THESE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITE BOURGOGNE FRANCHE-COMTE

Ecole doctorale Environnement - Santé

Médecine, Santé Publique, Environnement et Société

Spécialité : Santé publique - Épidémiologie

Modification du pigment maculaire lors du vieillissement oculaire : analyse à partir de l'étude de population Montrachet

---

Présentée et soutenue par

Alassane SEYDOU

Pour obtenir le grade de **DOCTEUR**

De L'UNIVERSITE BOURGOGNE FRANCHE-COMTE

Thèse présentée et soutenue à Dijon, le 10 Octobre 2018

Membres du jury :

Mr. BRETILLON Lionel. DR, Université de Bourgogne	Président
Mme. DELYFER Marie-Noëlle. PU-PH, CHU de Bordeaux	Examinateur
Mr. THURET Gilles. PU-PH, CHU de Saint-Etienne	Rapporteur
Mme. HELMER Catherine. CR1, INSERM U 1219, Bordeaux	Rapporteur
Mme. CREUZOT-GARCHER Catherine. PU-PH, CHU Dijon	Directrice
Mme. BINQUET Christine. PU-PH, CHU Dijon	Codirectrice

Titre : Modification du pigment maculaire lors du vieillissement oculaire : analyse à partir de l'étude de population Montrachet

---

RESUME

Face à la limite de la littérature sur l'impact de l'environnement notamment alimentaire dans le vieillissement oculaire liée en partie aux manques de données en population générale particulièrement la plus âgée en France, nous nous sommes intéressés dans un premier temps, aux relations entre l'alimentation, les xanthophylles plasmatiques et le pigment maculaire puis sa distribution spatiale et dans un second temps, au profil des acides gras et les signes de la sécheresse oculaire chez les 1153 participants de l'étude Montrachet.

Dans un premier temps, nous avons mis en évidence une augmentation de la concentration plasmatique de lutéine et zéaxanthine chez les personnes consommant fréquemment des courges et courgettes et ainsi, une augmentation de la densité optique du pigment maculaire chez les personnes âgées non-fumeurs ayant une concentration plasmatique élevée en lutéine. De plus, nous avons fourni des valeurs du pigment maculaire qui pourraient servir de référence en population générale pour des études épidémiologiques. Nos résultats sont très cohérents avec ceux des autres études épidémiologiques même si notre population est en moyenne plus âgée. Par ailleurs, nous avons montré que les signes de la sécheresse oculaire sont plus fréquents chez les personnes âgées ayant des concentrations plasmatiques faibles en acides gras polyinsaturés et saturés. Ainsi, nos résultats apportent des éléments nouveaux dans l'implication des acides gras dans le processus de la sécheresse oculaire.

Enfin, ces travaux de thèse, viennent enrichir la littérature relative au pigment maculaire, sa densité, sa répartition spatiale et ses déterminants ainsi que les déterminants de la sécheresse oculaire. Cependant, compte tenu de caractère transversal de nos études, ces résultats permettent seulement d'émettre des hypothèses qui seront confirmées à l'aide d'études longitudinales et pourraient contribuer à conforter l'intérêt des interventions reposant sur de la supplémentation en caroténoïdes xanthophylles.

Mots clés : Vieillissement oculaire, pigment maculaire, distribution spatiale, xanthophylles, acides gras, population âgée, épidémiologie.

ABSTRACT

Given the limits of the literature on the environmental nutritional impact in ocular aging witch is partially related to the lack of data in general population notably in French elderly, first, we were interested in the relationships of diet, plasma xanthophylls and macular pigment optical density as well as its spatial distribution and second of plasma fatty acids and dry eye disease signs in the 1153 Montrachet study participants.

Firstly, we reported the high consumption of squash, the high plasma lutein and zeaxanthin levels and also the high plasma lutein level, the high macular pigment optical density level in nonsmokers subjects. In addition, the macular pigment values we provided in the study could be used as reference in population based study. Our results are very consistent with those found in other epidemiological studies even though our population is on average older. Secondly, we have shown that dry eye disease signs are more frequent in elderly subjects with low plasma polyunsaturated and saturated fatty acids level. Thus, our results provide new elements in the involvement of fatty acids in the process of dry eye disease.

Finally, this work enriches the literature on macular pigment, its density, as well as its spatial distribution and its determinants as well as the determinants of dry eye disease. However, given the transversal nature of our studies, these results make only possible to formulate hypotheses that will be confirmed with longitudinal studies and could reinforce the interest of interventions based xanthophylls carotenoids supplementation in elderly.

Key words: Ocular aging, macular pigment, spatial distribution, xanthophylls, fatty acids, elderly population, epidemiology.

REMERCIEMENTS

À ma directrice de thèse

Madame le Professeur Catherine CREUZOT-GARCHER

Professeur des universités-Praticien hospitalier, Ophtalmologiste, CHU de Dijon

Je vous remercie infiniment pour la confiance que vous m'aviez accordé et d'avoir accepté de diriger cette thèse. Ce travail est le fruit de votre volonté de parfaire et de votre savoir-faire. Votre rigueur dans le travail et votre sens de responsabilité ont forcé mon admiration.

Recevez ici cher Professeur et maître ma profonde reconnaissance.

À ma codirectrice de thèse

Madame le Professeur Christine BINQUET

Professeur des universités-Praticien hospitalier, Santé Publique, Université de Bourgogne.

Je vous remercie de m'avoir accueillie au sein de votre équipe et de m'avoir initié à la recherche. Merci d'avoir acceptée de codiriger cette thèse. Ce travail est le fruit de votre savoir-faire et de votre savoir être en santé publique. Votre rigueur, votre sens de savoir et votre amour du travail bien fait font de vous une chercheuse admirée de tous.

Recevez ici cher Professeur et maître ma profonde reconnaissance.

Aux membres du jury

À Madame le Professeur Marie-Noëlle DELYFER

Professeur des universités-Praticien hospitalier, Ophtalmologiste, CHU de Bordeaux

Vous me faites l'honneur d'avoir accepté le rôle de juge dans cette thèse et je vous en remercie.

Recevez ici, l'expression de ma gratitude et de ma profonde reconnaissance.

À Madame le Docteur Catherine HELMER

Docteur en Santé Publique et Épidémiologie, Université de Bordeaux

Je vous remercie de m'avoir fait l'honneur d'accepter le rôle de rapporteur de cette thèse. Recevez ici, l'expression de ma gratitude et de ma profonde reconnaissance.

À Monsieur le Professeur Gilles THURET

Professeur des universités-Praticien hospitalier, Ophtalmologiste, CHU Saint-Etienne

Je vous remercie de m'avoir fait l'honneur d'accepter le rôle de rapporteur de cette thèse.

Recevez ici l'expression de ma gratitude et de ma profonde reconnaissance.

À Monsieur le Docteur Lionel BRETILLON

Directeur de recherche, CSGA, INRA Dijon

Je vous remercie pour votre accueil au sein du CSGA et d'avoir accepté de juger ce travail. Merci encore pour vos précieux conseils.

Veuillez accepter l'expression de mon profond respect et ma sincère reconnaissance.

À Monsieur le Pr Alain BRON pour son soutien inestimable dans l'écriture des articles de cette thèse. Merci encore pour votre soutien scientifique.

À Madame le Dr Vanessa COTTET pour son soutien méthodologique dans l'écriture des articles de cette thèse.

À toutes les équipes : CSGA et CIC-EC et les internes et ARC du service d'Ophtalmologie.

À tous les participants de l'étude Montrachet et ceux qui ont participé à sa réalisation.

À tous les personnels du CIC-EC et du registre Bourguignon des cancers digestifs.

Aux laboratoires Théa pour leur soutien financier, sans lequel, ce travail de thèse n'aura pas eu lieu.

Au conseil régional de bourgogne pour son soutien financier dans la réalisation de l'étude Montrachet.

À ma femme (Samira) et à mes deux petits garçons que je surnomme Montrachet 1 et Montrachet 2.

A mon grand frère Ibrahim Seydou pour son soutien inestimable pendant toute ma formation. Merci encore pour tout. Et à mon cousin Djibrilla Maiga.

À mes parents, frères, sœurs et cousins du Mali, mes beaux-parents, Mme et Mr Abba (Valencienne), Mme et Mr Mathevet (Saulieu), Mme et Mr Dagnoko (Dijon), à l'Association Malienne de Dijon.

À mes amis Idrissa Daddo, Olayidé, Abderrahmane, Kébé, Arby, Tessier, Bamba, Zack, Diabaté, Ibrahim Malan Sani, Hamidou, Rachid.

À toute l'équipe du CIC-EC : Sandrine, Emilie, Alex, Marie laure, Lydie, Gregory, Isabelle, Vanessa, Catherine, Mathilde, Alexandra, Stéphanie, Gaëlle, Adrien, Igor.

A tous ceux qui ont de près ou de loin participé à la réalisation de cette thèse.

Valorisation des travaux scientifiques

Manuscrits associés aux travaux de thèse

Seydou A, Binquet C, Cottet V, Fleck O, Acar N, Daniel S, et al. Relationships of Macular Pigment Optical Density With Plasma Lutein, Zeaxanthin, and Diet in an Elderly Population: The Montrachet Study. Invest Ophthalmol Vis Sci.; 2016; 57:1160-7.

Seydou A, Binquet C, Arnould L, Fleck O, Acar N, Delcourt C, et al. Spatial Distribution of Macular Pigment in an Elderly French Population: The Montrachet Study. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2016; 57:4469-75.

Seydou A, Binquet C, Fleck O, Arnould L, Acar N et al. Macular Pigment Optical Density, its Spatial Distribution and factors associated in French Elderly Healthy Subjects, the Montrachet Study (manuscrit en cours de soumission)

Seydou A, Binquet C, Ferrero A, Cottet V, et al. Relationship of Plasma Fatty Acids and Dry Eye Disease in French Elderly Population, The Montrachet study (manuscrit en cours de soumission).

Manuscrits en lien avec l'étude Montrachet

Arnould L, Binquet C, Guenancia C, **Seydou A,** et al. Association between the retinal vascular network with Singapore "I" Vessel Assessment (SIVA) software, cardiovascular history and risk factors in the elderly: The Montrachet study, population-based study. *PloS One*. 2018; 13:e0194694.

Ben Ghezala I, **Seydou A**, Gabriel PH et al. Epidemiology of vitreomacular interface abnormalities using macular SD-OCT in a French elderly population, The MONTRACHET study. 2018 (manuscrit en cours de soumission)

Arnould L, **Seydou A**, Binquet C et al. Subfoveal choroidal thickness, cardiovascular history and risk factors in the elderly: The Montrachet study, 2018 (manuscrit en cours de soumission).

Gabriel PH, **Seydou A,** Arnould L et al. Subretinal drusenoid deposits in the elderly in a French population-based study (the Montrachet study: Maculopathy, Optic Nerve, nuTRition, neurovAsCular and HEarT diseases): Frequency and associated factors. 2018 (manuscrit en cours de soumission)

Blanc J, **Seydou A** et al. Evaluation of vitreoretinal interface abnormalities in glaucomatous subjects, The Montrachet Study. 2018 (*manuscrit en préparation*)

Soufiane S, **Seydou A**, Ferrero A et al. Evaluation of ocular surface parameters in glaucomatous subjects, The Montrachet Study. 2018 (*manuscrit en préparation*)

Ferrero A, **Seydou A**, Binquet C, Bretillon L, Acar N, Arnould L, et al. Dry eye disease in the elderly in a French population-based study (the Montrachet study: Maculopathy, Optic Nerve, nuTRition, neurovAsCular and HEarT diseases): Prevalence and associated factors. Ocul Surf. 2017;

De Lazzer A, **Seydou A**, Binquet C, Anna Francoz, Alain M Bron, Catherine Creuzot-Garcher Diagnostic ability of SD-OCT retinal nerve fibre layer thickness to discriminate normal from glaucomatous eyes in an old French population: the Montrachet study (manuscrit en cours de soumission).

Youssef A, **Seydou A** et al. Macular pigment Optical density in glaucomatous subjects, The Montrachet Study, 2016 (manuscrit en préparation)

Assad G, **Seydou A** et al. Macular Cube versus Spectral Domain Optical Coherence Tomography scan for detection of macular and vitreomacular interface pathology, The Montrachet Study. (Manuscrit en préparation)

Communications orales en lien avec la thèse

Seydou A, Binquet C, Cottet V, Fleck O, Acar N, Daniel S, et al. Relationships of Macular Pigment Optical Density With Plasma Lutein, Zeaxanthin, and Diet in an Elderly Population: The Montrachet Study. 24ème Forum des jeunes chercheurs, Juin 2018, Besançon, communication orale.

Communications orales en lien avec l'étude Montrachet

Soufiane S, **Seydou A**, Bouche-Pillon J, Binquet C, Bron AM, Creuzot-Garcher C Etude de la prévalence et des facteurs associés à la sécheresse oculaire chez les patients traités par hypotonisants topiques dans une population âgée au sein de l'étude Montrachet. 122ème congrès d'Ophtalmologie de la SFO, mai 2016, Paris, communication orale.

Ben Ghezala I, **Seydou A**, Bouche-Pillon J, Binquet C, Bron AM, Creuzot-Garcher C. Facteurs associés aux anomalies de l'interface vitréo-rétinienne diagnostiquées l'OCT dans une population française âgée de 75 ans et plus : l'Etude Montrachet. 122ème congrès d'Ophtalmologie de la SFO, mai 2016, Paris, communication orale.

Assad G, **Seydou A**, Binquet C, Ben Ghezala I, Bron AM, Creuzot-Garcher C. Détection des drusens par différentes méthodes d'acquisition en tomographie par cohérence optique Spectral-Domain chez des patients de plus de 75 ans : Etude Montrachet. 122ème congrès d'Ophtalmologie de la SFO, mai 2016, Paris, communication orale.

Ferrero A, **Seydou A**, Binquet C, Bretillon L, Acar N, Arnould L, et al. Prévalence et facteurs associés de la sécheresse oculaire dans une population française âgée : Etude Montrachet. 122ème congrès d'Ophtalmologie de la SFO, mai 2016, Paris, communication orale.

Alami Y, **Seydou A** et al. Comparaison de la densité optique du pigment maculaire chez des sujets glaucomateux par rapport à des sujets sains dans une population âgée : étude Montrachet. 122ème congrès d'Ophtalmologie de la SFO, mai 2016, Paris, communication orale.

LISTE DES ABREVIATIONS

3C : Trois cités

AA : Arachidonic acid

AG : Acide gras

AGPI : Acides gras polyinsaturés

ALA: Alpha-linolenic acid

AMD: Age related macular degeneration

AREDS: Age related eye disease study

COX: Cyclooxygenase

DED: Dry eye disease

DEWS : Dry eye workshop

DGLA: dihomo-gamma-linoleic acid

DHA: Docosahexaenoic acid

DOPM : Densité optique du pigment maculaire

DPA: Docosapentaenoic acid

DTA: Docosatetraenoic acid

EPA: Eicosapentaenoic acid

ELOVL2: Elongation of very long chain fatty acids protein 2

ELOVL5: Elongation of very long chain fatty acids protein 5

FADS2: Fatty acid desaturase 2

GLA: Gamma-linoleic acid

LA : Linoleic acid

MLA : Maculopathie liée à l'âge

Montrachet: Maculopathy Optic Nerve nuTRition neurovAsCular and HEarT diseases

MUFAs: Monounsaturated fatty acids

PGE_1: prostaglandin E1

PUFAs: polyunsaturated fatty acids

CRP: chain-reactive protein

SFAs: saturated fatty acids

Tables des matières

I- Introduction 1
I.1- Processus du vieillissement 1
I.2- Vieillissement oculaire 2
I.2.1- Etats des connaissances sur le vieillissement oculaire 2
I.2.2- Vieillissement et cristallin 2
I.2.3- Vieillissement et nerf optique 3
I.2.4- Vieillissement et surface oculaire 3
I.2.4- Vieillissement et rétine 5
I.2.5- Définition de la DMLA 6
I.3- Rétine et micronutrition 7
I.3.1- Les caroténoïdes xanthophylles 8
I.3.2- Structure des caroténoïdes xanthophylles 8
I.3.3- Source des caroténoïdes xanthophylles 8
1.3.4- Biodisponibilité et métabolisme des xanthophylles 10
I.3.5- Rôle des xanthophylles circulants 10
I.4- Le pigment maculaire 11
1.4.1- Définition du pigment maculaire 11
I.4.3- Principe de mesure du pigment maculaire 11
I.4.4- Etudes épidémiologiques et d'intervention 12
I.4.5- Les déterminants du pigment maculaire 13
II – OBJECTIFS 15
III- MATERIEL ET METHODES 17
III.1- Population d'étude et modalités d'inclusion 17
III.2- Déroulement et pratique de l'étude 20
III.3- Données disponibles 22
III.4- Mesure spécifique des variables d'intérêt 22
III.4.1- Mesures des xanthophylles circulants et vitamines 22
III.4.1.1- Extraction des caroténoïdes xanthophylles 22
III.4.1.2- Saponification des caroténoïdes 23

III.4.1.3- Séparation, détection et quantification 23
III.4.1.4- Acides gras plasmatiques 26
III.4.2- Mesure de la densité optique du pigment maculaire 26
III.4.2.1- Spectrométrie par Autofluorescence 26
IV- RESULTATS 28
IV.1- PARTIE A – Densité du Pigment Maculaire 28
IV.1.2- Etude de la densité optique du pigment maculaire en population âgée indemne de pathologie oculaire 28
IV.1.3- Association entre les teneurs plasmatiques de lutéine, zéaxanthine, alimentation et densité optique du pigment maculaire dans une population âgée : étude Montrachet 38
IV.1.4- Distribution spatiale du pigment maculaire dans une population âgée Française : Etude Montrachet 48
IV.2- Association entre le profil plasmatique des acides gras et les signes de la sécheresse oculaire dans la population âgée : Etude Montrachet 69
V- Discussion 105
V.1- Travaux portant sur la densité optique du pigment maculaire 105
V.2- Travaux portant sur la sécheresse oculaire 109
VI- Conclusion et perspectives 112
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 113

Liste de figures

Figure 1: Image de la surface oculaire. 4

Figure 2 : Image de la rétine illustrant les différentes zones de la macula. 5

Figure 3: Coupe transversale de la rétine au niveau de la macula. 6

Figure 4 : Image de la rétine saine et de la rétine avec DMLA. 7

Figure 5: Structure moléculaire de la lutéine, zéaxanthine et mésozéaxanthine. 8

Figure 6: Flow chart illustrant le recrutement des participants dans l'étude Montrachet. 18

Figure 7: Temps de rétention de la lutéine et la zéaxanthine. 25

Figure 8: Les trois types de profils spatiaux du pigment maculaire dans l'étude Montrachet. 27

Figure 9: Flowchart illustrant la constitution de l'échantillon d'analyse (Etude Montrachet). . 29

Figure 10:Profil de distribution spatiale du pigment maculaire dans la population Montrachet. 30

Figure 11: Fréquences de consommation des principaux fruits dans la population âgée. 32

Figure 12: Fréquences de consommation des légumes, poisson et œufs dans la population âgée. 32

Liste de tableaux

Tableau 1: Les légumes à teneur élevée en lutéine et zéaxanthine. 9

Tableau 2: Comparaison de la consommation des caroténoïdes totaux en mg / jour dans cinq pays de l'Europe chez 80 adultes âgés de 25 à 45 ans. [47] 9

Tableau 3: Comparaison des principaux caractéristiques des participants et de non participants dans l'étude Montrachet. 19

Tableau 4: Données disponibles pour les variables utilisées dans le cadre de l'étude Montrachet qui ont servi à la réalisation de cette thèse, n=1153. 22

Tableau 5: Niveau moyen de la DOPM du centre vers la périphérie de la fovéa 31

Tableau 6: Concentrations plasmatiques des xanthophylles et de la vitamine E. 31

Tableau 7: Densité optique du pigment maculaire et les xanthophylles plasmatiques selon les caractéristiques des participants, n=140. 33

Tableau 8: Corrélation entre les xanthophylles et vitamine E plasmatiques et la DOPM à 0,5°. 34

Tableau 9: Caractéristiques des participants sans lésion maculaires selon le profil spatial du pigment maculaire dans Montrachet, n=140. 35

Tableau 10: Classification de la sécheresse oculaire dans Montrachet selon la classification de DEWS 67

I- Introduction

I.1- Processus du vieillissement

Le Vieillissement est défini comme un processus d'accumulation progressive de changements qui sont associés ou responsables d'une augmentation de la susceptibilité à la maladie et à la mort. [1] C'est un phénomène complexe dépendant de l'interaction entre gènes, métabolisme cellulaire et facteurs environnementaux. [2] Les changements ne sont pas linéaires, ne répondent pas à une logique claire et ne sont pas forcément directement en rapport avec l'âge de la personne en années. Alors qu'à 70 ans, certaines personnes jouissent encore d'une très bonne santé et de solides capacités fonctionnelles, d'autres, au même âge, sont fragiles et ont besoin d'aide.[3]

La population mondiale est estimée à 7,6 milliards et 676 634 millions sont âgés de 65 ans et plus en 2018. La compréhension des processus de vieillissement est d'autant plus cruciale que le nombre de personnes âgées de plus de 60 ans augmente dans l'ensemble des pays industrialisés comme dans les pays en voie de développement. Ainsi les personnes âgées de 60 ans ou plus vont progressivement passer de 605 millions à 2 milliards en 2050 dans le monde.

Le vieillissement de la population touche particulièrement la population européenne. Au 1er janvier 2018, la population de l'union européenne était estimée à 512,6 millions de personnes dont 20% de plus de 65 ans et 5,1% de personnes de plus de 80 ans. Ces proportions augmentent régulièrement et sont associées à une augmentation de la dépendance. La France, n'échappe pas à ces tendances malgré sa démographie plutôt dynamique, est également touchée par ce phénomène. La population de 65 ans ou plus représentait 19,6% de la population française en 2018 et pourrait atteindre 26,2% en 2050. Cette augmentation devrait être plus marquée pour les 75 ans et plus, du fait de l'augmentation de l'espérance de vie, passant ainsi de 9,2% en 2018 à 15,5% en 2050.

En effet, l'espérance de vie à la naissance en France s'accroit régulièrement pour atteindre actuellement 85,3 ans pour les femmes et 79,5 ans pour les hommes. [4]

L'avancée en âge augmente la probabilité d'être atteint simultanément de plusieurs problèmes de santé tels que des troubles métaboliques, respiratoires, cardiaques, arthrosiques et/ou des atteintes cognitives et des altérations de l'humeur pouvant être

renforcés par des déficits sensoriels. Ces dernières peuvent limiter l'autonomie des personnes et détériorer leur qualité de vie. C'est le cas notamment des déficits visuels induits par le vieillissement oculaire. Au-delà de l'âge, certains facteurs génétiques et environnementaux (éducation, niveau socio-économique, nutrition) peuvent influencer le processus du vieillissement.

I.2- Vieillissement oculaire

I.2.1- Etats des connaissances sur le vieillissement oculaire

Le vieillissement oculaire est un processus physiologiquement et génétiquement programmé. Comme tous les organes, l'œil et ses structures sont touchés par le vieillissement. Le processus du vieillissement n'est pas homogène chez tous les individus et, de la même manière, les composantes de l'œil réagissent asymétriquement aux effets du vieillissement. [5] Les réactions biochimiques qui se produisent dans les tissus, notamment la production des radicaux libres, sont à l'origine du stress oxydant, facteur particulièrement important du vieillissement oculaire. En effet, un déséquilibre de production des radicaux libres par rapport à celle d'antioxydants accélère l'apparition des maladies oculaires liées à l'âge. Par ailleurs, toutes les parties de l'œil peuvent être touchées par le vieillissement que ce soit le cristallin, la surface oculaire, le nerf optique et la rétine. Les parties suivantes vont s'attacher à décrire rapidement le vieillissement du cristallin et du nerf optique pour ensuite se focaliser sur celui de la surface oculaire et de la rétine qui ont fait plus particulièrement l'objet des travaux de cette thèse.

I.2.2- Vieillissement et cristallin

Le cristallin est une lentille biconcave avasculaire, située derrière l'iris et la pupille. Il est constitué d'eau et de protéines. Il joue un rôle important dans la vision car il contribue à la puissance réfractive de l'œil. [6] Au cours du vieillissement physiologique, la lentille s'opacifie, entrainant une perte d'acuité visuelle. L'apparition de la cataracte est influencée par des facteurs génétiques et environnementaux. [7] Selon Framingham Eye Study, la cataracte touche 4,5% des personnes de 55-64 ans ,18% de personnes de 65-74 ans et 45,9 des personnes de 75-84 ans. [8] En France, elle touche 20% des personnes âgées de 65 ans ou plus et plus de 66% de personne de 85 ans ou plus. Le seul traitement efficace reste la chirurgie. Mais ces dernières années l'implication des micronutriments (caroténoïdes et acides gras polyinsaturés) dans la prévention ou le ralentissement de la cataracte a été rapportée. L'étude épidémiologique des Pathologies liés à l'âge (POLA) a montré qu'une concentration élevée en zéaxanthine plasmatique réduirait de 77% le risque la cataracte nucléaire et de 47% toute forme de cataracte chez les personnes âgées de 60 ans et plus. [9] par ailleurs, des études d'intervention basées sur des essais cliniques randomisés ont

également montré les effets bénéfiques de l'alimentation sur l'incidence de la cataracte. L'étude Linxian Cataract Trial (LCT) a montré une diminution de 36% du risque de progression de la cataracte nucléaire chez les personnes de 65-74 ans supplémentées en multivitamines et minéraux et ce risque était diminué de 44% lorsque les vitamines et minéraux sont combinés avec du zinc et du bêta-carotène.[10] Par contre dans l'étude AREDS, les vitamines antioxydantes (C et E) et le bêta-carotène n'ont montré aucun effet sur la progression de la cataracte et sur la fréquence des indications chirurgicales. [11] Toutefois, les effets bénéfiques de ces antioxydants sur la cataracte dépendent du statut de santé globale des participants à ces études, comme le montre une étude récente chez les femmes avec haut risque de maladies cardiovasculaires où leur effet était délétère. [12]

I.2.3- Vieillissement et nerf optique

Le nerf optique est situé à l'arrière de la rétine et prend naissance au niveau des cellules ganglionnaires de la rétine. En effet, le rôle du nerf optique est la transmission des informations perçues par les cellules rétiniennes vers l'encéphale. L'information est d'abord traitée par le thalamus puis transmise au cortex cérébral. [13] Avec l'âge, le nerf optique se déforme, et sa densité en cellules ganglionnaires se réduit. [14] Cette dégénérescence correspond à ce qu'on appelle le glaucome. Il entraine une baisse de la vison périphérique. [15] Le glaucome est la deuxième cause de cécité irréversible dans le monde après la Dégénérescence Maculaire Liée à l'Age (DMLA). [16,17] Le glaucome touche 1 à 2% de la population de plus de 40 ans et 10% des plus de 70 ans en France. [18,19] En effet, plusieurs types de glaucome existent : le glaucome à angle fermé ou ouvert, le glaucome secondaire du myope, le glaucome exfoliatif et traumatique et le glaucome à pression normale. Par ailleurs, le glaucome primitif à angle ouvert est de loin le plus fréquent. Les facteurs de risque du glaucome sont l'hypertonie intraoculaire, les antécédents familiaux de glaucome, l'âge avancée, l'ethnie africaine, la pseudoexfoliation capsulaire. [20] De plus, d'autres facteurs comme une forte myopie, l'hypertension, le diabète, l'apnée du sommeil et la prise prolongée de corticoïdes peuvent également augmenter le risque de glaucome.

I.2.4- Vieillissement et surface oculaire

La surface oculaire est formée de l'unité fonctionnelle lacrymale constituée des glandes lacrymales et glandes de meibomius, des glandes de la conjonctive produisant de la mucine, la surface cornéenne, la conjonctive et le tractus lacrymal excréteur. [21]

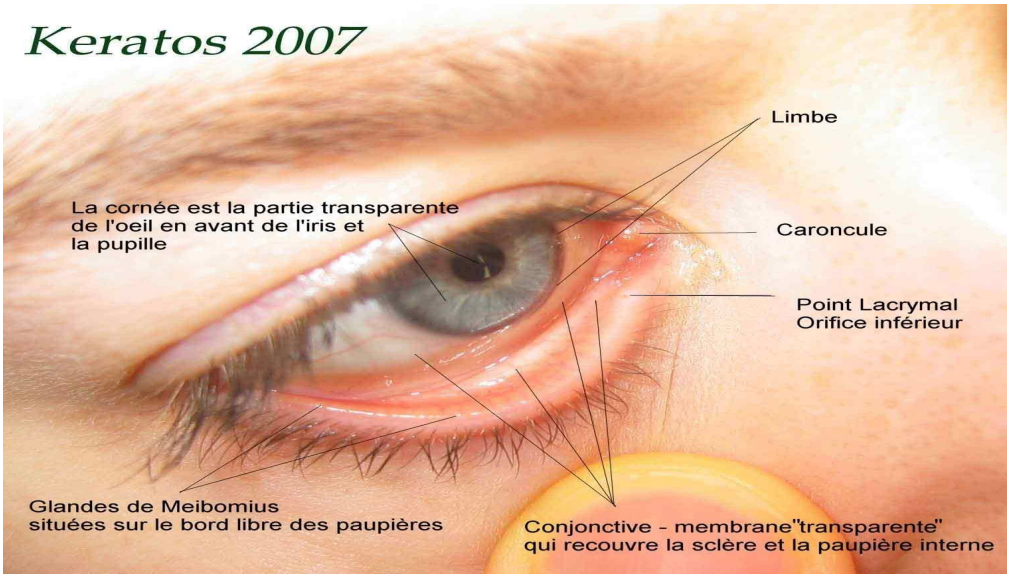


Figure 1: Image de la surface oculaire.

Avec l'âge, cette surface est permanemment exposée en permanence à des agressions externes (rayons Ultra-Violets) et internes due à la production des radicaux libres et d'oxygène singulet induisant un stress oxydatif. La sécheresse oculaire est une maladie multifactorielle et complexe regroupant des signes et symptômes de formes diverses dans lequel le vieillissement de la surface oculaire semble jouer un rôle important. [22] La prévalence de la sécheresse oculaire est en augmentation constante. Selon plusieurs études, la sécheresse oculaire touche entre 14,4% et 57,5% de la population mondiale dont la plus âgée et constitue un problème de santé publique majeur. [23,24] Elle concerne plus les femmes que les hommes avec un sexe ratio de 3. [25] Elle est responsable des symptômes divers notamment à type d'inconfort visuel et peut induire une baisse d'acuité visuelle, conduisant les personnes touchées à réduire leurs activités ce qui influence négativement leur qualité de vie. Cependant, la sécheresse oculaire reste encore mal diagnostiquée, soit parce que les patients ne reconnaissent pas les symptômes, soient parce qu'ils ne rapportent pas ce problème, perçu comme mineur, à leur médecin traitant. [25]

Le rôle de la micronutrition et particulièrement de l'apport en acides gras essentiels, a été rapporté dans la sécheresse oculaire. [26,27] Parmi les acides gras essentiels, un apport réduit en Omega 3 semble être impliqué dans la survenue du syndrome de Gougerot-Sjögren chez les femmes. [26] Une étude épidémiologique a montré que la consommation élevée d'oméga 3 (acides gras oméga 3) est associée à une réduction de risque de 30% d'avoir un syndrome sec chez les femmes de 45-84 ans. De plus, les femmes qui consommaient plus de 5 portions de thon par semaine avaient un risque réduit de 68% de présenter un syndrome sec. [27] Des études ont également rapporté que la supplémentation en oméga-3 réduisait les

concentrations des anticorps anti-ADN, diminuait la production de cytokines pro-inflammatoires, retardait l'apparition et diminuait la sévérité du syndrome de Gougerot-Sjögren. [26] Par ailleurs, une consommation trop importante d'acides gras oméga-6 est associée à une augmentation significative du risque de sécheresse oculaire. [27]

I.2.4- Vieillissement et rétine

Comme tous les autres tissus de l'œil, la rétine subit des agressions internes et externes dont les effets s'accumulent avec l'âge. Située à l'arrière de l'œil, la rétine est un tissu mince composé des photorécepteurs hautement différenciées qui permettent la vision. [29] Elle permet de transmettre le signal visuel au cerveau. Macroscopiquement, la rétine est composée de deux régions distinctes : la rétine centrale ou zone maculaire spécialisée pour la vision centrale et la rétine périphérique. Microscopiquement, la rétine maculaire est subdivisée en fovéa (dépression de la surface interne de la rétine) et la fovéola (le plancher central de la fovéa).

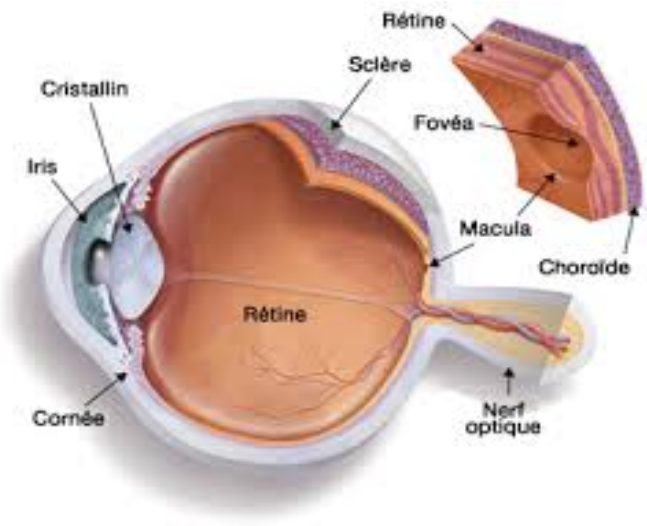


Figure 2 : Image de la rétine illustrant les différentes zones de la macula.

La rétine est constituée de trois couches de cellules nerveuses et deux de synapses. La couche nucléaire interne contient les cellules photorécepteurs ; la couche nucléaire externe contient les cellules bipolaires horizontales et amacrines, et enfin la couche des cellules ganglionnaires contient des cellules amacrines déplacées. La rétine adulte contient deux types de photorécepteurs appelés bâtonnets et cônes. Les cônes sont adaptés aux conditions phototopiques et permettent la réception de la couleur. Quant aux bâtonnets, ils sont sensibles à la lumière monochromatique permettant une vision nocturne. La concentration des cônes est maximale au niveau de la fovéa, responsable de la vision fine. La densité des cônes diminue progressivement de centre de la fovéa vers la périphérie de la

rétine. Les bâtonnets ont une densité maximale autour de la zone péri-maculaire (5 mm du centre de la macula). [30]

Les cellules photoréceptrices forment une unité fonctionnelle avec l'épithélium pigmentaire rétinien (EPR), qui est une couche des cellules mononuclées située entre le réseau vasculaire choroïdien et les segments des photorécepteurs. Les cellules d'EPR régulent l'apport des nutriments et des métabolites aux photorécepteurs et contrôlent le métabolisme des rétinoïdes, la phagocytose du segment externe, l'adhésion neurorétinienne et le métabolisme entre les récepteurs. Ils participent également à la constitution de la barrière hémato-encéphalique. Dans la rétine humaine, les photorécepteurs sont soumis à une polarisation fonctionnelle et structurelle et environ 10% des disques des segments sont perdus chaque jour. [31] C'est ce qui explique en partie le processus du vieillissement normal et pathologique de la rétine.

Parmi les problèmes de vision qui peuvent survenir en vieillissant, l'une des pathologies la plus fréquente est la dégénérescence maculaire, dans laquelle une dégénérescence de la macula entraîne une perte de vision.

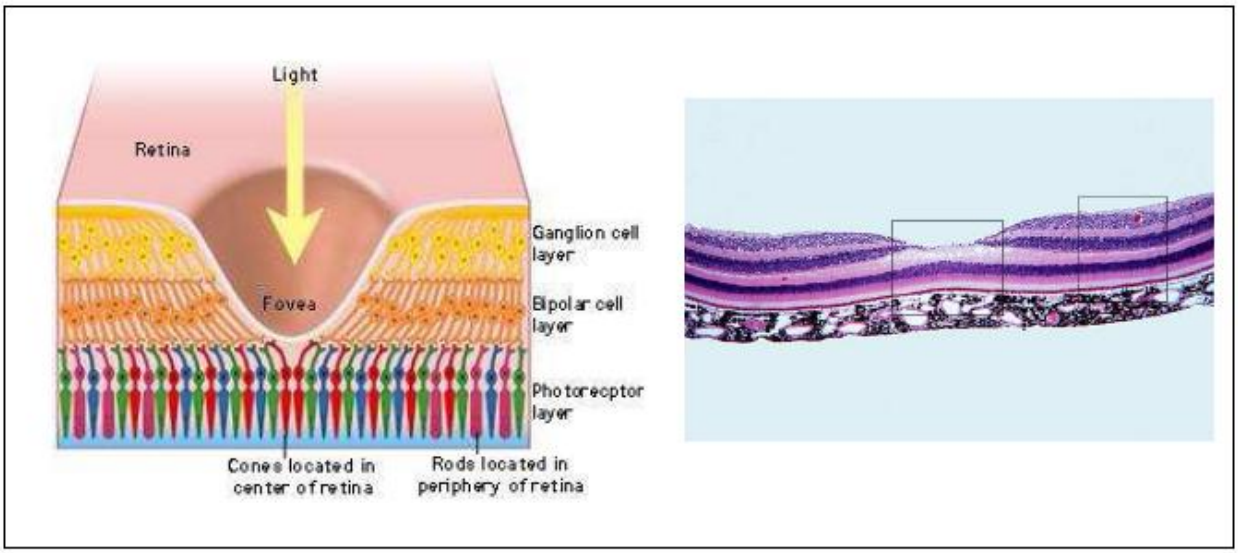


Figure 3: Coupe transversale de la rétine au niveau de la macula.

I.2.5- Définition de la DMLA

La Dégénérescence Maculaire Liée à l'Age est la principale cause de la cécité chez les personnes âgées de 55 ans et plus dans les pays industrialisés. La prévalence de la DMLA dans le monde chez les personnes de 45 à 85 ans est de 8,7% avec une projection du nombre des personnes atteintes à 196 millions en 2020 et de 288 millions des personnes en 2040, si l'incidence reste stable. [32] Elle est la cause de cécité dans plus de 50% de cas aux Etats Unis. [33] On estime d'ici 2020, que 3 millions d'américains pourraient être atteints de la

DMLA.[34] En France, la DMLA concerne 8% de la population et touche 1,5 millions de personnes de 65 ans et plus ; elle pourrait concerner 2,25 millions de personnes en 2030. [35]

La fréquence de DMLA augmente avec l'âge : 25% à 35% de la population âgée de 75 ans et plus est atteinte de DMLA. Des facteurs génétiques et environnementaux sont impliqués dans le développement de cette pathologie. Les principaux facteurs de risque de la DMLA sont en dehors de l'âge, le sexe féminin, les maladies cardiovasculaires, des facteurs génétiques tels que le polymorphisme nucléotidique du gène de facteur du complément H [CFH] Y402H et du gène de la susceptibilité à la maculopathie liée à l'âge 2 [ARMS] A69S, [36] le tabac, les facteurs nutritionnels tels que le déficit en caroténoïdes xanthophylles et en acides gras polyinsaturés.

Des études récentes ont montré que les habitudes alimentaires notamment la consommation des fruits et légumes et des acides gras à longue chaine pourraient prévenir la survenue à la DMLA. [37-39]

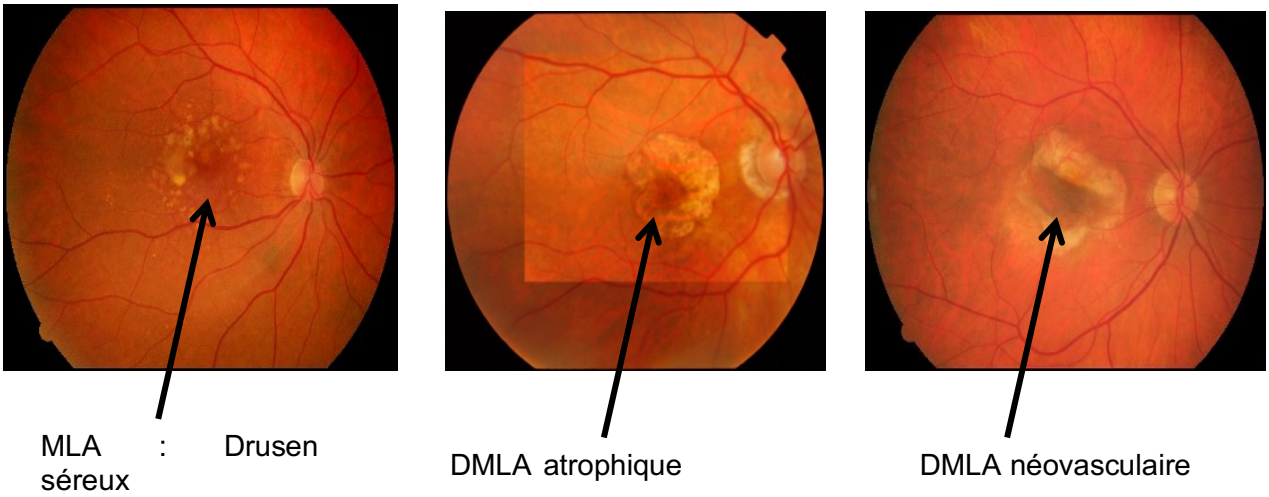


Figure 4 : Image de la rétine saine et de la rétine avec DMLA.

I.3- Rétine et micronutrition

L'alimentation, joue un rôle important dans le maintien du métabolisme de la rétine et de la stabilité de ses échanges avec l'épithélium pigmentaire rétinien et la choroïde. Au niveau de la rétine, particulièrement, au niveau de la macula se trouve un pigment jaune, le pigment maculaire composées de lutéine et de zéaxanthine. Plusieurs études ont montré l'implication de certaines vitamines antioxydantes telles que les vitamines E et C et sels minéraux comme le zinc, le sélénium et les acides gras polyinsaturés à longue chaine (EPA et DHA) et les caroténoïdes xanthophylles dans le processus de lutte des cellules rétiniennes contre les agressions externes et internes.

I.3.1- Les caroténoïdes xanthophylles

Les caroténoïdes sont divisés en deux groupes : 1) les carotènes intégrant le lycopène, le β-carotène, et l'α-carotène, 2) les xanthophylles constitués de la lutéine, de la zéaxanthine et la mésozéaxanthine. [40] Contrairement aux carotènes, les xanthophylles ne sont pas des précurseurs de la vitamine A [41]. En effet, les xanthophylles sont retrouvés dans le sang, les urines (xanthophylles circulants) et plus généralement les tissus humains. [42]

I.3.2- Structure des caroténoïdes xanthophylles

Les caroténoïdes xanthophylles dérivent par cyclisation, déshydrogénation et de l'oxydation d'un caroténoïde linéaire, *le lycopène* ($C_{40}H_{56}$). [43] Les xanthophylles reposent chimiquement sur une structure de base formée par l'enchaînement linéaire de huit unités isopréniques, associées à deux groupes de quatre unités (géranylgéranyl) en tête-bêche.[44] Les xanthophylles (lutéine, zéaxanthine et mésozéaxanthine) contiennent 40 atomes de carbone et des groupements hydroxyles sur le cycle hydrophobe situé à leurs extrémités, ce qui les caractérisent des autres caroténoïdes et explique leur rôle biologique. [45] Les xanthophylles se différencient par la position d'une double liaison sur l'un des groupes hydroxyles.

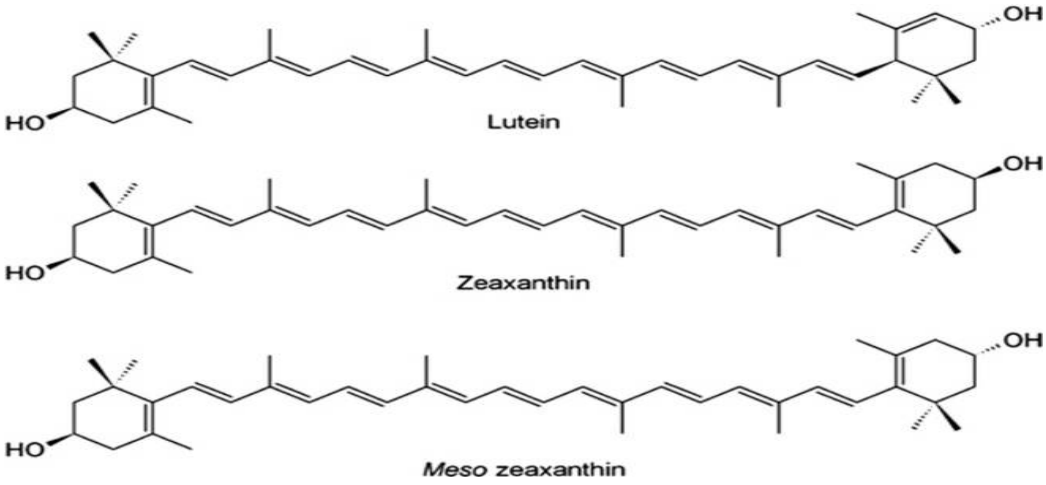


Figure 5: Structure moléculaire de la lutéine, zéaxanthine et mésozéaxanthine**.**

I.3.3- Source des caroténoïdes xanthophylles

Les algues sont riches en caroténoïdes, plus de 100 caroténoïdes ont été isolés et caractérisés à partir de ces organismes. Ils sont abondants dans certains fruits et légumes. Globalement, les fruits et légumes très pigmentés constituent les principales sources des xanthophylles dans l'alimentation humaine.[43] Aussi, ils sont également abondants dans les végétaux à feuille vert-foncé avec la chlorophylle masquant leur couleur caractéristique. [46]

Enfin, les produits à base de tomates et le jaune d'œuf sont aussi riches en lutéine et zéaxanthine. [43]

La National Nutrient Database for Standard Reference de l'American United States Department of Agriculture (USDA), donne la liste des 5 légumes avec les teneurs les plus élevées en lutéine et zéaxanthine ; d'après cette source le chou vert frisé contient plus de lutéine et le maïs de zéaxanthine. [46] (Tableau 1)

Tableau 1: Les légumes à teneur élevée en lutéine et zéaxanthine.

Aliments	Portion	Lutéine (zéaxanthine)
Chou vert frisé cuit	130 g	24 mg (0,224 mg)
Epinards cuits	180 g	20 mg (0,322 mg)
Brocoli	156 g	2 mg (0,023 mg)
Pois verts en conserve	170 g	2 mg (0,058 mg)
Maïs en conserve	256 g	2 mg (0,686 mg)

L'étude européenne réalisée par O'Neill *et al* en 2001 a fourni la consommation des caroténoïdes totaux en mg/jour chez 80 personnes adultes âgées de 25-45 ans dans 5 pays d'Europe à partir des bases de données de la table de consommation alimentaire et des questionnaires de fréquence de consommation alimentaire. Ainsi, la France affichait une importante consommation de caroténoïdes totaux.

Tableau 2: Comparaison de la consommation des caroténoïdes totaux en mg / jour dans cinq pays de l'Europe chez 80 adultes âgés de 25 à 45 ans. [47]

Pays	Caroténoïdes totaux	
	Médiane	Etendue
Espagne (n=70)	9,54	7,16-14,46
France (n=76)	16,06	10,30-22,10
Royaume-Uni (n=71)	14,38	11,77-19,10
Irlande (n=76)	14,53	10,37-18,90
Hollande (n=75)	13,71	09,98-17,70

Ces consommations moyennes ne sont que des estimations. En effet, la teneur en xanthophylles dans les aliments dépend de la variété, de l'état (frais ou sec), du stade de maturité, du mode de préparation et de conservation des aliments.

Par ailleurs, d'autres facteurs peuvent influencer la composition et la teneur en caroténoïdes dans les aliments tels que la saison, la culture, la variété des aliments, le génotype, la localité de production, le mode de préparation, le climat et les conditions de maturation et de

croissance des aliments. Les questionnaires alimentaires permettant d'apprécier les apports en xanthophylles ne peuvent pas intégrer ces paramètres. Par ailleurs, le métabolisme des xanthophylles est étroitement lié à celui des lipides qui peut s'altérer au cours du temps. Cependant, malgré ces variations, de nombreuses études permettent de cerner le rôle majeur des xanthophylles dans la prévention du vieillissement oculaire.

1.3.4- Biodisponibilité et métabolisme des xanthophylles

La biodisponibilité est la capacité d'une fraction d'un nutriment d'être absorbée et disponible pour être utilisée ou stockée. Les xanthophylles doivent être apportés par l'alimentation, une fois dépassés le pylore, ils sont incorporés dans les micelles mixtes pour être absorbés. Puis ils sont incorporés dans les chylomicrons et transportés par la protéine de type SR-B1. [48] A cause de leur extrême apolarité, les xanthophylles, ne sont pas miscibles à l'eau. Cette caractéristique explique pourquoi leur métabolisme est étroitement lié à celui des lipides.[46] L'absorption des xanthophylles s'effectuerait par l'intermédiaire d'un transporteur membranaire. Ainsi, la lutéine est absorbée au cours d'un processus de diffusion facilitée par l'intermédiaire du scavenger receptor de classe B type 1 (SR-B1).[49] Les xanthophylles sont transportées par les HDL pour être acheminé vers la rétine pour leur disponibilité au niveau de la macula. D'autres protéines humaines de type SB-B2 et CD36 sont aussi impliquées dans le transport des xanthophylles vers la rétine. [50,51] L'absorption des xanthophylles dépend de plusieurs facteurs : de la quantité des xanthophylles consommés, le statut nutritionnel de l'hôte notamment la prise des lipides et de protéines, possibilités de liaison moléculaire, les facteurs génétiques de l'hôte et les interactions entre les différents éléments désigné par l'acronyme Slamenghi. [52,53]

I.3.5- Rôle des xanthophylles circulants

Les xanthophylles notamment la lutéine et la zéaxanthine semblent avoir une fonction antioxydante de protection. Ce rôle protecteur s'exercerait au niveau de la rétine humaine (région maculaire) et animale. Les xanthophylles sont très répandues dans la nature. Ils sont présents dans trois univers de la vie : les bactéries, les archéobactéries et les eucaryotes. Ces xanthophylles possèdent un pouvoir antioxydant, grâce auquel, ils jouent un rôle important dans la protection de la rétine. Globalement, ils protègent les cellules rétiniennes contre la lumière bleue, les radicaux libres et l'oxygène singulet. [54-55] Chez l'homme, ils jouent aussi un rôle protecteur contre la cataracte. [9] De plus, les xanthophylles auraient un rôle protecteur vis à vis des accidents cardiaques (maladies coronariennes) et des accidents vasculaires cérébraux et contribuent au maintien de la fonction cognitive.[56-59] D'autres effets bénéfiques des xanthophylles ont été aussi rapportés notamment le renforcement de la fonction immunitaire [59] et la lutte contre la prolifération des cellules cancéreuses. [60]

I.4- Le pigment maculaire

1.4.1- Définition du pigment maculaire

Le pigment maculaire est une substance de couleur jaune orangée retrouvée au niveau de la partie centrale de la rétine (la macula) d'où le nom de pigment maculaire. La macula est la dépression de la rétine (tache jaune) où les impressions visuelles ont leur maximum de précision et de netteté. Le pigment maculaire est constitué essentiellement de lutéine et de zéaxanthine qui sont retrouvées en grande quantité et de façon plus marginale la mésozéaxanthine (dérivé rétinien de la lutéine). [40] Leur l'origine est essentiellement alimentaire. [61] Ainsi, leur concentration au niveau de la macula est 10 000 fois supérieure à celle du sérum, ce qui est expliqué par la présence d'un transport actif des caroténoïdes impliquant plusieurs protéines. En effet, les concentrations de lutéine et de zéaxanthine varient du centre de la fovéa vers la zone parafovéolaire. Par ailleurs, la zéaxanthine est prépondérante au niveau de la fovéa, tandis que la lutéine prédomine plus en périphérie. [62]

I.4.2- Rôle du pigment maculaire

Le pigment maculaire possède des propriétés d'absorption de la lumière entre 400 et 550 nm (pic à 460 nm), qui lui permettraient de jouer un rôle de filtre de la lumière bleue. En effet, Il absorbe environ 40 à 90% de la lumière bleue avant que celle-ci n'atteigne les photorécepteurs. [48] L'absorption de la lumière bleue pourrait limiter le stress oxydatif, les dommages photochimiques et la formation des pigments photo-sensibilisants au niveau de la rétine. Par ailleurs, il possède des propriétés antioxydantes, qui seraient liées en partie à la présence de nombreuses doubles liaisons et de groupements hydroxyles. [48] Ainsi, il prévient la formation d'espèces réactives oxygénées spécialement l'oxygène singulet et permet le piégeage des radicaux libres. Au total, les rôles physique et chimique du pigment maculaire se conjuguent pour protéger la rétine et l'EPR des dommages liés au stress oxydatif.

En association avec les acides gras polyinsaturés (n-3), les xanthophylles ont des propriétés anti-inflammatoires, neuroprotectrices et antiangiogeniques. [63]

I.4.3- Principe de mesure du pigment maculaire

Les propriétés optiques du pigment maculaire sont à la base des méthodes utilisées pour sa mesure. On parle d'ailleurs de mesure de la densité optique du pigment maculaire (DOPM) qui est une mesure quantitative du pigment maculaire. La mesure du pigment maculaire est réalisée in vivo chez l'homme de manière non invasive par un ensemble de techniques réparties en deux méthodes : les psychophysiques (constituées de la photométrie flicker hétérochromatique et la spectrométrie Raman par résonance) nécessitant une réponse du

sujet et les méthodes physiques ou objectives (la réflectométrie du fond d'œil, la spectrométrie par autofluorescence et la photométrie minimum de mouvement) nécessitant une intervention minimale du sujet. [64] La spectrométrie par autofluorescence utilisant deux longueurs d'ondes est couramment utilisée en pratique clinique mais moins accessible en raison de son coût élevé. [65]

Ces mesures ont permis d'étudier la distribution spatiale du pigment maculaire qui donne l'aspect qualitatif du pigment maculaire. Cette distribution est déterminée en fonction de la DOPM mesurée à chaque degré d'excentricité de la rétine. Globalement, quatre types de profils spatiaux du pigment maculaire ont été décrits : 1) le profil typique caractérisé par un premier pic central puis une décroissance monotone de la DOPM du centre vers la périphérie de la fovéa, 2) le profil en anneau (ringlike) en présence d'un second pic entre 0,4° et 1,2° d'excentricité de la rétine, [66] 3) le profil sans pic central caractérisé par une faible DOPM centrale [67,68] et 4) un profil intermédiaire caractérisé par un profil non rectiligne ni en forme d'anneau.

I.4.4- Etudes épidémiologiques et d'intervention

Ces dernières décennies, des études épidémiologiques ont montré que des facteurs génétiques et environnementaux parmi lesquels la consommation des xanthophylles serait associée à un effet protecteur contre la survenue de la DMLA via notamment l'augmentation de la densité du pigment maculaire. Plusieurs études chez les personnes saines âgées de moins de 65 ans ont montré que la consommation des fruits et légumes était associée à une augmentation de la concentration sérique de lutéine et zéaxanthine, elle-même associée à l'augmentation de DOPM. [37,68] Dans l'étude de Delcourt et coll. la zéaxanthine plasmatique serait associée à une réduction de 93% du risque de MLA. En effet, la même étude montrait que la combinaison de la lutéine et zéaxanthine plasmatique réduirait de 79% le risque de MLA chez les personnes âgées de 60 ans et plus. [9] Cette association est également observée chez les sujets plus âgés. Une prise alimentaire riche en xanthophylles et une concentration des xanthophylles plasmatiques élevée seraient associées à une diminution de 57% de risque de DMLA [70,71]

Toutes ces études observationnelles orientent vers l'hypothèse d'un bénéfice potentiel d'une supplémentation de l'alimentation en xanthophylle pour augmenter les taux sériques de lutéine et de zéaxanthine, la densité du pigment maculaire, et par ce moyen limiter le risque de DMLA. Cependant, il était nécessaire de pouvoir tester cette hypothèse, c'est à quoi ce sont attelés de nombreux auteurs.

L'essai randomisé en double aveugle multicentrique AREDS a été l'étude pivot montrant l'intérêt de la supplémentation en fortes doses en micronutriments (caroténoïdes, vitamines, β-carotène, Zinc, sélénium et DHA et EPA) pour limiter la progression de DMLA. [72,73] L'étude AREDS 2 a ensuite évalué l'impact de l'ajout de la lutéine (10mg) et zéaxanthine (2mg) en plus de l'ancienne formule de l'AREDS et a révélé que cet ajout ne diminuait pas davantage le risque de la progression vers la DMLA avancée mais pourrait être une alternative pour remplacer le β-carotène en raison du risque augmenté de survenue du cancer du poumon chez les fumeurs qui lui est lié. [74]

Plusieurs autres études de supplémentation ont montré qu'une supplémentation en xanthophylles augmenterait la DOPM en fonction de dose administré et de la durée de supplémentation [75,76] et permettrait de réduire le risque de DMLA. [77-78] L'association avec des vitamines antioxydants (vitamines C, E, Zinc et Sélénium) [79] et des acides gras polyinsaturés augmenterait encore la DOPM et réduirait le risque de DMLA. [80,81] Li et al. ont montré que lorsque les trois caroténoïdes maculaire sont combinés (lutéine, zéaxanthine et mésozéaxanthine), ils pourraient piéger beaucoup plus d'oxygène singulet que lorsqu'ils agissent individuellement à la même concentration. [82]

Toutes ces études d'interventions confirment les résultats des études épidémiologiques mais les sujets ne répondent pas de la même façon à la supplémentation en fonction de leur âge, de leurs habitudes de vie et de leurs caractéristiques génétiques. [83] La connaissance des facteurs favorisant ou péjoratif vis-à-vis du pigment maculaire parait indispensable pour cibler les bonnes populations chez lesquels une supplémentation devrait être proposée.

I.4.5- Les déterminants du pigment maculaire

Plusieurs facteurs environnementaux, individuels (âge et sexe) et génétiques peuvent influencer la densité optique du pigment maculaire.

I.4.5.1- Facteurs individuels et environnementaux

L'âge constitue un facteur déterminant de la composition du pigment maculaire et de la DOPM, mais, il existe une discordance entre les études de l'effet de l'âge sur la densité optique du pigment maculaire. Selon certains auteurs, l'âge entraine une diminution de la densité optique du pigment maculaire avec un risque de progression vers la DMLA chez les sujets de plus de 65 ans. [84-86] Par contre, d'autres ont trouvé le contraire. [87,88] Cette différence pourrait être due à la différence des designs des études et des instruments de mesure du pigment maculaire utilisés. Des études ont montré que la densité optique du pigment maculaire dépend du sexe, les hommes ayant des niveaux de DOPM relativement

plus élevés que chez les femmes. [89-91] Murray IJ et al ont montré que la DOPM varie selon la couleur de l'iris. Elle est plus élevée chez les sujets avec un iris brun foncé par rapport à ceux ayant un iris clair. [92] De même, le patrimoine génétique influence la DOPM. [83,93] De plus, l'origine ethnique et la race influencent la densité optique du pigment maculaire, ainsi, les sujets d'origine africaine présentent une DOPM plus élevée que les sujets d'origine hispanique. [94] D'autres facteurs individuels peuvent influencer la DOPM. Notamment, le tabac influence la densité optique du pigment maculaire selon Hammond et al., le pigment maculaire serait diminué de 25% chez les fumeurs de plus de 10 cigarettes par jour [95] et chez les fumeurs actuels. [87] L'obésité est aussi un facteur de risque connu de la DMLA et d'une diminution de la DOPM, [96,97] de même que le diabète de types 1 et 2. [92, 98,99]

I.4.5.2- Patrimoine génétique et polymorphisme génétique

Certains polymorphismes génétiques sont impliqués dans le métabolisme des xanthophylles et peuvent entrainer soit une augmentation soit une diminution du pigment maculaire. [45,100,101] La DOPM est liée notamment à l'expression de l'enzyme de conversion de β-carotène en vitamine A (BCOM1) chez des sujets sains. Une diminution de la conversion de β-carotène en vitamine A entraîne une disponibilité accrue de β-carotène et une compétition à l'absorption de la lutéine provoquant ainsi une diminution de la densité optique du pigment maculaire.[102]

I.4.5.3- Lipides et hypolipémiants

Plus largement le métabolisme des xanthophylles et des lipides étant étroitement liés, certains auteurs ont recherché les liens avec les taux de cholestérol. Ainsi, Renzi et coll ont montré que le HDL est associé à une augmentation significative de la lutéine sérique (r=0,36) et la zéaxanthine sérique (r=0,26) ainsi que de la densité optique du pigment maculaire (r=0,33) et dans la même étude, la DOPM est significativement liée au taux du cholestérol total (r=0,19). [100] La prise des médicaments hypolipémiants (statine) est associée à une diminution du pigment maculaire. [100]

Cependant ces résultats sont pour la majorité d'entre eux obtenus dans des populations d'âge moyen, ou en tout cas très majoritairement inférieur à 65 ans. Par ailleurs, très peu d'étude ont pris en compte l'ensemble des facteurs individuels et environnementaux pouvant modifier les relations qui ont été observées entre consommation de xanthophylles, taux plasmatiques, et densité optique du pigment maculaire.

II – OBJECTIFS

Compte-tenu de l'importance du rôle du pigment maculaire et des lacunes mises en évidence concernant ce filtre protecteur de la rétine en population âgée, les objectifs généraux de cette thèse étaient, d'étudier la densité optique de ce pigment maculaire, sa répartition spatiale et ses facteurs de variation, notamment en termes d'habitudes de vie et d'habitudes alimentaire dans une population des sujets issus de la population générale, âgée de plus de 75 ans.

Plus précisément, il s'agissait

- de décrire la DOPM en population âgée indemne de toute pathologie oculaire afin de disposer de valeurs normales dans cette population et de décrire les apports alimentaires correspondants ainsi que les taux plasmatiques de caroténoïdes xanthophylles (lutéine et zéaxanthine)

- d'identifier les facteurs de variation de la DOPM en population âgée atteinte ou non de pathologies oculaires ; il s'agissait d'étudier les relations entre les apports nutritionnels en fruits et légumes riches en caroténoïdes xanthophylles, leurs taux plasmatiques et la DOPM en tenant compte des facteurs de confusion potentiels. Notre hypothèse était que même dans une population âgée, dont le métabolisme lipidique pouvait être altéré, qu'une consommation importante de fruits et légumes riches en xanthophylles, pouvait être lié à des taux plasmatiques élevés et à une densité accrue du pigment maculaire.

- D'étudier la répartition spatiale du pigment maculaire en population âgée ; il s'agissait notamment de décrire la fréquence des répartitions en anneau (ringlike) associées dans la littérature à un moindre risque de DMLA, et d'identifier les facteurs associés notamment les taux plasmatiques des xanthophylles en tenant compte des facteurs de confusion.

Le métabolisme des acides gras est important pour le fonctionnement rétinien mais aussi pour le reste des composantes de l'œil ; les acides gras sont en effet aussi une composante importante de la barrière protectrice de la surface de la cornée et de la conjonctive alimentée en permanence par les glandes lacrymales et de Meibomius. Une réduction de cette barrière protectrice induit une symptomatologie variée, pouvant impacter de façon importante la qualité de vie des patients. Comme nous l'avons vu plus haut, la population âgée est

particulièrement touchée par la sécheresse oculaire du fait notamment de l'accumulation d'agressions extérieures mais aussi de son exposition plus fréquente à des traitements pouvant réduire la production de larme tels que certains psychotropes et antalgiques. Nous avons vu qu'un certain nombre d'études mettaient en évidence le rôle bénéfique des omegas-3 et néfaste des acides gras n-6 sur la sécheresse oculaire. Mais la plupart des études se sont limitées aux acides gras polyinsaturés sans tenir compte de l'implication des autres acides gras saturés et monoinsaturés dans la sécheresse oculaire. Compte tenu de la disponibilité des données des acides gras et du lien entre l'inflammation et le stress oxydatif avec la sécheresse oculaire dans la population, nous avons souhaité profiter de ces données pour aller plus loin dans l'exploration des relations entre acides gras et sécheresse oculaire dans une population âgée.

L'objectif de cette étude était de d'étudier la relation entre le profil des acides gras plasmatiques et les signes de la sécheresse oculaire dans la population âgée de 75 ans et plus.

III- MATERIEL ET METHODES

Ce travail de thèse repose sur les données de l'étude Montrachet (Maculopathy, Optic Nerve, Nutrition, NeurovAsCular and HEarT diseases), étude observationnelle transversale monocentrique nichée au sein de la cohorte des 3 cités (3C) initiée en 1999 dans les villes de Bordeaux, Dijon et Montpellier. [104] L'objectif de l'étude 3C était d'étudier les relations entre les facteurs de risque cardio-vasculaires, les maladies liées à l'âge, et la survenue d'une démence en population générale âgée de 65 ans et plus. Au total, 9294 participants âgés de 65 ans et plus ont été recrutées par tirage au sort à partir des listes électorales, dont 4931 résidants à Dijon. Les participants devaient bénéficier d'un suivi en moyenne tous les deux à trois ans. Parmi ceux-ci 1663 participants ont bénéficié d'une IRM cérébrale 4 ans après leur inclusion dans 3C.

L'étude Montrachet est issue de la collaboration du service d'ophtalmologie du CHU de Dijon-Bourgogne, de l'équipe de recherche INRA/université de Bourgogne Œil, Nutrition et Signalisation Cellulaire du Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation de Dijon et du module épidémiologie clinique du Centre d'Investigation Clinique de Dijon (Inserm CIC1432, module EC). Son objectif est d'étudié les relations entre les pathologies oculaires liées au vieillissement (DMLA, glaucome, sécheresse oculaire), les pathologies neurologiques et cardiaques et l'environnement notamment en termes de modes de vie, d'alimentation, et d'exposition solaire. Elle a été approuvée par le comité de protection des personnes Est 1 et a été enregistrée sous le numéro 2009-A00448-49.

III.1- Population d'étude et modalités d'inclusion

Cette étude concerne uniquement les sujets dijonnais de l'étude 3C ayant accepté de participer au suivi à 10 ans de la cohorte 3C entre 2008 et 2009. Lors de leur visite au centre mémoire pour ce suivi, il leur a été proposé de bénéficier d'un examen ophtalmologique.

En cas d'acceptation, leur consentement écrit était recueilli. Un Technicien d'étude Clinique TEC du service d'ophtalmologie organisait ensuite le rendez-vous dans le service d'ophtalmologie, pour une visite devant durer environ 3h. Les sujets ayant bénéficié d'une IRM ont été sollicités de façon prioritaire ; 500 autres participants tirés au sort se sont vus également proposer de participer à l'étude Montrachet. Au total, 1153 sujets (900 volontaires avec une IRM et 253 sans IRM) ont accepté le bilan ophtalmologique proposé dans le cadre de cette étude.

.

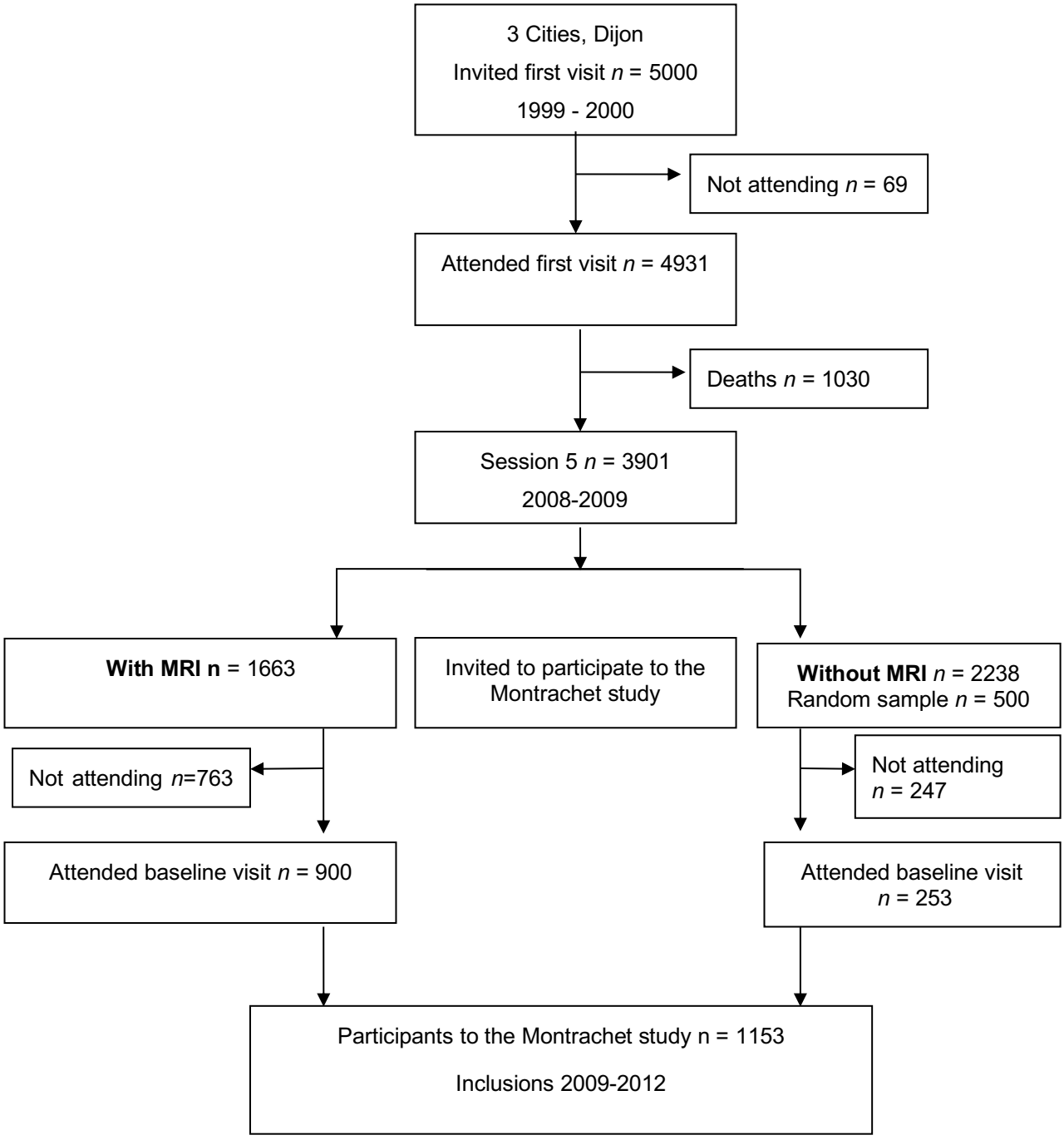


Figure 6: Flow chart illustrant le recrutement des participants dans l'étude Montrachet.

Les sujets inclus dans l'étude Montrachet étaient globalement en meilleur santé et de niveau d'éducation plus élevé que la population incluse au départ dans l'étude des 3C à Dijon. [105]

Tableau 3: Comparaison des principaux caractéristiques des participants et de non participants dans l'étude Montrachet.

	Non participants (n = 3778)	Participants (n = 1153)	p-value
Démographiques			
Age	75.7 ±5.8	71.2 ±3.8	<0.001
Sexe			0.43
Homme	1458 (38.6)	430 (37.3)	
Femme	2320 (61.4)	723 (62.7)	
IMC			<0.001
<25 kg/m^2	1738 (46.4)	594 (51.5)	
25 – 30 kg/m^2	1455 (38.9)	440 (38.2)	
>30 kg/m^2	550 (14.7)	119 (10.3)	
Niveau d'éducation			<0.001
Non instruis ou primaire	109 (2.9)	14 (1.2)	
Collège	2518 (66.6)	678 (58.8)	
Lycée	454 (12.0)	155 (13.5)	
Grandes écoles/Université	697 (18.5)	306 (26.5)	
Consommation d'alcool			0.11
Jamais	771 (20.7)	191 (16.9)	
Anciens	95 (2.6)	26 (2.3)	
actuels	2851 (76.7)	909 (80.8)	
Consommation tabac			0.16
Jamais	2302 (60.0)	738 (64.0)	
Anciens	1272 (33.7)	362 (31.4)	
Actuels	201 (5.3)	53 (4.6)	
Antécédents médicaux			
Infarctus du myocarde	212 (5.7)	26 (2.3)	<0.001
Chirugiie coronarienne	83 (2.2)	10 (0.9)	0.004
Angioplastie	65 (1.7)	9 (0.8)	0.02
Angine pectorale	362 (9.8)	59 (5.2)	<0.001
Pression artérielle systolique	150.5 [135.0; 166.0]	145.5 [130.0; 160.5]	<0.001
Pression artérielle diastolique	83.5 [76.0; 91.5]	84.5 [76.5; 91.5]	0.05
Hypertension artérielle	2586 (68.5)	608 (52.7)	<0.001
AVC	226 (6.1)	37 (3.3)	<0.001
Chute	746 (19.8)	181 (15.7)	0.002
Lipides			
Cholesterol total	5.8 [5.1; 6.5]	5.8 [5.2; 6.4]	0.73
LDL-cholesterol (mmol/l)	3.6 [3.1; 4.2]	3.6 [3.1; 4.2]	0.44
HDL-cholesterol (mmol/l)	1.6 [1.3; 1.9]	1.6 [1.4; 1.9]	0.001
Triglycerides (mmol/l)	1.1 [0.9; 1.5]	1.1 [0.8; 1.4]	<0.001
Hypolipémiants	1192 (31.6)	368 (31.9)	0.82
Diabete			
autodeclaré	329 (8.8)	57 (4.9)	<0.001
Glycémie à jeun			<0.001
<6.1 mmol/l	2961 (84.9)	1042 (91.4)	

6,1 - 7 mmol/l	134 (3.8)	30 (2.6)	
> 7 mmol/l)	391 (11.2)	68 (5.9)	
Dépression			<0.001
Non dépressif	3119 (84.1)	1022 (89.7)	
Dépressif	588 (15.9)	117 (10.3)	
Score	9.0 [4.0; 16.0]	7.00 [3.0; 13.0]	<0.001
Dépendance			<0.001
Non dépendent	3222 (86.0)	1116 (97.8)	
Dépendent	525 (14.0)	25 (2.2)	

III.2- Déroulement et pratique de l'étude

Le bilan ophtalmologique était réalisé au sein du service d'ophtalmologie du CHU Dijon-Bourgogne par des TEC spécifiquement formées avant le démarrage de l'étude, puis, une fois par an ensuite. Les données issues des examens ophtalmologiques étaient revues avec un ophtalmologiste entrainé tous les mois.

L'âge, le sexe, les antécédents ophtalmologiques personnels et familiaux, les traitements oculaires locaux et systémiques et les compléments alimentaires ont été recueillis à l'aide d'un questionnaire standardisé administré en face à face.

Les examens suivants étaient ensuite réalisés :

- Mesure de l'acuité visuelle de loin (4m) par échelle EDTRS avec correction actuelle et optimale (déterminée par autrorefractomètre) ; mesure de l'acuité visuelle de près par le test de Parinaud ; les participants incapables de lire trois lettres, étaient évalués en leur demandant de compter des doigts à 30 cm, de repérer des mouvements de la main et s'ils percevaient la lumière.

- l'évaluation du champ visuel (Frequency doubling perimetry) à l'aide du programme C-20-5 (Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA, USA) ; le test était considéré comme valide si le taux de résultats faussement positifs et les pertes de fixations étaient ≤ 33%.

- Photographies rétiniennes (rétine périphérique et macula) à l'aide d'une rétinographie après dilation pupillaire au tropicamide 0.5% (Thea, Clermont-Ferrand, France).

- Mesure de la pression intraoculaire par le tonomètre à air (Tonoref II, Nidek, Aichi, Japan).

- Evaluation de la sécheresse oculaire par le test de temps de rupture du film lacrymale (BUT) après instillation de fluorescéine (Fluoresceine Faure, 0.5% dose unique,

Novarits, rueil-Malmaison, France), le test de Schirmer I sans anesthésie (Lipo-sic-Schirmer-testsstreifen, Dr Mann Pharma, Berlin, Allemagne). Les symptômes présentés par les patients étaient également évalués par l'Ocular Surface Disease Index (OSDI ; Schiffman et al).

- Mesure de l'épaisseur cornéenne centrale par pachymètre (DGH500, DGH technology, Exton, PA, USA). La moyenne de 3 mesures successives était enregistrée pour chaque œil.

- Vérification de l'extraction ou non du cristallin et de la présence ou non d'un implant par examen à la lampe à fente biomicroscopique.

- Mesure de l'épaisseur des fibres ganglionnaires et imagerie de la rétine par Tomographie par cohérence Optique (OCT-SD ; Spectralis, Heidelberg Engineering Co., Heidelberg, Allemagne).

- Mesure de la densité optique du pigment maculaire à l'aide d'un spectromètre utilisant l'Autofluorescence du fond d'œil par le Heidelberg Retina Angiograph (HRA).

A la fin des examens, les participants devaient remplir un auto-questionnaire standardisé sur leurs habitudes de vie, leur environnement et leur alimentation ; le questionnaire de fréquence de consommation de fruits et légumes, poissons, viandes, produits laitiers et huiles alimentaires au cours l'année précédant le bilan ophtalmologique. [7] Il pouvait être rempli directement en salle d'attente ou à la maison et renvoyé par la suite. Ce questionnaire standardisé a été validé par l'étude Aliénor de Bordeaux (Annexe 3). Il était constitué de plusieurs items incluant la fréquence de consommation quotidienne : au réveil, au déjeuner, au diner et entre les principaux repas. La fréquence de consommation a été évaluée par le nombre de consommation par jour, par semaine et par mois pour chaque aliment considéré.

Ces éléments étaient complétés par une prise du sang à jeun à domicile permettant la mesure des teneurs plasmatiques en caroténoïdes, acide gras et vitamines. Après prélèvement, le sang a été séparé de ses constituants pour obtenir des échantillons de plasma qui sont conservés à -80°C au Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation (CSGA), INRA en vue de la préservation des micronutriments qui devaient être dosés par la suite.

L'ensemble des données recueillies lors de la visite en ophtalmologie ainsi que les données de l'auto-questionnaire étaient rendues anonymes et saisies (double saisie) dans une base de données dédiée sécurisée, maintenue par l'équipe du CIC-EC (INSERM CIC1432). Des contrôles réguliers informatisés ont été réalisés afin d'identifier les données manquantes

et/ou aberrantes et de permettre leur correction. Ces données ont été complétées en fin d'étude par le niveau d'éducation des participants et les autres antécédents médicaux, recueillies dans le cadre de l'étude 3C Dijon à l'inclusion pour les caractéristiques invariables et au suivi à 10 ans pour les facteurs évoluant au cours du temps. [104]

III.3- Données disponibles

Ce tableau répertorie l'ensemble des données disponibles pour les variables d'intérêts dans l'étude Montrachet et utilisées dans le cadre de cette thèse (Tableau 4).

Tableau 4: Données disponibles pour les variables utilisées dans le cadre de l'étude Montrachet qui ont servi à la réalisation de cette thèse, n=1153.

Variables	Montrachet		Thèse	
	Données disponibles		Données disponibles	
Variables d'intérêts principales	n	%	n	%
Densité optique du pigment maculaire	673	58,7	433	64,3
Profil spatial du pigment	635	55,1	635	100,0
Signes de sècheresse oculaire	1045	90,6	740	70,8
Variables d'intérêts secondaires				
Xanthophylles plasmatiques	795	68,9	433	54,5
Acides gras plasmatiques	826	71,6	740	89,6
Consommation alimentaire	1138	98,7	433	38,0

III.4- Mesure spécifique des variables d'intérêt

III.4.1- Mesures des xanthophylles circulants et vitamines

Les caroténoïdes xanthophylles ont été depuis longtemps identifiés et quantifiés dans les aliments, le sang et les tissus humains.[42] Les étapes du dosage des caroténoïdes sont l'extraction, la saponification, la séparation, la détection et la quantification. Le défaut de chacune de ces étapes peut fausser les résultats.

III.4.1.1- Extraction des caroténoïdes xanthophylles

L'extraction est la première étape de dosage, elle permet de libérer les constituants du tissu, par élimination des composants indésirables à l'aide d'une interface liquide-liquide ou liquide-solide d'extraction.[106] Cette première étape est suivie de la saponification des formes estérifiées dans certains aliments mais un solvant (hexane) est ajouté préalablement pour faciliter l'extraction. Enfin, pour éviter la perte des caroténoïdes, Howells et al. ont recommandé l'ajout au solvant d'un antioxydant comme le toluène hydroxyl-butylate. [107] La sélection de ces solvants pour l'extraction est faite selon le statut polaire des différents

caroténoïdes. Ainsi, pour les caroténoïdes non polaires on utilise l'hexane (solvant non polaire) et l'éthanol et l'acétone pour les caroténoïdes polaires (xanthophylles). La sensibilité des caroténoïdes à l'oxydation doit être aussi considérée lors de l'élaboration d'une méthode d'extraction car les caroténoïdes en solution sont très sensibles à la lumière, la chaleur, l'acide ou l'oxygène.

III.4.1.2- Saponification des caroténoïdes

Les caroténoïdes, notamment les xanthophylles sont un groupe complexe en termes de nombre des composées et de variation de leur structure. Ils se trouvent sous forme libres et estérifiées, c'est pourquoi il est intéressant de les analyser après saponification. [108] La saponification permet d'enlever les chlorophylles et les lipides dans le but de libérer les caroténoïdes pour une préparation propre à l'analyse. Elle est aussi utilisée pour l'hydrolyse des formes estérifiées des caroténoïdes. Cependant, en fonction de la nature du caroténoïde et du type d'aliment, la saponification peut entrainer la destruction ou la transformation structurelle des caroténoïdes. Rasmussen et al. ont testé la possibilité de former la mésozéaxanthine à partir de la saponification de la zéaxanthine et de lutéine standard. Cette opération s'est traduite par une formation de pics de spectres chiraux avec un temps de rétention en phase normale correspondant à ceux de la mésozéaxanthine et la zéaxanthine.[26] Selon le niveau de recouvrement des caroténoïdes, Irakli et al. ont retrouvé des recouvrements de β-carotène importants après saponification des céréales et une baisse après extraction sans saponification ; ils en ont conclu que la saponification augmenterait le recouvrement des caroténoïdes. [109] A l'inverse, Watanabe et al. n'ont trouvé aucune différence dans le contenu en caroténoïdes entre des échantillons des choux saponifiés et non saponifiés. [50]

III.4.1.3- Séparation, détection et quantification

La séparation, la détection et la quantification des caroténoïdes sont réalisées à l'aide de la chromatographie liquide à haute performance (CLHP) équipée des détecteurs des ultraviolets (UV) et barrettes de photodiode (PDA). Plus récemment, l'application de la CLHP couplée à la spectrométrie de masse s'est avérée un meilleur outil pour l'identification des caroténoïdes. Cette technique est très sensible et apporte de l'information sur la structure des caroténoïdes. [109] La chromatographie liquide utilise les colonnes C_8 et C_{18} qui sont les plus utilisés pour la chromatographie en phase inverse. Cependant, ils ont une faible résolution pour les isomères géométriques cis-trans. La colonne C_{18} offre une bonne séparation pour un large éventail d'analytes, en particulier pour ceux ayant des chaînes relativement courtes et de faibles poids moléculaires. Toutefois, les colonnes C_{30} avec plus

de chaînes alkyles, donnent une meilleure forme et une bonne sélectivité pour les analytes à longue chaîne.

Ainsi, les phases stationnaires C_{30} ont une meilleure performance pour la séparation de la forme moléculaire que les colonnes classiques C_8 et C_{18}. Mais les limites de la colonne C_{30} est qu'elle ne permet de séparer que les isomères géométriques des caroténoïdes avec une gamme limitée de polarité et leur temps d'analyse très long (60 à 100 minutes au lieu de 10 à 25 pour les colonnes C_{18}).

La chromatographie liquide à haute performance en phase inverse utilisant les colonnes C_8, C_{18}, et C_{30} est privilégiée pour la séparation des caroténoïdes isolés dans les extraits de matrices biologiques. [110] Bien que, la séparation avec la chromatographie liquide couplée aux UV a été la méthode d'analyse la plus courante pour la détermination des caroténoïdes sur le plan qualitatif et quantitatif, les spectres de nombreux caroténoïdes sont très similaires. Une autre technique couple à la CLHP est utilisée, la spectrométrie de masse. La HPLC-MS est également utilisée pour faire la distinction entre les molécules structurellement liées et leurs formes époxydes et avec des produits d'oxydation des caroténoïdes qui sont des potentiels marqueurs du stress oxydatif au profil difficile en raison de leur petite quantité et de la difficulté de les séparer des caroténoïdes hydroxyles. [49-111] En outre, une autre technique de haute performance de quantification des caroténoïdes hydroxyles et époxydes basée sur la chromatographie fluide supercritique couplée à la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) existe. Cette technique est très sensible et rapide (20 mn) et nécessite un volume d'échantillon faible (0,1 ml). [111]

Dans ce travail de thèse, les xanthophylles, les acides gras et les vitamines circulants ont été dosés par la suite par la méthode de chromatographie liquide à haute performance en phase liquide (HPLC) couplée à un détecteur à barrettes de diode et la chromatographie en phase gazeuse (acides gras).

La lutéine et la zéaxanthine étaient extraites sous lumière jaune à partir de 200 µL de plasma puis mélangées avec 200 µL d'éthanol absolu et 40 ng échinénone (standard interne). L'extraction était ensuite poursuivie sous la lumière jaune avec à l'ajout de 500 µL d'hexane et mélangée pendant 1 minute sous vortex. Le prélèvement de la phase supérieure s'est effectué deux fois après centrifugation pendant 5 minutes soumises à évaporation à sec sous flux d'azote sans chauffer. Puis l'extrait sec a été suspendu dans 200 µL de la phase mobile utilisée pour l'analyse chromatographique avec HLPC. La séparation a été faite en présence de l'hexane, du méthanol, d'acétonitrile, d'eau ultra pure et du dichlorométhane. Le détecteur à barrettes de diode permet un balayage de 200 à 600 nm.

La lutéine et la zéaxanthine étaient détectées grâce à leur spectre absorption à 450 nm et l'alpha et le gamma tocophérols à 298 nm. Puis, les analytes ont été identifiés par leur spectre d'absorption et leur temps de rétention. Les temps de rétention des analytes étaient pour la lutéine (7,5 min), zéaxanthine (7,8 min), γ-tocophérol et l'α-tocophérol (19,6 min) et l'échinénone 30 min. Ainsi, l'aire sous la courbe de chaque molécule rapportée à celle du standard interne est obtenue pour la quantification. Une courbe de calibration pour chaque molécule est obtenue en analysant la gamme croissante du standard de chaque analyte, à la concentration de standard interne fixe et équivalente à celle utilisée pour l'analyse des échantillons.

La gamme d'étalonnage obtenue a permis de tracer la courbe de calibration en fonction du rapport des surfaces entre la lutéine, la zéaxanthine, l'alpha et le gamma tocophérols d'une part et l'échinénone d'autre part en fonction des quantités de composés. Ensuite, nous avons étudié la linéarité de la courbe d'étalonnage des différentes molécules qui nous a donné un coefficient de corrélation supérieur à 99%. Les concentrations de la lutéine, la zéaxanthine et celle de l'alpha et gamma tocophérols étaient exprimées en µg/L. Plusieurs paramètres de l'analyse ont été mesurés : les limites de détection et de quantification des molécules, ainsi que la répétabilité et la reproductibilité de la méthode de mesure.

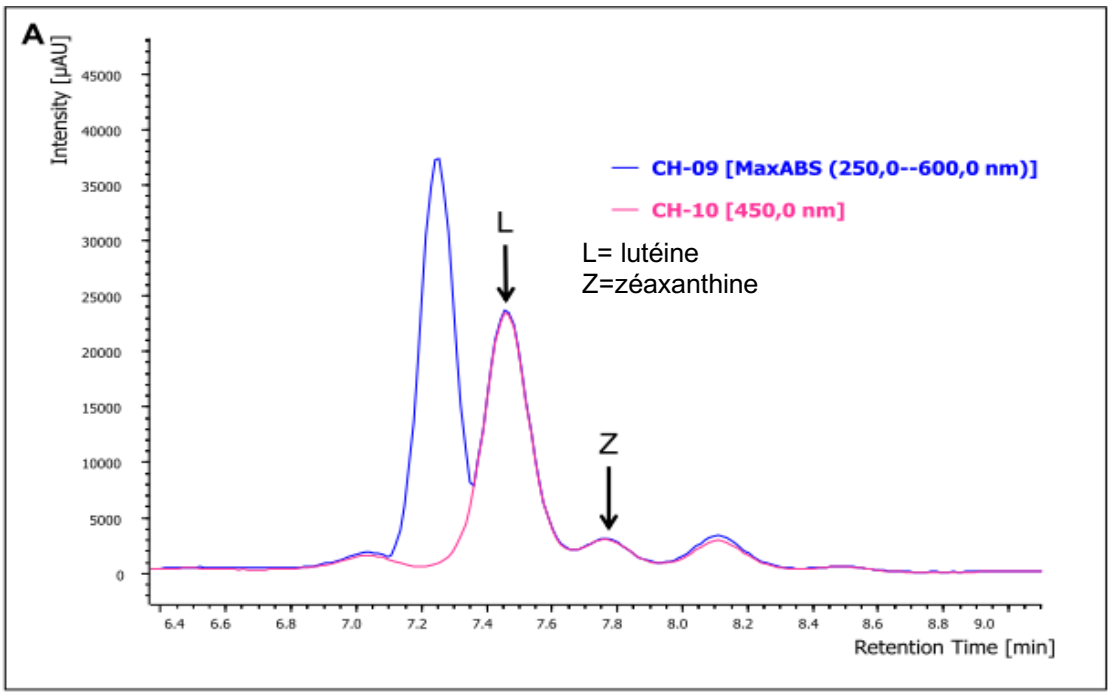


Figure 7: Temps de rétention de la lutéine et la zéaxanthine.

III.4.1.4- Acides gras plasmatiques

Les aides gras plasmatiques ont été extraits à partir du plasma à jeun par la méthode de chromatographie gazeuse décrite précédemment. [112] Les extrait lipidiques ont été placés sous gaz inerte jusqu'à l'analyse. Les lipides totaux ont été transmethylés avec du méthanol en utilisant le triofluride de bore.[113] Les esters méthyles méthyliques d'acides ont ensuite étaient extraits avec de l'hexane puis analysés par la chromatographie en phase gazeuse Hewlett Packard Modèle 5890 (Palo Alto, CA, USA) utilisant une colonne CPSIL-88 (100m 0.25mm, Varian, Les UNI, France) équipée d'un détecteur à ionisation de combustion. De l'hydrogène a été utilisé comme du gaz porteur (pression d'entrée 210 kPa). La température du four a été maintenue à 60°C pendant 5 min puis augmentée à 165°C à 15°C/min et maintenue pendant 1 mn et ensuite à 225°C à 2°C/mn et enfin à 210°C pendant 17mn. L'injecteur et détecteur ont été maintenus à 250°C. Les acides gras méthyl-estérifiés ont par la suite été identifiés par comparaison avec les normes commerciales et synthétiques. Les données ont été traitées à l'aide du logiciel EZChrom Elite (Aligent technologie Massy, France). Les concentrations plasmatiques des acides gras étaient exprimées en pourcentage d'acides gras totaux.

III.4.2- Mesure de la densité optique du pigment maculaire

III.4.2.1- Spectrométrie par Autofluorescence

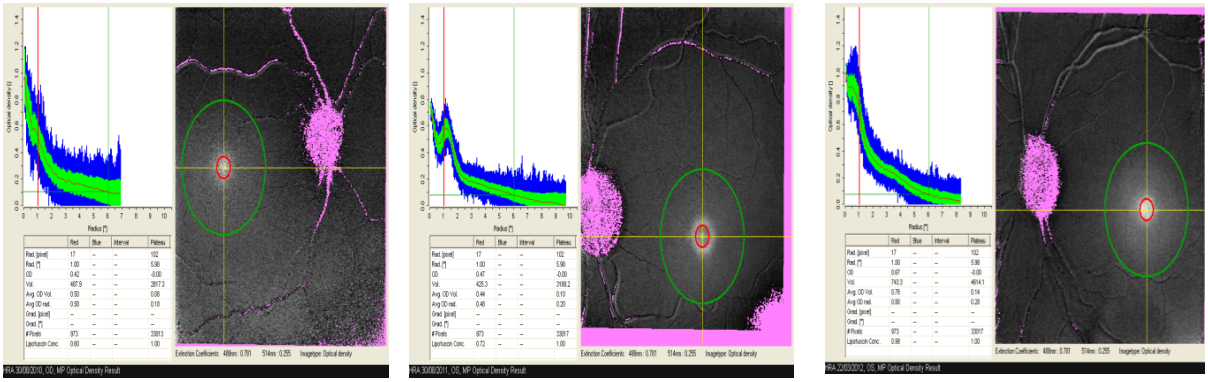
C'est l'une de méthode récente de mesure quantitative et qualitative du pigment maculaire in vivo. Elle est non invasive et est largement utilisée dans des nombreuses études. [114,115] Delori FC a été le premier à développer cette technique dans le but initial de mesurer la lipofuscine au niveau de l'épithélium pigmentaire rétinien. La lipofuscine est un déchet de la phagocytose du segment externe des photorécepteurs qui s'accumule avec l'âge. [116] Lorsqu'elle est excitée avec des longueurs d'onde de 400 à 590 nm, la lipofuscine devient fluorescente et émet de la lumière de l'ordre de 520 à 800 nm. [114] La lipofuscine est le principal fluorophore de l'autofluorescence au niveau de la macula, c'est qui a permis de mesurer la densité optique du pigment maculaire. Dans une étude réalisée par *Sasamota et al*. chez les personnes atteintes de la choriorétinopathie centrale séreuse, cette technique a montré une reproductibilité élevée en raison de sa fiabilité et de sa validité pour la mesure du pigment maculaire. [115]

Parmi les méthodes de spectrométrie par autofluorescence, l'angiographie rétinienne de Heidelberg modifiée (HRA) et l'ophtalmoscope laser à balayage modifié utilisant deux longueurs d'ondes autofluorescentes est la plus utilisée en pratique clinique ; elle donne des valeurs du pigment maculaire plus élevées que d'autres techniques. [65, 115, 117-119] Comparée à

la photométrie minimum par mouvement (psychophysique), elle est plus rapide et à l'avantage d'être non invasive et est adaptée pour les personnes âgées puisque aucune coopération du sujet n'est nécessaire. [120]

En pratique dans ce travail, la densité optique du pigment maculaire a été mesurée par (HRA) (Spectralis, Heidelberg Engineering Co.). Chaque participant était positionné devant la caméra d'un angiographe confocal à balayage laser (HRA1 modifié, Heidelberg Retina Angiograph, Heidelberg Engineering, Allemagne). La localisation de la région maculaire a été faite par séquence de 20° après dilatation de la pupille. Les images ont été captées par autofluorescence à 488 nm et 514 nm à 30 secondes d'intervalle. La cartographie de la densité du pigment maculaire est obtenue après soustraction de deux images digitalisées du fond d'œil. Les valeurs moyennes de la densité optique du pigment ont été calculées à 0°, 0.5°, 1°, 2° et 6° d'excentricité de la rétine par le logiciel d'analyse des données fourni par le fournisseur. [65] La densité du pigment maculaire a été exprimée en unité de densité (UD).

La distribution spatiale du pigment maculaire a été établie à partir d'une cartographie de la densité optique du pigment maculaire du centre de la fovéa vers la périphérie. L'acquisition de cette cartographie a permis d'identifier 3 types de profils sur la totalité de l'aire maculaire : un profil typique avec une courbe progressivement décroissante, un profil atypique avec un second pic à (ringlike) à 0,8° d'excentricité de la rétine et un profil intermédiaire (sans ringlike ni typique). [121]



Profil rectiligne | Profil en anneau | Profil intermédiaire

Figure 8: Les trois types de profils spatiaux du pigment maculaire dans l'étude Montrachet.

IV- RESULTATS

IV.1- PARTIE A – Densité du Pigment Maculaire : description et déterminants dans une population française de 75 ans et plus

IV.1.2- Etude de la densité optique du pigment maculaire en population âgée indemne de pathologie oculaire

1.1- Introduction

Comme nous l'avons vu dans l'introduction, dans des populations de moins de 60 ans sans atteinte maculaire, la densité optique du pigment maculaire semble être liée aux taux plasmatiques de lutéine et de zéaxanthine et au niveau de consommation d'aliments riches en caroténoïdes xanthophylles. [80, 122,123] Cependant, cette relation peut dépendre de plusieurs facteurs tels que la biodisponibilité des caroténoïdes et le métabolisme des lipides, qui peuvent être altérés par l'âge. Il n'est donc pas évident que ces relations persistent en population âgée de 75 ans et plus. En outre, à ce jour, aucune étude n'a été réalisée en France pour décrire la DOPM, sa répartition spatiale, les concentrations plasmatiques des xanthophylles plasmatiques alors que la distribution de ces paramètres pourrait donner une estimation des niveaux à attendre dans cette population et fournir ainsi des données utiles à la planification d'études au sein de populations âgées.

1.2- Objectifs

Objectif principal

Afin de combler cette première lacune nous avons initié une première étude dont l'objectif principal est de décrire le taux plasmatique de la lutéine, zéaxanthine et vitamine E plasmatiques, la fréquence de consommation des aliments riches en xanthophylles et la densité optique du pigment maculaire chez des sujets âgés de 75 ans et plus sans signe de dégénérescence oculaire inclus dans l'étude Montrachet.

Objectifs secondaires

- Etudier les relations entre la densité optique du pigment maculaire et les teneurs plasmatiques en lutéine, zéaxanthine et vitamine E dans cette population.
- Evaluer la relation entre la densité du pigment maculaire et les données de fréquence de la consommation alimentaire des sujets dans l'année précèdent l'examen ophtalmologique.

- Evaluer la relation entre les teneurs plasmatiques en lutéine, zéaxanthine et les données de fréquence de consommation alimentaire riches en lutéine et zéaxanthine des sujets dans l'année précédant l'examen ophtalmologique.

1.3- Méthode

Population d'étude

La population d'étude correspondait pour cette analyse à l'ensemble des participants à l'étude Montrachet :

- Indemnes de toute pathologie oculaire (pathologie inflammatoire, cataracte ou maculopathie liée à l'âge)

- Pour lesquels avaient pu être dosées les concentrations plasmatiques de lutéine et zéaxanthine, la vitamine E

- avec une mesure valide de la DOPM

Sur les 1153 participants de l'étude Montrachet, 140 soit 12% correspondaient à ces critères (figure 9).

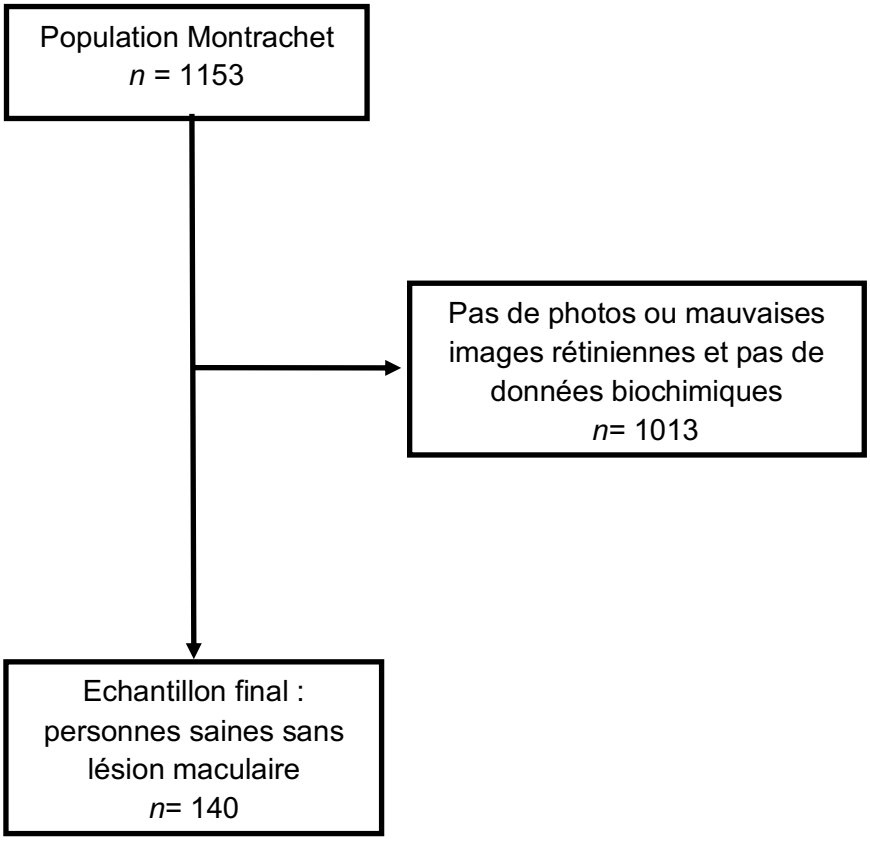
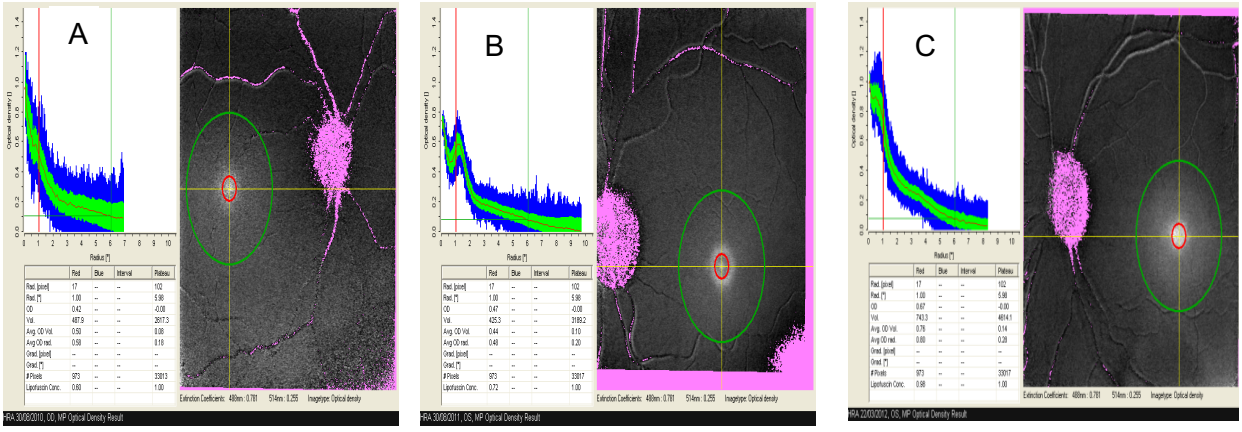


Figure 9: Flowchart illustrant la constitution de l'échantillon d'analyse (Etude Montrachet).

Par rapport aux participants à l'étude Montrachet les sujets inclus dans cette analyse avaient un BMI moins élevé et se protégeaient plus souvent du soleil. Les éléments complets de cette comparaison figurent en annexe 1.

Variables d'intérêt

La variable d'intérêt principale était la DOPM mesurée par HRA à 0.5° de la fovéa. La DOPM à 0°, 1°, 2° et 6° ont été également utilisées pour déterminer le profil de répartition spatiale. Le profil « typique » correspondait à une décroissance constante de la DOPM du centre de la fovéa vers la périphérie (figure 10A) ; un profil atypique regroupait l'existence d'un profil en anneau, caractérisé par un pic de DOPM à 0.8° (figure 10B) ou d'un profil intermédiaire caractérisé par l'absence du second pic et de déclin monotone de la DOPM (figure 10C).



Profil rectiligne Profil en anneau Profil

Figure 10: Profil de distribution spatiale du pigment maculaire dans la population Montrachet.

Le profil de répartition spatiale de la DOPM a été établi par deux investigateurs entrainés. La concordance était bonne (coefficient kappa à 0.79 ; IC-95%=0.64-0.95). Les taux plasmatiques de lutéine, zéaxanthine et de vitamine E ont été déterminés à partir du protocole décrit dans la partie III de la thèse. Les données de consommation alimentaire sont dérivées de l'auto-questionnaire standardisé décrit précédemment et figurant en annexe 3. Ce questionnaire permettrait de recueillir la consommation moyenne d'aliments riches en caroténoïdes xanthophylles. Pour cette analyse, chaque variable de fréquence de consommation alimentaire, nous avons regroupé ces fréquences en 4 catégories : 1) jamais ou une fois par mois, 2) entre 2 et 3 fois par mois, 3) entre 1 et 3 fois par semaine, 4) au moins 4 fois par semaine puis en deux catégories :1) jamais ou une fois par mois et 2) plus de 3 fois par semaine afin de disposer d'effectifs suffisants pour les comparaisons.

Analyse statistique

Les données ont été décrites en termes de fréquence pour les données qualitatives. Les données quantitatives ont été décrites en termes de moyenne ± écart-type en cas de distribution normale et en termes de médiane et d'intervalle interquartile (IQ) pour les variables non gaussiennes. La normalité a été testée à l'aide du test de Shapiro-Wilk. L'écart à la normalité était considéré comme significatif si la p-value était <0,01.

Les comparaisons de moyennes et/ou de médiane ont été réalisées à l'aide d'analyse de variance ou de test de Kruskall-Wallis en fonction des conditions d'application. Les comparaisons de fréquences ont été réalisées à l'aide du test du Chi2 ou du test exact de Fisher en fonction des conditions d'applications. Par ailleurs, les corrélations entre variables quantitatives ont été estimées par le coefficient de corrélation de Pearson en cas de distribution normale et par le coefficient de corrélation de Spearman dans le cas contraire. Le seuil de significativité a été fixé à 0,05 pour l'ensemble des analyses.

Résultats

L'âge moyen de cette population sans anomalie oculaire était de 82,2±3,9 ans (étendue 75-92 ans). Elle était composée majoritairement de femmes (67,1%). Environ 1/3 des participants avaient une formation de niveau bac+2 ou plus. Seulement 2% étaient supplémentés en lutéine et/ou zéaxanthine.

La DOPM à 0.5° était en moyenne de 0,71 ± 0,19 DU.

Tableau 5: Niveau moyen de la DOPM du centre vers la périphérie de la fovéa

DOPM, unité de densité (UD)	Moyenne ± ET
0°	0,93 ± 0,20
0,5°	0,71 ± 0,19
1°	0,59 ± 0,17
2°	0,36 ± 0,12
6°	0,08 ± 0,03

Tableau 6: Concentrations plasmatiques des xanthophylles et de la vitamine E.

Lutéine, µg/L, Médiane [IQR]	263,4 [172,85;410,25]
Zéaxanthine, µg/L, Médiane [IQR]	19,44 [12,99;28,69]
α-tocophérol, µg/L, Moyenne ± ET	11,51 ± 3,29
γ-tocophérol, µg/L, Médiane [IQR]	0,64 [0,39;0,96]

Les graphiques suivants représentent les fruits et légumes majoritairement consommés dans cette population.

Dans cette population âgée, les oranges, pois, nectarines, abricots, prunes et pruneaux, raisins sont majoritairement consommés.

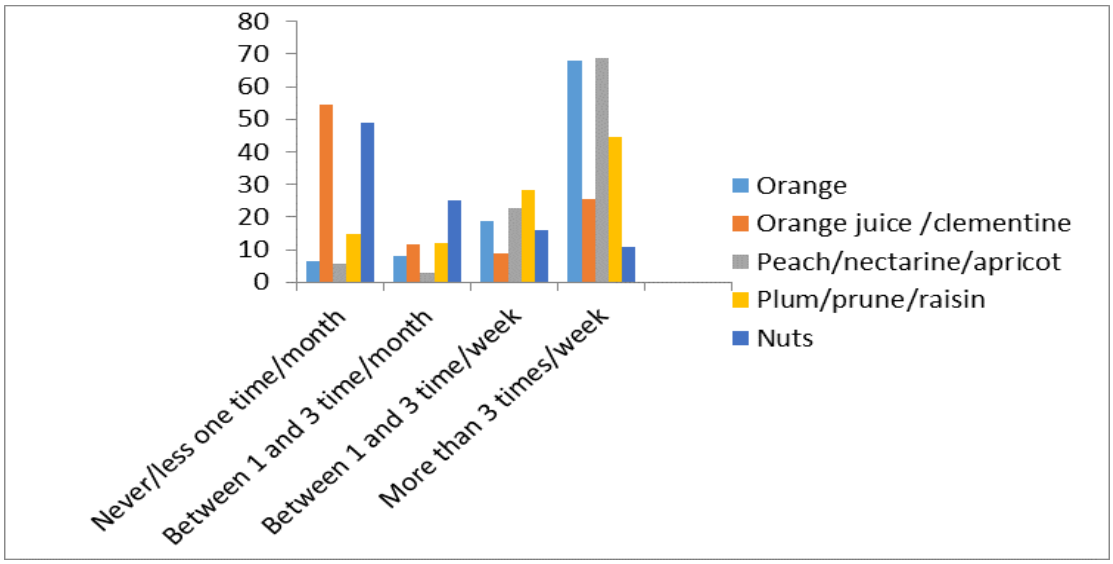


Figure 11: Fréquences de consommation des principaux fruits dans la population âgée.

La soupe des légumes, tomates, salades, courges et haricots verts sont fréquemment consommés dans cette population âgée.

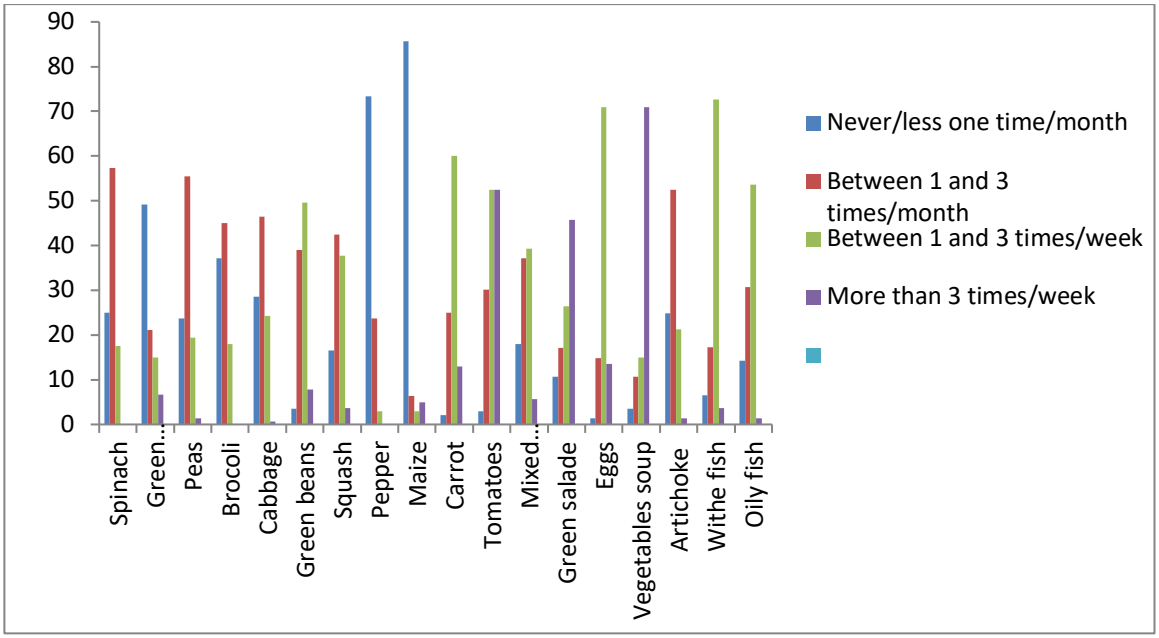


Figure 12: Fréquences de consommation des légumes, poisson et œufs dans la population âgée.

Caractéristiques des participants et la densité optique du pigment maculaire

Aucune variation significative de DOPM n'était mise en évidence en fonction des caractéristiques des sujets inclus.

Tableau 7: Densité optique du pigment maculaire et les xanthophylles plasmatiques selon les caractéristiques des participants, n=140.

	DOPM à 0,5°			Lutéine		Zéaxanthine	
	N (%)	Moyenne ± ET	P	Médiane [IQR]	P	Médiane [IQR]	P
Age, année							
≤80	48 (34,3)	0,74±0,20		239,8 (163,7-357,5)	0,41	18,1 (13,2-25,3)	0,46
80-85	58 (41,4)	0,69±0,20	0,33	291,6 (201,9-443,3)		24,0 (12,8-31,0)	
>85	34 (24,3)	0,70±0,18		266,1 (141,5-451,5)		18,4 (12,8-26,7)	
Sexe							
Homme	46 (35,9)	0,74±0,20	0,16	254,5 (159,1-368,5)	0,74	17,3 (10,3-28,8)	0,15
Femme	94 (67,1)	0,69±0,19		272,0 (177,7-432,0)		21,9 (14,9-28,6)	
IMC, kg/m²							
<25	84 (60,0)	0,71±0,20	0,73	271,9 (172,2-432,1)	0,844	19,4 (16,7-28,7)	0,88
≥25	56 (40,0)	0,72±0,19		261,4 (173,8-401,2)		19,6 (13,5-28,7)	
Statut tabagique							
Jamais	98 (70,5)	0,71±0,20	0,74	266,1 (170,8-432,2)	0,854	19,4 (14,1-27,7)	0,92
Actuel ou ancien	41 (29,5)	0,70±0,19		263,5 (173,7-356,3)		19,8 (12,3-33,2)	
Consommation d'alcool	29 (20,7)						
Jamais	117 (83,6)	0,72±0,20	0,48	272,7 (178,3-432,2)	0,22	19,5 (13,3-28,6)	0,74
Actuel ou ancien	23 (16,4)	0,68±0,16		224,3 (134,9-356,3)		17,2 (12,9-33,2)	
Niveau d'éducation							
Non instruis/ primaire	38 (27.1)	0,74±0,21		252,0 (170,8-368,4)	0,94	18,5 (12,1-27,7)	0,34
Collège	23 (16.4)	0,69±0,20	0,72	297,6 (141,5-453,9)		17,0 (12,3-24,8)	
Lycèe	29 (20.7)	0,71±0,17		258,3 (186,0-325,7)		18,2 (14,1-25,0)	
Grandes écoles/Université	50 (35.7)	0,70±0,21		261,4 (172,0-432,0)		22,0 (15,2-33,2)	
Couleur des yeux							
Bleu	70 (50.0)	0,74±0,19		295,4 (180,9-431,9)	0,54	18,3 (14,7-28,6)	0,79
Vert	42 (30.0)	0,69±0,17	0,14	251,1 (167,9-366,9)		22,1 (14,1-26,7)	
Brun foncé	28 (20.0)	0,66±0,24		230,8 (133,8-486,9)		22,5 (9,0-32,2)	
Protection solaire							
Jamais	9 (6.5)	0,69±0,27		348,2 (248,8-605,6)	0,31	16,7 (10,3-24,7)	0,71
Occasionnellement	38 (27.3)	0,77±0,19	0,09	291,6 (182,0-432,2		18,5 (16,5-24,6)	
Souvent	92 (66.2)	0,69±0,19		249,8 (155,5-402,6)		220 (12,2-33,8)	

Aucune corrélation significative de la DOPM n'était retrouvée avec les taux plasmatiques de lutéine, de zéaxanthine et de vitamine E. par contre la lutéine et zéaxanthine étaient corrélées positivement aux taux d'alpha-tocophérol (r=0,44, p=0,0001 et r=0,39, p=0,0001).

Tableau 8: Corrélation entre les xanthophylles et vitamine E plasmatiques et la DOPM à 0,5°.

	Lutéine	Zéaxanthine	α-tocophérol	γ-tocophérol
DOPM à 0,5°	0,03 (0,748)	-0,04 (0,629)	0,07 (0,665)	0,01 (0,935)
Lutéine		0,37 (<0,0001)	0,44 (<0,0001)	0,07 (<0,397)
Zéaxanthine			0,39 (<0,0001)	-0,09 (<0,306)
α-tocophérol				0,19 (<0,023)
γ-tocophérol				

Aucune relation significative n'était retrouvée non plus entre DOPM et consommation de l'un ou l'autre des aliments riches en caroténoïdes xanthophylles étudiés.

Caractéristiques des participants, teneurs des xanthophylles et vitamine E et profil spatial du pigment maculaire

Le profil typique avec déclin monotone de la DOPM a été observé chez 71,4% des sujets alors que les profils atypiques annulaires et intermédiaires) ont été observés chez 13,6% et 15,0% des sujets, respectivement. Les sujets ayant des profils atypiques avaient des taux plasmatiques de lutéine et d'alpha-tocophérol inférieurs à ceux ayant des profils typiques (p = 0,023 et p = 0,022, respectivement).

Tableau 9: Caractéristiques des participants sans lésion maculaires selon le profil spatial du pigment maculaire dans Montrachet, n=140.

	Profil spatial		
	Typique n=100	Atypique* n=40	P-value
Age, année			
≤80	30 (30,0)	18 (45,0)	
80-85	44 (44,0)	14 (35,0)	0,25
>85	26 (26,0)	8 (20,0)	
Sexe			
Homme	32 (32,0)	14 (35,0)	0,73
Femme	68 (68,0)	26 (65,0)	
IMC, kg/m²			
<25	55 (55,0)	29 (72,5)	0,06
≥25	45 (45,0)	11 (27,5)	
Statut tabagique			
Jamais	71 (71,7)	27 (67,5)	0,62
Actuel ou ancien fumeurs	28 (28,3)	13 (32,5)	
Consommation d'alcool			
Jamais	83 (83,0)	34 (85,0)	0,77
Actuel ou ancien	17 (17,0)	6 (15,0)	
Niveau d'éducation			
Non instruis ou primaire	29 (29,0)	9 (22,5)	
Collège	14 (14,0)	9 (22,5)	0,57
Lycèe	22 (22,0)	7 (17,5)	
Grandes écoles/Université	35 (35,0)	15 (37,5)	
Couleur des yeux			
Bleu	53 (53,0)	17 (42,5)	
Vert	32 (32,0)	10 (25,0)	0,06
Brun foncé	15 (15,0)	13 (32,5)	
Protection solaire			
Jamais	5 (5,0)	4 (10,2)	
Occasionnellement	29 (29,0)	9 (23,1)	0,45
Souvent	66 (66,0)	26 (66,7)	
L, µg/L, médiane [Q1;Q3]	295,42 [185,41 ; 437,73]	205,08 [114,32;369,01]	**0,02**
Z, µg/L, médiané [Q1;Q3]	20,39 [14,78;28,14]	18,26 [9,81;34,72]	0,53
α-tocopherol, µg/ML, mean ± SD	11,90 ± 3,15	10,50±3,45	**0,02**
γ-tocopherol, µg/ML, mean ± SD	0,66 [0,39;0,99]	0,61 [0,41;0,82]	0,59

Données manquantes : tabac (n=1), Protection solaire (n=1), consommation d'alcool (n=1)
L: lutéine Z: Zéaxanthine, BMI: Indice de masse corporelle

* Profil atypique= profiles ring-like et intermédiaire.

1.4- Discussion

À notre connaissance, il s'agit de la première étude à décrire la DOPM, sa répartition spatiale, ainsi que ses liens avec les taux plasmatiques de caroténoïdes xanthophylles et l'alimentation chez des sujets sans pathologie oculaire de 75 ans et plus. Notre population, bien que sélectionnée pour répondre à notre questionnement, est issue de la population générale et réside dans un département dont la majorité des caractéristiques se situe dans la moyenne française. Ces valeurs peuvent donc constituer des estimations utiles des valeurs pouvant être attendues en population « saine » âgée.

Les valeurs moyennes de DOPM trouvées dans cette étude étaient relativement élevées par rapport aux données de la littérature disponible dans des populations âgées d'Europe de l'ouest [125,126] non sélectionnées sur leur état de santé oculaire. De la même façon, les taux plasmatiques de lutéine et de zéaxanthine trouvés dans notre étude étaient relativement plus élevés que ceux trouvés dans d'autres études. [9,80] Ces résultats sont à mettre en regard avec une consommation relativement élevée de fruits et de légumes dans cette population au niveau d'éducation plus élevée et en meilleur santé que la population incluse dans l'étude Montrachet, elle-même en meilleur santé que la population initiale de 3C. [105] Cependant, il n'est pas impossible que les sujets aient répondu au questionnaire de fréquence alimentaire en surestimant leur consommation d'aliments dits « sains » et en particulier de fruits et de légumes, mais aussi leurs taux des xanthophylles plasmatiques étaient également élevés.

En ce qui concerne la distribution spatiale du pigment maculaire, nous avons observé un profil très majoritairement typique de distribution du pigment maculaire. Ce résultat est comparable avec ce qui a pu être retrouvé dans la littérature sur des populations âgées. [121] Nous avons trouvé des faibles taux de lutéine et d'alpha-tocophérol chez les sujets présentant un profil atypique. Ceci pourrait être expliqué par la faible concentration de lutéine au centre de la fovéa. Nous faisons l'hypothèse que la faible concentration d'alpha-tocophérol trouvée chez les sujets avec profil ringlike pourrait être liée à la corrélation positive d'alpha-tocophérol avec la lutéine dans cette étude qui elle-même était faible chez les sujets avec profil ringlike. Toutefois, l'effet de la vitamine E mérite d'être élucidé.

Nous n'avons pas pu mettre en évidence d'association significative entre les taux plasmatiques de caroténoïdes xanthophylles et la DOPM, mais ceci peut être en partie dû à un manque de puissance et surtout de variabilité au sein de cette population très sélectionnée. Cependant, nous ne pouvons pas écarter que ce résultat soit aussi en lien avec une modification de l'absorption, du transport et plus généralement du métabolisme des caroténoïdes avec l'âge.

En résumé cette première étude fournit des données de référence concernant la densité optique du pigment maculaire, sa répartition spatiale, et les taux plasmatiques de lutéine, zéaxanthine et vitamine E dans une population âgée de 75 ans et plus indemne de pathologie oculaire. Ces données pourront contribuer à planifier de futures études en fournissant les données qui peuvent être attendues dans des groupes de témoins « sains » âgés. Elle montre aussi que si la répartition spatiale du pigment maculaire est conforme à ce qui peut être attendu dans une population âgée, la DOPM à 0,5° d'excentricité et les taux plasmatique des caroténoïdes xanthophylles sont plus élevés en l'absence de pathologie oculaire.

IV.1.3- Association entre les teneurs plasmatiques de lutéine, zéaxanthine, alimentation et densité optique du pigment maculaire dans une population âgée : étude Montrachet (*Alassane S et coll, IOVS 2016*)

1.1- Introduction

Avec l'âge, le métabolisme des micronutriments notamment les xanthophylles circulants et de lipoprotéines qui les transportent peut être altéré et affecté leur disponibilité au niveau de la macula, Ceci pourrait entrainer une diminution du pigment maculaire, barrière protectrice essentielle de la rétine.[125] et favoriser le développement de pathologies rétiniennes dégénératives telles que la DMLA. [9] Cela pourrait également remettre en cause l'hypothèse selon laquelle une augmentation de la consommation d'aliments riches en caroténoïdes xanthophylles constitutifs du pigment maculaire et/ou une supplémentation en ces micronutriments augmente les taux plasmatiques correspondants et la densité optique du pigment maculaire, Or cette hypothèse sous-tend les interventions visant à prévenir la survenue des MLA et de leur progression. La vérification de cette hypothèse en population âgée de 75 ans et plus est donc cruciale. Cependant, il est indispensable de tenir compte des facteurs pouvant altérer la mesure de la densité optique du pigment maculaire comme les antécédents de chirurgie de la cataracte, comme des facteurs pouvant modifier le métabolisme des caroténoïdes comme les acides gras polyinsaturés.

1.2- Objectif

L'objectif de ce second travail était donc d'étudier les relations d'une part, entre les teneurs plasmatiques en lutéine et zéaxanthine et d'autre part, la fréquence de consommation des fruits et légumes et la DOPM dans une population âgée française, tout en tenant compte des principaux facteurs de confusion potentiels.

Cette étude transversale a pu être menée chez 433 personnes âgées de 75 ans et plus, participants à l'étude Montrachet et pour lesquelles nous disposions à la fois des mesures de DOPM, des taux plasmatiques de lutéine et de zéaxanthine et des données de consommations alimentaires.

1.3- Publications et communications relatives à l'étude

Cette étude a donné lieu à un article publié dans *Investigative Ophtalmology & Visual science (Alassane et coll, Invest Ophthalmol Vis Sci 2016 ;57 :1160-7*). Elle a également donné lieu à une communication orale au 24ème forum des jeunes chercheurs de l'université de Bourgogne-Franche-Comté, Juin 2018.

Relationships of Macular Pigment Optical Density With Plasma Lutein, Zeaxanthin, and Diet in an Elderly Population: The Montrachet Study

Seydou Alassane,[1–4] Christine Binquet,[1] Vanessa Cottet,[1,5] Olivier Fleck,[6] Niyazi Acar,[2–4] Sandrine Daniel,[1] Cécile Delcourt,[7,8] Lionel Bretillon,[2–4] Alain M. Bron,[2–4,6] and Catherine Creuzot-Garcher[2–4,6]

[1]INSERM, CIC 1432, Clinical Epidemiology Unit, Dijon, France; University Hospital, Clinical Center Investigation, Clinical Epidemiology/Clinical trials Unit, Dijon, France
[2]INRA, UMR1324 Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation, Dijon, France
[3]CNRS, UMR6265 Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation, Dijon, France
[4]Université Bourgogne Franche-Comté, Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation, Dijon, France
[5]INSERM, U866, Epidemiology and Clinical Research in Digestive Oncology Team, Dijon, France; Burgundy and Franche-Comté University, UMR866, Dijon, France
[6]Ophthalmology Department, Dijon University Hospital, Dijon, France
[7]University Bordeaux, ISPED, F-33000 Bordeaux, France
[8]INSERM, Centre INSERM U897-Epidemiologie-Biostatistique, F-33000 Bordeaux, France

Correspondence: Catherine Creuzot-Garcher, Service d'Ophtalmologie, CHU Dijon, 14 Rue Gaffarel, 21000 Dijon, France; catherine.creuzot-garcher@chu-dijon.fr.

Submitted: August 20, 2015
Accepted: February 5, 2016

Citation: Alassane S, Binquet C, Cottet V, et al. Relationships of macular pigment optical density with plasma lutein, zeaxanthin, and diet in an elderly population: the Montrachet study. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2016;57:1160–1167. DOI:10.1167/iovs.15-18007

Purpose. To investigate the association of macular pigment optical density (MPOD) with plasma lutein, zeaxanthin, and diet in an elderly population.

Methods. We conducted a population-based study, the Montrachet (Maculopathy Optic Nerve, nuTRition neurovAsCular, and HEarT disease) study, in subjects older than 75 years. The MPOD was measured by means of the two-wavelength autofluorescence technique. Plasma lutein and zeaxanthin were measured in fasting blood samples using HPLC. Food frequency consumption was assessed with self-reported food frequency questionnaires.

Results. Overall, 433 healthy participants (62.1% females) were included. Mean age was 82.0 ± 3.6 years. Mean MPOD at 0.5° eccentricity was 0.57 ± 0.25 density units (DU) and was higher in women than in men (0.59 ± 0.25 vs. 0.53 ± 0.25, $P = 0.017$). The MPOD was lower in alcohol consumers than in non-alcohol consumers (0.55 ± 0.25 vs. 0.61 ± 0.25, $P = 0.016$). Median plasma lutein and zeaxanthin levels were 281.4 µg/L and 20.0 µg/L, respectively, and were higher in women ($P = 0.010$ and $P = 0.003$, respectively). The MPOD was positively correlated with plasma lutein and zeaxanthin ($r = 0.10$, $P = 0.030$ and $r = 0.11$, $P = 0.027$, respectively). A higher consumption of squash was associated with higher plasma lutein and zeaxanthin. Adjusting for confounders and diet revealed that MPOD was weakly associated with plasma lutein in nonsmokers ($\beta = 0.11$, $P = 0.021$).

Conclusions. This study suggests that plasma lutein is associated with MPOD after taking into account potential confounding factors in an elderly population.

Keywords: macular pigment optical density, lutein, zeaxanthin, diet, elderly, population-based study

Increased life expectancy is a major characteristic of modern populations.[1] However, aging has long been recognized as a risk factor for life-threatening cardiovascular and neurologic diseases; for example, and diseases impacting quality of life such as osteoporosis, dementia, and eye diseases.[2] Age-related eye diseases are a burden for the economy and a major cause of moderate to severe visual impairment and blindness.[3] Age-related macular degeneration (AMD) has a high prevalence, up to 36% after 85 years of age for early AMD,[4] and could affect 196 million people by 2020 and 288 million by 2040.[5] Several risk factors have already been identified, both genetic and environmental.[6] Oxidative stress is involved in the pathogenesis of AMD related to the retina's high consumption of nutrients and oxygen and its exposure to light. To counteract the deleterious effects of free radicals to the retina, macular pigment (MP) made up of three main carotenoids, lutein (L), zeaxanthin (Z), and meso-zeaxanthin, constitutes a barrier to blue-light damage and has antioxidant properties.[7] Many epidemiological and interventional studies have assessed carotenoid intake and content through dietary questionnaires or plasma L and Z measurements, finding that the consumption and plasma levels of L are inversely correlated with the risk of AMD.[8] Macular pigment optical density (MPOD) is a measurement of MP and can be assessed with different techniques.[9] However, the associations between MPOD measured in the retina and L and Z found in the diet and plasma are weak.[10] The imprecision of food questionnaires and the variations of the techniques used to assess MP are partly responsible for this

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License.

Downloaded From: http://arvojournals.org/ on 03/22/2016

weak relation. Although controversial,[11] it has been reported that higher MPOD is associated with lower risk of AMD.[12–14] Macular pigment optical density is dependent on the nutritional intake of the two main macular xanthophylls (L and Z) but also on many influencing factors. The MPOD measurement technique can be influenced by lens status, and higher MPOD levels have been found in pseudophakic than in phakic individuals.[15] In addition, various confounding factors are associated with carotenoid metabolism such as adipose tissue that can compete with the retina to store carotenoids[16] and polyunsaturated fatty acids (PUFAs) also interacting with L and Z pathways.[17]

To clarify the relationships between MP and dietary and plasma L and Z, we investigated these parameters in the participants of a population-based study undertaken in people older than 75 years.

Materials and Methods

Study Design and Population Study

The Montrachet study (Maculopathy Optic Nerve and nuTRition neurovAsCular and HEarT) is an ancillary study of the population-based Three Cities (3C) study, which has been previously described.[18] Briefly, the 3C cohort study examined the relationships between vascular risk factors and the onset of aging disorders. Overall, 9294 persons aged 65 years and older, selected from the electoral rolls of three French urban cities (Bordeaux, Dijon, and Montpellier), were included ($n = 4931$ living in Dijon). Ten years later, a subgroup of participants from Dijon were invited to participate in the Montrachet study investigating the relationships between age-related eye diseases and neurologic and heart diseases in the elderly.

The methodology of the Montrachet study and baseline characteristics of volunteers have been detailed elsewhere.[19] Briefly, from October 2009 to March 2013, 1153 volunteers underwent a comprehensive eye examination in the Department of Ophthalmology of the Dijon University Hospital, France. This examination included the collection of self-reported eye diseases and treatment history, visual acuity measurement, refractive error identification, IOP measurement, visual field examination, optical coherence tomography imaging, retinal photographs, and MPOD measurement in participants with macula images of sufficient quality. In addition, fasting blood samples were drawn to measure plasma carotenoids and fatty acids. Finally, all participants were asked to complete a questionnaire about lifestyle (alcohol consumption and smoking status), environment (sun exposure), and nutrition (food frequency questionnaire). All participants gave their written informed consent. The study followed the tenets of the Declaration of Helsinki and was approved by the regional ethics committee (Number 2009-A00448-49).

Main Parameter Measurements

Macular pigment optical density was measured with the two-wavelength autofluorescence method using a modified Heidelberg Retinal Angiograph (Spectralis; Heidelberg Engineering Co., Heidelberg, Germany).[20,21] Each participant was positioned in front of the modified scanning laser ophthalmoscope (SLO) and instructed to look straight ahead. After focusing the SLO on the macular region, sequences of 20° images at 30-second intervals, after retinal bleaching, were captured at two wavelengths: 488 nm (well absorbed by the MP) and 514 nm (minimally absorbed by the macular pigment).[22] Macular pigment optical density maps were generated by automatic subtraction of the log AF images. Macular pigment optical density was recorded at 0.5°, 1.0°, 2.0°, and 6.0° eccentricities, using the software provided by the manufacturer. We recorded the average optical density volume for analysis. Macular pigment optical density was expressed in optical density units (DU). The measurements between the two eyes were highly correlated ($r = 0.93$) and only one eye per participant was retained for analysis. We selected the best image quality[21] and we chose the MPOD at a 0.5° retinal eccentricity or the average MPOD in the central 1-degree diameter circle for analysis.[23] Age-related macular degeneration was classified with the same methodology as used in the Alienor study, another French population-based study in the elderly undertaken in southwestern France.[24] It should be noted that it was impossible to obtain good images for MPOD analysis in late AMD stages, as already reported.[25]

Xanthophylls and fatty acids were analyzed in plasma samples from fasted volunteers and stored at –80°C before analysis (CSGA, Dijon, France). Plasma fatty acids were analyzed by gas chromatography, as described elsewhere.[26] Lutein and zeaxanthin were extracted in yellow light conditions from 200 μL plasma with 200 μL absolute ethanol after the addition of 40 ng echinenone (dissolved in ethanol) as internal standard. Carotenoids were further extracted twice with 500 μL hexane. Both hexane phases were pooled and evaporated to dryness under nitrogen stream without heating. The dry extract was suspended in 200 μL of the mobile phase for HPLC analysis, made with acetonitrile/50 mM ammonium acetate in methanol/water/dichloromethane (75:15:5:10, vol/vol/vol/vol). The samples (80 μL) were injected via an autosampler (maintained at 15°C) onto two HPLC columns used in tandem (Nucleosil C18 [Thermo Finnigan, Villebon Sur Yvette, France], 250 × 4.6 mm ID, 5 μm and VIDAK C18 [Altech France, Epernon, France], 250 × 4.6 mm ID, 5 μm) thermostated at 37°C at a flow rate of the mobile phase (see composition above) of 2 $mL.min^{-1}$, and connected to a diode array detector set from 250 nm to 600 nm (Jasco MD1510; Bouguenais, France). Lutein and Z were identified by their absorption spectra (max absorption at 450 nm) and retention times (see Supplementary Fig. S1) along the 50-minute long run. The area under the curve was used for quantification. A calibration curve for each molecule was obtained by analyzing an increasing range of standards of each analyte (kind gift from Roche, Basel, Switzerland) and using a fixed concentration of the internal standard, equivalent to that used for sample analysis. Dietary intake was assessed with a standardized self-reported food frequency questionnaire validated in the Bordeaux participants of the 3C study.[27] The questionnaire referred to the frequency of consumption during the year before the eye examination and thus took into account seasonal variation. In the present study, 10 major food items rich in L and Z were selected (see Supplementary Table S1). The consumption of oral supplements containing xanthophylls was documented on self-declaration.

Statistical Analysis

Categorical variables were expressed as number (percentage), and continuous variables as mean ± SD or median (interquartile ratio), depending on their distribution. The Kolmogorov-Smirnov test was used to detect a significant deviation from normal distribution. Bivariate comparisons were performed with χ^2 tests for categorical variables and with Student's *t*-tests, Mann-Whitney, ANOVA, or Kruskal-Wallis tests for continuous variables according to the variables' distribution. Correlations between continuous variables were tested using Pearson or Spearman correlation coefficients when appropriate. Missing data for body mass index (BMI) was observed in 16.2%, and a multiple imputation method was applied for this variable. Multivariate analyses were performed using multiple regression linear models. Models were systematically adjusted for age and

Investigative Ophthalmology & Visual Science

Downloaded From: http://arvojournals.org/ on 03/22/2016

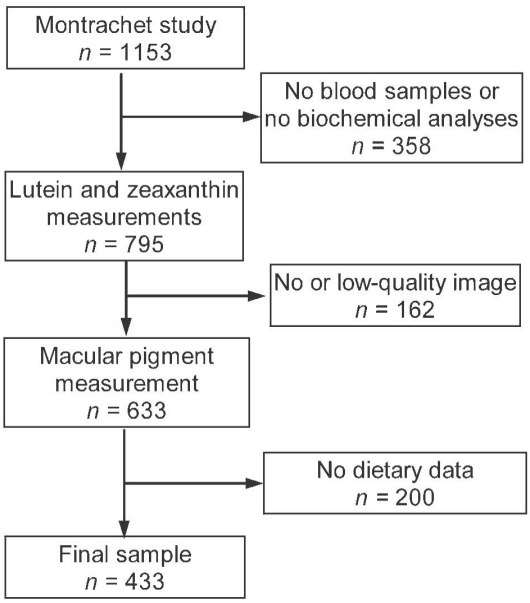


FIGURE. Flowchart of the Montrachet study and macular pigment study.

sex. In the first step, we investigated associations between plasma L (model 1a), plasma Z (model 1b), or plasma L and Z (model 1c) and MPOD. All variables associated with the MPOD value with a P value less than 0.20 in bivariate analyses were introduced in these models and selected through a backward procedure. When covariates were highly correlated ($r > 0.7$), the covariate providing the lowest Akaike criterion was selected. Deviation from linearity of the relationship between the continuous covariates retained and MPOD was systematically tested using χ^2 tests for linear trend after having categorized the covariates according to the quintiles of their distribution. First-order interaction terms were systematically tested. The adequacy of each final model was checked by a visual examination of the residual distributions. In the second step, the relationships between each of the selected food items and plasma L or plasma Z level were explored after log transformation of L and Z. Each food item associated with L or Z levels with a P value less than 0.1 in bivariate analyses was included in a multiple linear regression model. These models were adjusted on the other potential confounders associated with L or Z levels with a P value less than 0.2 in bivariate analyses. In the last steps, food items having a significant impact on plasma L or Z levels were included in the final models obtained at the first step (models 1a, 1b, and 1c) to determine whether L or Z levels as well as food items had an independent impact on MPOD. All statistical analyses were performed with SAS software, version 9.3 (SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA). The tests were two-tailed and a P-value less than 0.05 was considered statistically significant.

RESULTS

Of the 1153 participants of the Montrachet study, 433 had complete data and were considered for analysis (Fig.). Baseline characteristics of these 433 participants did not differ from the nonparticipants of the Montrachet population, except for the percentage of pseudophakics (Table 1). This number of subjects allowed identifying, with a power of 80% and an alpha level of 0.05, a 0.11 or 1.99 DU increase in MPOD for each additional 1000 μg/L of L or Z in the plasma, respectively. Table 2 presents the MPOD, L, and Z levels according to the participants' main characteristics. In bivariate analysis, MPOD was significantly higher in women, in individuals who never drank alcohol, had normal weight, or were pseudophakic or suffering from AMD. Plasma levels of L were significantly higher in women, in those with a normal weight, and in pseudophakics. Plasma Z was higher only in women. The use of oral supplements containing L and Z was associated with high plasma carotenoid levels ($P < 0.0001$) but not with MPOD ($P = 0.192$). The correlations between MPOD and total cholesterol or its fractions (high-density lipoprotein [HDL], low-density lipoprotein), or omega-3 as well as PUFAs were not statistically significant (minimum P value = 0.110) (see Supplementary Table S2). Conversely, total cholesterol or its fractions and omega-3 as well as PUFAs were all positively correlated with L or Z plasma levels (maximum P value = 0.030), but the correlation appeared less pronounced for Z (see Supplementary Table S2). Plasma L and Z were highly correlated ($r = 0.62$, $P < 0.0001$), but poorly correlated with MPOD at 0.5° ($r = 0.10$, $P = 0.030$ and $r = 0.11$, $P = 0.027$, respectively).

After adjusting for confounders, higher L level became significantly associated with higher MPOD ($P = 0.015$). A significant interaction was found between L and smoking status ($P < 0.001$) (see Table 3).The MPOD at 0.5° increased by 0.11 ± 0.04 DU for each additional 1000 μg/L of plasma L in nonsmokers ($P = 0.021$) but decreased marginally by 0.11 ± 0.06 ($P = 0.071$) in smokers. Adding Z to these models did not change the results.

These findings were not modified when adjusting for AMD (data not shown). Higher squash (more than once a week) or intermediate broccoli (1–3 times per month) consumptions were significantly associated with higher plasma L levels in bivariate analyses ($P = 0.009$ and $P = 0.049$, respectively) (see Supplementary Table S1). When adjusting for confounders, only higher squash consumption remained associated with a higher plasma L level ($\beta = 0.082$, $P = 0.029$) (Table 4). In addition, participants with intermediate green bean consumption (1–3 times per month) had a marginally higher plasma L level than those with the lower consumption frequency ($P = 0.063$). Plasma Z levels were also higher with high consumption of squash ($P = 0.007$) or maize ($P = 0.027$) in bivariate analyses (see Supplementary Table S1). However, only high consumption of squash remained associated with higher plasma Z levels after adjustment for confounders ($\beta = 0.075$, $P = 0.045$) (Table 4). Estimates were similar when adjusted for PUFAs or omega-3s (data not shown).

Finally, the associations between MPOD and plasma L and Z described in Table 3 were not modified by further adjustment on foods rich in carotenoids. In these models, food consumption was not related to the MPOD level (minimum P value = 0.114). As previously found, plasma Z was still not associated with MPOD (model 1b) after further adjustment for food consumption model 1b ($P > 0.682$).

DISCUSSION

This study determined the impact of several parameters on MPOD in a relatively large sample of urban Caucasians older than 75 years in the setting of a population-based study. Mean MPOD value in this study was in accordance with the MPOD at 0.5° found with the same technique in nonsupplemented patients (0.61 ± 0.21).[28] Median plasma L and Z were 281.4 μg/L (0.49 μM) and 20.0 μg/L (0.03 μM), which is higher than some recently published series, especially in the elderly.[17,29] In

Downloaded From: http://arvojournals.org/ on 03/22/2016

Table 1. Comparison of the Main Characteristics of Nonparticipants and Participants in the Evaluation of the Relationships Among MPOD, Plasma Xanthophylls, and Diet

	Participants, $n = 433$	Nonparticipants, $n = 720$	P
Age, y	82.0 ± 3.6	82.4 ± 3.8	0.08
Females	269 (62.1)	454 (63.1)	0.75
Iris color			
Blue/gray	183 (42.3)	282 (39.2)	0.16
Green/brown	141 (32.5)	219 (30.4)	
Dark brown	109 (25.2)	219 (30.4)	
Lens status			
Phakic	192 (44.3)	389 (54.5)	**<0.001**
Pseudophakic	241 (55.7)	235 (45.5)	
Former or current smokers	156 (36.0)	238 (33.7)	0.52
Alcohol consumption	302 (69.8)	503 (69.9)	0.97
BMI, kg/m^2			
≤25	193 (44.6)	286 (53.6)	0.09
>25	240 (55.4)	334 (46.4)	
Sun protection			
Never	183 (42.3)	67 (9.4)	0.26
Occasionally	109 (25.2)	171 (23.9)	
Often	141 (32.5)	478 (66.8)	
Retina status*			
No AMD	235 (56.4)	364 (58.0)	0.61
LZ supplementation	21 (4.8)	44 (6.1)	0.43
MPOD at 0.5°, DU	0.57 ± 0.25		
MPOD at 1°, DU	0.49 ± 0.21		
MPOD at 2°, DU	0.31 ± 0.14		
MPOD at 6°, DU	0.07 ± 0.03		
L, μg/L	281.4 [180.0–453.4]	263.0 [177.5–453.9]	0.76
Z, μg/L	20.0 [11.6–25.6]	18.2 [10.5–26.0]	0.99
L + Z, μg/L	296.6 [194.9–471.1]	288.8 [190.1–473.3]	0.76
Plasma triglycerides, mM	1.06 [0.83–1.44]	1.06 [0.8–1.4]	0.98
Plasma total cholesterol, mM	5.80 ± 0.92	5.79 ± 0.96	0.67
Plasma LDL-cholesterol, mM	3.60 ± 0.83	3.59 ± 0.83	0.85
Plasma HDL-cholesterol, mM	1.67 ± 0.40	1.65 ± 0.40	0.57
Plasma PUFAs, %†	40.55 ± 4.13	40.20 ± 4.24	0.22
Plasma omega-3 PUFAs, %†	4.6 [3.9–5.4]		
Plasma omega-6 PUFAs, %†	35.3 [33.1–37.5]		

The results are displayed as n (%) for categorical variables and mean ± SD or median [interquartile range] for continuous variables depending on their distribution.

* Missing data ($n = 16$ in participants and $n = 92$ in nonparticipants).

† Missing data ($n = 9$ in participants and $n = 330$ in nonparticipants).

a 40- to 60-year-old population, Delyfer et al.[17] found a mean L and Z value of 161.8 μg/L and 41.3 μg/L, respectively. In the AREDS2, the median of L + Z varied from 177 to 191 μg/L within the four arms of the study.[29] In our population, we found that higher plasma L was associated with higher MPOD in nonsmokers. Previous studies found stronger associations between plasma L or Z and MPOD, measured using the same technique, but they did not adjust for confounders.[30] Conversely, a slight lower MPOD was found in former or current smokers. This is in agreement with one published study,[31] although no relation was found in another report.[32] This modest relation can be explained by the low number of current smokers and a lack of precision on the number of cigarettes smoked per day in our study. Smoking is a well-known risk factor for AMD.[33] However, the mechanisms by which smoking can influence AMD are not fully elucidated. In our population, alcohol drinkers had lower MPOD than nondrinkers, in accordance with the literature,[34] whereas in the CAREDS study, alcohol consumption did not influence MPOD.[11] A modest relation was found between alcohol consumption and increased AMD risk in a recent epidemiological study.[35] Age was not associated with MPOD in our population, as found in some studies but not others.[31,36,37] This result may be related to the narrow distribution of age in our study. Macular pigment optical density and plasma xanthophylls were significantly higher in women in our population, which has already been reported,[38] but other authors observed higher MPOD in men.[39] Both results can be explained by higher intake of dietary carotenoids in women and by sex differences in adipose tissue.[40] We found that BMI was inversely associated with MPOD. Although some authors have found a positive association between BMI and MPOD,[32] an inverse relation has already been reported.[31] Adipose tissue can store 80% of the total carotenoids found in the body and thus limit their bioavailability.[40] As already mentioned by Sasamoto et al.,[15] MPOD in phakic eyes was lower than in pseudophakic eyes in our population. This is mainly due to the absorption of blue light by the cataractous lens and results in

Investigative Ophthalmology & Visual Science

Downloaded From: http://arvojournals.org/ on 03/22/2016

Table 2. Macular Pigment Optical Density, Plasma L and Z According to Participant Characteristics

	MPOD 0.5°, DU	*P*	L, µg/L	*P*	Z, µg/L	*P*
Age, y						
≤80	0.55 ± 0.25	0.12	289.9 [193.6–454.7]	0.053	17.8 [11.2–27.4]	0.63
80–85	0.56 ± 0.36		252.8 [156.8–417.0]		16.7 [11.3–24.5]	
>85	0.62 ± 0.24		321.5 [179.3–486.7]		17.3 [12.5–27.5]	
Sex						
Male	0.53 ± 0.25	**0.017**	238.3 [173.0–405.0]	**0.010**	15.5 [10.5–23.8]	**0.003**
Female	0.59 ± 0.25		298.4 [192.4–469.7]		18.4 [12.3–27.5]	
Smoking status						
Never	0.58 ± 0.25	0.19	293.8 [183.0–463.6]	0.16	17.6 [11.8–26.5]	0.18
Current or past	0.55 ± 0.25		253.5 [174.9–404.3]		15.8 [11.2–24.8]	
Alcohol consumption						
Never	0.61 ± 0.25	**0.016**	296.7 [193.0–438.1]	0.51	16.2 [12.1–25.5]	0.76
Current or past	0.55 ± 0.25		266.1 [173.7–460.7]		17.8 [11.3–26.1]	
BMI, kg/m^2						
≤25	0.59 ± 0.24	**0.049**	329.3 [207.4–479.0]	**<0.001**	18.3 [11.9–27.7]	0.06
>25	0.55 ± 0.26		250.7 [166.6–429.2]		16.2 [11.4–25.1]	
Sun protection						
Never	0.57 ± 0.26	0.99	211.2 [131.4–428.2]	0.08	13.4 [8.9–255]	0.25
Occasionally	0.57 ± 0.25		294.3 [183.0–464.8]		17.2 [11.6–26.5]	
Often	0.57 ± 0.25		253.2 [180.0–392.2]		18.4 [12.2–25.0]	
Lens status						
Phakic	0.45 ± 0.22	**<0.001**	249.4 [172.4–429.0]	**0.006**	15.8 [11.3–23.6]	0.06
Pseudophakic	0.66 ± 0.23		305.5 [191.8–481.4]		18.2 [11.7–28.1]	
Retina status						
No AMD	0.54 ± 0.24	**0.002**	261.4 [182.6–431.9]	0.29	16.6 [11.6–25.1]	0.30
AMD	0.61 ± 0.26		286.4 [173.4–476.2]		17.9 [11.3–29.1]	
LZ supplementation						
No	0.56 ± 0.25	0.19	266.1 [175.1–433.7]	**<0.0001**	17.2 [11.5–25.1]	**<0.0001**
Yes	0.64 ± 0.25		569.2 [428.2–1190.9]		35.0 [19.4–45.2]	

Values in bold indicate statistical significance.

misinterpretation of MPOD measurements, at least with two-wavelength fundus autofluorescence. Therefore, the lens status must be taken into account in multivariate analysis to provide accurate estimates, a crucial point when studying older subjects with blurred media due to cataract.

In the present study, higher plasma L was associated with higher MPOD in nonsmokers after adjustment for potential confounders. This association persisted after taking into account squash and green bean consumption, associated with higher plasma L. Frequent squash consumption was associated with higher plasma Z. However, we found no association between these food items or plasma Z with MPOD. These results may stem from the difficulty of assessing carotenoid intake using food frequency questionnaires, which remain only semiquantitative and not designed to precisely measure intake

Table 3. Association of MPOD With Plasma L, Z, and Other Factors

	Model 1a		Model 1b		Model 1c	
	β (SE)	*P*	β (SE)	*P*	β (SE)	*P*
Age, for each 10-y increase	0.088 (0.003)	0.77	0.010 (0.003)	0.74	0.088 (0.003)	0.78
Sex, female vs. male	0.001 (0.026)	0.96	0.008 (0.025)	0.73	0.001 (0.027)	0.97
Smoking status, current or past smokers vs. nonsmokers	−0.079 (0.035)	**0.028**	-	-	−0.078 (0.027)	**0.036**
Alcohol consumption, yes vs. no	−0.052 (0.025)	**0.039**	−0.049 (0.025)	0.056	−0.052 (0.025)	**0.040**
BMI, for each kg/m^2 increase	−0.007 (0.002)	**0.010**	−0.006 (0.003)	**0.016**	−0.007 (0.003)	**0.010**
Lens status, pseudophakic vs. phakic	0.200 (0.023)	**<0.001**	0.192 (0.023)	**<0.001**	0.200 (0.023)	**<0.001**
LZ supplementation, yes vs. no	0.071 (0.056)	0.20	0.057 (0.052)	0.28	0.071 (0.056)	0.20
L, for every 1000-µg/L increase	0.121 (0.049)	**0.015**	-	-	0.120 (0.057)	**0.036**
Interaction term L and smoking status	−0.253 (0.069)	**<0.001**	-	-	−0.253 (0.070)	**<0.001**
Zeaxanthin, for every 1000-µg/L increase	-	-	0.235 (0.681)	0.73	0.035 (0.810)	0.95

Model 1a refers to the associations between plasma L, model 1b refers to the associations between plasma Z, and model 1c refers to the associations between L and Z. Dashes indicate variables not included in the model.

Investigative Ophthalmology & Visual Science

Downloaded From: http://arvojournals.org/ on 03/22/2016

Table 4. Association Between Vegetables With Plasma L and Z

	L*			Z†	
	n (%)	β (SE)	*P*	β (SE)	*P*
Broccoli					
Never or < once/mo	160 (36.9)				
1–3 times/mo‡	191 (44.1)	0.042 (0.030)	0.16	0.044 (0.031)	0.14
1–3 times/wk‡	82 (18.9)	0.026 (0.037)	0.49	0.064 (0.044)	0.09
Squash					
Never or < once/mo	84 (19.4)				
1–3 times/mo‡	159 (36.7)	0.022 (0.038)	0.39	0.036 (0.038)	0.34
1–3 time/wk‡	190 (43.9)	0.082 (0.037)	**0.029**	0.075 (0.037)	**0.045**
Green beans					
Never or < once/mo	15 (3.5)				
1–3 times/mo‡	159 (36.7)	0.138 (0.075)	0.06	-	-
1–3 times/wk‡	259 (59.8)	0.120 (0.074)	0.10	-	-
Maize					
Never or < once/mo	370 (85.5)	-			
1–3 times/mo‡	43 (9.9)	-	-	0.003 (0.045)	0.94
1–3 times/wk‡	20 (4.6)	-	-	0.109 (0.066)	0.09
Leafy greens					
Never or < once/mo	350 (80.3)				
1–3 times/mo‡	60 (13.9)	-	-	−0.042 (0.040)	0.28
1–3 times/wk‡	23 (5.3)	-	-	0.107 (0.060)	0.08

Dashes indicate variables not included in the model.
* Model adjusted for age, sex, smoking status, BMI, lens status, retina status, supplementation, sun protection, and HDL-cholesterol.
† Model adjusted for age, sex, smoking status, BMI, lens status, AMD, supplementation, and HDL-cholesterol.
‡ Versus never or < once per month.

of these nutrients. Moreover, minimum carotenoid intake seems to be necessary to observe MPOD changes.[23]

No statistically significant relation was found between MPOD and plasma PUFAs (see Supplementary Table S1), unlike the PIMAVOSA study.[17] However, we found that plasma xanthophylls were associated with plasma cholesterol, PUFAs as a whole, and omega-3 and omega-6 PUFAs; the highest correlation was between L and omega-3 PUFAs. The relation of plasma xanthophylls and HDL is supported by the fact that HDL lipoproteins transport xanthophylls in the blood stream. The literature does not report a consistent association between PUFAs and plasma xanthophylls,[17] or the possibility to intervene on AMD with PUFAs through interventional studies.[29]

These results highlight the difficulty of assessing not only carotenoid intake or plasma xanthophylls, but also the final incorporation in the retina. These results showed that there is probably no ideal marker for MP and that all three methods (i.e., diet, plasma level, or MPOD) have advantages and disadvantages. These weaknesses probably explain the discrepancy between the results obtained in the different studies on the relationship between MP and age-related eye diseases.

We acknowledge several limitations to this study. First, the number of participants with complete data on MPOD, plasma xanthophylls, and diet was relatively low despite the large Montrachet population. However, the characteristics between participants and nonparticipants were similar except for lens status. Second, the technique used for MPOD measurement in this study has been challenged, but, as pointed out by some authors, we still lack a gold standard for MPOD measurement.[9] Third, self-reported food frequency questionnaires have their own limitations in evaluating the different food items and were not designed for precise carotenoid intake measurement. Fourth, we must acknowledge that our methodology for carotenoid measurement in plasma shows some limitations with respect to the chromatographic resolution between L and Z. One other method using C30 column has a better capacity to separate L from Z and has been developed meanwhile. Although it was been available to us before the end of the present study (March 2013), we decided to analyze all samples with the same methodology so as to obtain a set of comparable data. Fifth, we did not mention the distribution of MP in our study, as it was described elsewhere.[41] This will be the focus of a later report based on the same population. Sixth, these findings in an elderly urban, healthy, Caucasian population living in a country with specific dietary habits cannot be extended to other age groups, ethnicities, groups, or countries. The first results with the Montrachet population have shown that these participants are overall in good health with a low number of patients suffering from dementia or low visual acuity and with a low AMD rate.[19]

In conclusion, in this elderly population, we demonstrated that plasma L was weakly associated with MPOD after taking into account confounders, mainly in nonsmokers. The results suggest that a higher consumption of squash may increase plasma L and Z[35] in the elderly. Considering the cross-sectional design of our population-based study, these data should be completed with a longitudinal follow-up of this cohort to investigate the relationship with subsequent occurrence of AMD.

Acknowledgments

Supported by an interregional grant (PHRC) and the regional Council of Burgundy. This study was also funded by INRA, CNRS, Université de Bourgogne, Regional Council of Burgundy France (PARI Agrale 1), FEDER (European Funding for Regional Economic Development), and a French Government grant managed by the French National Research Agency (ANR) under the "Investisse-

Investigative Ophthalmology & Visual Science

Downloaded From: http://arvojournals.org/ on 03/22/2016

ments d'Avenir" program with reference ANR-11-LABX-0021-01-LipSTIC Labex.

Disclosure: **S. Alassane**, None; **C. Binquet**, None; **V. Cottet**, None; **O. Fleck**, None; **N. Acar**, None; **S. Daniel**, None; **C. Delcourt**, None; **L. Bretillon**, None; **A.M. Bron**, None; **C. Creuzot-Garcher**, None

References

1. Pathai S, Shiels PG, Lawn SD, Cook C, Gilbert C. The eye as a model of ageing in translational research–molecular, epigenetic and clinical aspects. *Ageing Res Rev*. 2013;12:490–508.
2. Vaupel JW. Biodemography of human ageing. *Nature*. 2010; 464:536–542.
3. Bourne RR, Jonas JB, Flaxman SR, et al. Prevalence and causes of vision loss in high-income countries and in Eastern and Central Europe: 1990-2010. *Br J Ophthalmol*. 2014;98:629–638.
4. Jonasson F, Arnarsson A, Eiriksdottir G, et al. Prevalence of age-related macular degeneration in old persons: Age, Gene/environment Susceptibility Reykjavik Study. *Ophthalmology*. 2011;118:825–830.
5. Wong WL, Su X, Li X, et al. Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health*. 2014;2:e106–e116.
6. Miller JW. Age-related macular degeneration revisited—piecing the puzzle: the LXIX Edward Jackson memorial lecture. *Am J Ophthalmol*. 2013;155:1–35.e13.
7. Kijlstra A, Tian Y, Kelly ER, Berendschot TT. Lutein: more than just a filter for blue light. *Prog Retin Eye Res*. 2012;31:303–315.
8. Delcourt C, Carriere I, Delage M, Barberger-Gateau P, Schalch W. Plasma lutein and zeaxanthin and other carotenoids as modifiable risk factors for age-related maculopathy and cataract: the POLA Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006; 47:2329–2335.
9. Howells O, Eperjesi F, Bartlett H. Measuring macular pigment optical density in vivo: a review of techniques. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2011;249:315–347.
10. Beatty S, van Kuijk FJ, Chakravarthy U. Macular pigment and age-related macular degeneration: longitudinal data and better techniques of measurement are needed. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008;49:843–845.
11. LaRowe TL, Mares JA, Snodderly DM, Klein ML, Wooten BR, Chappell R. Macular pigment density and age-related maculopathy in the Carotenoids in Age-Related Eye Disease Study. An ancillary study of the Women's Health Initiative. *Ophthalmology*. 2008;115:876–883.e1.
12. Nolan JM, Stack J, O'Donovan O, Loane E, Beatty S. Risk factors for age-related maculopathy are associated with a relative lack of macular pigment. *Exp Eye Res*. 2007;84:61–74.
13. SanGiovanni JP, Chew EY, Clemons TE, et al. The relationship of dietary carotenoid and vitamin A, E, and C intake with age-related macular degeneration in a case-control study: AREDS Report No. 22. *Arch Ophthalmol*. 2007;125:1225–1232.
14. Seddon JM, Ajani UA, Sperduto RD, et al. Dietary carotenoids, vitamins A, C, and E, and advanced age-related macular degeneration. Eye Disease Case-Control Study Group. *JAMA*. 1994;272:1413–1420.
15. Sasamoto Y, Gomi F, Sawa M, Sakaguchi H, Tsujikawa M, Nishida K. Effect of cataract in evaluation of macular pigment optical density by autofluorescence spectrometry. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52:927–932.
16. Nolan J, O'Donovan O, Kavanagh H, et al. Macular pigment and percentage of body fat. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004; 45:3940–3950.
17. Delyfer MN, Buaud B, Korobelnik JF, et al. Association of macular pigment density with plasma omega-3 fatty acids: the PIMAVOSA study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53:1204–1210.
18. The 3C Study Group. Vascular factors and risk of dementia: design of the Three-City Study and baseline characteristics of the study population. *Neuroepidemiology*. 2003;22:316–325.
19. Creuzot-Garcher C, Binquet C, Daniel S, et al. The Montrachet Study: study design, methodology and analysis of visual acuity and refractive errors in an elderly population. *Acta Ophthalmologica*. 2016;94:e90–e97.
20. Creuzot-Garcher C, Koehrer P, Picot C, Aho S, Bron AM. Comparison of two methods to measure macular pigment optical density in healthy subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55:2941–2946.
21. Delori FC. Autofluorescence method to measure macular pigment optical densities fluorometry and autofluorescence imaging. *Arch Biochem Biophys*. 2004;430:156–162.
22. Delori FC, Goger DG, Keilhauer C, Salvetti P, Staurenghi G. Bimodal spatial distribution of macular pigment: evidence of a gender relationship. *J Opt Soc Am A Opt Image Sci Vis*. 2006; 23:521–538.
23. Sasamoto Y, Gomi F, Sawa M, Tsujikawa M, Nishida K. Effect of 1-year lutein supplementation on macular pigment optical density and visual function. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2011;249:1847–1854.
24. Merle B, Delyfer MN, Korobelnik JF, et al. Dietary omega-3 fatty acids and the risk for age-related maculopathy: the Alienor Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52:6004–6011.
25. Trieschmann M, Beatty S, Nolan JM, et al. Changes in macular pigment optical density and serum concentrations of its constituent carotenoids following supplemental lutein and zeaxanthin: the LUNA study. *Exp Eye Res*. 2007;84:718–728.
26. Moilanen T, Nikkari T. The effect of storage on the fatty acid composition of human serum. *Clin Chim Acta*. 1981;114:111–116.
27. Delcourt C, Korobelnik JF, Barberger-Gateau P, et al. Nutrition and age-related eye diseases: the Alienor (Antioxydants, Lipides Essentiels, Nutrition et maladies OculaiRes) Study. *J Nutr Health Aging*. 2010;14:854–861.
28. Zeimer M, Dietzel M, Hense HW, Heimes B, Austermann U, Pauleikhoff D. Profiles of macular pigment optical density and their changes following supplemental lutein and zeaxanthin: new results from the LUNA study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53:4852–4859.
29. Lutein + zeaxanthin and omega-3 fatty acids for age-related macular degeneration: the Age-Related Eye Disease Study 2 (AREDS2) randomized clinical trial. *JAMA*. 2013;309:2005–2015.
30. Ciulla TA, Curran-Celantano J, Cooper DA, et al. Macular pigment optical density in a midwestern sample. *Ophthalmology*. 2001;108:730–737.
31. Dietzel M, Zeimer M, Heimes B, Claes B, Pauleikhoff D, Hense HW. Determinants of macular pigment optical density and its relation to age-related maculopathy: results from the Muenster Aging and Retina Study (MARS). *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52:3452–3457.
32. Yu J, Johnson EJ, Shang F, et al. Measurement of macular pigment optical density in a healthy Chinese population sample. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53:2106–2111.
33. Klein R, Cruickshanks KJ, Nash SD, et al. The prevalence of age-related macular degeneration and associated risk factors. *Arch Ophthalmol*. 2010;128:750–758.
34. Fraser-Bell S, Wu J, Klein R, Azen SP, Varma R. Smoking, alcohol intake, estrogen use, and age-related macular degeneration in Latinos: the Los Angeles Latino Eye Study. *Am J Ophthalmol*. 2006;141:79–87.

Investigative Ophthalmology & Visual Science

Downloaded From: http://arvojournals.org/ on 03/22/2016

35. Adams MK, Chong EW, Williamson E, et al. 20/20—Alcohol and age-related macular degeneration: the Melbourne Collaborative Cohort Study. *Am J Epidemiol*. 2012;176:289–298.
36. Iannaccone A, Mura M, Gallaher KT, et al. Macular pigment optical density in the elderly: findings in a large biracial Midsouth population sample. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007;48:1458–1465.
37. Nolan JM, Kenny R, O'Regan C, et al. Macular pigment optical density in an ageing Irish population: The Irish Longitudinal Study on Ageing. *Ophthalmic Res*. 2010;44:131–139.
38. Mares JA, LaRowe TL, Snodderly DM, et al. Predictors of optical density of lutein and zeaxanthin in retinas of older women in the Carotenoids in Age-Related Eye Disease Study, an ancillary study of the Women's Health Initiative. *Am J Clin Nutr*. 2006;84:1107–1122.
39. Hammond BR Jr, Caruso-Avery M. Macular pigment optical density in a Southwestern sample. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000;41:1492–1497.
40. Broekmans WM, Berendschot TT, Klopping-Ketelaars IA, et al. Macular pigment density in relation to serum and adipose tissue concentrations of lutein and serum concentrations of zeaxanthin. *Am J Clin Nutr*. 2002;76:595–603.
41. Dietzel M, Zeimer M, Heimes B, Pauleikhoff D, Hense HW. The ringlike structure of macular pigment in age-related maculopathy: results from the Muenster Aging and Retina Study (MARS). *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52:8016–8024.

Investigative Ophthalmology & Visual Science

Downloaded From: http://arvojournals.org/ on 03/22/2016

1.4- Résumé des données essentielles

Les participants étaient âgés en moyenne de 82,0 ± 3,6 ans et sont majoritairement de femmes (62,1%). La DOPM moyenne à 0,5° était de 0,57±0,25 unité de densité ; elle était plus élevée chez les femmes, les pseudophaques et paradoxalement les personnes souffrant de DMLA. Par contre, elle était plus faible chez les personnes consommant de l'alcool ou en surpoids.

Les valeurs médianes de lutéine et zéaxanthine des participants étaient 281,4 µg/L (180,0-453,4) et 20,0µg/L (11,6-25,6) respectivement et étaient plus élevées chez les femmes, les pseudophaques et les personnes supplémentées en Lutéine (L) et/ou zéaxanthine (Z). Par contre, elles étaient plus faibles chez les personnes en surpoids. Après ajustement sur les facteurs de confusion (âge, sexe, tabac, IMC et statut phaque/pseudophaque), une concentration plus élevée en lutéine était associée à une DOPM augmentée (p=0,015). Compte tenu de la présence d'une interaction significative entre tabac et lutéine (<0,001), nous avons estimé les associations chez les fumeurs et les non-fumeurs : la DOPM augmentait de 0,11±0,04 Unité de densité (UD) pour chaque augmentation de 1000 µg/L de lutéine plasmatique chez les non-fumeurs (p=0,021) et elle tendait à diminuer chez les fumeurs ou anciens fumeurs (β=-0,11±0,06 ; p=0,07). Dans cette population âgée, une consommation fréquente de courge et courgettes est associée à une augmentation de la concentration plasmatique de lutéine et zéaxanthine (β=0,082 (0,04) ; p=0,029 et β=0,075 (0,04) ; p=0,045 respectivement) après ajustement sur l'âge, sexe, tabac, IMC, statut phaque/pseudophaques, présence ou non d'une MLA, supplémentation en L/Z, protection solaire, et taux d'HDL cholestérol.

Ainsi, cette étude nous a permis de montrer que le taux de lutéine plasmatique reste associée, à une augmentation de la densité optique du pigment maculaire chez les personnes âgées de plus de 75 ans non-fumeurs après prise en compte des facteurs de confusion, mais que cette relation positive n'était pas constatée chez les fumeurs/anciens fumeurs. De plus, ces résultats montrent qu'une consommation fréquente de certains aliments riches en caroténoïdes xanthophylles était associée à une concentration plasmatique de lutéine et zéaxanthine. Ceci renforce l'intérêt des interventions de supplémentation. Cependant, cela met aussi en évidence la nécessité de tenir compte des habitudes de vie pour optimiser leur efficacité au niveau individuel.

IV.1.4- Distribution spatiale du pigment maculaire dans une population âgée Française : Etude Montrachet

1.5- Introduction

En raison de la variation de la densité optique du pigment maculaire du centre de la fovéa vers la périphérie, la distribution spatiale du pigment maculaire n'est pas uniforme selon les individus. [113,126] Tout comme la densité optique du pigment maculaire, la distribution spatiale du pigment maculaire pourrait être modifiée par l'âge, le sexe et certains facteurs environnementaux tels que l'alimentation et le mode de vie. En effet, plusieurs études ont montré que le risque de DMLA pouvait être différent selon le type de profil de distribution du pigment maculaire. [119] Le profil ringlike (en anneau avec un pic secondaire à 0,8°) serait ainsi protecteur vis-à-vis du risque de DMLA. Les associations entre le taux de lutéine et de zéaxanthine plasmatiques et la distribution spatiale du pigment maculaire ont été rapportées chez les personnes moins âgées. [65, 127,128] Cependant ces associations ne sont pas clairement établies en population âgée. Par ailleurs, la répartition spatiale du pigment maculaire semble ne peut être modifiée par une supplémentation en caroténoïdes, ce qui laisse penser que d'autres déterminants individuels et environnementaux sont impliqués. Il est donc nécessaire d'en tenir compte pour pouvoir conclure.

1.6- Objectif

L'objectif de cette étude était de déterminer d'une part, la distribution spatiale du pigment maculaire et d'autre part, d'estimer ses relations avec les facteurs individuels et nutritionnels (concentrations plasmatiques en lutéine et zéaxanthine) dans la population âgée de 75 ans et plus. Au total, 635 personnes âgées de 75 ans et plus de l'étude Montrachet avec des données complètes de mesure de la DOPM ont été inclus dans cette analyse.

1.7- Publication et communication relatives à l'étude

Cette étude a donné lieu à un article publié dans *Investigative Ophtalmology & Visual science (Alassane et coll, Invest Ophthalmol Vis Sci 2016 ;57 :1469-75*),

Spatial Distribution of Macular Pigment in an Elderly French Population: The Montrachet Study

Seydou Alassane,[1,2] Christine Binquet,[1] Louis Arnould,[3] Olivier Fleck,[3] Niyazi Acar,[2] Cécile Delcourt,[4,5] Lionel Bretillon,[2] Alain M. Bron,[2,3] and Catherine Creuzot-Garcher[2,3]

[1]INSERM, CIC 1432, Clinical Epidemiology Unit, Dijon, France; University Hospital, Clinical Center Investigation, Clinical Epidemiology/Clinical Trials Unit, Dijon, France
[2]Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation, CNRS, INRA, University Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France
[3]Dijon University Hospital, Ophthalmology Department, Dijon, France
[4]Univ Bordeaux, ISPED, Bordeaux, France
[5]INSERM, Centre INSERM U897-Epidemiologie-Biostatistique, Bordeaux, France

Correspondence: Alain M. Bron, Service d'Ophtalmologie, CHU Dijon, 14 Rue Gaffarel, 21000 Dijon, France;
alain.bron@chu-dijon.fr.

Submitted: May 19, 2016
Accepted: July 14, 2016

Citation: Alassane S, Binquet C, Arnould L, et al. Spatial distribution of macular pigment in an elderly French population: The Montrachet Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2016;57:4469–4475. DOI:10.1167/iovs.16-19958

Purpose. We describe the spatial distribution and cross-sectional associations with physical and lifestyle attributes.

Methods. The participants of the Montrachet (Maculopathy Optic Nerve, nuTRition neurovAsCular and HEarT) study underwent an exhaustive ophthalmologic examination, including optical coherence tomography, to measure retinal thickness. The spatial distribution of macular pigment optical density (MPOD) defined as a ring-like, intermediate or no-ring pattern, was assessed by means of the two-wavelength autofluorescence technique. Blood samples were taken to measure plasma lutein and zeaxanthin using high performance liquid chromatography (HPLC).

Results. We studied 635 subjects with good-quality MPOD measurements. The mean age was 82.0 ± 3.4 years. A ring-like structure was found in 109 (17.2%) participants. Participants with a ring-like spatial distribution had a thinner macula in the central subfield ($P < 0.001$). In multivariate analysis, individuals never protecting themselves from sunlight and with dark iris color were less likely to present a ring-like than a no-ring spatial distribution ($P = 0.033$ and $P = 0.013$, respectively). Only in males were lutein plasma levels higher in ring-like and intermediate MPOD profiles than in no-ring structures (odds ratio [OR] = 1.59 for 100 additional μg; 95% confidence interval [CI] = 1.16–2.18 and OR = 1.64; 95% CI, 1.17–2.28).

Conclusions. In this population-based study, individuals never protecting themselves from sunlight, and with dark iris color and a thinner macula were less prone to displaying a ring-like MPOD spatial distribution.

Keywords: macular pigment optical density, ring-like structure, lutein, zeaxanthin, elderly, population-based study

Macular pigment (MP) is composed of three carotenoids, two of dietary origin, lutein (L) and zeaxanthin (Z), and meso-Z synthetized from L.[1] The MP is located in the inner layers of the retina, the highest concentration being in the Henle fiber layer of the fovea and rapidly decreasing to become undetectable outside the macula.[2] Zeaxanthin prevails in the central fovea, whereas L still can be detected at 8° eccentricity.[3]

The key role of MP is to protect the macula from high-energy light wavelengths[4] and to buffer free radicals generated by the oxidative processes of visual transduction.[5] More recently it was shown that MP has other positive effects on the retina.[1] It also can improve vision by reducing glare and increasing contrast sensitivity.[6–10]

Several techniques are available to measure MP with macular pigment optical density (MPOD); they are varied and share certain advantages and disadvantages.[11] Macular pigment optical density is expressed as a quantitative variable with a rapid decline from the center of the fovea to 6° eccentricity. In addition, the qualitative aspect of MPOD distribution has been reported. Berendschot and van Norren[12] and Delori et al.[13] were the first to describe a bimodal distribution of MP or a ring-like structure with a central peak surrounded by a secondary peak. It has been shown that the ring-like profile was more frequent in African subjects[14] and women.[13] Moreover, the ring-like structure was associated with a lower risk of age-related macular degeneration (AMD) in the Muenster Aging and Retina Study (MARS).[15] Two other MPOD spatial distributions have been reported. The intermediate pattern indicates that no ring-like profile is visible and that the decline of MPOD from the center of the fovea to the periphery is not monotonic, showing a plateau on the MPOD profile.[15] The no-ring structure corresponds to a monotonous decline of MPOD without any ring-like or plateauing pattern.[15] The spatial distribution of MPOD seems resistant to oral carotenoid supplementation, possibly indicating that these MPOD profiles are mainly driven by individual and/or environmental factors.[16] Recently, macular architecture and thickness have been investigated and it was shown that higher MPOD and ring-like structures were more frequent in thinner maculae.[17]

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License.

Downloaded From: http://iovs.arvojournals.org/pdfaccess.ashx?url=/data/Journals/IOVS/935593/ on 09/20/2016

Investigative Ophthalmology & Visual Science

Macular pigment optical density spatial distribution and its relation with risk factors of AMD and with plasma carotenoids are not clearly established in the elderly. Therefore, we conducted a study to describe MPOD spatial distribution and its associations with individual and environmental factors in a population-based study, the Maculopathy Optic Nerve and nuTRition neurovAsCular and HEarT (Montrachet) study, conducted in a population older than 75 years.

Patients and Methods

Population Study

The Montrachet study is an ancillary study of the population-based Three Cities (3C) study, which already has been reported.[18] The 3C cohort study was undertaken to assess the relationships between vascular risk factors and aging disorders. Overall, 9294 persons aged 65 years and over, selected from the electoral rolls of three French urban cities (Bordeaux, Dijon, and Montpellier), were included ($n = 4931$ living in Dijon). Ten years later, a subgroup of participants from Dijon were asked to participate in the Montrachet study. The Montrachet study was designed to assess associations between age-related eye diseases, and neurologic and heart diseases in the elderly. The methodology of the Montrachet study and the baseline characteristics of volunteers have been published recently.[19] Briefly, from October 2009 to March 2013, 1153 volunteers underwent a comprehensive eye examination in the Department of Ophthalmology of the Dijon University Hospital (France). This examination included the collection of self-reported eye diseases and treatment history, visual acuity measurement, refractive error identification, IOP measurement, visual field examination, optical coherence tomography (OCT) imaging, retinal photographs, and MPOD measurement in participants with exploitable macula images. Fasting blood samples were drawn to measure plasma carotenoids and fatty acids. Finally, all participants were asked to complete a questionnaire on lifestyle (alcohol consumption and smoking status), environment (sun protection), and nutrition (food frequency questionnaire). The consumption of oral supplements containing xanthophylls was documented on self-declaration. Written informed consent was obtained from all participants. The study followed the tenets of the Declaration of Helsinki and was approved by the regional ethics committee (Number 2009-A00448-49).

MPOD Measurements

Macular pigment optical density was measured with the two-wavelength autofluorescence method using the modified Heidelberg Retina Angiograph (HRA; Heidelberg Engineering Co., Heidelberg, Germany).[20,21] After pupil dilation and retinal bleaching, sequences of 20° images at 30-second intervals were captured and two acquisitions were made at 488 and 514 nm.[13,22] For the study, MPOD values given in optical density units (DU) at 0.5°, 1°, 2°, and 6° eccentricity were recorded. Both eyes were evaluated for MPOD with a high correlation between the two eyes ($r = 0.93$).[22] The eye with the best image quality was retained for analysis. The right eye was chosen when image quality was similar in both eyes. We excluded participants with poor image quality in both eyes and those who suffered from late AMD, considering that geographic atrophy or neovascularization affects the measurement and spatial profile of MPOD.[23] The spatial profile of MPOD was determined by a trained investigator as previously described in the literature.[15,17] From the graphs generated by the software of the modified HRA, a ring-like profile was defined by a central peak followed by a decline and then a second peak on the radial density profile (Fig. 1A).[15] An intermediate profile corresponded to a nonmonotonic decrease of the MPOD graph without a bimodal pattern (Fig. 1B). A no-ring profile was defined as a no-bimodal pattern and a monotonous decline of the MPOD graph (Fig. 1C). To evaluate the reliability of this classification, a second investigator analyzed 100 randomly selected eyes of the cohort in a masked manner. The agreement for spatial profiles of MPOD between the two investigators was good with a κ value of 0.71 (95% confidence interval [CI] = 0.48–0.93).

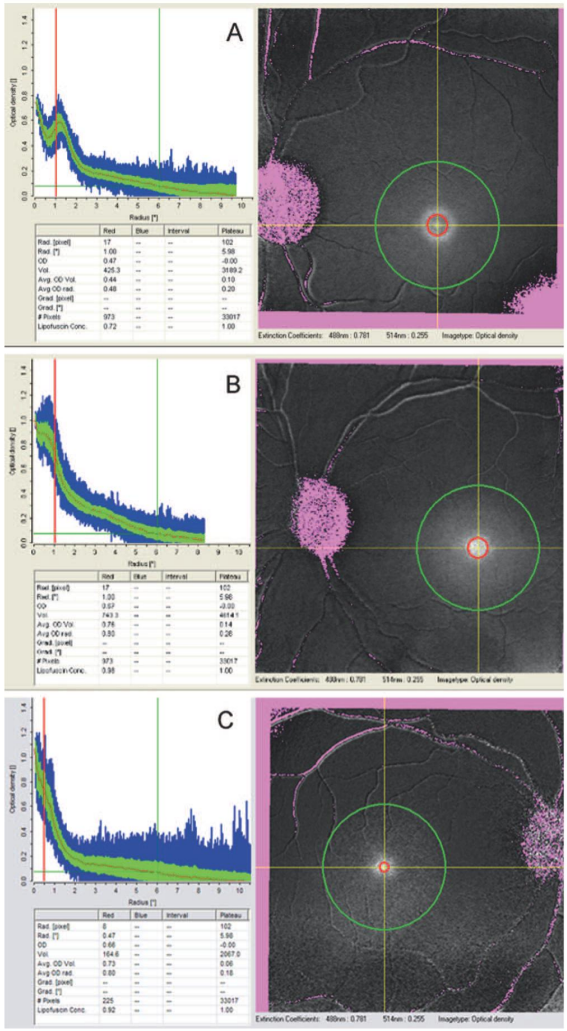


Figure 1. The three patterns of MPOD spatial distribution as obtained with the dual-wavelength technique. (**A**) ring-like profile, (**B**) intermediate profile, (**C**) no-ring profile.

Fundus Photographs and OCT Imaging

Technicians took the retinal photographs with a fundus camera (TRC NW6S; Topcon, Tokyo, Japan) and macular OCT was performed with the Spectralis SD-OCT (Heidelberg Engineering) after pupil dilatation with one drop of tropicamide 2 mg/0.4 mL. The OCT acquisition had a pattern size of 20° × 15° with 19 B-scans. Two trained ophthalmologists classified the

Downloaded From: http://iovs.arvojournals.org/pdfaccess.ashx?url=/data/Journals/IOVS/935593/ on 09/20/2016

eyes into early AMD stage 0–3 and late AMD as stage 4 according to the Alienor study, another French population-based study conducted in the elderly.[24] Macular thickness was noted for each subfield of the Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) map on the OCT layout.[25] In this study, we retained for analysis only the central subfield value (CSF) representing the average of all points within the inner circle within a 1-mm radius.[26]

Blood Dosage

Blood samples were drawn from fasted subjects in our department and stored at −80°C before analysis, as reported previously.[22] Briefly, plasma fatty acids were analyzed by gas chromatography, as described previously.[27] Lutein and Z plasma levels were measured using high-performance liquid chromatography (HPLC). After extraction with absolute ethanol and hexane, we used two HPLC columns in tandem (Nucleosil C18, 25 × 4.6 mm ID, 5 μm; Thermo Finnigan, Villebon-sur-Yvette, France, and VIDAK C18, 25× 4.6 mm ID, 5 μm; Altech France, Epernon, France) for measurements. The analytes were identified by their absorption spectra and their retention times.[22]

Statistical Analysis

Continuous variables were expressed using mean (SD) or median (interquartile range [IQR]), whether or not they had a normal distribution according to the Kolmogorov-Smirnov test. Qualitative variables were described using frequencies. Continuous variables were compared using Student *t*-tests, ANOVA, Mann-Whitney, or Kruskal-Wallis tests when appropriate. Frequencies were compared using χ^2 tests or Fisher exact tests. Polytomous logistic regression models were used to estimate the association between participants' characteristics as well as plasma levels of (1) L and (2) Z with the MPOD spatial profile (ring-like, intermediate pattern versus no-ring pattern) while accounting for the factors associated with the MPOD spatial profile. All variables associated with the MPOD spatial pattern in bivariate analyses with a P value < 0.2 were included in the model. A backward procedure was applied to obtain the final models. In the second step, MPOD at 0.5° and 2° was included in the final model to estimate their association with the MP profile while accounting for confounders. P values below 0.05 were considered statistically significant. Data analyses were performed using SAS software (version 9.3; SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA).

Results

Among the 1153 participants of the Montrachet study, 635 subjects had MPOD data suitable for analysis (Fig. 2). Compared to nonparticipants, participants in this study were more likely to be pseudophakic, had earlier AMD stages, and marginally displayed dark brown irides (See Supplementary Table S1). The mean age was 82.0 ± 3.4 years and 61.3% were women. Overall, a ring-like profile was observed in 109 subjects (17.2%), an intermediate pattern in 67 (10.5%), and a no-ring structure in 459 (72.3%). In the ring-like profile, the second peak had an average eccentricity of 0.84° ± 0.16°.

We tested the symmetry between the right and left eyes for macular pigment distribution in 100 randomly selected participants and we found good agreement between the two eyes ($\kappa = 0.79$, 95% CI = 0.64–0.95). The results of bivariate analysis are given in Table 1. Subjects with a ring-like or intermediate profile had a thinner macula than those with no ring ($P < 0.001$). Women had a significantly more ring-like

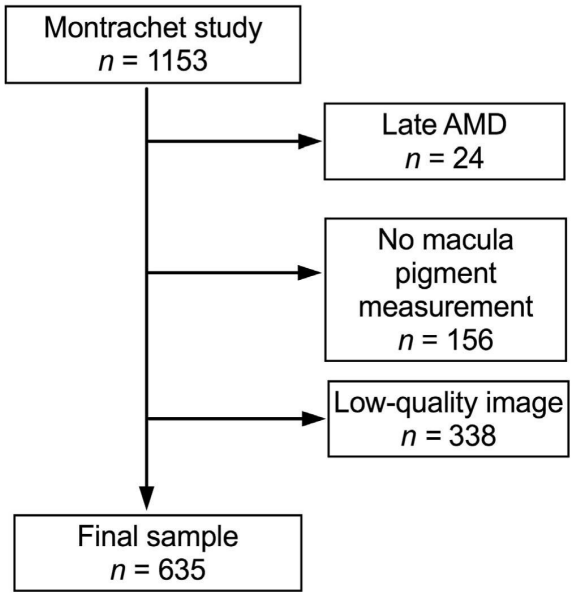


Figure 2. Flowchart of the Montrachet study and the MPOD distribution study.

spatial distribution than men ($P = 0.034$). Macular pigment optical density was significantly lower at 0.5° eccentricity in the ring-like profile ($P = 0.002$) and higher at 2° and 6° eccentricity ($P = 0.001$ and $P = 0.002$, respectively; Table 1). Macular pigment optical density spatial distribution was not associated with sun protection, alcohol consumption, smoking statusm or the presence of early AMD.

Multivariate analysis showed that individuals never protecting themselves against sun had a ring-like pattern less frequently than a no-ring profile. Individuals with dark iris color had a ring-like pattern less frequently than a no-ring pattern compared to individuals with an iris of a lighter color (odds ratio [OR] = 0.46; 95% CI, 0.25–0.85; Table 2). Subjects with a thicker macula were less prone to have a ring-like or an intermediate pattern than those with a no-ring pattern (OR = 0.97; 95% CI, 0.96–0.98 and OR = 0.98; 95% CI, 0.97–0.99, respectively). These results did not differ when adjusted for MPOD at 0.5° and then 2° eccentricity. The higher MPOD level at 0.5° was associated with a lower occurrence of the ring-like pattern (P = 0.003) (See Supplementary Table S2). Conversely, higher MPOD at 2° was associated more frequently with an intermediate and ring-like pattern (See Supplementary Table S2).

Lutein and Z plasma dosages were available in 441 participants. This subgroup displayed the same clinical characteristics as the participants without plasma samples (See Supplementary Table S3). Median plasma L and Z levels were 283.8 (179.6–460.7) μg/L and 17.6 (11.7–26.5) μg/L, respectively. In bivariate analysis, subjects with a ring-like profile had significantly higher plasma L and Z levels than the other types of MP profiles ($P = 0.009$ and $P = 0.014$, respectively; Table 1). When estimating the adjusted association between L and the MPOD profile using a multivariable polytomous logistic regression, we found a significant interaction between L plasma concentration and sex (Table 3). Indeed, in men, the higher the L plasma level, the higher the frequency of an intermediate (OR for 100 additional μg/L = 1.64; 95% CI = 1.17–2.28) or a ring-like pattern (OR = 1.59; 95% CI = 1.16–2.18) compared to a no-ring profile. Conversely, the L plasma level was not associated with MPOD profiles in

Investigative Ophthalmology & Visual Science

Downloaded From: http://iovs.arvojournals.org/pdfaccess.ashx?url=/data/Journals/IOVS/935593/ on 09/20/2016

Table 1. Characteristics of Participants in the Evaluation of Macular Pigment Distribution in the Montrachet Study, Bivariate Analysis

	No Ring, $n = 459$	Intermediate, $n = 67$	Ring-Like, $n = 109$	*P* Value
Age, y				
<=80	162 (35.3)	22 (32.8)	46 (42.2)	0.515
80–85	196 (42.7)	33 (49.3)	41 (37.6)	
>85	101 (22.0)	12 (17.9)	22 (20.2)	
Sex				
Male	191 (41.6)	24 (35.8)	31 (28.4)	**0.034**
Female	268 (58.4)	43 (64.2)	78 (71.6)	
Smoking status*				
Never	283 (63.0)	43 (64.2)	79 (73.2)	0.145
Current or past	166 (37.0)	24 (35.8)	29 (28.9)	
Alcohol consumption				
Never	125 (27.2)	23 (34.3)	35 (32.1)	0.338
Current or past	334 (72.8)	44 (65.7)	74 (67.9)	
BMI, kg/m^2				
<25	192 (41.8)	32 (47.8)	54 (49.5)	0.272
≥25	267 (58.2)	35 (52.2)	55 (50.5)	
Sun protection*				
Never	53 (11.6)	6 (9.0)	6 (5.5)	0.127
Occasionally	95 (20.8)	19 (28.4)	19 (17.4)	
Often	309 (67.6)	42 (62.7)	84 (77.1)	
Lens status				
Phakic	215 (46.8)	29 (43.3)	44 (40.4)	0.441
Pseudophakic	244 (53.2)	38 (56.7)	65 (59.6)	
Iris color				
Blue/grey	179 (39.0)	24 (35.8)	52 (47.7)	**0.033**
Green/hazel	147 (32.0)	29 (43.3)	39 (35.8)	
Brown/black	133 (29.0)	14 (20.9)	18 (16.5)	
Central retinal thickness, µm*	290.0 [274.0–311.0]	274.0 [262.0–294.0]	270.0 [253.0–287.0]	**<0.001**
Early AMD stage*				
0	236 (54.3)	38 (59.4)	61 (58.1)	0.753
1	154 (35.4)	22 (34.4)	38 (36.2)	
2	36 (8.3)	4 (6.3)	6 (5.7)	
3	9 (2.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	
LZ supplementation				
No	432 (94.1)	65 (97.0)	104 (95.4)	0.683
Yes	27 (5.9)	2 (3.0)	5 (4.6)	
MPOD at 0.5°, DU	0.58 ± 0.27	0.56 ± 0.21	0.48 ± 0.24	**0.002**
MPOD at 1°, DU	0.47 ± 0.22	0.51 ± 0.18	0.48 ± 0.22	0.355
MPOD at 2°, DU	0.29 ± 0.14	0.34 ± 0.13	0.34 ± 0.15	**0.001**
MPOD at 6°, DU	0.07 ± 0.04	0.08 ± 0.04	0.09 ± 0.04	**0.002**
L, µg/L†	263.4 (173.4–431.9)	320.9 (178.8–487.9)	366.6 (221.0–492.2)	**0.009**
Z, µg/L†	16.1 (11.0–25.5)	18.9 (12.9–27.5)	21.2 (14.4–29.5)	**0.014**

Bold *P* values indicate a statistically significant difference at the threshold of 5%. The results are displayed as *n* (%) for categorical variables and mean ± SD or median (interquartile range) for continuous variables depending on their distribution.

* Missing data for smoking status ($n=11$), sun protection ($n=2$), central retinal thickness ($n=2$), AMD stage ($n=31$), L/Z supplementation ($n=34$).

† L and Z plasma levels were only available for 441 participants (no ring = 315, intermediate = 48, ring-like = 78).

women ($P = 0.580$ for ring-like versus no ring like pattern, $P = 0.716$ for intermediate versus no ring-like pattern). No significant association was found for Z (data not shown).

Discussion

The ring-like structure of MPOD was first reported a decade ago.[12,13] Since then, several studies have tried to improve our knowledge on MP spatial distribution using different techniques, either with autofluorescence images[14,15] or heterochromatic flicker photometry.[2,28] In the present study, we found 17.2% ring-like patterns, that is, similar to another study investigating the same age range, 19.8% for example in the MARS study.[15] The secondary peak measured at 0.84° eccentricity also was in accordance with the literature, 0.85° in the MARS study[15] and other reports ranging from 0.66° to 0.70°.[12–14] However, previous studies examining younger healthy individuals described ring-like patterns in over half of the cases[12,13] and up to 68% in non-Hispanic white subjects.[14] It has been hypothesized that the ring-like structure could be subjected to change in an individual's lifetime, but this remains

Investigative Ophthalmology & Visual Science

Downloaded From: http://iovs.arvojournals.org/pdfaccess.ashx?url=/data/Journals/IOVS/935593/ on 09/20/2016

Table 2. Associations of Physical and Lifestyle Characteristics of Montrachet Participants With Macular Pigment Distribution

	MPOD Profile			
	Intermediate		Ring-Like	
Versus No-Ring Pattern	OR (95% CI)	*P* Value	OR (95% CI)	*P* Value
Sun protection				
Never vs. often	0.73 (0.29–1.82)	0.495	0.37 (0.15–0.92)	**0.033**
Occasionally vs. often	1.30 (0.71–2.38)	0.382	2.68 (1.08–6.64)	0.071
Iris color				
Green vs. blue	1.44 (0.79–2.60)	0.224	0.88 (0.53–1.45)	0.619
Brown vs. blue	0.79 (0.39–1.60)	0.523	0.46 (0.25–0.85)	**0.013**
Central retinal thickness, μm	0.98 (0.97–0.99)	**0.007**	0.97 (0.96–0.98)	**<0.0001**

Bold *P* values indicate a statistically significant difference at the threshold of 5%. A total of 622 observations were used due to missing values for sun protection and central retinal thickness.

to be firmly established.[15] In the literature, the ring-like structure was more frequent in females and never smokers, while this MP pattern was less frequent in eyes with early AMD stages.[15] In our study, even though an association between the ring-like pattern and female sex was observed in bivariate analysis, this was no longer the case in multivariate analysis. Moreover, we did not find an association between the MP profile and smoking status nor the AMD stage or body mass index (BMI), as was shown in one study.[29] This difference could originate from the different designs of the MARS study, a longitudinal case–control study, and the Montrachet population-based study. The first results with the Montrachet population have shown that these participants are overall in good health, with a low number of subjects suffering from dementia or low visual acuity and with a low AMD rate.[19,22] Therefore, the low number of AMD cases and missing data related to poor fundus photographs could have weakened a potential association between AMD with different variables.

In multivariate analysis, we have found that participants with a MPOD ring-like spatial distribution had a negative association between protection from sunlight, dark iris color, and macular thickness. Controversial reports have addressed sunlight exposure and light iris color as potential risk factors for developing AMD.[30–32] Interestingly, a recent study investigated the risk for AMD and sun exposure. The authors found that past sunlight exposure was associated with early AMD but not current exposure.[33] Moreover, these authors did not find any association between iris color and AMD. Although the populations differ in age and ethnicity, it is worth mentioning that the ring-like pattern was more common in Africans when compared to non-Hispanic whites.[14] Nevertheless, the hypothetical prevention of light damage by iris color and how it could influence MP distribution is poorly documented in the literature and deserves further elucidation.

In our population, eyes with a ring-like structure had a thinner macular thickness, as indicated by the automatic measurements of the central subfield of the EDTRS chart. This finding remained in multivariate analysis for intermediate and ring-like MPOD profiles. This association is in accordance with a recent publication, although the measurement of macular thickness was different and more refined in evaluating the foveal pit slopes in this study.[17] Indeed, the foveal anatomy could influence the spatial distribution of MP,[2] and it has been suggested that a ring-like distribution is associated with thinner inner retinal layers.[17] The association between higher MPOD at 2° and the ring-like profile found in our study is in line with the results of Huntjens et al.,[34] although ethnicity and the method for MP measurement were different from our study.

In a subgroup of 441 participants, we focused on L and Z plasma concentrations and investigated the relation of these

Table 3. Associations of Sun Protection, Central Retinal Thickness, and Plasma L With Macular Pigment Distribution According to Sex (Montrachet Study; Multivariate Analyses)

	Macular Pigment Distribution			
	Intermediate vs. No Ring		Ring-like vs. No Ring	
	OR (95% CI)	*P* Value	OR (95% CI)	*P* Value
Males				
Sun protection				
Never vs. occasionally	0.72 (0.10–4.92)	0.738	0.64 (0.12–3.39)	0.602
Often vs. occasionally	2.58 (0.72–9.23)	0.144	0.82 (0.91–3.59)	0.677
Central retinal thickness, μm	0.99 (0.98–1.01)	0.473	0.96 (0.94–0.98)	**0.0007**
L, 100 μg/L	1.29 (1.09–1.52)	**0.002**	1.22 (1.05–1.43)	**0.009**
Females				
Sun protection				
Never vs. occasionally	1.12 (0.34–3.67)	0.849	0.21 (0.05–0.96)	**0.045**
Often vs. occasionally	2.16 (0.90–5.17)	0.082	1.16 (0.55–2.43)	0.638
Central retinal thickness, μm	0.99 (0.98–1.00)	0.142	0.98 (0.97–0.99)	**0.005**
L, 100 μg/L	0.96 (0.83–1.10)	0.580	1.01 (0.92–1.12)	0.716

Bold *P* values indicate a statistically significant difference at the threshold of 5%. L plasma levels were only available for 441 participants (no ring = 315, intermediate = 48, ring-like = 78). A total of 440 observations were used due to missing values for sun protection.

Downloaded From: http://iovs.arvojournals.org/pdfaccess.ashx?url=/data/Journals/IOVS/935593/ on 09/20/2016

carotenoids and the spatial distribution of MP. Median plasma L and Z levels were 283.8 and 17.6 ng/mL, which is higher than in some recently published series.[35,36] In multivariate analysis, higher L plasma concentration was associated with intermediate and ring-like MP profiles only in males. No significant association was found for MP profiles in females as well for Z plasma concentration. Since this is the first study, to our knowledge, to take into account the plasma levels of the two main carotenoids in humans and the MPOD profile, any interpretation should be cautious. It should be noted that an interventional study in AMD patients has shown that carotenoid intake did not greatly modify the preexisting MPOD spatial profiles.[16] The high concordance of MPOD profiles between the two eyes[23] and the consistency of MPOD profiles after carotenoid supplementation led some authors to hypothesize that MPOD spatial distribution is mainly driven by the personal characteristics of each individual and possibly a genetic regulation.[15,37,38]

The strengths of the present study stem from the design of a population-based study and the availability of MPOD spatial profiles and plasma carotenoids in a large sample. Moreover, the results found herein for MPOD and macula thickness are in agreement with the literature.[15,16,26]

We acknowledge several limitations to this study. First, due to imaging quality and availability, we analyzed only 635 subjects of 1153 participants in the Montrachet study. The differences between participants and nonparticipants were focused on the lens status, AMD stages, and iris color. It has been shown that these 3 variables could affect the quantitative measurement of MPOD. We cannot exclude that not considering approximately 45% of our population could have impacted our results. Second, the interinvestigator agreement for classifying MPOD profiles was good, leaving room for misclassifications in some cases. Since to date no automatic algorithms to classify MPOD spatial distribution are available, these errors seem unavoidable. Third, the findings in this Caucasian, urban population, globally in good health, cannot be extrapolated to other age groups, ethnicities, or countries. Fourth, the estimation of sun protection, a surrogate for sun exposure used in other studies, is limited by self-reporting from the participants. Fifth, we were unable to show any relation between MPOD spatial distribution and AMD stages, which could be related to the general good health status and easy access to ophthalmologists of the urban Montrachet population, leading to a low AMD prevalence. Moreover, missing data due to poor-quality fundus photographs decreased the power of our analysis. Sixth, the cross-sectional nature of our study is a limitation per se, since past changes in lifestyle (sun protection, dietary habits) could affect MPOD and MP distribution.

In conclusion, in this elderly population, ring-like macular pigment spatial distribution was associated with sun protection, dark iris color, and a thinner macula, but not with other environmental factors. Lutein plasma levels were associated only with the intermediate and ring-like MPOD spatial distribution in males.

Acknowledgments

The authors thank Sandrine Daniel for her precious skills in data management for the Montrachet study.

Supported by an interregional grant (PHRC) and the regional Council of Burgundy; by INRA, CNRS, Université de Bourgogne, Regional Council of Burgundy France (PARI Agrale 1), FEDER (European Funding for Regional Economic Development); and a French Government grant managed by the French National Research Agency (ANR) under the "Investissements d'Avenir" program, ANR-11-LABX-0021-01-LipSTIC Labex.

Disclosure: **S. Alassane**, None; **C. Binquet**, None; **L. Arnould**, None; **O. Fleck**, None; **N. Acar**, None; **C. Delcourt**, None; **L. Bretillon**, None; **A.M. Bron**, None; **C. Creuzot-Garcher**, None

References

1. Kijlstra A, Tian Y, Kelly ER, Berendschot TT. Lutein: more than just a filter for blue light. *Prog Retin Eye Res*. 2012;31:303–315.
2. Nolan JM, Stringham JM, Beatty S, Snodderly DM. Spatial profile of macular pigment and its relationship to foveal architecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008;49:2134–2142.
3. van de Kraats J, Kanis MJ, Genders SW, van Norren D. Lutein and zeaxanthin measured separately in the living human retina with fundus reflectometry. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008; 49:5568–5573.
4. Wu J, Seregard S, Algvere PV. Photochemical damage of the retina. *Surv Ophthalmol*. 2006;51:461–481.
5. Bernstein PS, Li B, Vachali PP, et al. Lutein, zeaxanthin, and meso-zeaxanthin: the basic and clinical science underlying carotenoid-based nutritional interventions against ocular disease. *Prog Retin Eye Res*. 2016;50:34–66.
6. Hammond BR, Fletcher LM, Elliott JG. Glare disability, photostress recovery, and chromatic contrast: relation to macular pigment and serum lutein and zeaxanthin. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013;54:476–481.
7. Liu R, Wang T, Zhang B, et al. Lutein and zeaxanthin supplementation and association with visual function in age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015;56:252–258.
8. Nolan JM, Loughman J, Akkali MC, et al. The impact of macular pigment augmentation on visual performance in normal subjects: COMPASS. *Vision Res*. 2011;51:459–469.
9. van der Made SM, Kelly ER, Kijlstra A, Plat J, Berendschot TT. Increased macular pigment optical density and visual acuity following consumption of a buttermilk drink containing lutein-enriched egg yolks: a randomized double-blind, placebo-controlled trial. *J Ophthalmol*. 2016;2016:9035745.
10. Wang X, Jiang C, Zhang Y, Gong Y, Chen X, Zhang M. Role of lutein supplementation in the management of age-related macular degeneration: meta-analysis of randomized controlled trials. *Ophthalmic Res*. 2014;52:198–205.
11. Howells O, Eperjesi F, Bartlett H. Measuring macular pigment optical density in vivo: a review of techniques. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2011;249:315–347.
12. Berendschot TT, van Norren D. Macular pigment shows ring-like structures. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47:709–714.
13. Delori FC, Goger DG, Keilhauer C, Salvetti P, Staurenghi G. Bimodal spatial distribution of macular pigment: evidence of a gender relationship. *J Opt Soc Am A Opt Image Sci Vis*. 2006; 23:521–538.
14. Wolf-Schnurrbusch UE, Roosli N, Weyermann E, Heldner MR, Hohne K, Wolf S. Ethnic differences in macular pigment density and distribution. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007;48: 3783–3787.
15. Dietzel M, Zeimer M, Heimes B, Pauleikhoff D, Hense HW. The ringlike structure of macular pigment in age-related maculopathy: results from the Muenster Aging and Retina Study (MARS). *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52:8016–8024.
16. Zeimer M, Dietzel M, Hense HW, Heimes B, Austermann U, Pauleikhoff D. Profiles of macular pigment optical density and their changes following supplemental lutein and zeaxanthin: new results from the LUNA study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53:4852–4859.
17. Meyer zu Westrup V, Dietzel M, Pauleikhoff D, Hense HW. The association of retinal structure and macular pigment distribution. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55:1169–1175.

Investigative Ophthalmology & Visual Science

Downloaded From: http://iovs.arvojournals.org/pdfaccess.ashx?url=/data/Journals/IOVS/935593/ on 09/20/2016

18. Vascular factors and risk of dementia: design of the Three-City Study and baseline characteristics of the study population. *Neuroepidemiology*. 2003;22:316–325.
19. Creuzot-Garcher C, Binquet C, Daniel S, et al. The Montrachet Study: study design, methodology and analysis of visual acuity and refractive errors in an elderly population. *Acta Ophthalmol*. 2016;94:e90–e97.
20. Creuzot-Garcher C, Koehrer P, Picot C, Aho S, Bron AM. Comparison of two methods to measure macular pigment optical density in healthy subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55:2941–2946.
21. Delori FC. Autofluorescence method to measure macular pigment optical densities fluorometry and autofluorescence imaging. *Arch Biochem Biophys*. 2004;430:156–162.
22. Alassane S, Binquet C, Cottet V, et al. Relationships of macular pigment optical density with plasma lutein, zeaxanthin, and diet in an elderly population: The Montrachet Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2016;57:1160–1167.
23. Dietzel M, Zeimer M, Heimes B, Claes B, Pauleikhoff D, Hense HW. Determinants of macular pigment optical density and its relation to age-related maculopathy: results from the Muenster Aging and Retina Study (MARS). *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52:3452–3457.
24. Merle B, Delyfer MN, Korobelnik JF, et al. Dietary omega-3 fatty acids and the risk for age-related maculopathy: the Alienor Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52:6004–6011.
25. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study design and baseline patient characteristics. ETDRS report number 7. *Ophthalmology*. 1991;98:741–756.
26. Grover S, Murthy RK, Brar VS, Chalam KV. Comparison of retinal thickness in normal eyes using Stratus and Spectralis optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51:2644–2647.
27. Moilanen T, Nikkari T. The effect of storage on the fatty acid composition of human serum. *Clin Chim Acta*. 1981;114:111–116.
28. Kirby ML, Galea M, Loane E, Stack J, Beatty S, Nolan JM. Foveal anatomic associations with the secondary peak and the slope of the macular pigment spatial profile. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009;50:1383–1391.
29. Neelam K, Ho H, Yip CC, Li W, Eong KG. The spatial profile of macular pigment in subjects from a Singapore Chinese population. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55:2376–2383.
30. Khan JC, Shahid H, Thurlby DA, et al. Age related macular degeneration and sun exposure, iris colour, and skin sensitivity to sunlight. *Br J Ophthalmol*. 2006;90:29–32.
31. Mitchell P, Smith W, Wang JJ. Iris color, skin sun sensitivity, and age-related maculopathy. The Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology*. 1998;105:1359–1363.
32. Pham TQ, Rochtchina E, Mitchell P, Smith W, Wang JJ. Sunlight-related factors and the 10-year incidence of age-related maculopathy. *Ophthalmic Epidemiol*. 2009;16:136–141.
33. Schick T, Ersoy L, Lechanteur YT, et al. History of sunlight exposure is a risk factor for age-related macular degeneration. *Retina*. 2016;36:787–790.
34. Huntjens B, Asaria TS, Dhanani S, Konstantakopoulou E, Ctori I. Macular pigment spatial profiles in South Asian and white subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55:1440–1446.
35. Lutein + zeaxanthin and omega-3 fatty acids for age-related macular degeneration: the Age-Related Eye Disease Study 2 (AREDS2) randomized clinical trial. *JAMA*. 2013;309:2005–2015.
36. Delyfer MN, Buaud B, Korobelnik JF, et al. Association of macular pigment density with plasma omega-3 fatty acids: the PIMAVOSA study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53:1204–1210.
37. Liew SH, Gilbert CE, Spector TD, et al. Central retinal thickness is positively correlated with macular pigment optical density. *Exp Eye Res*. 2006;82:915–920.
38. Tariq A, Mahroo OA, Williams KM, et al. The heritability of the ring-like distribution of macular pigment assessed in a twin study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55:2214–2219.

Investigative Ophthalmology & Visual Science

Downloaded From: http://iovs.arvojournals.org/pdfaccess.ashx?url=/data/Journals/IOVS/935593/ on 09/20/2016

1.8-Résumé des données essentielles

Les participants étaient âgés en moyenne de 82,0 ± 3,4 ans et étaient majoritairement de femmes (61,3%). La répartition des profils spatiaux était la suivante : 72,3% des sujets avaient un profil typique, 17,2% un profil bimodal en anneau (ringlike) et 10,5% un profil intermédiaire. Les profils ringlike et intermédiaire étaient plus fréquents chez les femmes (p=0,034) et moins fréquent chez les personnes avec une faible épaisseur rétinienne centrale (<0,001). Par contre, le profil ringlike était moins fréquent chez les personnes aux yeux brun foncés (p=0,033). En analyse multivariée, la probabilité d'avoir un profil ringlike plutôt qu'un profil typique apparaissait moins importante chez les participants qui ne se protégeaient pas du soleil, ceux ayant les yeux de couleur brun foncée et avec une faible épaisseur rétinienne centrale.

Dans le groupe des participants ayant les données complètes de lutéine et zéaxanthine (n=441), une interaction entre le sexe et le taux plasmatique de lutéine a été mise en évidence. Après ajustement sur la protection solaire, la couleur de l'iris et l'épaisseur rétinienne centrale, les probabilités d'avoir un profil ringlike ou intermédiaire plutôt qu'un profil typique étaient plus élevées chez les hommes ayant une concentration élevée en lutéine (OR=1,22, p=0,009 et OR=1,29, p=0,002 respectivement). Mais cette relation n'était pas retrouvée chez les femmes (p=0,716 pour le profil ringlike et p=0,580 pour le profil intermédiaire).

En conclusion, cette étude nous a permis de décrire les différents types de profils spatiaux du pigment maculaire dans une population âgée de 75 ans et plus et d'identifier certains de leurs déterminants. De plus, ces résultats ont montré que les profils ringlike et intermédiaire sont plus fréquent chez les hommes avec des concentrations plasmatiques en lutéine élevées. Le levier représenté par la supplémentation en nutritionnels en caroténoïdes pourrait donc non seulement contribuer à augmenter la DOPM, mais aussi peut-être sa répartition spatiale. En tout cas, notre étude renforce l'intérêt de prendre en compte les facteurs pouvant influencer l'impact d'intervention de supplémentation lors de la planification de celles-ci. Par ailleurs, même si la concordance de classement des profils spatiaux entre les 2 investigateurs en charge de cette évaluation était bonne, on ne peut écarter un certain degré d'erreur de classement. Compte-tenu de l'association de certains profils avec un risque plus élevé de DMLA et des retombées que cela peut constituer en terme de dépistage, il semble important de développer des algorithmes d'analyse automatique des profils spatiaux de DOPM.

PARTIE B – Sécheresse oculaire : description et déterminants dans une population française de 75 ans et plus

1. Sècheresse oculaire chez les personnes âgées : prévalence et facteurs associés

1.1- Introduction

En parallèle des travaux menés sur la densité du pigment maculaire, différentes analyses ont été menées sur la sécheresse oculaire, pathologie particulièrement fréquente en population âgée et pouvant être invalidante au quotidien.

Deux grandes catégories de sécheresse oculaire ont été décrites : 1) les sécheresses oculaires liées à un excès d'évaporation des larmes lié à une composition altérée, et 2) les sécheresses liées à une insuffisance de production des larmes. Elle peut ainsi résulter de plusieurs facteurs interagissant entre eux comme l'âge, la ménopause, ou les pathologies inflammatoires pouvant modifier le métabolisme des acides gras impliqués dans le film huileux sécrété par les glandes de Meibomius, ou encore certaines pathologies auto-immunes comme le syndrome de Gougerot-Sjögren et la prise de médicaments psychotropes qui peuvent aboutir à la diminution de sécrétion de larmes par des mécanismes très différents.

Mais globalement, quel que soit le type de sécheresse oculaire ses manifestions sont similaires allant d'un inconfort visuel, à des sensations de sécheresse, du sable dans l'œil, ou de brulure s'aggravant au cours de la journée, ou à des signes objectifs de rougeur ou de kérato-conjonctivite. Malgré la banalité de ces signes, la fréquence réelle de cette pathologie est assez mal connue surtout chez les personnes âgées. Les études en population d'âge moyen font état de taux de prévalence allant de 4,3% à 14,6%. [22,130-132] Les études menées en population âgée rapportent des prévalences plus élevées allant de 14,6% à 21,9%. [133] Globalement les experts s'accordent pour une prévalence pouvant aller de 5 à 30%.

Ces variations de fréquence sont liées aux difficultés de s'accorder sur une définition claire du syndrome de sécheresse oculaire. [134] En effet, cette définition peut s'appuyer soit sur une auto-évaluation par les patients de leurs symptômes via une échelle standardisée telle que l'OSDI, soit sur une évaluation clinique reposant sur les tests TFBUT et le test de Schirmer. Si les résultats de ces deux types d'évaluations ne sont généralement pas corrélées, [135] elles ont toutes deux leur pertinence, l'une au regard de la gêne occasionnée chez les patients, l'autre au regard de la physiopathologie même de cette atteinte.

1.2- Objectifs

L'objectif de la première étude réalisée sur la sécheresse oculaire a été donc d'estimer la prévalence du syndrome sec dans la population de l'étude Montrachet, âgée de 75 ans et

plus issue de la population générale. Il s'agissait ensuite d'en identifier les principaux facteurs associés.

Au total 1045 volontaires ont pu être inclus dans cette analyse.

1.3- Publications et communications relatives à l'étude

Cette première étude a fait l'objet d'une publication dans *Ocular surface en 2017* (*Ferrero A, Alassane S et coll, Ocul Surf 2018;16:112-119*).

The Ocular Surface 16 (2018) 112–119

Contents lists available at ScienceDirect

The Ocular Surface

journal homepage: www.theocularsurface.com

Original Research

Dry eye disease in the elderly in a French population-based study (the Montrachet study: Maculopathy, Optic Nerve, nuTRition, neurovAsCular and HEarT diseases): Prevalence and associated factors

Arthur Ferrero [a], Seydou Alassane [b], Christine Binquet [b], Lionel Bretillon [d], Niyazi Acar [b], Louis Arnould [a], Aurore Muselier-Mathieu [a], Cécile Delcourt [c], Alain M. Bron [a, d, *], Catherine Creuzot-Garcher [a, d]

[a] Department of Ophthalmology, Dijon University Hospital, Dijon, France
[b] Department of Epidemiology, Dijon University Hospital, Dijon, France
[c] Univ. Bordeaux, Inserm, Bordeaux Population Health Research Center, Team LEHA, UMR 1219, F-33000, Bordeaux, France
[d] Eye and Nutrition Research Group, CSGA, UMR 1324 INRA, 6265 CNRS, Burgundy University, Dijon, France

ARTICLE INFO

Article history:
Received 21 May 2017
Received in revised form
25 August 2017
Accepted 11 September 2017

Keywords:
Dry eye disease
Elderly
Epidemiology
Population-based study

ABSTRACT

Purpose: To estimate the prevalence of dry eye disease (DED) in the elderly and to describe systemic and ocular factors associated with DED in a population-based study, the Montrachet (Maculopathy Optic Nerve nuTRition neurovAsCular and HEarT diseases) study.
Methods: Dry eye symptoms were evaluated using the Ocular Surface Disease Index (OSDI) questionnaire. A self-reported history of dry eye symptoms and artificial tear use were also recorded. Every participant underwent an ophthalmic evaluation, which included the Schirmer test without anesthesia (Schirmer I), tear film breakup time (TFBUT) measurement, and fluorescein corneal staining evaluation.
Results: A total of 1045 subjects were included in the study. The mean age was 82.2 ± 3.8 years. The prevalence of DED according to symptoms, signs, or both was 34.4% [95% confidence interval ({CI)} 31.5 −37.2], 34.5% [95% CI 31.6−37.3] and 13.0% [95% CI 10.9−15.0], respectively. Compared with men, women were more likely to self-report DED and artificial tear use, more often displayed an OSDI >22, and more often suffered from subjective and definite DED. In multivariate analysis, associated factors with definite DED were an educational level of short secondary school (to age 15 years), best-corrected visual acuity <20/60, dark iris color, systemic hypertension, and anxiolytic agent and antihistamine eye drop use.
Conclusion: Dry eye disease is a major ophthalmologic condition with a high prevalence among the elderly. We report well-documented factors associated with DED and new associations deserving further investigation.

© 2017 Elsevier Inc. All rights reserved.

1. Introduction

Dry eye disease (DED) is a chronic and progressive condition that can cause impaired quality of life with highly prevalent symptoms [1]. Patients describe their symptoms as a feeling of dryness, grittiness or soreness worsening throughout the day, burning and red eyes, temporarily blurred vision, and visual discomfort. Most common clinical signs of severe DED or keratoconjunctivitis sicca are redness, corneal and/or conjunctival staining with dye, tear film instability, and limited tear secretion [2].

Two main categories of DED have been described: excessive tear evaporation and insufficient tear production. The 2007 International Dry Eye Workshop (DEWS) defined DED as "a multifactorial disease of the tears and ocular surface that results in symptoms of discomfort, visual disturbance, and tear film instability with potential damage to the ocular surface …" [2]. Increased osmolarity of the tear film and inflammation of the ocular surface were also included in this definition. Hence, DED is a multifactorial disorder involving multiple interacting mechanisms. Most population-based studies investigating DED covered a wide age range for the subjects

* Corresponding author. Department of Ophthalmology, Dijon University Hospital, 14 rue Paul Gaffarel, 21079, Dijon, France.
E-mail address: alain.bron@chu-dijon.fr (A.M. Bron).

https://doi.org/10.1016/j.jtos.2017.09.008
1542-0124/© 2017 Elsevier Inc. All rights reserved.

included [3]. DED prevalence was found to be 4.3% in the Physicians' Health Study population [3], 7.8% in the Women's Health Study [4], 14.4% in the Beaver Dam Eye Study [5], and 14.6% in the Salisbury Eye Study, which was more focused on the elderly [6]. Recently, the Alienor study, a French population-based study in a population over 75 years of age, reported a DED prevalence of 21.9% when considering only symptoms of DED [7]. Other studies reported DED prevalence varying from 3.1% [8] to 93.2% [9]. Globally, experts agree that DED prevalence ranges from 5 to 30% [1]. This variation illustrates the difficulty of assessing the prevalence of DED depending on the criteria used for the definition (i.e., one or more DED symptoms and/or signs) and establishing a comparison between populations and countries [10].

The aim of this study was first to estimate the prevalence of DED in the Montrachet population aged 75 years and over, and then to describe the associations of DED with systemic and ocular factors.

2. Material and methods

2.1. Montrachet population

The Montrachet (Maculopathy Optic Nerve and nuTRition neurovAsCular and HEarT disease) study is an ancillary study of the Three-City (3C) study, a population-based study designed to assess the vascular risk factors for dementia [11]. The 3C study included 9294 individuals aged 65 years and over, selected from the electoral rolls of three French urban cities (Bordeaux, Dijon, and Montpellier). In Dijon, 4931 participants took part in the first run of the 3C Study in 1999. At the fifth run, 10 years later, a subgroup of participants was invited to participate in the Montrachet study investigating the relationship between age-related eye diseases and neurologic and heart diseases in the elderly. From 22 October 2009 until 31 March 2013, 1153 volunteers were recruited in the Montrachet study. The methodology of the Montrachet study and the baseline characteristics of the participants have already been described [12]. Briefly, participants underwent a thorough eye examination in the Department of Ophthalmology at the Dijon University Hospital, France. All participants were asked to complete a questionnaire about lifestyle (in particular alcohol consumption and smoking status) and environment (in particular sun protection). The body mass index (BMI) was defined as weight/height^2 in kg/m^2 and overweight was defined as BMI (height/weight^2) >25 kg/m^2. The best-corrected visual acuity was measured with the ETDRS chart and the cut-off of 60 letters (20/60) was retained for defining low visual acuity. Systemic and ocular diseases considered for the present analysis were based on self-declarations by the participants. Oral medication use was defined from an anatomic therapeutic chemical classification (ATC) for drug use. Anxiolytic drugs included benzodiazepine, diphenylmethane, carbamates and dibenzo-bicyclo-octadiene derivatives. Antidepressants included nonselective and selective monoamine reuptake inhibitors, monoamine oxidase inhibitors and monoamine oxidase A inhibitors. Global psychotic drugs included all phenothiazines, indole derivatives, thioxanthene derivatives and diazepines. Global psychotropics included antidepressants, antipsychotics, anxiolytics, antiepileptics, anticholinergic agents, hypnotics and sedatives, psychostimulants, antidementia agents and drugs used in addictive disorders (http://www.whocc.no/atc_ddd_index/). The study was approved by the regional ethics committee and was registered as 2009-A00448-49. All participants gave their informed consent and the procedures followed were in accordance with the 1975 Helsinki Declaration.

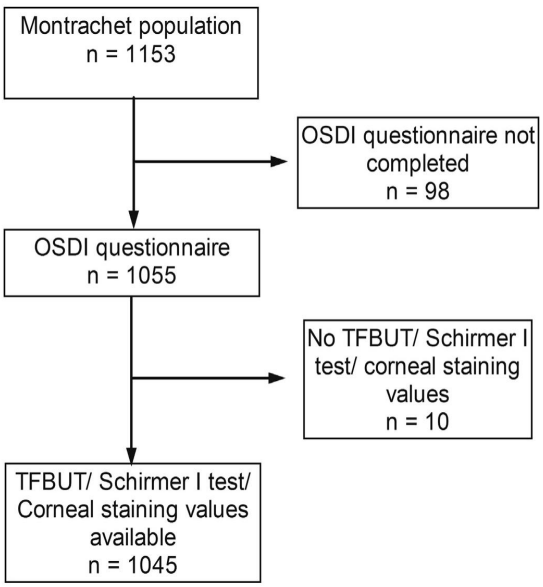


Fig. 1. Workflow of the dry eye disease Montrachet study.

2.2. Ocular surface evaluation

Symptoms were evaluated by means of the Ocular Surface Disease Index (OSDI) questionnaire [13]. The 12 items of the OSDI questionnaire summarized the main symptoms related to DED and were graded on a scale from 0 to 4. The total OSDI score was calculated from the subject's response with the following formula: OSDI = [sum of the scores for all questions answered × 100]/total number of questions answered] × 4. To be consistent with recent studies, we considered a score ≥23 for moderate and severe subjective DED [14,15]. Furthermore, patients were asked to report on the use of topical treatment either for ocular dryness or for any other ocular conditions. We took into consideration whether or not these medications were preserved. Self-reported DED was recorded by asking the following question: "Are you aware of having a dry eye disease?"

The ocular surface was studied with the following tests performed successively in both eyes. Fluorescein tear film breakup time (TFBUT) was evaluated at the slit-lamp using a blue cobalt illumination. A 5-µl sterile drop of fluorescein (Fluorescein Faure 0.5% single dose, Novartis, Rueil-Malmaison, France) was instilled in each conjunctival cul-de-sac. After a few blinks (at least three), the timing of breakup of the precorneal tear film was recorded in seconds. The average of three consecutive measurements was used for analysis, and then corneal staining was assessed in both eyes. The impregnation of ten isolated points or fewer was considered as normal [16]. Corneas with more than ten positive points were classified as corneal staining-positive. A 5-min Schirmer I test was performed at least 30 min later. A dedicated paper strip (Liposic-Schirmer-Test-Streifen; Dr Mann Pharma, Berlin, Germany) was introduced laterally in the lower conjunctival fornix without any contact with the cornea and removed after 5 min. The amount of wetting in millimeters was recorded [16,17]. The most severely affected eye for each subject was retained for analysis. If the severity was equal in both eyes, we arbitrarily selected the right eye. Tear osmolarity measurements were taken in the first 149 consecutive participants. We used a single-use lab-on-a-chip system, which simultaneously collected and analyzed the electrical impedance of a 50-nl tear sample from the inferior lateral meniscus

Table 1
Comparison of participants and nonparticipants for dry eye disease evaluation in the Montrachet population.

	Participants n = 1045 (%)	Nonparticipants n = 108 (%)	*P*-value
Age, years			
< 80	358 (34.3)	42 (38.9)	0.400
80–85	447 (42.8)	39 (36.1)	
> 85	240 (22.9)	27 (25.0)	
Sex, female	650 (62.2)	73 (67.6)	0.270
Body mass index, ≥ 25 kg/m^2	502 (48.0)	53 (49.1)	0.837
Smoking status, former or current smokers	356 (34.6)	34 (33.0)	0.752
Alcohol consumption, yes	59 (6.4)	5 (5.2)	0.645
Education level			
No education or primary school	295 (28.3)	29 (26.8)	0.583
Short secondary school	145 (13.9)	15 (13.9)	
Long secondary school	192 (18.4)	15 (13.9)	
Post- secondary or university	412 (39.5)	49 (45.4)	
Sun protection			
Never	102 (9.8)	13 (12.4)	0.377
Occasionally	231 (22.1)	25 (25.7)	
Often	710 (68.1)	65 (61.9)	
Environmental exposure			
Time spent outdoors, h/day	0.92 (1.2)	0.85 (1.3)	0.545
Time spent on television screen, h/day	3.28 (1.7)	3.17 (1.9)	0.562
Time spent on computer screen, h/day	0.48 (1.0)	0.35 (0.8)	0.266
Best-corrected visual acuity			
≥ 20/60	1017 (97.3)	106 (98.1)	0.607
< 20/60	28 (2.7)	2 (1.85)	
Central corneal thickness, μm	554.01 (35.3)	560.87 (33.7)	0.056
Iris color			
Blue/gray	424 (40.6)	41 (37.9)	0.652
Green/brown	322 (30.8)	38 (35.2)	
Dark brown	299 (28.6)	29 (26.8)	
Medical history[a]			
Systemic hypertension	613 (58.7)	61 (56.5)	0.662
Diabetes	86 (9.3)	7 (7.3)	0.506
Depression	109 (10.5)	8 (7.5)	0.332
Ocular history[a]			
Cataract extraction	513 (49.1)	54 (51.4)	0.648
Diabetic retinopathy	9 (0.9)	0 (0.0)	0.333
Age-related macular degeneration	39 (4.0)	1 (1.03)	0.140
Glaucoma	126 (12.1)	11 (10.2)	0.654
Ocular hypertension	32 (3.1)	6 (5.6)	0.167
Systemic drugs			
Antihypertensives	559 (60.7)	56 (58.3)	0.652
Diuretics	145 (13.9)	13 (12.0)	0.596
Beta-blockers	245 (23.4)	27 (25.0)	0.717
Calcium antagonists	141 (13.5)	21 (19.4)	0.090
Antidepressants	75 (7.2)	11 (10.2)	0.257
Anxiolytics	124 (11.9)	14 (12.9)	0.738
Antipsychotics	3 (0.3)	2 (1.8)	**0.018**
Global psychotropic drugs	261 (24.9)	26 (24.1)	0.907
Antihistamines	55 (5.3)	3 (2.8)	0.261
Decongestants and antiallergic agents	13 (1.2)	1 (0.9)	0.774
Lipid-lowering drugs	392 (42.6)	32 (33.3)	0.081
Topical treatment			
Artificial tears	131 (12.5)	15 (13.9)	0.687
IOP-lowering agents			
Preserved eye drops	91 (8.7)	12 (11.1)	0.640
Nonpreserved eye drops	15 (1.4)	2 (1.8)	
Antihistamine eye drops	47 (4.5)	5 (4.6)	0.949
Other eye drops	9 (0.9)	2 (1.8)	0.313

Values are given as mean (SD) for continuous variables and number (percentage) for categorical variables. Missing data for smoking status (n = 20), alcohol consumption (n = 136), education level (n = 1), sun protection (n = 5), time spent outdoors (n = 6), time spent on television screen (n = 20), time spent on computer screen (n = 30), central corneal thickness (n = 7), diabetes (n = 137), depression (n = 14), age-related macular degeneration (n = 84), glaucoma (n = 1), antihypertensives (n = 136), lipid-lowering drugs (n = 136).
Secondary school levels: Short (to age 15 years); Long (to age 18 years).
Statistically significant *P*-values are in bold.
[a] Self-reported.

(TearLab™ Osmolarity System, TearLab Corp., San Diego, CA, USA). We took only one measurement per eye and the worse eye was retained for analysis.

2.3. Dry eye disease definition

We separately considered symptom-based DED qualified as "subjective" DED and clinical sign-based DED qualified as "objective" DED. Data were analyzed to identify participants presenting with one of the following: OSDI score >22, artificial tear use more than three times a day, or self-reported DED. Subjects fulfilling one of these criteria were considered to have "subjective DED." To be considered to be suffering from "objective DED," subjects had to present two out of the three following signs: positive corneal staining, TFBUT <5 s, and Schirmer I test <5 mm. Finally, the subjects classified as both subjective and objective DED were considered to have "definite DED."

Participants were also classified using the DEWS stages based on the signs for DED from the modified DELPHI panel report [2,18]. Briefly, stage 0 (no DED) and stage 1 (early DED) included every subject with negative corneal staining and/or TFBUT >10 s and/or Schirmer I test >10 mm. Stage 2 (mild DED) included every patient with negative corneal staining and/or TFBUT <10 s and/or Schirmer I test < 10 mm. Stage 3 (moderate DED) included patients with positive corneal staining and/or TFBUT< 5 s and/or Schirmer I test <5 mm. To be included in stage 0–3, two criteria out of the three had to be present. To be included in stage 4 (severe DED), all the criteria had to be present: positive corneal staining and TFBUT <2 s and Schirmer I test <2 mm. For statistical analysis, we considered stage 0, 1, and 2 as normal, since corneal staining remained negative.

2.4. Statistics

Descriptive statistics are given as mean (SD) for continuous variables given their normal distribution and number (percentage) for categorical variables. For comparisons, we used the Fischer exact test or χ^2 for dichotomous data and the Student *t*-test and ANOVA for continuous variables. Correlations between variables were tested using Pearson correlation coefficients. Kappa coefficients were used to explore the agreement between subjective and objective DED. To identify factors associated with definite DED after adjustment for age and sex, a logistic regression was used. Then all factors associated with definite DED ($P < 0.05$) in the age- and sex-adjusted model were included in the final multivariate logistic model. When variables were highly correlated ($r > 0.7$), those providing the lowest Akaike criterion were retained for analysis. Then a backward selection procedure was applied to obtain a final model. The tests were two-sided and significant results were considered when $P < 0.05$. Data analyses were performed using SAS software (version 9.4; SAS institute Inc; Cary, NC, USA).

3. Results

Among the 1153 individuals included in the Montrachet study, 1045 had both objective and subjective data available for DED (Fig. 1). The demographics of participants and nonparticipants for DED evaluation did not differ except for the use of antipsychotic medications (Table 1). The characteristics of the study population are displayed in Table 2. Mean (SD) age was 82.2 (3.8) years. An OSDI score >22 was found in 224 (21.4%) subjects. A DED history was reported by 188 (18.0%) subjects and artificial tear use by 131 (12.5%). The prevalence of subjective DED was 34.4% ([95% CI 31.5–37.2], n = 359). Objective DED defined by the presence of at

Table 2
Characteristics of the Montrachet population evaluated for dry eye disease (n = 1045).

Age, years	
< 80	358 (34.3)
80–85	447 (42.8)
> 85	240 (22.9)
Sex, female	650 (62.2)
Body mass index, ≥ 25 kg/m^2	502 (48.0)
Smoking status, former or current smokers	356 (34.6)
Alcohol consumption, yes	59 (6.4)
Education level	
No education or primary school	295 (28.3)
Short secondary school	145 (13.9)
Long secondary school	192 (18.4)
Post-secondary or university	412 (39.5)
Sun protection	
Never	102 (9.8)
Occasionally	231 (22.1)
Often	710 (68.1)
Environmental exposure	
Time spent outdoors, h/day	0.9 (1.2)
Time spent on television screen, h/day	3.3 (1.7)
Time spent on computer screen, h/day	0.5 (1.0)
Best-corrected visual acuity	
≥ 20/60	1017 (97.3)
< 20/60	28 (2.7)
Central corneal thickness, μm	554.0 (35.3)
Iris color	
Blue/gray	424 (40.6)
Green/brown	322 (30.8)
Dark brown	299 (28.6)
Medical history[a]	
Systemic hypertension	613 (58.7)
Diabetes	86 (9.3)
Depression	109 (10.5)
Ocular history[a]	
Dry eye disease	188 (18.0)
Cataract extraction	513 (49.1)
Diabetic retinopathy	9 (0.9)
Age-related macular degeneration	39 (4.0)
Glaucoma	126 (12.1)
Ocular hypertension	32 (3.1)
Systemic drugs	
Antihypertensives	559 (60.7)
Diuretics	145 (13.9)
Beta-blockers	245 (23.4)
Calcium antagonists	141 (13.5)
Antidepressants	75 (7.2)
Anxiolytics	124 (11.9)
Antipsychotics	3 (0.3)
Global psychotropic drugs	261 (24.9)
Antihistamines	55 (5.3)
Decongestants and anti-allergic agents	13 (1.2)
Lipid-lowering drugs	392 (42.6)
Topical treatment	
Artificial tears	131 (12.5)
IOP-lowering agents	106 (10.2)
Preserved eye drops	91 (8.7)
Nonpreserved eye drops	15 (1.4)
Antihistamine eye drops	47 (4.5)
Other eye drops[b]	9 (0.9)

Values are given as mean (SD) for continuous variables and number (percentage) for categorical variables. Missing data for smoking status (n = 15), alcohol consumption (n = 124), education level (n = 1), sun protection (n = 2), time spent outdoors (n = 1), time spent on television screen (n = 15), time spent on computer screen (n = 22), central corneal thickness (n = 4), diabetes (n = 125), depression (n = 12), age-related macular degeneration (n = 73), glaucoma (n = 1), antihypertensives (n = 124) and lipid-lowering drugs (n = 134).
Secondary school levels: Short (to age 15 years); Long (to age 18 years).
[a] Self-reported.
[b] Other eye drops use included anti-cataract eye drops, vitamin B_{12} and hyperosmolar eye drops.

least two clinical signs was found in 360 subjects (34.5%, [95% CI 31.6–37.3]). Definite DED (i.e., subjective and objective DED) was found in 136 subjects (13.0% [95% CI 10.9–15.1]). According to the 2007 DEWS classification, 1.2% of the subjects had severe DED, while 33.3% had moderate DED (Table 3). Age was not a discriminant factor for DED (Table 4). Women were more likely to report DED and artificial tear use, to display an OSDI >22, and to suffer more often from subjective and definite DED than men (Table 4).

We found a strong association between self-reported dry eye symptoms and artificial tear use (r = 0.64, $P < 0.0001$). Agreement between objective and subjective DED was poor with a Kappa coefficient as low as 0.05 ([95% CI 0.009–0.100]). After adjusting for age and sex, definite DED was more frequent in subjects with an educational level of short secondary school (to age 15 years), those with poor visual acuity, dark brown iris, systemic hypertension, cataract extraction, systemic drug use (e.g., antihypertensives, diuretics, beta-blockers, anxiolytics, decongestant and antiallergic agents, and topical treatments such as antihistamine eye drops). Participants who had never used sun protection were less likely to present with definite DED (Table 5). In our final multivariate logistic model, educational level of short secondary school, poor visual acuity, dark brown iris, systemic hypertension, antianxiolytic drug use, and antihistamine eyedrops remained associated with definite DED. Never using sun protection was still associated with a lower risk for definite DED (Table 6).

Osmolarity measurement was available for 149 subjects. We compared participants with and without osmolarity data. These two populations were similar for all parameters studied except for iris color ($P = 0.04$), use of preserved drops ($P = 0.02$), and age-related macular degeneration ($P < 0.001$). In this subset of patients, the mean tear film osmolarity was significantly higher in patients with definite DED (322 ± 25 mOsms, n = 19), compared with non-DED patients (310 ± 16 mOsms, n = 130, $P = 0.002$). This difference was also found for patients with objective DED (316 ± 21 mOsms, n = 49) vs non-DED subjects (309 ± 15 mOsms, n = 100, $P = 0.03$). Conversely, tear film osmolarity did not differ in patients with or without subjective DED (311 ± 23 mOsms vs 312 ± 15 mOsms, $P = 0.80$).

4. Discussion

The objective of this study was to estimate the prevalence of DED in the elderly. In our population, we defined subjective DED as symptom-based according to the OSDI score, use of symptomatic treatment for DED, or self-declaration of DED. We also defined objective DED as sign-based DED according to the presence of two out of three altered clinical parameters: TFBUT, corneal staining, or the Schirmer I test. Differences in DED definition make it difficult to compare studies [19]. In the Salisbury Eye Study, DED prevalence was 4.5% in participants over 80 years of age with more than one symptom and at least one clinical sign (Schirmer I test or positive corneal staining with Van Bijsterveld score > 5 with rose bengal) [6]. Our population presented a higher prevalence of definite DED (13.0%), probably because we considered TFBUT values as one of the criteria for objective DED. It was recently stressed that an unstable tear film is the central feature of DED, thus highlighting a major role for TFBUT assessment [20]. Our results are consistent with the Alienor study, which reported a TFBUT <5 s in 44.9% of the participants (34.5% in the Montrachet population) [7]. In most population-based studies, DED prevalence was evaluated with self-reported symptoms. The Beaver Dam Eye Study, the Blue Mountains Eye Study, and the Beijing Eye Study reported prevalence of symptomatic DED up to 14.0%, 15.3%, and 16.6%, respectively [5,21,22]. In our study, the 18% self-reported DED was in agreement with these studies. A lower DED prevalence based on a questionnaire evaluating symptoms was reported by the Physician's Health Study (7.7%) and the Women's Health Study (9.8%) [3,4]. However, in these two large studies examining participants younger than those in the Montrachet study, 28% of women and 18% of men reported “sometimes” having symptoms of dryness. In agreement

Table 3
Classification of dry eye disease in the Montrachet population according to the dry eye WorkShop classification (n = 1045).

Clinical signs	TFBUT ≥ 10 s	TFBUT < 10 s	TFBUT < 5 s	TFBUT ≤ 2 s
	Schirmer's test ≥10 mm	Schirmer's test <10 mm	Schirmer's test <5 mm	Schirmer's test ≤2 mm
	Negative corneal staining	Negative corneal staining	Positive corneal staining	Positive corneal staining
Stage	Normal	Early	Moderate	Severe
n (%)	438 (41.9)	247 (23.6)	348 (33.3)	12 (1.2)

TFBUT: Tear film breakup time.

Table 4
Prevalence of dry eye disease according to age and sex in the Montrachet population (n = 1045).

	Age				Sex		
	<80 n = 358	80–85 n = 447	>85 n = 240	*P*-value	Male n = 395	Female n = 650	*P*-value
	n (%)	n (%)	n (%)		n (n%)	n (%)	
Self-reported DED	60 (16.8)	75 (16.9)	53 (22.1)	0.180	46 (11.6)	142 (21.8)	**< 0.0001**
Artificial tear use	35 (9.8)	47 (10.5)	30 (12.5)	0.560	31 (7.8)	81 (12.5)	**0.019**
OSDI > 22	77 (21.5)	90 (20.1)	57 (23.7)	0.541	61 (15.4)	163 (25.1)	**0.0002**
TFBUT < 5 s	139 (38.8)	173 (38.7)	91 (37.9)	0.956	170 (43.0)	233 (35.8)	**0.021**
Schirmer I test < 5 mm	29 (8.1)	45 (10.1)	25 (10.4)	0.535	32 (8.1)	67 (10.3)	0.238
Positive corneal staining	126 (35.2)	177 (39.6)	101 (42.1)	0.209	142 (52.1)	262 (57.4)	0.161
Subjective DED	123 (34.4)	142 (31.8)	94 (39.2)	0.151	102 (25.8)	257 (39.5)	**< 0.0001**
Objective DED	111 (31.0)	160 (35.8)	89 (37.1)	0.222	135 (34.2)	225 (34.6)	0.885
Definite DED	44 (12.3)	52 (11.6)	40 (16.7)	0.161	35 (8.9)	101 (15.5)	**0.002**

DED = dry eye disease; OSDI = Ocular Surface Disease Index; TFBUT = tear film breakup time.
Statistically significant *P*-values are in bold.

Table 5
Age and sex-adjusted associated factors with definite dry eye disease in the Montrachet population.

	OR	95% CI	*P*-value
Body mass index (>25 kg/m^2)	1.11	0.77–1.60	0.581
Smoking status, former or current smokers	0.73	0.46–1.16	0.184
Alcohol consumption, yes	0.93	0.37–2.62	0.880
Education level, vs post-secondary school or university			
No education or primary school	1.15	0.72–1.85	0.557
Short secondary school	1.90	1.11–3.25	**0.018**
Long secondary school	1.53	0.92–2.53	0.101
Sun protection vs often			
Never	0.32	0.13–0.80	**0.015**
Occasionally	0.82	0.52–1.29	0.400
Environmental exposure			
Time spent outdoors, h/day	0.95	0.81–1.12	0.546
Time spent on television screen, h/day	0.96	0.87–1.07	0.514
Time spent on computer screen, h/day	0.99	0.81–1.21	0.925
Best-corrected visual acuity, <20/60	2.53	1.07–5.97	**0.034**
Central corneal thickness, μm	0.99	0.99–1.002	0.259
Iris color, vs blue			
Green/brown	1.06	0.67–1.68	0.790
Dark brown	1.69	1.09–2.61	**0.018**
Medical history			
Systemic hypertension	1.63	1.10–2.39	**0.014**
Diabetes	0.97	0.49–1.89	0.919
Depression	1.40	0.82–2.40	0.215
Ocular history*			
Cataract extraction	1.57	1.07–2.30	**0.019**
Diabetic retinopathy	0.78	0.09–6.32	0.815
Age-related macular degeneration	1.22	0.52–2.88	0.644
Glaucoma	1.47	0.89–2.45	0.129
Ocular hypertension	0.87	0.41–1.87	0.726
Systemic drugs			
Antihypertensives	1.75	1.14–2.67	**0.010**
Diuretics	1.69	1.07–2.69	**0.024**
Beta-blockers	1.59	1.07–2.36	**0.023**
Calcium antagonists	1.46	0.89–2.37	0.129
Antidepressants	0.50	0.21–1.19	0.118
Anxiolytics	1.87	1.16–3.02	**0.009**
Global psychotropic drugs	1.26	0.85–1.89	0.247
Antihistamines	0.78	0.32–1.86	0.574
Decongestants and anti-allergic agents	3.89	1.23–12.33	**0.021**
Lipid-lowering drugs	0.76	0.51–1.14	0.184
Topical treatment			
IOP-lowering agents (preserved eye drops)	1.36	0.75–2.47	0.300
IOP-lowering agents (nonpreserved eye drops)	1.82	0.49–6.62	0.366
Antihistamine drops	2.92	1.52–5.60	**0.001**
Other eye drops	1.69	0.35–8.35	0.514

Secondary school levels: Short (to age 15 years); Long (to age 18 years).
Statistically significant *P*-values are in bold.

Table 6
Multivariate analysis of factors associated with definite dry eye disease in the Montrachet population.

	OR	95% CI	*P*-value
Education level (vs post-secondary or university)			
No education or primary school	1.23	0.75–2.01	0.403
Short secondary school	2.08	1.19–3.63	**0.010**
Long secondary school	1.61	0.95–2.73	0.074
Sun protection (vs often)			
Never	0.32	0.12–0.82	**0.017**
Occasionally	0.83	0.52–1.31	0.419
Best-corrected visual acuity < 20/60	3.29	1.34–8.08	**0.001**
Iris color (vs Blue/gray)			
Green/brown	1.11	0.69–1.78	0.419
Dark brown	1.77	1.13–2.78	**0.013**
Systemic hypertension[a]	1.59	1.06–2.38	**0.024**
Cataract extraction[a]	1.46	0.99–2.18	0.058
Anxiolytics[a]	1.75	1.06–2.88	**0.028**
Antihistamine eye drops[a]	3.24	1.64–6.39	**0.0007**

Three observations were deleted due to missing values for the educational level and sun protection variables.
Secondary school levels: Short (to age 15 years); Long (to age 18 years).
Statistically significant *P*-values are in bold.
[a] Self-reported.

with Nichols et al., the relationship between DED subjective symptoms and DED objective signs was very poor in the present study [23]. One potential explanation for this poor association of signs and symptoms could be the decreased corneal sensitivity usually reported in DED [24]. This strengthens the need to combine signs and symptoms to define DED [18,25,26] A recent study has identified several predictors of discordance between symptoms and signs in DED, and the authors found that increased age was a predictor of fewer symptoms than signs [27].

Prior studies have already examined risk factors for DED. The most clearly documented risk factors are older age, female sex, postmenopausal estrogen therapy, history of LASIK or refractive excimer laser surgery, radiation therapy, hematopoietic stem cell transplantation, vitamin A deficiency, hepatitis C infection, and androgen deficiency [1]. Questionable associations are systemic medications, such as tricyclic antidepressants, isotretinoin, diuretics and beta-blockers, or a systemic condition such as diabetes mellitus. Tear film changes associated with hormonal modifications and meibomian gland dysfunction in the elderly (although we did not collect information on the latter point) may explain why in our study sex was associated with DED in bivariate analysis [28,29]. However, we did not find any association of age with DED, probably because the age range in our study was too narrow and focused on the elderly. Denoyer et al. reported that corneal higher-order aberrations (HOAs) were increased in DED patients due to the tear film irregularity, decreasing the quality of vision, and objective visual acuity [30]. This mechanism could explain why a BCVA <20/60 was associated with definite DED in this study. These results are consistent with previous work showing that a history of cataract extraction (although this parameter was marginally statistically significant in our final model) was associated with DED [31]. The most accepted hypothesis is that DED may be related to post-operative local treatment more than to surgery per se [32]. Self-declared diabetes mellitus was not associated with definite DED in our population but was associated with objective DED (OR = 1.72 [95% CI 1.09–2.72], $P = 0.021$) in a multivariate analysis (data not shown). The common corneal hypoesthesia reported in diabetics may explain this discrepancy [33]. Depression and antidepressant drug use were not associated with definite DED, unlike anxiolytic treatment, which was considered as an unclear risk factor of DED by the 2007 DEWS report [1]. Glaucoma and IOP-lowering agents were not associated with DED in our population when taking into consideration the participants' declarations. This needs further analysis, taking into account a more accurate definition for glaucoma [34]. As pointed out in the 2007 DEWS report, beta-blockers and diuretics are risk factors for DED with a suggestive level of evidence [1]. Our subjects treated with systemic antihypertensive drugs were more likely to have DED in bivariate analysis but not in our multivariate model. It is noteworthy that hypertensive subjects (based on self-declaration) were more likely to suffer from DED in both analyses. The association we found between decongestants, antiallergic drug use and definite DED has already been described [35]. This association remained valid only for antihistamine eye drops in multivariate analysis. This finding is probably related to the overlapping signs that can be recorded in allergy and DED, since TFBUT can be shortened in both conditions. Our findings on educational level and iris color and their association with definite DED, although statistically significant in our multivariate model, are probably not clinically relevant. The fact that participants never using sun protection are less likely to have definite DED should be considered as a paradox. However, since photophobia is associated with DED, patients suffering from DED are more likely to wear sun

protection.

Our data on tear osmolarity are limited but are in agreement with the study of Lemp et al., who reported 308 mOsms/L as a cut-off for osmolarity values for moderate DED and higher osmolarity values for more severe DED presentations [36]. Interestingly, in the present study, osmolarity was mostly associated with clinical signs rather than with symptoms. This finding confirms the utility of osmolarity as a marker for DED.

We acknowledge several limitations to this study. First, corneal staining was recorded only as *present* or *absent*. We were not able to apply the entire Oxford classification, limiting the accuracy of our clinical evaluation. Second, we considered subjects with mild DED (as defined by the 2007 DEWS report) as normal. This choice was made in agreement with other studies considering a TFBUT >5 s, a negative corneal staining or a Schirmer test >5 mm as normal [6]. Indeed, the DEWS classification is difficult to apply strictly in epidemiological studies since there is a continuum between early and moderate levels for most signs except for corneal staining, which is pronounced in the moderate stage [19]. This is why we considered cases without corneal staining as almost normal. However, we followed the recommendations to consider both signs and symptoms to identify definite DED. Third, corneal aesthesia was not recorded, which could have led to misclassification of some participants. Fourth, osmolarity measurements concerned only a small nonselected subgroup of the population and were only taken once per participant. Consequently, we were not able to evaluate intereye variation and the change in tear osmolarity over time as recommended in clinical trials [37]. Indeed, Lemp et al. reported that not only the highest value of osmolarity was a good diagnostic criterion for DED, but also the difference between two measurements [36]. Fifth, this study only investigated a white and urban population in a European country; therefore, the results cannot be extrapolated to other groups or other regions of the world. Moreover, like the Alienor study, a similar population-based study in the elderly conducted in the Western part of France [38], our Montrachet population had a high socioeconomic status and a healthier status than the parent cohort (the 3C study) [11,12]. Sixth, the relationship with systemic diseases was based only on self-declaration, which may lead to errors. Finally, meibomian gland dysfunction and pain were not collected in our population, although it plays an important role in DED [39]. However, with the definition of definite DED used herein, dry eye disease was assessed globally and not only aqueous-deficient dry eye. Therefore, our results are reliable when considering the ocular surface consequences of both aqueous tear-deficient dry eye and evaporative dry eye. The strengths of this study include its large population sample as well as the strict criteria used for DED definition and the potential associated risk factors being analyzed.

In conclusion, this study provided epidemiological data on DED confirming that ocular dryness is a frequent condition in the elderly. We reported well-known associated factors to DED, such as female gender, poor visual acuity, history of cataract surgery, systemic hypertension, and anxiolytics. Other factors concerning life style and environment deserve further investigation.

Financial support

Funding was provided by an Inter-regional grant (PHRC) and the Regional Council of Burgundy. This study was also funded by INRA, CNRS, Université de Bourgogne, Regional Council of Burgundy France (PARI Agrale 1), FEDER (European Funding for Regional Economic Development) and French Government grant managed by the French National Research Agency (ANR) as part of the "Investissements d'Avenir" program (reference ANR-11-LABX-0021-01-LipSTIC Labex). The funding organizations had no role in the design or conduct of this research.

Financial disclosure (s)

The authors provide the following disclosures: A.F., S.A., C.B., L.B., N.A., A.M.M., C.D., have nothing to disclose. A.M.B. reports personal fees from Allergan, personal fees from Bausch + Lomb, grants from Horus, personal fees from Théa, personal fees from Carl Zeiss Meditec, outside the submitted work. C.C.G. reports grants and personal fees from Allergan, personal fees from Bayer, personal fees and other from Novartis, grants from Horus, grants and personal fees from Thea, outside the submitted work.

References

[1] No authors listed. The epidemiology of dry eye disease: report of the epidemiology subcommittee of the international dry eye WorkShop. Ocul Surf 2007;2007(5):93–107.
[2] No authors listed. The definition and classification of dry eye disease: report of the definition and classification subcommittee of the international dry eye WorkShop. Ocul Surf 2007;2007(5):75–92.
[3] Schaumberg DA, Dana R, Buring JE, Sullivan DA. Prevalence of dry eye disease among US men: estimates from the Physicians' Health Studies. Arch Ophthalmol 2009;127:763–8.
[4] Schaumberg DA, Sullivan DA, Buring JE, Dana MR. Prevalence of dry eye syndrome among US women. Am J Ophthalmol 2003;136:318–26.
[5] Moss SE, Klein R, Klein BE. Prevalence of and risk factors for dry eye syndrome. Arch Ophthalmol 2000;118:1264–8.
[6] Schein OD, Munoz B, Tielsch JM, Bandeen-Roche K, West S. Prevalence of dry eye among the elderly. Am J Ophthalmol 1997;124:723–8.
[7] Malet F, Le Goff M, Colin J, Schweitzer C, Delyfer MN, Korobelnik JF, et al. Dry eye disease in French elderly subjects: the Alienor Study. Acta Ophthalmol 2014;92:e429–36.
[8] Schein OD, Hochberg MC, Munoz B, Tielsch JM, Bandeen-Roche K, Provost T, et al. Dry eye and dry mouth in the elderly: a population-based assessment. Arch Intern Med 1999;159:1359–63.
[9] Bukhari A, Ajlan R, Alsaggaf H. Prevalence of dry eye in the normal population in Jeddah, Saudi Arabia. Orbit 2009;28:392–7.
[10] Johnson ME. The association between symptoms of discomfort and signs in dry eye. Ocul Surf 2009;7:199–211.
[11] Group TCS. Vascular factors and risk of dementia: design of the Three-City Study and baseline characteristics of the study population. Neuroepidemiology 2003;22:316–25.
[12] Creuzot-Garcher C, Binquet C, Daniel S, Bretillon L, Acar N, de Lazzer A, et al. The Montrachet Study: study design, methodology and analysis of visual acuity and refractive errors in an elderly population. Acta Ophthalmol 2016;94:e90–7.
[13] Schiffman RM, Christianson MD, Jacobsen G, Hirsch JD, Reis BL. Reliability and validity of the ocular surface disease index. Arch Ophthalmol 2000;118:615–21.
[14] Hashemi H, Khabazkhoob M, Kheirkhah A, Emamian MH, Mehravaran S, Shariati M, et al. Prevalence of dry eye syndrome in an adult population. Clin Exp Ophthalmol 2014;42:242–8.
[15] Wolffsohn JS, Arita R, Chalmers R, Djalilian A, Dogru M, Dumbleton K, et al. TFOS DEWS II diagnostic methodology report. Ocul Surf 2017;15:539–74.
[16] Bron AJ, Evans VE, Smith JA. Grading of corneal and conjunctival staining in the context of other dry eye tests. Cornea 2003;22:640–50.
[17] Lemp MA, Crews LA, Bron AJ, Foulks GN, Sullivan BD. Distribution of aqueous-deficient and evaporative dry eye in a clinic-based patient cohort: a retrospective study. Cornea 2012;31:472–8.
[18] Behrens A, Doyle JJ, Stern L, Chuck RS, McDonnell PJ, Azar DT, et al. Dysfunctional tear syndrome: a Delphi approach to treatment recommendations. Cornea 2006;25:900–7.
[19] Baudouin C, Aragona P, Van Setten G, Rolando M, Irkec M, Benitez del Castillo J, et al. Diagnosing the severity of dry eye: a clear and practical algorithm. Br J Ophthalmol 2014;98:1168–76.
[20] Tsubota K, Yokoi N, Shimazaki J, Watanabe H, Dogru M, Yamada M, et al. New perspectives on dry eye definition and diagnosis: a consensus report by the asia dry eye society. Ocul Surf 2017;15:65–76.
[21] Chia EM, Mitchell P, Rochtchina E, Lee AJ, Maroun R, Wang JJ. Prevalence and associations of dry eye syndrome in an older population: the Blue Mountains Eye Study. Clin Exp Ophthalmol 2003;31:229–32.
[22] Jie Y, Xu L, Wu YY, Jonas JB. Prevalence of dry eye among adult Chinese in the Beijing Eye Study. Eye (Lond) 2009;23:688–93.
[23] Nichols KK, Nichols JJ, Mitchell GL. The lack of association between signs and symptoms in patients with dry eye disease. Cornea 2004;23:762–70.
[24] Sullivan BD, Crews LA, Messmer EM, Foulks GN, Nichols KK, Baenninger P, et al. Correlations between commonly used objective signs and symptoms for the diagnosis of dry eye disease: clinical implications. Acta Ophthalmol 2014;92:161–6.

[25] Sullivan BD, Whitmer D, Nichols KK, Tomlinson A, Foulks GN, Geerling G, et al. An objective approach to dry eye disease severity. Invest Ophthalmol Vis Sci 2010;51:6125–30.
[26] No authors listed. Research in dry eye: report of the research subcommittee of the international dry eye WorkShop. Ocul Surf 2007;2007(5):179–93.
[27] Vehof J, Sillevis Smitt-Kamminga N, Nibourg SA, Hammond CJ. Predictors of discordance between symptoms and signs in dry eye disease. Ophthalmology 2017;124:280–6.
[28] Gipson IK. Age-related changes and diseases of the ocular surface and cornea. Invest Ophthalmol Vis Sci 2013;54:Orsf48–53.
[29] Alghamdi YA, Mercado C, McClellan AL, Batawi H, Karp CL, Galor A. Epidemiology of meibomian gland dysfunction in an elderly population. Cornea 2016;35:731–5.
[30] Denoyer A, Rabut G, Baudouin C. Tear film aberration dynamics and vision-related quality of life in patients with dry eye disease. Ophthalmology 2012;119:1811–8.
[31] Khanal S, Tomlinson A, Esakowitz L, Bhatt P, Jones D, Nabili S, et al. Changes in corneal sensitivity and tear physiology after phacoemulsification. Ophthalmic Physiol Opt 2008;28:127–34.
[32] Li XM, Hu L, Hu J, Wang W. Investigation of dry eye disease and analysis of the pathogenic factors in patients after cataract surgery. Cornea 2007;26:S16–20.
[33] DeMill DL, Hussain M, Pop-Busui R, Shtein RM. Ocular surface disease in patients with diabetic peripheral neuropathy. Br J Ophthalmol 2016;100:924–8.
[34] Foster PJ, Buhrmann R, Quigley HA, Johnson GJ. The definition and classification of glaucoma in prevalence surveys. Br J Ophthalmol 2002;86:238–42.
[35] Ousler GW, Wilcox KA, Gupta G, Abelson MB. An evaluation of the ocular drying effects of 2 systemic antihistamines: loratadine and cetirizine hydrochloride. Ann Allergy Asthma Immunol 2004;93:460–4.
[36] Lemp MA, Bron AJ, Baudouin C, Benitez Del Castillo JM, Geffen D, Tauber J, et al. Tear osmolarity in the diagnosis and management of dry eye disease. Am J Ophthalmol 2011;151:792–8. e1.
[37] Sullivan BD, Crews LA, Sonmez B, de la Paz MF, Comert E, Charoenrook V, et al. Clinical utility of objective tests for dry eye disease: variability over time and implications for clinical trials and disease management. Cornea 2012;31:1000–8.
[38] Delcourt C, Korobelnik JF, Barberger-Gateau P, Delyfer MN, Rougier MB, Le Goff M, et al. Nutrition and age-related eye diseases: the Alienor (Antioxydants, Lipides Essentiels, Nutrition et maladies OculaiRes) Study. J Nutr Health Aging 2010;14:854–61.
[39] Ong ES, Alghamdi YA, Levitt RC, McClellan AL, Lewis G, Sarantopoulos CD, et al. Longitudinal examination of frequency of and risk factors for severe dry eye symptoms in US veterans. JAMA Ophthalmol 2016;135:116–23.

1.4- Résumé des données essentielles

Quatre classifications ont été utilisées pour ce travail. La première considérait qu'un participant pouvait être considéré comme ayant une sécheresse oculaire subjective si au moins l'un des critères suivants était présent : OSDI >22, utilisation de larmes artificielles plus de 3 fois par jour ou si le patient indiquait qu'il présentait une sécheresse oculaire. Un OSDI>22 a été retrouvé chez 21,4% des sujets inclus. Des antécédents de sécheresse oculaire étaient rapportés par 18% des volontaires et des larmes artificielles étaient utilisées par 12,5%. En combinant ces différents éléments, la fréquence de la sécheresse oculaire subjective était de 34,4% (IC-95%=31,5-37,2). La deuxième définition correspondait à la sécheresse oculaire objective définie par la présence de 2 des 3 signes suivants : coloration de la cornée positive, TFBU<5 secondes et test de Schirmer I <5 mm. Avec cette définition, 34,5% des sujets inclus avaient une sécheresse oculaire objective (IC-95%=31,6-37,3). Si l'on considérait qu'une sécheresse oculaire « certaine » ne pouvait être retenue que si le sujet avait à la fois une sécheresse subjective et une sécheresse objective, alors la fréquence était réduite à 13,0% (CI-95%=10,9%-15,1%). Ce décalage venait confirmer le faible accord entre les signes subjectifs et les signes cliniques (Kappa=0,05 ; CI-95%=0,009-0,100). Enfin la stadification de DEWS a été utilisée pour classer les participants.

Tableau 10: Classification de la sécheresse oculaire dans Montrachet selon la classification de DEWS.

Stade 0/1 (pas de sécheresse ou sécheresse limitée	Test cornéen négatif et/ou TFBUT>10s et/ou Schirmer >10mm
Stade 2 (sécheresse légère)	Test cornéen négatif et/ou TFBUT<10s et/ou Schirmer <10mm
Stade 3 (sécheresse modérée)	Test cornéen positif et/ou TFBUT<5s et/ou Schirmer <5mm
Stade 4 (sécheresse sévère)	Test cornéen positif et TFBUT<2s et Schirmer <2mm

D'après cette classification, 1,2% des participants avec une sécheresse oculaire sévère et 33,3% avaient une sécheresse modérée.
L'ensemble de ces données confirment la fréquence de la sécheresse oculaire dans la population âgée.

L'analyse multivariée montrait que la probabilité de sècheresse oculaire certaine était plus importante chez les sujets sous anxiolytiques ou antihistaminiques locaux, ayant une faible acuité visuelle ou une hypertension artérielle. De façon un peu paradoxale, les sujets ne se

protégeant jamais du soleil avaient une probabilité plus faible de présenter une sécheresse oculaire certaine. Cependant, ceci peut être lié à un phénomène de causalité inverse, car les patients atteints d'une sécheresse oculaire ont plus tendance à se protéger du soleil du fait de la photophobie qui lui est associée.

IV.2- Association entre le profil plasmatique des acides gras et les signes de la sécheresse oculaire dans la population âgée : Etude Montrachet (*soumis pour publication*)

1.5- introduction

Sur le plan physiopathologique, il reste de nombreuses inconnues concernant les mécanismes à l'œuvre dans les syndromes de sécheresse oculaire. Ces dernières années des études ont montré que les acides gras (AG) plasmatiques particulièrement les AG polyinsaturés sont associés à la sécheresse oculaire. [27,136,137] Cependant, la plupart de ces études se sont intéressées aux AG polyinsaturés de façon isolée sans tenir compte des taux d'AG saturés et mono-insaturés alors que certains d'entre eux ont des propriétés proinflammatoires pouvant contribuer à la pathogénèse de la sécheresse oculaire.

1.6- Objectif

L'objectif de ce travail était d'étudier la relation entre le profil des acides gras plasmatiques et les signes de la sécheresse oculaire dans la population âgée française. Nous avons inclus dans cette analyse 740 personnes issues de l'étude Montrachet pour lesquels nous disposions à la fois des données nécessaires pour la détermination de leur statut vis-à-vis de la sécheresse oculaire mais aussi de leurs dosages plasmatiques d'acides gras.

1.7- Publication relative à l'étude

Cette étude a donné lieu à la préparation du manuscrit figurant ci-après qui doit être soumis prochainement à Ocular surface.

Relationship of Plasma Fatty Acids and Dry Eye Disease Signs in French Elderly Population, The Montrachet study

Alassane Seydou, [1,2] Christine Binquet, [2] Vanessa Cottet, [2] Michel Narce, [3] Arthur Ferrero, [4] Louis Arnould, [4] Lionel Bretillon, [1] Niyazi Acar, [1] Cécile Delcourt,[5] Alain M. Bron, [1,4] Catherine Creuzot-Garcher [1,4]

[1] Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation, CNRS, INRA, Univ. Bourgogne Franche-Comté, F-21000 Dijon, France

[2] INSERM, CIC 1432, Clinical Epidemiology Unit, Dijon, France, University Hospital, Clinical Center Investigation, Clinical Epidemiology/Clinical trials Unit, Dijon, France

[3] INSERM, Lipides Nutrition Cancer UMR866, F-21000 Dijon, France

[4] Dijon University Hospital, Ophthalmology Department, Dijon, France

[5] Univ Bordeaux, Inserm, Bordeaux, Population health Research Center, team LEHA, UMR 1219, F-33000 Bordeaux, France

Disclosure: the authors have declared no conflicts of interest.

Word count: Abstract (231), Manuscript (3780).

Grant information: This work was supported by an inter-regional grant (PHRC) and the regional Council of Burgundy. This study was also funded by INRA, CNRS, Burgundy-Franche-Comté University, Regional Council of Burgundy, France (PARI Agrale 1), FEDER (European Funding for Regional Economic Development) and a French Government grant managed by the French National Research Agency (ANR) under the ‘‘Investissements d’Avenir’’ program with reference ANR-11-LABX-0021-01-LipSTIC Labex.

This study has also received financial support from Laboratoires Théa (Clermont-Ferrand, France). Laboratoires Théa did not participate in the design of the study, data collection, statistical analysis, interpretation of the data nor in the written of the manuscript.

Correspondence:

Prof. Catherine Creuzot-Garcher
Service d’Ophtalmologie, CHU Dijon
14 Rue Gaffarel, 21000 Dijon, France
Email address: catherine.creuzot-garcher@chu-dijon.fr
Phone number: +33 380293277
Fax Number: +33 380293589

Abbreviations and definitions

AA: arachidonic acid

ALA: alpha-linolenic acid

AMD: age related macular degeneration

COX: cyclooxygenase

DED: dry eye disease

DGLA: dihomo-gamma-linoleic acid

DHA: docosahexaenoic acid

DPA: docosapentaenoic acid

DTA: docosatetraenoic acid

EPA: Eicosapentaenoic acid

ELOVL2: elongation of very long chain fatty acids protein 2

ELOVL5: elongation of very long chain fatty acids protein 5

FADS2: fatty acid desaturase 2

GLA: gamma-linoleic acid

LA: linoleic acid

Montrachet: Maculopathy Optic Nerve nuTRition neurovAsCular and HEarT diseases

MUFAs : Monounsaturated fatty acids

PGE_1: prostaglandin E1

PUFAs: polyunsaturated fatty acids

CRP: chain-reactive protein

SFAs: saturated fatty acids

Abstract

Purpose: To investigate the associations between individual, total or ratio of plasma fatty acids with DED signs in a French elderly population.

Design: Exploratory cross-sectional study.

Method: Dry eye disease signs were evaluated using Schirmer I test without anesthesia, tear film break-up time measurement and fluorescein corneal staining. Plasmatic concentrations of fatty acids were measured in fasting blood using gas chromatography. Self-reported food frequency questionnaires were used to assess the frequency of dietary oil consumption. Associations of plasma fatty acids with DED signs were estimated with multivariate logistic regression models.

Results: A total of 740 subjects (mean age 82.2 ± 3.7 years, 62.70% women) were included in this study. DED Signs were present in 35.0% of participants. After adjustment, levels of long chain dihomo-gamma-linoleic acid (DGLA) and docosapentaenoic acid (DPA) n-6 PUFAs were positively associated with DED signs (highest vs lowest tertile, $OR_{T3\ vs\ T1}$: 1.59, 95% CI: 1.06-2.39; p-trend=0.021 and $OR_{T3vs\ T1}$: 1.67, 95% CI: 1.07-2.60; p-trend=0.037, respectively). However, stearic acid was inversely associated with DED signs ($OR_{T3\ vs.\ T1}$: 0.62, 95% CI: 0.41-0.92; P-trend=0.019). Ratios of FAs that reflect elongase 2/5 and Δ-5 desaturase activities were significantly associated with DED signs.

Conclusion: In the Montrachet study, we suggest that plasma stearic acid, DGLA and DPA n-6 PUFAs could be considered as possible important metabolites for dry eye disease. Further longitudinal study should be conducted to confirm these findings.

Keywords: Dry eye disease, plasma fatty acids, diet, elderly, epidemiology, population-based study

Introduction

Dry Eye Disease (DED) or keratoconjunctivitis sicca is one of the most common ocular surface diseases in elderly subject. [1–4] It affects between 14.6 and 57.5% subjects worldwide, making it a significant public health problem. [5] DED is responsible of discomfort and visual disturbances with potential damage of ocular surface that can affect the quality of life. [6] DED includes two facets of clinical manifestations divided mainly into tear deficiency dry eye and evaporative dry eye which caused abnormality for quality of tear fluidity, [7] and instability of tears lipids layer. These disturbances are more frequent in women than in men. [8] Several risk factors are known to be involved in DED pathogenesis including aging, gender, autoimmune diseases, corneal dysfunction, menopausal status and environmental factors such as light and/or sun exposure and some medication use. [9] There is evidence that oxidative stress plays a key role in dry eye disease process by producing reactive oxygen species inducing damage on corneal and conjunctival epithelial cells and ocular surface inflammation. [10,11] Inflammation plays also a substantial role in the pathogenesis of DED, making it a chronic inflammatory disease. [12] Polyunsaturated fatty acids (PUFAs), due to their known anti-inflammatory effects have been used through diet, systemic or topical supplementation as an alternative treatment of DED and appeared to be effective on signs and symptoms of DED. [13,14] In the women's health study that included 32,470 women aged 45-84 years, higher dietary intake of n-3 PUFAs and tuna was associated with the decrease of DED symptoms. An unbalanced n-6 to n-3 ratio was associated with higher risk of DED. [15] However, associations of all plasma FAs and DED signs have not been the subject of extensive studies as compared to PUFAs n-3 or n-6. Indeed, most of the existing studies are based on assessing the impact of diet rich in PUFAs such as n-3 and n-6 or a supplementation on dry eye disease but not the associations of individual or a combination of other plasma FAs and dry eye disease in elderly subjects with high use of systemic or eye drop drug.[16,17]

Thus, due to recognized link between inflammation and FAs as well as DED, we aimed to investigate the associations of plasma fatty acids concentrations and dry eye disease signs in a cross-sectional study of French people aged 75 years and over. We hypothesized that individual or a combination of plasma FAs are associated significantly with DED signs in an elderly subject.

Patients and methods

Population study

The Montrachet study (Maculopathy Optic Nerve and nuTRition neurovAsCular and HEarT) is an ancillary study of the population-based Three Cities (3C) study, which has previously been described. [18] Briefly, The 3C cohort study was undertaken to assess the relationships between vascular risk factors and aging disorders. Overall, 9,294 persons aged 65 years and over, selected from the electoral rolls of three French urban cities (Bordeaux, Dijon and Montpellier), were included (*n* = 4,931 living in Dijon). Ten years later, the subgroup of participants from Dijon were asked to participate in the Montrachet study in order to assess associations between age-related eye diseases and neurologic and heart diseases in the Elderly. The methodology of the Montrachet study and the baseline characteristics of participants have recently been published. [19] From October 2009 to March 2013, 1,153 volunteers underwent a comprehensive eye examination in the Department of Ophthalmology of the Dijon University Hospital (France). This examination included: the record of self-reported eye diseases and treatment history, visual acuity measurement, refractive error identification, intraocular pressure measurement, visual field examination, optical coherence tomography (OCT) imaging, retinal photographs and MPOD measurement in participants with exploitable macula images. Fasting blood samples were also collected, aliquoted and stored at 80°C at INRA. Finally, all participants were asked to complete a questionnaire on lifestyle (in particular alcohol consumption and smoking status), environment (in particular sun protection) and nutrition (food frequency questionnaire).

In the present cross-sectional study based on Montrachet's population we included 740 subjects with complete data of tear film BUT, Schirmer I tests, fluorescein corneal staining and plasma fatty acids measures. Subjects without at least one of these parameters were excluded.

Written informed consent was obtained from all participants. The study followed the tenets of the Declaration of Helsinki and was approved by the regional ethics committee (Number 2009-A00448-49).

DED signs evaluation

The ocular surface was evaluated with the following tests successively in both eyes. Fluorescein tear film breakup time (TF-BUT) was evaluated at the slit-lamp using a blue cobalt illumination. A sterile tip was used to instill a drop of about 2 µL of fluorescein (Fluorescein Faure 0.5% single dose, Novartis, Rueil-Malmaison, France) in each conjunctival sac. After a few blinks (at least three) the timing of breakup of the pre-corneal

tear film was recorded in seconds. The average of three consecutive measurements was used for analysis then corneal staining was assessed and impregnation of 10 isolated points or less was considered as normal. [20] Corneas with more than ten positive points were classified as corneal staining positive. A 5-minute Schirmer I test was performed at least 30 minutes later. A dedicated paper strip (Liposic-Schirmer-Test-Streifen; Dr Mann Pharma, Berlin, Germany) was introduced laterally in the lower conjunctival fornix without any contact with the cornea and removed after 5 minutes. The amount of wetting in millimeters was recorded. [20,21] The most severe eye for each subject was retained for analysis. If severity was equal in both eyes, we arbitrarily selected the right eye.

Definition DED signs

DEWS classification was used to classify every participant. [22] The definition of dry eye signs was well described in our recently published paper. [23] Briefly, participants presenting two out of the three following signs: positive corneal staining, TF-BUT < 5 s and Schirmer I test < 5 mm were considered as having DED signs.

Plasma lipids measurement

Lipids were extracted from plasma samples from fasted volunteers by gas chromatography according to Moilanen and Nikkari. [24] Lipid extracts were stored under inert gas until further analyses.

Total lipids from plasma were transmethylated using boron trifluoride in methanol according to Morrison and Smith. [25] Fatty acid methyl esters (FAMEs) were subsequently extracted with hexane and analyzed on a Hewlett Packard Model 5890 gas chromatograph (Palo Alto, CA, USA) using a CPSIL-88 column (100 m × 0.25 mm i.d., film thickness 0.20 µm; Varian, Les Ulis, France) equipped with a flame ionization detector. Hydrogen was used as carrier gas (inlet pressure 210 kPa). The oven temperature was held at 60°C for 5 min, increased to 165°C at 15°C/min and held for 1 min, and then to 225°C at 2°C/min and finally held at 225°C for 17 min. The injector and the detector were maintained at 250°C. FAMEs were identified by comparison with commercial and synthetic standards. The data were processed using the EZChrom Elite software (Agilent Technologies, Massy, France) and reported as a percentage of the total fatty acids.

Saturated, monounsaturated, polyunsaturated FAs and ratio of n-6 to n-3, total n-6 to n-3 PUFAs were estimated. Then enzymatic activities index were estimated as the product to precursor ratio of individual FAs as follow: Δ-9 (16:1 n-7 to 16:0 and 18:1 n-9 to 18:0), Δ-6 (18:3 n-6 to 18:2 n-6) and Δ-5 (20:4 n-6 to 20:3 n-6), Δ-6 desaturase and elongase 5 (20:3 n-6 to 18:2 n-6), elongase 5/6 (18:1 n-7 to 16:1 n-7), peroxisomal β-oxydation (16:1 n-9 to 18:1 n-9), elongase 2/5 (22:4 n-6 to 20:4 n-6 and 22:5 n-3 to 20:5 n-3).

Dietary oil consumption

Dietary intake in particular oil consumption was assessed with a standardized self-reported food frequency questionnaire validated among Bordeaux participants of the 3C study, [26] and recently used in our previous study. [27] The questionnaire referred to the frequency of consumption during the year before the eye examination and thus took into account seasonal variation. Subjects were asked to report how often, they consumed each oil during the past year through four modalities: “never, rarely, often and daily“. In the present study we took into account cooking and dressing or spreading oil consumption including: butter or cream oil, peanut oil, sunflower oil, olive oil, maize oil, colza oil, grape seed oil, nut oil and mixed oil. For analyses, we computed never and rarely as “never” due to small size of these modalities.

Covariates

Demographic variables included age, gender and educational level. Smoking status was defined as never and former or current smoker. Sun protection was recorded by following categories: never, occasionally and often. Body max index (BMI) was defined as weight/heigth² in kg/m² and overweight was defined as BMI >25 kg/m². The Best Corrected Visual Acuity (BCVA) was defined as cutoff to 60 (20/60) letters of ETDRS chart, BCVA<20/60 was considered as worse. Systemic hypertension was defined as blood pressure higher than 160/90mmHg. Age-related macular degeneration (AMD) was graded according to Rotterdam study system and was defined in this study by the presence of atrophic or neovascular AMD. Ocular hypertension was defined as intraocular pressure more than 21 mmHg. Topical eye drop use included ocular dryness, glaucoma and allergy treatment. It was considered in 3 categories: no drop use, preserved and unpreserved eye drop. Systemic drug use was defined using an anatomic therapeutic chemical classification (ATC) and the name of systemic drug was coded according to the World Health Organization ATC classification.[28] Anxiolytics drugs included benzodiazepine derivatives, diphenylmethane derivatives, carbamates and dibenzo-bicyclo-octadienne derivatives. Antidepressants included non-selective and selective monoamine reuptake inhibitors, monoamine oxidase inhibitors and monoamine oxidase A inhibitors. Antipsychotics included all phenothiazines, indole derivatives, thioxanthene derivatives and diazepines. Global psychotropics included antidepressants, antipsychotics, anxiolytics, antiepileptics, anticholinergic agents, hypnotics and sedatives, psychostimulants, anti-dementia and drugs used in addictive disorders.

Statistical analysis

Continuous variables were expressed as mean ± SD or median (interquartile range) as appropriate and categorical variables as number and percentages. Bivariate comparisons were performed with Student test or ANOVA test for continuous variables and Chi-squared test or Fisher exact for categorical variables tests when appropriate. To asses a potential nonresponders bias, we compared characteristics of participants and non-participants. Associations between plasma FAs and DED signs were evaluated by separate logistic regression analyses and expressed as ORs and 95% Confidence intervals. Individual, total and ratio of plasma FAs were divided into tertiles. The lowest tertile was defined as the reference group and tests for linear trends across tertiles were calculated by using the median value to each tertile as a continuous variable. Models were systematically adjusted for age and sex. A backward procedure was used to select potential confounding factors among variables associated with p-value<0.20 in age and sex adjusted models. Final models for each FAs were then adjusted for age, gender, educational level, iris color, systemic hypertension, diabetes, AMD, antianxiolytic drug use and artificial tear use. Then, since peanut, sunflower, grape seed and maize oils contained high levels of n-6, [29] adjustment for these oils were performed. Interaction terms between all fatty acids and lipid lowering drug use, diabetes status were tested. We also conducted a sensitivity analysis with exclusion of subjects who had taken omega-3 enriched products. For all analyses, the tests were two sided and results were considered significant when $p < 0.05$.

Analyses were performed using SAS software (version 9.4; SAS institute Inc; Cary, NC, USA).

Results

Among the 1,153 participants of the Montrachet study, 740 subjects had plasma fatty acids data suitable for analysis (Fig 1.). The participants and non-participants presented the same demographic, lifestyle and clinical characteristics (supplementary table S1). The participants were aged 82.2±3.7 years on average and consisted of 464 women (62.70%) and 276 men (37.30%). DED Signs were present in 35.0% of participants (95%CI: 31.56-38.44).

Table1 presents the characteristics of participants and the age and sex- adjusted associations according to DED signs presence. DED signs were more frequent in subjects with short secondary school level, with dark iris, using antianxiolytic drug and artificial tears. However, DED signs were less present in subjects with age-related macular degeneration.

Table 2 presents the mean percentage of plasma fatty acids and DED signs at inclusion. Among sum of FAs, the most abundant total FAs found in the study participants were sum of PUFAs that accounted for 40.33% following by sum of SFAs 31.38%. Among individual FAs, the most abundant species were the linoleic acid 18:2 n-6 (25.0%), the palmitic acid 16:0 (22.11%) and the oleic acid 18:1 n-9 (21.38%).

As shown in Table 3, after adjustment for age and sex, higher level of dihomo-gamma linoleic acid (DGLA), docosatetraenoic acid (DTA), docosapentaenoic acid (DPA n-6 PUF) and elongase 2/5 for DTA to AA and DPA to EPA n-3 ratios were found in subjects with DED signs compared to non DED subjects (p-trend=0.019, p-trend=0.033, p-trend=0.016, p-trend=0.005 and p-trend=0.023, respectively). On the opposite, lower level of stearic acid (18:0) were found in subjects with DED signs than without (p-trend=0.012).

Moreover, after adjustment for age, sex, educational level, iris color, systemic hypertension, diabetes, AMD, anxiolytics drug, and artificial tear use, DGLA, DPA n-6 PUFAs and elongase 2/5 activity remained positively associated with DED signs ($OR_{T3\ vs.\ T1}$: 1.59, 95% CI: 1.06-2.39; p-trend=0.021, $OR_{T3\ vs.\ T1}$: 1.67, 95% CI: 1.07-2.59; p-trend=0.037, $OR_{T3\ vs.\ T1}$: 1.77, 95% CI: 1.18-2.66; p-trend=0.003, $OR_{T3\ vs.\ T1}$: 1.53, 95% CI: 1.07-2.21; p-trend=0.020, respectively). While, higher plasma stearic acid and Δ-5 desaturase FADS1 levels were inversely associated with DED signs ($OR_{T3\ vs.\ T1}$: 0.62, 95% CI: 0.41-0.92; p-trend=0.019, $OR_{T3\ vs.\ T1}$: 0.66, 95% CI: 0.45-0.98; p-trend=0.046, respectively). No others plasma fatty acid was associated significantly with DED signs either n-3 PUFAs or it derivatives nor n-6 to n-3 ratio in this study.

As shown in Table 4, the most consumed oils were nut (96.69%), maize (96.41%), grape seed (90.88%) and peanut (86.74%) following by colza (84.77%). In bivariate analyses, we

found that DED signs were less frequent in subjects who often consumed maize and colza oils (p=0.023 and p=0.027 respectively). Therefore additional adjustment for maize and colza oils did not change the associations between plasma stearic acid, long chain DGLA and DPA n-6 PUFAs with DED signs (data not tabulated). Additionally, supplementary adjustment on plasma lipoprotein LDL and HDL levels did not also change these findings (data not tabulated). Indeed, further adjustment for dietary oils with high level of n-6 such as peanut oil, sunflower oil, grape seed oil and maize oil showed a slight increase of associations between DGLA and DPA n-6 PUFAs and DED signs ($OR_{T3\ vs.\ T1}$: 1.61, 95% CI: 1.06-2.45; p-trend=0.021, $OR_{T3\ vs.\ T1}$: 1.77, 95% CI: 1.12-2.79; p-trend=0.026; respectively). In contrary, plasma stearic acid level remained unchange ($OR_{T3\ vs.\ T1}$: 0.62, 95% CI: 0.41-0.93; p-trend=0.023). Finally, sensitivity analyses with exclusion of subjects who had taken enriched omega-3 products did not change our results.

Discussion

To our knowledge, the present cross-sectional study is the first to investigate the relationships between different plasma fatty acids and DED signs in elderly subjects. We showed that, low level of stearic acid (18:0, a saturated FA) and high levels of dihomo-gamma-linoleic acid (DGLA, 22:3 n-6) or docosapentaenoic acid (DPA, 22:5 n-6) two n-6 PUFAs and high Δ-5 desaturase FAD1 and elongase 2/5 activities level were significantly associated with DED signs after adjustment for major confounding factors. Assessing associations of all plasma fatty acids in order to identify which individual plasma FAs was associated with dry eye disease in elderly subjects is new in ophthalmic epidemiology.

The mean percentage of plasma palmitic, stearic, oleic acids and total n-6 PUFAs found in our study participants were comparable with those found in previous study among moderately healthy subjects aged 65 years and over (23.3±2.7, 7.4±1.7, 23.3±2.6 and 36.4±6.1, respectively) [30] This study showed that elderly subjects had higher percentage of oleic acid, low palmitic and stearic acids than young subjects. [30] Moreover, the mean percentage of total n-6 PUFAs found in our study was twice higher than those found by Delyfer *et al.* in healthy subjects aged 40- 60 years old. [31] This high plasmatic level of total n-6 PUFAs was also reported in elderly subjects with depression. [32] One possible explanation is high consumption of oils rich in n-6 as shown in our study (Table 4).

Characteristics of participants associated with DED signs in our study after age- and sex-adjustment were also reported by previous studies in elderly (short secondary school level, dark iris, antihypertensives drug, anxiolytics drug and artificial tears). [33–35] This suggests the necessity of taking into account these factors in the future studies of the relationships between FAs and DED signs.

In the present study, lower plasma stearic acid level was found in patients with DED signs compared to patients without dry eye disease. This unexpected result was the only significant association highlighted among all the SFAs. SFAs have been reported to promote inflammation, [36] although, not all SFAs had these properties. [37] Indeed, the inverse association between stearic acid and inflammation had already been reported in young adults in whom circulating stearic acid was inversely associated with high-sensitivity CRP. [38] One potential explanation is that stearic acid could have anti-inflammatory effect on dry eye disease. A recent study in in vitro and in vivo models in joint inflammatory showed anti-inflammatory effects of copolymer of palmitic, oleic and stearic acids on cartilage disease by decreasing the IL-1 beta induced–expression of matrix metalloproteinases mRNA and both

NFkB pathway activation or nitric oxide and PGE_2 release. [39] Interestingly these molecules are known to be involved in dry eye pathogenesis. [40]

In the present study, we found higher DGLA (20:4 n-6) level in subjects with DED signs than without. DGLA can be converted into PGE_1 by a cyclooxygenase and also into arachidonic acid by *Δ-5* desaturase. [41] PGE_1 is known to be involved in decreasing the rate of tear evaporation, in improvement ocular surface signs and symptoms.[17] Thus anti-inflammatory effect of DGLA has been attributed to anti-inflammatory properties of DGLA-derived metabolites and its ability to compete with AA in the synthesis of pro-inflammatory AA products. [42] Two hypotheses can be drawn: a lower conversion rate in AA due to the *Δ-5* desaturase that could explain why the level of AA tended to be lower among patients with DED signs although the difference with patients without DED signs was not significant (p=0.365). Secondly, a lower conversion by the cyclooxygenase that could explain the inflammation due to lower level of anti-inflammatory PGE_1. Thus, future studies should consider the level and role of fatty acid desaturase and cyclooxygenase activities as potential mediators of the relationships.

We also showed high level of docosapentaenoic acid (DPA, 22:5 n-6) in subjects with DED signs than without. DPA is a long chain n-6 PUFAs derived from elongation of AA, and docosatetraenoic acid (DTA, 22:4 n-6) by the elongase 2 (ELOVL2) or ELOVL5 and desaturated by *Δ-6* desaturase or FADS2. [43] The last step is the peroxisomal beta-oxidation. There might be a preferential β-oxidation of 22:4(n–6) versus the oxidation of 22:5 (n–3). Anti-inflammatory effects of DPA n-6 has been reported in vitro and in vivo and showed neuroprotective effect when they were combined with DHA. [44] It is worthwhile to note that high level of DPA derived from to n-6 especially of AA is assumed to increase the production of proinflammatory prostaglandins. [17] One potential explanation is that the enzymatic activities of elongase and *Δ-6* desaturase were higher to promote the conversion of DTA to DPA n-6 in this population.

Finally, we showed higher levels of ratios 22:4 n-6 to 20:4 n-6 and 22:5 n-3 to 20:5 n-3 as index of elongase 2/5 activity in subjects with DED signs than controls. This can be explain by higher level of DPA n-6 PUFAs found in subjects with DED signs as supported by high consumption of maize, peanut sunflower and grape seed oils shown in our study. Indeed, we also found low level of *Δ-5* desaturase or FADS1 activity in subjects with DED signs. This has already been reported in subjects who were obese and had metabolic syndrome. [45,46] One potential explanation supported by our finding is the high level of DGLA found in subjects with DED which reflect a disturbance of linoleic acid and increasing level of *Δ-6* desaturase activity.

ALA, EPA and DHA n-3 PUFAs have been reported to have beneficial effect on dry eye disease,[5,15,47] however, we did not find any significant association between these plasmatic FAs and DED signs in the present study although EPA and DHA showed similar trend association with literature.

Several limits should be noted in this study. First, the cross-sectional design of the study did not allow to define if alterations of plasma fatty acid levels precede or follow DED signs. Second, the corneal staining was not measured quantitatively as used by the Oxford classification and osmolarity measurement was not available for all participants. These points could have limited the accuracy of DED signs definition in the present study. Indeed, we considered subjects with mild DED as normal. Despite the DEWS classification depicted mild subjects suffering from DED, this choice was made in agreement with other studies considering a TF-BUT > 5 seconds, a negative corneal staining or a Schirmer test > 5mm as normal. [3] Third, some biological marker assessment could have been of special interest, for example PGE1 or mRNA enzyme level. Last, we could not exclude that some of the results were due to chance alone because of the high number of tests performed.

On the opposite, this study presented some strengths. First, the relatively large sample size. Subjects with DED signs and controls were well characterized using combination of ocular surface clinical parameters included TBUT, Schirmer I tests and positive corneal staining. Second, major confounding factors were taken into account in multivariate models. Third, we investigated the associations of all plasma FAs (individual, total and ratio) with DED signs in this elderly population while the previous studies were often based on limited fatty acid particularly n-3 and n-6 supplementation or in diet. Four, we reported results from unselected elderly subjects and showed evidence that at least one individual plasma FA from each family of FAs was significantly associated with DED signs except for MUFAs. We also showed robustness of our finding since exclusion of subjects who taking an omega-3 product did not change the finding. Indeed, our study was conducted in the population which is overall in good health with lower rate of dementia, good visual acuity and higher consumption of benefit diet. [19]

In conclusion, current work highlights that plasma saturated stearic acid, long chain n-6 PUFAs DGLA and DPA were significantly associated with DED signs in this elderly population after taking into account for major confounding factors. Some hypotheses regarding enzymatic activities have been evocated through surrogate evaluation. However, further investigations in large longitudinal study are warranted to confirm the highlighted associations.

References

1. Schaumberg DA, Sullivan DA, Buring JE, Dana MR. Prevalence of dry eye syndrome among US women. *Am J Ophthalmol*. 2003;136:318-326.
2. Schaumberg DA, Dana R, Buring JE, Sullivan DA. Prevalence of dry eye disease among US men: estimates from the Physicians' Health Studies. *Arch Ophthalmol Chic Ill 1960*. 2009;127:763-768.
3. Schein OD, Muñoz B, Tielsch JM, Bandeen-Roche K, West S. Prevalence of dry eye among the elderly. *Am J Ophthalmol*. 1997;124:723-728.
4. Schein OD, Hochberg MC, Muñoz B, et al. Dry eye and dry mouth in the elderly: a population-based assessment. *Arch Intern Med*. 1999;159:1359-1363.
5. Kangari H, Eftekhari MH, Sardari S, et al. Short-term consumption of oral omega-3 and dry eye syndrome. *Ophthalmology*. 2013;120:2191-2196.
6. Miljanović B, Dana R, Sullivan DA, Schaumberg DA. Impact of dry eye syndrome on vision-related quality of life. *Am J Ophthalmol*. 2007;143:409-415.
7. The epidemiology of dry eye disease: report of the Epidemiology Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007). *Ocul Surf*. 2007;5:93-107.
8. Maïssa C, Guillon M. Tear film dynamics and lipid layer characteristics--effect of age and gender. *Contact Lens Anterior Eye J Br Contact Lens Assoc*. 2010;33:176-182.
9. Moss SE, Klein R, Klein BE. Prevalence of and risk factors for dry eye syndrome. *Arch Ophthalmol Chic Ill 1960*. 2000;118:1264-1268.
10. Saccà SC, Roszkowska AM, Izzotti A. Environmental light and endogenous antioxidants as the main determinants of non-cancer ocular diseases. *Mutat Res*. 2013;752:153-171.
11. Uchino Y, Kawakita T, Miyazawa M, et al. Oxidative stress induced inflammation initiates functional decline of tear production. *PloS One*. 2012;7:e45805.
12. Stevenson W, Chauhan SK, Dana R. Dry eye disease: an immune-mediated ocular surface disorder. *Arch Ophthalmol Chic Ill 1960*. 2012;130:90-100.
13. Li Z, Choi J-H, Oh H-J, Park S-H, Lee J-B, Yoon KC. Effects of eye drops containing a mixture of omega-3 essential fatty acids and hyaluronic acid on the ocular surface in desiccating stress-induced murine dry eye. *Curr Eye Res*. 2014;39:871-878.
14. Rand AL, Asbell PA. Nutritional supplements for dry eye syndrome. *Curr Opin Ophthalmol*. 2011;22:279-282.
15. Miljanović B, Trivedi KA, Reza Dana M, Gilbard JP, Buring JE, Schaumberg DA. The relationship between dietary n-3 and n-6 fatty acids and clinically diagnosed dry eye syndrome in women. *Am J Clin Nutr*. 2005;82:887-893.
16. Barabino S, Horwath-Winter J, Messmer EM, Rolando M, Aragona P, Kinoshita S. The role of systemic and topical fatty acids for dry eye treatment. *Prog Retin Eye Res*. May 2017.
17. Aragona P, Bucolo C, Spinella R, Giuffrida S, Ferreri G. Systemic omega-6 essential fatty acid treatment and pge1 tear content in Sjögren's syndrome patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2005;46:4474-4479.
18. 3C Study Group. Vascular factors and risk of dementia: design of the Three-City Study and baseline characteristics of the study population. *Neuroepidemiology*. 2003;22:316-325.
19. Creuzot-Garcher C, Binquet C, Daniel S, et al. The Montrachet Study: study design, methodology and analysis of visual acuity and refractive errors in an elderly population. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 2016;94:e90-97.

20. Bron AJ, Evans VE, Smith JA. Grading of corneal and conjunctival staining in the context of other dry eye tests. *Cornea*. 2003;22:640-650.
21. Lemp MA, Crews LA, Bron AJ, Foulks GN, Sullivan BD. Distribution of aqueous-deficient and evaporative dry eye in a clinic-based patient cohort: a retrospective study. *Cornea*. 2012;31:472-478.
22. The definition and classification of dry eye disease: report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007). *Ocul Surf*. 2007;5:75-92.
23. Ferrero A, Alassane S, Binquet C, et al. Dry eye disease in the elderly in a French population-based study (the Montrachet study: Maculopathy, Optic Nerve, nuTRition, neurovAsCular and HEarT diseases): Prevalence and associated factors. *Ocul Surf*.
24. Moilanen T, Nikkari T. The effect of storage on the fatty acid composition of human serum. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 1981;114:111-116.
25. Morrison WR, Smith LM. PREPARATION OF FATTY ACID METHYL ESTERS AND DIMETHYLACETALS FROM LIPIDS WITH BORON FLUORIDE--METHANOL. *J Lipid Res*. 1964;5:600-608.
26. Delcourt C, Korobelnik J-F, Barberger-Gateau P, et al. Nutrition and age-related eye diseases: the Alienor (Antioxydants, Lipides Essentiels, Nutrition et maladies OculaiRes) Study. *J Nutr Health Aging*. 2010;14:854-861.
27. Alassane S, Binquet C, Cottet V, et al. Relationships of Macular Pigment Optical Density With Plasma Lutein, Zeaxanthin, and Diet in an Elderly Population: The Montrachet Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2016;57:1160-1167.
28. WHOCC - ATC/DDD Index. https://www.whocc.no/atc_ddd_index/. Accessed June 13, 2017.
29. Russo GL. Dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids: from biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention. *Biochem Pharmacol*. 2009;77:937-946.
30. Fortier M, Tremblay-Mercier J, Plourde M, et al. Higher plasma n-3 fatty acid status in the moderately healthy elderly in southern Québec: higher fish intake or aging-related change in n-3 fatty acid metabolism? *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2010;82:277-280.
31. Delyfer M-N, Buaud B, Korobelnik J-F, et al. Association of macular pigment density with plasma ω-3 fatty acids: the PIMAVOSA study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53:1204-1210.
32. Tiemeier H, van Tuijl HR, Hofman A, Kiliaan AJ, Breteler MMB. Plasma fatty acid composition and depression are associated in the elderly: the Rotterdam Study. *Am J Clin Nutr*. 2003;78:40-46.
33. Malet F, Le Goff M, Colin J, et al. Dry eye disease in French elderly subjects: the Alienor Study. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 2014;92:e429-436.
34. Baudouin C, Labbé A, Liang H, Pauly A, Brignole-Baudouin F. Preservatives in eyedrops: the good, the bad and the ugly. *Prog Retin Eye Res*. 2010;29:312-334.
35. Galor A, Feuer W, Lee DJ, et al. Depression, post-traumatic stress disorder, and dry eye syndrome: a study utilizing the national United States Veterans Affairs administrative database. *Am J Ophthalmol*. 2012;154:340-346.e2.
36. Calder PC, Ahluwalia N, Brouns F, et al. Dietary factors and low-grade inflammation in relation to overweight and obesity. *Br J Nutr*. 2011;106 Suppl 3:S5-78.
37. Fernández-Real J-M, Broch M, Vendrell J, Ricart W. Insulin resistance, inflammation, and serum fatty acid composition. *Diabetes Care*. 2003;26:1362-1368.

38. Perreault M, Roke K, Badawi A, et al. Plasma levels of 14:0, 16:0, 16:1n-7, and 20:3n-6 are positively associated, but 18:0 and 18:2n-6 are inversely associated with markers of inflammation in young healthy adults. *Lipids*. 2014;49:255-263.
39. Baugé C, Lhuissier E, Girard N, Quesnelle C, Ewert G, Boumediene K. Anti-inflammatory effects of an injectable copolymer of fatty acids (Ara 3000 beta®) in joint diseases. *J Inflamm Lond Engl*. 2015;12:17.
40. Stern ME, Pflugfelder SC. Inflammation in dry eye. *Ocul Surf*. 2004;2:124-130.
41. Sprecher H. Biochemistry of essential fatty acids. *Prog Lipid Res*. 1981;20:13-22.
42. Sergeant S, Rahbar E, Chilton FH. Gamma-linolenic acid, Dihommo-gamma linolenic, Eicosanoids and Inflammatory Processes. *Eur J Pharmacol*. 2016;785:77-86.
43. Weylandt K-H. Docosapentaenoic acid derived metabolites and mediators – The new world of lipid mediator medicine in a nutshell. *Eur J Pharmacol*. 2016;785:108-115.
44. Green KN, Martinez-Coria H, Khashwji H, et al. Dietary docosahexaenoic acid and docosapentaenoic acid ameliorate amyloid-beta and tau pathology via a mechanism involving presenilin 1 levels. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 2007;27:4385-4395.
45. Vessby B. Dietary fat and insulin action in humans. *Br J Nutr*. 2000;83 Suppl 1:S91-96.
46. Vessby B. Dietary fat, fatty acid composition in plasma and the metabolic syndrome. *Curr Opin Lipidol*. 2003;14:15-19.
47. Liu Y, Kam WR, Sullivan DA. Influence of Omega 3 and 6 Fatty Acids on Human Meibomian Gland Epithelial Cells. *Cornea*. 2016;35:1122-1126.

1 Table 1. Characteristics of participants and age and sex adjusted associations according to
2 presence of dry eye disease signs.

	DED signs				
	No (n=481)	Yes (n=259)	P-value	OR (95% CI)*	*P-value*
Age, y					
<80	175 (36.38)	81 (31.27)		1.00 (reference)	
80-85	202 (42.00)	123 (47.49)	0.304	1.32 (0.93-1.86) ≠	0.117
>85	104 (21.62)	55 (21.24)		1.15 (0.76-1.75) ≠	0.509
Sex, female vs male	305 (63.41)	159 (61.32)	0.587	0.91 (0.67-1.25) ¥	0.572
Body Mass Index (> 25 kg/m²)	220 (45.75)	125 (48.26)	0.511	1.12 (0.82-1.52)	0.470
Smoking status, former or current smokers	167 (35.16)	94 (36.72)	0.674	1.06 (0.74-1.51)	0.742
Alcohol consumption, yes	44 (6.55)	20 (5.95)	0.715	1.03 (0.53-2.00)	0.920
Education level					
No education or primary school	140 (29.11)	72 (27.80)		1.09 (0.75-1.60)	0.651
Short secondary school	54 (27.80)	43 (16.60)	0.157	1.75 (1.09-2.8)	**0.020**
Long secondary school	90 (18.71)	52 (20.08)		1.25 (0.81-1.91)	0.310
high school or university	197 (40.96)	92 (35.52)		1.00 (reference)	
Sun protection					
Never	56 (11.67)	27 (10.42)	0.584	0.85 (0.52-1.39)	0.523
Occasionally	105 (21.88)	50 (19.31)		0.82 (0.58-1.25)	0.408
Often	319 (66.46)	182 (70.27)		1.00 (reference)	
Environmental exposure (mean±SD)					
Time spent outdoors, h/day	0.96±1.31	0.99±1.40	0.775	1.01 (0.91-1.13)	0.816
Time spent on television screen, h/day	3.30±1.78	3.34±1.69	0.772	1.02 (0.93-1.11)	0.685
Time spent on computer screen, h/day	0.49±1.10	0.46±1.07	0.736	0.97 (0.84-1.12)	0.708
Best-Corrected Visual Acuity, <20/60	12 (2.49)	6 (2.32)	0.881	0.84 (0.31-2.29)	0.733
Central corneal thickness, µm (mean±SD)	555.6±32.7	551.2±38.6	0.101	0.99 (0.99-1.00)	0.136
Iris color					
Green/Brown	145 (31.15)	76 (29.34)	**<0.0001**	1.44 (0.98-2.09)	0.059
Dark brown	114 (23.70)	101 (39.00)		2.45 (1.69-3.55)	**<0.0001**
blue	222 (46.15)	82 (31.66)		1.00 (reference)	
Medical history					
Systemic hypertension	280 (58.21)	168 (64.86)	0.077	1.29 (0.94-1.79)	0.113
Diabetes	34 (7.78)	26 (11.45)	0.117	1.54 (0.89-2.64)	0.119
Ocular history*					
Cataract extraction	229 (47.61)	132 (50.97)	0.384	1.10 (0.80-1.50)	0.559
Diabetic retinopathy	4 (0.83)	3 (1.16)	0.661	1.41 (0.31-6.35)	0.654
Age-related macular degeneration	23 (5.12)	5 (2.06)	0.051	0.35 (0.13-0.94)	**0.037**
Glaucoma	46 (9.56)	34 (13.13	0.136	1.21 (0.71-1.91)	0.425
Ocular hypertension	9 (1.87)	13 (5.02)	**0.016**	1.43 (0.78-2.61)	0.242
Systemic drugs					
Antihypertensives	254 (58.12)	151 (66.23)	**0.042**	1.39 (0.99-1.94)	0.058
Diuretics	60 (12.47)	39 (15.06)	0.325	1.21 (1.78-1.88)	0.395
Beta-blockers	108 (22.45)	69 (26.64)	0.203	1.22 (0.86-1.73)	0.265

Calcium antagonists	61 (12.68)	42 (16.22)	0.185	1.29 (0.84-1.98)	0.241
Anxiolytics	49 (10.19)	39 (15.06)	0.051	1.58 (1.00-2.49)	**0.049**
Global psychotropic drugs	114 (23.70)	70 (27.03)	0.318	1.22 (0.86-1.73)	0.275
Antihistamines	23 (4.78)	14 (4.41)	0.710	1.15 (0.58-2.28)	0.687
Decongestants and anti-allergic agents	7 (1.46)	4 (1.54)	0.710	0.97 (0.28-3.37)	0.962
Lipid-lowering drugs	191 (43.71)	100 (43.86)	0.970	1.00 (0.73-1.39)	0.976
Topical treatment,					
Artificial tears	50 (10.40)	41 (15.83)	0.032	1.64 (1.05-2.56)	**0.029**
IOP lowering agents					
Preserved eye drops	41 (8.52)	21 (8.11)	0.598	0.94 (0.54-1.62)	0.813
Nonpreserved eye drops	5 (1.04)	5 (1.93)		1.89 (0.54-6.61)	0.320
Antihistamines drops	27 (5.61)	15 (5.79)	0.920	1.01 (0.53-1.95)	0.969
Other eye drops	6 (1.25)	1 (0.39)	0.248	0.33 (0.04-2.75)	0.305
Plasma lipid, mmol/L (mean±SD)					
Total cholesterol	5.79±0.96	5.78±0.92	0.888	1.01 (0.85-1.19)	0.932
LDL cholesterol	3.61±0.85	3.58±0.82	0.650	0.97 (0.81-1.17)	0.750
HDL cholesterol	1.66±0.37	1.65±0.42	0.747	0.97 (0.64-1.48)	0.905
Triglycerides	1.14±0.50	1.20±0.51	0.114	0.97 (0.95-1.72)	0.108

Missing data for smoking (n=4), Alcohol (n=75), Sun protection (n=1), Central corneal thickness (n=2), diabetes (n=76), AMD (n=48), Lipid lowering drug use (n=75), Antihypertensives drug use (n=75) and plasma lipids (n=9).

*: Adjustment for age and sex; ≠ Sex adjusted OR; ¥Age adjusted OR.

1 Table 2. Mean percentages of fatty acids according to DED signs.
2

Chemical structure	Common name	All FAs,%	DED signs	
			No (n=481)	Yes (n=259)
SFAs				
C12:0	Lauric acid	0.15±0.08	0.15±0.08	0.15±0.08
C14:0	Myristic acid	1.15±0.37	1.15±0.37	1.16±0.36
C15:0	Pentadecanoic acid	0.31±0.08	0.31±0.08	0.31±0.08
C16:0	Palmitic acid	22.11±1.74	22.08±1.73	22.17±1.78
C17:0	Margaric acid	0.35±0.09	0.35±0.09	0.35±0.06
C18:0	Stearic acid	6.90±0.60	6.93±0.56	6.85±0.68
C20:0	Arachidic acid	0.15±0.06	0.15±0.06	0.16±0.06
C22:0	Behenic acid	0.24±0.10	0.23±0.09	0.25±0.10
MUFAs				
C16:1 n-9	Cis-7 hexadecenoic acid	0.39±0.09	0.39±0.09	0.39±0.96
C16:1 n-7	Palmitoleic acid	2.65±0.84	2.64±0.80	2.68±0.92
C18:1 n-9	Oleic acid	21.38±2.51	21.30±2.47	21.52±2.59
C20:1 n-9	Eicosenoic acid	0.21±0.07	0.20±0.07	0.21±0.07
C24:1 n-9	Nervonic acid	0.40±0.16	0.39±0.15	0.41±0.17
PUFAs				
Omega-6				
C18:2 n-6	Linoleic acid (LA)	24.99±3.83	25.05±3.76	24.89±3.93
C18:3 n-6	Gamma linoleic acid (GLA)	0.45±0.17	0.46±0.17	0.44±0.16
C20:2 n-6	Eicosadienoic acid	0.25±0.18	0.24±0.18	0.25±0.17
C20:3 n-6	Dihomo-gamma-linoleic acid (DGLA)	1.53±0.32	1.51±0.31	1.55±0.32
C20:4 n-6	Arachidonic acid (AA)	7.45±1.47	7.49±1.49	7.36±1.44
C22:4 n-6	Docosatetraenoic Acid (DTA)	0.26±0.07	0.25±0.07	0.26±0.07
C22:5 n-6	Docosapentaenoic (DPA n-6)	0.16±0.05	0.16±0.05	0.17±0.05
Omega-3				
C18:3 n-3	Alpha linoleic acid (ALA)	0.63±0.22	0.64±0.22	0.63±0.21
C20:5 n-3	Eicosapentaenoic acid (EPA)	1.29±0.61	1.31±0.63	1.25±0.55
C22:5 n-3	Docosapentaenoic (DPA n-3)	0.59±0.13	0.59±0.13	0.60±0.13
C22:6 n-3	Docosahexaenoic acid (DHA)	2.23±0.65	2.24±0.66	2.22±0.64
Sum of FAs				
SFAs		31.38±1.95	31.37±1.90	31.40±2.04
MUFAs		27.17±3.09	27.06±3.02	27.38±3.21
n-6		35.10±3.98	35.19±3.85	34.94±4.21
n-3		4.75±1.28	4.78±1.33	4.70±1.21
PUFAs		40.33±4.12	40.45±3.97	40.12±4.38
Ratios				
C18:2 n-6 to C18:3 n-3		43.42±14.90	43.52±15.46	43.23±13.82
Sum n-6 to n-3		7.85±2.09	7.85±2.14	7.86±2.02

The results are expressed as percentage of mean ± SD of total fatty acids.

Total SFAs: C12:0+C14:0+C15:0+C16:0+C17:0+C18:0+C20:0+C22:0

Total MUFAs= C16: 1n-9+C16:1n-7+C18:1n-9+C20:1n-9+C24:1n-9

SFAs: Saturated Fatty acids, MUFAs: Monounsaturated Fatty acids, PUFAs: Polyunsaturated Fatty acids, GLA: Gamma linoleic acid, DGLA: Dihomo-gamma-linoleic acid, DPA: Docosapentaenoic acid, EPA: Eicosapentaenoic acid, DHA: Docosahexaenoic acid

Table 3. Associations of plasma Fatty acids with Dry Eye Disease signs in the Montrachet Study.

Chemical structure	Common name	% of total FAs (range[4])	DED/no DED, n/n	DED Signs			
				OR (95% CI)[1]	*P*-trend[3a]	OR (95% CI)[2]	*P*-trend[3b]
SFAs							
C12:0	Lauric acid						
	T1	0.04-0.10	62/160	1.00 (reference)	0.414	1.00 (reference)	0.317
	T2	0.11-0.16	122/176	1.77 (1.22-2.58)		1.94 (1.31-2.88)	
	T3	0.17-0.69	75/145	1.32 (0.88-1.99)		1.41 (0.92-2.16)	
C14:0	Myristic acid						
	T1	0.42-0.94	82/161	1.00 (reference)	0.554	1.00 (reference)	0.480
	T2	0.95-1.29	92/168	1.09 (0.75-1.58)		1.04 (0.71-1.54)	
	T3	1.30-2.90	85/152	1.12 (0.77-1.64)		1.15 (0.77-1.71)	
C15:0	Pentadecanoic acid						
	T1	0.13-1.26	74/148	1.00 (reference)	0.602	1.00 (reference)	0.489
	T2	0.27-0.28	17/28	1.22 (0.63-2.38)		1.50 (0.75-3.01)	
	T3	0.29-1.08	168/3025	1.11 (0.79-1.55)		1.16 (0.82-1.66)	
C16:0	Palmitic acid						
	T1	17.37-21.29	81/136	1.00 (reference)	0.186	1.00 (reference)	0.227
	T2	17.37-21.29	84/172	0.98 (0.67-1.43)		0.90 (0.61-1.38)	
	T3	22.81-29.82	94/146	1.28 (0.88-1.87)		1.27 (0.86-1.89)	
C17:0	Margaric acid						
	T1	0.11-0.30	69/146	1.00 (reference)	0.176	1.00 (reference)	0.167
	T2	0.31-0.37	88/186	1.12 (0.76-1.63)		0.75 (0.49-1.13)	
	T3	0.38-1.10	92/149	1.30 (0.88-1.92)		0.82 (0.60-1.28)	
C18:0	Stearic acid						
	T1	4.54-6.65	99/144	1.00 (reference)	**0.012**	1.00 (reference)	**0.019**
	T2	6.66-7.14	90/164	0.81 (0.56-1.16)		0.82 (0.56-1.21)	
	T3	7.15-11.58	70/173	0.61 (0.41-0.89)		0.62 (0.41-0.92)	
C20:0	Arachidic acid						
	T1	0.06-0.12	39/65	1.00 (reference)	0.580	1.00 (reference)	0.573
	T2	0.13-0.16	11/19	0.80 (0.33-1.97)		0.84 (0.33-2.15)	
	T3	0.17-0.65	209/397	0.88 (0.57-1.35)		0.87 (0.55-1.37)	
C22:0	Behenic acid						
	T1	0.06-0.18	69/142	1.00 (reference)	0.180	1.00 (reference)	0.192
	T2	0.19-0.25	98/192	1.09 (0.74-1.59)		1.09 (0.73-1.62)	
	T3	0.26-1.20	92/147	1.30 (0.88-1.92)		1.31 (0.87-1.96)	

Continued Table 3.

Chemical structure	Common name	% of total FAs (range[4])	DED/no DED, n/n	OR (95% CI)[1]	*P*-trend[3a]	OR (95% CI)[2]	*P*-trend[3a]
C15:0 + C17:0							
	T1	0.28-0.59	77/157	1.00 (reference)	0.167	1.00 (reference)	0.112
	T2	0.60-0.71	91/182	1.04 (0.71-1.51)		1.04 (0.70-1.53)	
	T3	0.72-2.04	91/142	1.31 (0.89-1.91)		1.38 (0.92-2.06)	
MUFAs							
C16:1n-7	Palmitoleic acid						
	T1	0.94-2.25	85/156	1.00 (reference)	0.785	1.00 (reference)	0.424
	T2	2.26-2.91	88/172	0.96 (0.66-1.40)		0.90 (0.61-133)	
	T3	2.92-7.17	86/153	1.05 (0.71-1.54)		1.17 (0.77-1.77)	
C16: 1n-9	Cis-7 hexadecenoic acid						
	T1	0.14-0.34	72/131	1.00 (reference)	0.466	1.00 (reference)	0.429
	T2	0.35-0.42	104/214	0.91 (0.62-1.23)		0.90 (0.61-1.33)	
	T3	0.43-1.31	83/136	1.14 (0.77-1.70)		1.17 (0.77-1.77)	
C18:1n-7	Cis-7 vacenic acid						
	T1	1.16-1.68	71/161	1.00 (reference)	0.051	1.00 (reference)	0.117
	T2	1.69-0.96	96/181	1.19 (0.82-1.73)		1.13 (0.76-1.67)	
	T3	1.97-3.34	92/139	1.46 (0.99-2.15)		1.39 (0.92-2.07)	
C18:1n-9	Oleic acid						
	T1	13.44-20.20	76/168	1.00 (reference)	0.507	1.00 (reference)	0.504
	T2	13.44-20.20	99/153	1.40 (0.97-2.04)		1.47 (1.00-2.18)	
	T3	22.32-34.14	84/160	1.14 (0.78-1.67)		1.15 (0.77-1.71)	
C20:1n-9	Eicosenoic acid						
	T1	0.09-0.17	71/157	1.00 (reference)	0.627	1.00 (reference)	0.825
	T2	0.18-0.22	113/185	1.36 (0.94-1.96)		1.38 (0.91-1.96)	
	T3	0.23-0.85	75/139	1.18 (0.79-1.76)		1.06 (0.69-1.62)	
C24:1n-9	Nervonic acid						
	T1	0.10-0.31	82/147	1.00 (reference)	0.593	1.00 (reference)	0.638
	T2	0.32-0.43	84/183	0.83 (0.57-1.20)		0.85 (0.59-1.27)	
	T3	0.44-1.30	93/151	1.08 (0.79-1.59)		1.08 (0.73-1.59)	

Continued Table3.

Chemical structure	Common name	% of total FAs (range[4])	DED/no DED, n/n	OR (95% CI)[1]	*P*-trend[3a]	OR (95% CI)[2]	*P*-trend[3b]
PUFAs							
Omega-6							
C18:2 n-6	Linoleic Acid (LA)						
	T1	8.62-23.42	82/160	1.00 (reference)	0.623	1.00 (reference)	0.250
	T2	8.62-23.42	90/166	1.09 (0.75-1.58)		1.27 (0.86-1.88)	
	T3	26.56-38.06	87/155	1.11 (0.76-1.61)		1.26 (0.85-1.87)	
C18 :3 n-6	Gamma-linoleic Acid (GLA)						
	T1	0.08-0.36	89/144	1.00 (reference)	0.553	1.00 (reference	0.365
	T2	0.37-0.50	88/180	0.82 (0.57-1.19)		0.79 (0.53-1.16)	
	T3	0.51-1.30	82/157	0.88 (0.59-1.29)		0.82 (0.55-1.22)	
C20:2 n-6	Eicosadienoic acid						
	T1	0.10-0.20	64/140	1.00 (reference)	0.276	1.00 (reference)	0.312
	T2	0.21-0.25	13/199	1.25 (0.86-1.82)		1.14 (0.77-1.68)	
	T3	0.26-4.08	82/142	1.27 (0.85-1.90)		1.25 (0.82-1.90)	
C20:3 n-6	Dihomo-gamma-linoleic acid (DGLA)						
	T1	0.60-1.35	76/161	1.00 (reference)	**0.019**	1.00 (reference)	**0.021**
	T2	1.36-1.66	85/178	1.04 (0.71-1.52)		1.12 (0.76-1.67)	
	T3	1.67-2.91	98/142	1.57 (1.06-2.30)		1.59 (1.06-2.39)	
C20:4 n-6	Arachidonic acid (AA)						
	T1	3.08-6.74	89/152	1.00 reference)	0.238	1.00 (reference)	0.125
	T2	6.75-8.04	93/163	0.99 (0.68-1.42)		1.07 (0.72-1.57)	
	T3	8.05-11.62	77/166	0.79 (0.55-1.16)		0.73 (0.49-1.09)	
C22:4 n-6	Docosatetraenoic Acid (DTA)						
	T1	0.10-0.21	64/148	1.00 (reference)	**0.033**	1.00 (reference)	0.073
	T2	0.22-0.28	110/209	1.22 (0.84-1.77)		1.16 (0.79-1.72)	
	T3	0.29-0.77	85/124	1.56 (1.04-2.34)		1.49 (0.97-2.30)	
C22:5 n-6	Docosapentaenoic Acid (DPA n-6)						
	T1	0.05-0.13	57/150	1.00 (reference)	**0.016**	1.00 (reference)	**0.037**
	T2	0.14-0.19	124/213	1.53 (1.05-2.23)		1.59 (1.08-2.37)	
	T3	0.20-0.43	78/118	1.73 (1.13-2.63)		1.67 (1.07-2.60)	
Omega-3							
C18:3 n-3	Alpha-linolenic Acid (ALA)						
	T1	0.25-0.50	80/152	1.00 reference)	0.875	1.00 (reference)	0.565

Continued table 3.

Chemical structure	Common name	% of total FAs (range[4])	DED/no DED, n/n	OR (95% CI)[1]	*P*-trend[3a]	OR (95% CI)[2]	*P*-trend[3b]
	T2	0.51-0.70	99/175	1.11 (0.77-1.60)		1.11 (0.75-1.63)	
	T3	0.71-1.58	80/154	0.99 (0.67-1.49)		0.91 (0.61-1.36)	
C20:5 n-3	Eicosapentaenoic Acid (EPA)						
	T1	0.29-0.99	88/149	1.00 (reference)	0.565	1.00 (reference)	0.477
	T2	1.00-1.38	89/172	0.87 (0.60-1.25)		0.85 (0.58-1.25)	
	T3	1.39-4.89	82/160	0.88 (0.60-1.28)		0.85 (0.56-1.26)	
C22:5 n-3	Docosapentaenoic Acid (DPA n-3)						
	T1	0.26-0.52	73/149	1.00 (reference)	0.185	1.00 (reference)	0.230
	T2	0.53-0.63	94/187	1.01 (0.69-1.47)		1.03 (0.69-1.53)	
	T3	0.64-1.60	92/145	1.27 (0.87-1.88)		1.27 (0.84-1.90)	
C22:6 n-3	Docosahexaenoic acid (DHA)						
	T1	0.67-1.89	90/150	1.00 (reference)	0.561	1.00 (reference)	0.657
	T2	1.90-2.41	84/173	0.81 (0.56-1.17)		0.82 (0.56-1.22)	
	T3	2.42-5.20	85/158	0.88 (0.61-1.28)		0.90 (0.61-1.34)	
Sum of FAs							
Sum SFAs							
	T1	26.00-30.41	82/162	1.00 (reference	0.515	1.00 (reference)	0.595
	T2	26.00-30.41	88/162	1.08 (0.74-1.56)		1.00 (0.68-1.48)	
	T3	32.05-39.84	89/157	1.13 (0.78-1.65)		1.11 (0.75-1.65)	
Sum MUFAs							
	T1	17.61-25.85	73/172	1.00 (reference)	0.398	1.00 (reference)	0.487
	T2	25.85-28.23	103/148	1.62 (1.12-2.35)		1.66 (1.12-2.45)	
	T3	28.23-39.73	83/161	1.20 (0.82-1.76)		1.17 (0.79-1.75)	
Sum n-6							
	T1	16.49-33.57	81/163	1.00 (reference)	0.612	1.00 (reference	0.425
	T2	33.59-36.74	93/160	1.19 (0.82-1.73)		1.33 (0.90-1.96)	
	T3	36.74-49.17	85/158	1.09 (0.75-1.59)		1.16 (0.78-1.72)	
Sum n-3							
	T1	2.02-4.11	88/154	1.00 (reference)	0.578	1.00 (reference)	0.472

Continued table3.

Chemical structure	Common name	% of total FAs (range[4])	DED/no DED, n/n	OR (95% CI)[1]	*P*-trend[3a]	OR (95% CI)[2]	*P*-trend[3b]
	T2	4.11-5.06	88/166	0.91 (0.63-1.32)		0.86 (0.58-1.25)	
	T3	5.06-11.27	83/161	0.90 (0.62-1.30)		0.86 (0.58-1.27)	
Sum PUFAs							
	T1	20.19-38.97	91/153	1.00 (reference)	0.572	1.00 (reference)	0.788
	T2	38.99-42.15	83/169	0.83 (0.58-1.21)		0.88 (0.59-1.29)	
	T3	42.17-52.91	85/159	0.91 (0.63-1.31)		0.95 (0.65-1.41)	
Ratios PUFAs							
C 18:2 n-6 to C18:3 n-3							
	T1	13.96-35.42	80/164	1.00 (reference)	0.633	1.00 (reference)	0.291
	T2	35.53-47.57	94/157	1.52 (0.86-1.82)		1.37 (0.93-2.03)	
	T3	47.78-129.96	85/160	1.11 (0.76-1.62)		1.25 (0.84-1.86)	
Sum n-6 to n-3							
	T1	2.50-6.79	79/155	1.00 (reference)	0.827	1.00 (reference	0.594
	T2	6.80-8.49	95/166	1.13 (0.78-1.64)		1.11 (0.75-1.65)	
	T3	8.50-16.22	85/160	1.05 (0.72-1.53)		1.12 (0.75-1.56)	
Enzymatic activities index							
C16:1n-7cis to C16:0	SCD-1 desaturase index n-7						
	T1	0.045-0.099	82/134	1.00 (reference)	0.785	1.00 (reference)	0.644
	T2	0.100-0.129	84/179	0.79 (0.54-1.17)		0.75 (0.50-1.13)	
	T3	0.130-0.245	93/168	0.91 (0.62-1.35)		0.87 (0.57-1.31)	
C18:1n-9 to C18:0	SCD-1 desaturase index n-9						
	T1	1.43-2.87	74/168	1.00 (reference)	0.067	1.00 (reference)	0.074
	T2	2.88-3.28	88/163	1.19 (0.82-1.75)		1.21 (0.81-1.79)	
	T3	3.29-7.02	97/150	1.42 (0.98-2.08)		1.44 (0.97-2.14)	
C18:3 n-6 to C18:2 n-6	Δ-6 desaturase FADS2						
	T1	0.002-0.013	85/137	1.00 (reference)	0.240	1.00 (reference)	0.127
	T2	0.014-0.020	96/182	0.86 (0.59-1.25)		0.79 (0.53-1.16)	
	T3	0.021-0.061	78/162	0.79 (0.53-1.16)		0.72 (0.48-1.08)	
C20:4 n-6 to C20:3 n-6	Δ-5 desaturase FADS1						
	T1	2.21-4.38	96/147	1.00 (reference)	0.106	1.00 (reference)	**0.046**
	T2	4.39-5.48	83/170	0.73 (0.51-1.06)		0.69 (0.47-1.02)	
	T3	5.49-11.23	80/164	0.72 (0.50-1.05)		0.66 (0.45-0.98)	

Continued table 3.

Chemical structure	Common name	% of total FAs (range[4])	DED/no DED, n/n	OR (95% CI)[1]	*P*-trend[3a]	OR (95% CI)[2]	*P*-trend[3b]
C20 :3 n-6 to C18:2 n-6	Δ-6 desaturase + elongase 5						
	T1	0.021-0.049	56/119	1.00 (reference)	0.148	1.00 (reference)	0.261
	T2	0.050-0.069	112/221	1.08 (0.73-1.59)		1.02 (0.68-1.54)	
	T3	0.070-0.146	91/141	1.42 (0.93-2.17)		1.35 (0.87-2.09)	
C18:1n-7 to C16:1n-7	Elongase 5/6						
	T1	0.34-0.62	86/165	1.00 (reference)	0.452	1.00 (reference)	0.498
	T2	0.63-0.81	91/164	0.97 (0.67-1.42)		0.99 (0.67-1.47)	
	T3	0.82-2.20	92/152	1.15 (0.78-1.68)		1.14 (0.76-1.70)	
C16: 1n-9 to C18:1n-9	Peroxisomal β-oxydation						
	T1	0.005-0.015	65/116	1.00 (reference)	0.397	1.00 (reference)	0.482
	T2	0.016-0.018	82/181	0.83 (0.55-1.23)		0.81 (0.53-1.24)	
	T3	0.019-0.043	112/184	1.13 (0.77-1.66)		1.10 (0.74-1.66)	
C22:4 n-6 to C 20:4 n-6	Elongase 2/5						
	T1	0.012-0.029	66/151	1.00 (reference)	**0.005**	1.00 (reference)	**0.003**
	T2	0.030-0.036	84/184	1.03 (0.69-1.52)		1.05 (0.70-1.58)	
	T3	0.037-0.086	109/146	1.68 (1.14-2.46)		1.77 (1.18-2.66)	
C22:5 n-3 to C20:5 n-3	Elongase 2/5						
	T1	0.16-0.48	107/246	1.00 (reference)	**0.023**	1.00 (reference)	**0.020**
	T2	0.49-0.56	52/84	1.39 (0.92-2.12)		1.36 (0.88-2.09)	
	T3	0.57-1.54	100/151	1.48 (1.06-2.09)		1.53 (1.07-2.21)	

[1] Age and sex adjusted ORs.

[2] Adjusted ORs for age, sex, educational level, iris color, systemic hypertension, diabetes, AMD, antianxiolytics drug use and artificial tear use.

[3a] P-trend for logistic regression calculated by using median values within each category of FAs after adjustment for age and sex,

[3b] P-trend for logistic regression calculated by using median values within each category of FAs after adjustment for age, sex, educational level, iris color, systemic hypertension, diabetes, AMD, antianxiolytics drug use and artificial tear use. Bold values mean significant level at 0.05. [4] range in each tertile

Table 4. Bivariate analysis of dietary oil consumption and DED signs.

	DED Signs		
	All, n (%)	OR (95% CI)	P-value
Butter or Cream oil			
Never or rarely	180 (24.76)	1.00 (reference)	
Often	192 (26.41)	0.92 (0.61-1.41)	0.717
Daily	355 (48.83)	0.87 (0.60-1.27)	0.473
Peanut oil			
Never or rarely	52 (7.18)	1.00 (reference)	
Often	44 (6.08)	2.07 (0.91-4.71)	0.083
Daily	628 (86.74)	0.99 (0.55-1.81)	0.993
Sunflower oil			
Never or rarely	130 (17.81)	1.00 (reference)	
Often	55 (7.43)	1.29 (0.66-2.49)	0.458
Daily	545 (74.66)	1.28 (0.85-1.94)	0.234
Olive oil			
Never or rarely	443 (60.35)	1.00 (reference)	
Often	81 (11.04)	0.83 (0.49-1.39)	0.481
Daily	210 (28.61)	1.34 (0.95-1.88)	0.089
Maize oil			
Never or rarely	7 (0.97)	1.00 (reference)	
Often	19 (2.62)	0.09 (0.01-0.72)	**0.023**
Daily	698 (96.41)	0.42 (0.09-1.90)	0.263
Colza oil			
Never or rarely	83 (11.39)	1.00 (reference)	
Often	28 (3.24)	0.24 (0.06-0.85)	**0.027**
Daily	618 (84.77)	1.14 (0.70-1.85)	0.594
Grape seed oil			
Never or rarely	36 (4.97)	1.00 (reference)	
Often	30 (4.14)	0.64 (0.22-1.85)	0.414
Daily	658 (90.88)	0.99 (0.49-2.00)	0.991
Nut oil			
Never or rarely	6 (0.83)	1.00 (reference)	
Often	18 (2.49	1.75 (0.23-13.31)	0.588
Daily	700 (96.69)	1.97 (0.64-6.04)	0.234
Mixed oil			
Never or rarely	129 (17.70)	1.00 (reference)	
Often	56 (7.69)	0.87 (0.45-1.67)	0.669
Daily	544 (74.62)	0.91 (0.61-1.36)	0.613

Missing data for: Butter (n=13); peanut oil (n=16); sunflower oil (n=10); olive (n=6); maize oil (n=16); colza oil (n=11); grape seed oil (n=16); nut oil (n=16); mixed oil (n=11).

Mixed oil includes colza oil, sunflower oil and grape seed oil.

Table S1. Comparison of participants and nonparticipants characteristics in the relationship between plasma Fatty acid and dry eye disease in the Montrachet Study.

	Participants		
	No (n=413)	**Yes (n=740)**	**P-value**
Age (years)			
<=80	144 (34.87)	256 (34.59)	
80-85	161 (38.98)	325 (43.92)	0.134
>85	108 (26.15)	159 (21.49)	
Sex, women	259 (62.71)	464 (62.70	0.997
Body Mass Index ≥ 25 kg/m²	210 (50.85)	345 (46.62)	0.168
Former or curent smokers	129 (32.09)	261 (35.70)	0.220
Alcohol consumption	21 (5.97)	43 (6.47)	0.755
Education level,			
No education or primary school	112 (27.18)	212 (28.65)	
Short secondary school	63 (15.29)	97 (13.11)	0.346
Long secondary school	65 (15.78)	142 (19.19)	
High school ou university	172 (41.75)	289 (39.05)	
Sun protection			
Never	32 (7.82)	83 (11.23)	
Occasionnally	103 (25.18)	155 (20.97)	0.075
Often	274 (66.99)	501 (67.79)	
BCVA, < 20/60, ETDRS	12 (2.91)	18 (2.43)	0.628
Central corneal thickness, µm (mean±SD)	555.7±35.6	554.0±34.9	0.446
Iris Color			
Blue/Gray	161 (38.98)	304 (41.08)	
Green/Brown	139 (33.66)	221 (29.86)	0.413
Dark Brown	113 (27.36)	215 (29.05)	
Medical history			
Systemic hypertension	226 (54.72)	448 (60.54)	0.054
Diabetes	33 (9.38)	60 (9.04)	0.858
Ocular history			
AMD status	12 (3.18)	28 (4.05)	0.477
Retinopathy	2 (0.48)	7 (0.95)	0.393
Glaucoma	50 (12.14)	87 (11.76)	0.849
Ocular Hypertension >21 mmHg	16 (3.87)	22 (2.97)	0.411
Cataracte extraction	206 (50.24)	361 (48.78)	0.635
Systemic drug use			
Antihypertensives	210 (59.66)	405 (60.90)	0.699
Diuretics	59 (14.29)	99 (13.38)	0.667
Beta-blockers	95 (23.00)	177 (23.92)	0.725
Calcium antagonist	59 (14.29)	103 (13.92)	0.864
Antiglaucoma	25 (6.05)	33 (4.46)	0.235
Antidepressants	32 (7.75)	54 (7.30)	0.779
Anxiolytics	50 (12.11)	88 (11.89)	0.914
Global psychotropics	103 (24.94)	184 (24.86)	0.978
Antihistamines	21 (5.08)	37 (5.00)	0.949
Decongestants and antiallergics	3 (0.73)	11 (1.49)	0.258

agents			
Topical treatment			
Artificial tear	55 (13.32)	91 (12.30)	0.617
IOP-lowering agents			
Preserved eye drops	41 (9.93)	62 (8.38)	0.567
Nonpreserved eye drops	7 (1.69)	10 (1.35)	
Antihistamine eye drops	55 (13.32)	91 (12.30)	0.617
Other eye drops	4 (0.97)	7 (0.95)	0.969
Lipid lowering drug use	133 (37.78)	291 (43.73)	0.066
Plasma lipid, mmol/L (mean±SD)			
Total cholesterol	5.81±0.95	5.79±0.94	0.665
LDL cholesterol	3.60±0.82	3.59±0.84	0.910
HDL cholesterol	1.67±0.42	1.66±0.39	0.774
Triglycerides	1.19±0.54	1.16±0.51	0.779

Missing data for smoking (n=20), Alcohol (n=136), Educational level (n=1), Sun protection (n=5), Central corneal thickness (n=7), diabetes (n=137), AMD (n=84), Lipid lowering drug use (n=136), Antihypertensives drug use (n=136) and plasma lipids (n=14).

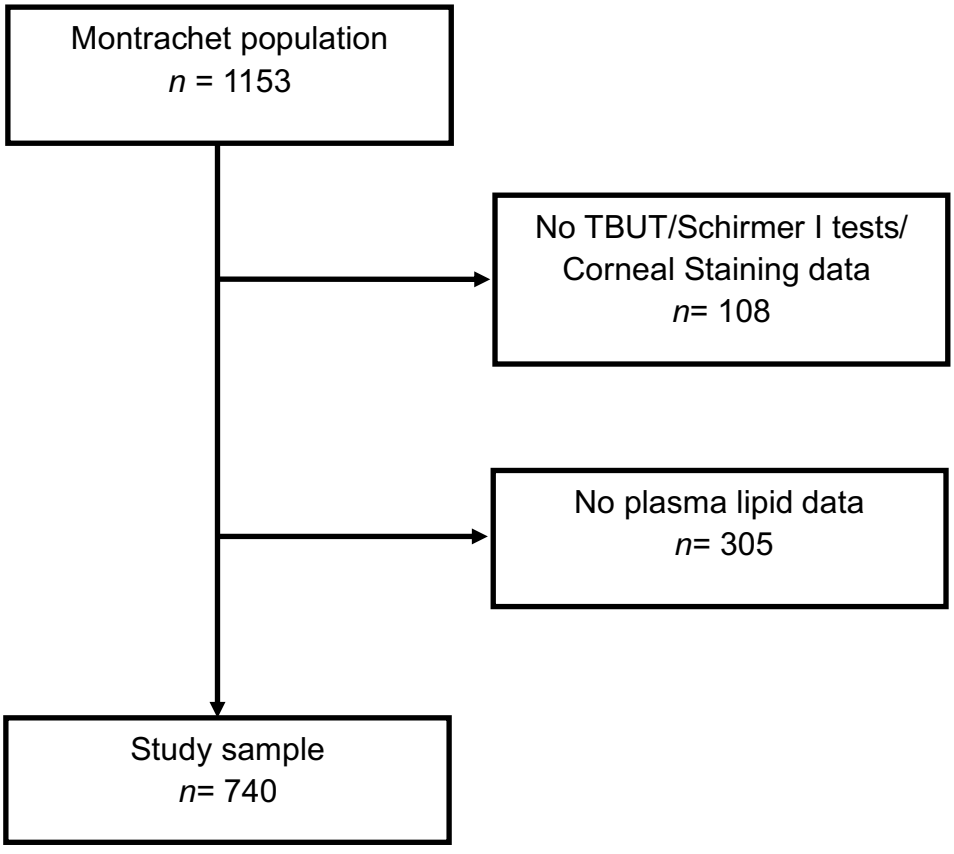


Fig 1. Flowchart illustrating the selection procedure of study participants.

1.8-Résumé des données essentielles et compléments d'analyse

Les participants étaient âgés en moyenne de 82,2 ± 3,7 ans et étaient majoritairement de femmes (62,7%). Ils consommaient très majoritairement de l'huile de noix (97%), de maïs (96%), de raisin (91%) d'arachide (87%) et de colza (85%). Les pourcentages d'acide palmitique, stéarique, oléique et des AGPI n-6 étaient comparables à ce qui a pu être retrouvé dans une population de personnes de 65 ans et plus. [138,139] Pour cette analyse la classification de DEWS a été utilisée : les patients étaient considérés comme ayant une sécheresse oculaire s'ils avaient une sécheresse modérée à sévère (stade 3 ou 4). Avec cette définition, la fréquence de la sécheresse oculaire au total était de 35% (IC-95%=31,6-38,4). Après ajustement sur le sexe et l'âge, les principaux facteurs associés à la sécheresse oculaire modérée à sévère étaient comme dans l'article précédent, la prise d'anxiolytiques, et logiquement l'utilisation de larmes artificielles, mais aussi un iris sombre, et un niveau d'études correspondant au brevet. Cependant, une sécheresse oculaire était moins souvent présente en cas de DMLA.

Après ajustement sur ces facteurs mais aussi sur l'hypertension artérielle et le diabète, le taux plasmatique d'acides dihomo-gamma-linoléique (ADGL C20:3 n-6), docosapentaénoïque (ADP oméga-6 C22:5 n-6) et l'activité de l'elongase 2/5 (ratio C22:4 n-6 à C20:4 n-6 / C22:5 n-3 à C20:5 n-3) étaient associées à une probabilité plus élevée de sécheresse oculaire. Au contraire, un taux plus élevé d'acide stéarique (C18 :0), et de $\Delta-5$ desaturase (C20:4 n-6 à C20:3 n-6) semblait plutôt protecteur.

Afin de confirmer ces résultats exploratoires au regard du nombre de tests réalisés, nous avons utilisé une régression PLS afin d'identifier un éventuel profil d'acide gras pouvant être associé à la sécheresse oculaire. Le tableau ci-dessous décrit le poids de chacun des acides gras étudiés dans ce profil, représentant 10,7% de la variance expliquée.

Table 5. Factor weight values of plasma FAs obtained by Partial Least Squares Generalized Linear Model analysis method associated with the presence of DED signs in the Montrachet Study.

Fatty acids	Common name	Component [a]
SFAs		
C12:0	Lauric acid	0.13
C14:0	Myristic acid	0.07
C15:0	Pentadecanoic acid	0.01
C16:0	Palmitic acid	0.11
C17:0	Margaric acid	0.09
C18:0	Stearic acid	**-0.32**
C20:0	Arachidic acid	0.09
C22:0	Behenic acid	**0.27**
MUFAs		
C16:1 n-9	Cis-7 hexadecenoic acid	-0.00
C16:1 n-7	Palmitoleic acid	0.09
C18:1 n-9	Oleic acid	**0.20**
C18:1 n-7	Vaccenic acid	**0.39**
C20:1 n-9	Eicosenoic acid	0.17
C24:1 n-9	Nervonic acid	0.19
PUFAs		
Omega-6		
C18:2 n-6	Linoleic acid (LA)	-0.10
C18:3 n-6	Gamma linoleic acid (GLA)	**-0.27**
C20:2 n-6	Eicosadienoic acid	0.05
C20:3 n-6	Dihomo-gamma-linoleic acid (DGLA)	**0.29**
C20:4 n-6	Arachidonic acid (AA)	**-0.21**
C22:4 n-6	Docosatetraenoic Acid (DTA)	**0.22**
C22:5 n-6	Docosapentaenoic n-6 (DPA)	**0.32**
Omega-3		
C18:3 n-3	Alpha linoleic acid (ALA)	-0.08
C20:5 n-3	Eicosapentaenoic acid (EPA)	**-0.27**
C22:5 n-3	Docosapentaenoic n-3 (DPA)	**0.21**
C22:6 n-3	Docosahexaenoic acid (DHA)	-0.07

[a] The FAs pattern obtained from plsRglm explained 10.74% of the variance in all FAs and 2.01% of the variance in response variable.

Ce profil était caractérisé par une faible concentration des acides stéarique, gamma-linoléique (AGL), arachidonique (AA) et Eicosapentaénoïque (AEP) et une forte concentration des acides béhénique (acide gras saturé), vaccénique (mono-insaturés),

dihomo-gamma-linoléique (ADGL), docosatétraénoïque (ADT) et docosapentaénoïque (ADP oméga 6). De façon intéressante on voit que les poids de l'AA et de la DGLA liées par l'activité de la D-5 désaturase vont dans le sens inverse, de même que les poids de l'ADT et l'AA et de la DPA n-3 et de l'EPA liées par l'activité de l'elongase 2-5.

Pour chaque sujet inclus dans l'étude un score d'adéquation au profil identifié par la PLS a été calculé en fonction des taux de chaque acide gras constitutif. Les caractéristiques des participants ont été décrites pour chaque quartile de ce score. Les hommes, avec un BMI élevé, fumeurs ou anciens fumeurs avec une DMLA, prenant des diurétiques, des bêta-bloquants ou des hypolipémiants étaient plus souvent dans le 4ème quartile. Les sujets ayant un score d'adéquation dans ce dernier quartile avaient un taux de triglycérides plus élevé et un cholesterol HDL plus bas.

Table 6. Demographics and lifestyle characteristics of study participants and FAs pattern scores distribution.

	Quartiles of FAs pattern scores				
	Q1	Q2	Q3	Q4	*P for trend*
Age, y	81.78±3.75	81.94±3.46	82.19±3.50	82.73±3.93	0.067
Sex, female vs male	127 (68.65)	119 (64.32)	108 (58.38)	110 (59.46)	0.038
Body Mass Index (> 25 kg/m²)	78 (42.16)	77 (41.62)	86 (46.49)	104 (56.22)	0.004
Smoking status, former or current smokers	61 (33.52)	52 (28.26)	73 (40.56)	75 (40.54)	0.035
Alcohol consumption, yes	9 (5.33)	9 (5.20)	15 (9.26)	10 (6.21)	0.438
Education level					0.083
No education or primary school	43 (23.24)	60 (32.43)	55 (29.73)	54 (29.19)	
Short secondary school	23 (12.43)	15 (8.11)	26 (17.84)	33 (17.84)	
Long secondary school	40 (21.62)	39 (21.08)	33 (17.84)	30 (16.22)	
high school or university	79 (42.70)	71 (38.38)	71 (38.38)	68 (36.76)	
Sun protection					0.172
Never	14 (7.61)	25 (13.51)	16 (8.65)	28 (15.14)	
Occasionnally	36 (19.57)	34 (18.38)	52 (28.11)	33 (17.84)	
Often	134 (72.83)	126 (68.11)	117 (63.24)	124 (67.03)	
Environmental exposure, h/day (mean±SD)					
Time spent outdoors	0.88±1.06	1.05±1.45	1.08±1.69	0.88±1.06	0.320
Time spent on television screen	3.29±1.63	3.39±1.77	3.38±1.91	3.19±1.69	0.659
Time spent on computer screen	0.45±0.93	0.45±1.08	0.48±1.08	0.52±1.25	0.916
Best-Corrected Visual Acuity, <20/60	2 (1.08)	6 (3.24)	4 (2.16)	6 (3.24)	0.339
Central corneal thickness, µm (mean±SD)	555.7±33.3	554.2±36.0	550.2±31.8	556.2±32.8	0.352
Iris color					0.860
Green/Brown	73 (39.46)	75 (40.54)	79 (42.70)	77 (41.62)	
Dark brown	64 (34.59)	56 (30.27)	50 (27.03)	51 (27.57)	
blue	48 (25.95)	54 (29.19)	56 (30.27)	57 (30.81)	
Medical history					
Systemic hypertension	99 (53.51)	118 (63.78)	116 (62.70)	115 (62.16)	0.130
Diabetes	17 (10.06)	12 (6.94)	16 (9.88)	15 (9.38)	0.952
Ocular history*					
Cataract extraction	88 (47.57)	93 (50.27)	77 (41.62)	103 (55.68)	0.357
Diabetic retinopathy	3 (1.62)	1 (0.54)	3 (1.62)	0 (0.00)	0.314
Age-related macular degeneration	2(1.16)	9 (5.17)	6 (3.41)	11 (6.51)	0.037
Glaucoma	18 (9.73)	25 (13.51)	19 (10.27)	25 (13.51)	0.475
Ocular hypertension	15 (8.11)	13 (7.03)	9 (4.86)	10 (5.41)	0.226
Systemic drugs					
Antihypertensives	91 (53.85)	108 (62.43)	163 (63.58)	103 (63.58)	0.064

Diuretics	19 (10.27)	20 (10.81)	27 (14.49)	33 (17.84)	0.020
Beta-blockers	31 (16.76)	44 (23.78)	50 (27.03)	52 (28.11)	0.009
Calcium antagonists	26 (14.05)	30 (16.22)	30 (16.22)	18 (9.73)	0.255
Anxiolytics	19 (10.27)	27 (14.59)	22 (11.89)	20 (10.91)	0.959
Global psychotropic drugs	49 (26.49)	48 (25.95)	43 (23.24)	44 (23.78)	0.470
Antihistamines	7 (3.78)	12 (6.49)	4 (2.12)	14 (7.57)	0.367
Decongestants and anti-allergic agents	2 (1.08)	4 (2.16)	3 (1.62)	2 (1.08)	0.910
Lipid-lowering drugs	57 (33.73)	68 (39.31)	87 (53.70)	79 (49.07)	0.0004
Topical treatment,					
Artificial tears	26 (14.05)	29 (15.68)	20 (10.81)	16 (8.65)	0.057
IOP lowering agents					0.124
Preserved eye drops	12 (6.49)	17 (9.19)	12 (6.49)	21 (11.35)	
Nonpreserved eye drops	1 (0.54)	4 (2.16)	1 (0.54)	4 (2.16)	
Antihistamines drops	9 (4.86)	13 (7.03)	9 (4.86)	11 (5.95)	0.943
Other eye drops	2 (1.08)	2 (1.08)	1 (0.54)	2 (1.08)	1.00
Plasma lipid, mmol/L (mean±SD)					
Total cholesterol	5.89±0.96	5.79±0.97	5.75±0.91	5.71±0.94	0.067
LDL cholesterol	3.67±0.83	3.59±0.88	3.58±0.82	3.55±0.82	0.198
HDL cholesterol	1.77±0.41	1.67±0.37	1.63±0.39	1.59±0.38	<0.0001
Triglycerides	1.05±0.42	1.15±0.52	1.19±0.48	1.25±0.57	<0.0001

Missing data for smoking (n=4), Alcohol (n=75), Sun protection (n=1), Central corneal thickness (n=2), diabetes (n=76), AMD (n=48), Lipid lowering drug use (n=75), Antihypertensives drug use (n=75) and plasma lipids (n=9).

Nous avons trouvé une association positive entre le profil des acides gras et la présence des signes de la sécheresse oculaire dans cette population âgée. Quel que soit l'ajustement réalisé, les patients qui se trouvaient dans le quartile supérieur du score d'adhésion au profil des acides gras avaient une probabilité plus élevée de présenter les signes de la sécheresse oculaire par rapport à ceux qui étaient dans le quartile inférieur (Odds ratio ajusté=2,46 ; IC-95%= 1,51-4,01).

Table 7. Multivariate associations of FAs pattern scores across quartiles obtained by plsRglm model and the presence of DED signs in the Montrachet study.

	Quartiles of FA pattern scores				
	Q1	Q2	Q3	Q4	
	OR (95% CI)	OR (95% CI)	OR (95% CI)	OR (95% CI)	*P for trend*
Crude	1.00 (Ref.)	2.31 (1.46-3.65)	2.26 (1.43-3.57)	2.53 (1.60-3.99)	<0.001
M1[a]	1.00 (Ref.)	2.30 (1.45-3.64)	2.22 (1.40-3.52)	2.45 (1.55-3.88)	<0.001
M2 [b]	1.00 (Ref.)	2.44 (1.50-3.95)	2.26 (1.39-3.65)	2.46 (1.51-4.01)	0.001

[a] M1: age and sex-adjusted model.

[b] M2: M1 with further adjustment for educational level, iris color, BCVA, AMD, systemic hypertension, anxiolytic, antihistamine drop, lipid lowering drug use, plasma HDL cholesterol and triglycerides.

Ref: reference; OR: odds ratio; CI: confidence interval, Q1: first quartile, Q2; second quartile, Q3: third quartile, Q4: fourth quartile.

En conclusion, compte-tenu des analyses réalisées dans cette étude, il apparait que des concentrations basses en acide stéarique, en acide arachidonique ou EPA et des concentrations élevées en AGPI oméga 6 (ADGL, ADT et ADP) pourraient être associées à une probabilité plus élevée de sécheresse oculaire modérée à sévère dans une population âgée après prise en compte des facteurs de confusion. Des études longitudinales seront nécessaires pour confirmer ces résultats.

V- Discussion

V.1- Travaux portant sur la densité optique du pigment maculaire

Les travaux menés dans le cadre de ce travail de thèse ont contribué à fournir des éléments de référence en population âgée sans pathologie oculaire concernant le niveau que l'on peut attendre de densité optique du pigment maculaire mais aussi concernant les taux plasmatiques des caroténoïdes xanthophylles. Les résultats de cette analyse montraient que les personnes sélectionnées avaient des niveaux élevés de la DOPM et de lutéine et zéaxanthine plasmatiques que celui retrouvé dans des populations non sélectionnées sur leur état de santé oculaire. [122, 80,9]

Nos travaux ont également conduit à conforter l'hypothèse selon laquelle une augmentation de la consommation de légumes riches en caroténoïdes (notamment de courges et courgettes) pouvait être associée à des taux plasmatiques de lutéine et de zéaxanthine plus élevés et qu'une augmentation du taux de lutéine pouvait être associé à une augmentation de la DOPM à 0,5° d'excentricité dans une population de personnes âgées de 75 ans et plus, après prise en compte des facteurs de confusion majeurs. Ces résultats sont cohérents et concordants avec ceux des études antérieures obtenus chez les personnes moins âgées dans lesquelles une augmentation de la lutéine plasmatique était associée à une augmentation de la DOPM. [140]

Par ailleurs, dans notre étude, nous avons observé une augmentation de la concentration plasmatique de lutéine et de zéaxanthine chez les personnes supplémentées en lutéine et zéaxanthine. Cette augmentation a également été rapportée chez les personnes âgées de 69-86 ans. [141] Bien que le schéma transversal de notre étude ne permet aucune conclusion en termes de causalité, ces éléments peuvent contribuer à conforter l'intérêt des interventions reposant sur des supplémentation en caroténoïdes. Cependant, nos résultats montrent également que les relations positives entre les taux de lutéine plasmatique et DOPM peuvent être modifiées par les habitudes de vie et notamment par le tabac. Si la relation positive entre taux plasmatique de lutéine et DOPM est bien présente chez les personnes n'ayant jamais fumé, la tendance est inverse chez les anciens fumeurs et fumeurs actuels. Cette tendance n'est pas un résultat isolé. En effet une relation

négative a également été rapportée dans une autre étude chez des sujets plus jeunes. [87] Par ailleurs, ces résultats sont cohérents avec le fait que le tabac est un facteur de risque connu de la DMLA. [142]

Nous avons pu confirmer la moindre DOPM associée à certains facteurs. Ainsi la DOPM était plus faible chez les sujets anciens et actuels consommateurs de l'alcool et les personnes en surpoids, deux facteurs de risque connus de la DMLA. [96, 143,144]

En revanche, dans notre étude, l'âge n'est pas associé à la DOPM. Cette relation n'était pas retrouvée non plus par différents auteurs, [84,86] mais apparaissait comme significative dans plusieurs autres études. [87, 141] Nous ne pouvons pas écarter que l'absence de relation avec l'âge dans notre étude soit en partie expliquée par la faible dispersion de l'âge dans notre population de sujets de 75 ans et plus. Compte-tenu de l'augmentation du risque de DMLA avec l'âge, ce facteur ne peut être écarté de la réflexion sur les populations à cibler par les interventions préventives. En analyse multivariée, nous n'avons pas confirmé que la DOPM et les concentrations plasmatiques de lutéine et zéaxanthine étaient plus élevées chez les femmes que chez les hommes contrairement à ce qui avait été rapporté par Mares et coll. [123] Cependant, ce résultat ne fait pas l'unanimité : Hammond et coll. ont ainsi trouvé le contraire. [95]

Compte tenu de la présence importante des acides gras polyinsaturés particulièrement l'acide docosahexaenoïque (DHA) au niveau de la rétine, [11] nous avons cherché une relation entre les acides gras polyinsaturés (AGPI) et la DOPM. Aucune relation n'a été trouvée dans notre étude contrairement à ce qui avait était retrouvé par Delyfer et coll. En effet ces auteurs avaient trouvé, dans une population moins âgée (40-60 ans), une association positive entre les AGPI et la DOPM à 1°, 2° et 6°. Par contre, ils n'avaient pas trouvé de relation significative avec la DOPM à 0,5° d'excentricité. [122] Par contre dans notre étude, les xanthophylles plasmatiques étaient corrélées aux concentrations du cholestérol total, les AGPI totaux, les oméga 3 et 6 avec une forte corrélation entre la lutéine et oméga- 3.

Nous avons pu également décrire les profils de répartition spatiale du pigment maculaire en nous appuyant sur les travaux antérieurs qui permettait de classer les profils de répartition spatiale en 3 grandes catégories (typique avec une décroissant monotone, atypique en anneau avec 2 pics : un central et l'autre (ringlike) à 0.8° d'excentricité, et atypique intermédiaire caractérisé par une décroissance suivie d'un plateau. [66, 94,127,145] Nous avons retrouvé une écrasante majorité des profils typiques. Le profil en anneau n'était

retrouvé que chez 17.2% des participants. Cette fréquence est similaire à celle rapportée par Dietzel M et al. utilisant la même technique chez des sujets d'âge proche. [66] Par ailleurs, nous avons montré que le profil en anneau était moins fréquent chez les personnes qui ne se protégeaient actuellement jamais du soleil, ayant un iris sombre et ceux avec une faible épaisseur rétinienne centrale. Ces facteurs sont d'autant plus importants, qu'ils sont déjà connus pour être associés au développement de la DMLA mais restent controversés en raison de l'hétérogénéité de données et des populations étudiées.[146-148] L'effet d'une exposition solaire prolongée est l'un des facteurs du risque de DMLA le moins contesté ; de nombreuses études mettent en évidence ce facteur péjoratif. [149-153] Une étude récente montre que les antécédents d'exposition solaire sont associés à la DMLA précoce mais pas l'exposition actuelle, renforçant la nécessité de messages de prévention dans l'ensemble de la population. Dans notre questionnaire, les sujets était interrogés sur leurs habitudes de protection vis-à-vis du soleil à différentes tranches d'âge (12-19 ans, 30-39 ans et actuellement). Il n'est pas impossible que les réponses des participants à notre étude concernent leurs habitudes sur le long terme et non spécifiquement à la période actuelle. Par ailleurs, la répartition spatiale du pigment maculaire n'est qu'un des facteurs associés à la DMLA et il n'est pas étonnant que les facteurs associés au profil spatial ne le soient pas forcément à la DMLA et réciproquement. Nous avons retrouvé qu'un profil en anneau était moins probable chez les sujets ayant un iris sombre. Ce résultat à notre connaissance n'a pas été mis en évidence par d'autres auteurs. Cependant, plusieurs études ont montré des relations entre couleur de l'iris et la DOPM, [146-148] ce qui n'était pas le cas dans notre étude. Nous avons également retrouvé comme Meyer Zu W et coll. qu'une plus faible épaisseur centrale de la rétine était associée à une probabilité plus importante d'avoir un profil en anneau ou intermédiaire. [149] Ce résultat pourrait être liée au fait que la section de la membrane limitante de la rétine pourrait être impliquée dans la distribution du pigment maculaire.

Enfin nous avons montré que des taux élevés de lutéine plasmatique étaient associées à une probabilité plus élevée d'observer un profil en anneau ou intermédiaire. Cependant cette relation n'était clairement mise en évidence que chez les hommes. Par ailleurs, certaines études de supplémentation montrent que la prise des xanthophylles ne change pas notablement la distribution spatiale du pigment maculaire du moins chez des patients atteints de DMLA.[121] Ces éléments ne peuvent qu'à être prudent sur les possibilités de modifier ce facteur par des interventions à court terme.

Certaines forces et limites sont spécifiques à ces études. La première limite concerne la représentativité de l'échantillon sélectionné pour chacune des analyses portant sur la densité du pigment maculaire. Aucun des échantillons ne sont totalement représentatifs de la population cible. Ce biais de sélection concerne l'ensemble de l'étude Montrachet qui comprend des volontaires avec logiquement un meilleur état de santé générale et avec un niveau d'éducation plus élevé que la population initialement incluse dans l'étude 3C. Par ailleurs, stricto-sensu, nos résultats ne sont extrapolables qu'à des populations urbaines, caucasienne et globalement en bonne santé. Un tel biais de sélection est classique dans les études de cohorte faisant appel à des volontaires. Les participants à ce type d'étude sont généralement plus attentifs à leur santé et leur alimentation. [105] Cependant, ce biais est renforcé dans les analyses présentées ici, car, elles ont nécessité de n'inclure que les sujets pour lesquelles on disposait de données fiables concernant leur DOPM, leurs dosages de xanthophylles plasmatiques et les données du questionnaire alimentaire. Ce biais est particulièrement problématique pour les aspects descriptifs de ce travail. Compte-tenu des caractéristiques de la population incluse, on peut faire l'hypothèse que la DOPM, les taux de xanthophylles plasmatiques, et les consommations de fruits et de légumes riches en caroténoïdes xanthophylles retrouvés chez les sujets sans atteinte oculaire représentent une fourchette haute des données à attendre chez des sujets indemnes de pathologie ophtalmologique. Ce biais de sélection a probablement moins d'impact (en dehors bien sûr d'un défaut de puissance qu'il entraine) sur les mesures d'association. Il faut en effet que le biais de sélection soit différent pour les expositions et les variables à expliquer. Par ailleurs, nous avons tenu compte dès que cela était possible des facteurs différenciant participants et non participants dans les analyses multivariés et vérifié les interactions correspondantes.

La deuxième limite concerne les mesures variables d'intérêt (DOPM, profil spatial du pigment maculaire, xanthophylles plasmatiques et fréquence de consommation d'aliments riches en caroténoïdes xanthophylles). La technique de mesure que nous avons choisie pour la DPOM est couramment utilisée en pratique clinque et fournit des valeurs fiables du pigment maculaire. [126] Mais, elle ne constitue pas un gold-standard absolu. Concernant la distribution spatiale du pigment maculaire, il n'existe pas d'algorithme valide qui permet de mieux classifier les différents profils spatiaux, bien qu'assuré par deux investigateurs entrainés, le classement des profils dépend d'une appréciation subjective et on ne peut donc pas écarter un biais de classement. S'agissant de la mesure des xanthophylles plasmatiques, la technique utilisée est la chromatographie liquide à haute performance

utilisant la colonne C18 mais cette technique manque de sensibilité pour la séparation de la lutéine et de la zéaxanthine. Il aurait été souhaitable d'utiliser une technique utilisant la colonne C30 qui présente une meilleure différenciation entre la lutéine et la zéaxanthine. Cependant, ce type de colonne n'était pas disponible au laboratoire quand les dosages ont été réalisés. Ce défaut de résolution peut avoir induit une sur/sous-estimation des taux plasmatiques de lutéine et de zéaxanthine, mais ce biais de mesure a toutes les chances d'être de nature aléatoire et d'avoir ainsi un impact limité sur nos résultats. Le questionnaire alimentaire utilisé dans cette étude est un auto-questionnaire long et complexe que les participants ont eu pour certains du mal à remplir. Par ailleurs, il comportait à la fois un rappel des consommations à chacun des repas (entre les repas) ainsi qu'un questionnaire de fréquence de consommation d'aliments cibles dans l'année précédente. C'est cette dernière partie qui a été utilisée pour les études présentées dans ce mémoire. Les réponses à ce type de questionnaire sont partiellement conditionnées par la perception du volontaire des réponses qui pourraient être attendues (biais de désirabilité) qui a pu induire une surestimation de la consommation d'aliments perçus comme « sains » et en particulier de fruits et de légumes. Cependant, les questionnaires étaient 1) des auto-questionnaires 2) potentiellement remplis à la maison ou avec l'aide de professionnels en charge de l'étude mais non impliqué dans le soin, ce qui peut avoir limité l'importance de ce biais. En revanche, on ne peut pas écarter un biais de mémoire, qui peut concerner de façon différentielle les aliments en fonction de la saison de passation des questionnaires. Les volontaires ont été inclus de façon indifférenciée à toutes les saisons mais la réalisation des bilans a été moins fréquente pendant les épisodes de froid intense et de neige, de même que durant les périodes d'été. De plus, ce questionnaire n'est pas exhaustif de tous les fruits et légumes riches en caroténoïdes et n'est pas conçu pour estimer la consommation quantitative des xanthophylles alimentaires.

V.2- Travaux portant sur la sécheresse oculaire

Nous avons pu décrire la fréquence de la sécheresse oculaire sur la quasi-totalité de la population incluse dans l'étude Montrachet et ainsi fournir une estimation de la prévalence de ce syndrome dans une population âgée française. Selon les définitions utilisées, cette fréquence pouvait passer de 13% si l'on considérait uniquement les sujets ayant une sécheresse oculaire subjective et objective à 34.5% si l'on s'appuyait sur les tests cliniques. La population d'étude étant en relative bonne santé, ces chiffres constituent probablement la fourchette basse de l'estimation de la prévalence chez des sujets de 75 ans et plus,

confirmant ainsi la prégnance de cette affection. Cette fréquence élevée est en partie liée à la forte proportion de sujets traités par anxiolytiques et/ou par antihypertenseurs, facteurs logiquement associés à la sécheresse oculaire.

Cependant pour aller plus loin dans l'étude des facteurs impliqués dans ce syndrome, nous avons souhaité estimer les relations entre acides gras plasmatiques et sécheresse oculaire. Cette dernière analyse reposant sur deux méthodes différentes a montré qu'une faible concentration acides gras saturés (C18 :0, acide stéarique) et polyinsaturés (notamment acides arachidonique : AA et eicosapentaénoïque : EPA) et une concentration élevée en DGLA et DPA n-6 était associée à une probabilité plus élevée de sécheresse oculaire. Concernant les autres acides polyinsaturés de la famille oméga 3 (ALA et DHA) aucune association n'a été trouvée avec la sécheresse oculaire modérée à sévère malgré le fait que ces acides sont réputés pour avoir un effet bénéfique sur la sécheresse oculaire. [23-27,154]

La faible concentration plasmatique de l'acide stéarique trouvée chez les patients avec signes de sécheresse oculaire est surprenante. Ce résultat est à mettre en lien avec le fait que tous les acides gras saturés ne sont pas pro-inflammatoires. [155] C'est particulièrement le cas pour l'acide stéarique qui chez les personnes jeunes est inversement associé aux marqueurs de l'inflammation (CRP de haute sensibilité). [156] Une étude récente a montré que le copolymère d'acides palmitique, oléique et stéarique aurait un effet anti-inflammatoire dans la maladie inflammatoire du cartilage par diminution des IL-1 et PGE2,[157] protéines connues pour jouer un rôle dans la sécheresse oculaire. [158]

L'acide arachidonique (AA), autre AG associé avec un moindre risque de sécheresse oculaire est le métabolite de DGLA; il est métabolisé en PGE2, LTB4 et TXa2 qui ont des propriétés proinflammatoires.[159] L'étude ancienne de Sprecher et coll a montré également que l'AA pourrait avoir un effet protecteur contre le syndrome sec grâce à ses dérivés eicosanoïdes (PGE1). [160] PGE1 est capable de réduire l'évaporation des larmes et améliorer les signes et symptômes de sécheresse oculaire. [136] Ainsi la faible concentration d'AA trouvée chez les patients avec signes de sécheresse oculaire pourrait être expliquée 1) par une faible conversion de l'AA par la *Δ-5 désaturase* au profit de DGLA et de ses dérivés qui rentreraient en compétition avec l'AA dans la synthèse des dérivés proinflammatoires de l'AA et 2) par une faible conversion de cyclooxygénase liée à une faible concentration des PGE1.

Par ailleurs, le profil d'acide gras associé aux signes de sécheresse oculaire était aussi caractérisé par une concentration élevée de l'acide docosapentaénoïque (ADP n-6). L'ADP

n-6 est un métabolite de l'AA et de l'ADT par élongation (*ELOVL2/ ELOVL5*) et activité de la *Δ-6 désaturase/FADS2*. [161] Un déficit de ces enzymes pourrait entrainer une augmentation de l'ADP dans le processus de la sécheresse oculaire en favorisant ainsi la production des prostaglandines proinflammatoires. [136]

Les résultats de nos deux analyses apparaissent donc en cohérence avec les données de la littérature et apporte des éléments supplémentaires dans la compréhension du métabolisme des lipides impliqués dans la sécheresse oculaire. Cette étude reste malgré tout exploratoire et méritera d'être confortée par d'autres études épidémiologiques mais aussi plus mécanistiques.

VI- Conclusion et perspectives

Ces travaux de thèse, réalisés à partir des données de l'étude Montrachet, étude en population générale disposant des données ophtalmologiques, biochimiques et nutritionnelles ont permis d'enrichir nos connaissances relatives au pigment maculaire, sa densité, sa répartition spatiale et ses déterminants ainsi que concernant la fréquence de la sécheresse oculaire et ses déterminants. Les résultats sont très cohérents avec ceux des autres études épidémiologiques même si notre population est en moyenne plus âgée. Elle fournit des valeurs de référence pour la planification de nouvelles études aussi bien concernant les valeurs attendues en population âgée de 75 ans et plus que pour les facteurs de confusion à prendre en compte. Par ailleurs, nos résultats apportent des éléments nouveaux dans l'implication des acides gras dans le processus de la sécheresse oculaire. Cependant, compte tenu du caractère transversal de nos études, ces résultats permettent seulement d'émettre des hypothèses qui seront confirmées à l'aide d'études longitudinales.

Dans la continuité de ce travail de thèse, il serait important de pouvoir s'appuyer sur des algorithmes automatiques d'analyse du profil spatial et du volume total du pigment maculaire afin d'avoir une vision d'ensemble de ce filtre essentiel au bon fonctionnement de la rétine. Nous pourrons profiter des données longitudinales en cours de recueil pour étudier les relations de ces paramètres avec la survenue ou la progression d'une MLA.

Ce travail devra également être poursuivi en intégrant les données de polymorphisme génétique afin de pouvoir étudier les interactions entre ces paramètres et les données d'environnement, l'un des objectifs majeurs initiaux de l'étude Montrachet.

.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Harman D. The aging process. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1981;78(11):7124-7128.

2. Bonnel S, Mohand-Said S, Sahel J-A. The aging of the retina. *Exp Gerontol*. 2003;38(8):825-831.

3. OMS | Vieillissement et santé. WHO. http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs404/fr/. Accessed January 26, 2018.

4. Espérance de vie à divers âges en 2017 | Insee. https://www.insee.fr/fr/statistiques/2416631. Accessed July 7, 2018.

5. Michael R, Bron AJ. The ageing lens and cataract: a model of normal and pathological ageing. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2011;366(1568):1278-1292.

6. He J, Lu L, He X, et al. The Relationship between Crystalline Lens Power and Refractive Error in Older Chinese Adults: The Shanghai Eye Study. *PLoS ONE*. 2017;12(1).

7. Delcourt C, Korobelnik J-F, Barberger-Gateau P, et al. Nutrition and age-related eye diseases: the Alienor (Antioxydants, Lipides Essentiels, Nutrition et maladies OculaiRes) Study. *J Nutr Health Aging*. 2010;14(10):854-861.

8. Kini MM, Leibowitz HM, Colton T, Nickerson RJ, Ganley J, Dawber TR. Prevalence of senile cataract, diabetic retinopathy, senile macular degeneration, and open-angle glaucoma in the Framingham eye study. *Am J Ophthalmol*. 1978;85(1):28-34.

9. Delcourt C, Carrière I, Delage M, Barberger-Gateau P, Schalch W, POLA Study Group. Plasma lutein and zeaxanthin and other carotenoids as modifiable risk factors for age-related maculopathy and cataract: the POLA Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47(6):2329-2335.

10. Sperduto RD, Hu TS, Milton RC, et al. The Linxian cataract studies. Two nutrition intervention trials. *Arch Ophthalmol Chic Ill 1960*. 1993;111(9):1246-1253.

11. Age-Related Eye Disease Study Research Group, SanGiovanni JP, Chew EY, et al. The relationship of dietary carotenoid and vitamin A, E, and C intake with age-related macular degeneration in a case-control study: AREDS Report No. 22. *Arch Ophthalmol*. 2007;125(9):1225-1232.

12. Christen WG, Glynn RJ, Chew EY, Albert CM, Manson JE. Folic Acid, Vitamin B6, and Vitamin B12 in Combination and Age-Related Cataract in a Randomized Trial of Women. *Ophthalmic Epidemiol*. 2016;23(1):32-39.

13. Killer HE, Laeng HR, Flammer J, Groscurth P. Architecture of arachnoid trabeculae, pillars, and septa in the subarachnoid space of the human optic nerve: anatomy and clinical considerations. *Br J Ophthalmol*. 2003;87(6):777-781.

14. Butt Z, O'Brien C, McKillop G, Aspinall P, Allan P. Color Doppler imaging in untreated high- and normal-pressure open-angle glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1997;38(3):690-696.

15. Tuck MW, Crick RP. The projected increase in glaucoma due to an ageing population. *Ophthalmic Physiol Opt J Br Coll Ophthalmic Opt Optom*. 2003;23(2):175-179.

16. Kwon YH, Fingert JH, Kuehn MH, Alward WLM. Primary Open-Angle Glaucoma. *N Engl J Med*. 2009;360(11):1113-1124.

17. Cordeiro MF, Guo L, Luong V, et al. Real-time imaging of single nerve cell apoptosis in retinal neurodegeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(36):13352-13356.

18. Tham Y-C, Li X, Wong TY, Quigley HA, Aung T, Cheng C-Y. Global Prevalence of Glaucoma and Projections of Glaucoma Burden through 2040. *Ophthalmology*. 2014;121(11):2081-2090.

19. Glaucome. Inserm. https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/glaucome. Accessed July 7, 2018.

20. Tielsch JM, Sommer A, Katz J, Royall RM, Quigley HA, Javitt J. Racial variations in the prevalence of primary open-angle glaucoma. The Baltimore Eye Survey. *JAMA*. 1991;266(3):369-374.

21. Han SB, Hyon JY, Woo SJ, Lee JJ, Kim TH, Kim KW. Prevalence of Dry Eye Disease in an Elderly Korean Population. *Arch Ophthalmol*. 2011;129(5):633-638.

22. Schaumberg DA, Dana R, Buring JE, Sullivan DA. Prevalence of dry eye disease among US men: estimates from the Physicians' Health Studies. *Arch Ophthalmol Chic Ill 1960*. 2009;127(6):763-768.

23. Kangari H, Eftekhari MH, Sardari S, et al. Short-term consumption of oral omega-3 and dry eye syndrome. *Ophthalmology*. 2013;120(11):2191-2196.

24. Uchino M, Yokoi N, Uchino Y, et al. Prevalence of dry eye disease and its risk factors in visual display terminal users: the Osaka study. *Am J Ophthalmol*. 2013;156(4):759-766.

25. The definition and classification of dry eye disease: report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007). *Ocul Surf*. 2007;5(2):75-92.

26. Cermak JM, Papas AS, Sullivan RM, Dana MR, Sullivan DA. Nutrient intake in women with primary and secondary Sjögren's syndrome. *Eur J Clin Nutr*. 2003;57(2):328-334.

27. Miljanović B, Trivedi KA, Reza Dana M, Gilbard JP, Buring JE, Schaumberg DA. The relationship between dietary n-3 and n-6 fatty acids and clinically diagnosed dry eye syndrome in women. *Am J Clin Nutr*. 2005;82(4):887-893.

28. Calder PC, Ahluwalia N, Brouns F, et al. Dietary factors and low-grade inflammation in relation to overweight and obesity. *Br J Nutr*. 2011;106 Suppl 3:S5-78.

29. Hoon M, Okawa H, Santina LD, Wong ROL. Functional Architecture of the Retina: Development and Disease. *Prog Retin Eye Res*. 2014;42:44-84.

30. Curcio CA, Sloan KR, Kalina RE, Hendrickson AE. Human photoreceptor topography. *J Comp Neurol*. 1990;292(4):497-523.

31. Young RW. Shedding of discs from rod outer segments in the rhesus monkey. *J Ultrastruct Res*. 1971;34(1):190-203.

32. Wong WL, Su X, Li X, et al. Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health*. 2014;2(2):e106-116.

33. Congdon N, Vingerling JR, Klein BEK, et al. Prevalence of cataract and pseudophakia/aphakia among adults in the United States. *Arch Ophthalmol Chic Ill 1960*. 2004;122(4):487-494.

34. Congdon N, O'Colmain B, Klaver CCW, et al. Causes and prevalence of visual impairment among adults in the United States. *Arch Ophthalmol Chic Ill 1960*. 2004;122(4):477-485.

35. Fréquence / DMLA / Maladies de l'oeil / Accueil - Les Quinze-Vingts - Centre Hospitalier NationalD'Ophtalmologie.https://www.quinzevingts.fr/maladies_de_l_oeil/dmla/frequence. Accessed July 7, 2018.

36. Lim LS, Mitchell P, Seddon JM, Holz FG, Wong TY. Age-related macular degeneration. *The Lancet*. 2012;379(9827):1728-1738.

37. Olmedilla-Alonso B, Beltrán-de-Miguel B, Estévez-Santiago R, Cuadrado-Vives C. Markers of lutein and zeaxanthin status in two age groups of men and women: dietary intake, serum concentrations, lipid profile and macular pigment optical density. *Nutr J*. 2014;13:52.

38. Korobelnik J-F, Rougier M-B, Delyfer M-N, et al. Effect of Dietary Supplementation With Lutein, Zeaxanthin, and ω-3 on Macular Pigment: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Ophthalmol*. September 2017.

39. Dawczynski J, Jentsch S, Schweitzer D, Hammer M, Lang GE, Strobel J. Long term effects of lutein, zeaxanthin and omega-3-LCPUFAs supplementation on optical density of macular pigment in AMD patients: the LUTEGA study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol*. 2013;251(12):2711-2723.

40. Trieschmann M, van Kuijk FJGM, Alexander R, et al. Macular pigment in the human retina: histological evaluation of localization and distribution. *Eye Lond Engl*. 2008;22(1):132-137.

41. Desmettre T, Lecerf J-M, Souied E-H. [Nutrition and age-related macular degeneration]. *J Fr Ophtalmol*. 2004;27(9 Pt 2):3S38-56.

42. Maiani G, Castón MJP, Catasta G, et al. Carotenoids: actual knowledge on food sources, intakes, stability and bioavailability and their protective role in humans. *Mol Nutr Food Res*. 2009;53 Suppl 2:S194-218.

43. Abdel-Aal E-SM, Akhtar H, Zaheer K, Ali R. Dietary Sources of Lutein and Zeaxanthin Carotenoids and Their Role in Eye Health. *Nutrients*. 2013;5(4):1169-1185.

44. Sommerburg O, Keunen JE, Bird AC, van Kuijk FJ. Fruits and vegetables that are sources for lutein and zeaxanthin: the macular pigment in human eyes. *Br J Ophthalmol*. 1998;82(8):907-910.

45. Borel P. Genetic variations involved in interindividual variability in carotenoid status. *Mol Nutr Food Res*. 2012;56(2):228-240.

46. Lecerf J-M, Desmettre T. [Nutrition and age-related macular degeneration]. *J Fr Ophtalmol*. 2010;33(10):749-757.

47. O'Neill ME, Carroll Y, Corridan B, et al. A European carotenoid database to assess carotenoid intakes and its use in a five-country comparative study. *Br J Nutr*. 2001;85(4):499-507.

48. Bone RA, Landrum JT, Hime GW, Cains A, Zamor J. Stereochemistry of the human macular carotenoids. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1993;34(6):2033-2040.

49. García-de Blas E, Mateo R, Viñuela J, Alonso-Alvarez C. Identification of carotenoid pigments and their fatty acid esters in an avian integument combining HPLC-DAD and LC-MS analyses. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2011;879(5-6):341-348.

50. Watanabe M, Musumi K, Ayugase J. Carotenoid pigment composition, polyphenol content, and antioxidant activities of extracts from orange-colored Chinese cabbage. *LWT - Food Sci Technol*. 2011;44(9):1971-1975.

51. Shyam R, Vachali P, Gorusupudi A, Nelson K, Bernstein PS. All three human scavenger receptor class B proteins can bind and transport all three macular xanthophyll carotenoids. *Arch Biochem Biophys*. 2017;634:21-28.

52. During A, Dawson HD, Harrison EH. Carotenoid transport is decreased and expression of the lipid transporters SR-BI, NPC1L1, and ABCA1 is downregulated in Caco-2 cells treated with ezetimibe. *J Nutr*. 2005;135(10):2305-2312.

53. West CE, Castenmiller JJ. Quantification of the "SLAMENGHI" factors for carotenoid bioavailability and bioconversion. *Int J Vitam Nutr Res Int Z Vitam-Ernahrungsforschung J Int Vitaminol Nutr*. 1998;68(6):371-377.

54. Mamatha BS, Baskaran V. Effect of micellar lipids, dietary fiber and β-carotene on lutein bioavailability in aged rats with lutein deficiency. *Nutr Burbank Los Angel Cty Calif*. 2011;27(9):960-966.

55. Snodderly DM, Brown PK, Delori FC, Auran JD. The macular pigment. I. Absorbance spectra, localization, and discrimination from other yellow pigments in primate retinas. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1984;25(6):660-673.

56. Ajana S, Weber D, Helmer C, et al. Plasma Concentrations of Lutein and Zeaxanthin, Macular Pigment Optical Density, and Their Associations With Cognitive Performances Among Older Adults. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2018;59(5):1828-1835.

57. Renzi-Hammond LM, Bovier ER, Fletcher LM, et al. Effects of a Lutein and Zeaxanthin Intervention on Cognitive Function: A Randomized, Double-Masked, Placebo-Controlled Trial of Younger Healthy Adults. *Nutrients*. 2017;9(11).

58. Lindbergh CA, Renzi-Hammond LM, Hammond BR, et al. Lutein and Zeaxanthin Influence Brain Function in Older Adults: A Randomized Controlled Trial. *J Int Neuropsychol Soc JINS*. 2018;24(1):77-90.

59. Chew BP, Park JS. Carotenoid action on the immune response. *J Nutr*. 2004;134(1):257S-261S.

60. Cohen K, Liu Y, Luo J, Appleton CM, Colditz GA. Plasma carotenoids and the risk of premalignant breast disease in women aged 50 and younger: a nested case-control study. *Breast Cancer Res Treat*. 2017;162(3):571-580.

61. Kijlstra A, Tian Y, Kelly ER, Berendschot TTJM. Lutein: more than just a filter for blue light. *Prog Retin Eye Res*. 2012;31(4):303-315.

62. Khachik F, Spangler CJ, Smith JC Jr, Canfield LM, Steck A, Pfander H. Identification, quantification, and relative concentrations of carotenoids and their metabolites in human milk and serum. *Anal Chem*. 1997;69(10):1873-1881.

63. Ramkumar HL, Tuo J, Shen DF, et al. Nutrient supplementation with n3 polyunsaturated fatty acids, lutein, and zeaxanthin decrease A2E accumulation and VEGF expression in the retinas of Ccl2/Cx3cr1-deficient mice on Crb1rd8 background. *J Nutr*. 2013;143(7):1129-1135.

64. Howells O, Eperjesi F, Bartlett H. Measuring macular pigment optical density in vivo: a review of techniques. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol*. 2011;249(3):315-347.

65. Creuzot-Garcher C, Koehrer P, Picot C, Aho S, Bron AM. Comparison of two methods to measure macular pigment optical density in healthy subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55(5):2941-2946.

66. Dietzel M, Zeimer M, Heimes B, Pauleikhoff D, Hense H-W. The ringlike structure of macular pigment in age-related maculopathy: results from the Muenster Aging and Retina Study (MARS). *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(11):8016-8024.

67. Kirby ML, Beatty S, Loane E, et al. A central dip in the macular pigment spatial profile is associated with age and smoking. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51(12):6722-6728.

68. Neelam K, Ho H, Yip CC, Li W, Eong K-GA. The Spatial Profile of Macular Pigment in Subjects From a Singapore Chinese PopulationMP Spatial Profile Among Singaporeans. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55(4):2376-2383.

69. Burke JD, Curran-Celentano J, Wenzel AJ. Diet and serum carotenoid concentrations affect macular pigment optical density in adults 45 years and older. *J Nutr*. 2005;135(5):1208-1214.

70. Seddon JM, Ajani UA, Sperduto RD, et al. Dietary carotenoids, vitamins A, C, and E, and advanced age-related macular degeneration. Eye Disease Case-Control Study Group. *JAMA*. 1994;272(18):1413-1420.

71. Wu J, Cho E, Willett WC, Sastry SM, Schaumberg DA. Intakes of Lutein, Zeaxanthin, and Other Carotenoids and Age-Related Macular Degeneration During 2 Decades of Prospective Follow-up. *JAMA Ophthalmol*. 2015;133(12):1415-1424.

72. Age-Related Eye Disease Study Research Group. 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 no. 9. *Arch Ophthalmol Chic Ill 1960*. 2001;119(10):1439-1452.

73. Age-Related Eye Disease Study 2 Research Group. Lutein + zeaxanthin and omega-3 fatty acids for age-related macular degeneration: the Age-Related Eye Disease Study 2 (AREDS2) randomized clinical trial. *JAMA J Am Med Assoc*. 2013;309(19):2005-2015.

74. Age-Related Eye Disease Study 2 (AREDS2) Research Group, Chew EY, Clemons TE, et al. Secondary analyses of the effects of lutein/zeaxanthin on age-related macular degeneration progression: AREDS2 report No. 3. *JAMA Ophthalmol*. 2014;132(2):142-149.

75. Bone RA, Landrum JT. Dose-dependent response of serum lutein and macular pigment optical density to supplementation with lutein esters. *Arch Biochem Biophys*. 2010;504(1):50-55.

76. Huang LL, Coleman HR, Kim J, et al. Oral supplementation of lutein/zeaxanthin and omega-3 long chain polyunsaturated fatty acids in persons aged 60 years or older, with or without AMD. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008;49(9):3864-3869.

77. Johnson EJ, Chung H-Y, Caldarella SM, Snodderly DM. The influence of supplemental lutein and docosahexaenoic acid on serum, lipoproteins, and macular pigmentation. *Am J Clin Nutr*. 2008;87(5):1521-1529.

78. Berendschot TT, Goldbohm RA, Klöpping WA, van de Kraats J, van Norel J, van Norren D. Influence of lutein supplementation on macular pigment, assessed with two objective techniques. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000;41(11):3322-3326.

79. Wenzel AJ, Sheehan JP, Gerweck C, Stringham JM, Fuld K, Curran-Celentano J. Macular pigment optical density at four retinal loci during 120 days of lutein supplementation. *Ophthalmic Physiol Opt J Br Coll Ophthalmic Opt Optom*. 2007;27(4):329-335.

80. Trieschmann M, Beatty S, Nolan JM, et al. Changes in macular pigment optical density and serum concentrations of its constituent carotenoids following supplemental lutein and zeaxanthin: the LUNA study. *Exp Eye Res*. 2007;84(4):718-728.

81. García-Layana A, Recalde S, Alamán AS, Robredo PF. Effects of lutein and docosahexaenoic Acid supplementation on macular pigment optical density in a randomized controlled trial. *Nutrients*. 2013;5(2):543-551.

82. Li B, Ahmed F, Bernstein PS. Studies on the singlet oxygen scavenging mechanism of human macular pigment. *Arch Biochem Biophys*. 2010;504(1):56-60.

83. Hammond CJ, Liew SHM, Van Kuijk FJ, et al. The heritability of macular response to supplemental lutein and zeaxanthin: a classic twin study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53(8):4963-4968.

84. Nolan JM, Kenny R, O'Regan C, et al. Macular pigment optical density in an ageing Irish population: The Irish Longitudinal Study on Ageing. *Ophthalmic Res*. 2010;44(2):131-139.

85. Berendschot TTJM, Willemse-Assink JJM, Bastiaanse M, de Jong PTVM, van Norren D. Macular pigment and melanin in age-related maculopathy in a general population. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2002;43(6):1928-1932.

86. Berendschot TTJM, van Norren D. On the age dependency of the macular pigment optical density. *Exp Eye Res*. 2005;81(5):602-609.

87. Dietzel M, Zeimer M, Heimes B, Claes B, Pauleikhoff D, Hense H-W. Determinants of macular pigment optical density and its relation to age-related maculopathy: results from the Muenster Aging and Retina Study (MARS). *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(6):3452-3457.

88. Jorge LPC, Pereira CEG, Jorge E, de Ávila MP. Macular pigment optical density in a Brazilian sample. *Int J Retina Vitr*. 2018;4:4.

89. Broekmans WMR, Berendschot TTJM, Klöpping-Ketelaars IAA, et al. Macular pigment density in relation to serum and adipose tissue concentrations of lutein and serum concentrations of zeaxanthin. *Am J Clin Nutr*. 2002;76(3):595-603.

90. Yu J, Johnson EJ, Shang F, et al. Measurement of macular pigment optical density in a healthy Chinese population sample. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53(4):2106-2111.

91. Howells O, Eperjesi F, Bartlett H. Macular pigment optical density in young adults of South Asian origin. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013;54(4):2711-2719.

92. Murray IJ, Hassanali B, Carden D. Macular pigment in ophthalmic practice; a survey. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol*. 2013;251(10):2355-2362.

93. Liew SHM, Gilbert CE, Spector TD, et al. Heritability of macular pigment: a twin study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2005;46(12):4430-4436.

94. Wolf-Schnurrbusch UEK, Röösli N, Weyermann E, Heldner MR, Höhne K, Wolf S. Ethnic differences in macular pigment density and distribution. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007;48(8):3783-3787.

95. Hammond BR, Caruso-Avery M. Macular pigment optical density in a Southwestern sample. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000;41(6):1492-1497.

96. Hammond BR, Ciulla TA, Snodderly DM. Macular pigment density is reduced in obese subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2002;43(1):47-50.

97. Bovier ER, Lewis RD, Hammond BR. The relationship between lutein and zeaxanthin status and body fat. *Nutrients*. 2013;5(3):750-757.

98. Scanlon G, Connell P, Ratzlaff M, et al. MACULAR PIGMENT OPTICAL DENSITY IS LOWER IN TYPE 2 DIABETES, COMPARED WITH TYPE 1 DIABETES AND NORMAL CONTROLS. *Retina Phila Pa*. 2015;35(9):1808-1816.

99. Lima VC, Rosen RB, Maia M, et al. Macular pigment optical density measured by dual-wavelength autofluorescence imaging in diabetic and nondiabetic patients: a comparative study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51(11):5840-5845.

100. Renzi LM, Hammond BR Jr, Dengler M, Roberts R. The relation between serum lipids and lutein and zeaxanthin in the serum and retina: results from cross-sectional, case-control and case study designs. *Lipids Health Dis*. 2012;11:33.

101. Meyers KJ, Johnson EJ, Bernstein PS, et al. Genetic determinants of macular pigments in women of the Carotenoids in Age-Related Eye Disease Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013;54(3):2333-2345.

102. Yonova-Doing E, Hysi PG, Venturini C, et al. Candidate gene study of macular response to supplemental lutein and zeaxanthin. *Exp Eye Res*. 2013;115(100):172-177.

103. Feigl B, Morris CP, Voisey J, Kwan A, Zele AJ. The Relationship between BCMO1 Gene Variants and Macular Pigment Optical Density in Persons with and without Age-Related Macular Degeneration. *PloS One*. 2014;9(2):e89069.

104. 3C Study Group. Vascular factors and risk of dementia: design of the Three-City Study and baseline characteristics of the study population. *Neuroepidemiology*. 2003;22(6):316-325.

105. Creuzot-Garcher C, Binquet C, Daniel S, et al. The Montrachet Study: study design, methodology and analysis of visual acuity and refractive errors in an elderly population. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 2016;94(2):e90-97.

106. Ishida BK, Chapman MH. Effects of a hydrodynamic process on extraction of carotenoids from tomato. *Food Chem*. 2012;132(3):1156-1160.

107. Howe JA, Tanumihardjo SA. Evaluation of analytical methods for carotenoid extraction from biofortified maize (Zea mays sp.). *J Agric Food Chem*. 2006;54(21):7992-7997.

108. Murillo E, Giuffrida D, Menchaca D, et al. Native carotenoids composition of some tropical fruits. *Food Chem*. 2013;140(4):825-836. doi:10.1016/j.foodchem.2012.11.014

109. Irakli MN, Samanidou VF, Papadoyannis IN. Development and validation of an HPLC method for the simultaneous determination of tocopherols, tocotrienols and carotenoids in cereals after solid-phase extraction. *J Sep Sci*. 2011;34(12):1375-1382.

110. Review of methods for analysis of carotenoids. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165993614000193. Accessed March 24, 2014.

111. Matsubara A, Uchikata T, Shinohara M, et al. Highly sensitive and rapid profiling method for carotenoids and their epoxidized products using supercritical fluid chromatography coupled with electrospray ionization-triple quadrupole mass spectrometry. *J Biosci Bioeng*. 2012;113(6):782-787.

112. Moilanen T, Nikkari T. The effect of storage on the fatty acid composition of human serum. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 1981;114(1):111-116.

113. Morrison WR, Smith LM. PREPARATION OF FATTY ACID METHYL ESTERS AND DIMETHYLACETALS FROM LIPIDS WITH BORON FLUORIDE--METHANOL. *J Lipid Res*. 1964;5:600-608.

114. Delori FC. Autofluorescence method to measure macular pigment optical densities fluorometry and autofluorescence imaging. *Arch Biochem Biophys*. 2004;430(2):156-162.

115. Delori FC, Goger DG, Hammond BR, Snodderly DM, Burns SA. Macular pigment density measured by autofluorescence spectrometry: comparison with reflectometry and heterochromatic flicker photometry. *J Opt Soc Am A Opt Image Sci Vis*. 2001;18(6):1212-1230.

116. Delori FC. Spectrophotometer for noninvasive measurement of intrinsic fluorescence and reflectance of the ocular fundus. *Appl Opt*. 1994;33(31):7439-7452.

117. Sasamoto Y, Gomi F, Sawa M, Tsujikawa M, Hamasaki T. Macular pigment optical density in central serous chorioretinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51(10):5219-5225.

118. Trieschmann M, Heimes B, Hense HW, Pauleikhoff D. Macular pigment optical density measurement in autofluorescence imaging: comparison of one- and two-wavelength methods. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol*. 2006;244(12):1565-1574.

119. Wüstemeyer H, Moessner A, Jahn C, Wolf S. Macular pigment density in healthy subjects quantified with a modified confocal scanning laser ophthalmoscope. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol*. 2003;241(8):647-651.

120. Robson AG, Moreland JD, Pauleikhoff D, et al. Macular pigment density and distribution: comparison of fundus autofluorescence with minimum motion photometry. *Vision Res*. 2003;43(16):1765-1775.

121. Zeimer M, Dietzel M, Hense HW, Heimes B, Austermann U, Pauleikhoff D. Profiles of macular pigment optical density and their changes following supplemental lutein and zeaxanthin: new results from the LUNA study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53(8):4852-4859.

122. Delyfer M-N, Buaud B, Korobelnik J-F, et al. Association of macular pigment density with plasma ω-3 fatty acids: the PIMAVOSA study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53(3):1204-1210.

123. Mares JA, LaRowe TL, Snodderly DM, et al. Predictors of optical density of lutein and zeaxanthin in retinas of older women in the Carotenoids in Age-Related Eye Disease Study, an ancillary study of the Women's Health Initiative. *Am J Clin Nutr*. 2006;84(5):1107-1122.

124. Âge moyen et âge médian de la population en 2018 | Insee. https://www.insee.fr/fr/statistiques/2381476. Accessed July 9, 2018.

125. Pipis A, Touliou E, Augustin AJ. Macular pigment optical density in a Central European population. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina*. 2013;44(3):260-267.

126. Abell RG, Hewitt AW, Andric M, Allen PL, Verma N. The use of heterochromatic flicker photometry to determine macular pigment optical density in a healthy Australian population. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol*. 2014;252(3):417-421.

127. Delori FC, Goger DG, Keilhauer C, Salvetti P, Staurenghi G. Bimodal spatial distribution of macular pigment: evidence of a gender relationship. *J Opt Soc Am A Opt Image Sci Vis*. 2006;23(3):521-538.

128. Nolan JM, Akkali MC, Loughman J, Howard AN, Beatty S. Macular carotenoid supplementation in subjects with atypical spatial profiles of macular pigment. *Exp Eye Res*. 2012;101:9-15. doi:10.1016/j.exer.2012.05.006

129. Connolly EE, Beatty S, Thurnham DI, et al. Augmentation of macular pigment following supplementation with all three macular carotenoids: an exploratory study. *Curr Eye Res*. 2010;35(4):335-351.

130. Schaumberg DA, Sullivan DA, Buring JE, Dana MR. Prevalence of dry eye syndrome among US women. *Am J Ophthalmol*. 2003;136(2):318-326.

131. Schein OD, Muñoz B, Tielsch JM, Bandeen-Roche K, West S. Prevalence of dry eye among the elderly. *Am J Ophthalmol*. 1997;124(6):723-728.

132. Moss SE, Klein R, Klein BE. Prevalence of and risk factors for dry eye syndrome. *Arch Ophthalmol Chic Ill 1960*. 2000;118(9):1264-1268.

133. Malet F, Le Goff M, Colin J, et al. Dry eye disease in French elderly subjects: the Alienor Study. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 2014;92(6):e429-436.

134. Johnson ME. The association between symptoms of discomfort and signs in dry eye. *Ocul Surf*. 2009;7(4):199-211.

135. Nichols KK, Nichols JJ, Mitchell GL. The lack of association between signs and symptoms in patients with dry eye disease. *Cornea*. 2004;23(8):762-770.

136. Aragona P, Bucolo C, Spinella R, Giuffrida S, Ferreri G. Systemic omega-6 essential fatty acid treatment and pge1 tear content in Sjögren's syndrome patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2005;46(12):4474-4479.

137. Barabino S, Horwath-Winter J, Messmer EM, Rolando M, Aragona P, Kinoshita S. The role of systemic and topical fatty acids for dry eye treatment. *Prog Retin Eye Res*. May 2017.

138. Fortier M, Tremblay-Mercier J, Plourde M, et al. Higher plasma n-3 fatty acid status in the moderately healthy elderly in southern Québec: higher fish intake or aging-related change in n-3 fatty acid metabolism? *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2010;82(4-6):277-280.

139. Tiemeier H, van Tuijl HR, Hofman A, Kiliaan AJ, Breteler MMB. Plasma fatty acid composition and depression are associated in the elderly: the Rotterdam Study. *Am J Clin Nutr*. 2003;78(1):40-46.

140. Ciulla TA, Curran-Celantano J, Cooper DA, et al. Macular pigment optical density in a midwestern sample. *Ophthalmology*. 2001;108(4):730-737.

141. Iannaccone A, Mura M, Gallaher KT, et al. Macular Pigment Optical Density in the Elderly: Findings in a Large Biracial Midsouth Population Sample. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007;48(4):1458-1465.

142. Klein R, Cruickshanks KJ, Nash SD, et al. The prevalence of age-related macular degeneration and associated risk factors. *Arch Ophthalmol Chic Ill 1960*. 2010;128(6):750-758.

143. Fraser-Bell S, Wu J, Klein R, Azen SP, Varma R. Smoking, alcohol intake, estrogen use, and age-related macular degeneration in Latinos: the Los Angeles Latino Eye Study. *Am J Ophthalmol*. 2006;141(1):79-87.

144. Adams MKM, Chong EW, Williamson E, et al. 20/20--Alcohol and age-related macular degeneration: the Melbourne Collaborative Cohort Study. *Am J Epidemiol*. 2012;176(4):289-298.

145. Berendschot TTJM, van Norren D. Macular pigment shows ringlike structures. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47(2):709-714.

146. Khan JC, Shahid H, Thurlby DA, et al. Age related macular degeneration and sun exposure, iris colour, and skin sensitivity to sunlight. *Br J Ophthalmol*. 2006;90(1):29-32.

147. Mitchell P, Smith W, Wang JJ. Iris color, skin sun sensitivity, and age-related maculopathy. The Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology*. 1998;105(8):1359-1363.

148. Pham TQ, Rochtchina E, Mitchell P, Smith W, Wang JJ. Sunlight-related factors and the 10-year incidence of age-related maculopathy. *Ophthalmic Epidemiol*. 2009;16(2):136-141.

149. Meyer zu Westrup V, Dietzel M, Pauleikhoff D, Hense H-W. The association of retinal structure and macular pigment distribution. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55(2):1169-1175.

150. Delcourt C, Cougnard-Grégoire A, Boniol M, et al. Lifetime exposure to ambient ultraviolet radiation and the risk for cataract extraction and age-related macular degeneration: the Alienor Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55(11):7619-7627.

151. Klein BEK, Howard KP, Iyengar SK, et al. Sunlight exposure, pigmentation, and incident age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55(9):5855-5861.

152. Schick T, Ersoy L, Lechanteur YTE, et al. HISTORY OF SUNLIGHT EXPOSURE IS A RISK FACTOR FOR AGE-RELATED MACULAR DEGENERATION. *Retina Phila Pa*. 2016;36(4):787-790.

153. Hammond BR, Fuld K, Snodderly DM. Iris color and macular pigment optical density. *Exp Eye Res*. 1996;62(3):293-297.

154. Liu Y, Kam WR, Sullivan DA. Influence of Omega 3 and 6 Fatty Acids on Human Meibomian Gland Epithelial Cells. *Cornea*. 2016;35(8):1122-1126.

155. Fernández-Real J-M, Broch M, Vendrell J, Ricart W. Insulin resistance, inflammation, and serum fatty acid composition. *Diabetes Care*. 2003;26(5):1362-1368.

156. Perreault M, Roke K, Badawi A, et al. Plasma levels of 14:0, 16:0, 16:1n-7, and 20:3n-6 are positively associated, but 18:0 and 18:2n-6 are inversely associated with markers of inflammation in young healthy adults. *Lipids*. 2014;49(3):255-263. d

157. Baugé C, Lhuissier E, Girard N, Quesnelle C, Ewert G, Boumediene K. Anti-inflammatory effects of an injectable copolymer of fatty acids (Ara 3000 beta®) in joint diseases. *J Inflamm Lond Engl*. 2015;12:17.

158. Stern ME, Pflugfelder SC. Inflammation in dry eye. *Ocul Surf*. 2004;2(2):124-130.

159. Levin G, Duffin KL, Obukowicz MG, et al. Differential metabolism of dihomo-gamma-linolenic acid and arachidonic acid by cyclo-oxygenase-1 and cyclo-oxygenase-2: implications for cellular synthesis of prostaglandin E1 and prostaglandin E2. *Biochem J*. 2002;365(Pt 2):489-496.

160. Sprecher H. Biochemistry of essential fatty acids. *Prog Lipid Res*. 1981;20:13-22.

161. Weylandt K-H. Docosapentaenoic acid derived metabolites and mediators – The new world of lipid mediator medicine in a nutshell. *Eur J Pharmacol*. 2016;785:108-115.

ANNEXES

Annexe1 :

Le tableau complémentaire de l'Association entre les teneurs plasmatiques de lutéine, zéaxanthine, alimentation et densité optique du pigment maculaire et sa distribution spatiale chez 140 participants âgés sans lésions maculaires : étude Montrachet.

Table S1. Comparison of participants and non participants characteristics in the Montrachet healthy study.

	Nonparticipants	Participants	
	n=1013	n=140	P-value
Age, y			
≤80	352 (34.75)	48 (34.29)	
80-85	427 (42.15)	59 (42.14)	0.99
>85	234 (23.10)	33 (23.57)	
Sex			
Male	388 (38.30)	42 (30.00)	0.057
Female	625 (61.70)	98 (70.00)	
BMI, kg/m²			
<25	514 (50.74)	84 (60.00)	**0.039**
≥25	499 (49.26)	56 (40.00)	
Smoking status			
Never	648 (65.06)	95 (69.34)	0.322
Current or past	348 (34.94)	42 (30.66)	
Alcohol consumption			
Never	835(82.43)	112 (80.00)	0.482
Current or past	178 (17.57)	28 (20.00)	
Educational level			
No education or primary school	286 (28.26)	38 (27.14)	
Short secondary school	137 (13.54)	23 (16.43)	0.511
Long secondary school	178 (17.59)	29 (20.71)	
High school or university	411 (40.59)	50 (35.71)	
Iris Color			
Blue	419 (41.36)	46 (32.86)	
Green	311 (30.70)	49 (35.00)	0.152
Dark	283 (27.94)	45 (32.14)	
Sunlight protection			
Never	110 (10.90)	5 (3.60)	
Occasionnaly	226 (22.40)	32 (23.02)	**0.015**
Often	673 (66.70)	102 (73.38)	

Les tableaux complémentaires de l'Association entre les teneurs plasmatiques de lutéine, zéaxanthine, alimentation et densité optique du pigment maculaire dans une population âgée : étude Montrachet.

Table S1. Plasma xantophylls and macular pigment optical density according to the consumption of food items rich in lutein and/or zeaxanthin.

	Lutein		**Zeaxanthin**		**MPOD 0.5°**	
	β (SE)	***P*-value**	**β (SE)**	***P*-value**	**β (SE)**	***P*-value**
Cabbage						
1 and 3 times/month *vs* never	0.036 (0.033)	0.28	0.001 (0.031)	0.97	-0.038 (0.028)	0.17
1 and 3 times/week *vs* never	-0.023 (0.041)	0.57	-0.025 (0.039)	0.53	-0.048 (0.035)	0.17
Spinach						
1 and 3 times/month *vs* never	0.049 (0.032)	0.13	-0.048 (0.030)	0.12	-0.029 (0.027)	0.39
1 and 3 times/week *vs* never	0.041 (0.047)	0.38	-0.010 (0.045)	0.81	-0.006 (0.040)	0.88
Squash						
1 and 3 times/month *vs* never	0.042 (0.039)	0.29	0.051 (0.038)	0.18	0.040 (0.034)	0.25
1 and 3 times/week vs never	0.102 (0.032)	**0.009**	0.099 (0.037)	**0.007**	0.025 (0.033)	0.44
Broccoli						
1 and 3 times/month *vs* never	0.063 (0.032)	**0.049**	-0.046 (0.030)	0.13	-0.008 (0.027)	0.76
1 and 3 times/week *vs* never	0.042 (0.040)	0.29	0.060 (0.038)	**0.084**	-0.024 (0.034)	0.48
Eggs						
1 and 3 times/month *vs* never	0.022 (0.077)	0.79	-0.012(0.079)	0.88	0.045(0.070)	0.52
1 and 3 times/week *vs* never	0.040 (0.038)	0.60	-0.016(0.073)	0.82	0.084(0.065)	0.19
Green beans						
1 and 3 times/month *vs* never	0.155 (0.084)	**0.055**	0.066 (0.077)	0.39	0.044 (0.069)	0.52
1 and 3 times/week *vs* never	0.138 (0.079)	**0.083**	0.052 (0.076)	0.49	0.027 (0.068)	0.68
Peas						
1 and 3 times/month *vs* never	0.050 (0.037)	0.18	-0.015 (0.036)	0.66	0.014 (0.032)	0.65
1 and 3 times/week *vs* never	0.030 (0.043)	0.48	-0.026 (0.041)	0.53	-0.017 (0.037)	0.65
Maize						
1 and 3 times/month *vs* never	0.030 (0.048)	0.53	0.020 (0.045)	0.65	0.054 (0.041)	0.18
1 and 3 times/week *vs* never	0.112 (0.069)	0.10	0.144 (0.069)	**0.027**	-0.017 (0.058)	0.77
Vegetables mixture						
1 and 3 times/month *vs* never	0.039 (0.040)	0.32	0.017 (0.038)	0.65	-0.043 (0.034)	0.20
1 and 3 times/week *vs* never	0.011 (0.041)	0.78	0.013 (0.039)	0.73	-0.041 (0.035)	0.24
Green vegetables						
1 and 3 times/month *vs* never	-0.0006 (0.042)	0.99	-0.041 (0.039)	0.29	-0.008 (0.035)	0.81
1 and 3 times/week *vs* never	0.093 (0.064)	0.15	0.103 (0.061)	**0.093**	-0.003 (0.055)	0.95

MPOD: Macular Pigment Optical Density

Table S2. Correlations between macular pigment optical density plasma xanthophylls and lipids.

	MPOD 0.5° r* (*P*-value)	Lutein r* (*P*-value)	Zeaxanthin r* (*P*-value)
Lutein (µg/L)	0.103 (**0.030**)	-	0.62 (**<0.001**)
Zeaxanthin (µg/L)	0.106 (**0.027**)	0.62 (**<0.001**)	-
Total cholesterol (mmol/L)	0.041 (0.33)	0.19 (**<0.001**)	0.14 (**0.003**)
LDL (mmol/L)	0.022 (0.65)	0.11 (**0.015**)	0.10 (**0.030**)
HDL (mmol/L)	0.077 (0.11)	0.20 (**<0.001**)	0.15 (**<0.001**)
PUFA (%)[b]	0.016 (0.73)	0.20 (**<0.001**)	0.14 (**0.003**)
Long-chain omega-3 PUFAs (%)*	-0.036 (0.46)	0.30 (**<0.001**)	0.15 (**0.002**)
Long-chain omega-6 PUFAs (%)*	0.027 (0.57)	0.12 (**0.014**)	0.10 (**0.026**)
Omega-6/omega-3 (%)[b]	0.030 (0.45)	-0.20 (**<0.001**)	-0.10 (0.055)

MPOD: Macular Pigment Optical Density

PUFAs: Polyunsaturated Fatty Acids

* Correlation coefficients (Pearson or Spearman depending on variable distribution)

† Missing data for PUFA, ω3 and ω6 : n = 9

Annexe 2 : Les tableaux complémentaires de la Distribution spatiale du pigment maculaire dans une population âgée Française : Etude Montrachet

Table S1: Comparison of Participant and Nonparticipant Characteristics in the evaluation of Spatial Distribution of Macular Pigment in the Montrachet Study

	Participants *n = 635*	**Nonparticipants** *n = 518*	***P***
Age, y			
<=80	230 (36.22)	170 (32.82)	
80-85	270 (42.52)	216 (41.70)	0.202
>85	135 (21.26)	132 (25.48)	
Gender			
Male	246 (38.74)	184 (35.52)	0.260
Female	389 (61.26)	334 (64.48)	
Smoking status*			
Never	405 (64.90)	338 (66.40)	0.596
Current or past	219 (35.10)	171 (33.66)	
Alcohol consumption			
Never	183 (28.82)	165 (31.85)	0.264
Current or past	452 (71.18)	353 (68.15)	
BMI, kg/m²			
<25	262 (41.26)	202 (39.0)	0.435
≥25	373 (58.74)	316 (61.0)	
Sun protection*			
Never	65 (10.27)	50 (9.71)	
Occasionally	133 (21.01)	125 (24.27)	0.419
Often	435 (68.72)	340 (66.02)	
Lens status*			
Phakic	288 (45.35)	293 (57.12)	**<0.0001**
Pseudophakic	347 (54.65)	220 (42.88)	
Iris color			
Blue/grey	255 (40.16)	210 (40.54)	**0.0457**
Green/hazel	215 (33.86)	145(27.99)	
Brown/black	165 (25.98)	163 (31.47)	
Central retinal thickness, µm	285.0 [268.0–305.0]	283.0 [266.0–306.0]	0.412
Early AMD stage*			
0	335 (55.93)	264 (44.07)	
1	214 (35.43)	134 (28.82)	**<0.0001**
2	46 (7.62)	36 (7.74)	
3	9 (1.49)	31 (6.67)	
LZ supplementation			
No	601 (94.36)	487 (94.02)	0.644

Yes	34 (5.35)	21 (5.98)

*: missing data for smoking status (*n*=20), lens status (*n*=5), sun protection (*n*=5), AMD stage (*n*=84)

Table S2. Model with Adjustment for Macular Pigment Optical Density at 0.5 and 2° in the Montrachet Study

	Macular Pigment Optical Density Profile			
Versus no-ring pattern	**Intermediate**		**Ringlike**	
	OR (95%CI)	***P*-value**	**OR (95%CI)**	***P*-value**
Sun protection				
Never vs often	0.58 (0.21–1.58)	0.294	0.68 (0.25–1.88	0.465
Occasionally vs often	0.74 (0.29–1.85)	0.524	0.38 (0.15–0.95)	**0.038**
Iris color				
Green vs blue	0.68 (0.37–1.23)	0.207	1.08 (0.66–1.79)	0.74
Brown vs blue	1.22 (0.60–2.47)	0.035	2.07 (1.12–3.80)	**0.019**
Central retinal thickness, µm	0.98 (0.97–0.99)	0.008	0.97 (0.96–0.98)	**<0.0001**
MPOD at 2°	7.12 (1.13–44.61)	**0.035**	7.26 (1.59–34.72)	**0.013**

	Macular Pigment Optical Density Profile			
Versus no-ring pattern	**Intermediate**		**Ringlike**	
	OR (95%CI)	***P*-value**	**OR (95%CI)**	***P*-value**
Sun protection				
Never vs often	0.55 (0.20–1.48)	0.24	0.60 (0.21–1,66)	0.329
Occasionally vs often	0.71 (0.28–1.78)	0.47	0.35 (0.14–0.87)	**0.025**
Iris color				
Green vs blue	0.69 (0.38–1.25)	0.222	1.08 (0.65–1.77)	0.762
Brown vs blue	1.25 (0.62–2.53)	0.533	2.17 (1.17–4.01)	**0.013**
Central retinal thickness, µm	0.98 (0.97–0.99)	0.006	0.97 (0.96–0.98)	**<0.0001**
MPOD at 0.5°	0.83 (0.30–2.72)	0.723	0.26 (0.11–0.64)	**0.003**

Table S3: Comparison of Participant and Nonparticipant Characteristics According to Carotenoid Data

	Participants with carotenoid data *n = 441*	**Participants without carotenoid data** *n = 194*	***P***
Age, y			
<=80	162 (36.73)	68 (35.05)	
80-85	190 (43.08)	80 (41.724)	0.606
>85	89 (20.20)	46 (23.71)	
Gender			
Male	166 (37.64)	80 (41.24)	0.391
Female	275 (62.36)	114 (58.76)	
Smoking status*			
Never	280 (64.52)	125 (65.79)	0.759
Current or past	154 (35.48)	65 (34.21)	
Alcohol consumption			
Never	133 (30.16)	50 (25.77)	0.261
Current or past	308 (69.84)	144 (74.23)	
BMI, kg/m²			
<25	201 (45.58)	74 (38.14)	0.435
≥25	240 (54.42)	120 (61.86)	
Sun protection*			
Never	51 (11.52)	14 (7.25)	
Occasionally	88 (20.00)	45 (23.32)	0.203
Often	301 (68.41)	134 (69.43)	
Lens status*			
Phakic	194 (43.99)	94 (48.45)	0.298
Pseudophakic	247 (56.01)	100 (51.55)	
Iris color			
Blue/grey	186 (42.18)	69 (42.18)	0.257
Green/hazel	142 (32.20)	73 (37.63)	
Brown/black	113 (25.62)	52 (26.80)	
Central retinal thickness, µm	286.0 [267.0–305.0]	285.0 [271.0–305.0]	0.554
Early AMD stage			
0	236 (55.92)	99 (54.40)	
1	145 (34.36)	69 (37.91)	0.706
2	35 (8.29)	11 (6.04)	
3	96 (1.42)	3 (1.65)	
LZ supplementation			
No	416 (94.33)	185 (95.36)	0.595
Yes	25 (5.67)	9 (4.64)	

*: missing data for smoking status (*n*=11), sun protection (*n*=2), AMD stage (*n*=31)

Annexe 3 : Questionnaire de fréquence de consommation alimentaire dans l'étude Montrachet

« Etude 3C - Ophtalmologie »

AUTO QUESTIONNAIRE

Initiales du patient : |__|__| / |__| N° d'inclusion : |__|__|__|__|__|__|
(Deux 1ères lettres du nom et 1ère lettre du prénom)

Sexe : Masculin ☐*(1)* Féminin ☐*(2)*

Promoteur
CHU DE DIJON
Direction de la Recherche et de l'Innovation
2, Bd Mal de Lattre de Tassigny
BP77908
21079 DIJON Cedex
Tel : 03.80.29.50.13
Fax : 03.80.29.36.90

Investigateur
Pr Catherine CREUZOT GARCHER
CHU DE DIJON
Service d'Ophtalmologie
21079 DIJON Cedex
Tel : 03.80.29.51.73
Fax : 03.80.29.35.89

T A B A C E T E X P O S I T I O N S

Fumez-vous ou avez-vous fumé ?

☐*(1)* N'a jamais fumé
☐*(2)* A fumé régulièrement dans le passé mais a arrêté depuis au moins 6 mois (ex fumeur)
A quel âge avez-vous arrêté ? |__|__| ans

☐*(3)* Fume régulièrement actuellement ou a arrêté depuis moins de 6 mois
☐*(9)* Ne sait pas

Si vous êtes fumeur, combien fumez-vous actuellement ?

- Nombre de cigarettes par jour : |__|__|
- Nombre de cigares par jour : |__|__|
- Nombre de pipes par jour : |__|__|

<u>Pendant l'adolescence (13-19 ans)</u>

En été, combien d'heures par jour passiez-vous en plein air (en moyenne) ?

☐*(0)* Moins de 2 heures par jour ☐*(1)* De 2 à 5 heures par jour
☐*(2)* Plus de 5 heures par jour ☐*(9)* Ne sait pas

Vous protégiez-vous du soleil (chapeau, lunettes de soleil) ?

☐*(0)* Jamais ou rarement ☐*(1)* De temps en temps
☐*(2)* Souvent ☐*(9)* Ne sait pas

<u>Entre 30 et 39 ans</u>

En été, combien d'heures par jour passiez-vous en plein air (en moyenne) ?

☐*(0)* Moins de 2 heures par jour ☐*(1)* De 2 à 5 heures par jour
☐*(2)* Plus de 5 heures par jour ☐*(9)* Ne sait pas

Vous protégiez-vous du soleil (chapeau, lunettes de soleil) ?

☐*(0)* Jamais ou rarement ☐*(1)* De temps en temps
☐*(2)* Souvent ☐*(9)* Ne sait pas

<u>Actuellement</u>

En été, combien d'heures par jour passez-vous en plein air (en moyenne) ?

☐*(0)* Moins de 2 heures par jour ☐*(1)* De 2 à 5 heures par jour
☐*(2)* Plus de 5 heures par jour ☐*(9)* Ne sait pas

Vous protégez-vous du soleil (chapeau, lunettes de soleil) ?

☐*(0)* Jamais ou rarement ☐*(1)* De temps en temps
☐*(2)* Souvent ☐*(9)* Ne sait pas

Combien d'heure par jour regardez-vous la télévision ? |__|__| heures/jour

Combien d'heure par jour utilisez-vous un ordinateur ? |__|__| heures/jour

P R O B L E M E S O C U L A I R E S

La semaine passée, avez-vous eu les problèmes suivants ?
(Pour chaque ligne, cochez la case correspondant à votre réponse)

	Tout le temps	La plupart du temps	La moitié du temps	De temps en temps	Jamais
Sensibilité à la lumière	☐*(4)*	☐*(3)*	☐*(2)*	☐*(1)*	☐*(0)*
Sensation de sable dans les yeux	☐*(4)*	☐*(3)*	☐*(2)*	☐*(1)*	☐*(0)*
Douleur ou irritation au niveau des yeux	☐*(4)*	☐*(3)*	☐*(2)*	☐*(1)*	☐*(0)*
Vision trouble	☐*(4)*	☐*(3)*	☐*(2)*	☐*(1)*	☐*(0)*
Mauvaise vision	☐*(4)*	☐*(3)*	☐*(2)*	☐*(1)*	☐*(0)*

La semaine passée, les problèmes que vous aviez aux yeux vous ont-ils gêné(e) pour ?
(Pour chaque ligne, cochez la case correspondant à votre réponse)

	Tout le temps	La plupart du temps	La moitié du temps	De temps en temps	Jamais	Non Applicable
Lire	☐*(4)*	☐*(3)*	☐*(2)*	☐*(1)*	☐*(0)*	☐*(8)*
Conduire la nuit	☐*(4)*	☐*(3)*	☐*(2)*	☐*(1)*	☐*(0)*	☐*(8)*
Utiliser un ordinateur ou un distributeur automatique de billets	☐*(4)*	☐*(3)*	☐*(2)*	☐*(1)*	☐*(0)*	☐*(8)*
Regarder la télévision	☐*(4)*	☐*(3)*	☐*(2)*	☐*(1)*	☐*(0)*	☐*(8)*

La semaine passée, avez-vous eu une sensation désagréable au niveau des yeux ?
(Pour chaque ligne, cochez la case correspondant à votre réponse)

	Tout le temps	La plupart du temps	La moitié du temps	De temps en temps	Jamais	Non Applicable
Quand il y avait du vent	☐*(4)*	☐*(3)*	☐*(2)*	☐*(1)*	☐*(0)*	☐*(8)*
Quand vous étiez dans un endroit peu humide (air très sec)	☐*(4)*	☐*(3)*	☐*(2)*	☐*(1)*	☐*(0)*	☐*(8)*
Quand vous étiez dans un endroit climatisé	☐*(4)*	☐*(3)*	☐*(2)*	☐*(1)*	☐*(0)*	☐*(8)*

CHU de Dijon	Initiales Patient	N° Inclusion
Version du 26/10/2009	|__|__| / |__|	|__|__|__|__|__|

F R E Q U E N C E D E C O N S O M M A T I O N A L I M E N T A I R E

Au Réveil

Combien de fois par jour prenez-vous ?

	Jamais ou < 1 fois par mois	Nombre de fois par **mois**			Nombre de fois par **semaine**						
		1	2	3	1	2	3	4	5	6	7
Jus de fruits frais ou pur jus de commerce	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Fruits	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Compote	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Café	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Café décaféiné	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Thé	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*

Repas de midi

A l'occasion du déjeuner, que mangez-vous ?

	Jamais ou < 1 fois par mois	Nombre de fois par **mois**			Nombre de fois par **semaine**						
		1	2	3	1	2	3	4	5	6	7
Soupe	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Salade	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Crudités (légumes crus en vinaigrette ou non)	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Viande (bœuf, veau, agneau, porc, jambon)	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Volaille	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Abats	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Poisson (y compris en conserve)	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Poissons le plus fréquemment consommés : …..											
Crustacés ou fruits de mer	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Légumes verts cuits (épinard, chou, brocolis, petits pois, haricots verts, courgettes…)	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Autres légumes cuits (carottes, tomates, chou-fleur, poivrons…)	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Pommes de terre	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Autres féculents (riz, pâtes, semoule, blé)	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Légumes secs	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Fruits	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Compote	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*

A l'occasion du déjeuner, buvez-vous ?

	Jamais ou < 1 fois par mois	Nombre de fois par **mois**			Nombre de fois par **semaine**						
		1	2	3	1	2	3	4	5	6	7
Jus de fruits frais ou pur jus du commerce	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Café	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Café décaféiné	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Thé	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*

<u>Repas du soir</u>

A l'occasion du dîner, que mangez-vous ?

	Jamais ou < 1 fois par mois	Nombre de fois par **mois**			Nombre de fois par **semaine**						
		1	2	3	1	2	3	4	5	6	7
Soupe	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Salade	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Crudités (légumes crus en vinaigrette ou non)	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Viande (bœuf, veau,agneau, porc, lapin, jambon)	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Volaille	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Abats	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Poisson (y compris en conserve)	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Poisson les plus fréquemment consommés : ……..											
Crustacés ou fruits de mer	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Légumes verts cuits (épinards, chou, brocolis, petits pois, haricots verts, courgettes)	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Autres légumes cuits (carottes, tomates, chou-fleur, poivrons…)	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Pommes de terre	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Autres féculents (riz, pâtes, semoule, blé)	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Légumes secs	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Fruits	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*

Compote	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*

A l'occasion du dîner, buvez-vous ?

	Jamais ou < 1 fois par mois	Nombre de fois par **mois**			Nombre de fois par **semaine**						
		1	2	3	1	2	3	4	5	6	7
Jus de fruits frais ou pur jus du commerce	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Café	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Café décaféiné	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Thé	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*

<u>En dehors des repas principaux</u>

- <u>Entre le petit déjeuner et le repas de midi</u>

Entre le petit déjeuner et le repas de midi, que mangez-vous ?

	Jamais ou < 1 fois par mois	Nombre de fois par **mois**			Nombre de fois par **semaine**						
		1	2	3	1	2	3	4	5	6	7
Fruits	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Compote	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Fruits secs (noix, noisettes, amandes, …)	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*

Entre le petit déjeuner et le repas de midi, buvez-vous ?

	Jamais ou < 1 fois par mois	Nombre de fois par **mois**			Nombre de fois par **semaine**						
		1	2	3	1	2	3	4	5	6	7
Jus de fruits frais ou pur jus du commerce	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Café	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Café décaféiné	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Thé	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*

- Entre le repas de midi et le repas du soir

Entre le repas de midi et le repas du soir, que mangez-vous ?

	Jamais ou < 1 fois par mois	Nombre de fois par **mois**			Nombre de fois par **semaine**						
		1	2	3	1	2	3	4	5	6	7
Fruits	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Compote	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Fruits secs (noix, noisettes, amandes, …)	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*

Entre le repas de midi et le repas du soir, buvez-vous ?

	Jamais ou < 1 fois par mois	Nombre de fois par **mois**			Nombre de fois par **semaine**						
		1	2	3	1	2	3	4	5	6	7
Jus de fruits frais ou pur jus du commerce	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Café	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Café décaféiné	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Thé	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*

- Après le repas du soir ou la nuit

Après le repas du soir ou la nuit, mangez-vous ?

	Jamais ou < 1 fois par mois	Nombre de fois par **mois**			Nombre de fois par **semaine**						
		1	2	3	1	2	3	4	5	6	7
Fruits	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Compote	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Fruits secs (noix, noisettes, amandes, …)	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*

Après le repas du soir ou la nuit, buvez-vous ?

	Jamais ou < 1 fois par mois	Nombre de fois par **mois**			Nombre de fois par **semaine**						
		1	2	3	1	2	3	4	5	6	7
Jus de fruits frais ou pur jus du commerce	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Café	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Café décaféiné	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Thé	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*

Au cours de l'année écoulée, à quelle fréquence en moyenne avez-vous consommé les aliments suivants ?

- *Si vous ne consommez jamais ou très rarement l'aliment considéré, cochez la case située dans la colonne « jamais »*
- *Si vous consommez régulièrement l'aliment, mais moins d'une fois par semaine, cochez la case appropriée, dans la colonne « nombre de fois par mois »*
- *Si vous consommez l'aliment au moins une fois par semaine, mais moins d'une fois par jour, cochez la case appropriée dans la colonne « nombre de fois par semaine »*
- *Si vous consommez l'aliment une fois par jour ou plus, cochez la case appropriée dans la colonne « nombre de fois par jour »*

Vous ne devez donc cocher qu'une seule case par aliment

Les aliments sont à prendre en considération, qu'ils soient consommés crus ou cuits, frais, surgelés ou en conserve

	Jamais ou < 1 fois par mois	Nombre de fois par **mois**			Nombre de fois par **semaine**						Nombre de fois par **jour**		
		1	2	3	1	2	3	4	5	6	1	2	3
Epinards	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(41)*	☐*(42)*	☐*(43)*
Autres légumes verts à feuille (blettes, etc…)	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(41)*	☐*(42)*	☐*(43)*
Petits pois	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(41)*	☐*(42)*	☐*(43)*
Brocolis, choux de Bruxelles	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(41)*	☐*(42)*	☐*(43)*
Chou vert, chou-fleur	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(41)*	☐*(42)*	☐*(43)*
Choucroute	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(41)*	☐*(42)*	☐*(43)*
Haricots verts, asperges	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(41)*	☐*(42)*	☐*(43)*
Courges (courgettes, potiron)	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(41)*	☐*(42)*	☐*(43)*
Poivron vert	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(41)*	☐*(42)*	☐*(43)*
Artichauts, céleri, avocat	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(41)*	☐*(42)*	☐*(43)*
Maïs et pétales de maïs (corn flakes), pop corn	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(41)*	☐*(42)*	☐*(43)*
Carottes	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(41)*	☐*(42)*	☐*(43)*
Tomate et sauce tomate	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(41)*	☐*(42)*	☐*(43)*
Mélange de légumes (ratatouille, mélanges surgelés…)	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(41)*	☐*(42)*	☐*(43)*
Salade	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(41)*	☐*(42)*	☐*(43)*

verte													

	Jamais ou < 1 fois par mois	Nombre de fois par **mois**			Nombre de fois par **semaine**						Nombre de fois par **jour**		
		1	2	3	1	2	3	4	5	6	1	2	3
Jus d'orange ou de clémentine (frais ou à base de concentré)	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(41)*	☐*(42)*	☐*(43)*
Autres jus de fruits ou de légumes (pur jus, frais ou à base de concentré)	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(41)*	☐*(42)*	☐*(43)*
Œufs (seuls, ou dans des plats préparés type quiche)	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(41)*	☐*(42)*	☐*(43)*
Pain complet ou multicéréales	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(41)*	☐*(42)*	☐*(43)*
Brioche, croissants, pain de mie	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(41)*	☐*(42)*	☐*(43)*
Noix	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(41)*	☐*(42)*	☐*(43)*
Poisson blanc (cabillaud, merlan, sole…)	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(41)*	☐*(42)*	☐*(43)*
Poisson gras (thon, maquereau, sardine, saumon…même en conserve)	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(41)*	☐*(42)*	☐*(43)*

En saison (hiver pour les agrumes, été pour les pêches), à quelle fréquence en moyenne avez-vous consommé les aliments suivants :

	Jamais ou < 1 fois par mois	Nombre de fois par **mois**			Nombre de fois par **semaine**						Nombre de fois par **jour**		
		1	2	3	1	2	3	4	5	6	1	2	3
Soupe de légumes	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(41)*	☐*(42)*	☐*(43)*
Oranges, clémentines, mandarines	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(41)*	☐*(42)*	☐*(43)*
Pêches, nectarines, abricots, cerises, framboises	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(41)*	☐*(42)*	☐*(43)*
Prunes, pruneau, raisin	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(41)*	☐*(42)*	☐*(43)*

En général, d'où proviennent vos fruits et légumes :

	Toujours	Souvent	Rarement	Jamais
Supermarché	☐*(3)*	☐*(2)*	☐*(1)*	☐*(0)*
Marché	☐*(3)*	☐*(2)*	☐*(1)*	☐*(0)*
Magasin de primeurs	☐*(3)*	☐*(2)*	☐*(1)*	☐*(0)*
Potager	☐*(3)*	☐*(2)*	☐*(1)*	☐*(0)*
Directement chez le producteur	☐*(3)*	☐*(2)*	☐*(1)*	☐*(0)*

Pour la cuisson des aliments, quelles matières grasses utilisez-vous habituellement ?

	Toujours	Souvent	Rarement	Jamais
Beurre ou crème	☐*(1)*	☐*(2)*	☐*(3)*	☐*(4)*
Huile d'arachide	☐*(1)*	☐*(2)*	☐*(3)*	☐*(4)*
Huile de tournesol	☐*(1)*	☐*(2)*	☐*(3)*	☐*(4)*
Huile d'olive	☐*(1)*	☐*(2)*	☐*(3)*	☐*(4)*
Huile de maïs	☐*(1)*	☐*(2)*	☐*(3)*	☐*(4)*
Huile de soja	☐*(1)*	☐*(2)*	☐*(3)*	☐*(4)*
Huile de colza	☐*(1)*	☐*(2)*	☐*(3)*	☐*(4)*
Huile de pépins de raisin	☐*(1)*	☐*(2)*	☐*(3)*	☐*(4)*
Huile de noix	☐*(1)*	☐*(2)*	☐*(3)*	☐*(4)*
Huile mélangée (type Isio 4)	☐*(1)*	☐*(2)*	☐*(3)*	☐*(4)*
Précisez la marque : ……				
Graisse de canard ou d'oie	☐*(1)*	☐*(2)*	☐*(3)*	☐*(4)*
Autre	☐*(1)*	☐*(2)*	☐*(3)*	☐*(4)*
Si autre, préciser : ……..				

Pour l'assaisonnement des crudités et des légumes (vinaigrette), quelles matières grasses utilisez-vous habituellement ?

	Toujours	Souvent	Rarement	Jamais
Huile d'arachide	☐*(1)*	☐*(2)*	☐*(3)*	☐*(4)*
Huile de tournesol	☐*(1)*	☐*(2)*	☐*(3)*	☐*(4)*
Huile d'olive	☐*(1)*	☐*(2)*	☐*(3)*	☐*(4)*
Huile de maïs	☐*(1)*	☐*(2)*	☐*(3)*	☐*(4)*
Huile de soja	☐*(1)*	☐*(2)*	☐*(3)*	☐*(4)*
Huile de colza	☐*(1)*	☐*(2)*	☐*(3)*	☐*(4)*
Huile de pépins de raisin	☐*(1)*	☐*(2)*	☐*(3)*	☐*(4)*
Huile de noix	☐*(1)*	☐*(2)*	☐*(3)*	☐*(4)*
Huile mélangée (type Isio 4)	☐*(1)*	☐*(2)*	☐*(3)*	☐*(4)*
Précisez la marque : ……				
Autre	☐*(1)*	☐*(2)*	☐*(3)*	☐*(4)*
Si autre, préciser : ……..				

Sur les tartines ou en accompagnement, qu'utilisez-vous ?

	Toujours	Souvent	Rarement	Jamais
Beurre	☐*(1)*	☐*(2)*	☐*(3)*	☐*(4)*
Beurre allégé	☐*(1)*	☐*(2)*	☐*(3)*	☐*(4)*
Margarine	☐*(1)*	☐*(2)*	☐*(3)*	☐*(4)*
Précisez la marque : ……..				
Autre	☐*(1)*	☐*(2)*	☐*(3)*	☐*(4)*
Si autre, préciser : ……..				

Quel type de pain consommez-vous ?

	Jamais ou < 1 fois par mois	Nombre de fois par **mois**			Nombre de fois par **semaine**						
		1	2	3	1	2	3	4	5	6	7
Pain blanc (pain de mie, viennois, …)	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*
Autre pain (complet, céréales, seigle, …)	☐*(11)*	☐*(21)*	☐*(22)*	☐*(23)*	☐*(31)*	☐*(32)*	☐*(33)*	☐*(34)*	☐*(35)*	☐*(36)*	☐*(37)*

Consommez-vous des produits riches en Oméga 3 ?
☐*(1)* Oui ☐*(0)* Non ☐*(9)* Ne sait pas

Consommez-vous des produits enrichis en Oméga 3 ?
☐*(1)* Oui ☐*(0)* Non ☐*(9)* Ne sait pas

Les réponses au questionnaire alimentaire vous semblent-elles globalement :
☐*(1)* Plutôt fiables ☐*(2)* Moyennement fiables
☐*(3)* Peu fiables ☐*(4)* Pas d'avis

Buvez-vous du vin ?
☐*(1)* Oui ☐*(0)* Non ☐*(9)* Ne sait pas

- Si oui, en buvez-vous tous les jours ?
  ☐*(1)* Oui ☐*(0)* Non ☐*(9)* Ne sait pas

  → Consommation totale sur la semaine : |__|__|__| verres

  → Consommation totale quotidienne : |__|__| verres

- Que buvez-vous principalement ?
  ☐*(1)* Vin rouge ☐*(2)* Vin blanc
  ☐*(3)* Vin rosé ☐*(9)* Ne sait pas

- Coupez-vous votre vin avec de l'eau ?
  ☐*(1)* Oui ☐*(0)* Non ☐*(9)* Ne sait pas

Buvez-vous de la bière ?
☐*(1)* Oui ☐*(0)* Non ☐*(9)* Ne sait pas

- Si oui, en buvez-vous tous les jours ?

☐*(1)* Oui ☐*(0)* Non ☐*(9)* Ne sait pas

Consommation totale sur la semaine : |__|__|__| verres

Consommation totale quotidienne : |__|__| verres

Autres alcools : quelle quantité buvez-vous par semaine ?

			Si oui, préciser nombre de verres consommés par semaine
Apéritif de type vin cuit, kir	☐*(1)* Oui	☐*(0)* Non	|__|__|__|
Apéritif de type anis, whisky	☐*(1)* Oui	☐*(0)* Non	|__|__|__|
Digestif de type liqueur	☐*(1)* Oui	☐*(0)* Non	|__|__|__|
Digestif de type cognac, eau de vie	☐*(1)* Oui	☐*(0)* Non	|__|__|__|

Thé, café : quelle quantité prenez-vous quotidiennement ?

			Si oui, préciser nombre de tasses consommées par jour
Thé	☐*(1)* Oui	☐*(0)* Non	|__|__|__|
Café	☐*(1)* Oui	☐*(0)* Non	|__|__|__|

CHU de Dijon	Initiales Patient	N° Inclusion
Version du 26/10/2009	|__|__| / |__|	|__|__|__|__|__|

C A L E N D R I E R R E S I D E N T I E L

Pouvez-vous énumérer chronologiquement les lieux où vous avez habité (pendant au moins 6 mois) depuis votre naissance jusqu'à ce jour ?

Année d'arrivée	Année de départ	Nom de la ville	Département	Pays
|__|__|__|__|	|__|__|__|__|		|__|__|	
|__|__|__|__|	|__|__|__|__|		|__|__|	
|__|__|__|__|	|__|__|__|__|		|__|__|	
|__|__|__|__|	|__|__|__|__|		|__|__|	
|__|__|__|__|	|__|__|__|__|		|__|__|	
|__|__|__|__|	|__|__|__|__|		|__|__|	
|__|__|__|__|	|__|__|__|__|		|__|__|	
|__|__|__|__|	|__|__|__|__|		|__|__|	
|__|__|__|__|	|__|__|__|__|		|__|__|	
|__|__|__|__|	|__|__|__|__|		|__|__|	
|__|__|__|__|	|__|__|__|__|		|__|__|	
|__|__|__|__|	|__|__|__|__|		|__|__|	