

“Hot topics” en vitaminas y salud



CÁTEDRA TOMÁS PASCUAL SANZ



CEU
*Universidad
San Pablo*



“Hot topics” en vitaminas y salud

Coordinadores:

Elena Alonso Aperte

Departamento de Ciencias Farmacéuticas
y de la Alimentación. Facultad de Farmacia.
Universidad CEU-San Pablo. Madrid, España.

Gregorio Varela Moreiras

Departamento de Ciencias Farmacéuticas
y de la Alimentación. Facultad de Farmacia.
Universidad CEU-San Pablo. Madrid, España.

© Fundación Tomás Pascual y Pilar Gómez-Cuétara

INSTITUTO TOMÁS PASCUAL SANZ

Dirección postal y correspondencia: Paseo de la Castellana, 178, 3.º Derecha. Madrid 28046

Domicilio fiscal: c/ Orense, 70. Madrid 28020

Tel.: 91 703 04 97. Fax: 91 350 92 18

www.institutotomas Pascual.es • webmasterinstituto@institutotomas Pascual.es

© Universidad San Pablo CEU

Julián Romea 23. 28003 Madrid

Tel.: 91 456 66 00

Coordinación editorial:



Alberto Alcocer, 13, 1.º D. 28036 Madrid

Tel.: 91 353 33 70. Fax: 91 353 33 73

www.imc-sa.es • imc@imc-sa.es

Ni el propietario del copyright, ni los patrocinadores, ni las entidades que avalan esta obra, pueden ser considerados legalmente responsables de la aparición de información inexacta, errónea o difamatoria, siendo los autores los responsables de la misma.

Reservados todos los derechos. Ninguna parte de esta publicación puede ser reproducida, transmitida en ninguna forma o medio alguno, electrónico o mecánico, incluyendo las fotocopias, grabaciones o cualquier sistema de recuperación de almacenaje de información, sin permiso escrito del titular del copyright.

ISBN: 978-84-7867-062-8

Depósito Legal: M-8394-2011

ÍNDICE

Prólogo de D. Ricardo Martí Fluxá	7
Prólogo de D. Rafael Sánchez Saus	9
Presentación de D. ^a Elena Alonso Aperte y D. Gregorio Varela Moreiras	11
CAPÍTULO 1. Bioavailability and biological activity of vitamins in foods: spotlight on folates	13
<i>Maria J. King, Anthony JA. Wright and Paul M. Finglas</i>	
Abstract	13
Introduction	13
Folate: an essential vitamin	15
Folate metabolism and genetic influences	16
Methods to assess folate bioavailability in humans	17
Investigating the site of biotransformation of folic acid in humans	19
Re-defining parameters of the mathematical model for assessing folate bioavailability	20
Conclusions	21
Acknowledgements	21
References	21
CAPÍTULO 2. Influence of food processing on vitamin content and availability	25
<i>Gaspar Ros Berruezo</i>	
Abstract	25
Introduction	25
Vitamin stability under different conditions	27
Mathematical models of vitamin destruction in food	31
References	32
CAPÍTULO 3. Fortificación de alimentos y suplementos vitamínicos: ¿beneficio o riesgo?	35
<i>Elena Alonso Aperte</i>	
Resumen	35
Suplementación, enriquecimiento y fortificación de alimentos. Definición de conceptos	36
¿Qué beneficios cabe esperar de la suplementación vitamínica o la fortificación de alimentos? Hacia la nutrición óptima como objetivo	36
Análisis de los beneficios esperados y los riesgos potenciales derivados de la suplementación farmacológica o la fortificación de alimentos con vitaminas	38
Conclusiones y pautas para la suplementación y fortificación racional	45
“Hot topics” para la fortificación de alimentos y la suplementación vitamínica	45
Bibliografía recomendada	46

CAPÍTULO 4. Paradoxical effects of antioxidant vitamins	49
<i>Ibrahim Elmadfa and Alexa L. Meyer</i>	
Abstract	49
Introduction: reactive molecules-inherent components of the organism	49
Oxidative imbalance: when radicals prevail	50
Prooxidative properties of antioxidant vitamins	52
Effects of antioxidant supplementation: evidence from large intervention studies	53
Conclusion and recommendations	54
References	55
CAPÍTULO 5. New functions of vitamin D and how much do we need?	59
<i>Heike Bischoff-Ferrari</i>	
Introduction	59
Target both muscle and bone	59
Efficacy of vitamin D supplementation on fall and fracture prevention	59
Vitamin D: its role in muscle health	60
Desirable 25-hydroxyvitamin D status for muscle function	60
Vitamin D: its benefit on bone	61
Several recent meta-analyses have addressed the benefit of vitamin D on fracture reduction with conflicting findings	62
Adding calcium to vitamin D	63
Dosing interval of vitamin D	64
Other potential benefits of vitamin D supplementation	64
Are current recommended intakes for vitamin D sufficient for optimal musculoskeletal health?	64
In summary	66
References	66
CAPÍTULO 6. Role of vitamin K₂ in bone and heart health	73
<i>Elke Theuwissen and Cees Vermeer</i>	
Abstract	73
Nomenclature and dietary sources	73
Transport and function	74
Bone health	75
Cardiovascular health	77
Haemostasis	78
Conclusion	79
References	80

CAPÍTULO 7. Ácido fólico y vitamina B₁₂: nuevas funciones, nuevas precauciones 83

Gregorio Varela Moreiras

Resumen	83
Ácido fólico	83
Vitamina B ₁₂	90
Bibliografía recomendada	95

CAPÍTULO 8. Valoración del estado nutricional vitamínico: del laboratorio a la clínica 99

Begoña Olmedilla Alonso

Resumen	99
Introducción	99
Evaluación del estado nutricional	100
Métodos de evaluación del estado nutricional vitamínico en el laboratorio	102
Biomarcadores nutricionales	104
Interpretación de los resultados	105
Biomarcadores del estado nutricional vitamínico	107
Conclusiones	108
Bibliografía recomendada	108

CAPÍTULO 9. Dietary reference intakes, optimal intakes and upper level intakes 111

Rosa M. Ortega and Elena Rodríguez-Rodríguez

Abstract	111
Introduction	111
Recommended intakes	112
Optimal intakes	115
Tolerable Upper Intakes	117
References	120

CAPÍTULO 10. Vitamin status in Europe and Spain. Methodology to estimate vitamin intake adequacy 123

Lluís Serra Majem, Blanca Román Viñas, Lourdes Ribas Barba and Joy Ngo de la Cruz

Abstract	123
Introduction	123
Nutrient recommendations	124
Methodology to calculate nutrient intake adequacy	125
Vitamin intake adequacy in Europe and Spain	126
References	130

CAPÍTULO 11. Errores, mitos y fraude en torno a las vitaminas y la salud	133
<i>Carmen Pérez Rodrigo y Javier Aranceta Bartrina</i>	
Resumen	133
Abstract	133
Introducción	134
Mitos en relación a la ingesta de vitaminas	135
Consumo de suplementos vitamínicos	137
Consumo de suplementos: motivaciones y creencias	139
Efectividad de los suplementos vitamínicos	140
Efectos adversos	142
Conclusiones	143
Bibliografía	143
Conclusiones de las jornadas celebradas en Madrid los días 13 y 14 de abril de 2010	149
<i>Elena Alonso Aperte y Gregorio Varela Moreiras</i>	

PRÓLOGO

Estimado lector:

Bienvenido a la lectura de este primer libro del año 2010, que recoge las ponencias del primer seminario de la Cátedra Tomás Pascual Sanz-Universidad San Pablo CEU.

Tras los cursos de verano y seminarios de los años 2008 y 2009, en los que se trataron temas tan importantes como la obesidad, el envejecimiento de la población y el deporte y actividad física, todos ellos desde un enfoque nutricional práctico y con los últimos avances y descubrimientos en la materia, publicados en sus respectivos libros, en el año 2010, la Cátedra Tomás Pascual Sanz-Universidad CEU San Pablo, dirigida por el profesor Varela, aborda varios temas de la máxima actualidad.

Con tan solo un siglo de edad, las vitaminas se han convertido en uno de los principales focos de la investigación en nutrición, arrojando cada día nuevos descubrimientos que dan luz sobre las relaciones de cada una de ellas con multitud de mecanismos fisiológicos que van más allá de las enfermedades que se ocasionan por su carencia en nuestra dieta y que en muchos casos fue el origen de su descubrimiento. Hoy en día, vitaminas como el ácido fólico, implicado íntimamente en el desarrollo fetal, ahora se sabe que está relacionado directamente con el riesgo cardiovascular; o la vitamina D, con evidencias cada vez más sólidas en relación a la salud cardiovascular, el cáncer y las enfermedades neurodegenerativas; en definitiva, las enfermedades que mayor tasa de mortalidad-morbilidad tienen. En este seminario también se trataron otros aspectos no menos importantes y que están preocupando a la población: la biodisponibilidad de las vitaminas tras su ingestión en nuestra dieta, su permanencia en los alimentos tras el procesado industrial, la seguridad de las mismas, la fortificación y su capacidad aditiva, el balance riesgo beneficio de dicha fortificación, la necesidad o no de la suplementación vitamínica. Y, por supuesto, se analizaron los últimos datos y estudios sobre el estado nutricional de la población en vitaminas tanto en Europa como en España.

La Cátedra Tomás Pascual Sanz-Universidad San Pablo CEU reunió a un gran número de expertos nacionales e internacionales que nos guiaron por sus respectivas especialidades a través de todos estos temas. Desde estas palabras les agradecemos su implicación y colaboración en aquellas jornadas, en especial a aquellos que se desplazaron desde el extranjero. Por supuesto, no podemos olvidar la contribución del equipo del Dr. Varela y la Dra. Alonso, sin cuya dedicación e ilusión no se hubiese cosechado el éxito que tuvieron las jornadas.

Esperamos que con la lectura de este libro, el conocimiento sobre este importante grupo de nutrientes de nuestra dieta se haga más profundo y contribuya a comprender la compleja y profunda relación entre las vitaminas y nuestra salud.

Muchas gracias.

D. Ricardo Martí Fluxá

Presidente del Instituto Tomás Pascual Sanz

PRÓLOGO

En algún lugar de este libro leo que el Dr. Linus Pauling, que santa gloria haya, acumulador de los premios Nobel de Química y de la Paz, sostuvo durante los años 60 del siglo pasado una persistente campaña para inculcar su convencimiento de que la mayoría de la población necesitaba complementar su dieta diaria con altas dosis de vitamina C. Los lectores de mi generación, niños entonces, recordarán cómo, en efecto, se impuso la moda de las pastillas efervescentes con gusto generalmente a naranja que vinieron a sustituir en el botiquín doméstico a otros complementos hasta entonces indispensables, como el aceite de hígado de bacalao o los vinos quinados. Mi familia debió ser una de las pioneras en este cambio, quizá por haber sido mi padre farmacéutico, porque lo cierto es que mis recuerdos infantiles no registran la presencia de estos productos tradicionales y sí, como si los tuviera ahora mismo ante los ojos, los tubos blancos con las atractivas pastillas cuyo nombre comercial permanece indeleble en mi memoria, así como el del laboratorio que las producía.

Aquella primera eclosión y triunfo del consumo de vitaminas estaba vinculada sin duda a lo que se consideraba un progreso que rimaba con otros muchos aspectos de modernización de la vida española. Desde la difusión del televisor a la generalización del automóvil, junto con el pluriempleo que hacía posible todo ello en los hogares, aquellas novedades se plantearon con un aire de candidez y al mismo tiempo de absoluta certeza en la mejora que implicaban y en las que atraerían, que hoy no se suele asociar con aquellos años, sometidos a un severo e inmerecido desprestigio. Las vitaminas efervescentes, como el calcio en sabrosos jarabes de apariencia lechosa, eran un instrumento relevante en el arsenal paterno para asegurarnos una infancia sana y dichosa. Y lo fue, aunque no por esos motivos.

Parece que los años 90 y sucesivos han traído una nueva invasión de vitaminas, instaladas definitivamente en los usos dietéticos de una población ansiosa de cuidados y sometida a todas las presiones del consumismo inmoderado. Preparados energéticos, compuestos orgánicos, alimentos enriquecidos y otras rentables invenciones basadas en la megadosis vitamínica son ingeridos a todas horas por una masa creciente de personas de toda edad y condición, preocupadas no ya por los síntomas de imaginarias enfermedades sino por la sensación de que no están suficientemente inmunizadas, defendidas y blindadas frente a cualquier posible mal futuro. Hasta cuatro millones de envases de estos productos, por valor de casi 30 millones de euros, se consumieron en 2008 en España, donde el 16% de la población adulta reconoce adquirirlos con regularidad. Un porcentaje que, sin embargo, es de los más bajos del mundo desarrollado y que llega a doblarse en los países nórdicos y anglosajones. Con este panorama desquiciado, que aplasta el buen uso de las vitaminas en los casos y momentos médicamente necesarios, se hace del todo conveniente un libro como el presente, que recoge las ponencias del primer seminario de la Cátedra Tomás Pascual Sanz-Universidad San Pablo CEU. Como bien explican sus coordinadores, los doctores

Elena Alonso y Gregorio Varela, en la presentación del volumen, no sólo es necesario avanzar en el conocimiento de lo que verdaderamente pueden aportarnos las vitaminas, también hacerse cargo de las circunstancias sociales y sanitarias en las que se está demandando un consumo creciente y a menudo contraindicado. Es indudable que la lectura atenta de estas páginas puede aportar elementos de juicio muy necesarios para valorar la función que debe reservarse a las vitaminas en el tratamiento de ciertas enfermedades y en la prevención de otras. Como Rector de la Universidad que ha acogido tan importantes jornadas, me llena de satisfacción el ver publicada esta monografía y, aún más, seguir proporcionando en el futuro el ámbito académico y científico que las hizo posibles. Muchas gracias a todos los que han contribuido a ello.

D. Rafael Sánchez Saus

Rector de la Universidad San Pablo-CEU

PRESENTACIÓN

Las vitaminas son los micronutrientes que constituyen, probablemente, el mejor ejemplo en el mundo de la nutrición de cambio en la forma de pensar gracias al avance científico. Las vitaminas fueron los últimos nutrientes en descubrirse y sintetizarse, en ese periodo que ha venido a denominarse Revolución de las Vitaminas, y que ocupó la primera mitad del siglo xx. Eran aquellos tiempos en que enfermedades carenciales o deficitarias como escorbuto, beri-beri, pelagra o raquitismo aún eran prevalentes en gran parte del mundo. El descubrimiento y la posterior síntesis de las vitaminas como constituyentes esenciales supusieron la práctica erradicación de las mismas, fundamentalmente en los países occidentales. Sin embargo, más recientemente surge lo que se podría considerar como Segunda Revolución de las Vitaminas, todavía abierta y con muchos interrogantes. Es ésta una etapa en la que se discute un nuevo papel para algunos de estos micronutrientes: prevención de enfermedades degenerativas, precisamente las que más contribuyen a la morbimortalidad en nuestras sociedades occidentales; también la posible relación de las vitaminas antioxidantes con las enfermedades cardiovasculares, con resultados muy recientes que de alguna manera han eclipsado las esperanzas de hace apenas 5 años; algunas formas de cáncer o el propio proceso de envejecimiento fisiológico; la nueva función para el ácido fólico en la prevención de malformaciones congénitas de nacimiento y la disminución del riesgo cardiovascular, o el importante papel potencial de la vitamina D y la vitamina K en el mantenimiento de la salud ósea a lo largo de la vida. Estas nuevas funciones han provocado un gran interés por parte de los clínicos y la propia sociedad por una alimentación sana, y como consecuencia la industria alimentaria, así como las autoridades sanitarias, en conocer no sólo los posibles mecanismos por los que actuarían las vitaminas, sino también por conocer cuál es el estatus nutricional de estos componentes en la dieta, cómo se encuentran en los alimentos y cómo se modifican como consecuencia de los procesos culinarios y tecnológicos a los que los sometemos.

La preocupación existente sobre la necesidad o no de tomar suplementos vitamínicos, la importancia de la fortificación alimentaria, así como la problemática del abuso y la toxicidad derivada, son otros aspectos de gran actualidad. En este sentido, recordemos también que hoy no es suficiente la determinación analítica de las vitaminas en su fuente principal, los alimentos, sino que es necesario en la mayoría de los casos conocer su biodisponibilidad. En muchas ocasiones no basta con conocer la influencia de los procesos en la fase de preingestión: factores como la obtención y producción de alimentos y de sus asociaciones en las recetas culinarias. Ahora sabemos que en muchos casos su valor nutritivo no es aditivo de los alimentos que las forman, como tampoco tienen por qué serlo las pérdidas de este valor en los procesos industriales y culinarios. Por supuesto, es en los procesos postingestión, especialmente en la digestibilidad y metabólica, donde la biodisponibilidad tiene un campo de pleno desarrollo y que ha aclarado muchos aspectos y problemas de la utilización nutricional de los nutrientes en general, y de especial importancia en el caso de las vitaminas. Además,

la mejora de las técnicas analíticas con sensibilidad suficiente para detectarlas en fluidos biológicos es la llave que ha permitido adelantar en este campo, aunque todavía no conocemos biomarcadores adecuados para conocer el estado en muchas vitaminas. Por todo lo anterior, el presente libro, a través de los diferentes capítulos, realiza un magnífico recorrido en el que se analiza y recuerda el papel de las vitaminas en las enfermedades carenciales, una visión tradicional, pero necesaria; igualmente se dedican varios capítulos a la revisión y discusión de la nueva función de las vitaminas en la etiología y/o prevención de ciertas patologías, de manera especial: malformaciones congénitas, enfermedades cardiovasculares, cáncer, enfermedades neurodegenerativas y osteoporosis.

Ante esta nueva situación, en el libro se trata de responder a las preguntas: ¿son necesarios los suplementos vitamínicos?; ¿es necesario realizar políticas nutricionales de fortificación de alimentos con vitaminas? Ello da lugar en otro capítulo a la evaluación de las vitaminas como base de alimentos funcionales, así como conocer la influencia y repercusión de los procesos industriales y culinarios sobre el contenido en vitaminas de los alimentos. De gran interés resulta igualmente la información que se proporciona sobre el estado vitamínico de la población española y europea, así como los métodos y marcadores más utilizados y fiables de valoración del estado nutricional vitamínico. Finalmente, se ha querido contribuir a un mejor conocimiento y actualización de los mitos y creencias que de manera demasiado frecuente se encuentran en el campo de las vitaminas, en los aspectos de publicidad, marketing, medios de comunicación, etc.

Como coordinadores de las jornadas y de la presente monografía, queremos expresar nuestro más sincero agradecimiento a los autores, por su disponibilidad y elevado nivel científico y de discusión. De una misma forma, nos congratulamos y agradecemos el que las jornadas se pudieran celebrar en la sede de la Universidad CEU San Pablo de Madrid, por su continuado apoyo a los temas de investigación y difusión de diferentes temáticas de nutrición. Y una vez más, a la Cátedra Tomás Pascual Sanz en Alimentación y Salud, de la Facultad de Farmacia de la Universidad CEU San Pablo, por el patrocinio de las jornadas, y la labor continuada que nos permite realizar en alimentación y salud. Y a usted, participante y lector, por estar siempre ahí. A todos, muchas gracias.

D.^a Elena Alonso Aperte

Departamento de Ciencias Farmacéuticas
y de la Alimentación. Facultad de Farmacia.
Universidad CEU-San Pablo. Madrid, España.

D. Gregorio Varela Moreiras

Departamento de Ciencias Farmacéuticas
y de la Alimentación. Facultad de Farmacia.
Universidad CEU-San Pablo. Madrid, España.

Bioavailability and biological activity of vitamins in foods: spotlight on folates

Maria J. King, Anthony JA. Wright and Paul M. Finglas

Institute of Food Research, Norwich, United Kingdom.

Abstract

Vitamins are essential for human health and are derived naturally from foods, or in the form of synthetic supplements or fortificants in food. Bioavailability of vitamins, which is the proportion of vitamin which can be utilised by the body, is dependent on many factors including food processing/cooking, absorption from the gut, distribution into circulating blood, individual variation in metabolism, and entry of the vitamin into target tissues in order to exert its effect. The biological activity of a vitamin is described as the effect that it has on the body, and is also dependent on the vitamins' bioavailability. Vitamins can be fat-or-water-soluble, and have diverse biological activities. In this article, we focus on the experimental approaches which have been used to investigate the bioavailability of folate, an essential B vitamin. Folates are required for DNA synthesis and repair, methylation reactions which control gene expression, neurotransmitter synthesis, and other essential one-carbon reactions. Low folate status has been associated with increased risk of neural tube defects in newborns, and a number of diseases in adults including cardiovascular disease, stroke, impaired cognition and depression. A number of experimental approaches, including both short- and long-term human intervention studies, different routes of folate administration, the use of isotopic tracer molecules and mathematical models are described. Recent availability of synthetic nature-identical folate vitamers, stable isotope-labelled forms of folate vitamers, and the exploitation of new -omics technologies, as well as novel methodologies in human studies will help to increase our knowledge on the complexity of folate bioavailability.

Key words

Vitamins, Folates, Bioavailability, Bioactivity, Humans, Food.

Introduction

The term vitamin is derived from the latin *vitamine*, or amine of life. This is because it was originally thought that organic micronutrients which could prevent dietary deficiency diseases such as beri beri (deficiency in the vitamin thiamine, which is characterised by severe lethargy and has effects on the cardiovascular nervous, muscular and gastrointestinal systems) might be amines. Vitamins are now considered as any chemical compound which cannot be synthesised in suffi-

cient quantities by an organism, and must be obtained from the diet. It is one class of essential nutrient; the others being micronutrients, essential fatty acids and essential amino acids.

Bioavailability of vitamins can be defined as the proportion which is absorbed and utilised by the body (Krebs, 2001). Bioavailability is dependent on a number of factors including digestion of the food matrix in which the vitamin is found (known as bioaccessibility), absorption across the gut (initial fractional absorption) and physiological factors such as distribution of the nutrient in circulating blood, individual variation in metabolism and entry of the vitamin into target tissues/body fluids. Bioaccessibility of a vitamin is influenced by age, gut microflora and the food matrix itself. The beneficial effect of vitamins on the body is termed biological activity, and vitamins require bioconversion or biotransformation from one chemical form to another in order to exert their effects. There are a number of methods to measure bioavailability of nutrients, including studies where tracer nutrient molecules are used, for example, nutrients containing a stable isotope to increase its molecular mass, followed by detection of these labelled tracers by sensitive analytical methods such as HPLC and Mass Spectrometry.

Vitamins can be either fat or water-soluble. These properties greatly influence the bioavailability of these vitamin classes to the body. Table 1 classifies the vitamins into their solubility in fat or water. Fat-soluble vitamins generally require some dietary fat intake in order to be taken up by the body, and once ingested, are likely to accumulate within the body. Water-soluble vitamins are more readily excreted from the body, thus a consistent dietary intake is required. Furthermore, water-soluble vitamins are more likely to be destroyed during cooking processes such as the boiling of vegetables. This article spotlights the water-soluble vitamin folate and recent advances in methodologies used to assess bioavailability and metabolism in humans.

Table 1. Fat and water soluble vitamins and their alternative names and chemical forms (vitamers)

FAT SOLUBLE VITAMINS	ALTERNATIVE NAME/FORMS
Vitamin A	Retinol (vit A ₁), 3-hydroretinol (vit A ₂), provitamin A (carotenoids)
Vitamin D	Cholecalciferol (vitamin D ₃)
Vitamin E	Tocopherols, tocotrienols
Vitamin K	Phylloquinone
WATER SOLUBLE VITAMINS	ALTERNATIVE NAME/FORMS
Vitamin B ₁	Thiamin
Vitamin B ₂	Riboflavin
Vitamin B ₆	Pyridoxal, pyridoxol, pyridoxamine

Continues

Table 1. Continuation

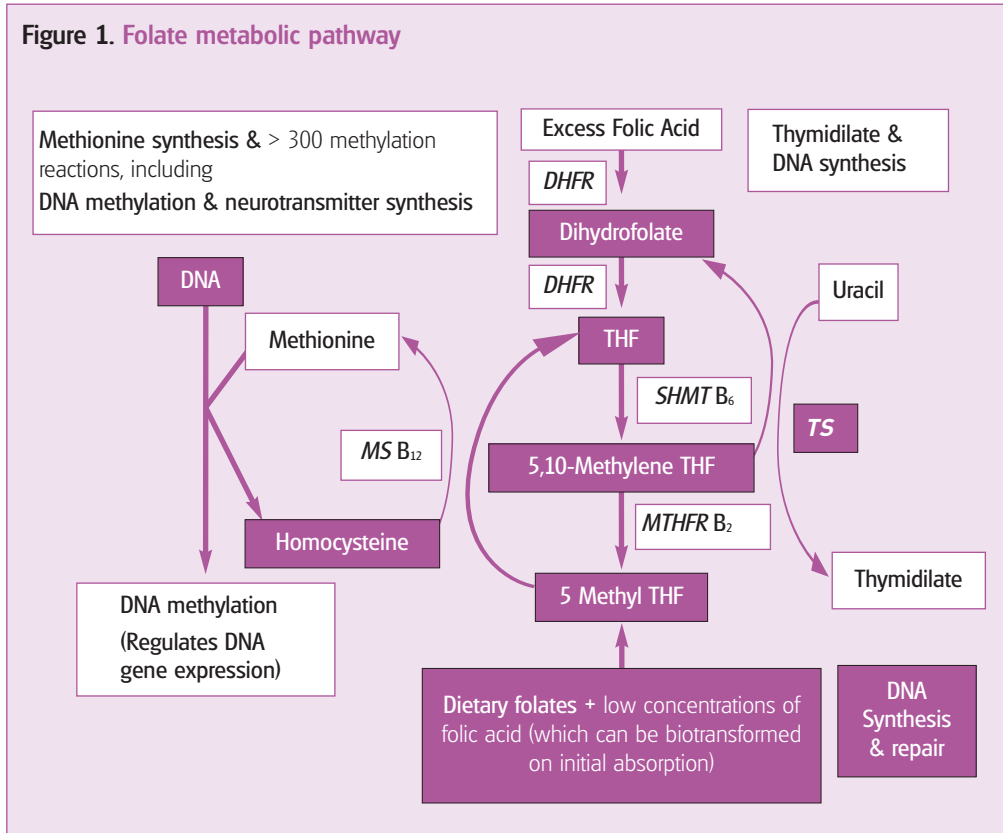
WATER SOLUBLE VITAMINS	ALTERNATIVE NAME/FORMS
Niacin	Nicotinic acid, nicotinamide, NAD(H)+, NADP(H)+
Biotin	Vitamin H
Pantothenic acid	Vitamin B ₅
Vitamin B ₉ (folate)	Folate, folic acid (synthetic)
Vitamin B ₁₂	Methylcobalamin, adenylobalamin (in pharmaceuticals)
Vitamin C	Ascorbate, dehydroascorbate

Folate: an essential vitamin

Folate belongs to a group of water-soluble B vitamins (classed as vitamin B₉), which has been studied extensively. It can be given as a supplement in the form of folic acid (pteroylmonoglutamate), and the natural form in foods is predominantly a reduced, methylated form known as 5-methyltetrahydrofolate.

Folates are essential for one-carbon transfer reactions in a number of metabolic pathways including purine and pyrimidine metabolism, necessary for DNA synthesis. Other outcomes of its metabolism in the body include DNA methylation reactions, methionine synthesis and the regulation of homocysteine levels in the body. Low maternal folate levels are associated with an increased risk of abnormal development of the newborn, particularly neural tube defects (e.g. Spina Bifida; MRC Vitamin research group, 1991). In adults, low folate status is associated with increased risk of anaemia, vascular disease, stroke, impaired cognition in the elderly, and, more recently, depression (Wickramasinghe, 2006; Boushey *et al*, 1995; Gilbody *et al*, 2007). Folate bioavailability has long been a subject of extensive research, due to the level of complexity. Folates exist in a number of chemical forms, can be mono- or polyglutamates, and have a complex metabolic pathway which requires a number of other nutrients acting as co-factors (figure 1). Furthermore, there are a number of genetic variants of many of the key enzymes involved in folate metabolism.

Naturally-occurring folates in food are generally reduced and methylated chemical forms, which are also polyglutamated. In order to be absorbed by the body, the polyglutamate chains must be removed, so that the monoglutamate form can pass through the jejunum. Folic acid exists as a monoglutamate, either in fortified foods or in supplements, thus does not require hydrolysis at the gut. Removal of the polyglutamate chains is carried out by glutamyl carboxypeptidase II; the activity of this enzyme, optimal at pH 6-7 can be influenced by diet-induced changes to gut pH, as well as drugs which may interfere with activity (McNulty & Pentieva, 2004). Since folate is a water-soluble vitamin, food sources may be lost during cooking or processing, thus availability of the nutrient is greatly reduced (McKillop *et al*, 2002).



Folate metabolism and genetic influences

Folate metabolism is also referred to as one-carbon metabolism, since the folate functions in the transfer of one-carbon units which may be used for interconversions of serine and glycine, the synthesis of nucleotides such as thymidine and purines or the production of methionine from homocysteine. Folates are involved in a number of methylation reactions resulting in the production of neurotransmitters, as well as being involved in DNA methylation reactions. There are a number of enzymes which are involved in the folate metabolism pathway. Genetic variants exist for a number of these enzymes, which may affect efficiency of metabolism (listed in table 2). A key enzyme is Methylenetetrahydro-folate reductase (MTHFR), which has 2 known variants at different positions. The G-T transition at position 677 results in the expression of a heat-labile enzyme with reduced activity. Since MTHFR plays a major role in the folate metabolic pathway (figure 1), this single nucleotide polymorphism (SNP) is one of the most-researched. The second SNP in MTHFR is an A-C transition at position 1298 (Van der Put *et al*, 1998). Other genes in the metabolic pathway for which variants are known to exist include an A-G transition at position 2576 in the Methionine Synthetase (MTR or MS) gene (Leclerc *et al*, 1996), a G-A transition at position 66 in the Methionine

synthase reductase (MTRR) gene (Wilson *et al*, 1999), and a C-T transition at position 1420 in serine hydroxymethyltransferase (SHMT) gene (Heil *et al*, 2001). Others exist at other parts of the folate pathway, including a deletion in DHFR (which is involved in converting folic acid to reduced folates in order for folic acid to enter the metabolic pathway (Johnson *et al*, 2004) and variants in Reduced Folate Carrier (Morin *et al*, 2003), folypoly-gamma-glutamate synthetase (FPGS, involved in conversion of monoglutamates of folates into polyglutamates in order for folates to exert their biological activity; Leclerc & Barredo, 2001), and folypoly-gamma glutamate hydrolase (GGH; Chave *et al*, 2003) which has the opposite role to FPGS, by removing polyglutamate chains and allowing release of folates from cells.

Table 2. Some common folate metabolism-associated polymorphisms and their SNP ID numbers. The amino acid transition arising from the SNP variation is also listed for MTHFD1 and GGH genes (underlined)

FULL GENE NAME	ABBREVIATION AND VARIATION (SNP ID)
Methylenetetrahydrofolate reductase	MTHFR 677 C-T (rs1801133)
Methylenetetrahydrofolate reductase	MTHFR 1298 A-C (rs1801131)
Methionine synthase	MTR 1256A-G (rs1805087)
Methionine synthase reductase	MTRR 66A-G (rs180139)
Methylenetetrahydrofolate dehydrogenase 1	MTHD1 1958 G-A; <u>R653Q</u> (rs2236225)
Serine hydroxymethyltransferase	SHMT 1470C-T (rs1979277)
Reduced folate carrier	SCL19A1 (REFC) A80G (rs1051266)
Foly-poly-gamma-glutamate hydrolase	GGH 452C-T; <u>T127I</u> (rs11545078)
Dihydrofolate reductase	19bp intron deletion.
Thymidylate synthetase	TYMS 2repeat/3repeat polymorphism

Methods to assess folate bioavailability in humans

There are a number of methods by which folate bioavailability can be assessed; these are short or longer term human studies, and kinetic studies in humans which utilise isotopic tracers.

Short term human studies

These studies tend to look at a single oral dose of one type of folate, compared to a single intravenous dose of another type of folate, administered at the same time. Blood and urine samples are collected over the short term, and folate concentrations measured in the timed samples. For

example, plasma or serum folate levels can be assessed over time following a single oral dose of folate relative to a Folic Acid reference dose administered intravenously (IV). This can be oral administration of one type of folate compared to IV administration of folic acid, or even the same chemical forms of folate (e.g. folic acid) which are differentially tagged with isotopic labels. Normally Area-Under the curve (AUC) measurements are carried out, following the increase in plasma/ serum folate concentration above fasting baseline levels over time post-administration. In pharmacokinetic terms, bioavailability can be defined as the ratio of AUC derived from an oral dose to the AUC derived from the IV dose (Rowlan M & Tozer TN, 1989). Dual oral/intravenous doses of different folates, or the same folate which is labelled differentially with isotopic tracers have been used in short-term studies on healthy human subjects. Rogers *et al*, (1997) used a study of this design, where folic acid was labelled either as $^{13}\text{C}_5$ or $^2\text{H}_2$. One form ($^{13}\text{C}_5$ -FA) was administered orally, and the second FA ($^2\text{H}_2$) was administered intravenously. Mean AUCs for plasma folates were measured up to 9 hours post-dose. Ratios of labelled/unlabelled AUCs were reported in this paper. It was found that the $2\text{H}/1\text{H}$ AUC ratio was approximately 4-fold higher than the $^{13}\text{C}_5/1\text{H}$ ratio. So, response to the intravenous dose was very different to the response to oral dose, despite the oral dose being 4 times more concentrated (1,010 nmol) than the IV dose (226 nmol). This indicated that there are large differences in the response to FA when administered by different routes. Thus, route of administration is important, as it seems that oral doses of test folates can be taken up by the liver in enterohepatic recirculation. The limitation of dual-label isotope studies where route of dose administration is different has been recognised by other groups (e.g. Melse-Boonstra *et al*, 2006).

Similar problems have arisen from our own findings (Wright *et al*, 2003), where 2 different folate vitamers were administered orally ($^{13}\text{C}_6$ -labelled folic acid, 630 nmol; and $^{13}\text{C}_6$ -labelled 5-formyltetrahydrofolate, 431-569 nmol), followed by blood sampling for 8 hours post-dose, and measurement of folates by Liquid chromatography-Mass spectrometry (LC-MS). A greater increase in non-labelled 5-MTHF was detected in plasma compared to labelled 5-MTHF. There was also a delay in response from the labelled FA dose, suggesting that the FA may have been taken up by the liver initially. This finding, coupled with the apparent displacement of endogenous folate which was then detected in plasma, led to the hypothesis that physiological doses of folic acid may enter the portal vein (serving the liver from the gut) unmodified, and undergo biotransformation at the liver as opposed to the gut lumen.

Similar studies have also been carried out using not only pure folates, but also food folates. Wright *et al*, (2005) used ^{15}N -intrinsically labelled spinach as well as the above 2 labelled folates in a single dose short-term study to assess effects of the food matrix on folate bioavailability. Mathematical modelling was then used to investigate relative absorption and thus bioavailability of the folates (Wright *et al*, 2005).

Long term studies

Longer term bioavailability studies in which human subjects are asked to consume either folate supplements or increase dietary folate intake are common. Many of these look not only at the body's

response to changes in folate intake in terms of folate status, but also response in terms of biomarkers such as plasma total Homocysteine (tHcy). Homocysteine levels are regulated by the folate metabolic pathway; adequate folate status results in remethylation of homocysteine to methionine via the action of methyl synthetase (MS), requiring vitamin B₁₂ as a cofactor. Long term folate intervention studies may take the form of investigating one type of method for increasing folate intake (for example a supplement) but looking at different levels of intake. Venn *et al* (2002) aimed to increase folate intake in individuals with high baseline tHcy (> 10 µmol/l) by provision of a breakfast cereal which was either unfortified (control) or fortified with Folic Acid at different levels up to 300 µg. After 4 weeks intervention, even intervention with 100 µg folic acid-fortified breakfast cereal was sufficient to lower tHcy in those at the upper limit of the normal tHcy range. Another example of two levels of intervention being used is that of Lamers *et al* (2004), where supplements of either Folic acid (400 µg) or [6S]-5-methyltetrahydrofolate (200 or 400 µg) were used in a placebo-controlled study in women. However, it was found that although folate status increased, the decrease in tHcy did not differ between groups. In some of these studies, genotype, particularly the MTHFR variant C677T, has also been considered, since this may impact on folate metabolism, and thus bioavailability. It has been found in a number of studies that at baseline, folate status is lower, and tHcy levels are greater in those with a TT genotype (Ashfield-Watt *et al*, 2002; Hung *et al*, 2006). We have recently completed a 2-centre long-term study in which healthy male and female volunteers from 2 areas of the UK were invited to participate in a 16-week long placebo-controlled intervention study. Volunteers were asked to consume either a Folic Acid Supplement (200 µg/day), a placebo supplement (control group), or consume extra portions of folate-rich food derived from natural sources on top of their normal diet (target increase in folate 200µg/day). In the Norwich cohort, a 4th group were provided with [6S]-5-methyltetrahydrofolate supplement (200 µg/day). Plasma and red cell folate status, lipid biomarkers, vascular function and total Homocysteine were measured pre-and post-intervention.

Such studies give a better understanding of long term response to changes in folate status in a general population. However, long-term studies in free-living individuals can be difficult to control in terms of compliance to the intervention. Thus, these studies require a lot of regulation throughout their duration.

When attempting to assess bioavailability in either short or long-term studies, it would seem that Folic Acid is not the ideal folate form to use as a reference folate (Wright *et al*, 2010). It is likely that differences in enteropathic recirculation of folic acid compared to 5-MTHF, and the requirement of bioconversion to a reduced folate form in order for it to enter the metabolic pathway, plays a part in the differences in response seen between folic acid and reduced folates in human studies.

Investigating the site of biotransformation of folic acid in humans

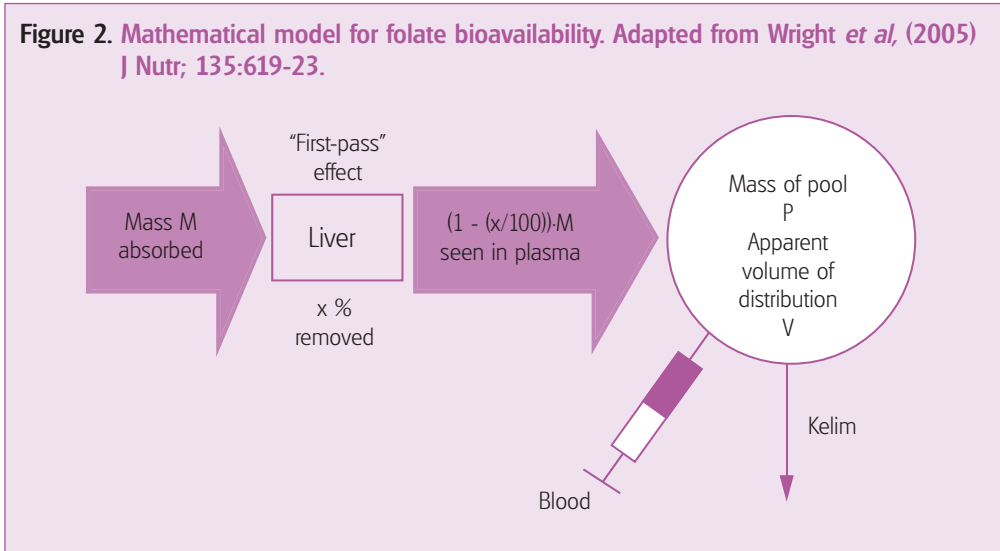
It is known that at high doses, folic acid can be found unmetabolized in the systemic circulation. The current widely-accepted view is that Folic acid is reduced in absorptive gut cells prior to entry

into the portal vein for transport to the liver, prior to redistribution through the body. However, the fact that unmetabolized FA has been found in the body suggests that if this is true, then there is point at which the process is saturated. Furthermore, Wright *et al* (2005) have proposed that FA is actually reduced at the liver, rather than the gut, and enters the portal vein unchanged. In order to answer the question of where the site of folic acid biotransformation occurs, we are currently running a study in which blood from the portal vein will be examined for folic acid following an oral dose of $^{13}\text{C}_5$ -labelled FA. Ordinarily, access to the portal vein is almost impossible in humans, and very invasive. However, there are a population of patients who have a transjugular intrahepatic portal systemic shunt (TIPSS), which is a type of stent used to reduce pressure within the portal vein in cases of liver dysfunction (e.g. if the liver has scarring due to damage or disease such as cirrhosis). The stents are checked periodically for blockages and in some cases (where older style TIPSS have been used), this requires direct access to the portal vein (Stanley *et al*, 1996). Use of TIPSS patients to assess insulin secretion has previously been reported, where the Insulin study took place alongside routine TIPSS patency checks (Song *et al*, 2000). In the FOLTIPSS study, this monitoring method will be utilised in order to be able to access portal blood. Patients will be provided with an oral dose of either $^{13}\text{C}_5$ -labelled Folic Acid or $^{13}\text{C}_5$ -labelled 5-FTHF as an oral dose at physiological levels in water. Following consumption of the dose, both portal and systemic blood samples will be taken, and the $^{13}\text{C}_5$ -labelled folates traced in both samples. Presence of $^{13}\text{C}_5$ -labelled folic acid in portal but not systemic blood samples would suggest that FA does indeed enter the portal vein unaltered, and that the site of bioconversion is the liver. We plan to use our mathematical model to track changes in folate levels over time in these samples.

Re-defining parameters of the mathematical model for assessing folate bioavailability

The mathematical model used has been reported in the short-term bioavailability study where oral labelled folates were compared to spinach in which the folates were intrinsically labelled (Wright *et al*, 2005; figure 2). The calculation uses a constant for the Volume of Distribution (V): the value used is that reported by Loew *et al* (1987). However, this value was derived from an intramuscular dose of Folic acid. Volume of Distribution is a pharmacological term, and is the theoretical volume of fluid a drug or nutrient would have to be diluted into, in order to produce the concentration seen in blood plasma when measured. It gives a convenient way of describing how well a nutrient or drug is removed from plasma and distributed into tissues. In order to reassess volume of distribution for folates, we are conducting a study in which healthy volunteers are given an intravenous physiological dose of $^{13}\text{C}_5$ -labelled 5-MTHF. Plasma samples are taken at regular time intervals post-dose, and the clearance of $^{13}\text{C}_5$ -5-MTHF from the plasma is monitored. By mathematical extrapolation of the clearance curves, a volume of distribution can be calculated. We are using natural folate at physiological doses so that it acts more like the most common circulating folate form in plasma, and intravenous administration to prevent any potential losses to surrounding tissues, which could occur by intramuscular administration.

Figure 2. Mathematical model for folate bioavailability. Adapted from Wright *et al*, (2005) *J Nutr*; 135:619-23.



Conclusions

Research into folate bioavailability has come a long way in the past 20 years, and the development of sensitive analytical methods, and the use of stable isotope tracers has improved knowledge of folates greatly. Furthermore, the potential use of *in vivo* human models such as those used in the FOLTIPSS study, allows us to answer questions that have eluded us for years. Further research into the use of suitable biomarkers, and the application of -omics technology will greatly enhance our knowledge on the complexity of folate bioavailability and metabolism in humans.

Acknowledgements

Funded by the EU (Folate Func Health), Food Standards Agency, and BBSRC core strategic and response-mode grants.

References

- Ashfield-Watt PAL, Pullin CH, Whiting JM, Clark ZE, Moat SJ, Newcombe RG, Burr ML, Lewis MJ, Powers HJ, McDowell IFW. *Methylenetetrahydrofolate reductase 677 C-T genotype modulates homocysteine responses to a folate-rich diet or a low-dose folic acid supplement: a randomised controlled trial. Am J Clin Nutr*, 2002; 76:180-5.
- Boushey CJ, Beresford SAA, Omenn GS, Motulsky AG. *A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease-probable benefits of increasing folic acid intakes. J Am Med Assoc*, 1995; 274:1.049-57.
- Chave KJ, Ryan TJ, Chmura SE, Galivan J. *Identification of single nucleotide polymorphisms in the human gamma-glutamyl hydrolase gene and characterisation of promoter polymorphisms. Gene*, 2003; 319:167-75.

Gilbody S, Lightfoot T, Sheldon T. Is low folate a risk factor for depression? A meta-analysis and exploration of heterogeneity. *J Epidemiol Community Health*, 2007; 61:631-7.

Heil SG, Van der Put NM, Waas ET, Van Heijer M, Trijbels FJ, Blom HJ. Is mutated serine hydroxymethyltransferase (SHMT) involved in the etiology of neural tube defects? *Mol Genet Metab*, 2001; 73(2):164-72.

Hung J, Yang TL, Urrutia TF, Li R, Perry CA, Hata H, Cogger EA, Moriarty DJ, Caudill MA. Additional food folate derived from natural sources improves folate status in young women with the MTHFR 677 CC or TT. *J Nutr Biochem*, 2006; 17:728-34.

Johnson WG, Stenroos ES, Spychala JR, Chatkupt S, Ming SX, Buyske S. New 19bp deletion polymorphism in intron-1 of dihydrofolate reductase (DHFR): a risk factor for spina bifida acting in mothers during pregnancy? *Am J Med Genet*, 2004; 124A:339-45.

Krebs NJ. Bioavailability of dietary supplements and impact of physiologic state: infants, children and adolescents. *J Nutr*, 2001; 131:1.351S-4S.

Lamers Y, Prinz-Langenohl R, Moser R, Pietrzik K. Supplementation with [6S]-5-methyltetrahydrofolate or folic acid equally reduces plasma total homocysteine concentrations in healthy women. *Am J Clin Nutr*, 2004; 79:473-8.

Leclerc D, Campeau E, Goyette P, et al. Human methionine synthase: cDNA cloning and identification of mutations in patients of the cblG complementation group of folate/cobalamin disorders. *Hum Mol Genet*, 1996; 5(12):1.867-4.

Leclerc GJ, Barredo JC. Folypoly-gamma-glutamate synthetase gene mRNA splice variants and protein expression in primary leukaemia cells, cell lines and normal tissues. *Clin Cancer Res*, 2001; 7(4):942-9.

Loew D, Eberhardt A, Hesecker H, Kubler W. Zur plasmakinetik und Elimination von Folsaure. *Klin Wochenschr*, 1987; 65:520-4.

McKillop D, Pentieva K, Daly D, McPartlin JM, Hughes J, Strain JJ, Scott JM, McNulty H. The effect of different cooking methods on folate retention in various foods which are amongst the major contributors to folate intake in the UK diet. *Br J Nutr*, 2002; 88:681-8.

McNulty H, Pentieva K. Folate Bioavailability. *Proc Nut Soc*, 2004; 63:S29-36.

Melse-Boonstra A, Verhoef P, West CE, Van Rijen JA, Van Breemen RB, Lasaroms JJP, Garbis SD, Katan MB, Kok FJ. A dual-isotope-labelling method of studying the bioavailability of hexaglutamyl folic acid relative to that of monoglutamyl folic acid in humans by using multiple orally administered doses. *Am J Clin Nutr*, 2006; 84:1.128-33.

Morin I, Devlin AM, Leclerc D, Sabbaghian N, Halsted CH, Finnell R, et al. Evaluation of genetic variants in the reduced folate carrier and in glutamate carboxypeptidase II for spina bifida risk. *Mol Gen Metab*, 2003; 79:197-200.

MRC Vitamin study research group. Prevention of neural tube defects: results of the Medical Research Council Vitamin Study. *Lancet*, 1991; 338:131-7.

Rogers LM, Pfeiffer CM, Bailey LB, Gregory JF III. A dual-label stable-isotopic protocol is suitable for determination of folate bioavailability in humans: evaluation of urinary excretion and plasma folate kinetics of intravenous and oral doses of $^{13}\text{C}_5$ and $^2\text{H}_2$ folic acid. *J Nutr*, 1997; 127:2.321-7.

Rowlan M, Tozer TN. *Clinical pharmacokinetics: concepts and applications*. Lea and Febiger, Philadelphia, USA, 1989.

Song SH, McIntyre SS, Shah H, Veldhuis JD, Hayes PC, Butler PC. Direct measurement of pulsatile insulin secretion from the portal vein in human subjects. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000; 85:4.491-9.

Stanley AJ, Jalan R, Forrest EH, Redhead DN, Hayes PC. Long term follow up of transjugular intrahepatic portosystemic stent shunt (TIPSS) for the treatment of portal hypertension: results in 130 patients. *Gut*, 1996; 39(3):479-85.

Van der Put NM, Gabreels F, Stevens EM, Smetinik JM, Trijbels FJ, Eskes TK, et al. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural tube defects? *Am J Genet*, 1998; 692:1.044-51.

Venn BJ, Mann JI, Williams SM, Riddell LJ, Chisholm A, Harper MJ, Aitken W, Rossaak JJ. Assessment of three levels of folic acid on serum folate and plasma homocysteine: a randomised, placebo-controlled double-blind dietary intervention trial. *Eur J Clin Nutr*, 2002; 56(8):748-54.

Wickramasinghe SN. Diagnosis of megaloblastic anaemia. *Blood Rev*, 2006; 20(6):299-318.

Wilson A, Platt R, Wu Q, Leclerc D, Christensen B, Yang H, Gravel RA, Rozen R. A common variant in methionine synthase reductase combined with low cobalamin (vitamin B₁₂) increases risk of spina bifida. *Mol Genet Metab*, 1999; 67(4):317-23.

Wright AJA, Finglas PM, Dainty JR, Hart DJ, Wolfe CA, Southon S, Gregory JF. Single oral doses of 13C forms of pteroylmonoglutamic acid and 5-formyltetrahydrofolic acid elicit differences in short-term kinetics of labelled and unlabelled folates in plasma: potential problems in interpretation of folate bioavailability studies. *Br J Nutr*, 2003; 90:363-71.

Wright AJA, Finglas PM, Dainty JR, Wolfe CA, Hart DJ, Wright DM, Gregory JF. Differential kinetic behaviour and distribution for pteroylglutamic acid and reduced folates: a revised hypothesis of the primary site of PteGLu metabolism in humans. *J Nutr*, 2005; 135:619-23.

Wright AJA, King MJ, Wolfe CA, Powers HJ, Finglas PM. Comparison of (6S)-methyltetrahydrofolic acid v. folic acid as the reference folate in longer term human dietary intervention studies assessing the relative bioavailability of food folates: comparative changes in folate status following a 16 -week placebo-controlled study in healthy adults. *Br J Nutr*, 2010; 103:724-9.

Influence of food processing on vitamin content and availability

Gaspar Ros Berruezo

Catedrático de Nutrición y Bromatología. Facultad de Veterinaria.
Universidad de Murcia, España.

Abstract

Vitamin losses vary widely according to cooking method and type of food. Degradation of vitamins depends on specific conditions during the culinary process, e.g., temperature, presence of oxygen, light, moisture, pH, and, of course, duration of heat treatment. The most labile vitamins during culinary processes are retinol (vegetable boiling, 33% retention), vitamin C (the most damaging factors are cooking and oxidation), folate (leaching into the cooking water, 40% retention), and thiamin (cooking, retention 20-80%). Niacin, biotin, and pantothenic acid are quite stable, but information on some vitamins, especially vitamins D and K, is incomplete. The percentage losses of some nutrients in foods after cooking treatment were frequently reported: not continual changes during heat treatment, only modifications at the beginning and after heat treatment. Changes of nutrients in food during the culinary process have not yet been sufficiently investigated. A few authors have attempted to summarize the kinetic data that can be used to describe the time-temperature effect on nutrients.

Key words

Vitamin, TR, AR.

Introduction

Vitamins are organic compounds, vital nutrients in very small amounts in the diet and are unstable due to several intrinsic conditions of food (moisture or pH) and extrinsic conditions (light or oxygen). Related to this causes several studies have been carried and are summarized on table 1 (Harris and Karmas, 1975, and Priestley, 1979). In addition to the already mentioned conditions, processing (industrial as well as culinary) are the main causes of vitamin losses, but they vary widely according to the method of cooking or processing, the type of food, the length of exposure. It has been an important concern of the scientists in parallel to the latest vitamins discovery and synthesis (Heller, MacKay and Lyon, 1943). To define objectively the instability of vitamins is a difficult challenge due to the number of factors that determine this effect and the way that this information can be found in the literature. Generally authors talk about "losses" of vitamins and in fewer cases about "retention". Even when using this term, we can find "apparent retention" (AR) as well as "true retention" (TR). In addition other word that is used is "leaching". Losses of vitamins is the most com-

Table 1. Vitamin stability and losses determined by intrinsic and extrinsic conditions of food

VITAMIN	HEAT	PH = 7	PH < 7	PH > 7	OXYGEN	LIGHT	% MAX. LOSSES
Thiamine	Instable	Instable	Stable	Instable	Instable	Stable	80
Riboflavin	Instable	Stable	Stable	Instable	Stable	Instable	75
Niacin	Stable	Stable	Stable	Stable	Stable	Stable	75
Pantoteic acid	Instable	Stable	Instable	Instable	Stable	Stable	50
Pyridoxine	Instable	Stable	Stable	Stable	Stable	Instable	40
Folic acid	Instable	Instable	Instable	Stable	Instable	Instable	100
Vit. B ₁₂	Stable	Stable	Stable	Stable	Instable	Instable	10
Vit C	Instable	Instable	Stable	Instable	Instable	Instable	100
Vit A	Instable	Stable	Instable	Stable	Instable	Instable	40
Vit D	Instable	Stable	-	Instable	Instable	Instable	40
Vit E	Instable	Stable	Stable	Stable	Instable	Instable	55
Vit K	Stable	Stable	Instable	Instable	Stable	Instable	5

Based on Harris and Karmas, 1975; Priestley, 1979.

mon expression find in the literature, and few authors mention whether their results are evaluated according to the most reliable definitions that are AR and TR. These terms are recommended to be used because their meaning describe more precisely the amount and form of a particular vitamin that can be consumed. For that reason it has been considered of interest by the consumers (Bergström, 1994). AR is defined as the nutrient content (vitamin) per g of cooked food related to the nutrient content per g raw food, and TR base on AR and is corrected with the weight of the food also before and after cooking. The equation that describe this effect are the followed:

$$\% \text{ AR} = \frac{\text{Nutrient content per g of cooked food}}{\text{Nutrient content per g of raw food}} \times \text{dry weight} \times 100$$

$$\% \text{ TR} = \frac{\text{Nutrient content per g of cooked food} \times \text{g food after cooking}}{\text{Nutrient content per g of raw food} \times \text{g food before cooking}} \times 100$$

In general, leaching is the extraction of certain materials from a carrier into a liquid (usually, but not always a solvent). A large number of processing use water as a heating medium and most of the vitamins that are “loosed” go to water or brine solution with no modification in their structure. For that reason in many cases is recommended to consume the liquid were food has been process, specially the brine in canned vegetables, and not to discarded.

Vitamin stability under different conditions

General overview

To make an overview of all the vitamins “retentions” or “losses” is a too extensive and at the end there is not a clear picture of the situation. For that reason we will base our review of the most sensible vitamins to process. Most of the references are focused on cooking processing methods were treatments are less intense. Based on several studies, the most labile vitamins during culinary processes are retinol (vegetable boiling, 33% retention), vitamin C (the most damaging factors are cooking and oxidation), folate (leaching into the cooking water, 40% retention), and thiamin (cooking, retention 20-80%) (Leková *et al*, 2006).

The most sensible vitamins to processing

Vitamin C

In several studies vitamin C can be also find as its chemical form (L-ascorbic acid), and most of the food studied, naturally, have been vegetables. As a general overview cooking losses of this vitamin depends on the degree of heating, leaching into the cooking medium, surface area exposed to water and oxygen, pH, presence of transition metals, and any other factors that facilitate oxidation (Eitenmiller and Laden, 1999). It seems that vitamin C is the natural defence of the vegetables against reactive species of oxygen (ROS) or free radicals due to stress of the plant, as well as any external factor related with processing or cooking. The most frequently vegetables studied had been spinach, peas, green beans, and okra (African vegetable similar to a small pepper with less moisture), cauliflower, white Babbage, Brussels sprout as well as potatoes, and scattering some leaves. Other vegetables or fruits remain unstudied or data has not been published in referenced journals. One again few references use the TR values and mostly talk about “losses”. The less intense process previous to many heating process is thawing (made at room temperature for 3-4 h). In this cases vitamin C is losses in small amount, but with a range (3,5 to 19,7%, green peas and green beans, respectively) (Nursal and Yücecan, 2000). If as a processing vegetables are boiled in water (5 min, then simmered for 30 min), the vitamin C losses is multiply by 10 in peas (going up to 36,0%) and only doubles in green peas (42,1%). However, the loss of vitamin C is lower if food in not thawed prior to boiling. Using the same example losses of vitamin C in green peas and green beans is almost the same after the mentioned boiling conditions (25, 2 and 18,2% respectively). Under this conditions green peas or beans are not the most susceptible to vitamin C losses but spinach, than reach almost 60% losses. Water amount for boiling also affect vitamin C losses, and according to Sungpuag *et al*, (1999), that losses are minimal when vegetables are cooked without any water, while is the highest with a large amount of water. Other slight heating

processing like blanching (boiling for 1 to 3 min to fix green colour) causes important reduction in the vitamin C in leaves, from 30 to 50% (chive leaves, Kmiecik and Lisiewska, 1999). Some disadvantages have been detected in other non-intensive heating process like microwaving, with a high loss of vitamin C (40%) (Vallejo *et al*, 2002). On the other hand, steaming had minimal effects on vitamin C (Masrizal *et al*, 1997). However, other studies evidences that vitamin C losses are about 14% in microwave, 32.8% in pressure-cooking, 37.8% and 53.3% in conventional cooking starting with boiled or cold water, respectively (Ilow *et al*, 1995). Other more intense heating treatments in vegetables can lead to losses up to 75%. Decrease in vitamin C content in vegetables depends also on the amount of oxygen present; the absence of oxygen led to a lower reduction.

Folates

Folate is sensitive to sunlight, air, light and heating in acid solutions (Eitenmiller and Laden, 1999). Folate is lost in food during cooking because it breaks down under heat and leaches into the cooking water. The presence of reducing agents in the food (such as ascorbic acid) can increase folate retention during thermal processing. Folates of animal origin appeared to be stable during boiling and frying (Ball, 1998). The highest retention was observed in the case of fish and shellfish (70-100%) and non-leafy vegetables (up to 100%, except in boiled broccoli) (McKillop *et al*, 2002), whereas higher losses have been observed during culinary treatment of legumes (up to 60% losses) (Bergström, 1994). Cooking methods that minimize direct contact of food with the cooking water, such as in pressure-cooking, microwave cooking, or stir-frying have been found to be preferable to boiling for folate retention.

Vitamin A

Vitamin A is quite stable under an inert atmosphere, but it rapidly loses its activity when heated in the presence of oxygen, especially at higher temperatures. Carotenoids are more susceptible to degradation, as they are sensitive to heat, oxygen, and light; simultaneously, b-carotene is more susceptible than a-carotene. From heat treatments boiling seems to be the most damageable process (up to 67% losses) (Nagra and Khan, 1988). On the other hand, frying could be assumed to be gentler as it was in the case of vitamin A (Masrizal *et al*, 1997). In meat, retention levels can be up to 85-100% (chicken, hen, duck or rabbit, Stepanova *et al*, 1982), and in vegetables retention of b-carotene is about 80% as well (Masrizal *et al*, 1997). Similar results can be observed during steaming, with losses of only 13-20% (Sungpuag *et al*, 1999). Results in the literature indicate that the highest retention is obtained when the vegetables are cooked without addition of water and that the lowest retention is associated with the use of a large amount of water during cooking (Sant'Ana *et al*, 1998). Also, the blanching of various vegetables before freezing can reduce the level of b-carotene by 7-20%; blanching pre-treatment ensures a good preservation of b-carotene even for 12 months (Sungpuag *et al*, 1999).

Thiamin (Vitamin B₁)

One of the most important factors affecting thiamin stability is the pH value of the solution (Eitenmiller and Laden, 1999). Even weak alkaline pH solutions cause degradation. It is likewise unstable in neu-

tral solutions, since stability is better in acid solutions. Thiamin is more sensitive to heat than is riboflavin. Thiamine degradation in milk is about 10% under sterilization (140 °C/3-4 s) and storage (6 weeks) (Görner and Uherová, 1980). Losses occurring during heat treatment of meat (e.g., frying, braising, cooking, roasting) varied significantly with the type and part of meat and the water and fat content. Thiamin retention appeared to be higher in the dark muscles generally (differences in retention of up to 20%) probably because of lower water losses (Al-Khalifa and Dawood, 1993.). Generally, the water solubility of thiamin causes it to leach into juices during cooking. The fat content might be an important factor with a positive influence on thiamin protection during thermal treatment.

The most resistant vitamins to processing

Niacin, biotin, and pantothenic acid are quite stable, but information on some vitamins, especially vitamins D and K, is incomplete.

Vitamin D

Vitamin D is relatively stable, although the studies reviewed have not given an adequate relationship between the culinary methods used and an unequivocal stage of retention. However, fat content is probably the crucial factor affecting retention during culinary treatment. A high-fat content usually results in a high vitamin D loss due to dripping off, while low-fat content might probably disrupt thermal isolation and vitamin D is more easily accessible to other aggressors (e.g., light). Retention of vitamin D varied in the range of 60-90% during culinary treatment of meat and fish (Mawer and Gomes, 1994; Mattila *et al*, 1999).

Vitamin E

It is difficult to determine the most aggressive culinary method for vitamin E. Probably, the most common heat treatments, such as broiling or roasting, cause a high loss of the nutrient (Leková *et al*, 2006). The vitamin E content in food treated in vegetable oil increases or remains stable because vegetable oils are a good source of the fat-soluble a may lead to the formation of peroxides, such as intermediate products in the auto-oxidation of the fatty acids, destroying the oxidation sensitive vitamins, such as vitamin E since these would react with the peroxides. Besides the loss of vitamin E, there would be a decrease in the levels of essential fatty acids vitamin. On the other hand, more frequently used vegetable oils for frying decrease in vitamin E content themselves. Probably, the factor that most influences the vitamin E content in vegetable oils is microwave heating, although the stage of degradation varies with the type of oil used (Yoshida *et al*, 1990). In addition, vitamin E is unstable in the presence of reducing agents: oxygen, light, and peroxides (occurring as a result of unsaturated fat auto-oxidation). Retention of vitamin E is in the range of 44-95% during culinary treatment of various types of meat (Piironen *et al*, 1987), and 60-93% in the case of legumes (Yoshida and Kajimoto, 1989).

Riboflavin (Vitamin B₂)

Riboflavin is very resistant to dry heat, acid solutions, and air (oxygen), but very sensitive to light, especially at high temperatures and pH values (Roche, 1976). During cooking riboflavin leaches into

water. Leaching into water during cooking after pre-soaking probably causes a high decrease of riboflavin retention during culinary treatment of legumes. Among the heat treatments and vegetables mentioned, the highest losses (up to 66%) were observed in cabbage (Vargas *et al*, 1995). Meat in general has a high retention of riboflavin as much as 93% in meat (Al-Khalifa and Dawood, 1993), with simultaneous leaching of 13% of riboflavin into water in chicken meat (Lassen *et al*, 2002), and it is higher in dark muscles (Al-Khalifa and Dawood, 1993) to be higher in dark muscles.

Pantothenic acid (Vitamin B₅)

Pantothenic acid is the most stable vitamin during thermal processing with pH levels of 5-7, and resistant to light and air, but it is sensitive to long cooking in water. Large losses can occur through leaching into cooking water during preparation of vegetables (Hoppner and Lampi, 1993b). In milk, pantothenic acid is stable during pasteurization, since the normal pH of milk is in the optimal pH stability range (Fox, 1991). Bergström (1994) has observed that pantothenic acid may be affected by the acidity of marinade (pH 5.5). Retention factors for pantothenic acid in the legumes (33-76%) were significantly influenced by the pre-soaking method and cooking times acid (Hoppner and Lampi, 1993b).

Pyridoxal, pyridoxine and pyridoxamine (Vitamin B₆)

Losses of vitamin B₆ in vegetables can be high; they result from leaching. Eitenmiller and Laden (1999) found that heat degradation plays a greater role on vitamin B₆ in animal products. Pyridoxal and pyridoxamine are more predominant in animal tissues and milk; these are more heat labile than pyridoxine, the primary vitamin found in plants. Vitamin B₆ is resistant to heat, acid, and alkaline, but sensitive to light in neutral and alkaline solutions. Pyridoxal and pyridoxamine are more heat, oxygen, and light labile than pyridoxine (the primary vitamin in plants). While losses of this vitamin in vegetables were caused by leaching into water (10-47%; in the case of boiled broccoli, up to 61%), in foods of animal origin they resulted mainly from heat degradation (40-58%) (Bognár A, 2002). Vitamin B₆ losses did not depend on the fat content in milk (Sierra and Vidal-Valverde, 2001).

Cyanocobalamin (Vitamin B₁₂)

Vitamin B₁₂ is generally considered to be stable under most food processing operations, but like all water-soluble vitamins, it is subject to large losses through leaching into the cooking water (Leková *et al*, 2006). The most important associated compound with vitamin B₁₂ activity is cyanocobalamin, which is decomposed by both oxidizing and reducing agents. In neutral and weak acid solutions, it is relatively stable to both atmospheric oxygen and heat. It is only slightly stable in alkaline solutions and strong acids. The stability of vitamin B₁₂ is significantly influenced by the presence of other vitamins (Ottaway, 2002). Most vitamin B₁₂ losses result from leaching into water. Thus, water content is significant: the higher the quantity of water used for cooking, the higher the vitamin loss during heat treatment of food. Another important factor affecting the stability of this vitamin is pH level. However, thermal processing in general influences the stability of vitamin B (Badiani *et al*, 1998).

Biotin

Biotin is stable when heated in the presence of light and in neutral or even in strong acid solutions, but it is labile in alkaline solutions (Leková *et al*, 2006). In general, biotin retention is relatively high during heat treatment (80% in meat, 85-90% in milk pasteurization (Velíšek, 1999), 85-95% in legumes (Hoppner and Lampi (1993a, b), 70% in preservation of fruits and vegetables (Velíšek, 1999). Biotin retention is lesser affected by leaching and heat destruction during meal preparation of dried legumes than was observed in the case of other water-soluble vitamins (Leková *et al*, 2006).

Niacin

Niacin is the most stable water-soluble vitamin. Processing and cooking procedures do not deactivate niacin. Leaching is usually the primary pathway of its loss during food preparation (Eitenmiller and Landen, 1995). Ball (1994) found that dairy-processing operations did not affect the niacin content in these foods. Niacin is resistant to heat, air, and oxidants, but it is hydrolysed in strong acids and alkaline solutions. It is assumed to be the most stable water-soluble vitamin. The losses of niacin are caused mainly by leaching into cooking water. Retention of niacin is in the range of 45-90% within the various culinary treatments of meat and legumes (Masková *et al*, 1996). In comparison with the classical procedure, short pressure-cooking could increase niacin retention in legumes, except in soybeans.

Mathematical models of vitamin destruction in food

Mathematical models interpreting the time dependence on vitamin retention or vitamin destruction are not yet adequately complete. In general, research has commonly paid attention to a certain type of technological operation, a certain vitamin or groups of vitamins in the selected food commodity. As regards the knowledge available in the literature, these models have been developed mostly for nutrient changes during storage and processing. General models of nutrient changes during cooking the kinetic formulas, which could be used to describe the time-temperature effect on nutrients are only rarely developed. Several kinetic parameters have been used to describe the effect of time-temperature treatments on the rate and extent of nutrient destruction. Basically, two parameters are needed: the rate of nutrient destruction at a reference temperature; and the dependence on the rate of destruction at a reference temperature. In most chemical and engineering applications, these two parameters have been the reference reaction rate constant (k_R) at temperature T_R and the Arrhenius activation energy (E_a). Most of the studies using mathematical models have been focused on the most sensible vitamins: ascorbic acid (vitamin C), folates (vitamins B9) or thiamine (vitamin B1) among others. All models are reactions of first order but one of second order for cow's milk. It means that all vitamins follow a simple mechanism of activation where E_a is the key element to initiate the reaction to destroy vitamin functionality and not only losses or leacheage. Most of the vitamin stability can be solved with these mathematical models with cons-

Table 2. Some examples of maximum and minimum percentages of losses or apparent retention (AR) of foods of the most sensible vitamins to cooking and processing

VITAMIN	PROCESSING	FOOD	LOSSES	AR	REFERENCE
A (retinol)	Boiling	Chicken liver	5	95	Sungpuag <i>et al</i> , (1999)
	Cooked for puree	Carrots	65	35	Olunlesi and Lee (1979)
C	Thawed 22,3 °C/3h	Peas	3,5%	96,5	Nursal and Yücecan (2000)
	Boiled/25 min	Spinach	60%	40	Nursal and Yücecan (2000)
Folates (B ₉)	Sauteed in soybean oil (Wok/1min)	Green leave vegetables	9-15	40-70	Lin and Lin (1999)
	Bolied/10 min	Broccoli	62	40	Leichter <i>et al</i> , (1978)
Thiamine (B ₁)	90, 110, y 120 °C	Whole and skim milk	0	100	Sierra and Vidal-Valverde (2001)
	Boiled 96-99 °C, 150 min.	Pork meat	70	30	Kimura <i>et al</i> , (1990)

AR: Apparent retention.

tans rates determined by regression analysis of concentration as a function of time at constant temperature. Then, using the Arrhenius law, the kinetic parameters can be estimated. It can be apply into several models. For instance a composite food such as an infant apple compote have been recently study to evaluate vitamin C denaturalisation into an abuse temperature conditions of storage (37 °C) for a period of 450 days (Palazón *et al*, 2009). In this case E_a was of 18.6 kcal/mol with a correlation coefficient in this first order equation of 0.9822. Other studies on the pure juice (grapefruit to orange juice) showed for vitamin C higher E_a ranking from 5 to 30 kcal/mol. More studies are needed to complete the information about vitamin denaturalisation description with mathematical models.

References

- Al-Khalifa AS, Dawood AA. Effects of cooking methods on thiamin and riboflavin contents of chicken meat. *Food Chemistry*, 1993; 48(1):69-74.
- Badiani A, Nanni N, Gatta PP, Bitossi F, Tolomelli B, Manfredini M. Nutrient content and retention in selected roasted cuts from 3-month-old ram lambs. *Food Chemistry*, 1998; 61(1/2):89-100. York 417-30.
- Ball GFM. *Bioavailability and Analysis of Vitamins in Foods*. Chapman & Hall, London. 1998; 439-96.

- Bergström L. Nutrient losses and gains in the preparation of food. NLG Report, National Food Administration, Sweden, Report, 1994; 32.
- Bognár A. Tables on Weight Yield of Food and Retention Factors of Food Constituents for the Calculation of Nutrient Composition of Cooked Foods (Dishes). *Berichte der Bundesforschungsanstalt für Ernährung*, Karlsruhe, 2002; ISSN:0933-5463.
- Eitenmiller R, Landen Jr WO. Vitamins. In: Jeon I, Ikins WG. (Eds.), *Analysing Food for Nutrition Labelling and Hazardous Contaminants*. Marcel Dekker, New York (Chapter 9). 1995.
- Eitenmiller RR, Laden WO. Vitamin A and b-carotene. Ascorbic acid. Thiamin. Vitamin B₆. Folate. In: Eitenmiller RR, Laden WO. (Eds.), *Vitamin Analysis for the Health and Food Science*. CRC Press, Boca Raton, FL. 1999; 15-9, 226-8, 275, 375, 411-65.
- Fox HM. Pantothenic acid. In: Machlin LJ. (Ed.), *Handbook of Vitamins*, second ed. Marcel Dekker, New York (Chapter 11). 1991.
- Görner F, Uherová R. Vitamin changes in ultra high-temperature sterilised milk during storage. *Nahrung*, 1980; 24(4/5):373-79.
- Harris RS, Karmas E. *Nutritional evaluation of food processing AVI 2nd Ed Westport*. 1975.
- Heller CA, MacKay CM, Lyon CB. Losses of vitamins in large-scale cookery. *The Journal of Nutrition*, 1943; 26:327-442.
- Hoppner K, Lampi B. Pantothenic acid and biotin retention in cooked legumes. *Journal of Food Science*, 1993b; 58(5):1.084-9.
- Iłlow R, Regulska-Iłlow B, Szymczak J. Assessment of vitamin C losses in conventionally cooked and microwave-processed vegetables. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 1995; 28(4):317-21.
- Kmiecik W, Lisiewska Z. Effect of pretreatment and conditions and period of storage on some quality indices of frozen chive (*Allium schoenoprasum* L.). *Food Chemistry*, 1999; 67:61-6.
- Lassen A, Kall M, Hansen K, Ovesen L. A comparison of the retention of vitamins B₁, B₂ and B₆, and cooking yield in pork loin with conventional and enhanced meal-service systems. *European Food Research and Technology*, 2002; 215:194-9.
- Masrizal MA, Giraud DW, Driskell JA. Retention of vitamin C, iron and b-carotene in vegetables prepared using different cooking methods. *Journal of Food Quality* 1997; 20:403-18. *Science*, 47(1):260-2, 266.
- Mattila P, Ronkainen R, Lehtikainen K, Piironen V. Effect of household cooking on the vitamin D content in fish, eggs, and wild mushrooms. *Journal of Food Composition and Analysis*, 1999; 12(3):153-60.
- Mawer B, Gomes U. Estimation of vitamin D and its metabolites in meat. In: Norman AW, Bouillon R, Thomasset M. (Eds.), *Vitamin D, Proceedings of the Ninth Workshop on Vitamin D*, Orlando, Florida, 28 May-2 June 1994. Walter de Gruyter, Berlin, 1994; 775-6.
- McKillop DJ, Pentieva K, Daly D, McPartlin JM, Hughes J, Strain JJ, Scott JM, McNulty H. The effect of different cooking methods on folate retention in various foods that are amongst the major contributors to folate intake in the UK diet. *British Journal of Nutrition*, 2002; 88:681-8.
- Nagra AS, Khan S. Vitamin A (β -carotene) losses in Pakistani cooking. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1988; 46(2):249-51.

- Nursal B, Yücecan S. Vitamin C losses in some frozen vegetables due to various cooking methods. *Nahrung*, 2000; 44:451-3.
- Ottaway PB. The stability of vitamins during food processing: vitamin K. In: Henry CJK, Chapman C. (Eds.), *The Nutrition Handbook for Food Processors*. CRC Press, Boca Raton, FL. 2002; 247-64.
- Palazón MA, Pérez-Conesa D, Abellán P, Ros G, Romero F, Vidal ML. Determination of shelf-life of homogenized apple-based beikost storage at different temperatures using Weibull hazard model. *LWT-Food Science and Technology*, 2009; 42(1):319-26.
- Piironen V, Varo P, Koivistoinen P. Stability of tocopherols and tocotrienols in food preparation procedures. *Journal of Food Composition and Analysis*, 1987; 1:53-8.
- Priestley RJ. Vitamins. In: *Effects of heating on foodstuffs*. Applied science publishers. London, 1979; 121-56.
- Sant'Ana HMP, Stringheta PC, Brandaõ SCC, Cordeiro de Azeredo RM. Carotenoid retention and vitamin A value in carrot (*Daucus carota L.*) prepared by food service. *Food Chemistry*, 1998; 61(1/2):145-51.
- Sierra I, Vidal-Valverde C. Vitamin B₁ and B₆ retention in milk after continuous-flow microwave and conventional heating at high temperatures. *Journal of Food Protection*, 2001; 64(6):890-4.
- Stepanova EN, Grigor O, Eva MP, Orlova NV, Smirnova EV, Fomina LV, Chumakova W. Vitamin preservation in poultry and rabbit meat during cooking. *Voprosy Pitaniya*, 1982; 3:54-8.
- Sungpuag P, Tangchitpianvit S, Chittchang U, Wasantwisut U. Retinol and b-carotene content of indigenous raw and home-prepared foods in Northeast Thailand. *Food Chemistry*, 1999; 64:163-7.
- Vallejo F, Tomás-Barberán FA, García-Viguera C. Glucosinolates and vitamin C content in edible parts of broccoli florets after domestic cooking. *European Food Research and Technology*, 2002; 215:310-6.
- Vargas FE, Villanueva OMT, Marquina DA. Influences of cooking on hydrosoluble vitamins in cabbage: cabbage and cauliflower I. Thiamin and riboflavin. *Alimentaria*, 1995; 261:111-7.
- Yoshida H, Hirooka N, Kajimoto G. Microwave energy effects on quality of some seed oils. *Journal of Food Science*, 1990; 55:1.412-6.
- Yoshida H, Kajimoto G. Effects of microwave energy on the tocopherols of soybean seeds. *Journal of Food Science*, 1989; 54:1.596-600.

Fortificación de alimentos y suplementos vitamínicos: ¿beneficio o riesgo?

Elena Alonso Aperte

Departamento de Ciencias Farmacéuticas y de la Alimentación. Facultad de Farmacia.
Universidad CEU-San Pablo, Madrid, España.

Resumen

La bibliografía científica reciente recoge una animada discusión sobre los beneficios, la necesidad y los riesgos inherentes a la recomendación de ingerir suplementos vitamínicos o fortificar alimentos.

Los objetivos de estas estrategias son:

1. Tratar y prevenir deficiencias nutricionales.
2. Promover la salud y reducir factores de riesgo de enfermedad.

En el primer caso, la suplementación y la fortificación han aportado grandes beneficios para poblaciones enteras, puesto que han contribuido a la erradicación de enfermedades carenciales. En el segundo caso, no siempre ha sido así, ya que los beneficios son cuestionables y pueden existir riesgos para la salud.

Para evaluar el riesgo, el margen de seguridad de las vitaminas puede definirse como la medida del intervalo entre la ingesta recomendada (IR) y el nivel máximo tolerable de ingesta (UL). Así, el margen de seguridad puede ser:

- Bajo ($UL < 10 \times IR$): retinol, beta-caroteno, vitamina D, ácido nicotínico, ácido fólico.
- Intermedio ($10 \times IR < UL < 100 \times IR$): vitaminas E, B₁, B₂, nicotinamida, B₆ y C.
- Alto ($UL > 100 \times IR$): vitamina K, vitamina B₁₂, ácido pantoténico y biotina.

La manifestación de efectos adversos por ingestas excesivas de vitaminas depende de la variabilidad interindividual, la biodisponibilidad, la forma química y la interacción con otros nutrientes, y para muchas vitaminas todavía no están claramente identificados.

A nivel poblacional, sí se han identificado efectos adversos inesperados como consecuencia de la suplementación y la fortificación con vitaminas. Esto da lugar a que las recomendaciones sean contradictorias y a que se practiquen políticas de fortificación en algunos países y se prohíban en otros. No obstante, el potencial de las vitaminas en la promoción de la salud es enorme, lo que motiva que en cada caso deba hacerse una evaluación de la relación beneficio/riesgo.

Palabras clave

Fortificación, enriquecimiento, suplementación, nutrición óptima, análisis de riesgos, nivel máximo tolerable de ingesta.

Suplementación, enriquecimiento y fortificación de alimentos. Definición de conceptos

En los últimos tiempos, se han publicado gran número de trabajos científicos que avalan el uso adicional de algunos micronutrientes en el tratamiento de situaciones carenciales y en la prevención de algunas patologías de origen multifactorial. Esto ha motivado el uso de formas sintéticas de las vitaminas que pueden hacerse llegar a la población a través de diferentes estrategias:

- La suplementación (*supplementation*) consiste en el uso de nutrientes aislados o en combinación que se administran en formas farmacéuticas (comprimidos, cápsulas, polvos, jarabes).

Según el *Codex Alimentarius*, en relación con la adición de nutrientes a los alimentos, se definen las siguientes prácticas:

- La fortificación o el enriquecimiento de alimentos (*food fortification or enrichment*) consiste en la adición de nutrientes a alimentos, independientemente de que éstos ya los contengan o no de forma natural, con el fin de utilizar los alimentos como vehículos para aumentar la ingesta de uno o varios nutrientes en la población. La fortificación de alimentos puede ser de carácter voluntario, cuando el fabricante adiciona el nutriente para dar un valor diferenciador al producto, u obligatoria, cuando se legisla y normaliza la adición de una determinada cantidad del nutriente en un alimento o grupo de alimentos.
- La restitución (*food restoration*) consiste en la adición de nutrientes a alimentos que ya los contienen de forma natural pero han perdido parte de su contenido como consecuencia de su procesamiento, almacenamiento y distribución. La cantidad de nutriente que se añade proporcionará un nivel de contenido en el alimento final equivalente al contenido natural del alimento antes de someterlo a procesamiento, almacenamiento y distribución, siempre bajo procesos normales, habituales y al amparo de buenas prácticas de fabricación. El ejemplo más característico de esta práctica es la adición de vitaminas liposolubles a la leche desnatada que ha perdido su contenido vitamínico natural como consecuencia del desnatado.
- La normalización (*food standardization*) consiste en la adición de nutrientes a los alimentos para compensar las posibles variaciones en el contenido natural del alimento. Como ejemplo, la normalización del contenido en grasa de leche y lácteos.

¿Qué beneficios cabe esperar de la suplementación vitamínica o la fortificación de alimentos? Hacia la nutrición óptima como objetivo

A mediados del siglo xx parecía que el paradigma de la nutrición quedaba resuelto: conocidos los nutrientes principales, sus funciones en el organismo y las consecuencias de su déficit en la dieta, se despejaban las incógnitas para el tratamiento y la prevención de las enfermedades de mayor prevalencia entonces: enfermedades de tipo carencial como el raquitismo, el escorbuto, la pelagra, la xerofthalmia o el beri-beri. No obstante, los conceptos de nutrición empezaron a cambiar conforme se fueron realizando, a partir de los años 1960, estudios epidemiológicos e investigaciones sobre las

bases fisiológicas y bioquímicas de las enfermedades crónico-degenerativas y se evidenció un papel potencial de muchos nutrientes en la modulación, prevención y pronóstico de condiciones patológicas como el cáncer, la enfermedad cardiovascular, el deterioro cognitivo, la osteoporosis y debilidad ósea, los procesos inflamatorios y la respuesta inmunológica. Se crea así un marco conceptual, especialmente en el campo de las vitaminas, minerales y algunos fitoquímicos, que implica el reconocimiento de “nuevas” actividades de estos compuestos y la idea de que su actividad biológica puede implicar beneficios más allá de cubrir la deficiencia. También aparece el concepto de “nutrición óptima”, entendida como aquella que cubre la promoción de la salud, el concepto de máximo rendimiento, tanto físico como psíquico, y la reducción de los factores de riesgo de enfermedad. Es la nutrición encaminada a la prevención y tratamiento de enfermedades, más allá de la mera cobertura de las necesidades de nutrientes, utilizando la dieta para modificar aspectos genéticos y fisiológicos del organismo humano. La nutrición óptima ha desplazado al concepto de “nutrición adecuada”, entendida como suficiente y dirigida a evitar déficits, que ha dejado de ser la meta en las sociedades desarrolladas.

Así, desde la nutrición adecuada y hacia la búsqueda de la nutrición óptima, se han impulsado recomendaciones acerca del uso adicional de nutrientes en forma de suplementos y políticas de fortificación, cuyos objetivos son fundamentalmente dos:

1. Tratar o prevenir deficiencias nutricionales en grupos de población enfermos.
2. Promover la salud y reducir los factores de riesgo de enfermedad en grupos de población sanos.

Históricamente, los primeros usos farmacológicos de los nutrientes se implementaron para tratar deficiencias nutricionales en grupos de población enfermos. Así, en 1924 se fortifica la sal común con yodo para la prevención del bocio y el cretinismo. En los años 1930 comienza la comercialización de suplementos vitamínicos y minerales, además de los aceites ricos en vitaminas A y D. En 1933 se fortifica la leche y la margarina con vitamina D para la prevención del raquitismo y en 1941 se enriquecen las harinas con tiamina, riboflavina, niacina y hierro. Estas políticas de fortificación, que han afectado a grupos de población completos o, en algunos casos, se han dirigido a sectores poblacionales con alto riesgo nutricional, han estado sometidas a estricta regulación por parte de las autoridades sanitarias de los diferentes países. En general, han supuesto grandes beneficios para poblaciones enteras, puesto que han contribuido notablemente a la erradicación de las enfermedades ocasionadas por deficiencias nutricionales.

En la actualidad, se siguen practicando políticas de fortificación y enriquecimiento de alimentos con vitaminas. En prácticamente todos los países industrializados se añaden vitaminas hidrosolubles, como tiamina, riboflavina o niacina en las harinas, especialmente debido a que las más demandadas son las refinadas, de bajo grado de extracción y, por tanto, muy bajo contenido vitamínico natural. También se sigue practicando la adición de vitaminas liposolubles en leche y productos lácteos desnatados. Más recientemente, la adición de complejos vitamínicos y minerales en determinados productos, como cereales de desayuno, zumos y bebidas, lácteos o grasas comestibles, constituye una práctica común y una manera muy productiva de diferenciar diversos productos alimenticios. En

la mayoría de estos casos, el objetivo es incrementar el contenido en nutrientes de determinados alimentos sin que necesariamente se haya constatado una necesidad de hacerlo. No son medidas tan estrictamente reguladas en los países y se consideran de implementación voluntaria, siempre y cuando se eviten concentraciones y efectos potencialmente perjudiciales para la salud.

Como política de fortificación moderna, es emblemática la adición de ácido fólico a alimentos, generalmente de base cereal, para la prevención de los defectos del tubo neural; política que fue implementada por Estados Unidos y Canadá de forma obligatoria en 1998 y que hasta el momento (año 2010) practican más de 67 países, fundamentalmente de América, Asia y Oceanía. En 47 de estos países, la fortificación responde a una política de intervención nutricional y en los restantes, se hace de forma voluntaria por parte de los fabricantes. Europa, por ahora, ha adoptado el principio de precaución y se mantiene contraria a la implantación de esta política de forma obligatoria. Son principalmente los países de la Europa del Este los que están añadiendo ácido fólico a las harinas.

Análisis de los beneficios esperados y los riesgos potenciales derivados de la suplementación farmacológica o la fortificación de alimentos con vitaminas

En los últimos tiempos, la literatura científica recoge una animada discusión sobre los posibles beneficios, la necesidad y los riesgos inherentes a la recomendación de ingerir suplementos de vitaminas o de añadir determinados micronutrientes a alimentos que son consumidos por grandes grupos de población. Gran parte de la discusión radica en la búsqueda del equilibrio entre los beneficios que cabe esperar de tales recomendaciones y los riesgos potenciales que deben asumirse, equilibrio que en definitiva marca la necesidad o no de recomendar el uso farmacológico de nutrientes. Deben plantearse algunas cuestiones al respecto y muchas presentan incógnitas difícilmente resueltas a través de los estudios hasta ahora llevados a cabo. A continuación intentaremos abordar algunas de ellas.

¿Los posibles beneficios derivados de la suplementación vitamínica o la fortificación de los alimentos en la prevención de enfermedades están suficientemente demostrados?

Para decidir una política de fortificación de alimentos y formular recomendaciones para la suplementación vitamínica, los beneficios que uno o varios nutrientes pueden presentar ante una determinada situación patológica deben haber sido demostrados a través de la aplicación del método científico. Los pasos necesarios incluyen fundamentalmente tres:

1. Estudios en modelos experimentales (*in vitro* o *in vivo*) sugieren un efecto beneficioso de uno o varios nutrientes en relación con una condición patológica.
2. Estudios observacionales en grupos poblacionales sugieren que uno o varios nutrientes pueden ser beneficiosos en relación con una condición patológica.

3. Estudios de intervención (ensayos clínicos), controlados y aleatorizados demuestran que la administración del nutriente o nutrientes tiene un efecto significativo en la prevención o tratamiento de la condición patológica.

Los estudios epidemiológicos observacionales son cada vez más robustos y completos, pero también más difíciles de interpretar y nunca podrán confirmar una relación causa-efecto. Por eso, los estudios de intervención o ensayos clínicos constituyen el estándar de oro. No obstante, son muy complejos y no siempre se pueden realizar o no han dado los resultados esperados. Tomemos como ejemplo el caso del ácido fólico y los defectos del tubo neural y el caso de los carotenoides y el cáncer de pulmón. Tras varias décadas de estudios epidemiológicos que no resultaban concluyentes, los ensayos de intervención con ácido fólico en mujeres embarazadas llegaron a concluir de forma muy satisfactoria que la suplementación periconcepcional con ácido fólico podía evitar hasta el 70% de los casos de defectos del tubo neural. Por el contrario, aunque la evidencia epidemiológica apuntaba a una clara asociación inversa entre la ingesta o el estado nutricional en carotenoides y el riesgo de cáncer de pulmón, e incluso existiendo un hipotético mecanismo de acción plausible, cuando se ensayó la intervención con beta-caroteno en fumadores, no sólo no se observó la esperada reducción del riesgo, sino todo lo contrario.

En la actualidad, se están desarrollando múltiples trabajos de investigación que intentan evidenciar el posible efecto beneficioso de la suplementación y la fortificación vitamínica en relación con la prevención del cáncer, la enfermedad cardiovascular, el envejecimiento, el deterioro cognitivo, la degeneración macular o los procesos inflamatorios. Pero, en la mayor parte de los casos, los ensayos de intervención controlados y aleatorizados que se están realizando no son definitivos. Este tipo de ensayos de intervención se hacen económica y prácticamente inviables cuando se ensaya el efecto de un nutriente en una condición patológica que puede tardar décadas en desarrollarse. En definitiva, el grado de incertidumbre para algunos nutrientes y determinadas patologías es muy complicado de resolver hoy en día.

Como resumen de los estudios epidemiológicos y los ensayos de intervención, hasta ahora podemos decir que:

- La suplementación con ácido fólico en la etapa periconcepcional previene los defectos del tubo neural.
- No existen evidencias sólidas que sustenten recomendar suplementos de beta-caroteno a la población general.
- Se debe desaconsejar la suplementación con beta-caroteno en fumadores y profesionales expuestos al amianto.
- La suplementación con calcio y vitamina D resulta beneficiosa en relación con la densidad mineral ósea y el riesgo de fracturas en mujeres postmenopáusicas.

¿Qué se recomienda en relación con la suplementación vitamínica? ¿Y las políticas de fortificación?

Dado que, en muchos casos, los posibles beneficios que la adición de vitaminas pueda tener en la promoción de la salud y la prevención de enfermedades son controvertidos, podemos encontrar diferentes recomendaciones que abarcan todas las posibilidades. Por ejemplo, Willet, en su nueva pirámide propuesta en el año 2003, recomienda suplementación vitamínica para la mayoría. Por el contrario, el Instituto de Salud de Estados Unidos (NIH) concluye en 2007 que la evidencia actual es insuficiente y no se puede recomendar a favor ni en contra del uso de la suplementación vitamínica en la prevención de las enfermedades crónicas. Más aún, algunos autores sostienen que los beneficios de la suplementación vitamínica en la población general son muy cuestionables y en ningún caso justifican el coste económico que llevan asociado.

En relación con políticas de fortificación, Estados Unidos y Canadá fueron pioneros al implementar la fortificación obligatoria con ácido fólico en 1998, una medida que ha sido secundada por la mayor parte de los países industrializados a excepción de los europeos. En Holanda, sin embargo, la fortificación de alimentos con vitamina A, vitamina D, ácido fólico, selenio, cobre y zinc se prohibió en 1996, argumentando que no se había demostrado una necesidad nutricional y que el margen de seguridad para estos nutrientes resultaba demasiado estrecho. Esta medida fue controvertida y, de hecho, el Tribunal de Justicia Europeo sentenció en 2004 que tal prohibición entra en conflicto con el principio de libre circulación de bienes en el seno de la Unión Europea. Tras una nueva evaluación de los posibles riesgos, en 2007 se concedió una excepción para el caso de los alimentos fortificados con ácido fólico (hasta un nivel de 100 µg/100 kcal) y los alimentos fortificados con vitamina D (hasta un nivel de 4,5 µg/100 kcal).

¿Existen riesgos para la salud humana inherentes a la suplementación vitamínica y la fortificación de alimentos?

El riesgo se define como la probabilidad de que acontezca un efecto adverso para la salud. Los riesgos alimentarios más clásicos han sido hasta ahora sustancias potencialmente tóxicas que proceden de la contaminación ambiental, las sustancias químicas usadas en la obtención de alimentos, los microorganismos o sustancias de origen natural que llegan a los alimentos. En la mayoría de los casos, estas sustancias no presentan ningún beneficio para la salud, lo que simplifica la evaluación y la gestión del riesgo, cuyo objetivo principal es mantener la exposición de las personas a estas sustancias por debajo de los umbrales que ocasionarían toxicidad. El análisis de riesgo aplicado a los nutrientes es algo más complejo, puesto que el riesgo se asocia tanto a ingestas demasiado bajas como demasiado altas del nutriente. Los nutricionistas han estado más acostumbrados a los riesgos asociados a una ingesta demasiado baja de nutrientes, pero la preocupación por el efecto de ingestas demasiado elevadas de micronutrientes es algo muy reciente en el campo de la nutrición. A través de dietas normales y equilibradas es virtualmente imposible ingerir cantidades demasiado elevadas de micronutrientes, pero el uso cada vez más frecuente de suplementos vitamínicos y alimentos fortificados ha puesto en evidencia que sí se pueden alcanzar niveles de ingesta que generan efectos adversos para la salud.

En el caso de las vitaminas, concretamente, la observación de que definitivamente estos micronutrientes pueden dar lugar a efectos adversos revolucionó el concepto de las ingestas dietéticas de referencia, dando lugar a un nuevo tipo de recomendaciones que establecen, no sólo la cantidad diaria mínima de nutriente, sino también el nivel máximo tolerable de ingesta. Puede el lector consultar en esta misma monografía un capítulo enteramente dedicado a estas nuevas recomendaciones; destacaremos aquí el nivel de referencia que se utiliza para marcar máximos.

El nivel máximo tolerable de ingesta, el conocido *Upper Level (UL)*, es el nivel máximo de ingesta diaria de un nutriente que, procedente de cualquier fuente y mantenido de forma crónica, no supone riesgo de efectos adversos para la salud de las personas. El establecimiento de estos máximos se impregna todavía hoy de un alto grado de incertidumbre, lo que hace que las cifras a las que llegan los distintos organismos en diferentes países puedan diferir significativamente. Al igual que ocurre en el caso de las deficiencias, el desarrollo de efectos adversos por ingestas excesivas de vitaminas depende de una gran variabilidad interindividual y de la biodisponibilidad del nutriente en la dieta, así como de la forma química en la que se encuentra. Los estudios realizados en humanos son muy escasos y muchas veces se hace necesario recurrir a la extrapolación de observaciones obtenidas en animales de experimentación. Además, los nutrientes pueden interactuar entre sí, de manera que los efectos adversos se asocian a un desequilibrio en la proporción de ambos nutrientes, más que a la ingesta de uno de ellos en particular. Como ejemplo, cabe destacar las diferencias en toxicidad que presenta el retinol y los carotenoides o el ácido nicotínico y la nicotinamida. En el caso de los folatos, es la forma sintética de la vitamina (ácido fólico), que se utiliza preferentemente en la suplementación farmacológica y la fortificación de alimentos, la forma química que ha manifestado efectos adversos. Además, los acontecimientos negativos parecen ser más notables cuando se combina una alta ingesta de ácido fólico con un bajo estado nutricional en vitamina B₁₂.

Para algunos micronutrientes no existen datos suficientes que permitan estimar el nivel máximo tolerable de ingesta. Para ellos, algunos autores establecen niveles guía que pueden utilizarse temporalmente a la hora de aplicar modelos para la simulación del riesgo o recomendar una determinada suplementación (tabla 1).

El margen de seguridad, entendido como el tamaño del intervalo comprendido entre la ingesta recomendada y el nivel máximo tolerable de ingesta, nos permite evaluar el potencial de riesgo de un determinado micronutriente y establecer diferentes categorías (tabla 1):

- Micronutrientes con bajo margen de seguridad y, por lo tanto, cierto potencial tóxico: aquellos para los cuales el nivel máximo tolerable de ingesta es menor que 10 veces la ingesta recomendada. Sería el caso del retinol, la vitamina D, el ácido nicotínico, el ácido fólico y todos los minerales. Para estos micronutrientes debería aplicarse el principio de precaución, especialmente a la hora de planificar políticas de fortificación o elaborar recomendaciones.

Tabla 1. Nivel máximo tolerable de ingesta, niveles guía y margen de seguridad de las vitaminas para un hombre joven

NUTRIENTE	INGESTA RECOMENDADA (HOMBRE, 20-39 AÑOS) (1)	NIVEL MÁXIMO TOLERABLE DE INGESTA (UL) (2)/ NIVEL GUÍA (GL) (3)/ NIVEL GUÍA TEMPORAL (TGL) (4)	MARGEN DE SEGURIDAD (5)	
Retinol y ésteres de retinol	1.000 µg ER (6)/día	3.000 µg ER (6)/día (UL)	3,0	Bajo
β-Caroteno	1.000 µg ER (6)/día	5-20 mg/día (TGL)	5-20	
Niacina (ácido nicotínico)	20 mg (EN) (6)/día	10 mg/día (UL)	0,5	
Vitamina D	5 µg/día	50µg/día (UL)	10,0	
Folato y ácido fólico	400 µg/día	1 mg/día (UL)	2,5	
Vitamina E	12 mg/día	300 mg/día (UL)	25,0	Intermedio
Vitamina B ₁	1,2 mg/día	50 mg/día (TGL)	41,6	
Vitamina B ₂	1,8 mg/día	43 mg/día (GL)	23,8	
Niacina (nicotinamida)	20 mg (EN) (7)/día	900 mg/día (UL)	45,0	
Vitamina B ₆	1,8 mg/día	25 mg/día (UL)	13,8	
Vitamina C	60 mg/día	1-4 g/día (TGL)	16,6-66,6	Alto
Vitamina K	120 µg/día	n.d. 1 mg/día (GL para suplementos)	-	
Biotina	30 µg/día	n.d. 1 mg/día (GL para suplementos)	-	
Ácido pantoténico	5 mg/día	n.d. 200 mg/día (GL para suplementos)	-	
Vitamina B ₁₂	2 µg/día	2 mg/día (GL)	1.000,0	

(1) Las ingestas recomendadas corresponden a las propuestas para población española y a ingestas adecuadas propuestas para la población estadounidense en el caso de la vitamina K, biotina y ácido pantoténico.

(2) UL: Nivel máximo tolerable de ingesta. Corresponden a los propuestos en Europa por la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (2006).

(3) GL: Nivel guía. Nivel máximo de ingesta que puede utilizarse como guía para aquellos nutrientes para los cuales no ha podido definirse correctamente un UL. Corresponden a los propuestos por el Grupo de Expertos en Vitaminas y Minerales del Reino Unido (2003).

(4) TGL: Nivel guía temporal. Nivel máximo de ingesta que puede utilizarse temporalmente como guía para aquellos nutrientes para los cuales no ha podido definirse correctamente un UL. Corresponden a los propuestos por diversos autores.

(5) Margen de seguridad: tamaño del intervalo comprendido entre el nivel máximo tolerable de ingesta o niveles guía y la ingesta recomendada, expresado en relación a la ingesta recomendada (nivel máximo tolerable de ingesta/ingesta recomendada).

(6) ER: equivalentes de retinol.

(7) EN: equivalentes de niacina.

n.d.: no determinado.

El ejemplo se ha realizado para un único grupo de edad y sexo, hombre de 20 a 39 años de edad. Para consultar el margen de seguridad de estos nutrientes para otras condiciones fisiológicas, deben consultarse las ingestas recomendadas y niveles máximos específicos de ese grupo de edad y sexo.

- Micronutrientes con margen de seguridad intermedio: aquellos para los cuales el nivel máximo tolerable de ingesta se encuentra en el intervalo comprendido entre 10 y 100 veces la ingesta recomendada. El riesgo de efectos adversos para estos nutrientes es menor, pero no debe descartarse la posibilidad de que aparezcan efectos colaterales o interacciones con otros nutrientes. Podemos considerar en este grupo a las vitaminas E, B₆ y C y nicotinamida.
- Micronutrientes con alto margen de seguridad y, por lo tanto, muy bajo potencial tóxico: aquellos que, de acuerdo con el conocimiento científico actual, no producen efectos adversos incluso a dosis que superen en 100 veces la cantidad establecida en la ingesta recomendada. Es el caso de vitamina K, tiamina, riboflavina, ácido pantoténico y biotina. En la mayoría de ellos no ha llegado a cifrarse el nivel máximo tolerable de ingesta.

Además del margen de seguridad, a la hora de evaluar los beneficios y posibles riesgos asociados a recomendaciones sobre la suplementación o políticas de fortificación, se hace necesario conocer los hábitos alimentarios de la población, su ingesta nutricional habitual y la probabilidad de que consuman suplementos farmacológicos o alimentos fortificados y, especialmente, considerar las situaciones extremas en la evaluación del riesgo. Por ejemplo, si la ingesta de lácteos en un grupo poblacional es muy alta, la fortificación de lácteos con calcio y vitamina D puede exponer a un segmento de la población, los grandes consumidores, a ingestas demasiado elevadas de estos nutrientes. En otro sentido, los mayores consumidores de suplementos de nutrientes son mujeres, niños de madres consumidoras, mayores, personas de mayor nivel educacional, personas de mayor nivel de ingresos, personas con patrones de consumo y hábitos de vida más saludables y enfermos crónicos. En la mayor parte de estos grupos poblacionales, la suplementación no sería necesaria y sí lo sería en grupos poblacionales menos habituados al uso de suplementos, como adolescentes, fumadores o personas de menor nivel educacional y de ingresos.

Recientemente se han publicado modelos matemáticos que permiten evaluar el riesgo de consumos demasiado elevados de micronutrientes en grupos poblacionales. Estos modelos permiten estimar si la exposición llega a superar los niveles tolerables de ingesta, y en qué proporción de la población, y también permiten proponer un nivel máximo de fortificación de los alimentos. Toman como datos el nivel máximo tolerable de ingesta, la ingesta del nutriente en la población correspondiente al percentil 95, la estimación del consumo de suplementos farmacológicos y el margen máximo de adición del nutriente en la fortificación de alimentos.

El riesgo es importante especialmente cuando se consumen suplementos vitamínicos con dosis muy altas o al combinar dietas ricas en nutrientes con alimentos fortificados y consumo de suplementos vitamínicos.

Cuando el fin de la suplementación o la fortificación de alimentos es evitar y paliar deficiencias nutricionales, las autoridades sanitarias son las que toman las decisiones en cuanto a la necesidad, el cómo y el cuánto, y legislan acorde. Se determinan los alimentos a fortificar, normalmente buscando la mayor eficacia de éstos como vehículos e independientemente de su perfil nutricional: se suelen fortificar harinas, sal o margarina. Se normaliza y regula la adición del nutriente y se

controlan los resultados de la política, aunque, en general, se ha dedicado poco tiempo a monitorizar resultados y efectos adversos de este tipo de políticas nutricionales. Aunque parece más segura, la fortificación de tipo obligatorio expone a grupos muy amplios de población a ingestas elevadas del nutriente y no está carente de controversia.

Cuando la suplementación o la fortificación se abordan con el fin de promocionar la salud y siempre que no se conozcan efectos adversos, normalmente no forma parte de un programa de salud o nutrición regulado por autoridades sanitarias. En la mayor parte de los casos es el consumidor el que decide y elige el tipo de alimentos, fortificados o no, que consume. El riesgo de que se desarrollen efectos adversos, debidos tanto al déficit como al exceso de nutrientes, es mayor, pero los grupos poblacionales de riesgo son muchos más pequeños y restringidos.

Otro problema de riesgo derivado de la fortificación es que para poder garantizar la presencia de una determinada cantidad de nutriente en un alimento durante toda su vida útil, en muchas ocasiones es necesario adicionar una cantidad mayor en su producción para paliar las pérdidas en el procesado y almacenamiento. En algunos países se permite añadir hasta un 150% de la cantidad de nutriente que se declara en el etiquetado. La sobrefortificación puede elevar la ingesta del nutriente en una cantidad mayor a la esperada.

A nivel poblacional, aunque los estudios no son todavía concluyentes, sí se han identificado efectos adversos inesperados como consecuencia de la suplementación y la fortificación con vitaminas. Entre ellos cabe destacar:

- Mayor riesgo de cáncer de pulmón en fumadores suplementados con beta-caroteno.
- Mayor riesgo de cáncer de esófago en mayores chinos suplementados con selenio, beta-caroteno y vitamina E.
- Mayor riesgo de cáncer de próstata en pacientes con antígeno prostático (PSA) elevado tratados con suplementos vitamínicos.
- Mayor riesgo de cálculos renales en personas suplementadas con calcio y vitamina D.

Para el caso del ácido fólico, vitamina tradicionalmente considerada como segura por su carácter hidrosoluble, se han publicado diversos estudios que revelan posibles efectos adversos graves derivados de la fortificación obligatoria de alimentos. Entre ellos, un posible efecto potenciador del desarrollo y progresión de las lesiones malignas y premalignas aún no diagnosticadas, a pesar de que un bajo estado nutricional en folatos parece predisponer al cáncer colorrectal. La fortificación con ácido fólico también se asocia a mayor riesgo de declive en la función cognitiva en personas mayores de 65 años, mayor riesgo de anemia y declive cognitivo, al asociarse alta exposición a ácido fólico con bajo estado nutricional en vitamina B₁₂, menor actividad citotóxica de las células NK en mujeres y reducción de la eficacia terapéutica de fármacos antifolato, como el metotrexato, utilizados en el tratamiento crónico del cáncer, la artritis reumatoide, la malaria y la psoriasis. Este tipo de observaciones cuestiona los beneficios derivados de la fortificación con ácido fólico, especialmente en algunos grupos de población.

Conclusiones y pautas para la suplementación y fortificación racional

En definitiva, la evidencia científica acumulada hasta ahora muestra que las vitaminas, a través de suplementos farmacológicos o añadidas a los alimentos, pueden jugar un papel importante en la promoción de la salud. No obstante, debe hacerse un análisis de la relación entre los beneficios esperados y los riesgos asumidos, puesto que la ingesta elevada de estos nutrientes puede ocasionar efectos adversos inesperados, incluso para las vitaminas hidrosolubles, que clásicamente han sido consideradas carentes de toxicidad.

En nutrición comunitaria, el uso racional y responsable de suplementos vitamínicos y alimentos fortificados debe tener en cuenta las siguientes premisas:

1. Considerar las tres posibles estrategias para mejorar la ingesta nutricional:
 - a. Consejo dietético nutricional.
 - b. Suplementación nutricional.
 - c. Uso de alimentos fortificados.
2. Valorar la mejor estrategia en función del objetivo y la situación del individuo.
3. Elegir el producto más acorde al objetivo y la situación.
4. Considerar los niveles máximos tolerables de ingesta.

En relación con las políticas nutricionales, es fundamental:

1. Identificar las lagunas y potenciar las oportunidades para la investigación en relación con la promoción de la salud y la prevención de enfermedades crónicas a través de la suplementación con vitaminas o la fortificación de alimentos.
2. Recomendar el uso racional y responsable de los suplementos vitamínicos y los alimentos fortificados.
3. Informar al consumidor de forma clara y sobre la base de la evidencia científica.

En cualquiera de los casos, es fundamental la comunicación e información al consumidor. La transmisión del mensaje nutricional y la valoración de la calidad nutricional que hace el consumidor de un producto pueden ser harto dificultosas cuando una chocolatina incluya diez veces más vitamina C que una naranja.

“Hot topics” para la fortificación de alimentos y la suplementación vitamínica

La fortificación de alimentos y el uso de suplementos vitamínicos para la prevención de enfermedades que van más allá de las enfermedades carenciales clásicas sigue siendo tema de debate en el seno de la comunidad científica. Esto se debe fundamentalmente a temas cuyo conocimiento todavía es parcial y que, por tanto, pueden constituir líneas de investigación fundamentales en el camino hacia la nutrición óptima. Entre ellos, es importante:

- Construir bases de datos que permanentemente actualicen el contenido en nutrientes de alimentos, incluidas las distintas marcas comerciales, y especialmente en países donde se practican políticas de fortificación liberales.
- Mejorar la estimación del consumo, desarrollando encuestas alimentarias que permitan cuantificar el consumo de nutrientes no sólo a través de alimentos tradicionales, sino también a partir de alimentos fortificados y suplementos vitamínicos.
- Buscar mecanismos que expliquen los efectos.
- Identificar biomarcadores capaces de describir el estado nutricional con mayor sensibilidad y precisión y menor variabilidad que los datos derivados de encuestas alimentarias.
- Diseñar y ejecutar ensayos de intervención aleatorizados y controlados que ratifiquen el papel de una determinada vitamina en la prevención del riesgo de enfermedad.
- Dado que para muchos nutrientes no se espera una manifestación evidente de toxicidad, los posibles efectos adversos se hacen difíciles de identificar, lo que hace necesario desarrollar estrategias capaces de monitorizar efectos adversos e inesperados a medio y largo plazo.
- Desarrollar una estrategia para evaluar las posibilidades de interacción con otros nutrientes o con fármacos y poder así evaluar el impacto de la fortificación o la suplementación farmacológica sobre el patrón alimentario global de la población.
- Todavía se desconocen los efectos a largo plazo de la exposición a altas ingestas de un determinado micronutriente en grupos potencialmente sensibles como niños, adolescentes, mujeres embarazadas o postmenopáusicas y los mayores.

Bibliografía recomendada

Cowley G. *A Better Way To Eat*. Newsweek January 20, 2003.

Directorate E. *Safety of the food chain. Discussion paper on the setting of maximum and minimum amounts for vitamins and minerals in foodstuffs*. European Communities, 2006.

Expert Group on Vitamins and Minerals. *Safe upper levels for vitamins and minerals. Report of the Expert Group on Vitamins and Minerals*. London WC2B 6NH, UK, Food Standards Agency Publications, 2003.

Flyn A, Moreiras O, Stehle P, Fletcher RJ, Muller DJ, Rolland V. *Vitamins and minerals: a model for safe addition to foods*. *Eur J Nutr*, 2003; 42: 118-30.

Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies. *Dietary Reference Intakes (DRIs) 2004*. http://iom.edu/en/Global/News%20Announcements/~/_media/Files/Activity%20Files/Nutrition/DRIs/DRISummaryListing2.ashx

Kim YI. *Will mandatory folic acid fortification prevent or promote cancer?* *Am J Clin Nutr*, 2004; 80:1.123-8.

Kloosterman J, Fransen HP, De Stoppelaar J, Verhagen H, Rompelberg C. *Safe addition of vitamins and minerals to foods: setting maximum levels for fortification in the Netherlands*. *Eur J Nutr*, 2007; 46:220-9.

McCormick DB. Vitamin/mineral supplements: of questionable benefit for the general population. *Nutr Rev*, 2010; 68(4):207-13.

Meltzer H, Aro A, Andersen NL, Koch B, Alexander J. Risk analysis applied to food fortification. *Pub. Health Nutr*, 2003; 6(3):281-90.

Moreiras O, Carbajal A, Cabrera L, Cuadrado C. Ingestas recomendadas de energía y nutrientes para la población española (revisadas y ampliadas 2006). En: Moreiras O, Carbajal A, Cabrera L, Cuadrado C (2009): *Tablas de Composición de Alimentos*. 13.ª Edición, Ediciones Pirámide. 2006.

Morris MC, Evans DA, Bienias JL, Tangney CC, Herbert LE, Scherr PA, Schneider JA. Dietary Folate and Vitamin B₁₂ intake and cognitive decline among community dwelling older persons. *Arch Neurol* Apr, 2005; 62(4), 641-5.

Morris MS, Jacques PF, Rosenberg IH, Selhub J. Folate and vitamin B₁₂ status in relation to anemia, macrocytosis, and cognitive impairment in older Americans in the age of folic acid fortification. *Am J Clin Nutr*, 2007; 85:193-200.

National Institutes of Health, Office of Dietary Supplements (2008): *Annual bibliography of significant advances in dietary supplement research, 2007*. http://ods.od.nih.gov/Research/Annual_Bibliographies.aspx.

NIH State-of-the-Science Panel. National Institutes of Health State-of-the-Science Conference Statement: Multivitamin/Mineral Supplements and Chronic Disease Prevention. *Am J Clin Nutr* 2007; 85(suppl.) 257S-64S. See also *Ann Intern Med*, 2006; 145(5):364-71.

Rasmussen SE, Andersen NL, Dragsted LO, Larsen JC. A safe strategy for addition of vitamins and minerals to foods. *Eur J Nutr*, 2006; 45:123-35.

Scientific Committee on Food and Scientific Panel on Dietetic Products Nutrition and Allergies. Tolerable upper intake levels for vitamins and minerals. European Food Safety Authorities, 2006.

Selhub J, Morris MS, Jacques PF, Rosenberg IH. Folate-vitamin B₁₂ interaction in relation to cognitive impairment, anemia, and biochemical indicators of vitamin B₁₂ deficiency. *Am J Clin Nutr*, 2009; 89(suppl.):702S-6S.

Smith D, Kim Y, Refsum H. Is folic acid good for everyone? *Am J Clin Nutr*, 2008; 87:517-33.

Suojanen A, Raulio S, Ovaskainen ML. Liberal fortification of foods: the risks. A study relating to Finland. *J. Epidemiol. Community Health*, 2002; 56:259-64.

Troen AM, Mitchell B, Sorensen B, Wener MH, Johnston A, Wood B, Selhub J, McTiernan A, Yasui Y, Oral E, Potter JD, Ulrich CM. Unmetabolized Folic Acid in Plasma is associated with reduced Natural Killer Cell Cytotoxicity among Post-menopausal Women. *J Nutr*, 2006; 136:189-94.

Paradoxical effects of antioxidant vitamins

Ibrahim Elmadfa* and Alexa L. Meyer

*President IUNS.

Institute of Nutritional Sciences, University of Vienna, Austria.

Abstract

Reactive molecules (radicals) mostly derived from oxygen or nitrogen are continuously generated in the body and play important roles in cell signalling and immune defence. Under certain conditions, their numbers are increased and cannot be counteracted by the body's antioxidant capacity, thus causing oxidative stress. This can promote diabetes mellitus, rheumatoid arthritis, and other chronic diseases. Antioxidative vitamins like the tocopherols and tocotrienols, ascorbic acid, and carotenoids, counteract this effect by scavenging radicals and prevent damage to body tissues and molecules. Accordingly, supplementation of these antioxidants was considered a means to prevent diseases with underlying oxidative causes. However, protecting other molecules from oxidation, antioxidative vitamins become radicals themselves and can therefore behave as prooxidants as well, depending on the circumstances. Indeed, different antioxidants interact and regenerate each other so that maintaining the right balance is important.

A number of large intervention studies not only showed a lack of benefits of high doses of antioxidants, but in some cases revealed even negative effects such as higher incidence and mortality from cancer and cardiovascular diseases. This was particularly seen in smokers.

While a varied diet rich in fruit and vegetables, nuts and seeds, and whole grain contains various antioxidants that complement each other, isolated high dose supplements of antioxidants may destroy the balance and cause oxidative stress.

Introduction: reactive molecules-inherent components of the organism

The body is continuously exposed to reactive molecules such as reactive oxygen and nitrogen species. Beside environmental triggers like industrial pollutants, UV light or cigarette smoke, their generation is also induced by a number of endogenous factors. Thus, the immune system is doubtless a major contributor relying on reactive molecules to ward off infectious agents in the respiratory burst. However, oxygen and nitrogen radicals also act as second messengers in cell signalling. Thus, they activate phagocytes and induce their proliferation. Release of more radicals activates other lymphocytes in the vicinity. These effects are especially exerted by hydrogen peroxide (H_2O_2) through the specific oxidation of cysteine residues in transcription factors or protein tyrosin phosphates

(PTPs). The latter ones are inactivated in this reaction and the fact that the oxidation is reversible allows an efficient regulation of their function. This pathway is also involved in the signalling cascade of insulin in which PTPs stop insulin action on its receptor. By inhibiting PTPs, H_2O_2 and superoxide ($O_2^{\cdot-}$) thus enhance insulin signalling. Insulin itself stimulates the generation of H_2O_2 .

These two examples show the important physiological roles that radicals play at low doses. However, at higher concentrations, reactive oxygen and nitrogen species show their better known negative effects.

Oxidative imbalance: when radicals prevail

Under normal conditions, a variety of enzymatic and non-enzymatic antioxidants protect the body from oxidative damage by scavenging the reactive molecules. Among the latter ones are the antioxidant vitamins vitamin E (tocopherols and tocotrienols), vitamin C (ascorbic acid) as well as many carotenoids. Thus, especially phagocytes, the cells ingesting potential pathogens and mounting the respiratory burst, contain high concentrations of ascorbic acid that are rapidly depleted during an infection. Located in the cell membranes, vitamin E protects unsaturated fatty acids prone to oxidation.

A number of circumstances can lead to a state in which the antioxidant capacity can no longer cope with the oxidative burden, resulting in oxidative stress. This is the case when nutritive antioxidants are not supplied in sufficient amounts or when the generation of free radicals is markedly increased such as in high intensity exercise or more often certain diseases. By attacking fatty acids, proteins or nucleic acids, which are in turn transformed into radicals, the reactive molecules impair normal body functions. In line with their functions as signal transducers reactive molecules have also been shown to stimulate inflammation.

A number of non-communicable diseases such as cancer, atherosclerosis, rheumatoid arthritis and diabetes mellitus whose prevalence is increasing, have been associated with oxidative stress. On the one hand, reactive radicals play a role in their aetiology, on the other, they are generated during the progression of the disease causing its further acceleration.

Thus, a deficiency of antioxidants and the resulting prooxidative environment promotes endothelial dysfunction as well as inflammation through damage to the endothelial cells. This milieu leads to the oxidation of LDL particles especially if these are in abundance following high fat consumption, and these oxLDL are ingested by phagocytes attracted by proinflammatory cytokines and chemokines.

In diabetes mellitus, high glucose concentration in the blood lead to increased formation of reactive oxygen species by various pathways like enhanced electron transport in the mitochondria, generation of advanced glycation end products, and stimulation of NADPH oxidase. These latter is also an effect of high insulin levels in type 2 diabetes. ROS appear to contribute to pancreatic β -cell deterioration and insulin resistance. In accordance with higher oxidative stress, antioxidant levels in the blood tend to be lower in diabetics. Indeed, loss of β -cell function under exposure to high glucose concentrations could be attenuated by antioxidants. Moreover, there is some evidence suggesting

Table 1. Effects of antioxidant vitamins in studies in humans

STUDY	ANTIOXIDATIVE VITAMIN			MAIN OUTCOMES	REFERENCE
	β-CAROTENE	VITAMIN E	VITAMIN C		
Alpha-Tocopherol β-Carotene Prevention (ATBC) Study	20 mg/d single or combined for 5-8 y	50 mg/d	–	β-carotene: ↑ of lung cancer, coronary events, and cerebral haemorrhage in smokers α-tocopherol: ↓ of coronary events and coronary deaths, ↓ of ischaemic stroke, ↑ of haemorrhagic stroke	1, 14, 30
β-Carotene Retinol Efficacy Trial (CARET)	30 mg/d 4 y (combined with retinol)	–	–	↑ (ns) of CV mortality ↑ of incidence and mortality from lung cancer	9, 19
Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) study	–	400/800 IU/d 4-6 y (7*)	–	No effects on CVD and cancer, higher risk of heart failure	15
Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS)	–	400/800 IU/d 1.4 y	–	↓ of non-fatal cardiac events, no effect on CV deaths	28
Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico (GISSI) study	–	300 mg/d	–	No effect on CVD and CV mortality study	7
Physicians Health Study (PHS)	50 mg/every other d	– –	– –	No effects on CVD and cancer	6, 27
Physicians Health Study II (PHS II)	50 mg/ every other d	400 IU/d	500 mg/d	Vitamin E and C: No effects of on CVD and cancer	6, 27

*Extension study HOPE TOO.

that insulin resistance might be an attempt of the body to reduce formation of reactive molecules in response to oxidative stress.

Lower serum levels of antioxidants were also found in patients with rheumatoid arthritis and in healthy subjects were associated with a higher risk to develop rheumatoid arthritis in the future, especially when the sum of dietary antioxidants was considered. The strongest single effect was shown for carotenoids.

Compared to healthy subjects, patients suffering from cystic fibrosis showed significantly lower plasma levels of β -carotene that could be improved by supplementation with 50 mg/d for 12 weeks. Additionally, concentrations of α - and γ -tocopherol increased as well and antioxidative capacity was improved.

Prooxidative properties of antioxidant vitamins

The antioxidant vitamins are working synergistically. Vitamin E protects β -carotene from oxidation; in turn, oxidised vitamin E is regenerated by vitamin C. While this is an efficient way to prevent the formation of prooxidative molecules, it is dependent upon a balanced supply of the various components. Indeed, high-dose supplementation of a single antioxidant has repeatedly been shown to have no protective or even negative effects on oxidative status and health whereas foods that contain a mixture of antioxidants are generally beneficial.

Prooxidative properties have especially been observed for β -carotene. Generally, carotenoids cause a higher consumption of vitamin E as, in their oxidised form, they are regenerated by this latter. Glutathione oxidation is also promoted. In turn, the presence of other antioxidants, especially α -tocopherol, mitigates the prooxidant effects of carotenoids.

Generally, β -carotene appears most effective as an antioxidant under lower oxygen partial pressure while at higher O_2 concentrations, prooxidative effects were observed.

In rats, high dose supplementation with vitamin E lowered the activities of antioxidant enzymes superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, and glucose-6-phosphate dehydrogenase when the diet also contained highly unsaturated fatty acids. Moreover, it was shown that α -tocopherol levels are not lower in the intima media of atherosclerotic arteries and that LDL cholesterol oxidation occurs in the presence of normal α -tocopherol concentrations. Indeed, α -tocopherol appeared to contribute to lipid oxidation in these studies as seen from the isomeric pattern of the formed oxidised linoleic acid. The fact that ascorbic acid inhibited LDL oxidation lends strength to this hypothesis.

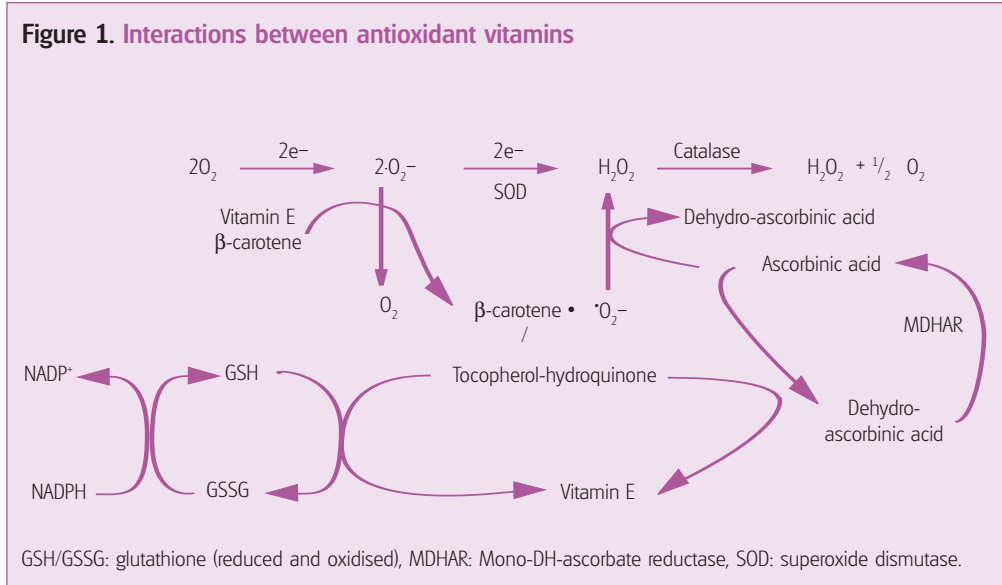
Ascorbic acid, on its part, has not shown major prooxidative properties *in vivo*. The presence of metal ions like iron, for instance, has been found to promote oxidation. However, this was not shown to occur to a large extent *in vivo* under healthy conditions. On the contrary, vitamin C rather seems to inhibit oxidation by iron. The tight regulation of free iron levels in the body may also play a role in this. The absence of an effect of vitamin C supplementation on life duration in mice was recently ascribed to a down-regulation of antioxidative enzyme expression although no increase in oxidative stress was observed. Overall, the antioxidative effects of ascorbic acid seem to dominate.

Effects of antioxidant supplementation: evidence from large intervention studies

The contribution of oxidative processes to the development of many major diseases has prompted attempts to prevent these latter by high dose supplementation with single or combinations of antioxidant vitamins and β -carotene. A number of large scale trials have been conducted to evaluate the effects of supplementation with antioxidant vitamins on disease incidence. Surprisingly, incidence of and mortality from cardiovascular diseases and some cancers such as lung cancer was often found to be higher in the supplemented study groups compared to placebo. This was the case with β -carotene in smokers in the Finnish Alpha-Tocopherol Beta-Carotene Prevention (ATBC) Study and the US Beta-Carotene Retinol Efficacy Trial (CARET). α -tocopherol supplementation was associated with an increase in haemorrhagic stroke in the ATBC Study, but a lower incidence of ischaemic stroke and fewer deaths from ischaemic heart disease. In the CARET, the incidence of and death from lung cancer increased in active and former smokers as well as asbestos workers receiving β -carotene. This effect persisted non-significantly after cessation of the intervention.

The Canadian Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) study found no effects of daily intake of 400 IU (1 mg corresponding to 1.49 IU all-ras- α -tocopheryl acetate) vitamin E for 4 to 6 years on the incidence of and deaths from major cardiovascular events in high risk subjects suffering from vascular disease or diabetes and aged ≥ 55 y. The extended study with a median duration of 7 years confirmed the lack of effects on cardiovascular events and found no benefits with regards to cancer incidence and deaths. In turn, a higher risk of heart failure was observed in the supplemented group.

Figure 1. Interactions between antioxidant vitamins



In the Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS), non-fatal cardiac events occurred less often in the group receiving 400 or 800 IU α -tocopherol, but no effects were seen for mortality. Other interventions like the Italian GISSI (300 mg) for tocopherol as well as the US Physicians Health Study (PHS) for beta-carotene and the PHS II for vitamin C and E did not reveal any effect of additional antioxidative vitamins on CVD and/or cancer.

Potentially harmful effects of high-dose vitamin E supplementation (≥ 400 IU/d) were also revealed in a metaanalysis showing a higher all-cause mortality.

In agreement with the Higher exposure to oxidative stress was seen in smokers.

In the Iowa Women's Health Study, the risk for death from cardiovascular disease increased with increasing intake of vitamin C in diabetic women. Notably, a significant effect was only seen for supplements containing ≥ 300 mg, while vitamin C from food was not related to mortality.

Published data on the role of antioxidants in cancer prevention could not always support functional effects so that health claims are not always consistent. Discrepancy exists between findings at the cellular/molecular level and controlled clinical trials (figure 2).

Figure 2. Supplemental antioxidants and cancer prevention

Supplemental antioxidants and cancer prevention

Antioxidants \longrightarrow Reduce cancer risk?

• Experimental biological data (molecular, sub-cell, cellular level)	Supported
• Epidemiological evidence (population level)	Contradictory
• Clinical studies/intervention trials (body level)	No basis

Conclusion and recommendations

The interplay of the various antioxidants is of crucial importance for adequate protection against oxidative stress and damage. While supplementation presents a means to correct a known deficiency of a single nutrient, it can be harmful at high doses, when the balance between nutrients is disturbed so that oxidative stress is promoted rather than prevented.

In turn, antioxidant-rich foods like fruits and vegetables, nuts and seeds contain a variety of active substances thus helping to maintain the balance of antioxidants. Beside antioxidant vitamins, bioactive secondary plant compounds like flavonoids and phenolic acids also act as antioxidants while the trace elements selenium, copper, iron, and zinc are necessary for the activity of the antio-

oxidative enzymes catalase, superoxide dismutase and glutathione peroxidase. Optimal intake levels for prevention have been deduced from plasma levels of the respective antioxidant. Current recommendations for adequate daily intake are 15-30 mg α -tocopherol equivalents, 2-4 mg β -carotene, and 75-150 mg ascorbic acid with upper levels of safe intake of 300 mg/d, 10 mg/d, and 1,000 mg/d, respectively. Recommended levels can be met by a diverse diet rich in fruits and vegetables as well as whole grain cereals and seeds that is therefore the best source of antioxidants.

References

- Carr A, Frei B. Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? *FASEB J*, 1999; 13:1.007-24.
- Eder K, Flader D, Hirche F, Brandsch C. Excess dietary vitamin E lowers the activities of antioxidative enzymes in erythrocytes of rats fed salmon oil. *J Nutr*, 2002; 132:3.400-4.
- Edge R, Truscott TJ Prooxidant and antioxidant reaction mechanisms of carotene and radical interactions with vitamins E and C *Nutrition*, 1997; 13:992-4.
- Elmadfa I, Rust P, Majchrzak D, Wagner KH, Genser D, Lettner R, Pinter M. Effects of beta-carotene supplementation on free radical mechanism in healthy adult subjects. *Int J Vitam Nutr Res*, 2004; 74:147-52.
- Erol A. Insulin resistance is an evolutionarily conserved physiological mechanism at the cellular level for protection against increased oxidative stress. *BioEssays*, 2007; 29:811-8.
- Gaziano JM, Glynn RJ, Christen WG, Kurth T, Belanger C, Macfadyen J. Vitamins E and C in the prevention of prostate and total cancer in men: The Physicians' Health Study II randomized controlled trial. *JAMA*, 2009; 301:52-62.
- GISSI-Prevenzione Investigators (Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto miocardico). Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: results of the GISSI-Prevenzione trial. *Lancet*, 1999; 354:447-55.
- Goldstein BJ, Mahadev K, Wu X. Insulin action is facilitated by insulin-stimulated reactive oxygen species with multiple potential signalling targets. *Diabetes*, 2005; 54:311-21.
- Goodman GE, Thornquist MD, Balmes J, Cullen MR, Meyskens FL Jr, Omenn GS, et al. The Beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial: incidence of lung cancer and cardiovascular disease mortality during 6-year follow-up after stopping beta-carotene and retinol supplements. *J Natl Cancer Inst*, 2004; 96:1.743-50.
- Heliövaara M, Knekt P, Aho K, Aaran RK, Alfthan G, Aromaa A. Serum antioxidants and risk of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 1994; 53: 51-3.
- Hennekens CH, Buring JE, Manson JE, Stampfer M, Rosner B, Cook NR, et al. 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: 1.145-9.
- Kaneto H, Katakami N, Matsuhisa M and Matsuoka TA. Role of reactive oxygen species in the progression of type 2 diabetes and atherosclerosis. *Mediators Inflamm*. Published online 2010 February 16. doi: 10.1155/2010/453892.
- Lee DH, Folsom AR, Harnack L, Halliwell B, Jacobs DR Jr. Does supplemental vitamin C increase cardiovascular disease risk in women with diabetes? *Am J Clin Nutr*, 2004; 80:1.194-200.

Leppälä JM, Virtamo J, Fogelholm R, Huttunen JK, Albanes D, Taylor PR, Heinonen OP. Controlled trial of alpha-tocopherol and beta-carotene supplements on stroke incidence and mortality in male smokers. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000; 20:230-5.

Lonn E, Bosch J, Yusuf S, Sheridan P, Pogue J, Arnold JM, et al. The HOPE and HOPE-TOO Trial Investigators. Effects of long-term vitamin E supplementation on cardiovascular events and cancer: a randomized controlled trial. *JAMA*, 2005; 293:1.338-47.

Madamanchi NR, Vendrov A, Runge MS. Oxidative stress and vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005; 25:29-38.

Miller ER III, Pastor-Barriuso R, Dalal D, Riemersma RA, Appel LJ, Guallar E. Meta-analysis: High-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. *Ann Intern Med*, 2005; 142:37-46.

Niu X, Zammit V, Upston JM, Dean RT, Stocker R. Coexistence of oxidized lipids and alpha-tocopherol in all lipoprotein density fractions isolated from advanced human atherosclerotic plaques. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999; 19: 1.708-18.

Omenn GS, Goodman GE, Thornquist MD, Balmes J, Cullen MR, Glass A, et al. Effects of a combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. *N Engl J Med*, 1996; 334:1.150-5.

Palozza P, Serini S, Di Nicuolo F, Piccioni E, Calviello G. Prooxidant effects of beta-carotene in cultured cells. *Mol Aspects Med*, 2003; 24: 353-62.

Pattison DJ, Symmons DP, Lunt M, Welch A, Bingham SA, Day NE, Silman AJ. Dietary beta-cryptoxanthin and inflammatory polyarthritis: results from a population-based prospective study. *Am J Clin Nutr*, 2005; 82:451-5.

Reth M. Hydrogen peroxide as second messenger in lymphocyte activation. *Nat Immunol*, 2002; 3:1.129-34.

Rietjens IMCM, Boersma MG, de Haan L, Spenkelink B, Awad HM, Cnubben NHP, et al. The pro-oxidant chemistry of the natural antioxidants vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2002; 11: 321-33.

Rust P, Eichler I, Renner S, Elmadfa I. Effects of long-term oral beta-carotene supplementation on lipid peroxidation in patients with cystic fibrosis. *Int J Vitam Nutr Res*, 1998; 68:83-7.

Rust P, Eichler I, Renner S, Elmadfa I. Long-term oral beta-carotene supplementation in patients with cystic fibrosis - effects on antioxidative status and pulmonary function. *Ann Nutr Metab*, 2000; 44:30-7.

Scientific Committee on Food, Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies. Tolerable upper intake levels for vitamins and minerals. European Food Safety Authority (EFSA), February 2006.

Selman C, McLaren JS, Meyer C, Duncan JS, Redman P, Collins AR. Life-long vitamin C supplementation in combination with cold exposure does not affect oxidative damage or lifespan in mice, but decreases expression of antioxidant protection genes. *Mech Ageing Dev*, 2006; 127: 897-904.

Sesso HD, Buring JE, Christen WG, Kurth T, Belanger C, MacFadyen J, et al. Vitamins E and C in the prevention of cardiovascular disease in men: the Physicians' Health Study II randomized controlled trial. *JAMA*, 2008; 300:2.123-33.

Stephens NG, Parsons A, Schofield PM, Kelly F, Cheeseman K, Mitchinson MJ, Brown MJ. Randomised controlled trial of vitamin E in patients with coronary disease: Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS). *Lancet*, 1996; 347: 781-6.

The Alpha-Tocopherol Beta Carotene Cancer Prevention Study Group. The Effect of Vitamin E and Beta Carotene on the Incidence of Lung Cancer and Other Cancers in Male Smokers. *New Engl J Med*, 1994; 330:1.029-35.

Upston JM, Terentis AC, Morris K, Keaney Jr JF, Stocker R. Oxidized lipid accumulates in the presence of alpha-tocopherol in atherosclerosis. *Biochem J*, 2002; 363:753-60.

Virtamo J, Rapola JM, Ripatti S, Heinonen OP, Taylor PR, Albanes D, Huttunen JK. Effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of primary nonfatal myocardial infarction and fatal coronary heart disease. *Arch Intern Med*, 1998; 158:668-75.

New functions of vitamin D and how much do we need?

Heike Bischoff-Ferrari

Dept. of Rheumatology and Institute for Physical Medicine
University Hospital, Zurich, Switzerland.

Introduction

Increasing data suggest that higher 25-hydroxyvitamin D (25 (OH) D) serum concentrations are advantageous for health. At present, strong evidence for causality is available for fracture and fall prevention, while promising epidemiologic and mechanistic studies suggest a key role of vitamin D in the preservation of cardiovascular health, and the prevention of cancer, and other common chronic disease.

For musculoskeletal health, cardiovascular health and cancer prevention, dose-response with higher 25 (OH) D levels point to a similar target range of at least 75 nmol/l and better approximately 100 nmol/l. This 25 (OH) D range may be reached in 50% of adults with 1000 IU vitamin D per day. Likely, individuals who start with lower 25 (OH) D levels will need a higher supplementation dose. Most vulnerable to low vitamin D levels are elderly, individuals living in northern latitudes with prolonged winters and thus low UVB exposure, obese individuals, and African Americans of all ages.

Target both muscle and bone

Critical for the understanding and prevention of fractures especially at older age is their close relationship with muscle weakness (1) and falling (2, 3). Over 90% of fractures occur after a fall and fall rates increase with age (4) and poor muscle strength or function (4). Mechanistically, the circumstances (5) and the direction (6) of a fall determine the type of fracture, whereas bone density and factors that attenuate a fall, such as better strength or better padding, critically determine whether a fracture will take place when the faller lands on a certain bone (7). Moreover, falling may affect bone density through increased immobility from self-restriction of activities (8). It is well known that falls may lead to psychological trauma known as fear of falling (9). After their first fall, about 30% of persons develop fear of falling resulting in self-restriction of activities, and decreased quality of life (8). Notably, anti-resorptive treatment alone may not reduce fractures among individuals 80 years and older in the presence of non-skeletal risk factors for fractures, such as muscle weakness and falling, despite an improvement in bone metabolism (10).

Efficacy of vitamin D supplementation on fall and fracture prevention

Vitamin D modulates fracture risk in two ways: by decreasing falls and increasing bone density. Two most recent meta-analyses of double-blind randomized controlled trials came to the conclusion

that vitamin D reduces the risk of falls by 19% (11), the risk of hip fracture by 18% (12) and the risk of any non-vertebral fracture by 20% (12), however this benefit was dose-dependent. Fall prevention was only observed in the trial of at least 700 IU vitamin D per day, and fracture prevention required a received dose (treatment dose x adherence) of more than 400 IU vitamin D per day. Anti-fall efficacy started with achieved 25-hydroxyvitamin D levels of at least 60 nmol/l (24 ng/ml) and anti-fracture efficacy started with achieved 25-hydroxyvitamin D levels of at least 75 nmol/l (30 ng/ml) and both endpoints improved further with higher achieved 25-hydroxyvitamin D levels.

Based on these evidence-based data derived from the general older population, vitamin D supplementation should be at least 700 to 1,000 IU per day and taken with good adherence to cover the needs for both fall and fracture prevention. If so, benefits were present in all subgroups of the senior population (11, 12). Ideally, the target range for 25-hydroxyvitamin D should be at least 75 nmol/l, which is consistent with the 2010 position statement on vitamin D by the International Osteoporosis Foundation (IOF) (13).

Vitamin D: its role in muscle health

In humans, several lines of evidence support a role of vitamin D in muscle health. First, proximal muscle weakness is a prominent feature of the clinical syndrome of vitamin D deficiency (14). Vitamin D deficiency myopathy includes proximal muscle weakness, diffuse muscle pain, and gait impairments such as waddling way of walking (15). Second, VDR is expressed in human muscle tissue (16), and VDR activation may promote de novo protein synthesis in muscle (17). Suggesting a role of vitamin D in muscle development, mice lacking the VDR show a skeletal muscle phenotype with smaller and variable muscle fibers and persistence of immature muscle gene expression during adult life (18, 19). These abnormalities persist after correction of systemic calcium metabolism by a rescue diet (19). Third, several observational studies suggest a positive association between 25-hydroxyvitamin D and muscle strength or lower extremity function in older persons (20, 21). Finally, in several double-blind randomized controlled trials, vitamin D supplementation increased muscle strength and balance (22, 23), and reduced the risk of falling (11). Notably, a study by Glerup and colleagues suggest that vitamin D deficiency may cause muscular impairment even before adverse effects on bone occur (14).

Desirable 25-hydroxyvitamin D status for muscle function

A dose-response relationship between vitamin D status and muscle health was examined in NHANES III (The Third National Health and Nutrition Examination Survey) including 4100 ambulatory adults age 60 years and older. Muscle function measured as the 8-foot walk test and the repeated sit-to-stand test was poorest in subjects with the lowest 25-hydroxyvitamin D (below 20 nmol/l) levels. Similar results were found in a Dutch cohort of older individuals (20). Notably, while from the smaller Dutch cohort a threshold of 50 nmol/l has been suggested for optimal function (20), a threshold beyond which function would not further improve was not identified in the larger NHANES III survey, even beyond the upper end of the reference range (> 100 nmol/l) (21). In NHANES III, a simi-

lar benefit of higher 25-hydroxyvitamin D status was documented by gender, level of physical activity, and level of calcium intake.

These associations between higher 25-hydroxyvitamin D status and better function observed in epidemiologic studies in the US and Europe were confirmed by three recent double-blind RCTs with 800 IU vitamin D₃ resulting in a 4-11% gain in lower extremity strength or function (22, 23), and in an up to 28% improvement in body sway (23, 24) in older adults age 65+ years of age, within 2 to 12 month of treatment.

A dose-dependent benefit of vitamin D in regard to fall prevention was suggested by a 2004 meta-analysis (25) and a recent multi-dose double-blind RCT among 124 nursing home residents receiving 200, 400, 600 or 800 IU vitamin D compared to placebo over a 5 month period (26). Participants in the 800 IU group had a 72% lower rate of falls than those taking placebo or a lower dose of vitamin D (rate ratio = 0.28; 95% confidence interval = 0.11-0.75) (26). Including this trial, a most recent meta-analysis of 8 high-quality double-blind RCTs (n = 2426) found significant heterogeneity by dose (low-dose: < 700 IU/day versus higher dose: 700 to 1,000 IU/day; p-value 0.02) and achieved 25-hydroxyvitamin D level (< 60 nmol/l versus ≥ 60 nmol/l; p-value = 0.005) (27). Higher dose supplemental vitamin D reduced fall risk by 19% (pooled relative risk (RR) = 0.81; 95% CI, 0.71-0.92; n = 1921 from seven trials) versus a lower dose did not (pooled RR = 1.10, 95% CI, 0.89-1.35 from 2 trials), also achieved serum 25-hydroxyvitamin D concentrations less than 60 nmol/l did not reduce the risk of falling (pooled RR = 1.35, 95% CI, 0.98-1.84). Notably, at the higher dose of 700 to 1000 IU vitamin D, this meta-analysis documented a 38% reduction in the risk of falling with treatment duration of 2 to 5 months and a sustained significant effect of 17% fall reduction with treatment duration of 12 to 36 months. Thus, benefits of vitamin D on fall prevention are rapid and sustained provided a high enough dose is provided.

Vitamin D: its benefit on bone

A threshold for optimal 25 (OH) D and hip BMD has been addressed among 13,432 individuals of NHANES III (The Third National Health and Nutrition Examination Survey) including both younger (20-49 years) and older (50+ years) individuals with different ethnic racial background (28). In the regression plots higher serum 25 (OH) D levels were associated with higher BMD throughout the reference range of 22.5 to 94 nmol/l in all subgroups. In younger whites and younger Mexican Americans, higher 25 (OH) D was associated with higher BMD even beyond 100 nmol/l.

Consistently, a 2009 meta-analysis of 12 double-blind RCTs for non-vertebral fractures (n = 42,279) and 8 RCTs for hip fractures (n = 40,886) found that anti-fracture efficacy of vitamin D is dose-dependent and increases significantly with a higher achieved level of 25-hydroxyvitamin D in the treatment group starting at 75 nmol/l (12). No fracture reduction was observed for a received dose of 400 IU or less per day, while a higher received dose of 482 to 770 IU supplemental vitamin D per day reduced non-vertebral fractures by 20% (pooled RR = 0.80; 95% CI, 0.72 -0.89; n = 33,265 from 9 trials) and hip fractures by 18% (pooled RR = 0.82; 95% CI, 0.69

-0.97; n = 31,872 from 5 trials). Notably, subgroup analyses for the prevention of non-vertebral fractures with the higher received dose suggested a benefit in all subgroups of the older population, and possibly better fracture reduction with D₃ compared to D₂, while additional calcium did not further improve anti-fracture efficacy (see table 1).

Table 1. Non-vertebral fracture reduction with vitamin D based on evidence from double-blind RCTs

SUBGROUPS BY RECEIVED DOSE OF VITAMIN D	FRACTURE REDUCTION	
Pooled analysis from 3 trials with low-dose vitamin D (340-380 IU/day)	+2%	∅
Pooled analysis from 9 trials with higher dose vitamin D (482-770 IU/day)	-20%	Sig.
Pooled subgroup analysis from trials with higher dose vitamin D (482-770 IE/day)		
- Vitamin D ₂	-10%	∅
- Vitamin D ₃	-23%	Sig.
- Age 65-74	-33%	Sig.
- Age 75+	-17%	Sig.
- Institutionalized 65+	-15%	Sig.
- Community-dwelling 65+	-29%	Sig.
- Vitamin D plus Calcium	-21%	Sig.
- Vitamin D main effects	-21%	Sig.

Adapted from Bischoff-Ferrari et al. Prevention of non-vertebral fractures with oral vitamin D and dose dependency: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Intern Med.* 2009 Mar 23; 169(6):551-61. Copyright© (2009), American Medical Association (12).

Several recent meta-analyses have addressed the benefit of vitamin D on fracture reduction with conflicting findings

In August 2007, a review and meta-analysis commissioned by the US Department of Health and Human Services (HHS) addressed the effect of vitamin D supplementation on all fractures in postmenopausal women and men ages 50 and older (29). The pooled results for all fractures included 10 double-blinded and 3 open design trials (n = 58,712) and did not support a significant reduction of fractures with vitamin D (pooled odds ratio = 0.90; 95% CI 0.81-1.02). The report suggested that the benefit of vitamin D may depend on additional calcium and may be prima-

rily seen in institutionalized individuals, which is consistent with the meta-analysis of Boonen *et al*, (30).

One 2010 patient-based meta-analysis of a subgroup of 7 large trials of vitamin D included 68500 individuals age 47 and older (31). The authors defined alternative criteria that permitted the inclusion of two open design trials (32, 33), one trial with intra-muscular vitamin D (34), and 4 of the 12 double-blind RCTs of oral vitamin D included in the 2009 meta-analysis described above (one RCT using intermittent vitamin D₂ without calcium (35), one RCT with 400 IU vitamin D₃ without calcium (36), one trial with 800 IU vitamin D₃ per day with and without calcium and less than 50% adherence (37), and one trial with 400 IU vitamin D with calcium (38)). The authors did not account for adherence to treatment. Based on these criteria, their findings showed a reduced overall risk of fracture (hazard ratio = 0.92; 95% CI 0.86 to 0.99) and a non-significant reduction of hip fractures (hazard ratio = 0.84; 95% CI 0.70 to 1.01) for trials that used vitamin D plus calcium. Vitamin D alone, irrespective of dose, did not reduce fracture risk. The authors concluded that vitamin D, even in a dose of 400 IU vitamin D per day reduces the risk of fracture if combined with calcium. Notably, this regimen was tested in 36,282 postmenopausal women in the Women's Health Initiative Trial over a treatment period of 7 years and did not reduce the risk of fracture (38).

In all 3 reports reviewed under this section, heterogeneity by dose may have been missed due to the inclusion of open design trials plus a dose evaluation that did not incorporate adherence. Biologically, the exclusion of heterogeneity by dose seems implausible even if a formal test of heterogeneity is not statistically significant. A dose-response relationship between vitamin D and fracture reduction is supported by epidemiologic data showing a significant positive trend between serum 25 (OH) D concentrations and hip bone density (28), lower extremity strength (21), and trial data for fall prevention (11).

Factors that may obscure a benefit of vitamin D are low adherence to treatment (39), low dose of vitamin D, or the use of less potent D₂ (40, 41). Furthermore, open design trials (42) may bias results towards the null because vitamin D is available over the counter.

Adding calcium to vitamin D

In the 2009 meta-analysis of double-blind RCTs (12), the observed calcium- independent benefit of vitamin D on non-vertebral fracture prevention at a vitamin D dose greater than 400 IU per day may be explained by a calcium-sparing effect of vitamin D (43, 44), which is supported by two recent epidemiologic studies suggesting that both PTH suppression (44) and hip bone density (45) may only depend on a higher calcium intake if serum 25-hydroxyvitamin D levels are very low.

Thus, as calcium absorption is improved with higher serum 25-hydroxyvitamin D levels (44, 46), future studies may need to evaluate whether current calcium intake recommendations with higher doses

of vitamin D beyond 2000 IU per day are safe or require downward adjustment (46). If dietary calcium is a threshold nutrient, as suggested by Dr. Heaney (47), then that threshold for optimal calcium absorption may be at a lower calcium intake when vitamin D supplementation is adequate.

Dosing interval of vitamin D

In 2010, a large double-blind RCT by Sanders *et al*, including 2256 community-dwelling women age 70 years and older, tested the benefit of 500,000 IU vitamin D₃ given orally once a year, on fall and fracture prevention (48). In those women, mean age 76, considered to be at risk of fracture, 500,000 IU vitamin D once a year did not reduce but increase the risk of falls by 15% and the risk of fractures by 26% compared to placebo, with the greatest increase in falls occurring during the first 3 months after dosing. These findings are consistent with another trial that tested 300,000 IU vitamin D₂ as an intra-muscular injection once a year (34).

Whether the large dose of vitamin D tested in the Sanders trial was too much of a good thing or not enough to provide a sufficient supply of vitamin D over 12 months is speculative (49). The temporal pattern of events may suggest that the high dose of vitamin D may have induced a "protective" reaction resulting in an acute decrease in 1,25-dihydroxyvitamin D (50). Alternatively, the undocumented potential effect of vitamin D on muscle strength (51) and overall health [i.e. less infections and less hospital admissions (52)] in the Sanders trial, may have improved mobility and decreased "down time", ironically leading to an increased opportunity to fall and fracture.

As a result of the Sanders trial and given the half-life of vitamin D is 3 to 6 weeks, a daily, weekly, or monthly dosing interval may be most advantageous and safe (53, 54).

Other potential benefits of vitamin D supplementation

Many lines of evidence also suggest that low vitamin D status increases the risk of colon (55) and possibly other cancers (56), increases the risk of hypertension (57), myocardial infarction (58), cardiovascular (59) and overall mortality (60), infections (61) and diabetes (62). The development of mice lacking the receptor for vitamin D (VDR) provided insight of the global physiologic role of vitamin D. These mice express phenotypes that are consistent with epidemiologic studies of 25-hydroxyvitamin D deficiency in humans (63).

The desirable threshold of 25-hydroxyvitamin D for other end points appears to be between 75 to 100 nmol/l, similar than suggested for musculoskeletal health (54).

Are current recommended intakes for vitamin D sufficient for optimal musculoskeletal health?

The recommended adequate intake of vitamin D as defined by the Institute of Medicine in 1997 is 200 IU per day for adults up to 50 years of age, 400 IU per day for adults between age 51 and 70,

and 600 IU per day for those aged 70 years and over. These recommendations are insufficient to meet the requirements for optimal fall and non-vertebral fracture prevention. The current intake recommendation for older persons (600 IU per day) may bring most individuals to 50-60 nmol/l, but not to 75-100 nmol/l (28).

Studies suggest that 700 to 1000 IU of vitamin D per day may bring 50% of younger and older adults up to 75-100 nmol/l (64-66). Thus, to bring most older adults to the desirable range of 75-100 nmol/l, vitamin D doses higher than 700-1000 IU would be needed. In senior hip fracture patients with a mean age of 84, a 12 month trial with 800 IU vitamin D₃ per day increased 25 (OH) D levels from 30.2 (+ 19.9) to 88.3 (+ 25.2) nmol/l with 70% reaching a desirable threshold of 75 nmol/l (52). The comparison group received 2000 IU vitamin D per day and their mean 25 (OH) D levels were 32.7 (+ 20.5) nmol/l at baseline and increase to 111.5 (+ 26.0) nmol/l after 12 month with 93% reaching the 75 nmol/l threshold without risk (52).

According to studies in younger adults, intakes of as high as 4000 IU to 10,000 IU are safe (54, 67, 68), and 4,000 IU may bring 88% of healthy young men and women to at least 75 nmol/l (68). Heaney and colleagues, in a study of healthy men, estimated that 1,000 IU cholecalciferol per day are needed during winter months in Nebraska to maintain a late summer starting level of 70 nmol/l, while baseline levels between 20-40 nmol/l may require a daily dose of 2,200 IU vitamin D to reach and maintain 80 nmol/l (47, 67). These results indicate that individuals with a lower starting level may need a higher dose of vitamin D to achieve desirable levels, while relatively lower doses may be sufficient in individuals who start at higher baseline levels.

Based on a dose-response calculation proposed by Dr. Heaney of about 1.0 nmol per 40 IU at the lower end of the distribution and 0.6 nmol per 40 IU at the upper end (47). Naturally high 25-hydroxyvitamin D levels observed in healthy outdoor workers are 135 nmol/l/69 in farmers and 163 nmol/l (70) in lifeguards. As a first sign of toxicity, only serum 25 (OH) D levels of above 220 nmol/l have been associated with hypercalcemia (71, 72).

Due to seasonal fluctuations of 25 (OH) D levels (73), some individuals may be in the desirable range during summer months. However, these levels will not sustain during the winter months even in sunny latitudes (74, 75). Thus winter supplementation with vitamin D is needed even after a sunny summer. Furthermore, several studies suggest that many older persons will not achieve optimal serum 25 (OH) D levels during summer months suggesting that vitamin D supplementation should be independent of season in older persons (75, 77). Even among younger persons, the use of sunscreen or sun-protective clothing may prevent a significant increase in 25-hydroxyvitamin D levels (77).

Most vulnerable to low vitamin D levels are older individuals (75, 78), individuals living in northern latitudes with prolonged winters (73, 79), obese individuals (80), and individuals of all ages with dark skin pigmentation living in northern latitudes (28, 81, 82).

In summary

Based on evidence from randomized-controlled trials, vitamin D supplementation reduces both falls and non-vertebral fractures, including those at the hip. However, this benefit is dose-dependent. Consistently, fall prevention and non-vertebral fracture prevention increased significantly with higher achieved 25 (OH) D levels. Fall prevention occurred with 25-hydroxyvitamin D levels of 60 nmol/l up to 95 (27), while 75 to 112 nmol/l were required for non-vertebral fracture prevention (12). Reaching a threshold of 75 to 100 nmol/l may provide additional health benefits on heart health, cancer prevention and prevention of other chronic diseases.

A threshold of 75 nmol/l 25 (OH) D has been recommended in 2010 by the IOF position statement for optimal fall and fracture reduction. The IOF also recommended an intake of 800 IU vitamin D in everybody age 60 years and older (13).

References

1. Cummings SR, Nevitt MC, Browner WS, et al. Risk factors for hip fracture in white women. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *N Engl J Med*, 1995; 332:767-73.
2. Prevention CoDca. Fatalities and injuries from falls among older adults-United States, 1993-2003 and 2001-2005. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 2006; 55:1.221-4.
3. Schwartz AV, Nevitt MC, Brown BW Jr, Kelsey JL. Increased falling as a risk factor for fracture among older women: the study of osteoporotic fractures. *Am J Epidemiol*, 2005; 161:180-5.
4. Tinetti ME. Risk factors for falls among elderly persons living in the community. *N Engl J Med*, 1988; 319:1.701-7.
5. Cummings SR, Nevitt MC. Non-skeletal determinants of fractures: the potential importance of the mechanics of falls. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Osteoporos Int*, 1994; (4 suppl. 1):67-70.
6. Nguyen ND, Frost SA, Center JR, Eisman JA, Nguyen TV. Development of a nomogram for individualizing hip fracture risk in men and women. *Osteoporos Int* 2007; 17:17.
7. Nevitt MC, Cummings SR. Type of fall and risk of hip and wrist fractures: the study of osteoporotic fractures. The Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *J Am Geriatr Soc*, 1993; 41:1.226-34.
8. Vellas BJ, Wayne SJ, Romero LJ, Baumgartner RN, Garry PJ. Fear of falling and restriction of mobility in elderly fallers. *Age Ageing*. 1997; 26:189-93.
9. Arfken CL, Lach HW, Birge SJ, Miller JP. The prevalence and correlates of fear of falling in elderly persons living in the community. *Am J Public Health*, 1994; 84:565-70.
10. McClung MR, Geusens P, Miller PD, et al. Effect of risedronate on the risk of hip fracture in elderly women. Hip Intervention Program Study Group. *N Engl J Med*, 2001; 344:333-40.
11. Bischoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Staehelin HB, et al. Fall prevention with supplemental and active forms of vitamin D: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Bmj*, 2009; 339:b3.692.

12. Bischoff-Ferrari HA, Willett WC, Wong JB, et al. Prevention of nonvertebral fractures with oral vitamin D and dose dependency: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Intern Med*, 2009; 169:551-61.
13. Dawson-Hughes B, Mithal A, Bonjour JP, et al. IOF position statement: vitamin D recommendations for older adults. *Osteoporos Int*.
14. Glerup H, Mikkelsen K, Poulsen L, et al. Hypovitaminosis D myopathy without biochemical signs of osteomalacic bone involvement. *Calcif Tissue Int*, 2000; 66:419-24.
15. Schott GD, Wills MR. Muscle weakness in osteomalacia. *Lancet* 1976; 1:626-9.
16. Bischoff-Ferrari HA, Borchers M, Gudat F, Durmuller U, Stahelin HB, Dick W. Vitamin D receptor expression in human muscle tissue decreases with age. *J Bone Miner Res*, 2004; 19:265-9.
17. Sorensen OH, Lund B, Saltin B, et al. Myopathy in bone loss of ageing: improvement by treatment with 1 alpha-hydroxycholecalciferol and calcium. *Clin Sci (Colch)*, 1979; 56:157-61.
18. Bouillon R, Bischoff-Ferrari H, Willett W. Vitamin D and Health: Perspectives from Mice and Man. *J Bone Miner Res*, 2008; 28:28.
19. Endo I, Inoue D, Mitsui T, et al. Deletion of vitamin D receptor gene in mice results in abnormal skeletal muscle development with deregulated expression of myoregulatory transcription factors. *Endocrinology*, 2003; 144:5.138-44. Epub 2003; Aug 13.
20. Wicherts IS, van Schoor NM, Boeke AJ, et al. Vitamin D status predicts physical performance and its decline in older persons. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007; 6:6.
21. Bischoff-Ferrari HA, Dietrich T, Orav EJ, et al. Higher 25-hydroxyvitamin D concentrations are associated with better lower-extremity function in both active and inactive persons aged > = 60 y. *Am J Clin Nutr*, 2004; 80:752-8.
22. Bischoff HA, Stahelin HB, Dick W, et al. Effects of vitamin D and calcium supplementation on falls: a randomized controlled trial. *J Bone Miner Res*, 2003; 18:343-51.
23. Pfeifer M, Begerow B, Minne HW, Suppan K, Fahrleitner-Pammer A, Dobnig H. Effects of a long-term vitamin D and calcium supplementation on falls and parameters of muscle function in community-dwelling older individuals. *Osteoporos Int*, 2008; 16:16.
24. Pfeifer M, Begerow B, Minne HW, Abrams C, Nachtigall D, Hansen C. Effects of a short-term vitamin D and calcium supplementation on body sway and secondary hyperparathyroidism in elderly women. *J Bone Miner Res*, 2000; 15:1.113-8.
25. Bischoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Willett CW, et al. Effect of vitamin D on falls: a meta-analysis. *JAMA*, 2004; 291:1.999-2.006.
26. Broe KE, Chen TC, Weinberg J, Bischoff-Ferrari HA, Holick MF, Kiel DP. A higher dose of vitamin D reduces the risk of falls in nursing home residents: a randomized, multiple-dose study. *J Am Geriatr Soc*, 2007; 55:234-9.
27. Bischoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Staehelin HB, et al. Fall prevention with supplemental and alpha-hydroxylated vitamin D: a meta-analysis of randomized controlled trials *Bmj*; in press 2009.
28. Bischoff-Ferrari HA, Dietrich T, Orav EJ, Dawson-Hughes B. Positive association between 25-hydroxy vitamin d levels and bone mineral density: a population-based study of younger and older adults. *Am J Med*, 2004; 116:634-9.

29. Cranny A, Horsley T, O'Donnell S, et al. Effectiveness and safety of vitamin D in relation to bone health. <http://www.wahrqgov/clinic/tp/vitadtphm>. 2007.
30. Boonen S, Lips P, Bouillon R, Bischoff-Ferrari HA, Vanderschueren D, Haentjens P. Need for additional calcium to reduce the risk of hip fracture with vitamin D supplementation: evidence from a comparative meta-analysis of randomized controlled trials. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007; 30:30.
31. Patient level pooled analysis of 68,500 patients from seven major vitamin D fracture trials in US and Europe. *Bmj*; 340:b5.463.
32. Porthouse J, Cockayne S, King C, et al. Randomised controlled trial of calcium and supplementation with cholecalciferol (vitamin D₃) for prevention of fractures in primary care. *BMJ*, 2005; 330:1.003.
33. Larsen ER, Mosekilde L, Foldspang A. Vitamin D and calcium supplementation prevents severe falls in elderly community-dwelling women: a pragmatic population-based 3-year intervention study. *Aging Clin Exp Res*, 2005; 17:125-32.
34. Smith H, Anderson F, Raphael H, Maslin P, Crozier S, Cooper C. Effect of annual intramuscular vitamin D on fracture risk in elderly men and women--a population-based, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Rheumatology (Oxford)*, 2007; 46:1.852-7.
35. Lyons RA, Johansen A, Brophy S, et al. Preventing fractures among older people living in institutional care: a pragmatic randomised double blind placebo controlled trial of vitamin D supplementation. *Osteoporos Int*, 2007; 18:811-8.
36. Meyer HE, Smedshaug GB, Kvaavik E, Falch JA, Tverdal A, Pedersen JI. Can vitamin D supplementation reduce the risk of fracture in the elderly? A randomized controlled trial. *J Bone Miner Res*, 2002; 17:709-15.
37. Grant AM, Avenell A, Campbell MK, et al. Oral vitamin D₃ and calcium for secondary prevention of low-trauma fractures in elderly people (Randomised Evaluation of Calcium Or vitamin D, RECORD): a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*, 2005; 365:1.621-8.
38. Jackson RD, LaCroix AZ, Gass M, et al. Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of fractures. *N Engl J Med* 2006; 354:669-83.
39. Grant AM, Avenell A, Campbell MK, et al. Oral vitamin D₃ and calcium for secondary prevention of low-trauma fractures in elderly people (Randomised Evaluation of Calcium Or vitamin D, RECORD): a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*, 2005; 365:1.621-8.
40. Armas LA, Hollis BW, Heaney RP. Vitamin D₂ is much less effective than vitamin D₃ in humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004; 89:5.387-91.
41. Houghton LA, Vieth R. The case against ergocalciferol (vitamin D₂) as a vitamin supplement. *Am J Clin Nutr*, 2006; 84:694-7.
42. Porthouse J, Cockayne S, King C, et al. Randomised controlled trial of calcium and supplementation with cholecalciferol (vitamin D₃) for prevention of fractures in primary care. *Bmj*, 2005; 330:1.003.
43. Heaney RP, Barger-Lux MJ, Dowell MS, Chen TC, Holick MF. Calcium absorptive effects of vitamin D and its major metabolites. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997; 82:4.111-6.

44. Steingrimsdottir L, Gunnarsson O, Indridason OS, Franzson L, Sigurdsson G. Relationship between serum parathyroid hormone levels, vitamin D sufficiency, and calcium intake. *Jama*, 2005; 294:2.336-41.
45. Bischoff-Ferrari HA, Kiel DP, Dawson-Hughes B, et al. Dietary calcium and serum 25-hydroxyvitamin D status in relation to BMD among U.S. adults. *J Bone Miner Res*, 2009; 24:935-42.
46. Heaney RP, Dowell MS, Hale CA, Bendich A. Calcium absorption varies within the reference range for serum 25-hydroxyvitamin D. *J Am Coll Nutr*, 2003; 22:142-6.
47. Heaney RP. The Vitamin D requirement in health and disease. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2005; 15:15.
48. Sanders KM, Stuart AL, Williamson EJ, et al. Annual high-dose oral vitamin D and falls and fractures in older women: a randomized controlled trial. *JAMA*; 303:1.815-22.
49. Dawson-Hughes B, Harris SS. High-dose vitamin D supplementation: too much of a good thing? *JAMA*; 303:1.861-2.
50. Beckman MJ, Johnson JA, Goff JP, Reinhardt TA, Beitz DC, Horst RL. The role of dietary calcium in the physiology of vitamin D toxicity: excess dietary vitamin D₃ blunts parathyroid hormone induction of kidney 1-hydroxylase. *Arch Biochem Biophys*, 1995; 319:535-9.
51. Bischoff-Ferrari HA, Dietrich T, Orav EJ, et al. Higher 25-hydroxyvitamin D concentrations are associated with better lower-extremity function in both active and inactive persons aged > or = 60 y. *Am J Clin Nutr*, 2004; 80:752-8.
52. Bischoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Platz A, et al. Effect of high-dosage cholecalciferol and extended physiotherapy on complications after hip fracture: a randomized controlled trial. *Arch Intern Med*, 170:813-20.
53. Chel V, Wijnhoven HA, Smit JH, Ooms M, Lips P. Efficacy of different doses and time intervals of oral vitamin D supplementation with or without calcium in elderly nursing home residents. *Osteoporos Int*, 2008; 19:663-71.
54. Bischoff-Ferrari HA, Shao A, Dawson-Hughes B, Hathcock J, Giovannucci E, Willett WC. Benefit-risk assessment of vitamin D supplementation. *Osteoporos Int*, 2009.
55. Feskanich D, Ma J, Fuchs CS, et al. Plasma vitamin d metabolites and risk of colorectal cancer in women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2004; 13:1.502-8.
56. Giovannucci E, Liu Y, Willett WC. Cancer incidence and mortality and vitamin D in black and white male health professionals. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2006; 15:2.467-72. Epub 006 Nov 28.
57. Forman JP, Giovannucci E, Holmes MD, et al. Plasma 25-Hydroxyvitamin D Levels and Risk of Incident Hypertension. *Hypertension*, 2007; 19:19.
58. Giovannucci E, Liu Y, Hollis BW, Rimm EB. 25-hydroxyvitamin D and risk of myocardial infarction in men: a prospective study. *Arch Intern Med*, 2008; 168:1.174-80.
59. Dobnig H, Pilz S, Scharnagl H, et al. Independent association of low serum 25-hydroxyvitamin d and 1,25-dihydroxyvitamin d levels with all-cause and cardiovascular mortality. *Arch Intern Med*, 2008; 168:1.340-9.
60. Autier P, Gandini S. Vitamin D Supplementation and Total Mortality: A Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *Arch Intern Med*, 2007; 167:1.730-7.

61. Liu PT, Stenger S, Li H, et al. Toll-Like Receptor Triggering of a Vitamin D-Mediated Human Antimicrobial Response. *Science*, 2006; 23:23.
62. Chiu KC, Chu A, Go VL, Saad MF. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and beta cell dysfunction. *Am J Clin Nutr*, 2004; 79:820-5.
63. Bouillon R, Bischoff-Ferrari H, Willett W. Vitamin D and health: perspectives from mice and man. *J Bone Miner Res*, 2008; 23:974-9.
64. Tangpricha V, Pearce EN, Chen TC, Holick MF. Vitamin D insufficiency among free-living healthy young adults. *Am J Med*, 2002; 112:659-62.
65. Barger-Lux MJ, Heaney RP, Dowell S, Chen TC, Holick MF. Vitamin D and its major metabolites: serum levels after graded oral dosing in healthy men. *Osteoporos Int*, 1998; 8:222-30.
66. Dawson-Hughes B. Impact of vitamin D and calcium on bone and mineral metabolism in older adults. *Biologic Effects of Light 2001* Holick MF (ed) Kluwer Academic Publishers, Boston, MA. 2002:175-83.
67. Heaney RP, Davies KM, Chen TC, Holick MF, Barger-Lux MJ. Human serum 25-hydroxycholecalciferol response to extended oral dosing with cholecalciferol. *Am J Clin Nutr*, 2003; 77:204-10.
68. Vieth R, Chan PC, MacFarlane GD. Efficacy and safety of vitamin D₃ intake exceeding the lowest observed adverse effect level. *Am J Clin Nutr*, 2001; 73:288-94.
69. Haddock L, Corcino J, Vázquez MD. 25 (OH) D serum levels in the normal Puerto Rican population and in subjects with tropical sprue and parathyroid disease. *Puerto Rico Health Sci J*, 1982; 1:85-91.
70. Haddad JG, Chyu KJ. Competitive protein-binding radioassay for 25-hydroxycholecalciferol. *J Clin Endocrinol Metab*, 1971; 33:992-5.
71. Gertner JM, Domenech M. 25-Hydroxyvitamin D levels in patients treated with high-dosage ergo- and cholecalciferol. *J Clin Pathol*, 1977; 30:144-50.
72. Vieth R. Vitamin D supplementation, 25-hydroxyvitamin D concentrations, and safety. *Am J Clin Nutr*, 1999; 69:842-56.
73. Dawson-Hughes B, Harris SS, Dallal GE. Plasma calcidiol, season, and serum parathyroid hormone concentrations in healthy elderly men and women. *Am J Clin Nutr*, 1997; 65:67-71.
74. Grant WB, Holick MF. Benefits and requirements of vitamin D for optimal health: a review. *Altern Med Rev*, 2005; 10:94-111.
75. McKenna MJ. Differences in vitamin D status between countries in young adults and the elderly. *Am J Med*, 1992; 93:69-77.
76. Theiler R, Stahelin HB, Kranzlin M, et al. Influence of physical mobility and season on 25-hydroxyvitamin D-parathyroid hormone interaction and bone remodelling in the elderly. *Eur J Endocrinol*, 2000; 143:673-9.
77. Holick MF. Environmental factors that influence the cutaneous production of vitamin D. *Am J Clin Nutr*, 1995; 61(suppl.):638S-45S.

78. Theiler R, Stahelin HB, Tyndall A, Binder K, Somorjai G, Bischoff HA. Calcidiol, calcitriol and parathyroid hormone serum concentrations in institutionalized and ambulatory elderly in Switzerland. *Int J Vitam Nutr Res*, 1999; 69:96-105.
79. Webb AR, Kline L, Holick MF. Influence of season and latitude on the cutaneous synthesis of vitamin D₃: exposure to winter sunlight in Boston and Edmonton will not promote vitamin D₃ synthesis in human skin. *J Clin Endocrinol Metab*, 1988; 67:373-8.
80. Parikh SJ, Edelman M, Uwaifo GI, et al. The relationship between obesity and serum 1,25-dihydroxy vitamin D concentrations in healthy adults. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004; 89:1.196-9.
81. Looker AC, Dawson-Hughes B, Calvo MS, Gunter EW, Sahyoun NR. Serum 25-hydroxyvitamin D status of adolescents and adults in two seasonal subpopulations from NHANES III. *Bone*, 2002; 30:771-7.
82. Nesby-O'Dell S, Scanlon KS, Cogswell ME, et al. Hypovitaminosis D prevalence and determinants among African American and white women of reproductive age: third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Am J Clin Nutr*, 2002; 76:187-92.

Role of vitamin K₂ in bone and heart health

Elke Theuwissen and Cees Vermeer

VitaK & Cardiovascular Research Institute CRIM,
University of Maastricht, The Netherlands.

Abstract

Vitamin K is a group name for the naturally occurring phyloquinone (vitamin K₁) and menaquinones (MK-n; K₂ vitamins). Green leafy vegetables are the richest source of vitamin K₁, while the short-chain menaquinone-4 (MK-4) is mainly found in goose meat, butter, and egg yolk. Fermented foods, like (curd) cheeses and the Japanese soybean product natto are the main source of the long-chain menaquinones (MK-7 to MK-13). K₁ and K₂ vitamins are absorbed along with dietary fat from the small intestine and transported by chylomicrons in the circulation. Vitamin K₁ and MK-4 are largely carried by triacylglycerol-rich lipoproteins and rapidly cleared by the liver. Long-chain menaquinones are absorbed in the same way, but are efficiently redistributed by the liver in predominantly LDL. Since LDL has a long half life, these menaquinones can circulate for extended times resulting in higher bioavailability for extra-hepatic tissues. Accumulation of vitamin K in extra-hepatic tissues has direct relevance to vitamin K functions not related to haemostasis, such as bone formation (osteocalcin, OC) and inhibition of soft tissue calcification (matrix Gla-protein, MGP). Vitamin K activates vitamin K-dependent proteins (some coagulation factors, OC, MGP) by serving as a cofactor for g-glutamyl carboxylase converting glutamic acid to g-carboxy glutamic acid residues. Although defective haemostasis is rarely found in the normal population, substantial under-carboxylation has been reported for the extra-hepatic proteins OC and MGP. The adequate intake for vitamin K (75 mg/day) is based solely on the ability to maintain normal haemostasis; supplementation with additional vitamin K₂ may therefore be desirable.

Key words

Phylloquinone, menaquinones, osteocalcin, matrix Gla-protein.

Nomenclature and dietary sources

Vitamin K is a group name for a family of related compounds, generally divided into the naturally occurring phyloquinone (vitamin K₁) and menaquinones (MK-n; K₂ vitamins). The latter can be subdivided into the short-chain menaquinones, e.g. MK-4, and the long-chain menaquinones of which MK-7, MK-8, and MK-9 are nutritionally interesting compounds. All K vitamins share a common 2-methyl-1,4-naphthoquinone nucleus, called menadione, and a side-chain at the 3-position. The side-chain has an isoprenoid structure with varying lengths and degrees of saturation.

Green leafy vegetables (kale, spinach, lettuce, and broccoli) are the richest source of vitamin K₁ (150-800 µg/100 g food) and contribute 40-50% of total Western vitamin K intake, followed by certain vegetable oils, such as soybean, cotton seed, canola, and olive oil (50-200 µg/100 g). K₂ vitamins contribute to 10% of vitamin K consumption and are mainly found in animal products. Animal products contain both vitamin K₁ (< 10 µg/100 g) and MK-4 (< 370 µg/100 g), with relatively high MK-4 levels in goose meat, butter, and egg yolk. The richest source of long-chain menaquinones are fermented foods (from bacteria), represented by (curd) cheeses (10-55 µg/100 g) and the Japanese soybean product natto (900-1100 µg/100 g). Long-chain menaquinones can also be synthesized by gut bacteria, but the absorption in the colon is extremely poor due to the absence of bile salts; therefore, the contribution of the intestinal flora to human vitamin K status is probably minimal. The fact that long-chain menaquinones are more efficiently absorbed than vitamin K₁, suggests that K₁ and K₂ vitamins may contribute similarly to the body's vitamin K supply.

Transport and function

Vitamin K is absorbed along with dietary fat from the small intestine and transported by chylomicrons in the circulation. Most of vitamin K₁ (50-70%) is carried by triacylglycerol-rich lipoproteins (TRL) and rapidly cleared by the liver; only a small amount is released into the circulation and carried by LDL and HDL. MK-4 is carried by the same lipoproteins (TRL, LDL, and HDL) and cleared fast as well. The long-chain menaquinones are absorbed in the same way as vitamin K₁ and MK-4, but are efficiently redistributed by the liver in predominantly LDL. Since LDL has a long half life in the circulation, these menaquinones can circulate for extended times resulting in higher bioavailability for extra-hepatic tissues as compared to vitamin K₁ and MK-4. Accumulation of vitamin K in extra-hepatic tissues has direct relevance to vitamin K functions not related to haemostasis. In line with these results, Schurgers *et al*, compared absorption and efficacy of vitamin K₁ and MK-7 in healthy men and women aged 25-35 years. The major finding was the long half life of MK-7 (about 3 days), resulting in higher (7-8 times) and more stable serum levels than vitamin K₁ during prolonged intake at a daily dose of 0.22 mmol (experiment 1). In addition, MK-7 turned out to be a stronger cofactor for carboxylation of the extra-hepatic vitamin K-dependent protein osteocalcin. In experiment 2, both vitamin K₁ and MK-7 showed a linear dose response 4 hours after intake of a single dose with breakfast. Twenty-four hours after intake, however, no response was seen after vitamin K₁ supplementation at doses up to 200 µg. In contrast, MK-7 administration at a dose of 100 µg increased serum levels to approximately 1.5 nM (~ the upper limit of the normal range for total circulating vitamin K).

Vitamin K activates so-called vitamin K-dependent proteins by serving as a cofactor for γ -glutamyl carboxylase converting glutamic acid (Glu) to γ -carboxy glutamic acid (Gla) residues. The conversion of Glu to Gla residues is linked to an enzymatic cycle called the vitamin K-epoxide cycle which carries out carboxylation and serves as a pathway to recover vitamin K from its epoxide metabolite (KO) for reuse. The active form of vitamin K needed by the carboxylase enzyme is the reduced

form vitamin K quinol (KH₂). A metabolic consequence of g-glutamyl carboxylation is that KH₂ is oxidized to KO which in turn undergoes reductive recycling by vitamin K epoxide reductase (VKOR) and quinone reductase, first to the quinone form and then to KH₂. Vitamin K is transported in the circulation in its quinone form, and in tissue vitamin K is reduced to KH₂. In the presence of vitamin K antagonists (i.e. oral anticoagulants) the activity of VKOR is blocked leading to a build up of KO. The conversion of Glu to Gla equips vitamin K-dependent proteins, also called Gla-proteins, with structural integrity and functionality. Beyond their central role in haemostasis, Gla-proteins have a diversity of regulatory functions, such as inhibition of soft tissue calcification (matrix Gla-protein, MGP), bone formation (osteocalcin), and cell growth and apoptosis (growth-arrest specific gene 6, Gas-6). Dietary vitamin K deficiency leads to the production of uncarboxylated proteins, and accordingly to interference with the physiological processes mentioned above. The adequate intake (AI) for vitamin K is established at 60-90 µg/day for women and 60-120 µg/day for men, and is based solely on the ability to maintain normal haemostasis. The AI may not be adequate to maintain full carboxylation of all vitamin K-dependent proteins.

Bone health

At present time, a small number of blood markers are available acting as surrogate markers for the vitamin K status at the level of individual tissues: uncarboxylated prothrombin (PIVKA-II, specific for the liver), uncarboxylated osteocalcin (ucOC, specific for bone) and uncarboxylated matrix Gla-protein (ucMGP, specific for cartilage and vessel wall). Together with plasma measurements of K vitamins, they provide a good picture of the bioavailability of vitamin K at tissue level. Assays for PIVKA-II and ucOC have been extensively validated, whereas tests for ucMGP have recently been presented in the recent literature. It should be noted that 20-30% of circulating osteocalcin and MGP remains uncarboxylated in the healthy population (with adequate vitamin K intake for normal haemostasis). ucOC varies according to vitamin K intake and is considered to be a sensitive indicator of vitamin K status of bone. Osteocalcin is produced by osteoblasts during bone formation and most likely functions as a regulator of bone mineral maturation.

Vitamin K₁ intake is associated with lower risk of hip fracture in the majority of published studies. For example, two large prospective cohort studies (Nurses' Health Study and Framingham Heart Study) support an inverse association between vitamin K intake and the relative risk of hip fracture. In the Nurses' Health Study, an increased relative risk of hip fracture was found in women (mean age, 51 years) who were in the lowest quintile of vitamin K₁ intake (<109 µg/day). In the Framingham Heart Study, men and women (mean age, 75 years) in the highest quartile of vitamin K₁ intake (median intake, 254 µg/day) had a significantly lower relative risk of hip fracture than those in the lowest quartile (median intake, 56 µg/day). In a Japanese ecological study using data from the 2002 National Survey on the incidence of hip fracture and the National Nutritional Survey, a significant association was found between hip fracture incidence and vitamin K intake (K₁ and MK-7 from green vegetables and legumes, especially the fermented soybean product natto). In contrast

to fracture risk, the link between BMD and vitamin K₁ intake is less consistent. Japanese studies, on the other hand, indicate that consumption of natto rich in MK-7 is associated with higher BMD. Associations among vitamin K status, as measured by circulating ucOC, and bone health have been conflicting as well. In observational analyses, elevated ucOC was considered a marker of increased risk for hip fracture in the elderly. In a case-control study, however, circulating ucOC did not differ among women who sustained hip fractures and those who did not.

Outcomes of randomized, controlled trials investigating the influence of vitamin K₁ supplementation on bone loss are contradictory. In female endurance athletes (aged 15-50 years), there was no effect of high-dosage (10 mg/day) vitamin K₁ supplementation (n = 37) on 2-year change in BMD at the femoral neck or lumbar spine as compared to placebo (n = 42). In postmenopausal women (aged 50-60 years), daily supplementation with 1 mg of vitamin K₁ (co-administered with minerals and vitamin D; n = 63) was shown to reduce bone loss at the femoral neck, but not at the lumbar spine, compared to supplementation with minerals and vitamin D alone (n = 58). Two years of supplementation with 200 µg/day vitamin K₁, also with calcium and vitamin D, increased BMD at the ultra-distal radius in 49 healthy non-osteoporotic women (aged ≥ 60 years) as compared to baseline. There was no influence of supplementation on bone loss at the femoral neck and mid-radius. Likewise, there were no differences in the 3-year change in BMD at the femoral neck, spine, or total body between 238 elderly (aged 60-80 years) who received 500 µg/day vitamin K₁ (co-administered with calcium and vitamin D) and those who received calcium and vitamin D alone (n = 236). In agreement, six months of vitamin K₁ supplementation (600 µg/day) did not improve regional BMD in pre/peri-menopausal women (aged 25-50 years; n = 8) as compared to placebo (n = 6). A total of 440 postmenopausal women with osteopenia were randomized to either 5 mg vitamin K₁ or placebo daily. There were no significant differences in changes in BMD at any site between the two groups over the 2-4 year period. Fewer women in the vitamin K group had clinical fractures. Nevertheless, there appears to be stronger evidence for a protective effect of MK-4 supplementation on bone health. A Japanese review indicated that a pharmacological dose of MK-4 has beneficial effects on spine or metacarpal BMD and fracture. A second review of randomized controlled trials concluded that MK-4 supplementation for longer than 6 months reduces risk for hip and vertebral fracture. More recently published randomized controlled trials gave however no effect of MK-4 supplementation on hip BMD. MK-4 supplementation did not affect BMD in postmenopausal women (55-75 years) receiving either placebo (n = 164) or 45 mg/day of MK-4 (n = 161) during three years. Nevertheless, BMC and FNW increased relative to placebo. Further, no effect of vitamin K₁ (1 mg/day; n = 126), MK4 (45 mg/day; n = 126) was observed on 1-year change in lumbar spine or proximal femur BMD or proximal femur geometric parameters in postmenopausal women (mean age, 62 years). All participants received daily calcium and vitamin D supplementation. It should be noted that the MK-4 dose used in these trials is over 200-600 fold higher as compared to the current AI for vitamin K. An explanation for the lack of effect in some studies is that in epidemiological studies only poor vitamin K status is associated with increased fracture risk. It would be logical to investigate the effect of vitamin K on bone health in subjects pre-selected for poor dietary vitamin K status. However, none of the studies published today were designed in that way.

Cardiovascular health

The Rotterdam study was the first to show an inverse correlation between vitamin K₂ intake and arterial calcification and cardiovascular disease. Five years later, two prospective studies confirmed the association between high vitamin K₂ intake and reduced coronary calcification using data from the PROSPECT-EPIC cohort of 17,357 women (49-70 years). In a subpopulation of 16,057 women with no history of CHD, an inverse association was found between vitamin K₂ intake, but not vitamin K₁, and CHD incidence. The association was mainly driven by the vitamin K₂ subtypes MK-7, MK-8 and MK-9. In that same year, however, Shea *et al*, showed that vitamin K₁ supplementation at a high dose slowed the progression of coronary artery calcification (CAC) in healthy elderly with preexisting CAC. CAC was measured at baseline and after 3 years of follow-up in 388 men and postmenopausal women (60-80 years); 200 received a multivitamin with 500 µg vitamin K₁/day (treatment), and 188 received a multivitamin alone (control). Of those individuals with preexisting CAC (defined as an Agatston score > 10), the treatment group (n = 81) had 6% less progression than did the control group (n = 89). Previously, a pharmacological dose of vitamin K₁ (1 mg/day, 3 years, and co-administered with minerals and vitamin D) showed also beneficial effects on the elastic properties of the vascular wall. These apparently contrasting findings may be explained by differences in bioavailability between vitamin K₁ and the long-chain menaquinones. As a consequence, these menaquinones may more successfully influence activity of the extra-hepatic vitamin K-dependent protein MGP and CAC.

Like for osteocalcin, substantial under-carboxylation has been reported for MGP. MGP is a small protein secreted by chondrocytes and vascular smooth muscle cells (VSMC). It is known to act as a calcification inhibitor *in vivo*, probably by directly inhibiting calcium precipitation and crystallization in the arterial wall and antagonizing bone morphogenetic protein-2. MGP only exerts its anti-calcification activity after γ -glutamyl carboxylation of five glutamate residues, a crucial step that depends on the availability of vitamin K. Moreover, there is evidence that to be adequately secreted and become fully active, MGP also must undergo phosphorylation (of three serine residues). Recent studies have demonstrated an inverse association between total uncarboxylated MGP (t-ucMGP; containing both the phosphorylated and non-phosphorylated fractions) and vascular calcification. Cranenburg *et al*, found significantly lower circulating t-ucMGP levels in patients with high burden of arterial calcification, such as angioplasty patients, aortic stenosis patients, hemodialysis (HD) patients, and calciphylaxis as compared to healthy controls. One year later, Cranenburg *et al*, showed that circulating t-ucMGP levels may also help to estimate the individual extent of CAC in a patient population. Patients with end-stage (5D) CKD undergoing regular HD treatment (36-87 years) at three dialysis centers were enrolled in this cross-sectional study. HD patients in the intermediate and high CAC tertiles had significantly decreased t-ucMGP levels in comparison with patients in the low CAC tertile. The total patient group had significantly lower levels of t-ucMGP as compared to healthy controls (60-90 years) and patients without CAC (31-81 years). Since reduced kidney function may directly lead to arterial calcification, Parker *et al*, evaluated the association between several measures of kidney function and serum t-ucMGP levels by using data from the Heart and Soul

Study. Between September 2000 and December 2002, a total of 1,024 participants were recruited from outpatient clinics in the San Francisco Bay area. In a subpopulation of 842 patients with stable cardiovascular disease and normal to moderate CKD, mild to moderate decrements in glomerular filtration rate were associated with lower serum t-ucMGP levels. It is important to note that these studies used an assay that did not differentiate between the phosphorylated and non-phosphorylated forms of ucMGP. Further, it has been shown that ucMGP accumulates at sites of arterial calcification, possibly by binding through its negatively charged phosphoserine residues. The systemic release of ucMGP into the circulation may therefore be diminished, which may explain the relatively low serum t-ucMGP levels in patients with pronounced vascular calcification. The measurement of t-ucMGP levels contains both phosphorylated and non-phosphorylated fractions, which may exert distinct biologic functions. It is thus important to use an assay that enables the measurement of the circulating, inactive form; i.e., desphospho-ucMGP (dp-ucMGP). Schurgers *et al*, determined plasma levels of dp-ucMGP in 107 patients at different stages of CKD (> 40 years) and evaluated the association between plasma dp-ucMGP and aortic calcification. During an 18-month period (January 2006 to June 2007), a total of 150 prevalent CKD patients were recruited from the Nephrology Department's outpatient clinic at Amiens University Hospital. Patients were classified into CKD stages, according to the National Kidney Foundation's Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (K/DOQI) guidelines. Because there were low numbers of patients in CKD stages 2 and 5, the study population was stratified into CKD stages 2-3, 4-5, and 5D. Plasma dp-ucMGP levels augmented progressively with CKD stage; the increase became statistically significant as from CKD stage 4. Circulating dp-ucMGP levels were independently associated with aortic calcification and showed a limited association with the overall mortality risk. It should be noted that this study featured a new assay specifically measuring dp-ucMGP. This may explain the apparently conflicting results with respect to the t-ucMGP assay. Because of the absence of phosphoserine residues, dp-ucMGP is thought to be released more easily into the circulation as compared to the phosphorylated form.

Haemostasis

The classical role of vitamin K is as an anti-hemorrhagic factor that is needed in the liver for the functionality of prothrombin (factor II) together with factors VII, IX, and X. After secretion into the circulation, these four vitamin K-dependent proteins become available to take part in blood coagulation. The vitamin K driven γ -glutamyl carboxylation introduces calcium-binding sites in the clotting factors, rendering them their pro-coagulant activity. Severe vitamin K deficiency may therefore result in hazardous bleeding tendency; experimental animals on vitamin K-deficient food may even bleed to death. Dietary vitamin K deficiency to the level of abnormal bleeding tendency is not seen in healthy subjects, only in patients with severe fat malabsorption. The liver is capable of efficiently removing the required amount of vitamin K from the circulation to fully carboxylate the clotting factors. It is often suggested that increased intake of vitamin K may lead to increased thrombosis tendency. It should be noted, however, that incompletely carboxylated clotting factors have never been

found in healthy subjects. More carboxylation events (if possible) would merely lead to the introduction of extra negative charges and to distortion of their tertiary structure leading to inactivation rather than activation. Only in case of patients on oral anticoagulants, vitamin K will directly interfere with this therapy.

Vitamin K antagonists belong to a family of drugs known as 4-hydroxycoumarin derivatives (oral anticoagulants). These drugs block the recycling of KO into its quinone form. This results in the production of uncarboxylated vitamin K-dependent clotting factors, underlying the basis of the anti-coagulant effect. Vitamin K antagonists are widely used to decrease thrombosis risk and to prevent myocardial re-infarction. Patients on oral anticoagulants are generally advised to avoid concurrent medication, alcohol, and vegetables or supplements rich in vitamin K, because all can influence the INR. Previous studies showed that daily supplementation of vitamin K₁ or MK-7 at a dose above 95 µg significantly influenced the INR. Moreover, a follow-up study demonstrated that daily MK-7 supplementation at a dose below 45 µg did not interfere with oral anticoagulant therapy in a clinically relevant way (unpublished results). For a single intake, the critical amount may probably be much higher to values well above 100 µg/serving. As to their efficient absorption and extended half life, the long-chain menaquinones from cheese may accumulate at repeated intake and cause disturbance to oral anticoagulant therapy as well. Although in general natto is not appreciated by Caucasians, dietary habits may survive after migration of subjects from Asiatic countries; hematologists in Western countries may also be confronted with this unsuspected source of highly bioavailable vitamin K. On the contrary, supplementing anticoagulation patients with long-chain menaquinones (20 µg/day) may even be beneficial. Supplementation can increase the average vitamin K₂ intake to the highest quartile of intake as seen in non-supplemented subjects (45 µg/day). This low nutritional dose was shown to be protective against cardiovascular disease and prostate cancer. On top, supplementation at this low dosage may aid in stabilizing the INR, a key goal of anticoagulation management.

Conclusion

The long-chain menaquinones, such as MK-7, MK-8, and MK-9 have a longer half life than vitamin K₁, suggesting that although K₁ comprises over 80% of total vitamin K intake, K₁ and K₂ vitamins may contribute similarly to the body's supply. The long-chain menaquinones are absorbed in the same way as vitamin K₁ and MK-4, but are efficiently redistributed by the liver in predominantly LDL. Since LDL has a long half life in the circulation, these menaquinones can circulate for extended times resulting in higher bioavailability for extra-hepatic tissues. Consumption of long-chain menaquinones may therefore be important for functions of vitamin K not related to blood coagulation, such as regulation of calcium deposition in bone and prevention of arterial calcification. In considering vitamin K intake, it is important to note that the current guidelines for the adequate intake of vitamin K are based solely on the ability to maintain normal haemostasis. Although defective haemostasis is rarely found in the normal population, substantial under-carboxylation has been

reported for the extra-hepatic vitamin K-dependent proteins osteocalcin and MGP. For this reason, supplementation with additional vitamin K₂ is desirable to optimize vitamin K status. A point of concern is however the potential interference of vitamin K with oral anticoagulant therapy. To warrant maximal safety, we propose that functional foods are supportable providing a maximum daily dose of 20 µg of MK-7, a natural form of vitamin K₂. It should be noted that supplementing anticoagulated patients with vitamin K may even be beneficial. When taking vitamin K on a strictly regular basis, it may aid in stabilization of the INR, a key goal of anticoagulation management.

References

- Beulens JW, Bots ML, Atsma F, Bartelink ML, Prokop M, Geleijnse JM, et al. High dietary menaquinone intake is associated with reduced coronary calcification. *Atherosclerosis*, 2008; 203:489-93.
- Binkley N, Harke J, Krueger D, Engelke J, Vallarta-Ast N, Gemar D, et al. Vitamin K Treatment Reduces Undercarboxylated Osteocalcin but Does Not Alter Bone Turnover, Density, or Geometry in Healthy Postmenopausal North American Women. *J Bone Miner Res*, 2009; 24:983-91.
- Bolton-Smith C, McMurdo MET, Paterson CR, Mole PA, Harvey JM, Fenton ST, et al. Two-Year Randomized Controlled Trial of Vitamin K1 (Phylloquinone) and Vitamin D₃ Plus Calcium on the Bone Health of Older Women. *J Bone Miner Res*, 2007; 22:509-19.
- Booth SL, Dallal G, Shea MK, Gundberg C, Peterson JW, Dawson-Hughes B. Effect of Vitamin K Supplementation on Bone Loss in Elderly Men and Women. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008; 93:1.217-23.
- Cheung AM, Tile L, Lee Y, Tomlinson G, Hawker G, Scher J, et al. Vitamin K Supplementation in Postmenopausal Women with Osteopenia (ECKO Trial): A Randomized Controlled Trial. *PLOS Medicine*, 2008; 5:1.461-72.
- Cranenburg EC, Brandenburg VM, Vermeer C, Stenger M, Mühlenbruch G, Mahnken AH, et al. Undercarboxylated matrix Gla protein (ucMGP) is associated with coronary artery calcification in haemodialysis patients. *Thromb Haemost*, 2009; 101:359-66.
- Cranenburg EC, Schurgers LJ, Vermeer C. Vitamin K: The coagulation vitamin that became omnipotent. *Thromb Haemost*, 2007; 98:120-5.
- Cranenburg EC, Vermeer C, Koos R, Boumans ML, Hackeng TM, Bouwman FG, et al. The circulating inactive form of matrix Gla Protein (ucMGP) as a biomarker for cardiovascular calcification. *J Vasc Res*, 2008; 45:427-36.
- Essalihi R, Dao HH, Yamaguchi N, Moreau P. A new model of isolated systolic hypertension induced by chronic warfarin and vitamin K1 treatment. *Am J Hypertens*, 2003; 16:103-10.
- Gast GC, de Roos NM, Sluijs I, Bots ML, Beulens JW, Geleijnse JM, et al. A high menaquinone intake reduces the incidence of coronary heart disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2009; 19:504-10.
- Howe AM, Webster WS. Warfarin exposure and calcification of the arterial system in the rat. *Int J Exp Pathol*, 2000; 81:51-6.
- Knapen MHJ, Schurgers LJ, Vermeer C. Vitamin K₂ supplementation improves hip bone geometry and bone strength indices in postmenopausal women. *Osteoporos Int*, 2007; 18:963-72.

- Luo G, Ducey P, McKee MD, Pinero GJ, Loyer E, Behringer RR, et al. Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking matrix GLA protein. *Nature*, 1997; 386:78-81.
- Parker BD, Ix JH, Cranenburg EC, Vermeer C, Whooley MA, Schurgers LJ. Association of kidney function and uncarboxylated matrix Gla protein: data from the Heart and Soul Study. *Nephrol Dial Transplant*, 2009; 24:2.095-101.
- Price PA, Faus SA, Williamson MK. Warfarin causes rapid calcification of the elastic lamellae in rat arteries and heart valves. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1998; 18:1.400-7.
- Schurgers LJ, Barreto DV, Barreto FC, Liabeuf S, Renard C, Magdeleyns EJ, et al. The circulating inactive form of matrix gla protein is a surrogate marker for vascular calcification in chronic kidney disease: a preliminary report. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2010; 5:568-75.
- Schurgers LJ, Spronk HM, Soute BA, Schiffers PM, DeMey JG, Vermeer C. Regression of warfarin-induced medial elastocalcinosis by high intake of vitamin K in rats. *Blood*, 2007; 109:2.823-31.
- Schurgers LJ, Teunissen KJ, Hamulyk K, Knapen MH, Vik H, Vermeer C. Vitamin K-containing dietary supplements: comparison of synthetic vitamin K1 and natto-derived menaquinone-7. *Blood*, 2006; 109:3.279-83.
- Shea MK, Booth SL. Update on the role of vitamin K in skeletal health. *Nutrition Reviews*, 2008; 66:549-57.
- Shea MK, O'Donnell CJ, Hoffmann U, Dallal GE, Dawson-Hughes B, Ordovas JM, et al. Vitamin K supplementation and progression of coronary artery calcium in older men and women. *Am J Clin Nutr* 2009; 89:1.799-807.
- Shearer MJ, Newman P. Metabolism and cell biology of vitamin K. *Thromb Haemost*, 2008; 100:530-47.
- Spronk HM, Soute BA, Schurgers LJ, Thijssen HH, De Mey JG, Vermeer C. Tissue-specific utilization of menaquinone-4 results in the prevention of arterial calcification in warfarin-treated rats. *J Vasc Res*, 2003; 40:531-7.
- Volpea SL, Leung MM, Giordanoc H. Vitamin K supplementation does not significantly impact bone mineral density and biochemical markers of bone in pre- and perimenopausal women. *Nutrition Research*, 2008; 28:577-82.

Ácido fólico y vitamina B₁₂: nuevas funciones, nuevas precauciones

Gregorio Varela Moreiras

Departamento de Ciencias Farmacéuticas y de la Alimentación. Facultad de Farmacia.
Universidad CEU-San Pablo, Madrid, España.

Resumen

El presente capítulo se encuentra estructurado en dos partes diferenciadas, de acuerdo con las dos vitaminas hidrosolubles que son objeto del mismo. Sin embargo, debido a algunas acciones bioquímicas que comparten, así como a la patología “clásica” –la anemia– que su deficiencia origina, en algunos apartados se hace referencia de manera indistinta a ambas.

El capítulo, y tanto para el ácido fólico como para la vitamina B₁₂, se inicia con una Introducción que pretende, desde la perspectiva histórica de su descubrimiento y síntesis, llegar a las nuevas funciones que potencialmente se les han atribuido. Continúa con una breve descripción de la estructura química y de los vitámeros correspondientes, haciendo especial mención de las diferencias en la actividad biológica de los mismos. Se hace, además, un repaso de las principales fases de la digestión y de los procesos de absorción y metabolismo, así como de los factores que pueden interferir en los mismos. A continuación, se recogen las ingestas recomendadas actualizadas y, asimismo, se destacan las principales fuentes alimentarias de las vitaminas, junto con los potenciales problemas de toxicidad que se pudieran derivar de un exceso de ingesta. Al apartado de la relación entre las vitaminas y la salud se le presta especial atención, indicando especialmente aquellas nuevas funciones para las que tienen un papel demostrado, como es el caso del ácido fólico y la prevención de los defectos del tubo neural, o la regulación del metabolismo de la homocisteína, factor de riesgo emergente en los procesos vasculares. Además, se describe y discute el posible efecto dual y de las sinergias y antagonismos dosis-dependientes, como ocurre en el caso del AF y la vitamina B₁₂.

Palabras clave

Ácido fólico, vitamina B₁₂, nuevas funciones, fortificación, toxicidad, metabolismo metionina, homocisteína, metilación.

Ácido fólico

Introducción y estructura química

El término ácido fólico se aplica en realidad a toda una familia de vitámeros con actividad biológica equivalente. Dentro de la nomenclatura, se suelen emplear indistintamente otros términos como folato, folatos y folacina. En algunos casos también se utiliza el término vitamina B₉.

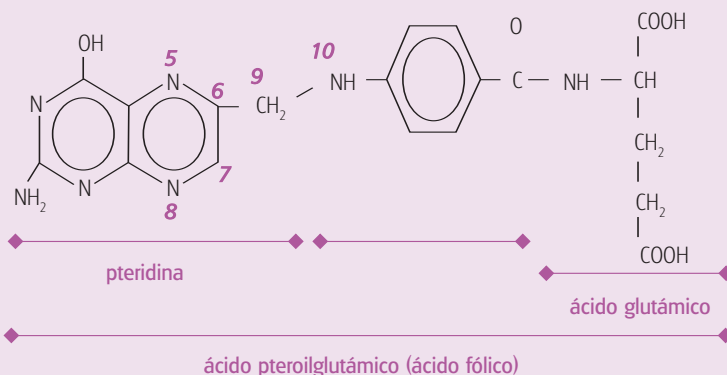
El ácido fólico fue aislado en 1943 por el grupo de Robert Stokstad EL (Laboratorios Lederle), a lo que siguió la identificación y síntesis del ácido pteroilmonoglutámico en 1945.

La primera mitad del siglo pasado se ocupó de la identificación y síntesis de las formas de la vitamina para el tratamiento de la deficiencia y de la anemia, mientras que la segunda mitad ha estado orientada a la nueva investigación en relación con la absorción y el metabolismo y con sus nuevas funciones frente a cáncer, enfermedades cardiovasculares, función cognitiva y defectos connatales.

Todos los folatos tienen en común la estructura del ácido pteroilglutámico (PteGlu), molécula constituida por un anillo de pteridina unido por un puente metileno a un residuo de ácido p-aminobenzoico que, a su vez, se une por un enlace amida a un residuo de ácido glutámico (figura 1). Los distintos folatos se diferencian en el anillo de pteridina, que puede presentar varias formas reducidas y varios tipos de sustituciones, y en el residuo de p-aminobenzoglutamato, que puede presentar unidos por enlaces peptídicos un número variable de residuos de glutamato. Los más frecuentes en el organismo son los mono, penta y hexaglutamatos. Los derivados reducidos de los poliglutamatos son los que constituyen las formas biológicamente activas y las posiciones N5 y N10 son los sitios activos de la molécula de los folatos. El ácido fólico (ácido pteroilmonoglutámico) es una forma sintética que raramente aparece en la naturaleza, pero es la forma más oxidada y más estable y, por ello, es la más usada en la suplementación farmacológica o en la fortificación de alimentos.

La biodisponibilidad de los folatos se refiere a la proporción del folato ingerido que es absorbido, y que está disponible para su utilización en procesos metabólicos o de almacenamiento. En conjunto, se absorben alrededor del 90% de los monoglutamatos, y entre el 50 y el 90% de los poliglutamatos, aunque las cifras varían mucho según el tipo de alimento y la metodología de análisis empleada.

Figura 1. Estructura química del ácido pteroilglutámico



Fórmula bruta: $C_{19}H_{19}O_6N_7$
 Peso molecular: 441

Funciones bioquímicas y actividad biológica

En la célula, la función de los folatos reside principalmente en su capacidad para donar y captar unidades de carbono. En resumen, los folatos participan en el metabolismo de ciertos aminoácidos, en la síntesis de S-adenosilmetionina (donante universal de grupos metilo necesarios para numerosas reacciones en el organismo), en la síntesis de purinas y pirimidinas y, especialmente, en la síntesis de timina, base específica del ADN. Estas últimas funciones explican adecuadamente el papel crucial de los folatos en la proliferación celular y la relación de su deficiencia con la aparición de la anemia megaloblástica, como se explicará a continuación en el apartado de ácido fólico y salud.

Folatos y salud

La carencia “clásica”: anemia megaloblástica

El trastorno más frecuente que se produce como consecuencia de una deficiencia de ácido fólico es la anemia macrocítica y megaloblástica, cuya sintomatología clínica es muy parecida a la de la anemia inducida por deficiencia de vitamina B₁₂. Si se instaura de forma crónica aparecen, además de signos hematológicos, signos generales y neuropsiquiátricos.

Cuando los depósitos corporales de folatos son normales, la deficiencia tarda unos 4 meses en desarrollarse. Si hay depleción inicial de los depósitos, la sintomatología aparece a los 2 ó 3 meses. Los síntomas y signos de la carencia revierten o mejoran con la administración de ácido fólico, siempre que las lesiones, sobre todo las de tipo neurológico, estén ya muy avanzadas.

Las “nuevas” funciones

La anemia megaloblástica sigue siendo una patología frecuente, pero en la actualidad la deficiencia de ácido fólico parece también relacionarse con otro tipo de patologías, de manera que se han propuesto nuevas fórmulas de terapia o prevención basadas en el ácido fólico, a través de los alimentos, con elevado contenido en la vitamina, o con suplementos en casos especiales.

a) La prevención de las malformaciones congénitas (defectos del tubo neural, DTN).

Los DTN son malformaciones congénitas que afectan a la formación del tubo neural. En sus diferentes formas (anencefalia, meningocele, espina bífida) son especialmente graves y muchas veces incompatibles con la vida. La etiología de estos DTN es multifactorial y en ella están implicados factores tanto genéticos como ambientales, entre los que el estatus nutricional en ácido fólico desempeña un papel crítico.

Los estudios de intervención, en los que se ha determinado el efecto de la suplementación materna con ácido fólico durante la gestación sobre la prevalencia de DTN en los hijos, han sido los más definitivos para establecer el papel preventivo del ácido fólico en las primeras etapas de la gestación. El más significativo fue el realizado por el Consejo de Investigaciones Médicas del Reino Unido (United Kingdom Medical Research Council, MRC). Este organismo planeó un ensayo doble-ciego y aleatorizado para evaluar el papel de la suplementación con

ácido fólico en la prevención de DTN. El estudio se realizó en 33 centros en siete países diferentes e involucró a un total de 1.817 mujeres de alto riesgo, es decir, que ya habían tenido una gestación afectada por DTN, y que planeaban una nueva gestación. La principal conclusión fue que la suplementación con 4 mg diarios de ácido fólico en la etapa periconcepcional era capaz de reducir el riesgo de repetición de DTN en un 72%.

En un ensayo realizado en Hungría, Czeizel y Dudás evaluaron la capacidad del ácido fólico para prevenir la ocurrencia de DTN, es decir, un primer embarazo afectado. El ensayo fue doble-ciego y aleatorizado y en él se administró diariamente un suplemento multivitamínico con 0,8 mg de ácido fólico, que redujo el riesgo de ocurrencia de DTN significativamente.

El mecanismo protector de la suplementación con folatos no está bien establecido. Es probable que existan problemas en la proliferación celular que impidan el desarrollo embrionario correcto cuando hay una deficiencia vitamínica relativa y defectos genéticos latentes en el metabolismo de los folatos. Se ha invocado también un efecto teratogénico de la homocisteína, aminoácido que se acumula en estas circunstancias, y del que se ha demostrado su acción tóxica vascular, como se detalla en el apartado siguiente.

b) La regulación de la homocisteína.

La homocisteína es un aminoácido no proteínogénico que se produce en el metabolismo de la metionina. Resulta citotóxico y por ello el organismo dispone de dos vías para evitar su acumulación: su conversión en metionina y su metabolización a cisteína. En la primera de estas vías se necesita el concurso de los folatos y de la vitamina B₁₂, como ya se ha considerado anteriormente. En la segunda vía se necesita el concurso del piridoxal fosfato. La implicación de los folatos en la metabolización de la homocisteína explica el hecho de que la suplementación con ácido fólico pueda ser efectiva en el tratamiento de la hiperhomocisteinemia.

Los niveles elevados de homocisteína han sido identificados como factor de riesgo independiente para la enfermedad cardiovascular y la cerebrovascular. El aumento de la ingesta de folatos estaría asociado con una disminución de los niveles de homocisteína y, consecuentemente, se ha sugerido que el incremento en la ingesta de folato reduciría la mortalidad por lesión vascular, pero está aún por confirmar.

Por otro lado, todavía no se han completado los estudios clínicos que evalúan si el aumento de homocisteína es el agente causal de la patología vascular, o si es únicamente un marcador o un resultado de la misma. Los meta análisis hasta ahora realizados arrojan resultados contróvertidos sobre la relación causal entre el aumento de homocisteína y la enfermedad cardiovascular. Lo que sí se ha demostrado es que las terapias basadas en la administración de folato, solo o en combinación con otras vitaminas del grupo B, reducen la homocisteína en la mayoría de los casos. La pregunta pendiente es si esta intervención logra reducir la mortalidad por enfermedad cardiovascular. Recientemente, se ha evaluado la mortalidad por infarto en EE.UU. y Canadá entre los años 1990 y 2002, observándose en ambos países un declive en dicha mor-

talidad desde 1990 a 1997 y una aceleración de ese decrecimiento entre 1998 y 2002, coincidiendo con la fortificación obligatoria con ácido fólico llevada a cabo en dichos países.

c) La prevención del cáncer.

Un bajo estado nutricional en folatos se comporta como factor de riesgo en el desarrollo de cáncer, especialmente de tipo colorrectal. Esto es debido, posiblemente, a la inestabilidad genómica que se produce como consecuencia de la incorporación de uracilo al ADN o a alteraciones en el patrón de metilación del ADN, fenómenos que acontecen cuando existe un déficit de folatos. Por tanto, un adecuado estado nutricional en folatos, obtenido a través de la ingesta de folatos naturales o ácido fólico sintético, resultaría beneficioso en la prevención del cáncer. Sin embargo, cuando la lesión premaligna ya está instaurada, la suplementación con ácido fólico y la disponibilidad de elevadas cantidades de ácido fólico sin metabolizar podría estimular la capacidad celular para la división, provocando un efecto acelerador que sería muy perjudicial en el contexto del cáncer. Gran parte de la quimioterapia utilizada en el tratamiento del cáncer consiste, precisamente, en inducir un déficit funcional de folatos en las células cancerosas para evitar así su multiplicación. En definitiva, el estado nutricional en folatos parece asociado al cáncer colorrectal siguiendo un patrón en forma de "U", de manera que la concentración tanto elevada como disminuida de folatos en plasma se asociaría a un mayor riesgo de cáncer colorrectal.

d) Función cognitiva y enfermedades neurodegenerativas.

Existe una creciente evidencia de la interacción entre factores nutricionales y mantenimiento de la función cognitiva con la edad. El hecho de que el principal componente que se asocia a la pérdida de la función cognitiva sea la propia edad, no se justifica plenamente si se considera que muchas personas de edad mantienen su función cognitiva en una buena condición. Es un proceso multicausal que incluye demencia vascular, estrés oxidativo e inflamación, condiciones claramente modificables a través de la nutrición. Además, el envejecimiento puede afectar los requerimientos de nutrientes que están implicados en el metabolismo cerebral: síntesis de neurotransmisores y mantenimiento de la señalización celular, conectividad y capacidad de reparación tisular.

En los últimos años, numerosos estudios han mostrado una alta incidencia de deficiencia en folatos correlacionada con síntomas mentales, especialmente depresión y deterioro cognitivo en población con problemas psiquiátricos o neurológicos y en ancianos. Más aún, estudios recientes en personas de edad avanzada sugieren una conexión entre ácido fólico, homocisteína, envejecimiento, depresión y deterioro cognitivo, incluyendo la enfermedad de Alzheimer y la demencia. A este respecto, se ha demostrado que niveles elevados de homocisteína plasmática constituyen un factor de riesgo independiente para el desarrollo de la demencia y la enfermedad de Alzheimer. La etiología de este factor de riesgo no está clara, pero puede ser debida a un efecto neurotóxico de la homocisteína, o a la menor disponibilidad de S-adenosilmetionina, que da lugar potencialmente a una hipometilación del tejido cerebral. Lo que sí se conoce es que los elevados niveles de homocisteína están relacionados con una deficien-

cia en ácido fólico, vitaminas B₁₂ y B₆, deterioro de la función cognitiva y demencia, pero todavía no hay pruebas de que el tratamiento con estas vitaminas pueda revertir el deterioro cognitivo o la demencia, aunque devuelvan los niveles de homocisteína a su estado normal.

e) Control del peso corporal.

Estudios muy recientes han demostrado que padecer sobrepeso/obesidad se asocia con un peor estatus en ácido fólico. Además, se ha demostrado que la pérdida de peso puede ayudar a mejorar la concentración sérica de folato.

f) Mejora de la función inmune.

La deficiencia de folato puede conducir a muchas anomalías clínicas, incluyendo la reducción de la función inmune. Y se ha observado que un buen estado en folatos incrementa la inmunidad innata contra las infecciones.

Ingestas recomendadas y toxicidad

Ingestas recomendadas

Las ingestas recomendadas para población española están expresadas en cantidades de folato total por día, y se reflejan en la siguiente tabla, donde igualmente se muestran las ingestas de referencia para la población estadounidense.

El nivel máximo tolerable de ingesta para el ácido fólico se ha estimado en 1.000 g diarios, para hombres y mujeres desde los 19 años a más de 60.

Estrategias en salud pública para mejorar el estado nutricional. Fortificación y suplementación

Las nuevas funciones han dado lugar a tres posibles estrategias nutricionales a considerar: mejorar la ingesta de folatos naturales en la dieta, la fortificación de alimentos con la vitamina, y/o la suplementación con ácido fólico.

En relación con una posible mejora del estatus vitamínico a través de la dieta, resulta muy difícil, ya que incluso un país como España, que tiene unas ingestas elevadas de alimentos ricos en folatos naturales, no cubre las nuevas recomendaciones de la vitamina. Además, la biodisponibilidad del folato en un número muy amplio de alimentos es incompleta y muy variable y, sin embargo, es un claro determinante del estatus vitamínico.

Una segunda estrategia en salud pública sería el empleo de suplementos, pero los factores de tiempo, universalidad y coste económico limitan enormemente su elección. Además, no se conoce aún la dosis de ácido fólico más baja y que sea efectiva para una gestación adecuada y con menor riesgo, y es necesario cuestionarse hasta qué punto la suplementación prolongada con ácido fólico puede asociarse con posibles efectos adversos.

Por último, se ha sugerido que la fortificación de alimentos con ácido fólico podría conducir a un estatus adecuado de folato para todas las mujeres con posibilidad de quedarse embarazadas. De

Tabla 1. Ingestas dietéticas de referencia para los folatos

GRUPO DE EDAD Y SEXO	INGESTAS DIETÉTICAS DE REFERENCIA (EE.UU.) (G DE EDF/DÍA) (1)	GRUPO DE EDAD Y SEXO	INGESTAS RECOMENDADAS (ESPAÑA) (G DE FOLATO/DÍA)
Recién nacidos		Recién nacidos	
0-6 meses	65 (2)	0-5 meses	40
7-12 meses	80 (2)	5-12 meses	60
Niños (ambos sexos)		Niños (ambos sexos)	
1-3 años	150	1-3 años	100
4-8 años	200	4-9 años	200
Hombres		Hombres	
9-13 años	300	10-12 años	300
14 a > 70 años	400	13 a > 60 años	400
Mujeres		Mujeres	
9-13 años	300	10-12 años	300
14 a > 70 años	400	13 a > 60 años	400
Embarazo	600	Embarazo	600
Lactancia	500	Lactancia	500

(1) Dietary Reference Intakes.

(2) www.nap.edu

Moreiras y col., 2007.

hecho, la fortificación de cereales y derivados con ácido fólico es obligatoria en EE.UU. y Canadá desde 1998 (140 g de ácido fólico/100 g de cereal o derivado), a la que se han unido más de 60 países en la actualidad. En España únicamente se fortifican los alimentos con ácido fólico de forma voluntaria, y parece imprescindible recurrir a los alimentos adicionados con la vitamina para poder cubrir las “nuevas” necesidades.

En principio, el ácido fólico no debe presentar problemas de toxicidad, incluso en un amplio rango de dosis. Sin embargo, es indudable que actualmente la población en general está consumiendo cantidades mucho más elevadas de la vitamina ácido fólico debido a las potenciales nuevas funciones demostradas. Clásicamente, se ha considerado que el mayor riesgo de exposición a dosis elevadas de la vitamina es el posible enmascaramiento de una deficiencia en vitamina B₁₂ en anemia perniciosa, ya que la suplementación o fortificación continuada con folato puede reducir los síntomas hematológicos pero no los neurológicos.

A la vista de todas estas consideraciones, se mantiene abierto el debate sobre la idoneidad de esta medida de política nutricional, y se plantea la necesidad de evaluar los efectos tanto potencialmente beneficiosos como adversos a medio y largo plazo sobre la población en general, y de forma concreta en determinados subgrupos de población más vulnerables. También es cierto que no ha transcurrido el tiempo necesario para evaluar en países que fueron pioneros en la fortificación obligatoria el efecto sobre el posible enmascaramiento interaccionando con la vitamina B₁₂.

Más aún cuando existe creciente evidencia del posible efecto dual de la vitamina en diferentes situaciones fisiológicas (embarazo vs. envejecimiento) y patológicas (cáncer colorrectal) y la dependencia del posible efecto beneficioso o no del estado en vitamina B₁₂.

Por todo lo anterior, la fortificación obligatoria fundamentalmente, pero también la voluntaria, está suscitando una importante polémica, puesto que desconocemos en gran medida sus efectos a medio y largo plazo sobre la población en general, en lo que se refiere a potenciales efectos adversos, y si éstos se manifestarían de forma diferente de acuerdo a la interacción con otros nutrientes relacionados metabólicamente (ej.: vitamina B₁₂), del ciclo vital (ej.: crecimiento vs. envejecimiento), o del estado de algunos sistemas o estados de indudable interés fisiológico y nutricional (sistema inmunitario, sistema antioxidante o la capacidad de metilación). Todo ello lleva a la consideración beneficio/riesgo a la hora de una posible recomendación o no de ingestas más elevadas de la vitamina.

Vitamina B₁₂

Introducción y estructura química

Fue Combe el primero en describir, en la década de 1820, una anemia letal que se describía como debida a “algún trastorno de los órganos digestivos o de asimilación”. Durante aproximadamente un siglo, esta anemia siempre tenía un carácter “mortal”, y de ahí su denominación de anemia perniciosa. Fueron Minot y Murphy, en 1926, quienes demostraron que la enfermedad se podía curar ingiriendo grandes cantidades de hígado. Por otro lado, Castle y Townsend observaron que el mecanismo causal era “una incapacidad para completar alguno de los pasos esenciales de la digestión gástrica”. La búsqueda de un principio activo en el hígado culminó con el aislamiento de la vitamina B₁₂ en 1948.

El conocimiento de la función bioquímica de la vitamina se estableció en 1959, año en que quedó establecida su función como coenzima (adenosil-cobalamina) de la metilmalonil-CoA mutasa, y en 1963 como cofactor (metil-cobalamina) de la metionina sintasa, que está implicada en la metilación de la homocisteína necesaria para la síntesis de metionina, y en la que se encuentra implicado también el ciclo de los folatos.

Las cobalaminas son corrinoides constituidos por cuatro anillos pirrólicos de forma muy similar a los de las porfirinas, con cobalto como núcleo central. Poseen diferentes sustituyentes, muchos de ellos de naturaleza amídica, y con el mencionado átomo de cobalto en el centro unido a los cua-

tro nitrógenos tetrapirrólicos. El sexto enlace puede realizarse con diversos ligandos, dando origen a diferentes formas de la cobalamina:

- Unión cianuro (ciano-cobalamina).
- Un grupo hidroxilo (hidroxi-cobalamina).
- Un grupo metilo (metil-cobalamina).
- Un resto 5'desoxiadenosilo (desoxiadenosil-cobalamina).

Tanto la adenosil-cobalamina como la metil-cobalamina son las formas coenzimáticas (figura 2).



Digestión, absorción, metabolismo y función bioquímica

Las cobalaminas unidas a las proteínas alimentarias necesitan ser liberadas gracias al ácido clorhídrico gástrico y la pepsina, para unirse después a otras proteínas (proteínas R o haptocorrinas) procedentes de la saliva y el jugo gástrico. La vitamina B₁₂ se libera de las proteínas fijadoras por la acción de las proteasas pancreáticas, y se une al llamado factor intrínseco (FI), procedente principalmente de las células parietales gástricas.

La entrada en la célula de la mucosa es un mecanismo saturable que hace que sólo una cantidad determinada de la vitamina B₁₂ de la dieta (1-2 µg/ración) se pueda aprovechar. A dosis gran-

des se produce una absorción pasiva no saturable. A niveles fisiológicos de ingesta, la absorción puede llegar a suponer un 60% de la cantidad ingerida, y disminuye a menos del 10% con ingestas muy superiores. La cantidad de cobalamina almacenada en los tejidos del individuo adulto oscila entre 2 y 3 mg, y la mitad se encuentra en hígado.

Hay diferentes reacciones metabólicas que requieren la intervención de la vitamina B₁₂ y, a veces, coparticipa en ellas el ácido fólico:

- Conversión de homocisteína a metionina: interviene aquí el metil-tetrahidrofolato (CH₃-THF₄). Este último compuesto cede el radical metilo a la cobalamina, y ésta lo transfiere a la homocisteína para formar metionina.
- Conversión de la L-metil-malonil-CoA en succinil-CoA: esta reacción es catalizada por la metil-malonil-CoA mutasa, que utiliza a nivel mitocondrial la 5'-desoxiadenosil cobalamina. Se trata de una etapa metabólica fundamental en el metabolismo de algunos aminoácidos, como la valina y la isoleucina, entre otros.

Deficiencia, ingestas recomendadas y toxicidad

La falta de vitamina B₁₂ es la causa evidente de dos enfermedades, la anemia megaloblástica y la neuropatía. Más recientemente, se ha asociado a esta vitamina con el proceso de aterosclerosis y con malformaciones connatales, como los defectos del tubo neural.

Anemia macrocítica: la deficiencia de vitamina B₁₂ origina una anemia macrocítica normocrómica que resulta indistinguible de la que caracteriza a la deficiencia en folatos.

Neuropatía: la deficiencia de vitamina B₁₂ produce una neuropatía con desmielinización discontinua, difusa y progresiva. Se caracteriza por parestesias en manos y pies, sensación propioceptiva y vibratoria anormales con pérdida del sentido postural, y ataxia espástica. Aunque no está perfectamente establecido, se considera que la lesión neurológica podría deberse a una carencia de grupos metilo como consecuencia de la imposibilidad de sintetizar metionina y S-adenosilmetionina, o de eliminar la homocisteína, tóxica para el encéfalo. Cabe recordar que la homocisteína se convierte en una neurotoxina y en una vasculotoxina cuando se elevan sus niveles.

Aterosclerosis: ya se ha comentado, al referirse al ácido fólico, que los niveles sanguíneos aumentados del aminoácido homocisteína constituyen un evidente factor de riesgo en el proceso aterosclerótico. La elevación del aminoácido se puede deber a la deficiencia de ácido fólico, de vitamina B₁₂ o de vitamina B₆.

Las necesidades de vitamina B₁₂ se estiman en torno a 1-2 µg diarios. Respecto a la toxicidad, la vitamina B₁₂ no debe emplearse en cuadros mieloproliferativos, especialmente en el caso de leucemia. En cualquier caso, no se han descrito casos de toxicidad por sobredosificación, hasta ingestas de 1.000 µg. En la siguiente tabla se muestran las ingestas recomendadas para la población española, así como las ingestas de referencia para la población estadounidense.

Tabla 2. Ingestas dietéticas de referencia para la vitamina B₁₂

GRUPO DE EDAD Y SEXO	INGESTAS DIETÉTICAS DE REFERENCIA (EE.UU.) (G DE EDF/DÍA) (1)	GRUPO DE EDAD Y SEXO	INGESTAS RECOMENDADAS (ESPAÑA) (G DE FOLATO/DÍA)
Recién nacidos		Recién nacidos	
0-6 meses	0,4 (1)	0-5 meses	0,3
7-12 meses	0,5 (1)	5-12 meses	0,3
Niños (ambos sexos)		Niños (ambos sexos)	
1-3 años	0,9	1-3 años	0,9
4-8 años	1,2	4-9 años	1,5
Hombres		Hombres	
9-13 años	1,8	10-12 años	2
14 a > 70 años	2,4	13 a > 60 años	2
Mujeres		Mujeres	
9-13 años	1,8	10-12 años	2
14 a > 70 años	2,4	13 a > 60 años	2
Embarazo	2,6	Embarazo	2,2
Lactancia	2,8	Lactancia	2,6

(1) Dietary Reference Intakes. www.nap.edu

Moreiras y col., 2007.

Interacción dual entre el ácido fólico y la vitamina B₁₂

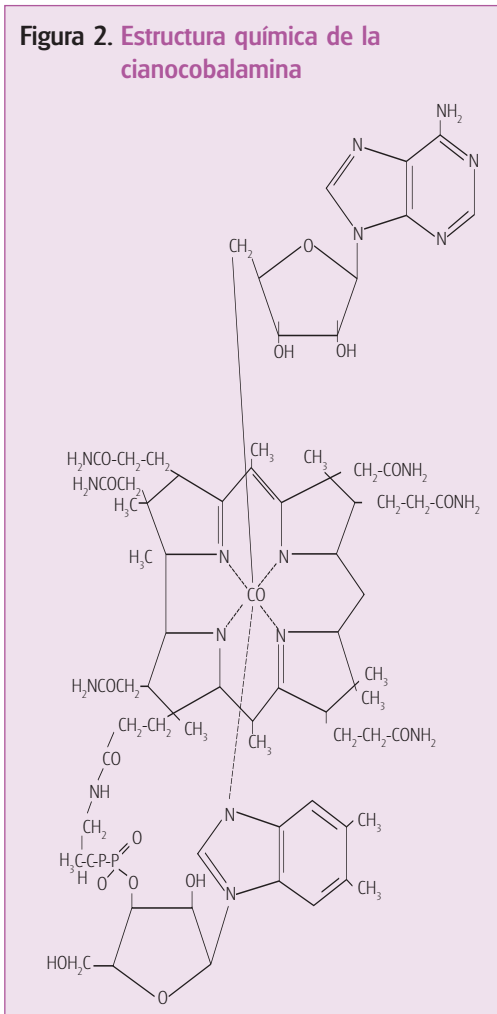
En diferentes apartados de este capítulo ya se ha comentado la conexión “histórica” y metabólica entre ambas vitaminas. La vitamina B₁₂ participa como coenzima en dos reacciones, la remetilación de la homocisteína a metionina, y la isomerización del L-metilmalonil-CoA a succinil-CoA. La primera reacción es catalizada por la metionina sintasa en el citosol, mientras que la última se cataliza por medio de la L-metilmalonil-CoA mutasa a nivel de mitocondria. La deficiencia en vitamina B₁₂ se asocia con anemia, megaloblastosis, neuropatía y trastornos neuropsiquiátricos, consecuencia todos ellos de un bloqueo en la remetilación de la homocisteína, apareciendo hiperhomocisteinemia. Sin embargo, recientemente se ha sugerido que un bloqueo en la reacción de isomerización y el aumento consiguiente en la proporción de ácido metilmalónico (MMA) podría igualmente jugar un papel hasta ahora no evaluado. De hecho, se ha demostrado que los individuos que presentan una baja concentración sérica en vitamina B₁₂, los niveles elevados de ácido fólico plasmático se asocian con concentraciones más elevadas en los dos marcadores funcionales de un estatus inadecuado en B₁₂: homocisteína y MMA.

¿Podría un estado nutricional inadecuado en vitamina B₁₂ influir en el metabolismo del ácido fólico y ser responsable de las complejas relaciones que se establecen entre las ingestas elevadas de ácido fólico y algunas funciones fisiológicas? Según la teoría de la trampa de los metilfolatos, el déficit de vitamina B₁₂ provoca una inhibición de la enzima metionina sintasa, gracias a la cual el 5-metiltetrahidrofolato cede su grupo metilo a la homocisteína para la síntesis de metionina. Esta es la única forma en la que el 5-metiltetrahidrofolato puede perder su grupo metilo, por lo que, si la reacción está inhibida, se produce un atrapamiento de los metilfolatos. La consecuencia de esto es que el 5-metiltetrahidrofolato procedente de la circulación no puede perder su grupo metilo y no es susceptible a la poliglutamilación, proceso que resulta fundamental para que los folatos queden retenidos en el interior de la célula. Por tanto, la hipótesis de la trampa de los metilfolatos determina que la concentración de folatos en suero en la deficiencia de vitamina B₁₂ sea normal

o elevada. Sin embargo, los estudios realizados en humanos demuestran que la relación entre la concentración en sangre de folatos y vitamina B₁₂ existe, pero es directa y no inversa, y muchas veces independiente del estado en vitamina B₁₂ o el uso de suplementos de esta vitamina. Sin embargo, algunos estudios muestran una notable evidencia científica que se debe considerar. Así, estudios llevados a cabo, especialmente en personas sometidas a la fortificación obligatoria de los alimentos con ácido fólico, parecen demostrar que el ácido fólico y la vitamina B₁₂ interactúan, dando lugar a efectos dicotómicos del ácido fólico dependiendo del estado nutricional en vitamina B₁₂.

Por ejemplo, aunque la relación entre la ingesta de folato y la función cognitiva todavía es controvertida e inconcluyente, la mayor parte de los estudios demuestran que una ingesta baja de folatos o un estado nutricional inadecuado en la vitamina se asocia a un mayor riesgo de declive en la función cognitiva. Sin embargo, en un trabajo reciente en humanos, una alta ingesta de folatos, como consecuencia de la exposición a cantidades elevadas de ácido fólico sintético, se ha asociado a un declive más rápido en la función

Figura 2. Estructura química de la cianocobalamina



cognitiva de personas mayores, posiblemente asociado a un estado nutricional inadecuado en vitamina B₁₂. En mayores residentes en Estados Unidos y, por tanto, expuestos a la fortificación obligatoria de los alimentos con ácido fólico, se ha demostrado que existe una fuerte correlación inversa entre el estado nutricional en folatos y el declive cognitivo en individuos mayores con un estado nutricional adecuado en vitamina B₁₂. Sin embargo, también se confirma que en mayores con un bajo estado nutricional en vitamina B₁₂, una concentración de folato en sangre elevada se asocia a un mayor declive cognitivo, lo cual podría ser debido a la presencia de ácido fólico sin metabolizar en plasma. Por tanto, la suplementación con ácido fólico, o la fortificación de los alimentos con la vitamina, podría comportarse como una espada de doble filo, mostrando características dicotómicas, tipo efecto "Jekyll y Hyde", dependiendo del estado nutricional en vitamina B₁₂. Por tanto, parecen necesarios más estudios sobre la interacción entre los folatos y la vitamina B₁₂ a nivel molecular que nos permitan extraer conclusiones definitivas para las nuevas funciones que se han sugerido.

Bibliografía recomendada

Centers for Disease Control. Use of folic acid for prevention of spina bifida and other neural tube defects. MMWR, 1991; 40:513-6.

Czeizel A, Dudás I. Prevention of the first occurrence of neural tube defects by periconceptional vitamin supplementation. N Engl J Med, 1992; 327:1.832-5.

Czernichow S, Noisette N, Blacher J, Galan P, Mennen L, Hercberg S, Ducimetiere P. Case for folic acid and vitamin B₁₂ fortification in Europe. Seminars in Vascular Medicine, 2005; 2:156-62.

EFSA (European Food Security Authority). ESCO Report on Analysis of Risks and Benefits of Fortification of Food with Folic Acid, 2009.

Food and Nutrition Board Folate. En: IOM (Institute of Medicine), eds. Dietary Reference Intakes for thiamine, riboflavin, niacin, vitamin B₆, folate, vitamin B₁₂, pantothenic acid, biotin, and choline. Washington DC: National Academic Press. 1998; 196-305.

Jang H, Mason JB, Choi SW. Genetic and epigenetic interactions between folate and aging in carcinogenesis. J Nutr, 2005; 135(12 suppl.): 2.967S-71S.

Katan MB, Boekschoten MV, Connor WE, Mensink RP, Seidell J, Vessby B, Willett W. Which are the greatest recent discoveries and the greatest future challenges in nutrition? Eur J Clin Nutr, 2009; 63:2-10.

Kim YI. Folate and DNA methylation: a mechanistic link between folate deficiency and colorectal cancer? Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention, 2004; 13:511-9.

Kim YI. Will mandatory folic acid fortification prevent or promote cancer? Am J Clin Nutr, 2004; 80:1.123-8.

Lawrence MA, Weizhong C, Raija K, Irwin HR, John S, Alison T. Examination of selected national policies towards mandatory folic acid fortification. Nutrition Reviews, 2009; 67:573-8.

Mills JL, McPartlin JM, Kirke PN, et al. Homocysteine metabolism in pregnancies complicated by neural tube defects. Lancet, 1995; 345:149-51.

Mills JL. Fortification of foods with folic acid: how much is enough? N Eng J Med, 2000; 342:1.442-5.

Moreiras O, Carbajal A, Cabrera L, Cuadrado C. *Tablas de Composición de Alimentos*. 14.ª ed. Madrid: Ediciones Pirámide. 2010.

MRC Vitamin Study Research Group. Prevention of neural tube defects: results of the Medical Research Council Vitamin Study. *Lancet*, 1991; 338:131-7.

Ortega Anta RM. Enfermedades neurodegenerativas y homocisteína. En: Blanco F, Chacon P, Deulofeu R, Dulin E, editores. *Homocisteína*. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular, 2005; 91-6.

Samaniego Vaesken ML, Alonso-Aperte E, Varela Moreiras G. Alimentos fortificados con ácido fólico comercializados en España: tipo de productos, cantidad de ácido fólico que proporcionan y población a la que van dirigidos. *Nutrición Hospitalaria*, 2009; 24(4):445-52.

Samaniego-Vaesken ML, Alonso-Aperte E, Varela-Moreiras G. Analysis and evaluation of voluntary folic acid fortification of breakfast cereals in the Spanish market. *Journal of Food Composition and analysis*, 2010: In Press.

Scientific Advisory Committee on Nutrition (SACN). *Folate and disease prevention (Report)*. Food Standards Agency, (UK) 2006.

Selhub J, Savaria Morris M, Jacques PF. In vitamin B₁₂ deficiency, higher serum folate is associated with increased total homocysteine and methylmalonic acid concentrations. *PNAS*, 2007; 104:19.995-20.000.

Smith AD. Folic acid fortification: the good, the bad, and the puzzle of vitamin B₁₂. *Am J Clin Nutr*, 2007; 85:3-5.

Smith AD, Kim Y, Refsum H. Is folic acid good for everyone? *Am J Clin Nutr*, 2008; 87:517-33.

Strain JI. B-vitamins, homocysteine metabolism and CVD. *Proc Nutr Soc*, 2004; 63:597-603.

Troen A, Rosenberg I. Homocysteine and cognitive function. *Seminars in Vascular Medicine*, 2005; 5:209-14.

Varela Moreiras G. Suplementación vitamínica y embarazo. En: Charro A, Varela G, eds. *Dieta Atlántica, Seguridad Alimentaria, Nutrición y Mujer*. Madrid: Fundación Española de la Nutrición. 2003; 105-18.

Varela Moreiras G. *Nutrientes en el embarazo*. 1.ª ed. Madrid: Team Pharma. 2006.

Varela Moreiras G, Alonso-Aperte E. *Ácido Fólico y Salud*. Madrid: Fundación Española de la Nutrición. 1999.

Varela Moreiras G. Folate deficiency: from the basic to clinic. En: Vaquero P, Carbajal A, García Arias T, Sánchez-Muniz FJ, eds. *Bioavailability of Micronutrients and Minor Dietary Compounds. Metabolic and Technological Aspects*. Kerala, India: Research Signpost. 2003; 69-81.

Varela Moreiras G, Mataix J. Vitaminas y proliferación celular. Ácido fólico y vitamina B₁₂. En: Mataix J, eds. *Nutrición y Alimentación Humana*. Madrid: Ergon Ediciones. 2002; 160-73.

Varela-Moreiras G. Vitaminas y Homocisteína. En: Varela Moreiras G, Alonso-Aperte E, eds. *Vitaminas y Salud: de las enfermedades carenciales a las degenerativas*. Madrid: Fundación BBVA. 2003.

Varela-Moreiras G. Dieta y homocisteína. En: Blanco F, Chacón P, Deulofeu R, Dulin E, editores. *Homocisteína*. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular, 2005; 101-11.

Varela Moreiras G, Achón y Tuñón M, Alonso Aperte E. Ácido fólico. Algo más que una vitamina. En: *Nutrición y Alimentación en la promoción de la Salud*. Ortega RM, Requejo AM, Martínez, RM (editoras). Consejería de Sanidad, 2007; 73-91.

Varela Moreiras G, Murphy MM, Scott JM. Cobalamin, folic acid and homocysteine. *Nutrition Reviews*, 2009; 67(suppl.1):S69-72.

Wright AJA, Dainty JR, Finglas PM. Folic acid in human subjects revisited: potential implications for proposed mandatory folic acid fortification in the UK.

Valoración del estado nutricional vitamínico: del laboratorio a la clínica

Begoña Olmedilla Alonso

Instituto del Frío (Consejo Superior de Investigaciones Científicas),
Madrid, España.

Resumen

El estado nutricional de un sujeto está determinado por el equilibrio entre el ingreso y el gasto de nutrientes. Dado que la dieta es uno de los determinantes más importantes y modificables del estilo de vida en la salud humana y tanto la desnutrición como la sobrealimentación juegan un papel fundamental en la morbilidad y mortalidad, la evaluación del estado nutricional es un aspecto clave para lograr mejorar la salud a nivel individual y poblacional.

El estado nutricional se refleja en una serie de procesos metabólicos que aportan la base para los test de laboratorio. Para valorar la relación entre el estatus vitamínico y la salud es importante seleccionar los métodos y marcadores adecuados, saber cuáles nos pueden aportar información fiable y en qué circunstancias. Se considera biomarcador a cualquier espécimen biológico que sea indicador del estatus nutricional respecto a ingesta o metabolismo de los componentes de la dieta. En general, debe utilizarse más de un biomarcador en la valoración del estado nutricional vitamínico, tanto en situación de salud como en relación con enfermedades.

Para utilizar biomarcadores del estado nutricional vitamínico en la práctica clínica, se necesita saber más acerca de: a) cómo se relacionan con la dieta y también qué factores influyen en sus niveles (ej.: factores genéticos, fármacos, enfermedades) y b) la validación entre procedimientos analíticos que permitan la comparación entre los datos de diferentes laboratorios.

Palabras clave

Vitaminas, biomarcadores, estatus nutricional.

Introducción

El estado nutricional de un sujeto está determinado por el equilibrio entre el ingreso y el gasto de nutrientes. El objetivo del estudio del estado nutricional es detectar la prevalencia o incidencia de situaciones debidas a un defecto o a un exceso de proteínas, de hidratos de carbono, de lípidos, de vitaminas o de minerales.

La dieta tiene como objetivo principal el aporte suficiente de nutrientes para cubrir los requerimientos metabólicos de un individuo y proporcionar bienestar. El aspecto básico es evitar enfermedades carenciales, y aunque sigue siendo prioritario en la mayor parte del mundo, el papel de la

dieta y de la nutrición como factores de riesgo modificables en diversas enfermedades crónicas ha sido puesto de manifiesto a través de numerosos estudios, que muestran cómo las modificaciones en la dieta tienen un gran efecto, tanto positivo como negativo, sobre la salud a lo largo de la vida.

Dado que la dieta es uno de los determinantes más importantes y modificables del estilo de vida en la salud humana y tanto la desnutrición como la sobrealimentación juegan un papel fundamental en la morbilidad y mortalidad, la evaluación del estado nutricional es un aspecto clave para lograr mejorar la salud a nivel individual y poblacional. Si esta evaluación se realiza en grupos de población, proporcionará datos objetivos para detectar situaciones con escasas manifestaciones clínicas y permitirá establecer programas de intervención.

El tema de este simposio son las vitaminas, término con el que se engloba a 13 grupos de compuestos, cada uno de los cuales incluye sustancias químicamente afines que poseen cualitativamente, pero no cuantitativamente, efectos similares. Su clasificación más general se realiza atendiendo a su solubilidad, la cual condiciona diversos aspectos de su metabolismo, así las vitaminas liposolubles tienen controlada su absorción y existe almacenamiento corporal (sobre todo para las vitaminas A y E), y en cambio, la permanencia de las vitaminas hidrosolubles se controla más a nivel de su eliminación.

En general, los cuadros de deficiencia de las enfermedades carenciales son bastante claros (ej.: xerofthalmia por deficiencia de vitamina A, raquitismo y osteomalacia debido a deficiencia de vitamina D, beri-beri debido a deficiencia de tiamina, escorbuto debido a la deficiencia de vitamina C). Sin embargo, las manifestaciones debidas a toxicidad son más difíciles de determinar debido al papel interdependiente que estos compuestos tienen tanto en el metabolismo (absorción, transporte, almacenamiento, etc.) como en las funciones. En cuanto a deficiencias vitamínicas, hay que destacar la debida a vitamina A, por ser la principal causa de ceguera en los niños y por aumentar el riesgo de enfermedad y muerte por infecciones. Esta deficiencia es un problema de salud pública en más de la mitad de todos los países, especialmente en África y el sureste asiático. Respecto a cuadros de toxicidad, cabe mencionar la hipervitaminosis D, que induce una concentración anormalmente elevada de calcio en suero, que puede producir pérdida de masa ósea y calcificación de órganos como el corazón y el riñón si se mantiene durante largos periodos de tiempo.

Evaluación del estado nutricional

Las primeras valoraciones del estado nutricional surgen después de la segunda guerra mundial con el objetivo de detectar la malnutrición. En 1966 la Organización Mundial de la Salud publica una monografía sobre la evaluación del estado nutricional, en base a métodos estandarizados de encuestas nutricionales (aporte de alimentos a nivel nacional, muestreo, examen clínico, estudio bioquímico y de dieta), que permitieran comparar comunidades, aplicar programas de nutrición y aconsejar a la política nacional en alimentación y salud. La necesidad de personal médico experimentado limitaba el desarrollo de estos estudios, pero han ido avanzando de forma importante

gracias a los métodos bioquímicos y al uso de biomarcadores que permiten verificar, confirmar o cambiar estimaciones en la ingesta y que se usan tanto en estudios experimentales como en estudios epidemiológicos.

El estado nutricional se puede valorar mediante cuatro enfoques complementarios: la antropometría (estimación de dimensiones y composición corporal), los biomarcadores (de la ingesta de componentes de alimentos y del impacto derivado de la misma), el examen clínico (manifestaciones clínicas derivadas de desequilibrios en la ingesta de nutrientes) y la evaluación dietética (estimación de ingesta de alimentos o de componentes de alimentos). Cada uno de estos enfoques tiene ventajas e inconvenientes respecto a su utilización en individuos o en poblaciones, y además, la viabilidad y el coste asociado a la recogida de datos es muy diferente de unos a otros.

En el momento de seleccionar un método de evaluación nutricional es imprescindible considerar el contexto en el cual se van a utilizar los datos que, en general, son el ámbito clínico, de salud pública y de investigación. En el ámbito clínico, la evaluación nutricional se utiliza para determinar la idoneidad de la dieta de un sujeto o el riesgo y su propósito es aconsejar o tratar. En el ámbito de la salud pública, se utiliza en general para la monitorización de la nutrición y la vigilancia de las poblaciones con objeto de valorar la idoneidad de la dieta o el riesgo, y tomar decisiones políticas a nivel público. Finalmente, en el ámbito de la investigación, la evaluación nutricional se utiliza en estudios epidemiológicos sobre ingesta dietética y riesgo de enfermedades y para comparación de grupos (por ejemplo, de control y de intervención).

La valoración del estado nutricional vitamínico tiene dos objetivos bien diferenciados, el primero: evitar la enfermedad carencial o las carencias subclínicas o marginales, estas últimas difíciles de determinar, ya que varias vitaminas intervienen conjuntamente en un mismo paso metabólico y, por otra parte, la matriz en la que se suelen cuantificar sus concentraciones, la sangre, no suele reflejar las reservas corporales. El segundo objetivo es el de mantener una salud óptima y lograr disminuir el riesgo de enfermedades crónicas o degenerativas, para lo cual las cantidades necesarias de vitaminas, tanto en la ingesta como en suero y tejidos suelen ser mayores que para evitar estados carenciales.

Para valorar la relación entre el estatus vitamínico y la salud es importante seleccionar los métodos y marcadores adecuados, saber cuáles nos pueden aportar información fiable y en qué circunstancias. El resultado entre las necesidades de vitaminas y el grado en que éstas son satisfechas será el índice de un buen o mal estado nutricional vitamínico. Hay que tener presentes que existen numerosos factores, tanto ligados al sujeto (ej.: situación fisiológica, edad, etc.) como a la dieta (ej.: forma química en la que se consumen, cantidad ingerida, etc.), que influirán en el equilibrio del estado nutricional.

La ingesta dietética no siempre demuestra que un individuo (o grupo) está o no bien nutrido, ya que la ingesta de alimentos es algo subjetivo, depende de la memoria, cooperación, de la honestidad de los sujetos. Esto tiene que ser confirmado o establecido por medio de uno o más métodos. Así, la concentración química en sangre u orina se mide por un observador externo y si otros repiten el análisis deben obtener el mismo resultado.

En el contexto de este simposio, comentaré los aspectos más relevantes de la valoración del estado nutricional vitamínico en el laboratorio y su repercusión en el estudio clínico.

Métodos de evaluación del estado nutricional vitamínico en el laboratorio

El estado nutricional se refleja en una serie de procesos metabólicos que aportan la base para los test de laboratorio. La detección de funciones alteradas o de bajas reservas es señal de alerta antes de que existan síntomas clínicos o cuando sean muy iniciales. En la tabla 1 se indican algunos métodos para la evaluación de deficiencias en vitaminas.

Tabla 1. Métodos bioquímicos para el diagnóstico de deficiencias en vitaminas

VITAMINA	MARCADOR DE INGESTA	MARCADOR DE FUNCIÓN ALTERADA O BAJAS RESERVAS	MÉTODO COMPLEMENTARIO
A	β -caroteno (pl)	Retinol (pl)	Test dosis resp.
E	Tocoferol: col + TG (pl)	Test hemólisis eritrocitos (<i>in vitro</i>)	Des- γ -carboxiprotrombina (pl)
D	25-OH-D (pl)	Fosfata alcalina	1,25-(OH) ₂ D (pl)
K	Filoquinona (pl)	\uparrow Protrombina (pl)	Potasio corporal total (K ₄₀)
Tiamina	Tiamina (or)	Transcetolasa eritrocitaria y TTP	
Ribloflavina	Riboflavina (or)	Glutati6n reductasa eritrocitaria y FAD	
Niacina	Nicotinamida (N ₂ metil o 2-piridoxina) (or)	NAD/MADP en eritrocitos	Tript6fano (pl)
Vitamina B ₆	Ac. 4-pirid6xico (or)	Piridoxal fosfato (pl)	Ac. xantur6nico tras sobrecarga tript6fano (or)
F6lico	Folato (pl)	Folato (hematíes)	
Vitamina B ₁₂	Holotrans-cobalamina II (pl)	B ₁₂ (pl)	Test Schilling
Vitamina C	Ascorbato (pl)	Ascorbato (leucocitos)	Ascorbato (or)

Or: orina; Pl: plasma.

Adaptado de Truswell, 2007.

En general, los métodos se pueden considerar como: a) métodos "estáticos", aquellos que miden de forma directa la concentración de una vitamina o de uno de sus metabolitos en un matriz biológica adecuada; b) métodos "funcionales o indirectos o dinámicos", aquellos que permiten una medida *in vitro* o *in vivo* de una respuesta dependiente de una vitamina, bien a través de un parámetro relacionado bioquímicamente o de una función fisiológica, utilizando material biológico accesible.

Entre los test funcionales se encuentran: a) las pruebas *in vitro* de funciones *in vivo* (ej. tiempo de protrombina dependiente de vitamina K); b) las respuestas inducidas y los test de sobrecarga *in vivo* (ej.: test de sobrecarga con aminoácidos para algunas vitaminas B, así valina o isoleucina provocan aumento de ácido metilmalónico cuando hay déficit de B₁₂); c) las respuestas espontáneas *in vivo* (ej.: adaptación visual a la oscuridad en relación con la vitamina A). Hay pruebas que pueden ser consideradas tanto estáticas como funcionales, como son aquellas que reflejan reservas hepáticas o saturación de tejidos (test de sobrecarga o biopsias tisulares).

La elección del mejor método dependerá del objetivo perseguido y en su selección hay que buscar aquellos métodos que preferentemente aporten una mayor especificidad y sensibilidad y los que reflejen mejor las reservas corporales. Los métodos estáticos son actualmente y parece ser que seguirán siendo los más útiles en los análisis de rutina, ya que la mayoría de los test funcionales no son fácilmente practicables debido a la escasa accesibilidad de las muestras o porque todavía no están suficientemente validados.

Los métodos bioquímicos de valoración del estado nutricional vitamínico se aplican, principalmente, a muestras de sangre (o de orina, en menor medida), muestra que no suele reflejar las reservas corporales. También hay que recordar que los mejores índices bioquímicos del laboratorio son los indicadores de la ingesta dietética a largo plazo (ej.: el ácido fólico en hematíes en lugar de en suero, el retinol en tejido hepático en vez de en sangre, pero este tipo de muestra conlleva grandes limitaciones). En el caso de vitaminas hidrosolubles, se asume una relación lineal entre el estatus y su concentración circulante, pero hay que tener presente que en el organismo puede haber múltiples compartimentos de depósito con diferente tasas de recambio. Lamentablemente, para la mayor parte de las vitaminas no hay relación directa entre la ingesta y los índices de estatus actualmente disponibles (influidos por los muy diversos factores asociados a la biodisponibilidad a partir de la dieta, por la presencia en tejidos o fluidos controlados homeostáticamente, etc.).

Entre los objetivos a tener en cuenta para la selección de la metodología de valoración del estado nutricional vitamínico se encuentran: a) la clasificación de individuos en deficiente, adecuadamente nutrido (cuyos rangos dependerán de la finalidad: evitar enfermedad carencial o disminuir el riesgo de enfermedad) o intoxicado; b) la monitorización de la evolución del sujeto (ej.: con intervención dietética o farmacológica); c) el estudio de la biodisponibilidad de las vitaminas. Para una misma vitamina, el método de elección será probablemente diferente según sea el objetivo.

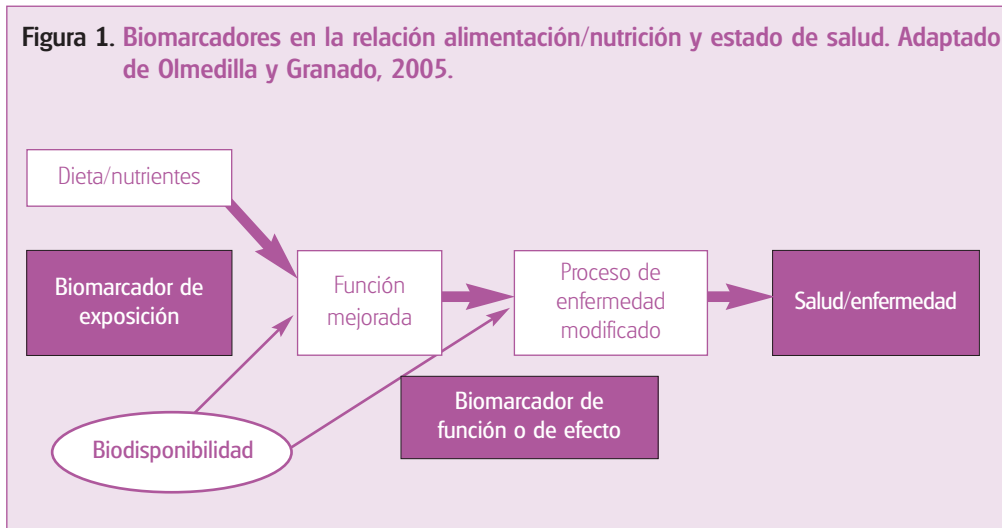
Los métodos que utilizan cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) aportan mayor especificidad y sensibilidad que con otros, lo cual permite diferenciar los distintos vitámeros e incluso formas cis

y trans, que poseen distinta actividad vitamínica, así como también distinto grado de otras capacidades, por ejemplo, la antioxidante. Aunque las vitaminas se presentan generalmente en diversas formas en los fluidos corporales, se suele o bien medir sólo una de las formas (ej.: trans-retinol) o convertir las diversas formas en una de ellas previamente seleccionada (ej.: ácido ascórbico).

Biomarcadores nutricionales

En el laboratorio clínico, los biomarcadores constituyen medidas esenciales para la evaluación del estado nutricional, ya que son medidas objetivas y pueden ser exactas. Se considera biomarcador a cualquier espécimen biológico que sea indicador del estatus nutricional respecto a ingesta o metabolismo de los componentes de la dieta (figura 1). Los biomarcadores son variables o características que pueden ser medidas y evaluadas como indicadores de procesos biológicos normales, patológicos o de respuesta a una intervención. No obstante, muchos marcadores sólo reflejan débilmente la ingesta dietética (por ejemplo, el colesterol sérico) o la de otros factores no dietéticos que afectan a sus niveles (por ejemplo, las lipoproteínas que transportan carotenoides y tocoferoles en sangre).

Figura 1. Biomarcadores en la relación alimentación/nutrición y estado de salud. Adaptado de Olmedilla y Granado, 2005.



En el estudio de la relación entre el estatus vitamínico y la salud es importante conocer en qué marcadores podemos confiar y bajo qué circunstancias. En su selección hay que tener presentes diversos criterios en relación con su identificación, mínimamente invasivos, validados (analítica y biológicamente) y estandarizados. Además, se deberían utilizar en estudios sobre dieta y salud con objetivos específicos y bien definidos.

La validez no está determinada por una simple estadística, sino por una serie de investigaciones que demuestren la relación entre la prueba y la función diana que se intenta identificar o carac-

terizar. En la validación metodológica hay que considerar la precisión y exactitud, la sensibilidad y especificidad, así como la reproducibilidad. La validación biológica implica la existencia de una cierta plausibilidad biológica, una relación entre dosis y la respuesta, así como consistencia en los resultados. Además, los biomarcadores deberían ser mínimamente invasivos y reflejar un objetivo de salud futuro en un estadio en el cual la intervención dietética fuese efectiva, permitiendo un diagnóstico precoz y/o un mejor pronóstico.

Los biomarcadores constituyen un conjunto de medidas del estado nutricional de un nutriente y reflejan su ingesta (aunque no en el caso de los compuestos con control homeostático, ej.: vitamina A), su metabolismo y posiblemente procesos de enfermedad. En la utilización de los biomarcadores en un estudio de intervención, es de esperar que el marcador cambie de forma estadísticamente significativa y que el cambio sea relevante desde el punto de vista biológico.

El biomarcador ideal cambiaría en función de la situación de la enfermedad, cambiaría en función del aporte dietético, y además que empezase a cambiar mucho antes del establecimiento de los síntomas.

Interpretación de los resultados

Existen muy diversos marcadores potencialmente útiles para enfermedades crónicas y tanto su uso como su interpretación pueden variar significativamente. Por otra parte, muy diversos factores pueden influir en los resultados de los biomarcadores del estado nutricional vitamínico y, por tanto, en su interpretación, por ello, siempre debe utilizarse más de un biomarcador en la valoración de la relación entre la dieta y cada enfermedad. En la tabla 2 se muestran biomarcadores de exposición, función y efecto para algunas vitaminas.

Entre los factores que influyen en los biomarcadores se encuentran: la variabilidad de las medidas (analítica, metodológica, intra e inter-individual), los valores de referencia establecidos y la determinación de los puntos de corte (basados en alteraciones bioquímicas o fisiológicas dependientes de vitaminas o en resultados de estudios epidemiológicos).

En la valoración de los resultados de los biomarcadores hay dos enfoques clínicos: uno el del generador de datos, el analista, y el otro el del médico, que selecciona e interpreta los parámetros dentro del contexto clínico global.

La variabilidad de las medidas obtenidas se debe a aspectos analíticos, metodológicos y variaciones fisiológicas. La variabilidad analítica se controla mediante los coeficientes de variación y el uso de materiales de referencia en los análisis. La variabilidad metodológica se controla mediante programas de control de calidad. Finalmente, la variabilidad fisiológica, dentro de cada individuo, se produce incluso bajo condiciones de ingesta uniforme en un mismo individuo. Respecto a la variación entre individuos, será también diferente según los indicadores del estatus, siendo los más estables los que están controlados homeostáticamente (ej.: retinol sérico) o los que reflejan el estatus a largo plazo (ej.: folato en hematíes), mejor que los que reflejan el estatus a corto plazo o los productos finales del metabolismo vitamínico.

Tabla 2. Biomarcadores de exposición, función y efecto de algunas vitaminas

	EXPOSICIÓN	FUNCIÓN	EFECTO (CARENCIA, PREVENCIÓN, CALIDAD DE VIDA)
Vitamina A	Retinol + carot. Provít -A (suero y dieta).	- Test dosis-resp. - Test oftalmol. - Expresión génica (retinoico y derivados).	- Teratógena (a ↑ dosis). - ↓ RR de infecciones. - ↓ Ceguera nocturna. - ↓ Anemias ferropénicas.
Vitamina E	α-tocoferol, γ-toc. δ-toc (dieta y suero en relac. colesterol).	- Test hemólisis eritrocitos.	- ↓ ↑ RR diversas enfermedades.
Vitamina D	25-OH-D (dieta + h. Insolación; suero).	- Densidad ósea. - 1,25-OH-D (suero).	- ↓ RR osteoporosis, etc. - ↓ Raquitismo, osteomalacia.
Vitamina C	Ascórbico (dieta, L; suero).	- Ascórbico en leucocitos.	- Escorbuto. - 1 RR diversas enf.

Una elevada variabilidad intra-individual provocará una valoración menos fiable del "verdadero" estatus de una vitamina en el caso de que se haga una única determinación, y dará lugar a una sobreestimación de la prevalencia de bajos y elevados valores cuando se establecen los puntos de corte.

Para interpretar los resultados, debemos contrastarlos con valores de referencia obtenidos mediante la misma metodología. Esto es muy importante puesto que los avances en metodología analítica han dado lugar a la revisión de rangos de referencia de muchos de los micronutrientes (vitaminas y minerales). Se deberían agrupar los resultados obtenidos por técnicas iguales o equiparables, utilizando criterios de selección de población cuidadosamente definidos, así como de valores medios, de mediana o de centiles.

La determinación de puntos de corte en los rangos de concentración de las vitaminas requiere una utilización muy crítica de la bibliografía (de los métodos, etc.), pues de lo contrario se obtendrían clasificaciones erróneas. Para la mayoría de los micronutrientes, los puntos de corte se suelen basar en: a) alteraciones bioquímicas o fisiológicas dependientes de una vitamina (ej.: vitamina A y la visión, la vitamina E y la hemólisis de eritrocitos) si se considera la función "clásica", relacionada con su enfermedad carencial asociada, o bien, b) en resultados de estudios epidemiológicos que asocian determinados niveles de vitaminas, en la ingesta o en sangre, con un menor riesgo de padecer determinadas enfermedades (lo que nos lleva al planteamiento de los niveles "óptimos").

Biomarcadores del estado nutricional vitamínico

Actualmente, dentro del proyecto EURRECA (European Micronutrient Recommendations Aligned) están en proceso de revisión los biomarcadores del estado nutricional de micronutrientes. La metodología utilizada en la valoración del estado nutricional vitamínico conlleva tratar de dar respuesta a las siguientes preguntas: a) qué biomarcadores reflejan de forma adecuada cambios en la ingesta de una vitamina a lo largo del tiempo; b) qué métodos utilizar. Finalmente, para cada vitamina en concreto hay que considerar: ¿en qué subgrupos de población hay pruebas?, ¿durante cuánto tiempo responde de forma apreciable el biomarcador?, ¿qué factores modifican la medida del estatus? (se han considerado la edad, el sexo, el genotipo, la situación de salud o enfermedad, etc.), ¿qué metodologías existen (exactitud, reproducibilidad y coste)?, ¿hay alguna circunstancia en la que no sea útil?, etc. Esta metodología fue aplicada en la valoración del estado nutricional de riboflavina, vitamina B₁₂ y vitamina D.

En la tabla 3 se resume la situación actual para los biomarcadores que reflejan la ingesta de las mencionadas vitaminas. Las pruebas actuales indican que las concentraciones en plasma y suero de vitamina B₁₂, ácido metilmalónico y homocisteína total son marcadores de cambio en la ingesta de esa vitamina. Se necesitan más estudios que incluyan dosis bajas de esta vitamina en adultos

Tabla 3. Biomarcadores que reflejan ingesta dietética

	BIOMARCADORES	FALTA MÁS FIABLES	INFORMACIÓN
B ₁₂	<ul style="list-style-type: none"> - Vitamina B₁₂ (suero, plasma). - Ác. metilmalónico. - Homocisteinemia. 	<ul style="list-style-type: none"> Ensayos a dosis bajas. Rangos de edad. Medir transcobalamina. tras suplementación. 	Deficiencia moderada es común en ancianos.
Riboflavina	<ul style="list-style-type: none"> - Coef. activación glutatión reductasa eritrocitaria. 	<ul style="list-style-type: none"> - Otros biomarcadores. - Homocisteinemia (sujetos genotipo MTHFR). - Respuestas a dosis bajas. 	Estado subóptimo puede ser problema en todos los grupos de edad, pero está sin definir el punto de corte para deficiencia.
D	25-OH-D (plasma).	<ul style="list-style-type: none"> - PTH, densidad mineral ósea, absorción de calcio en respuesta a cambios en estatus de vit. D. 	Valorar otros biomarcadores u objetivos funcionales.

Biomarkers of Micronutrient Status: Proceedings of EURRECA workshop. Am J Clin Nutri. 2009.

y en todos los rangos de edad, así como también la medida de la respuesta de la holotranscobalamina a la suplementación. Respecto a la riboflavina, el marcador de cambios en su ingesta es el coeficiente de activación de la glutatión reductasa eritrocitaria, en las poblaciones con estatus normal y bajo. Finalmente, el marcador más fiable de la vitamina D es el 1,25-hidroxicolecalciferol en situación adecuada y de deficiencia, los puntos de corte están en revisión. Mientras que los rangos de referencia del laboratorio se basan en valores de vitamina D obtenidos en sujetos sanos, las investigaciones más recientes sugieren que se deberían tener en cuenta la prevención del hiperparatiroidismo secundario y la pérdida de masa ósea, lo que daría lugar a rangos considerablemente mayores.

Conclusiones

Para valorar la relación entre el estado nutricional vitamínico y el estado de salud es importante conocer en qué marcadores se puede confiar y en qué circunstancias.

En general, debe utilizarse más de un biomarcador en la valoración del estado nutricional vitamínico, tanto en situación de salud como en relación con enfermedades.

Para utilizar biomarcadores del estado nutricional vitamínico en la práctica clínica se necesita saber más acerca de: a) cómo se relacionan con la dieta y también qué factores influyen en sus niveles (ej.: factores genéticos, fármacos, enfermedades) y b) la validación entre procedimientos analíticos que permitan la comparación entre los datos de diferentes laboratorios.

Bibliografía recomendada

EURRECA (European Micronutrient Recommendations Aligned). www.eurreca.org. Acceso: 30 junio 2010.

Hoey L, McNulty H, Strain JJ. Studies of biomarker responses to intervention with riboflavin: a systematic review. *Am J Clin Nutr*, 2009; 89:1.960S-80S.

Hoey L, Strain JJ, McNulty H. Studies of biomarker responses to intervention with vitamin B₁₂: a systematic review of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr*, 2009; 89:1.981S-96S.

Hooper L, Ashton K, Harvey LJ, Decsi T, Fairweather-Tait SJ. Assessing potential biomarkers of micronutrient status by using a systematic review methodology: methods. *Am J Clin Nutr*, 2009; 89:1.953S-95S.

Higdon J. *An Evidence-Based Approach to Vitamins and Minerals. Health Benefits and Intake Recommendations*. New York: Thieme. 2003.

Olmedilla Alonso B. Enfermedades crónicas relacionadas con la nutrición y la dieta. En: *Valoración del estado nutricional por el laboratorio*. Ed.: MD Parra Astorgano, B Olmedilla Alonso y R Deulofeu Piquet. Barcelona: Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular, 2007; 11-7.

Olmedilla B, Granado F. *Derivados cárnicos funcionales: estrategias y perspectivas*. Madrid: FEN. 2005.

Patterson RE, Pietinen P. Evaluación del estado nutricional en individuos y poblaciones. En: *Nutrición y Salud Pública*. Ed.: ML Gibney, BM Margetts, JM Kearne y L Arab. Zaragoza: Editorial Acribia. 2006.

Rucker RB, Suttie JW, McCormick DB, Machlin LJ. *Handbook of vitamins*. New York: Marcel Dekker, Inc. 2001.

Seamans KM, Cashman KD. Existing and potentially novel functional markers of vitamin D status: a systematic review. *Am J Clin Nutr*, 2009; 89:1.997S-2.008S.

Truswell S. Assessment of nutritional status and biomarkers. En: *Essentials of Human Nutrition*. Ed. J Mann y S Truswell. Oxford University Press. Online Resource Centre. 2007; 429-42.

Van den Berg H, Heseke H, Lamand M, Sandstrom B, Thurnham DI. Flair Concerted Action N10 Status Paper. Introduction, conclusions and recommendations. *Int J Vit Nutr Res*, 1993; 63:247- 51.

World Health Organization (WHO). *Micronu-trient deficiencies*. Acceso: 30 junio 2010. <http://www.who.int/nutrition/topics/micronutrients/en/index.html>

WHO/FAO. *Expert Consultation 2003. Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases*. WHO Technical.

Dietary reference intakes, optimal intakes and upper level intakes

Rosa M. Ortega and Elena Rodríguez-Rodríguez

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

Abstract

Recommended Intakes is the general term for a set of reference values used to plan and assess nutrient intakes of people and collectives.

Initially, recommended intakes were set to prevent deficiencies, but the increase of food availability and scientific research has allowed to change the recommended intakes in several occasions.

Furthermore, some studies have found health benefits associated to a higher nutrient intake than those recommended. For this reason, the term of Protective Nutrient Intake has appeared, and it is the best nutrient contribution to achieve maximum performance, well-being and health promotion in short and long term. In this context, it is necessary to establish the maximum nutrient intake that should not be exceeded because it may be dangerous to health. In fact, some studies have been made to establish optimal Intakes and Upper Level Intakes.

All these concepts are controversial and they are under discussion. There are similar guidelines in various countries, but they have also differences about it. In face of this situation, more research and consensus are necessary to increase the knowledge on this references and its application in order to improve the nutritional status and health of the population.

Key words

Recommended intake, dietary reference intakes, optimal intakes and upper level intakes.

Introduction

The importance of proper nutrition in health improvement requires the development of reference values to judge or plan the diet of different population groups. Initially, minimum quantities to prevent deficiency diseases were searched. Furthermore, the increase in the knowledge about food composition and the improvement in dietary assessment methods make necessary to improve the reference values for nutrient intake. Later, considerations to prevent degenerative diseases and maintain health, well-being and quality of life in the long term have been used to introduce changes in the recommendations.

The first guidelines on the most appropriate nutrient intakes appeared in Canada and the United Kingdom (1938) and were named DRNI (Daily Recommended Nutrient Intakes), now called RNI. In

1941, the Food and Nutrition Board of the American Institute of Medicine (FNB-IOM) established the Recommended Dietary Allowances (RDA, 1943), that have been revised and updated several times, the last edition (10th) was published in 1989. U.S. and Canada introduced the concept of Dietary Reference Intakes (DRI) in 1997, which broadened the concept of RDA. The Food and Agriculture Organization (FAO) and the World Health Organization (WHO) established the recommended intakes in the 50s. Finally, different countries (UK, France, Germany, Spain...) have developed and are updating their reference values.

In any case, it is necessary to establish the reference values of intake required to prevent vitamin deficiencies and ensure the maximum health benefit, avoiding risk for toxicity or interactions with other nutrients.

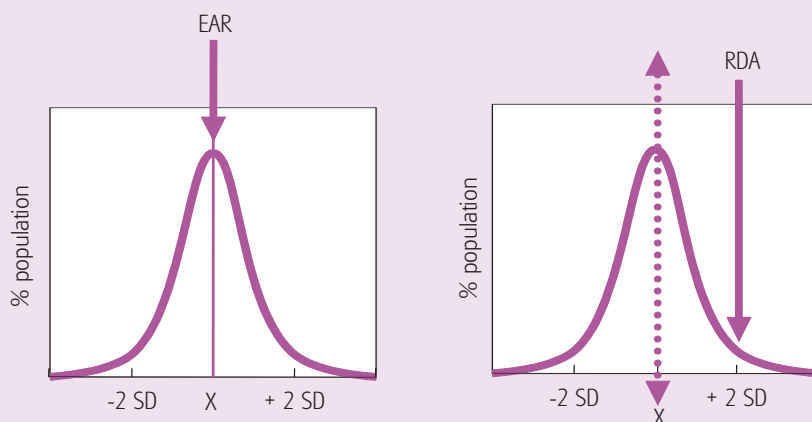
Recommended intakes

Recommended intakes are the suggested values of intake for specific micronutrients, aimed at minimizing the risk of nutrient deficit or excess, that have been established by various national and international bodies, including FAO/WHO, FNB/IOM, EFSA and UK.

The process for setting the RDA (Recommended Dietary Allowances) depends on being able to set an Estimated Average Requirement (EAR), if an EAR cannot be set, no RDA will be set. The EAR is the daily intake value of a nutrient that is estimated to meet the nutrient requirement of half the healthy individuals in a life stage and gender group (figure 1).

Before setting the EAR, a specific criterion of adequacy is selected based on a careful review of the literature. When selecting the criterion, contemporary concepts of the reduction of disease risk are considered along with many other health parameters.

Figure 1. Estimated Average Requirement (EAR) and Recommended Dietary Allowances (RDA) setting



EAR: Estimated Average Requirement. RDA: Recommended Dietary Allowances. SD: Standard Deviation.

References used in different countries have different names and characteristics, but they are based on similar concepts. For example, the term EAR set by the FNB (IOM) is similar to the term used by UK (1991) and FAO/WHO/UNU (1985), and it is also similar to the term Average Requirement (AR) set by the European Union (1992).

If the standard deviation (SD) of the EAR is available and the requirement for the nutrient is normally distributed, the RDA is set at 2 SDs above the EAR (in order that the requirements of almost every person in the group are met) (figures 1 and 2): $RDA = EAR + 2 \text{ SD EAR}$.

If data about variability in requirements are insufficient to calculate an SD, a coefficient of variation for the EAR of 10 percent is ordinarily assumed.

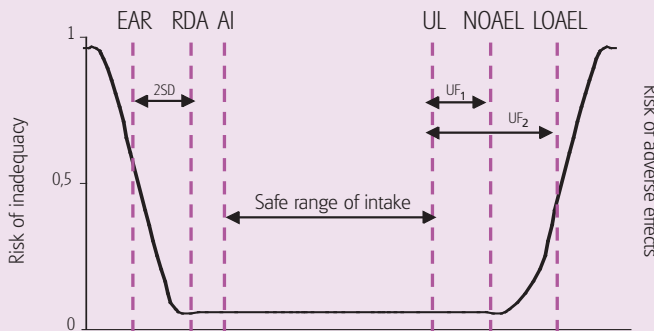
The resulting equation for the RDA is then: $RDA = 1.2 \times EAR$.

The FAO/WHO Recommended Nutrient Intake (RNI) is conceptually equivalent to the Recommended Dietary Allowance (RDA), one of the four levels of dietary reference intakes used in Canada and the United States of America, and to the Reference Nutrient Intake (RNI) used in the United Kingdom. The term RNI is also similar to the Population Reference Intake (PRI) used by the European Union.

RNI, RDA and PRI are defined as the daily dietary intake level that is sufficient to meet the nutrient requirement of almost all (i.e. 97-98%) healthy individuals in a particular age, gender and physiological status group.

When RDA/RNI/PRI cannot be determined, the Adequate Intake (AI) is used as reference. The AI is a recommended daily intake value based on observed or experimentally determined approximations of nutrient intake by a group (or groups) of healthy people that are assumed to be adequate (figure 2).

Figure 2. Distribution of requirements to prevent deficiency and toxicity



EAR: Estimated Average Requirement. RDA: Recommended Dietary Allowance. AI: Adequate Intake. UL: Tolerable Upper Intake Level. NOAEL: no observed adverse effect level. LOAEL: Lowest observed adverse effect level. SD: standard deviation. UF: uncertainty factor.

Having in mind information about nutrient intakes of fully breastfed infants and of apparently healthy people from their food supply; epidemiological observations of nutrient status in populations in relation to intake; studies of subjects maintained on diets containing low or deficient levels of a nutrient, followed by correction of the deficit with measured amounts of the nutrient, biochemical measurements of tissue saturation or adequacy of molecular function in relation to nutrient intake, requirements to set EAR (and subsequent vitamins recommended intakes) can be established. Values for the, UK, EU, USA/Canada, FAO and Spanish adult population are summarized in table 1.

Table 1. Recommended daily intakes of vitamins for adults (19-50 years) in different countries

	UK	EUROPEAN COMMUNITY	EEUU	FAO/WHO	SPAIN*
Male					
Thiamine (mg)	1.0	1.1	1.2	1.2	1.2
Riboflavin (mg)	1.3	1.6	1.3	1.3	1.6
Niacin (mg)	17	18	16	16	18 (20-39 y), 17 (40-49 y)
Pyridoxine (mg)	1.4	1.5	1.3	1.3	1.5
Folic acid (µg)	200	200	400	400c	400
Cyanocobalamin (µg)	1.4	2.4	2.4	2.4	
Vitamin C (mg)	1.5	45	90	45	60
Vitamin A (µg)	40	700	900	600a	1,000
Vitamin D (µg)	700	0-10	5	5b	5
Vitamin E (mg)	-	-	15	10	10
Vitamin K (µg)	-	-	120	65	70 (20-39 y), 80 (40-49 y)
Pantothenic acid (mg)	-	-5	5	5	
Biotin (µg)	-	-	30	30	30
Female					
Thiamine (mg)	0.8	0.9	1.1	1.1	1.1
Riboflavin (mg)	1.1	1.3	1.1	1.1	1.2 (20-39 y), 1.3 (40-49 y)
Niacin (mg)	13	14	14	14	15
Pyridoxine (mg)	1.2	1.1	1.3	1.5	1.3
Folic acid (µg)	200	200 (400 in pregnancy)	400 (600 in pregnancy)	400 (600 in pregnancy)c	400 (600 in pregnancy)

Continue

Table 1. Continuation

	UK	EUROPEAN COMMUNITY	EEUU	FAO/WHO	SPAIN*
Cyanocobalamin (µg)	1.5	1.4	2.4	2.4	2.4
Vitamin C (mg)	40	45	75	45	60
Vitamin A (µg)	600	600	700	500a	800
Vitamin D (µg)	-	0-10	5	5b	5
Vitamin E (mg)	-	-	15	7.5	8
Vitamin K (µg)	-	-	90	55	60 (20-39 y), 65 (40-49 y)
Pantothenic acid (mg)	-	-	5	5	5
Biotin (µg)	-	-	30	30	30

RE = 1 µg retinol = 12 µg β-carotene or 24 µg other provitamin A carotenoids. In oil, the conversion factor for vitamin A (retinol): β-carotene is 1:2. The corresponding conversion factor for synthetic β-carotene is uncertain, but a factor of 1:6 is generally considered to be reasonable. 1 µg RE = 3.33 IU vitamin A.

b = In the absence of adequate exposure to sunlight, as calciferol. 1 µg calciferol = 40 IU vitamin D.

c = 1 DFE = Dietary folate equivalent = 1 µg food folate = 0.6 µg folic acid from fortified foods, which means that 1 µg folic acid = 1.7 DFE.

*The age range is from 20 to 49 years.

Table 2. Recommended nutrient reference values for food labelling purposes used in Spain

Thiamine (mg)	1.1
Riboflavin (mg)	1.4
Niacin (mg)	16
Pyridoxine (mg)	1.4
Folic acid (µg)	200
Cyanocobalamin µg)	2.5
Vitamin C (mg)	80
Vitamin A (µg)	800
Vitamin D µg)	5
Vitamin E (mg)	12
Vitamin K (µg)	75
Pantothenic acid (mg)	6
Biotin (µg)	50

For legislative purposes, the Recommended nutrient reference values has been established and it must be used, for example, in the labelling of foods, in order to inform about the percentage of recommended intake that is covered with the consumption of a quantity or serving of that food (RD 1669/2009) (table 2).

Optimal intakes

Several studies indicate that a specific contribution of a nutrient could allow to achieve good long-term health and functional benefits. This situation leads to establish an optimal intake for all or some individuals that could be used to change the recommended intakes in the future.

The concept of protective nutrient intake has been introduced in some cases to refer to an amount greater than the RNI/RDA/PRI, which may be protective against a specified health or nutritional risk of public health relevance (e.g.,

vitamin C intake with a meal to promote iron absorption or folic acid to lower the risk of neural tube defects).

Under this theme, current RDA for vitamin D are established in order to maintain bone health and calcium metabolism in normal healthy population. Nevertheless, in a review made by Bischoff-Ferrari *et al* (2005), with studies involving people older than 60 years was concluded that an oral vitamin D supplementation with 700 to 800 IU/d (175-200 µg/d) appeared to reduce the risk of hip and any non-vertebral fractures in ambulatory or institutionalized elderly persons, whereas an oral vitamin D dose of 400 IU/d (similar to the recommended intake) was not sufficient for fracture prevention.

Numerous studies have found an association between vitamin D intake and lower risk of cardiovascular disease, cancer, diabetes, osteoporosis and better weight control. Nevertheless, optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D [25 (OH) D] have not been established. Having in mind bone mineral density, lower-extremity function, dental health, and risk of falls, fractures and colorectal cancer, the most advantageous serum concentrations of 25 (OH) D begin at 75 nmol/l (30 ng/ml), and the best are between 90 and 100 nmol/l (36-40 ng/ml). In most persons, these concentrations could not be reached with the currently recommended intakes of 200 and 600 IU vitamin D/day for younger and older adults, respectively. For this reason, according to Bischoff-Ferrari *et al* (2006), an increase in the currently recommended intake of vitamin D is warranted and an intake for all adults of ≥ 1000 IU (25 µg) vitamin D/day is needed to bring vitamin D concentrations up to 75 nmol/l in no less than 50% of the population.

Population studies show that individuals with high intakes of vitamin C have lower risk of a number of chronic diseases, including heart disease, cancer, eye diseases, and neurodegenerative conditions. The evidence that ascorbic acid acts as an important antioxidant in many body tissues is convincing and the new higher Recommended Dietary Allowance (RDA) for vitamin C of 75 mg for women and 90 mg for men is based on the vitamin's role as an antioxidant as well as protection from deficiency.

Higher intakes of some antioxidant vitamins may be required when oxidative stress is increased (like in smokers or athletes). For example, it has been seen that daily supplementation with a combination of vitamin C (500 mg) and E (150 mg) in maximal exercising basketball players may strengthen the antioxidant defense system by decreasing reactive oxygen species (ROS). Studies in smokers highlight a worse situation in various nutrients (folate, vitamin C) than in non-smokers, having similar intake. This fact has led to establish a higher recommended intake in smokers.

Vitamin B₆ concentration is inversely correlated with C-reactive protein (CRP) and interleukin-6 (IL-6) in a number of disorders, including sickle cell, Crohn's disease, and rheumatoid arthritis. The lowering of plasma vitamin B₆ concentration may be a protective homeostatic response to inflammation. Although there is still enough scientific evidence to prove it, a higher intake might be required in these circumstances.

People following vegetarian diets, even having adequate intakes of vitamin B₆, are at risk of inadequate blood levels of this vitamin. For this reason, vegans should include foods with a high bio-

availability of pyridoxine, such as beans, lentils and bananas, in the daily diet, and the recommended intake of pyridoxine in this population should be considered. This situation also has been reported in athletes, who need more vitamin B₆ than sedentary people.

Many other researches raise the possible advantage of higher nutrient intakes than those recommended. The UK government's research programme, Optimal Nutrition Status, in the context of the international research effort, tries to assist policy makers and advisers to ensure that the information generated by the research programme could be regarded as reliable experimental data of direct relevance to setting optimal dietary requirements for the particular micronutrients. However, many major questions still need to be addressed before it will be possible to identify optimal intakes for various sub-populations.

Tolerable Upper Intakes

The Tolerable Upper Intake Level (UL) is the highest level of daily nutrient intake that is likely to pose no risk of adverse health effects to almost all individuals in the general population. The term "tolerable intake" was chosen to avoid the implication of a possible beneficial effect. Instead, the term is intended to connote a level of intake that can, with a high probability, be tolerated biologically. Yet, with intakes above the ULs, the risk of adverse health effects increases. Thus, there is no obvious benefit for healthy individuals to consume quantities of nutrients above the UL (figure 2).

ULs are useful because of the increased interest in and availability of fortified foods and the increased use of dietary supplements. However, if adverse effects have been associated with intake from supplements or food fortificants only, the UL is based on nutrient intake from those sources only, not on total intake. Additionally, the UL applies to chronic daily use.

The model developed and used to determine ULs is based on well established principles of risk assessment. The model relies on data concerning adverse health effects from excessive nutrient intakes in epidemiologic studies, clinical trials, and experimental studies. Several factors associated with these various data sources influence the derivation of a UL. Among the most important of these factors are the intake at which adverse effects are documented (ie, the LOAEL, or lowest observed adverse effect level) and the maximum level of intake, which is always less than the LOAEL, at which no adverse health effects are observed (the NOAEL). In some studies both an LOAEL and a NOAEL are documented and in others only an LOAEL is reported. Both the LOAEL and NOAEL are derived from studies of excess nutrient intakes. The UL is not a data point but is strictly a derived value; in almost all cases, it is less than an observed NOAEL. Risk assessment practice requires that judgments be made regarding the limitations of the data that are the sources of the NOAEL and LOAEL. To derive a UL, uncertainty factors are introduced to account for the uncertainties associated with extrapolating from the observed data to a healthy population (figure 2).

For some nutrients, there are insufficient data on which to develop a UL. This does not mean that there is no potential for adverse effects resulting from high intake. When data about adverse effects are limited, extra caution may be warranted.

ULs for vitamins vary by age and gender but tend to be lower for young children and pregnant women. ULs for a range of vitamins for adult population are given in table 3. This table collect information given by the United States Food and Nutrition Board/Institute of Medicine (FNB/IOM, 2004) (FNB/IOM, 1997; 1998; 2000; 2001), the World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations (WHO/FAO, 2006) and the European Food Safety Authority (EFSA, 2006).

Table 3. Tolerable Upper Intake Levels (ULs) for adults

	FNB/IOM (2004)	WHO/FAO (2006)	EFSA (2006)
Vitamin A $\mu\text{g RE}$ ^a	3,000	3,000	
Vitamin D ₃ (μg) ^b	50	50	
Vitamin E (mg α -TE) ^c	1,000 ^d	1,000 ^d	3,000
Niacin (nicotinic acid) (mg NE) ^d	2,000	1,000	25
Pyridoxine (mg)	ND	ND	1,000
Folic acid ($\mu\text{g DFE}$) ^d	ND	ND	–
Vitamin C (mg)	ND	ND	ND
Pantothenic acid	ND	ND	ND
Biotin	ND	ND	ND
Cyanocobalamin			ND
Vitamin K			ND
Thiamine			
Riboflavin			

^a: Refers to preformed vitamin A only (i.e. esters of retinol). 1 $\mu\text{g RE}$ = 3.33 IU vitamin A.

^b: As calciferol, where 1 μg calciferol = 40 IU vitamin D.

^c: α -TE: α -tocopherol

^d: The ULs for vitamin E, niacin, and folic acid apply to synthetic forms obtained from supplements, fortified foods, or a combination of the two.

ND: Not determined. There are no appropriate data from which to set numerical ULs for these vitamins. In the absence of ULs, extra caution may be warranted in consuming levels above recommended intakes.

The ULs as defined by the IOM/FNB (2004) are based on data obtained from healthy populations in developed countries. They may not apply, nor are intended to do so, to communities of malnourished individuals that receive a vitamin prophylactically, either periodically or through fortification, as a means of preventing the deficiency.

Data provided by FAO/WHO (2006) is adapted from FNB/IOM (2000b, 2001 and 2003) and FAO/WHO (2004). For those micronutrients for which FAO/WHO (2004) have not recommended a UL (i.e. iron,

folate, fluoride and iodine), the values given in the table are based on recommendations of the United States FNB/IOM (2000, 2001 and 2003).

EFSA data (2006) is based on the request made in 1998 by the European Commission to the Scientific Committee about 1) reviewing the upper levels of daily intakes of individual vitamins and minerals that are unlikely to pose a risk of adverse health effects; and 2) providing the basis for the establishment of safety factors, where necessary, for individual vitamins and minerals which would ensure the safety of fortified foods and food supplements containing these nutrients.

With regard to vitamin A, because the tolerable UL may not adequately address the possible risk of bone fracture in particularly vulnerable groups, it would be advisable for postmenopausal women, who are at greater risk of osteoporosis and fracture, to restrict their intake to 1500 µg RE (esters of retinol) per day.

There are no studies on supplementation with high levels of vitamin D₃ in children and adolescents but it seems that susceptibility towards vitamin D changes with age. Using a cautious approach, the IOM/FNB sets the UL for children up to 1 year in 25 µg/day and the EFSA sets this value for children up to 10 years.

With regard to niacin, vasodilatation or flushing (i.e. a burning or itching sensation in the face, arms and chest) has been observed as a first adverse effect in patients given high doses of nicotinic acid for the treatment of hyperlipidemia. Based on such evidence, IOM/FNB and the EFSA have defined a UL of 35 and 10 mg/day for nicotinic acid, respectively.

Intakes of niacinamide have, however, not been associated with flushing effects. Bearing in mind the different characteristics of the two forms of niacin, the EFSA have proposed a UL for niacinamide of 900 mg/day.

According to the findings of the IOM/FNB, "No adverse effects associated with vitamin B₆ from food have been reported. This does not mean that there is no potential for adverse effects resulting from high intakes. Because data on the adverse effects of vitamin B₆ are limited, caution may be warranted". A UL of 100 mg for adults and 30-40 mg for children has thus been set. A UL of 25 mg/day has been given by EFSA because of this values has not been associated with adverse effects in any of the large number of published studies. Furthermore, this value is below the lowest doses associated with minor neurological effects following long-term intake, and is 10-or 20-fold lower than doses associated with more severe adverse effects.

The consumption of folic acid in amounts normally found in fortified foods has not been associated with adverse health effects. However, there has been some concern that high folic acid intakes could mask or exacerbate neurological problems in people with low intakes of vitamin B₁₂. This has led to reluctance to fortify with folic acid in some countries.

To avoid any possible risk of adverse effects, folic acid fortification programs should be designed so as to limit regular daily intakes to a maximum of 1 mg. In addition, measures which require folic acid-containing supplements and fortified foods to also contain vitamin B₁₂ could be considered,

especially in the case of products consumed by older citizens who are at greater risk of vitamin B₁₂ deficiency and its associated conditions.

No data are available to suggest that other life-stage groups have increased susceptibility to adverse effects of high folic acid intake. Therefore, the UL is also applicable for pregnant or lactating women. It seems prudent, however, to adjust the ULs for children on the basis of bodyweight.

The data on osmotic diarrhea and gastrointestinal disturbances were selected as most relevant on which to base a UL for vitamin C in apparently healthy adults by FNB/IOM. Because there is little uncertainty regarding the range of vitamin C intakes that are likely to induce osmotic diarrhea, an UF of 1.5 was selected to extrapolate the LOAEL to a NOAEL. Thus, the LOAEL of 3 g/day was divided by the UF of 1.5 to obtain a NOAEL and UL value of 2 g/day.

Because of the risk of oxalate stone formation may become significant at high intakes of vitamin C (> 1 g), the FAO/WHO agreed that 1 g of vitamin C appears to be the advisable upper limit of dietary intake per day.

The EFSA considers that there are insufficient data to establish a tolerable UL for vitamin C. The vitamin is of low acute toxicity as indicated by the limited data available from studies in animals and humans, acute gastrointestinal intolerance is the most clearly defined adverse effect at high intakes, but the potential for vitamin C to induce gene or chromosomal mutations in vivo in humans at high doses (1 g or more) should be investigated especially pro-oxidant effects on DNA bases, using sensitive methods, because there are inadequate data to ensure the safety of long-term high-dose intakes.

Finally, for some nutrients there is not enough information to establish the ULs (table 3).

Although more accurate data and further research are necessary, it is remarkable the progress achieved in many countries to set the reference intakes and to improve the search for optimum intake and ULs in different population groups.

References

Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, Dietrich T, Dawson-Hughes B. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr*, 2006; 84:18-28.

Bischoff-Ferrari HA, Willett WC, Wong JB, Giovannucci E, Dietrich T, Dawson-Hughes B. Fracture prevention with vitamin D supplementation: a meta-analysis of randomized controlled trials. *JAMA* 2005; 293:2.257-64.

Buttriss J, Hughes J. A review of the MAFF Optimal Nutrition Status research programme: folate, iron and copper. *Public Health Nutr*, 2002; 5:595-612.

Chiang EP, Smith DE, Selhub J, Dallal G, Wang YC, Roubenoff R. Inflammation causes tissue-specific depletion of vitamin B6. *Arthritis Res Ther*, 2005; 7:1.254-62.

Cuervo M, Corbalán M, Baladía E, Cabrerizo L, Formiguera X, Iglesias C, et al. Comparativa de las ingestas dietéticas de referencia (IDR) de los diferentes países de la Unión Europea, de Estados Unidos (EE.UU.) y de la Organización Mundial de la Salud (OMS). *Nutr Hosp*, 2009; 24:384-414.

Departamento de Nutrición. *Ingestas recomendadas y Objetivos nutricionales para la población española*. In *La composición de los alimentos. Herramienta básica para la valoración nutricional*, ed. RM Ortega, AM López-Sobaler, AM Requejo and P Andrés. Madrid: Editorial Complutense, 2010; 83-6.

European Food Safety Authority (EFSA). *Tolerable Upper Intake Levels for Vitamins and Minerals by the Scientific Panel on Dietetic products, nutrition and allergies (NDA) and Scientific Committee on Food (SCF), Scientific Committee on Food. Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies 2006*. Available at: <http://www.efsa.eu.int>

Expert Group on Vitamins and Minerals, EVM. *Safe upper levels for vitamins and minerals*. United Kingdom: Food Standards Agency, UK FSA. 2003.

FAO/WHO. *Vitamin and mineral requirements in human nutrition. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Human Vitamin and Mineral Requirements, Bangkok, Thailand, 21–30 September 1998*. 2nd ed. Geneva: World Health Organization. 2004.

FAO/WHO. *A Model for Establishing Upper Levels of Intake for Nutrients and Related Substances. Report of a joint FAO/OMS Technical Workshop on Nutrient Risk Assessment*. Geneva: World Health Organization. 2005.

FAO/WHO. *Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of the joint WHO/FAO expert consultation. Technical Report Series* Geneva: World Health Organization. 2003; 916.

FNB/IOM. *Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride*. Washington DC: Institute of Medicine of the National Academies Press. 1997. Available at www.nap.edu

FNB/IOM. *Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B₆, Folate, Vitamin B₁₂, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline*. Washington DC: Institute of Medicine. National Academies Press. 1998. Available at: www.nap.edu.

FNB/IOM. *Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids*. Washington DC: Institute of Medicine of the National Academies Press. 2000. Available at: www.nap.edu.

FNB/IOM. *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc*. Washington DC: Institute of Medicine of the National Academies Press. 2001. Available at: www.nap.edu.

FNB/IOM. *Recommended Dietary Allowances*. ed 10th, Washington, DC: National Academy Press. 1989.

FNB/IOM. *Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. Dietary Reference Intakes: Proposed Definition and Plan for Review of Dietary Antioxidants and Related Compounds*. Washington, DC: National Academy Press. 1998.

FNB/IOM. *Dietary Reference Intakes (DRIs): Recommended Intakes for Individuals*. Washington, DC: National Academy Press. 2004. Available at: www.nap.edu

Gori AM, Sofi F, Corsi AM, Gazzini A, Sestini I, Lauretani F, Bandinelli S, et al. *Predictors of vitamin B₆ and folate concentrations in older persons: The InCHIANTI study*. *Clin Chem*, 2006; 52:1.318-24.

Munro I. *Derivation of tolerable upper intake levels of nutrients*. *Am J Clin Nutr*, 2001; 74:865-6.

National Research Council. *Diet and Health. Implications for Reducing Chronic Disease Risk. Report of the Committee Diet and Health, Food and Nutrition Board, Commission on Life Sciences*. Washington, DC: National Academy Press. 1989.

Navia B and Ortega RM. Ingestas recomendadas de energía y nutrientes. In *Nutriguía. Manual de Nutrición Clínica en Atención Primaria*, ed. AM Requejo and RM Ortega, Madrid: Editorial Complutense. 2006; 3-13.

Ortega RM, Aparicio A. Problemas nutricionales actuales. Causas y consecuencias. In *Nutrición y Alimentación en la promoción de la salud*, ed. RM Ortega, AM Requejo, RM Martínez, Madrid: UIMP, IMP Comunicación. 2007; 8-20.

Ortega RM, López-Sobaler AM, Andrés P, Requejo AM, Molinero LM. Programa DIAL para valoración de dietas y cálculos de alimentación. Madrid: Departamento de Nutrición (UCM) y Alce Ingeniería, S.A. 2008. Disponible en: <http://www.alceingenieria.net/nutricion.htm>.

Peña VJ, Martín I, Ruiz S. Requerimientos nutricionales e ingestas dietéticas recomendadas. In *Tratado de Nutrición*, ed. A Gil, Madrid: Acción Médica. 2005; 45-79.

Real Decreto 1669/2009, de 6 de noviembre, por el que se modifica la norma de etiquetado sobre propiedades nutritivas de los productos alimenticios, aprobada por el Real Decreto 930/1992, de 17 de julio. BOE 269, sábado 7 de noviembre de 2009. Sección I. Pág. 92.956. Disponible en: <http://www.boe.es/boe/dias/2009/11/07/pdfs/BOE-A-2009-17652.pdf>

Scientific Committee on Food (SCF) (1992): *Nutrient and Energy Intakes for the European Community. Opinion adopted by the SCF on december 1992. Report of the SCF series n.º 31.* Luxemburg: European Commission.

Villamor E and Fawzi WW. Effects of vitamin a supplementation on immune responses and correlation with clinical outcomes. *Clin Microbiol Rev*, 2005; 18:446-64.

Waldmann A, Dörr B, Koschizke JW, Leitzmann C, Hahn A. Dietary intake of vitamin B₆ and concentration of vitamin B₆ in blood samples of German vegans. *Public Health Nutr*, 2006; 9:779-84.

WHO/FAO. *Guidelines on food fortification with micronutrients.* Geneva: World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2006.

Vitamin status in Europe and Spain. Methodology to estimate vitamin intake adequacy

Lluís Serra Majem*, **, Blanca Román Viñas**, Lourdes Ribas Barba** and Joy Ngo de la Cruz**

*Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, España.

**Nutrition Research Foundation, Parc Científic de Barcelona, Barcelona, España.

Abstract

The final stage in the dietary evaluation of an individual or a population is to compare intakes with the nutrient recommendations for that individual/population. When estimating nutrient intake in the population, there are a plethora of factors that affect the exactness of data obtained, such as the selected dietary survey instrument (Food Frequency Questionnaire or daily methods, such as a single or multiple 24 h recalls or food records), whether it is interviewer or self-administered, the type of interviewee, method of data entry, and the voluntary/involuntary error in reporting foods consumed with under/over-reporting of intake both in quantity and in types of food. Moreover, error is also introduced in the estimation of portion sizes, the food composition tables utilized, the inclusion of information about vitamin and mineral supplements consumed, etc.

Although current best practice is not ideal, the estimation of nutrient intake requires rigor in the study design, instrument applied, data collection and entry, analysis and interpretation. Failure to do so leads to erroneous data affecting the interpretation of results as well as the calculation of the prevalence of inadequacy in the population.

Introduction

The process of evaluating nutrient intake in a certain population comprises several steps: measuring food consumption in the population, including the evaluation of food supplements, the calculation of the nutrient intake using an appropriate Food composition table, the evaluation of the nutrient absorbed from the food and the comparison of nutrient intake against the nutrient recommendations available for the country of study. Every one of these steps is subject to uncertainties that may affect the results: the dietary instrument to utilize (a Food Frequency Questionnaire, a register, diary or record) and, if using a register or a diary, the number of days of administration needed to consider the day to day intake variability, the estimation of plausible misreporting in the population, the Food Composition Table to be used, the absorption factor to apply and the nutrient recommendations to use as reference values.

The final stage in the dietary evaluation of an individual or a population is to compare intake with the nutrient recommendations for that individual/population. As neither true nutrient intake nor nutrient requirements are known for every individual in a population, statistical approaches consti-

tute the only possible method to assess nutrient intake adequacy. Two approaches are used to calculate the prevalence of inadequate intakes: the probability approach or, when certain conditions are met, a shortcut of the probability approach known as the cut point method. The decision about which method to use will depend upon the nutrient under study and the existing recommendations for that nutrient.

Nutrient recommendations

Most countries around the world recommend nutrient intake values for their populations. Traditionally, these standards have been set at a level that would cover the requirements of practically all healthy persons in the population. The terms used to describe intake parameters and also the values of recommended nutrient intakes vary considerably from country to country. The United Nations University's Food and Nutrition Programme, in collaboration with the Food and Agriculture Organization (FAO), the World Health Organization (WHO), and UNICEF, convened a group of experts to review and standardize the terminology for these terms. They proposed the term Nutrient Intake Values (NIVs) to refer to the set of terms and definitions to be used by all countries. The proposed terms are: the Average nutrient requirement (ANR), the Individual nutrient level (INLx) and the Upper nutrient level (UNL).

The ANR is the average or median requirement estimated from a statistical distribution of requirements for a specific criterion and for a particular age and sex-specific group. It is equivalent to the Estimated Averaged Requirement (EAR) used by the Institute of Medicine (IOM-USA) and the UK recommendations and the Average Recommendations (AR) applied in other European Communities.

The INLx is the recommended nutrient level for all healthy individuals in a specific subpopulation. Often 2 SD are added to the ANR, so that the recommendation will cover the needs of most (i.e., 98 %) of the population, assuming that the distribution is symmetrical. In that case, the INLx would be INL98. It is equivalent to the term Recommended Dietary Allowance used by the IOM (USA), Reference Nutrient Intake (RNI) applied in the UK and WHO Recommendations and the Population Reference Intake (PRI) utilized in other European Communities.

The UNL is the highest level of daily nutrient intake that is likely to pose no risk of adverse health effects for almost all individuals in a specified life-stage group. The UNL is usually set at a level where the risk of excessive intakes is close to zero.

The term Adequate Intake, included in the Recommendations of the IOM and the UK (defined as the lower end of the range of safe intakes) but not in the UNU harmonized terms, is used when data are insufficient to set an ANR. It is obtained from the mean intake of a study population that does not present deficiency states.

The Lower reference nutrient intake (LRNI) is applied in the UK, and is defined as the Lower threshold intake (LTI) in other European Communities. This value is derived from the ANR, and it is equi-

valent to the ANR minus 2 SD of the requirement. Typically it is sufficient to meet the needs of 2% of individuals in a population.

Methodology to calculate nutrient intake adequacy

The methodology to calculate nutrient intake adequacy in a population will depend upon the nutrient under study and therefore, the current recommendations for the given nutrient. There are great discrepancies in the nutritional recommendations across Europe, not only in terms of the actual nutrient value but also in the terminology used for defining requirements. The methodology to apply is different depending on whether ANR (or EAR) or AI data are available for a given nutrient. Two approaches are used: the probability approach or, the cut point method.

The probability approach is a statistical method that combines the distribution of the intakes and the risk curve for the requirement distribution. The cut-point method, proposed by Beaton (? Ref ?), estimates the prevalence of inadequate intakes as the proportion of the population with usual intakes below the Average Nutrient Requirement (ANR) (or the EAR). Both methods are recommended to be used only when the mean and the variance of the requirement distribution are known and under the following conditions: for the probability method, there should be little or no correlation between intake and requirements (which is common for most of the nutrients but not for the energy and certain B vitamins). In the case of the EAR cut-point method, the variation in intake of a nutrient by a population group should be greater than the variation in the requirement for this nutrient (also assumed to be true for most nutrients and most groups), and the distribution of requirements must be symmetrical (believed to be true for all nutrients except iron). Thus for most nutrients, either method is appropriate, with the exception of iron for which only the probability method is valid.

To estimate how adequate the nutrient intake is, intake distributions have to be adjusted to remove the effect of day to day variation. Otherwise, the evaluation of nutrient intake adequacy will be erroneously estimated. To conduct such an adjustment several methods are available: the method proposed in the NRC report, the method developed at ISU or computing the means of several days of dietary intake data and fitting a distribution to the observed means. According to Carriquiry, the estimation of the proportion of individuals with inadequate nutrient intakes will vary greatly depending on the method used for estimating usual intake distributions.

When analysing inadequate intake prevalence in nutrition studies, the problem of misreporting emerges. Under-reporting of energy generally leads to the under-reporting of nutrients. The degree to which it affects each nutrient remains to be clarified, although the analysis of certain nutrients has shown that under-reporting of energy accounts for approximately 30% of under-reporting of Fe, Ca or vitamin C. Some authors suggest that when estimating the proportion of the population whose intake is below the recommendations, it is debatable whether underreporters have to be excluded from data analysis or if their intake data should be corrected for inclusion in the analysis. One school

of thought is that to assess nutrient intake adequacy, it is necessary to detect underreporters to reduce the bias in estimating the prevalence of inadequacy. Lauzon *et al*, estimated that the inclusion of underreporters in the evaluation of the prevalence of nutrient inadequacy could increase the percentage of individuals with inadequate intakes by up to 17%. Also Becker *et al*, estimated the effect that underreporters had in the assessment of meeting recommendations for certain vitamins with data from a Swedish survey. The authors showed that the proportion of individuals with vitamin intakes below the average requirement decreased when those individuals reporting questionable low energy intakes were excluded.

When applying either of the statistical methods, the probability approach or the cut-off point, it is necessary to know the concept used to define the recommendation for the nutrient under study. For given nutrients in certain countries the concept for defining the recommendation is not an ANR but rather an AI. In the case of calcium, for example, to calculate the adequacy of calcium intakes in the population, those countries utilizing the ANR (the WHO, the UK), can apply the ANR cut point method. Conversely, when the recommendation for calcium relies on the AI, for instance in the Nordic or the IOM Recommendations, intake adequacy can only be determined by qualitative methods. Besides calcium, for those nutrients with an AI, the mean intake of a group should be compared with the AI: if the mean intake of the group is at or above the AI, and the variance of intake is similar to the variance of intake from the population used to set the AI, the prevalence of inadequate intakes for that population is likely to be low; if the group median intake is below the AI, nothing can be concluded in terms of intake adequacy. In this qualitative decision, the intake distribution does not need to be adjusted for day-to-day variation, as only the mean intake is being examined.

Another obstacle to overcome is related to the fact that certain countries do not precisely define whether the value used in nutrient recommendations is an ANR, INL98 or an AI. As a result, this makes it impossible to apply the recommended protocol.

Vitamin intake adequacy in Europe and Spain

As an example of evaluating the vitamin intake adequacy in Europe, we applied the proposed methodology by the IOM and the EURRECA utilizing the most representative European country survey data available. The key sources of information were the European Nutrition and Health Report II. The ENHR II was a European funded project conducted in 2007-2009 with the aim of gathering the most updated information on nutrition surveys across Europe. It included information from 25 participating countries (Austria, Belgium, Cyprus, Czech Republic, Denmark, Estonia, Finland, France, Germany, Greece, Hungary, Ireland, Italy, Latvia, Lithuania, Luxembourg, Norway, Poland, Portugal, Romania, Slovenia, Spain, Sweden, The Netherlands and the United Kingdom). To estimate nutrient intake adequacy applying the ANR cut point, the studies to be included in the analysis should have used a validated FFQ or should have adjusted for the individual variability when using recalls or registers of intake. Due to the limited number of studies using the indicated methodologies, those

studies that did not adjust for the individual variability but had at least 7 days of registration were included in the study. The nutrients under study were: vitamin C, vitamin D, vitamin B₁₂, and folate. The Nordic Recommendations were used as nutrient recommendation reference values.

The nutritional surveys from eleven countries met the inclusion criteria: the National Food Consumption Survey (Belgium), the Danish National Survey of Dietary Habits and Physical Activity (Denmark), The National Findiet 2007 Survey (Finland), the German National Nutrition Survey II (Germany), the SLAN 2007 study (Ireland), the Norkost 1997 (Norway), the EpiPorto study (Portugal), the ENCAT study (Spain), the Riksmaten 1997-1998 study (Sweden) and the EPIC study(Greece). Four of them used a FFQ (Greece, Ireland, Norway and Portugal), three a seven day register (Denmark, Italy, Sweden), one of the included surveys used a validated diet history (Germany) and three of the surveys (Belgium, Finland, Spain) used a recall or diary/register and made an adjustment for the intra-individual variability. The surveys from Ireland and Norway included supplement intake in the nutrient intake data.

The results of the prevalence of inadequacy in the European countries included in the analysis are shown in figures 1 to 4. For vitamin C (figure 1), the prevalence of inadequacy ranged from 8% in Spanish females to 40% in Irish males. The prevalence was higher among males than females in all the countries analysed.

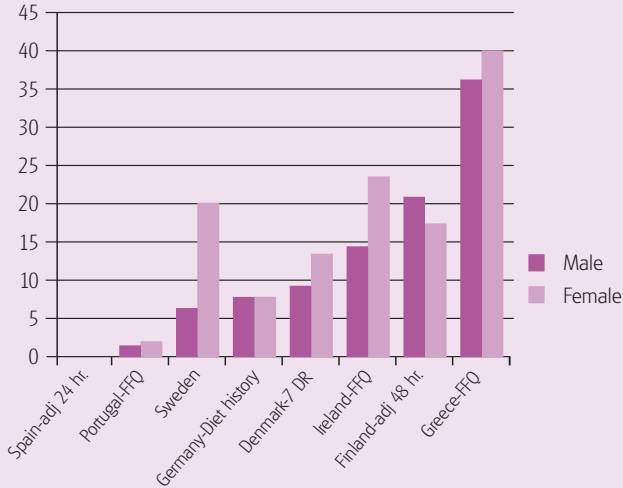
Figure 1. Prevalence of vitamin C inadequacy in the European adult population



FFQ: Food Frequency Questionnaire, adj.24 hr: 24 hour recall adjusted for the intraindividual variability, 7DR: 7 days Dietary Record, adj. 48 hr: 48 hours recall adjusted for the intraindividual variability.

The prevalence of vitamin B₁₂ inadequacy (figure 2) ranged from 0% in Spain to 40% of the Greek female population. In general, the prevalence was higher among European females than males.

Figure 2. Prevalence of vitamin B₁₂ inadequacy in the European adult population



FFQ: Food Frequency Questionnaire, adj.24 hr: 24 hour recall adjusted for the intraindividual variability, 7DR: 7 days Dietary Record, adj. 48 hr: 48 hours recall adjusted for the intraindividual variability.

Referring to folate (figure 3), the prevalence of inadequacy was quite high, ranging from 10% in the Italian male population to 45% in females from Greece or Norway.

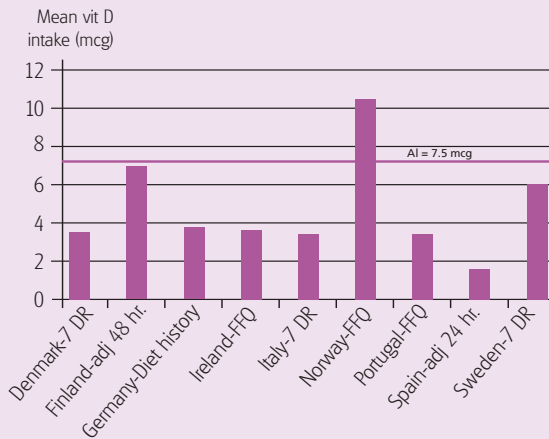
Figure 3. Prevalence of folate inadequacy in the European adult population



FFQ: Food Frequency Questionnaire, adj.24 hr: 24 hour recall adjusted for the intraindividual variability, 7DR: 7 days Dietary Record, adj. 48 hr: 48 hours recall adjusted for the intraindividual variability.

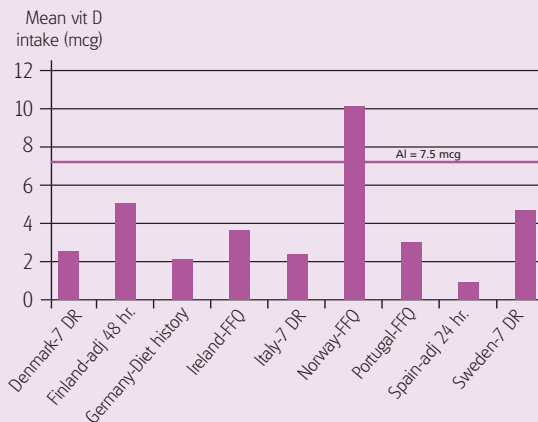
In the Nordic Recommendations used as the reference values, the vitamin D recommendation is based on an Adequate Intake, thus the cut point method was not applied. The mean vitamin D intake in each country was compared to the Nordic AI (figure 4 and 5). Except for Norway, the mean vitamin D intake was below the AI in all the participating countries for both males and females.

Figure 4. Comparison of vitamin D intake against vitamin D Recommendations in the adult European male population



FFQ: Food Frequency Questionnaire, adj.24 hr: 24 hour recall adjusted for the intraindividual variability, 7DR: 7 days Dietary Record, adj. 48 hr: 48 hours recall adjusted for the intraindividual variability.

Figure 5. Comparison of vitamin D intake against vitamin D Recommendations in the adult European female population



FFQ: Food Frequency Questionnaire, adj.24 hr: 24 hour recall adjusted for the intraindividual variability, 7DR: 7 days Dietary Record, adj. 48 hr: 48 hours recall adjusted for the intraindividual variability.

The results shown indicate that there is a high prevalence of inadequacy in Europe in the adult population for the vitamins under study. Nevertheless there are several factors that must be taken into account when interpreting the results. Two factors that can modify the mean intake estimation in a population were not evaluated: the evaluation of misreporting and the supplement usage in the population. Underreporters were not excluded from the total sample in any of the studies included for analysis. Their exclusion would have reduced the number of individuals with intakes below the ANR. Regarding supplements, only two countries evaluated and included supplement intake as part of the total nutrient intake. Apart from supplement use, in the recent past there has been a considerable increase in the area of functional foods, which could possibly decrease the risk of suffering inadequate intakes, at least for certain nutrients. Moreover, other study characteristics could affect the results. The purpose of the study, the sample size, the year the study was conducted, the method to assess food intake, etc., were all factors that could also have an impact on the outcomes observed. In a recent publication by Tabbachi a similar exercise was conducted with the aim of calculating the prevalence of folate inadequacy in Europe using the WHO recommendations. The authors found that 75% of the female population in Europe had intakes below the WHO ANR for folate. When using the country specific ANR for every study included in the analysis, the authors found that 17% of the population had inadequate intake of folate, showing a large variation in results when different methods are applied to estimate intake adequacy.

A continuous monitoring of the vitamin and mineral intake (including intake from foods, supplements and fortified foods) and status in Europe is needed, using the methodology appraised by the EURRECA Network of Excellence and other European projects.

References

- Anderson GH. Estimating nutrient deficiencies in a population from dietary records: the use of probability analyses. *Nutr Res*, 1982; 2:409-15.
- Barr SJ, Murphy SP, Poos MI. Interpreting and using the dietary reference intakes in dietary assessment of individuals and groups. *J Am Diet Assoc*, 2002; 102(6):780-8.
- Basiotis PP, Welsh SO, Cronin FJ, et al. Number of days of food intake records required to estimate individual and group nutrient intakes with defined confidence. *J Nutr*, 1987; 117(9):1.638-41.
- Beaton GH. Uses and limits of the use of the Recommended Dietary Allowances for evaluating dietary intake data. *Am J Clin Nutr*, 1985; 41(1):155-64.
- Beaton GH. Criteria of an adequate diet. In: Shiels RE, Olson JA, Shike M, eds. *Modern Nutrition in Health and Disease*. Philadelphia: Lea and Febiger. 1994.
- Beaton H. When an individual is an individual versus a member of a group? An issue in the application of the Dietary Reference Intakes. *Nutr Rev*, 2006; 64(5):211-25.
- Becker W, Welten D. Under-reporting in dietary surveys--implications for development of food-based dietary guidelines. *Public Health Nutr*, 2001; 4(2B):683-7.
- Carriquiry AL. Assessing the prevalence of nutrient inadequacy. *Public Health Nutr*, 1999; 2(1):23-33.

Doets EL, De Wit LS, Dhonukshe-Rutten RA, Cavelaars AE, Raats MM, Timotijevic L, et al. Current micronutrient recommendations in Europe: towards understanding their differences and similarities. *Eur J Nutr*, 2008; 47 (suppl. 1):17-40.

Elmadfa I, ed. *European Nutrition and Health Report. Forum Nutr 2009*; 62:1-405. Epub 2009 Sep 21. Institute of Medicine. *Dietary reference intakes: Applications in dietary assessment*. Washington, DC: National Academy Press. 2000.

Jahns L, Arab L, Carriquiry A. Dietary reference intakes still used incorrectly in Journal articles. *J Am Diet Assoc*, 2003; 103(10):1.292-3.

King JC, Garza C. International harmonization of approaches for developing nutrient-based dietary standards. *Food and Nutrition Bulletin 28. The United Nations University, United Nations University Press*. 2007; 1.

Lauzon B, Volatier JL, Martin A. A Monte Carlo simulation to validate the EAR cut-point method for assessing the prevalence of nutrient inadequacy at the population level. *Public Health Nutr*, 2004; 7(7):893-900.

Murphy SP, Barr SJ, Poos MI. Using the new dietary reference intakes to assess diets: a map to the maze. *Nutr Rev*, 2002; 60(9):267-75.

Murphy SP, Guenther PM, Kretsch MJ. Using the dietary reference intakes to assess intakes of groups: pitfalls to avoid. *J Am Diet Assoc*, 2006; 106(10):1.550-3.

Murphy SP, Vorster HH. Methods for using nutrient intake values (NIVs) to assess or plan nutrient intakes. *Food Nutr Bull*, 2007; (1 suppl.):S51-60.

National Research Council. *Nutrient Adequacy*. Washington DC.: National Academy Press. 1986.

Nusser SM, Carriquiry AL, Dodd KW, Fuller WA. A semiparametric transformation approach to estimating usual daily intake distributions. *J Am Stat Assoc*, 1996; 91:1.440-9.

Poslusna K, Ruprich J, De Vries JH, Jakubikova M, van't Veer P. Misreporting of energy and micronutrient intake estimated by food records and 24 hour recalls, control and adjustment methods in practice. *Br J Nutr*, 2009; 101 (suppl. 2):S73-85.

Tabacchi G, Wijnhoven TM, Branca F, Román-Viñas B, Ribas-Barba L, Ngo J, Serra-Majem L. How is the adequacy of micronutrient intake assessed across Europe? A systematic literature review. *Br J Nutr*, 2009; 101 (suppl. 2):S29-36.

Errores, mitos y fraude en torno a las vitaminas y la salud

Carmen Pérez Rodrigo* y Javier Aranceta Bartrina**,**

*Unidad de Nutrición Comunitaria. Excmo. Ayuntamiento de Bilbao, España.

**Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Universidad de Navarra, España.

Resumen

Las vitaminas son nutrientes reguladores que deben aportarse en cantidades suficientes con la dieta y que pueden modificar el efecto de factores de riesgo de enfermedades crónicas. El consumo de suplementos multivitamínicos y de vitaminas específicas ha aumentado en los últimos años en los países desarrollados, así como el aporte de vitaminas a partir de alimentos enriquecidos. Los valores dietéticos de referencia contemplan diferentes niveles de ingesta para asegurar unos aportes mínimos de seguridad y también un valor máximo tolerable. Aunque se ha extendido entre la población la creencia de que el consumo de dosis altas de vitaminas ayudan a mantener un buen estado de salud y a la prevención de enfermedades, la evidencia disponible no es consistente, e ingestas de vitaminas por encima del valor máximo tolerable pueden representar riesgos para la salud, si bien la evidencia sobre los efectos adversos tampoco es concluyente. Los estudios poblacionales muestran que un mayor consumo de suplementos vitamínicos es más probable en personas que habitualmente realizan dietas más adecuadas y practican actividad física, aunque también se ha observado su consumo como técnica compensatoria de prácticas no saludables.

La difusión en los medios de comunicación de los resultados de estudios epidemiológicos a veces con titulares sensacionalistas y simplistas pueden crear falsas expectativas e inducir al consumo indiscriminado de suplementos. Una dieta equilibrada, variada, que incluya al menos cinco raciones de frutas y verduras diarias, permite satisfacer las necesidades nutricionales en la mayor parte de los casos y es una adecuada estrategia preventiva. En determinadas circunstancias puede ser necesario el consumo de suplementos, siempre siguiendo las indicaciones de un profesional sanitario.

Palabras clave

Suplementos vitamínicos, enfermedades crónicas, efectos adversos, consumo, creencias.

Abstract

Vitamins are essential regulatory nutrients that should be supplied in adequate amounts with the diet and may modify the effect of risk factors for chronic disease. Consumption of multivitamin and

specific vitamin supplements has increased in developed countries in the last decades, along vitamin intake from fortified foods and beverages. Dietary Reference Values include different levels of nutrient intake to ensure minimum safe intake levels but also upper tolerable levels. Despite it is wide spread in the population the belief that high vitamin intake levels contribute to maintain good health and prevent diseases, evidence is inconclusive and intake levels above Upper Tolerable level may pose health risks, although evidence in this sense is not consistent either. Population surveys show that higher consumption of vitamin supplements is more likely among people with more adequate and balance diets and physically active; however supplement consumption has been observed as a compensatory means for unhealthy practices as well.

Media dissemination of results from epidemiological studies sometimes through sensational oversimplified headlines may contribute to create false expectations and to induce indiscriminate use of vitamin supplements. A varied balanced diet including at least five portions of fruit and vegetables everyday is sufficient to satisfy the nutritional needs of most people and is an adequate preventive strategy. In specific situations, vitamin supplement consumption may be required and should be used following advice by health care providers.

Key words

Vitamin supplement, chronic disease, adverse effects, consumption, beliefs.

Introducción

Las vitaminas son elementos reguladores que desempeñan funciones clave en el organismo y es necesario aportar con la dieta en cantidades suficientes. Los suplementos vitamínicos se encuentran entre los suplementos dietéticos más consumidos, especialmente los que contienen varias vitaminas (multivitamínicos), que habitualmente también contienen varios minerales. La mayor parte de las personas que consumen suplementos vitamínicos lo hacen con el fin de asegurar aportes suficientes de vitaminas y también para prevenir o aliviar algunas enfermedades.

El consumo de tabaco, aspectos no saludables de la dieta, un estilo de vida sedentario o la obesidad son factores de riesgo comunes para muchas enfermedades crónicas que pueden modificarse por efecto de los nutrientes. Por ejemplo, reducción del daño oxidativo por los antioxidantes, metilación del ADN regulada por los folatos y vitaminas del grupo B, el metabolismo óseo regulado por la vitamina D y el calcio o la diferenciación celular, proliferación y crecimiento regulado por retinol, calcio y vitamina D.

Numerosos estudios *in vitro* y en animales de experimentación sugieren que varias vitaminas y minerales pueden tener efectos favorables sobre estos procesos y también sobre la angiogénesis, inmunidad, diferenciación celular, proliferación y apoptosis. En estudios epidemiológicos, el aporte de suplementos se ha asociado con una disminución del riesgo de tener descendientes con malformaciones congénitas, de padecer enfermedades neoplásicas, cardiovasculares, cataratas y otros procesos degenerativos oculares.

Muchos de los suplementos vitamínicos y minerales que se consumen contienen cantidades de nutrientes cercanas a las Ingestas Dietéticas Recomendadas (IDR) o a las Ingestas Adecuadas (IA), pero también son muchos los que contienen mayores cantidades o incluso contienen elementos para los que no existen ingestas recomendadas. Además, aunque en la etiqueta y en la información sobre el producto suelen indicar que son suplementos para consumir una dosis diaria, muchos consumidores puede que los consuman más de una vez al día.

Dentro de los valores dietéticos de referencia se incluye el Nivel más Alto Tolerable (NA-UL), que es la ingesta media más alta de un nutriente que probablemente no suponga riesgo para la salud o cause efectos adversos en la mayor parte de los individuos de la población general. Cuanto más se supere este nivel de ingesta de un nutriente, más podría aumentar el riesgo potencial de efectos adversos (1).

Los déficits de micronutrientes son frecuentes en poblaciones con dietas monótonas e insuficientes, situación usual en zonas socioeconómicamente deprimidas. En las sociedades desarrolladas, aunque la prevalencia de déficits vitamínicos no es tan elevada, existen colectivos que presentan mayor riesgo, como los ancianos, sobre todo si viven solos, personas con patologías digestivas, alergias a distintos alimentos, enfermos oncológicos, dietas de adelgazamiento y otras circunstancias. Además, en determinadas situaciones fisiológicas, como el embarazo, lactancia o la práctica de ejercicio físico intenso, las necesidades están aumentadas.

En el estudio eVe (estado vitamínico de la población española) (2), a partir de datos de estimación individual de la ingesta alimentaria, se estimó que el 54,4% de la población adulta española con edades entre 25 y 60 años realizaba una dieta adecuada, en el 40,9% era mejorable y un 4,6% expresaba una dieta de mala calidad, con riesgo de ingesta inadecuada para tres o más nutrientes. Factores socioeconómicos, grupos de edad más avanzada, mujeres de nivel de instrucción y entorno socioeconómico bajo y hombres o mujeres viudos o que viven solos son los grupos que presentaron un mayor riesgo de realizar dietas más desequilibradas. Esta circunstancia se observó asimismo en el análisis de la ingesta nutricional de mayores de 65 años, "Libro Blanco de la alimentación de los mayores" (3).

En el estudio enKid (4), realizado en una muestra representativa de la población española entre 2 y 24 años, se estimó que sobre todo la población adolescente realizaba dietas con mayor riesgo de ingesta inadecuada de vitaminas.

Mitos en relación a la ingesta de vitaminas

Desde hace tiempo se han atribuido propiedades beneficiosas al consumo de suplementos vitamínicos y minerales para mejorar el estado de salud y bienestar, el rendimiento físico y mental, potenciar la respuesta inmune o prevenir enfermedades crónicas, sin tener en cuenta el estado nutricional u otros condicionantes.

El Dr. Linus Pauling, Premio Nobel de Química y de la Paz, en los años sesenta, mantenía que "es necesario para la mayoría de la población, complementar la dieta diaria con dosis altas de vitamina C

y de otras vitaminas". Favoreció una tendencia al consumo de dosis masivas y megadosis de vitaminas que poco a poco fue desapareciendo.

En los años noventa, diferentes estudios evidenciaron posibles efectos antienviejimiento de las vitaminas antioxidantes (A, C y E), e incluso efectos protectores respecto a algunas enfermedades crónicas. En esta época aparecieron en el mercado gran número de preparados de megadosis de vitaminas y alimentos enriquecidos.

Sin embargo, la ingesta de dosis altas o incluso medias de estas vitaminas puede tener efectos negativos debido a mecanismos como la toxicidad directa de estas vitaminas o de sus metabolitos, por unión a otras drogas o nutrientes, por enmascarar los síntomas y signos de otras carencias o enfermedades, o porque pueden inducir a un fenómeno de dependencia y de rebote posterior con acciones pro-oxidativas.

La hipótesis postulada por Pauling en relación con la vitamina C y la recomendación de tomar altas dosis de vitamina C para la prevención de resfriados, sin embargo, no ha podido ser constatada por la evidencia epidemiológica. Un metaanálisis que incluía 30 estudios epidemiológicos para investigar la efectividad de la vitamina C en la prevención y tratamiento del resfriado no pudo constatar este efecto (5). Dosis de al menos 200 mg diarios apenas tienen efecto para reducir la duración o gravedad de los resfriados; puede reducir la duración de una gripe en un 8% en adultos y 13,6% en niños. Podría tener interés en personas sometidas a situaciones de gran estrés, como corredores de maratones, en los que se observó un 50% menos de riesgo.

Mantener buenas condiciones higiénico-dietéticas, evitar la exposición a bajas temperaturas y evitar aglomeraciones en lugares cerrados en época invernal siguen siendo las mejores medidas para prevenir el resfriado. Actualmente, la recomendación general es tomar una dosis diaria de 60 mg de vitamina C; algunos expertos afirman que la cantidad óptima es de 200 mg cada día, cantidad que se puede satisfacer consumiendo cinco raciones de frutas y verduras cada día (6).

Otras vitaminas que han sido objeto de discusión son la vitamina B₁₃, el ácido orótico, sustancia importante en la ruta de distintas pirimidinas y que en el organismo se forma a partir del ácido aspártico, un aminoácido no esencial. Se trata de un metabolito y no de una vitamina. En algunos microorganismos, como las bacterias, no existe esta vía y el ácido orótico es esencial (7).

La vitamina B₁₄ se encontró en la orina humana y se creyó que era un factor de crecimiento, pero en realidad carece de importancia. La vitamina B₁₅ (ácido pangámico), se encuentra en la mayoría de los alimentos.

La vitamina B₁₇ o letrilo es una mezcla de diferentes glucósidos cianogénicos extraídos de los huesos de diferentes frutos: albaricoque, melocotón, ciruela, cereza y almendra amarga, el más sobresaliente, la amigdalina. No se conoce ninguna función positiva sobre el organismo. Se prohibió su venta en 1984.

La vitamina H₃ es una solución de procaína, que se ha introducido en el mercado de la gerontología con el nombre de Gerovital. Es un anestésico local, pero carece de las supuestas acciones revitalizadoras que se le atribuyen y especialmente las relacionadas con la senescencia.

La vitamina F son en realidad los ácidos grasos esenciales ácido linoléico y linolenico. La vitamina P son flavonoides, de los que existen varios miles en los vegetales, y especialmente la rutina.

El consumo de suplementos vitamínicos y minerales puede estar indicado en situaciones en las que los aportes dietéticos no sean suficientes o las necesidades estén aumentadas: estados de estrés, rendimiento deportivo exigente, dietas de adelgazamiento, embarazo, edad avanzada, etc. Sin embargo, la evidencia disponible sobre su eficacia con fines preventivos e incluso sobre sus potenciales efectos nocivos no es concluyente (8).

Con frecuencia la información difundida en los medios de comunicación sobre nuevos hallazgos en proyectos de investigación genera falsas expectativas que pueden inducir al consumo de suplementos vitamínicos, tendencia que se ve reforzada por los mensajes y campañas publicitarias de la industria que los produce y comercializa, un mercado que mueve un importe de miles de millones de dólares y en el que el consumidor encuentra a su alcance una amplia diversidad de productos, desde suplementos dietéticos con un alto contenido en vitaminas y minerales, alimentos y bebidas enriquecidos, hasta suplementos farmacológicos con altas dosis de vitaminas y minerales. En la mayor parte de los casos los consumidores los eligen de manera autónoma como automedicación y sin el asesoramiento de un profesional sanitario.

Consumo de suplementos vitamínicos

Estudios poblacionales en EE.UU. y Canadá estiman que cerca del 40% de la población consume habitualmente suplementos dietéticos, entre los cuales, los suplementos multivitamínicos son los más utilizados. Su uso habitual se ha estimado en un 26%, pero hasta un 40% consume cualquier tipo de suplemento vitamínico o mineral, solo o combinado. Además, el 14% consume infusiones y otros suplementos de hierbas aromáticas y medicinales (9). En NHANES III, entre el 35-55% de los hombres y mujeres mayores de 30 años participantes referían haber consumido suplementos el mes precedente a la entrevista (10-12); en NHANES 1999-2000, el 52% había consumido algún tipo de suplemento el mes precedente y el 35% referían un uso habitual, confirmando una tendencia hacia un consumo más frecuente (13).

En el estudio longitudinal multiétnico de Hawaii y Los Ángeles –datos recogidos a mediados de los noventa; adultos entre 45 y 75 años– se estimó que el 48% de los hombres (56% en las mujeres) consumía al menos una vez por semana suplementos multivitamínicos; el 37% de los hombres (43% de las mujeres), suplementos de vitamina C, y el 26% de los hombres (32% de las mujeres), de vitamina E (14). En este estudio el consumo de suplementos en cada grupo específico de etnia y sexo aumentaba con la edad, nivel de educación, actividad física, consumo de fruta e

ingesta de fibra, y decrecía con la obesidad, fumar e ingesta de grasa. La influencia de estos factores también se ha observado en otros estudios (15).

En la cohorte de mujeres postmenopáusicas de Iowa, al inicio, en 1984, el 31,7% consumía suplementos multivitamínicos (edad media 60,6 años) y en 2004 el 62,4%, y los suplementos contribuían de manera importante a la ingesta de nutrientes (16).

También se ha observado un uso frecuente de suplementos en población infantil y adolescente americana. En el periodo 1999-2002 se estimó que el 31,8% de los niños americanos consumían suplementos vitamínicos y minerales, con menor frecuencia entre los lactantes (11,9%) y adolescentes entre 14 y 18 años (25,7%) y máxima observada en el colectivo entre 4 y 8 años de edad, en el que alcanza hasta el 48,5%. El suplemento multivitamínico y multimineral era el de consumo más habitual (18,5%) (17).

A partir del análisis de los datos de NHANES 1999-2004 se ha estimado que hasta un 34% de este colectivo consume suplementos, reflejo de una tendencia hacia un aumento. Un mayor consumo se asoció con ingesta de leche más elevada, menor ingesta de grasa y colesterol, altos aportes de fibra, mayor nivel de renta familiar, menor tiempo dedicado a actividades de pantalla (televisión, videoconsola, ordenador), mayor práctica de actividad física o menor índice de masa corporal (18).

La venta de suplementos multivitamínicos en EE.UU. se estimó en 2002 en 839 millones de dólares y algunos estudios sugieren que su consumo aumentó un 10% entre 1992 y 2000 (19).

Los datos estimados en España también sitúan entre el 16 y el 35% la proporción de consumidores habituales de suplementos de vitaminas, según el colectivo estudiado. En el estudio eVe se observó que el 16% de la población española adulta consumía habitualmente suplementos vitamínicos, sobre todo población joven y de nivel socioeconómico más alto (2). Este consumo es similar al registrado en Italia, pero inferior al de países como Francia (18%), países anglosajones (31%), países nórdicos (33%) o centroeuropeos (21%) (20).

Un estudio realizado en Las Palmas de Gran Canaria ponía en evidencia que los suplementos vitamínicos representaban el 41% de las especialidades farmacéuticas y el 36,4% de los productos de parafarmacia expedidos en oficina de farmacia (21).

Entre los usuarios de gimnasios sevillanos se estimó que el 56% consumía algún tipo de suplemento nutricional con el fin de mejorar su rendimiento y su estado nutricional. El 17% incluía vitaminas, en mayor medida entre las mujeres (22).

En el año 2008 se consumieron en España más de cuatro millones de envases de estos productos por un valor de más de 27 millones de euros, aunque no en todos los casos se compraron como medicamentos, sino también a partir de alimentos enriquecidos (23).

Aunque en general el consumo de suplementos vitamínicos se asocia a conductas y estilos de vida más saludables, en algunos estudios también se han identificado modelos más complejos en los que se combinan hábitos saludables y no saludables. En estos casos el consumo de suple-

mentos vitamínicos tal vez sea un medio de compensar conductas no saludables, como fumar, un bajo consumo de frutas y verduras o un estilo de vida sedentario (24).

Consumo de suplementos: motivaciones y creencias

Los resultados de un estudio llevado a cabo en EE.UU. en 2001 reflejaban que el 36% de los adultos creían que el uso de un suplemento les podría ayudar a vivir más; hasta el 85% de los consumidores habituales de suplementos creían que eran buenos para la salud y el bienestar y útiles para el tratamiento de distintos problemas de salud. En torno al 50% de los consumidores habituales creía que eran útiles para el tratamiento del resfriado (61%), artritis (53%), depresión (52%), o gripe (49%). Algunos creían que podían servir en el tratamiento del cáncer (35%) y el síndrome de inmunodeficiencia adquirida por VIH (16%). Es más, los consumidores habituales creían en su utilidad al margen de la evidencia científica. Aun si se considera que no son eficaces, el 71% refería que los seguiría utilizando (25).

Una investigación realizada entre médicos americanos en 2006 reflejaba una falta de información en este sentido y, específicamente, en torno a la regulación de este tipo de productos (26).

En España, según datos del estudio eVe, los motivos que incitan a la población a tomar vitaminas son básicamente “sentirse bien”, “mejorar la respuesta inmune” o “tener más energía”; sin embargo, el conocimiento sobre los efectos beneficiosos que las vitaminas pueden tener sobre la salud es limitado (27).

De acuerdo a un sondeo realizado por la consultora Nilsen en febrero de 2009 en países de todo el mundo, el 13% de los españoles consumía habitualmente suplementos y el motivo aducido con mayor frecuencia para justificar este consumo era ayudar al sistema inmunológico (40%), seguido por asegurarse de llevar una dieta equilibrada (27%), por prescripción o recomendación del médico o personal sanitario (24%), ayudar a prevenir enfermedades (23%) y subsanar deficiencias conocidas en su dieta (19%). Por el contrario, según este mismo informe, entre los motivos por los que declaran no consumir ningún tipo de vitaminas destaca el reconocimiento de que no son necesarios (57%) y un 21,2% afirmaba no consumirlos por considerar que son perjudiciales para la salud (28).

La difusión de información acerca de los hallazgos en distintos estudios de una asociación entre el consumo de suplementos de algunos nutrientes y un menor riesgo de enfermedad puede inducir a su consumo. Por otra parte, en los Valores Dietéticos de Referencia americanos se recomienda el consumo de suplementos o alimentos enriquecidos para satisfacer las ingestas de vitamina B₁₂ en ancianos, que pueden estar en riesgo por menor capacidad de absorción, y de folatos en las mujeres que puedan quedarse embarazadas (29). En algunas pirámides de alimentación saludable para ancianos se incorpora la recomendación de consumir suplementos o alimentos enriquecidos en vitamina B₁₂ y calcio (30).

El análisis del perfil de los consumidores de suplementos pone en evidencia que los adolescentes y adultos que realizan ingestas subóptimas de nutrientes a partir de la dieta habitual son también quienes con menos probabilidad consumen suplementos.

El uso de suplementos vitamínicos y minerales en EE.UU. contribuye significativamente a la ingesta de estos nutrientes e incluso puede contribuir al riesgo de ingestas excesivas. Este riesgo es mayor en las personas que consumen suplementos multivitamínicos y además suplementos específicos de algunas vitaminas, como vitamina E, betacarotenos o vitamina C (31).

Efectividad de los suplementos vitamínicos

La mayor parte de los consumidores de suplementos vitamínicos los utilizan para asegurar aportes nutricionales adecuados y para prevenir o aliviar enfermedades. Investigaciones que han analizado el consumo de suplementos vitamínicos y minerales a largo plazo en EE.UU. han observado que las personas consumidoras presentan indicadores bioquímicos relacionados con enfermedades crónicas más favorables y con menos frecuencia expresaban valores subóptimos de indicadores bioquímicos del estado nutricional (32).

Sin embargo, la evidencia sobre su efectividad hasta la fecha no es concluyente y, por otro lado, la ingesta excesiva de algunos nutrientes no está exenta de riesgos, de ahí que en los valores dietéticos de referencia se establezcan los niveles superiores tolerables.

En el estudio de cohorte multiétnica Hawaii-Los Ángeles la prevalencia de adecuación nutricional para 17 nutrientes considerando sólo fuentes alimentarias fue un 2% mayor para los consumidores de suplementos multivitamínicos que para los no consumidores, y aumentaba la diferencia hasta el 8% si se incluían los suplementos. En este colectivo de usuarios también era mayor el riesgo de ingesta excesiva para nutrientes como el hierro, zinc, vitamina A y niacina (33).

En 1996, el ensayo Nutritional Prevention of Cancer Trial refería una reducción del 65% en la incidencia de cáncer de próstata en los hombres que recibían suplementos de selenio. Dos años antes, los resultados del estudio ATBC mostraban una reducción del 35% en cáncer de próstata en hombres suplementados con vitamina E (34). Estudios posteriores, como SELECT (Selenio y vitamina E) (35) y el estudio de salud de los médicos, sin embargo, no han observado resultados concordantes (36).

Es más, en algunas intervenciones de suplementación, como el estudio CARET en EE.UU. y en ATBC en Finlandia, se observaron efectos perjudiciales de la suplementación en algunos subgrupos (34, 37).

Una revisión sistemática llevada a cabo en 2006 en EE.UU. por una comisión federal de expertos, en la que se identificaron 11.324 referencias posibles y finalmente se incluyeron 63 artículos, concluía que la evidencia es insuficiente para probar la presencia o ausencia de efectos beneficiosos del consumo de suplementos vitamínicos y minerales para prevenir el cáncer y otras enfermedades crónicas (8, 38) (tabla 1).

En población con estado nutricional precario en China, la suplementación con betacaroteno, alfa-tocoferol y selenio redujo la incidencia y mortalidad por cáncer gástrico en un 13% y la mortalidad

Tabla 1. Nivel de evidencia sobre la eficacia de los suplementos multivitamínicos y minerales en la prevención de enfermedades crónicas

ESTUDIO	N	TIPO DE ESTUDIOS	RR (IC95%)	NIVEL DE EVIDENCIA (1)
Cáncer	42.325			
Linxian-Incidencia cáncer gástrico	29.584	RCTs	0,84 (0,71-1,00)	1
Linxian-Incidencia cáncer esófago	29.584		1,02 (0,82-1,19)	
SU.VI.MAX-Incidencia cáncer próstata	5.028		0,88 (0,60-1,29)	
SU.VI.MAX-Cáncer, todos-Hombres	5.028		0,69 (0,53-0,91)	
SU.VI.MAX-Cáncer, todos-Mujeres	7.713		1,04 (0,85-1,29)	
Enf. Cardiovascular	42.325			
Linxian	29.584	RCTs	0,71 (0,50-1,00)	1
SU.VI.MAX	6.364		0,97 (0,77-1,20)	
Hipertensión	34.670			0
Linxian	29.584	RCTs	1,23 (1,06-1,43)	
SU.VI.MAX-Hombres	1.117		1,04 (0,87-1,23)	
SU.VI.MAX-Mujeres	1.502		1,10 (0,95-1,29)	
Cataratas	10.354			
Linxian-Catarata nuclear-prevalencia	3.249	RCTs	1,19 (0,90-1,59)	2
Linxian-Catarata cortical-prevalencia	3.249		0,96 (0,82-1,13)	
Linxian-Catarata posterior-prevalencia	3.249		1,56 (0,81-3,00)	
AREDS-Total eventos cristalino	4.596		0,97 (0,84-1,11)	
Degeneración macular asociada a la edad	3.580			
AREDS-Progresión DM avanzada riesgo*	3.609	RCTs	0,72 (0,52-0,98)	2
AREDS-Pérdida agudeza visual*	3.609		0,73 (0,54-0,99)	

(1) Nivel de evidencia: 1: muy baja; 0: muy baja; 2: baja

RCT: Randomized Controlled Trial.

Linxian: suplementación con Vitamina E + selenio + betacaroteno (39).

SU.VI.MAX: SUPPLEMENTATION EN VITAMINES ET MINÉRAUX ANTIOXYDANTS (suplementación con Vitamina E + selenio + betacaroteno + zinc + vitamina C) (40).

AREDS: Age-Related Eye Disease Study (41); * Suplementación con Vitamina C + vitamina E + betacaroteno + zinc vs. placebo.

Fuente: Huang HY, Caballero B, Chang S et al. *Ann Intern Med*, 2006; 145:372-85 (38).

general por cáncer en un 21% (39). En el estudio SU.VI.Max en Francia (40), la suplementación con vitamina C, vitamina E, betacaroteno, selenio y zinc redujo la tasa de cáncer en un 31% en hombres pero no en mujeres.

No se observaron efectos significativos en relación con la enfermedad cardiovascular o las cataratas, salvo la combinación betacaroteno, selenio, alfatocoferol, retinol y zinc, que reducía en un 29% el riesgo de accidente cardiovascular en el estudio de Linxian (39), y la combinación de siete vitaminas y minerales que estabilizaba la pérdida de agudeza visual en un pequeño ensayo. En el ensayo AREDS (41) la combinación de zinc y antioxidantes retrasaba la progresión de la degeneración macular asociada a la edad en personas de riesgo elevado. Tampoco fue consistente la evidencia sobre efectos adversos de los suplementos vitamínicos.

Revisiones sistemáticas precedentes no observaron evidencia consistente de la eficacia de los suplementos de folatos, vitamina B₁₂ y vitamina B₆ en relación con el deterioro cognitivo (42). Existe evidencia de que la suplementación con calcio y vitamina D₃ en personas con niveles bajos reduce el riesgo de fractura de cadera y fracturas vertebrales y mejora la densidad ósea (43).

Efectos adversos

En cuanto a los posibles efectos adversos de la suplementación, en el mencionado informe se referían cambios en la coloración de la piel en personas que consumían suplementos de betacarotenos. No se observaron diferencias significativas en la mortalidad total. La suplementación con betacarotenos, con o sin vitamina A, aumenta la mortalidad por cáncer de pulmón en personas expuestas al amianto o fumadoras y no deben emplearse a largo plazo con este fin (37, 44, 45).

También se ha referido mayor incidencia de litiasis renal en personas suplementadas con calcio, vitamina D y vitamina C (46).

La comisión federal de expertos estadounidenses concluía que no existen evidencias científicas suficientes para recomendar el consumo de suplementos, salvo en situaciones excepcionales y siempre por consejo médico.

En este mismo sentido se pronunciaban los autores de una revisión sistemática publicada en 2008, en la que se incluían 67 estudios sobre los efectos de la suplementación con antioxidantes (47). Los resultados evidenciaban que en los ensayos con bajo sesgo el consumo de suplementos antioxidantes aumentaba la mortalidad (RR 1,05; 95% CI 1,02-1,08). Analizando por separado los efectos de cada antioxidante, se observó que la vitamina A (RR 1,16; 95% CI 1,10-1,24), betacaroteno (RR 1,07; 95% CI 1,02-1,11) y vitamina E (RR 1,04; 95% CI 1,01-1,07) aumentaban el riesgo de mortalidad, pero no se observó este efecto negativo para la suplementación con vitamina C (RR 1,06; 95% CI 0,94-1,20). Los autores concluían que la evidencia disponible no permitía aconsejar el consumo de suplementos antioxidantes como estrategia de prevención primaria o secundaria. Sin embargo, insistían en la evidencia sólida y consistente de los efectos protectores del consumo en cantidades adecuadas –cinco raciones diarias– de frutas y verduras (47).

Los efectos perjudiciales observados en algunos casos en los ensayos de suplementación con antioxidantes a dosis altas no se observan en personas con consumos altos de frutas y verduras. Una dieta rica en elementos vegetales puede alargar la vida y reducir las posibilidades de enfermar (48). La Organización Mundial de la Salud y otros organismos e instituciones científicas y sanitarias aseguran que aumentar el consumo de frutas y verduras de 250 gramos (algo así como una pieza y media) a 500 gramos (tres piezas) disminuye la incidencia de cáncer, reduce el riesgo de padecer enfermedades crónicas y aumenta la esperanza de vida en dos o tres años (49).

Conclusiones

La evidencia disponible es insuficiente para justificar la presencia o ausencia de efectos beneficiosos del consumo rutinario de suplementos multivitamínicos y minerales en adultos en la prevención del cáncer, enfermedad cardiovascular, hipertensión, cataratas o degeneración macular asociada a la edad. No existen datos de ensayos controlados sobre la eficacia de los suplementos para la prevención de la diabetes tipo 2, enfermedad de Parkinson, demencia, pérdida auditiva, osteoporosis, artritis reumatoide, nefrolitiasis, infección VIH, hepatitis C, tuberculosis o enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

En la práctica clínica deben considerarse las circunstancias personales del paciente, el estado de salud y necesidades nutricionales específicas que hagan aconsejable el uso de suplementos vitamínicos y minerales.

Una dieta equilibrada, variada, que incluya al menos cinco raciones de frutas y verduras diarias permite satisfacer las necesidades nutricionales en la mayor parte de los casos y es una adecuada estrategia preventiva global.

La difusión en los medios de comunicación de los resultados de estudios epidemiológicos a veces con titulares sensacionalistas y simplistas pueden crear falsas expectativas e inducir al consumo indiscriminado de suplementos. A menudo las informaciones se elaboran en base a un solo estudio, sin realizar una lectura crítica de la información.

Los profesionales de la información deberían realizar un esfuerzo por contextualizar los hallazgos, teniendo en cuenta evidencias previas, posibles resultados contradictorios, número de sujetos participantes y sus características, duración de la intervención, dosis empleadas y parámetros considerados para medir los efectos.

Bibliografía

1. Otten JJ, Pitz Hellwig J, Meyers LD (eds.). *Dietary Reference Intakes: The Essential Guide to Nutrient Requirements*. Washington, DC: National Academy Press, 2006.
2. Aranceta Bartrina J, Serra Majem LL, Pérez Rodrigo C, Llopis González J, Mataix Verdú J, Ribas Barba L, y cols. *Las vitaminas en la alimentación de los españoles. Estudio eVe. Análisis en población general*. En: Aranceta Bartrina J, Serra Majem LL, Ortega Anta RM, Entrala Bueno A, Gil

- Hernández A (eds.). *Las vitaminas en la alimentación de los españoles*. Madrid: Editorial Médica Panamericana, 2000; 49-93.
3. Aranceta Bartrina J, Pérez Rodrigo C, Muñoz Hornillos M. Hábitos alimentarios de la población anciana institucionalizada en España. En: Muñoz Hornillos M, Aranceta Bartrina J, Guijarro García JL (eds.). *Libro blanco de la alimentación de los mayores* Madrid: Panamericana, 2005; 225-56.
 4. Serra Majem LL, Ribas Barba L, Raidó Quintana B, Pérez Rodrigo C, Aranceta Bartrina J. Variables asociadas a la adecuación nutricional en la población infantil y juvenil española. En: Serra Majem LL, Aranceta Bartrina J. *Nutrición infantil y juvenil: estudio enKid*. Barcelona. Masson. 2004; vol 5:61-72.
 5. Hemilä H, Chalker E, Douglas B. Vitamin C for preventing and treating the common cold. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2007, Issue 3. Art. n.º: CD000980. DOI: 10.1002/14651858. CD000980.pub3.
 6. Gann PH. Randomized Trials of Antioxidant Supplementation for Cancer Prevention First Bias, Now Chance-Next, Cause *JAMA*. 2009; 301(1):102-3 (doi:10.1001/jama.2008.863).
 7. Zamora Navarro S. Errores, mitos y realidades en la alimentación. En: Gil A (ed). *Tratado de nutrición* (2.ª edición), volumen 3. Madrid: Editorial Médica Panamericana, 2010.
 8. National Institutes of Health State-of-the-Science Conference Statement. Multivitamin/mineral supplements and chronic disease prevention. *Ann Intern Med*, 2006; 145:364-71.
 9. Kaufman DW, Kelly JP, Rosenberg L, Anderson TE, Mitchell A. Recent Patterns of Medication Use in the Ambulatory Adult Population of the United States The Slone Survey. *JAMA*, 2002; 287:337-44.
 10. Ervin RB, Wright JD, Kennedy-Stephenson JK. Use of dietary supplements in the United States, 1988-94. *Vital Health Stat* 11. 1999; Jun(244):i-iii, 1-14.
 11. Balluz LS, Okoro CA, Bowman BA, Serdula MK, Mokdad AH. Vitamin or supplement use among adults, Behavioral Risk Factor Surveillance System, 13 states, 2001. *Public Health Rep*, 2005; 120:117-23.
 12. Timbo BB, Ross MP, McCarthy PV, Lin CTJ. Dietary supplements in a national survey: Prevalence of use and reports of adverse events. *J Am Diet Assoc*, 2006; 106:1966-7.
 13. Radimer K, Bindewald B, Hughes J, Ervin B, Swanson C, Picciano MF. Dietary supplement use by US adults: data from the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2000. *Am J Epidemiol*, 2004; 160:339-49.
 14. Foote JA, Murphy SP, Wilkens LR, Hankin JH, Henderson BE, Kolonel LN. Factors Associated with Dietary Supplement Use among Healthy Adults of Five Ethnicities. The Multiethnic Cohort Study. *Am J Epidemiol*, 2003; 157:888-97.
 15. White E, Patterson RE, Kristal AR, Thornquist M, King J, Shattuck AL, et al. VITamins And Lifestyle Cohort Study: Study Design and Characteristics of Supplement Users. *Am J Epidemiol*, 2004; 159:83-93.
 16. Park K, Harnack L, Jacobs DR. Trends in Dietary Supplement Use in a Cohort of Postmenopausal Women From Iowa *Am J Epidemiol*, 2009; 169:887-92.
 17. Picciano MF, Dwyer JT, Radimer KL, Wilson DH, Fisher KD, Thomas PR, et al. Dietary Supplement Use Among Infants, Children and Adolescents in the United States, 1999-2002. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 2007; 161(10):978-85.

18. Shaikh U, Byrd RS, Auinger P. Vitamin and mineral supplement use by children and adolescents in the 1999-2004 National Health and Nutrition Examination Survey. Relationship with nutrition, food security, physical activity, and health care access. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 2009; 163(2):150-7.
19. Millen AE, Dodd KW, Subar AF. Use of vitamin, mineral, nonvitamin, and nonmineral supplements in the United States: The 1987, 1992, and 2000 National Health Interview Survey Results. *J Am Diet Assoc*, 2004; 104:942-50.
20. Gassin AL. Fortification and the European consumer: Consumer awareness and attitudes to food fortification. *Scand J Nutrition*, 1999; 43(suppl. 35):122S-4S.
21. Almazán La-Cave MD, Saavedra Santana P, Laínez Sevillano P, Navarro Rodríguez MC, Marrero Montelongo M, Torres García M, et al. Estimación del consumo de suplementos vitamínicos y minerales dispensados a través de las oficinas de farmacia de la provincia de Las Palmas. *An Med Interna (Madrid)*, 2005; 22:469-72.
22. Sánchez Oliver AJ, Miranda León MT, Guerra Hernández E. Estudio estadístico del consumo de suplementos nutricionales y dietéticos en gimnasios. *Arch Latinam Nutr*, 2008; 58:221-7.
23. Rodríguez Sánchez M. ¿Sirven para algo los complementos vitamínicos? *El mundo salud*, 12 enero 2009.
24. Davis RE, Resnicow K, Atienza AA, Peterson KE, Domas A, Hunt A, et al. Use of signal detection methodology to identify subgroups of dietary supplement use in diverse populations. *J Nutr*, 2008; 138:205S-11S.
25. Blendon RJ, DesRoches CM, Benson JM, Brodie M, Altman DE. Americans Views on the Use and Regulation of Dietary Supplements. *Arch Intern Med*, 2001; 161:805-10.
26. Ashar BH, Rice TN, Sisson SD. Physicians Understanding of the Regulation of Dietary Supplements. *Arch Intern Med* 2007; 167:966-9.
27. Serra Majem L, Román B, Aranceta Bartrina J. Alimentación y nutrición. En: Cabasés Hita JM, Aibar Remón C, Villalbí JR (coords.). *Invertir para la salud: prioridades en salud pública: informe SES-PAS 2002*. Valencia: Escuela Valenciana de Estudios para la Salud, 2002; 131-54.
28. Sólo un 13% de españoles toma suplementos dietéticos y vitaminas. *Company*. *Ecodiario*, 23 febrero 2009.
29. The Food and Nutrition Board. *Dietary reference intakes for thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B₆, folate, vitamin B₁₂, pantothenic acid, biotin, and choline*. Washington, DC: National Academy Press, 1998.
30. Russell RM, Rasmussen H, Lichtenstein AH. Modified food guide pyramid for people over seventy years of age. *J Nutr*, 1999; 129:751-3.
31. Rock CL. Multivitamin-multimineral supplements: who uses them?, *Am J Clin Nutr*, 2007; 85(suppl.):277S-9S.
32. Block G, Jensen CD, Norkus EP, Dalvi TB, Wong LG, McManus JF, Hudes ML. Usage patterns, health, and nutritional status of long-term multiple dietary supplement users: a cross-sectional study. *Nutrition Journal*, 2007; 6:30.
33. Murphy SP, White KK, Park SY, Sharma S. Multivitamin-multimineral supplements' effect on total nutrient intake. *Am J Clin Nutr*, 2007; 85(suppl.): 280S-4S.

34. The Alpha-Tocopherol, Beta Carotene Cancer Prevention Study Group. The effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. *N Engl J Med*, 1994; 330(15):1.029-35.
35. Lippman SM, Klein EA, Goodman PJ, Lucia MS, Thompson IM, Ford LG, et al. Effect of selenium and vitamin E on risk of prostate cancer and other cancers: the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). *JAMA*, 2009; 301(1):39-51. doi:10.1001/jama.2008.864.
36. Gaziano JM, Glynn RJ, Christen WG, Kurth T, Belanger C, MacFadyen J, et al. Vitamins E and C in the prevention of prostate and total cancer in men: the Physicians' Health Study II randomized controlled trial. *JAMA*, 2009; 301(1):52-62. doi:10.1001/jama.2008.862.
37. Omenn GS, Goodman GE, Thornquist MD, Balmes J, Cullen MR, Glass A, et al. Risk factors for lung cancer and for intervention effects in CARET, the Beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial. *J Natl Cancer Inst*, 1996; 88(21):1.550-9.
38. Huang HY, Caballero B, Chang S, Alberg AJ, Semba RD, Schneyer CR, et al. The Efficacy and Safety of Multivitamin and Mineral Supplement Use To Prevent Cancer and Chronic Disease in Adults: A Systematic Review for a National Institutes of Health State-of-the-Science Conference. *Ann Intern Med*, 2006; 145:372-85.
39. Blot WJ, Li JY, Taylor PR, Guo W, Dawsey S, Wang GQ, et al. Nutrition intervention trials in Linxian, China: supplementation with specific vitamin/mineral combinations, cancer incidence, and disease-specific mortality in the general population. *J Natl Cancer Inst*, 1993; 85:1.483-92.
40. Herberg S, Galan P, Preziosi P, Bertrais S, Mennen L, Malvy D, et al. The SU.VI.MAX Study: a randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals. *Arch Intern Med*, 2004; 164:2.335-42.
41. A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E and beta carotene for age-related cataract and vision loss: AREDS report n.º 9. *Arch Ophthalmol*, 2001; 119:1.439-52.
42. Lewerin C, Matousek M, Steen G, Johansson B, Steen B, Nilsson-Ehle H. Significant correlations of plasma homocysteine and serum methylmalonic acid with movement and cognitive performance in elderly subjects but no improvement from short-term vitamin therapy: a placebo-controlled randomized study. *Am J Clin Nutr*, 2005; 81:1.155-62.
43. Cranney A, Weiler HA, O'Donnell S, Puil L. Summary of evidence-based review on vitamin D efficacy and safety in relation to bone health. *Am J Clin Nutr*, 2008; 88(suppl.):513S-9S.
44. Albanes D, Heinonen OP, Huttunen JK, Taylor PR, Virtamo J, Edwards BK, et al. Effects of alphas-tocopherol and beta-carotene supplements on cancer incidence in the Alpha-Tocopherol Beta-Carotene Cancer Prevention Study. *Am J Clin Nutr*, 1995; 62(6 suppl.): 1.427S-30S.
45. Satia JA, Littman A, Slatore CG, Galanko JA, White E. Long-term Use of b-Carotene, Retinol, Lycopene, and Lutein Supplements and Lung Cancer Risk: Results From the Vitamins and Lifestyle (VITAL) Study. *Am J Epidemiol*, 2009; 169:815-28.
46. Ohtake T, Kobayashi S, Negishi K, Moriya H. Supplement nephropathy due to long-term, high-dose ingestion of ascorbic acid, calcium lactate, vitamin D and laxatives. *Clin Nephrol*, 2005; 64:236-40.

47. Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, Simonetti RG, Gluud C. *Cochrane Database of Systematic Reviews 2008, Issue 2. Art. n.º.: CD007176. DOI: 10.1002/14651858.CD007176*
48. Lock K, Pomerleau J, Causer L, Altman DR, McKee M. *The global burden of disease attributable to low consumption of fruit and vegetables: implications for the global strategy on diet. Bulletin of the World Health Organization, 2005; 83:100-8.*
49. Gundgaard J, Nørskov Nielsen J, Olsen J, Sørensen J. *Increased intake of fruit and vegetables: estimation of impact in terms of life expectancy and healthcare costs. Pub Health Nutr, 2003; 6:25-30.*

Conclusiones de las jornadas celebradas en Madrid los días 13 y 14 de abril de 2010 consensuadas por los participantes

Las vitaminas, la familia de nutrientes más joven en el conocimiento científico de la nutrición, constituyen un magnífico ejemplo para estudiar el cambio en la forma de pensar de acuerdo a la evolución de la evidencia científica en el campo de la nutrición.

Se está viviendo en el ámbito de la investigación sobre vitaminas una auténtica revolución, toda vez que no hay otro grupo de nutrientes para el que haya surgido más información científica sobre los posibles efectos, adicionados a los ya conocidos clásicamente, en relación a las denominadas enfermedades crónicas degenerativas.

Las vitaminas constituyen, potencialmente, el grupo de nutrientes más susceptible de sufrir cambios y transformaciones por procesos culinarios tanto a nivel doméstico como industrial.

Es importante recordar que es todavía escaso el conocimiento sobre el contenido de las vitaminas en alimentos y en combinaciones de los mismos, así como su sinergia y antagonismo con otros componentes de la dieta.

La biotecnología es una herramienta muy importante en la actualidad para la mejora de los contenidos y biodisponibilidad de las vitaminas en los alimentos. Las nuevas tecnologías de producción, a su vez, deben perseguir una mejor retención vitamínica en los alimentos en general y, fundamentalmente, en los llamados de última generación.

Es necesario un mucho más amplio conocimiento de la biodisponibilidad de las vitaminas, así como la protocolarización de los ensayos de bioaccesibilidad/bioeficacia y la propia biodisponibilidad.

Las ingestas de referencia para las diferentes vitaminas se encuentran en proceso de revisión y parece necesario contar, no solamente con nuevas ingestas recomendadas, sino también establecer ingestas máximas tolerables a nivel europeo. Parece necesario, además, considerar factores potenciales de gran influencia en el establecimiento de los requerimientos y, por tanto, de las recomendaciones, como sería el caso del tabaquismo, el consumo de fármacos, el alcohol, la actividad física/sedentarismo, así como sinergias y antagonismos entre los diferentes componentes de la dieta.

Conocidas las diferentes actividades biológicas y funciones, resulta imprescindible conocer la prioridad de destino del nutriente, vitaminas en este caso, en situación de insuficiencia, pero también de excesos, y en las diferentes etapas de la vida y situaciones fisiológicas.

Es escasa todavía la información sobre los biomarcadores intermedios y finales, que deberían emplearse a nivel de laboratorio y clínico, fundamentalmente en su nueva función en las enfermedades no transmisibles.

De acuerdo a la información más actual a nivel europeo, coincidente en gran medida con la disponible en España, hay dos vitaminas que de manera especial deben constituir una auténtica prio-

ridad en salud pública: ácido fólico y vitamina D. En primer lugar, para ambas, se observan ingestas insuficientes en un porcentaje elevado de población, así como un estado subóptimo generalizado. En segundo lugar, las nuevas funciones atribuibles a estas dos vitaminas han originado un amplio consenso sobre la necesidad de un aumento en las ingestas de referencia, lo que origina sin duda una mayor dificultad para que las poblaciones puedan cubrir las mismas.

De acuerdo al concepto de individualizar la ingesta de vitaminas a las necesidades, las nuevas herramientas “ómicas” constituyen una herramienta y reto, no sólo en investigación, sino en la aplicación práctica a nivel de la persona.

No se puede descartar que la suplementación vitamínica o la fortificación de los alimentos puedan tener efectos inesperados y adversos en la salud de las personas, por lo que se deben desarrollar estrategias que permitan monitorizar los efectos derivados de las políticas de fortificación y las recomendaciones para la suplementación.

Se debe informar de forma clara, veraz y sencilla a la población, sobre la base de evidencia científica, y recomendar el uso racional y correcto de suplementos vitamínicos y alimentos fortificados.

Se debe actuar de manera urgente y multidisciplinar en la erradicación de los mitos y creencias en el ámbito de las vitaminas, mucho más extendidos de lo que parecería lógico y razonable en una sociedad educada e informada.

D.^a Elena Alonso Aperte

Departamento de Ciencias Farmacéuticas
y de la Alimentación. Facultad de Farmacia.
Universidad CEU-San Pablo. Madrid, España.

D. Gregorio Varela Moreiras

Departamento de Ciencias Farmacéuticas
y de la Alimentación. Facultad de Farmacia.
Universidad CEU-San Pablo. Madrid, España.



CÁTEDRA TOMÁS PASCUAL SANZ



CEU
*Universidad
San Pablo*

ISBN 978-847867062-8



9 788478 167062