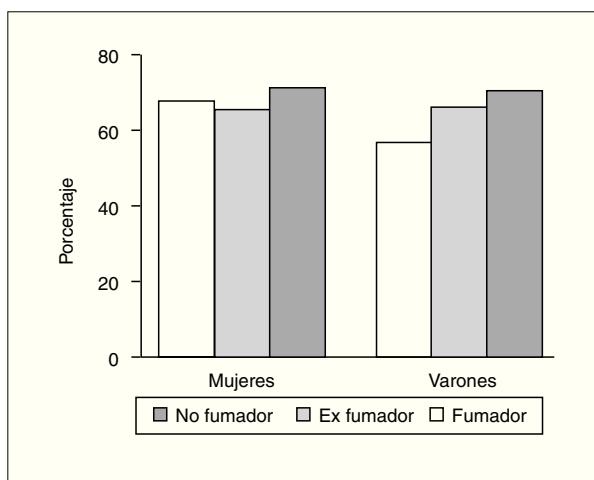


Figura 5. Prevalencia de la concentración en sangre de  $\alpha$ -tocoferol  $> 30$   $\mu\text{mol/l}$  en varones y mujeres con distintos hábitos tabáquicos.

tal (tabla 7); los resultados de la vitamina E también han sido expresados como la razón  $\alpha$ -tocoferol/colesterol. Esta transformación disminuyó la diferencia entre los varones y las mujeres (tablas 2-4), probablemente debido a las concentraciones de colesterol más altas entre las mujeres de estas edades. Al diferenciar por categoría tabáquica, sólo se obtuvo significación en la población masculina, con razones levemente inferiores entre los fumadores respecto a ex fumadores y no fumadores (tabla 3). La correlación con el número de cigarrillos fumados fue  $r = -0,121$  ( $p = 0,030$ ) y  $r = -0,139$  ( $p = 0,026$ ) en la población total y masculina, respectivamente (tabla 5).

Diecinueve sujetos, algo más del 1% de la muestra, presentaron valores de  $\alpha$ -tocoferol/colesterol por debajo de 2,5 mmol/mol (tabla 6), considerados deficientes<sup>21</sup>. Doce de ellos eran varones y la prevalencia más alta correspondió al grupo de fumadores (2%).

Algunos estudios epidemiológicos<sup>22</sup> sugieren que concentraciones de  $\alpha$ -tocoferol superiores a 30  $\mu\text{mol/l}$  o cocientes de  $\alpha$ -tocoferol/colesterol superiores a 5,2 mmol/mol protegen frente a enfermedades cardiovasculares. En nuestro estudio fueron las mujeres las más prevalentes en este sentido ya que un 71% de éstas presentaron cocientes de  $\alpha$ -tocoferol/colesterol por encima de 5,2 mmol/l (un 65% varones), y un 59%, concentraciones de  $\alpha$ -tocoferol superiores a 30  $\mu\text{mol/l}$  (un 40% varones). Las menores prevalencias correspondieron a los fumadores, con unas diferencias respecto a las prevalencias de los no fumadores mucho más acentuadas en el caso de los varones (figs. 4 y 5).

**6. Ácido fólico:** los grupos de fumadores de ambos sexos presentaron concentraciones plasmáticas de ácido fólico significativamente inferiores ( $p < 0,05$ ) a las de ex fumadores y no fumadores (tablas 3 y 4). Las correlaciones de Spearman no fueron significativas (tabla 5).

Respecto a posibles deficiencias de ácido fólico, no hubo sujeto alguno con concentraciones inferiores a 6,8 nmol/l<sup>16,17,23</sup>. El valor más bajo fue 7,5 nmol/l. Las medianas fueron superiores al doble del valor indicado. Probablemente la metodología empleada por el laboratorio de análisis pudo ser la responsable de las concentraciones de ácido fólico tan elevadas<sup>21</sup>. Por ello, y con el fin de detectar posibles deficiencias bioquímicas, se fijó un punto de corte más alto, 9,1 nmol/l<sup>23</sup>. Partiendo de esta referencia, se detectó la mayor prevalencia de deficiencias en este estudio, 55 varones y 44 mujeres, el 15 y el 13%, respectivamente, de ambas poblaciones. En función del hábito tabáquico, la prevalencia de deficiencias en el grupo de varones fumadores fue el 25%, respecto al 11% en el de ex fumadores y el 9% en el de no fumadores. Las prevalencias entre las mujeres no fumadoras y fumadoras fueron del 13,1 y el 13,3%, respectivamente (tabla 6).

## Discusión

El análisis del consumo de tabaco en la muestra denotó la disparidad de este hábito entre varones y mujeres con edades comprendidas entre 70 y 75 años en el momento del estudio (según Mat y Metroder, diciembre de 1988-marzo de 1989). Por este motivo, el estudio se realizó separadamente en varones y mujeres. Las concentraciones plasmáticas

de carotenos,  $\alpha$ -tocoferol y ácido fólico fueron superiores en las mujeres. Sólo en el caso del retinol, las concentraciones séricas más altas correspondieron a los varones. Estos mismos resultados fueron observados en México por Garry et al<sup>24</sup> en un estudio entre 304 sujetos con edades superiores a 60 años, en Francia, por Herbeth et al<sup>25</sup> en una muestra de 291 varones y mujeres con edades comprendidas entre 60 y 82 años, en Alemania, entre 2.006 varones y mujeres saludables de todas las edades<sup>26</sup>, y en Estados Unidos con 638 varones y mujeres de 67 a 96 años de edad<sup>27</sup>. Al examinar en 1993 el estudio nutricional de 938 de las 2.586 personas que iniciaron el estudio SENECA se obtuvieron estas mismas diferencias varón-mujer<sup>6</sup>. Amorim Cruz et al publicaron, en 1991, las ingestas de vitaminas y minerales de la población que nos ocupa<sup>9</sup>, se observó una alta variabilidad de un país a otro e incluso dentro del mismo país. La ingesta de vitamina A fue superior en los países del norte de Europa debido a su mayor consumo de leche y derivados. Contrariamente, la ingesta superior de  $\beta$ -caroteno perteneció a los países del sur por su mayor consumo de vegetales y frutas. La ingesta dietética fue dependiente de los países ( $p < 0,01$ ) para todos los nutrientes. El efecto de la edad (cohorte) fue identificado sólo para la ingesta de hierro ( $p < 0,01$ ), mientras que la influencia del sexo se observó para las ingestas de vitaminas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> y B<sub>6</sub>, Ca, Fe ( $p < 0,0001$ ) y vitamina A ( $p < 0,001$ ), no así para la vitamina C y el  $\beta$ -caroteno. Las ingestas de vitamina E y ácido fólico no se recogieron. Los varones tuvieron ingestas más altas de vitamina A en 12 de las 15 ciudades participantes y de  $\beta$ -carotenos en 4 de 9 ciudades. Las mujeres presentaron una densidad de nutrientes superior a la de los varones, posiblemente debido a una mejor selección de alimentos. Respecto a la suplementación, las mujeres no tomaban más suplementos que los varones como apoyaba la bibliografía anterior. Las correlaciones entre las ingestas y los valores en sangre fueron muy bajas, y la distribución no homogénea de los datos obligaba a interpretarlas con cautela.

En el presente trabajo, al estudiar el efecto del tabaco, se observó (tablas 3 y 4) cómo disminuía entre los fumadores la concentración en plasma de carotenos, retinol,  $\alpha$ -tocoferol, ácido fólico y razón  $\alpha$ -tocoferolcolesterol, diferencias que fueron siempre significativas entre los varones. El coeficiente de Spearman (tabla 5) no parece mostrar correlación entre el tabaco y la concentración plasmática de carotenos y vitaminas en mujeres, que sí se dio en el caso de los varones, aunque poco significativa. Estudiando la población total de fumadores, la co-

rrelación más elevada se dio en los carotenos, y le siguió la del retinol y, por último, la del  $\alpha$ -tocoferol y  $\alpha$ -tocoferolcolesterol. No se obtuvo correlación en el caso del ácido fólico. La bibliografía coincide en la depleción de la concentración sérica de carotenoides por el consumo del tabaco. Ascherio et al<sup>28</sup> y Van der Vliet<sup>29</sup>, entre otros, demostraron que los fumadores tenían concentraciones séricas de carotenoides más bajas que los no fumadores; sin embargo, estas diferencias no fueron significativas en el caso del retinol y el  $\alpha$ -tocoferol. Resultados semejantes se han observado en los fumadores pasivos<sup>30</sup>; estos autores no pudieron realizar un estudio dietético para conocer si los fumadores modifican sus hábitos alimentarios, como se ha sugerido<sup>26,31,32</sup>, de forma que la ingesta de estos micronutrientes estuviera significativamente disminuida en éstos. El perfil tan sorprendentemente similar entre fumadores activos y pasivos respecto a las relativas deficiencias de carotenoides sugiere la deplección (oxidativa) selectiva de estos nutrientes por el tabaco. Por otra parte, el efecto selectivo del tabaco sobre los carotenoides respecto al  $\alpha$ -tocoferol, por ejemplo, sugiere que otros factores a parte del estrés oxidativo contribuyan a este efecto.

Farchi et al analizaron el efecto del humo del tabaco en la ingesta de  $\alpha$  y  $\beta$ -carotenos, retinol, ácido ascórbico,  $\alpha$ -tocoferol y licopenos y sus concentraciones en plasma en 1.249 mujeres no fumadoras casadas con varones fumadores<sup>33</sup>. No hubo asociación tabaco-ingesta. Respecto a los valores plasmáticos, se obtuvo una relación inversa en el caso del  $\beta$ -caroteno y el ácido ascórbico, relación tanto más estrecha cuanto más fumador era el marido. En nuestro estudio, también se observó que la concentración plasmática de carotenos fue disminuyendo al aumentar el número de cigarrillos fumados al día (figs. 2 y 3), tanto en varones como en mujeres fumadores.

El estudio Framingham analizó la concentración plasmática de retinol,  $\alpha$  y  $\gamma$ -tocoferol y carotenoides mayoritarios ( $\alpha$  y  $\beta$ , entre ellos) en 638 personas saludables de edades superiores a 65 años<sup>27</sup>. Los varones fumadores presentaron concentraciones de retinol significativamente inferiores a las de los no fumadores; lo mismo sucedió para el  $\beta$ -caroteno en varones y mujeres fumadores respecto a los no fumadores. Sin embargo, no se encontró asociación entre el tabaco y las concentraciones plasmáticas de  $\alpha$ -tocoferol. No obstante, hay estudios con personas de edad que confirman la influencia del tabaco en las concentraciones en plasma de  $\alpha$ -tocoferol<sup>25,26</sup>. Se ha descrito que el consumo de cigarrillos afecta a los valores plasmáticos de  $\alpha$ -tocoferol, si

bien mucho menos que a los de vitamina C y β-carotenos, para los que el tabaco era determinante con independencia de la ingesta. Al analizar el efecto de la edad, se comprobó que la asociación negativa de la edad con las concentraciones en plasma de carotenos era más fuerte entre los fumadores que entre los no fumadores. No sucedió lo mismo en el caso del α-tocoferol, su asociación positiva se atribuyó principalmente al incremento de los lípidos sanguíneos con la edad.

No se detectaron diferencias entre sexos para las concentraciones plasmáticas de ácido fólico; se han descrito resultados similares<sup>34,35</sup> o divergentes<sup>36</sup>. En función del hábito tabáquico, en el presente trabajo se observó que la concentración sérica de fólico disminuía desde la población no fumadora a la fumadora, tanto en varones como en mujeres, si bien la correlación de Spearman no pudo demostrar la fuerza de esta asociación. Sin embargo, las deficiencias más altas observadas para los constituyentes analizados de valores disminuidos correspondieron al ácido fólico, y el grupo de los varones fumadores fue el que presentó las mayores prevalencias.

En resumen, podemos afirmar que aun constatando la diversidad en el estado vitamínico de las personas de edad, los fumadores presentaron concentraciones plasmáticas de carotenos, α-tocoferol y retinol más bajas; la asociación más fuerte es la de la concentración en plasma de carotenos con el número de cigarrillos fumados al día. Ante estos resultados, el abandono del hábito tabáquico sería la primera medida aconsejada. En cualquier caso, los fumadores, incluso los ex fumadores, necesitarían una dieta más rica en frutas y verduras, con alto contenido en vitaminas antioxidantes, que les permitiera alcanzar el mismo estado nutricional que el correspondiente al grupo de no fumadores.

## Bibliografía

1. Eiserich JP, Van der Vliet A, Handelman GJ, Halliwell B, Cross CE. Dietary antioxidants and cigarette smoke-induced biomolecular damage: a complex interaction. *Am J Clin Nutr.* 1995;62 Suppl 6:S1490S-500.
2. Halliwell B, Gutteridge JMC, Cross CE. Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? *J Lab Clin Med.* 1992;119:598-620.
3. Marangon K, Herbeth B, Lecomte E, Paul-Dauphin A, Grolier P, Chancerelle Y, et al. Diet, antioxidant status, and smoking habits in French men. *Am J Clin Nutr.* 1998;67:231-9.
4. Zondervan KT, Ocke MC, Smit HA, Seidell JC. Do dietary and supplementary intakes of antioxidants differ with smoking status? *Int J Epidemiology.* 1996;25:70-9.
5. Shephard TJ. Nutrition and the physiology of aging. En: Young EE, editor. *Nutrition, aging, and health.* New York: Alan R Liss; 1986. p.1-23.
6. Haller J, Weggemann RM, Lammi-Keefe CJ, Ferry M. Changes in the vitamin status of elderly Europeans: plasma vitamins A, E, B-6, B-12, folic acid and carotenoids. *Eur J Clin Nutr.* 1996;50 Suppl 2:S32-46.
7. Lowenstein F. Nutritional status of the elderly in the United States of America, 1971-1974. *J Am Coll Nutr.* 1982;1:165-77.
8. Mertz W. Minerals. En: Horwitz A, Macfayden DM, Munro H, Scrimshaw NS, Steen B, Williams TF, editors. *Nutrition and the elderly.* Oxford: Oxford University Press; 1989. p. 145-63.
9. Amorim Cruz JA, Moreiras-Varela O, Van Staveren WA, Trichopoulou A, Roszkowski W. Intake of vitamins and minerals. *Eur J Clin Nutr.* 1991;45 Suppl 3:121-38.
10. Moreiras O, Carbalaj A, Perea I, Varela-Moreiras G, Ruiz-Roso B. Nutrición y salud de las personas de edad avanzada en Europa: Euronut-SENECA. Estudio en España. 2. Estilo de vida. Estado de salud. Modelo dietético. Hábitos alimentarios. Valoración de la ingesta. *Rev Esp Geriatr Gerontol.* 1993;28:209-29.
11. Carbalaj A, Varela-Moreiras G, Ruiz-Roso B, Perea I, Moreiras O. Nutrición y salud de las personas de edad avanzada en Europa: Euronut-SENECA. Estudio en España. 3. Estado nutritivo: antropometría, hematología, lípidos y vitaminas. *Rev Esp Geriatr Gerontol.* 1993;28:230-42.
12. Moreiras O, Carbalaj A. Antioxidant vitamin intake of the Spanish population: the influence of smoking and alcohol on the status of two age groups. *Bibl Nutr Dieta.* 1994;51:150-6.
13. De Groot CPGM, Van Staveren WA, editors. *Nutrition and the elderly. A European collaborative study in cooperation with the World Health Organization, Special Programme for Research on Aging (WHO-SPRA) and International Union of Nutritional Sciences (IUNS), Committee on Geriatric Nutrition.* Wageningen: Manual of Operations, Euronut Report, 11; 1988.
14. Vuilleumier JP, Keller HE, Gysel D, Hunziker F. Clinical chemical methods for the routine assessment of the vitamin status in human populations. Part I: The fat-soluble vitamins A and E, and β-carotene. *Intern J Vit Nutr Res.* 1983;53:265-72.
15. Gey KF. Observational data in favour of the antioxidant hypothesis of arteriosclerosis. *Nutrition.* 1993;17:322.
16. Thurnham DI. Biochemical assessment of nutritional status. En: Kemm JR, editor. *The vitamin deficiency in the elderly.* Oxford: Blackwell; 1985. p. 46-67.
17. Klasig SA, Pilch SM, editors. *Suggested measures of nutritional status and health conditions. Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III).* Bethesda: Life Sciences Research Office Federation of American Societies for Experimental Biology; 1985.
18. Suter PM, Russell RM. Vitamin requirements of the elderly. *Am J Clin Nutr.* 1987;45:501-12.
19. Pilch SM. Analysis of vitamin A data from the Health and Examination Surveys. *J Nutr.* 1987;117:634-40.
20. Rubba P, Mancini M, Fidanza F, Lecca G, Riemersma RA, Gey KF. Plasma vitamin E, apolipoprotein B and HDL-cholesterol in middle-aged men from Southern Italy. *Atherosclerosis.* 1989;77: 25-9.
21. Haller J, Löwik MRH, Ferry M, Ferro-Luzzi A. Euronut-SENECA study on nutrition and the elderly. Nutritional status: blood vitamins A, E, B6, B12, folic acid and carotene. *Eur J Clin Nutr.* 1991;45 Suppl 3:63S-82S.
22. Gey KF. Optimum plasma levels of antioxidant micronutrients: ten years of antioxidant hypothesis on arteriosclerosis. *Bibl Nutr Dieta.* 1994;51:84-99.
23. Weggemann RM, De Groot CPGM, Haller J. Factors related to plasma folate and vitamin B12. The SENECA study. *Int J Food Sci Nutr.* 1997;48:141-50.
24. Garry PJ, Hunt WC, Bandrofchak JL, Vander Jagt D, Goodwin JS. Vitamin A intake and plasma retinol levels in healthy elderly men and women. *Am J Clin Nutr.* 1987;46:989-94.
25. Herbeth B, Chavance M, Musse M, Mejean L, Vernhes G. Dietary intake and other determinants of blood vitamins in an elderly population. *Eur J Clin Nutr.* 1989;43:175-86.
26. Heseker H, Schneider R. Requirement and supply of vitamin C, E and β-carotene for elderly men and women. *Eur J Clin Nutr.* 1994;48:118-27.
27. Vogel S, Contois JH, Tucker KL, Wilson P WF, Schaefer EJ, Lammi-Keefe CJ. Plasma retinol and plasma lipoprotein tocopherol

- and carotenoid concentrations in healthy elderly participants of the Framingham Heart Study. *Am J Clin Nutr.* 1997;66:950-8.
28. Ascherio A, Stampfer MJ, Colditz GA, Rimm EB, Litin L, Willett WC. Correlations of vitamin A and E intakes with the plasma concentrations of carotenoids and tocopherols among American men and women. *J Nutr.* 1992;122:1792-801.
29. Van der Vliet A. Cigarettes, cancer and carotenoids: a continuing, unresolved antioxidant paradox. *Am J Clin Nutr.* 2000;72:1421-3.
30. Alberg AJ, Chen JC, Zhao H, Hoffman SC, Comstock GW, Helzlsouer KJ. Household exposure to passive cigarette smoking and serum micronutrient concentrations. *Am J Clin Nutr.* 2000;72:1576-82.
31. Dallongeville J, Marécaux N, Fruchart JC, Amouyel P. Cigarette smoking is associated with unhealthy patterns of nutrient intake: a meta-analysis. *J Nutr.* 1998;128:1450-7.
32. Ma J, Hampl JS, Betts NM. Antioxidant intakes and smoking status: data from the continuing survey of food intakes by individuals 1994-1996. *Am J Clin Nutr.* 2000;71:774-80.
33. Farchi S, Forastiere F, Pistelli R, Baldacci S, Simomi M, Perucci CA, et al. Exposure to environmental tobacco smoke is associated with lower plasma  $\beta$ -carotene levels among nonsmoking women married to a smoker. *Cancer Epidemiol Biomark Prev.* 2001;10:907-9.
34. Fernández-Bañares F, Giné JJ, Cabré E, Abad-Lacruz A, Esteve-Comas M, González-Huix F, et al. Factors associated with low values of biochemical vitamin parameters in healthy subjects. *Int J Vit Nutr Res.* 1993;63:68-74.
35. Cals MJ, Bories PN, Devanlay M, Desveaux N, Luciani L, Succari M, et al. Extensive laboratory assessment of nutritional status in fit, health-conscious, elderly people living in the Paris area. *J Am Coll Nutr.* 1994;6:646-57.
36. Ortega RM, Redondo R, Andrés P, Eguileor I. Nutritional assessment of folate and cyanocobalamin status in a Spanish elderly group. *Int J Vit Nutr Res.* 1993;63:17-21.