

UNIVERSITE PARIS 13

« EQUIPE DE RECHERCHE EN EPIDEMIOLOGIE NUTRITIONNELLE »

Année 2014

N°

---

**THESE**

Pour obtenir le grade de

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITE PARIS 13**

*Discipline : Epidémiologie-Santé Publique*

Présentée et soutenue publiquement le Mercredi 05 Novembre 2014 par

**Camille POUCHIEU**

Née le 16 mai 1988 à Agen

<p><b>COMPLEMENTS ALIMENTAIRES : CONSOMMATION ET FACTEURS ASSOCIES EN POPULATION GENERALE ET DANS DES GROUPES SPECIFIQUES – MODULATION DU RISQUE DE CANCER</b></p>
--

Thèse dirigée par :

**Monsieur le Professeur Serge HERCBERG**

Co-Encadrement :

**Madame le Docteur Mathilde TOUVIER**

**JURY :**

Madame le Professeur Marie-Paule VASSON	Rapporteur
Monsieur le Professeur Serge BRIANCON	Rapporteur
Monsieur le Professeur Alain VENOT	Examineur
Monsieur le Docteur François MARIOTTI	Examineur
Monsieur le Professeur Serge HERCBERG	Examineur
Madame le Docteur Mathilde TOUVIER	Examineur

# Remerciements

---

Je tiens tout d'abord à remercier mon directeur de thèse, le Pr Serge Hercberg, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de me suivre en thèse au sein de cette unité prestigieuse.

Un immense et chaleureux merci au Dr Mathilde Touvier pour sa disponibilité, son immense gentillesse, son enthousiasme, son sens de l'écoute, son humour, son dynamisme, sans oublier ses grandes qualités scientifiques. Malgré les difficultés rencontrées, tu as toujours su rebondir, rester positive et tu as toujours cru en moi. Je ne pouvais imaginer une meilleure encadrante de thèse.

Je remercie le Pr Marie-Paule Vasson et le Pr Serge Briançon qui m'ont fait l'honneur d'accepter la charge de rapporteur de cette thèse.

Je remercie cordialement le Pr Alain Venot et le Dr François Mariotti d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse.

Je remercie tout particulièrement le Dr Paule Latino-Martel pour son aide précieuse dans l'interprétation mécanistique de nos résultats, sa disponibilité et sa sympathie.

Merci au Dr Valentina Andreeva pour son aide à la rédaction des articles en anglais.

Merci aux biologistes les Dr Véronique Chajès et Dr Véronique Ducros pour leur aide à la rédaction du manuscrit.

Merci aux équipes partenaires du projet Inca, les Dr Patrick Backmann, Marina Touillaud, et Patrice Cohen pour leur participation dans l'élaboration du projet.

Un grand merci à toutes les personnes de l'Equipe de Recherche en Epidémiologie Nutritionnelle pour leur gentillesse et leur soutien qui m'ont permis de passer trois années merveilleuses au sein de l'équipe.

Je remercie très sincèrement les chercheurs de l'unité, les Dr Pilar Galan, Emmanuelle Kesse-Guyot, Caroline Méjean et Sandrine Péneau pour leurs conseils et leur sympathie au quotidien.

Je remercie très chaleureusement mes copines de thèse Solia Adriouch, Marion Valette, Camille Lassale, Karen Assmann, Mélanie Deschasaux, Aurélie Lampuré, Géraldine Camilleri ainsi que Pauline Ducrot, Philippine Fassier et Elise Martin pour les échanges, les fou-rires, les pique-niques et surtout pour leur soutien et leur amitié. Merci à Jagatjit Mohinder pour ses conseils précieux en informatique.

Un grand-merci à Alexandre et ma famille pour leur amour et leur soutien tout au long de cette aventure qu'est la thèse.

# Table des matières

---

<b>LISTE DES ILLUSTRATIONS .....</b>	<b>4</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX .....</b>	<b>5</b>
<b>LISTE DES ABREVIATIONS .....</b>	<b>7</b>
<b>PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS.....</b>	<b>8</b>
1. <i>Publications originales dans des journaux à comité de lecture.....</i>	8
A. Faisant l'objet du travail de thèse.....	8
B. Autres publications.....	9
2. <i>Publications effectuées dans le cadre de congrès et communications .....</i>	9
A. Communications orales .....	9
B. Communications affichées (posters).....	11
<b>INTRODUCTION GENERALE .....</b>	<b>13</b>
1. <i>Définition d'un complément alimentaire .....</i>	15
A. Définition réglementaire.....	15
B. Définition élargie .....	16
2. <i>Le marché français des compléments alimentaires .....</i>	17
3. <i>Prise de compléments alimentaires en population générale et dans des groupes spécifiques.....</i>	19
A. Consommation de compléments alimentaires en population générale et chez les fumeurs .....	19
B. Consommation de compléments alimentaires chez les femmes enceintes .....	22
C. Consommation de compléments alimentaires chez les sujets atteints de cancer ou en rémission .....	23
4. <i>Epidémiologie étiologique et mécanistique des relations entre compléments alimentaires et risque de cancers : modulation de certaines associations par les compléments alimentaires.....</i>	24
A. Consommation de compléments alimentaires et risque de cancers .....	24
B. Modulation de certaines relations « Nutrition-Cancer » par une supplémentation en antioxydants .....	27
5. <i>E-épidémiologie et méthodologie .....</i>	30
6. <i>Objectifs de ce travail de thèse .....</i>	31
A. Première partie – Epidémiologie descriptive.....	31
B. Deuxième partie - Epidémiologie étiologique.....	31
C. Troisième partie – Travaux méthodologiques en e-épidémiologie.....	31
<b>PREMIERE PARTIE – EPIDEMIOLOGIE DESCRIPTIVE : CONSOMMATION DE COMPLEMENTES ALIMENTAIRES EN POPULATION GENERALE ET DANS DES GROUPES SPECIFIQUES .....</b>	<b>32</b>
1. <i>Population et méthodes.....</i>	34
A. L'étude NutriNet-Santé.....	34
B. Collecte des données .....	34
2. <i>Analyses statistiques et résultats.....</i>	40
A. Consommation de compléments alimentaires en population générale et selon le statut tabagique .....	40
B. Consommation de compléments alimentaires chez les femmes enceintes .....	49
C. Consommation de compléments alimentaires chez les sujets atteints de cancer ou en rémission .....	55
3. <i>Discussion de la première partie .....</i>	65
A. Discussion et mise en perspective des résultats.....	65
B. Aspects méthodologiques et limites des études réalisées.....	71
C. Première partie - Bilan des résultats clé : .....	73
<b>DEUXIEME PARTIE : EPIDEMIOLOGIE ETIOLOGIQUE : MODULATION DE CERTAINES RELATIONS NUTRITION-CANCER PAR UNE SUPPLEMENTATION EN ANTIOXYDANTS .....</b>	<b>74</b>
1. <i>Population et méthodes.....</i>	76
A. La cohorte SU.VI.MAX.....	76
B. Collecte des données et suivi de la cohorte.....	76

C.	Analyses biologiques.....	78
2.	<i>Analyses statistiques et résultats</i> .....	79
A.	Etude prospective des liens entre consommations de viandes rouges et charcuteries et risque de cancer du sein-modulation par une supplémentation en antioxydants .....	79
B.	Etude prospective des liens entre acides gras plasmatiques et risque de cancer (toutes localisations et cancer du sein) – modulation par une supplémentation en antioxydants .....	84
C.	Etude prospective des liens entre caroténoïdes et rétinol plasmatiques et risque de cancer (toutes localisations et cancer du sein).....	91
3.	<i>Discussion de la deuxième partie</i> .....	94
A.	Discussion et mise en perspective des résultats .....	94
B.	Aspects méthodologiques et limites des études réalisées.....	102
C.	Deuxième partie - Bilan des résultats clé : .....	105
<b>TROISIEME PARTIE : TRAVAUX METHODOLOGIQUES EN E-EPIDEMIOLOGIE.....</b>		<b>106</b>
1.	<i>Population et méthodes</i> .....	108
2.	<i>Résultats</i> .....	108
A.	Compétences en informatique et en utilisation d'Internet .....	108
B.	Opinions et attitudes envers les contraintes de l'étude .....	110
C.	Durée effective et durée jugée acceptable pour le remplissage des questionnaires .....	111
3.	<i>Discussion de la troisième partie</i> .....	114
A.	Discussion et mise en perspective des résultats .....	114
B.	Aspects méthodologiques et limites de l'étude réalisée .....	115
C.	Troisième partie – Bilan des résultats clé : .....	116
<b>PERSPECTIVES DE RECHERCHE.....</b>		<b>117</b>
1.	<i>Elaboration d'une base de données de composition des compléments alimentaires pour l'ensemble de la cohorte NutriNet-Santé</i> .....	118
2.	<i>Optimisation des outils de recueil des consommations de compléments alimentaires</i> .....	118
3.	<i>Analyses étiologiques prospectives dans la cohorte NutriNet-Santé sur les relations compléments alimentaires-cancer</i> .....	119
4.	<i>Analyses prospectives de l'effet modulateur des antioxydants sur les relations nutrition-cancer : vérification de nos hypothèses dans la cohorte NutriNet-Santé</i> .....	119
5.	<i>E-épidémiologie</i> .....	120
<b>CONCLUSION GENERALE .....</b>		<b>122</b>
<b>REFERENCES .....</b>		<b>126</b>
<b>ANNEXES.....</b>		<b>151</b>

# Liste des illustrations

---

<b>Figure 1.</b> Schéma synthétique de la réglementation (directe ou indirecte) applicable aux compléments alimentaires dans l'Union Européenne .....	16
<b>Figure 2.</b> Répartition du marché des compléments alimentaires par circuit de distribution (%).....	17
<b>Figure 3.</b> Répartition des ventes en pharmacie par segments (%) .....	18
<b>Figure 4.</b> Exemple de tailles de portions alimentaires pour un même aliment .....	36
<b>Figure 5.</b> Extrait de la base de composition des compléments alimentaires .....	40
<b>Figure 6 :</b> Mécanisme d'action antiprolifératif de l'acide dihommo- $\gamma$ -linoléinique .....	98

# Liste des tableaux

---

<b>Tableau 1.</b> Répartition du marché des compléments alimentaires par circuit de distribution en 2013 .....	17
<b>Tableau 2.</b> Répartition des ventes en pharmacie par segments en 2013.....	18
<b>Tableau 3.</b> Consommation globale et spécifique de compléments alimentaires selon le sexe, étude NutriNet-Santé, 2012 .....	42
<b>Tableau 4.</b> Motivations, circonstances d'achats et saisonnalité de consommation de compléments alimentaires selon le sexe, étude NutriNet-Santé, 2012 .....	43
<b>Tableau 5.</b> Facteurs socio-démographiques, comportementaux et de mode de vie corrélés à la consommation de compléments alimentaires dans l'étude NutriNet-Santé, 2012 (consommateurs, n=32582 et non consommateurs, n=47204).....	44
<b>Tableau 6.</b> Comparaison des consommateurs et des non-consommateurs de compléments alimentaires selon les apports alimentaires quotidiens dans l'étude NutriNet-Santé, 2012 .....	46
<b>Tableau 7.</b> Comparaison des consommateurs et des non-consommateurs de compléments selon les apports alimentaires quotidiens en énergie et nutriments dans l'étude NutriNet-Santé, 2012.....	47
<b>Tableau 8.</b> Comparaison des prévalences d'inadéquation d'apport alimentaire par micronutriment, stratifiée sur le sexe et la consommation de compléments dans l'étude NutriNet-Santé,2012.....	48
<b>Tableau 9.</b> Prise de compléments à base de $\beta$ -carotène chez les consommateurs de compléments alimentaires, étude NutriNet-Santé, 2012 .....	49
<b>Tableau 10.</b> Prise estivale de compléments à base de $\beta$ -carotène selon le statut tabagique chez les consommateurs de compléments alimentaires, étude NutriNet-Santé, 2012.....	49
<b>Tableau 11.</b> Caractéristiques démographiques, socioéconomiques et de mode de vie associées à la consommation de compléments alimentaires chez les femmes enceintes de l'étude NutriNet-Santé, 2012.....	51
<b>Tableau 12.</b> Consommation globale et spécifique de compléments alimentaires chez les femmes enceintes et selon le trimestre de grossesse, étude NutriNet-santé, 2012.....	53
<b>Tableau 13.</b> Circonstances d'achats des consommatrices de compléments alimentaires chez les femmes enceintes de l'étude NutriNet-Santé .....	54
<b>Tableau 14.</b> Apports nutritionnels quotidiens moyens via l'alimentation, au global et selon la consommation de compléments alimentaires chez les femmes enceintes de l'étude NutriNet-Santé, 2012.....	55
<b>Tableau 15.</b> Consommation de compléments alimentaires chez les survivants du cancer de l'étude NutriNet-Santé, 2014 .....	57
<b>Tableau 16.</b> Motivations de consommations des compléments alimentaires chez les survivants du cancer, Etude NutriNet-Santé, 2014 .....	59
<b>Tableau 17.</b> Circonstances d'achat, durée de consommation, et communication avec le médecin traitant pour les 1140 compléments alimentaires déclarés par les survivants du cancer de l'étude NutriNet-Santé, 2014 .....	60
<b>Tableau 18.</b> Facteurs socio-démographiques, comportementaux et de mode de vie associés à la consommation de compléments alimentaires chez les survivants du cancer de l'étude NutriNet-Santé, 2014.....	61
<b>Tableau 19.</b> Comparaison des apports quotidiens moyens en énergie et nutriments provenant de l'alimentation seule puis de l'alimentation et des compléments alimentaires, entre les consommateurs et les non-consommateurs de compléments alimentaires, chez les survivants du cancer de l'étude NutriNet-Santé, 2014 .....	63

<b>Tableau 20.</b> Pratiques de consommation de compléments alimentaires potentiellement délétères chez les survivants du cancer de l'étude NutriNet-Santé, 2014 .....	64
<b>Tableau 21.</b> Caractéristiques de l'échantillon à l'inclusion, dans le cadre de l'étude des relations entre consommation de viandes rouges et de charcuteries et risque de cancer du sein, cohorte SU.VI.MAX, 1994-2007 .....	81
<b>Tableau 22.</b> Modèles de Cox multivariés pour les associations entre les quartiles de consommation de viandes rouges et de charcuteries et le risque de cancer du sein, étude SU.VI.MAX, 1994–2007..	82
<b>Tableau 23.</b> Modèles de Cox multivariés pour les associations entre les quartiles de consommation de viandes rouges et de charcuteries et le risque de cancer du sein-interaction avec le groupe de supplémentation en antioxydants, étude SU.VI.MAX, 1994–2007.....	83
<b>Tableau 24.</b> Comparaison des caractéristiques des cas de cancer et des témoins à l'inclusion, dans le cadre de l'étude des associations entre concentrations en acides gras plasmatiques et risque de cancer (toutes localisations et cancer du sein), étude cas-témoins nichée dans la cohorte SU.VI.MAX, 1994-2007 .....	86
<b>Tableau 25.</b> Comparaison des concentrations en acides gras plasmatiques des cas et des témoins à l'inclusion, étude cas-témoins nichée dans la cohorte SU.VI.MAX, 1994-2007.....	87
<b>Tableau 26.</b> Régression logistique conditionnelle multivariée pour les associations entre concentrations plasmatiques en acides gras et risque de cancer toutes localisations, étude cas-témoins nichée dans la cohorte SU.VI.MAX, 1994-2007 .....	89
<b>Tableau 27.</b> Régression logistique conditionnelle multivariée pour les associations entre concentrations plasmatiques en acides gras et risque de cancer du sein, étude cas-témoins nichée dans la cohorte SU.VI.MAX, 1994-2007 .....	90
<b>Tableau 28.</b> Comparaison des caractéristiques des cas de cancer et des témoins à l'inclusion, dans le cadre de l'étude des liens entre caroténoïdes et rétinol plasmatiques et risque de cancer (toutes localisations et cancer du sein), étude cas-témoins nichée dans la cohorte SU.VI.MAX, 1994-2007 ..	92
<b>Tableau 29.</b> Concentrations en caroténoïdes et rétinol plasmatiques des cas de cancer (toutes localisations et du sein) et des témoins, étude cas-témoins nichée dans la cohorte SU.VI.MAX, 1994-2007.....	93
<b>Tableau 30.</b> Régression logistique conditionnelle multivariée des associations entre concentrations en caroténoïdes et rétinol plasmatiques et risque de cancer toutes localisations, étude cas-témoins nichée dans la cohorte SU.VI.MAX, 1994-2007.....	93
<b>Tableau 31.</b> Régression logistique conditionnelle multivariée des associations entre concentrations plasmatiques en caroténoïdes et rétinol et risque de cancer du sein, étude cas-témoins nichée dans la cohorte SU.VI.MAX, 1994-2007.....	94
<b>Tableau 32.</b> Caractéristiques des participants à l'inclusion, Etude NutriNet-Santé, 2013 .....	109
<b>Tableau 33.</b> Auto-évaluation des compétences informatiques et Internet des participants (n=43 028), Etude NutriNet-Santé, 2013 .....	110
<b>Tableau 34.</b> Opinions et attitudes des participants face aux contraintes de l'étude NutriNet-Santé selon le sexe, l'âge, le niveau d'éducation et le niveau de compétence informatique, Etude NutriNet-Santé, 2013.....	112
<b>Tableau 35.</b> Comparaison des durées moyennes de remplissage des questionnaires (en min) selon le sexe, l'âge, le niveau d'éducation et le niveau de compétence informatique perçu par les participants, Etude NutriNet-Santé, 2013 .....	113

# Liste des abréviations

---

AGPI, Acides gras polyinsaturés

AGMI, Acides gras monoinsaturés

AGS, Acides gras saturés

AHC, Amines hétérocycliques aromatiques

AICR, American Institute for Cancer Research

AMM, Autorisation de Mise sur le Marché

BNM, Besoin nutritionnel moyen

CA, Compléments alimentaires

CNO, Composés nitrosés

CSP, Catégorie socio-professionnelle

ER, Estrogen Receptor

EREN, Equipe de Recherche en Epidémiologie Nutritionnelle

HAP, Hydrocarbures aromatiques polycycliques

IMC, Indice de masse corporelle

PGE, Prostaglandines

PhIP, 2-amino -1- méthyl-6- phénylimidazo [4,5- b] pyridine

PNNS, Programme National Nutrition Santé

PR, Progesterone receptor

SU.VI.MAX, Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants

THM, Traitement hormonal de la ménopause

WCRF, World Cancer Research Fund



# Publications et communications

---

## 1. Publications originales dans des journaux à comité de lecture

### A. Faisant l'objet du travail de thèse

**Pouchieu C**, Andreeva VA, Péneau S, Kesse-Guyot E, Lassale C, Hercberg S, Touvier M. Sociodemographic, lifestyle and dietary correlates of dietary supplement use in a large sample of French adults: results from the NutriNet-Santé cohort study. *Br J Nutr.* 2013; 110(8):1480-91.

**Pouchieu C**, Lévy R, Faure C, Andreeva VA, Galan P, Hercberg S, Touvier M. Socioeconomic, lifestyle and dietary factors associated with dietary supplement use during pregnancy. *PLoS One.* 2013 Aug 13;8(8):e70733.

**Pouchieu C**, Chajès V, Laporte F, Kesse-Guyot E, Galan P, Hercberg S, Latino-Martel P, Touvier M. Prospective associations between plasma saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids and overall and breast cancer risk - modulation by antioxidants: a nested case-control study. *PLoS One.* 2014 Feb 27;9(2):e90442.

**Pouchieu C**, Galan P, Ducros V, Latino-Martel P, Hercberg S, Touvier M. Plasma Carotenoids and Retinol and Overall and Breast Cancer Risk: A Nested Case-Control Study. *Nutr Cancer*, 2014;66(6):980-8. doi: 10.1080/01635581.2014.936952

**Pouchieu C**, Deschasaux M, Hercberg S, Druesne-Pecollo N, Latino-Martel P, Touvier M. Prospective association between red and processed meat intakes and breast cancer risk – Modulation by an antioxidant supplementation in the SU.VI.MAX randomized controlled trial. *Int J Epidemiol.* 2014: 1-10. doi: 10.1093/ije/dyu134.

### **Pour information : publications soumises (under review):**

**Pouchieu C**, Méjean C, Andreeva VA, Kesse-Guyot E, Fassier P, Galan P, Hercberg S, Touvier M. Computer literacy, adhesion and attitude towards study demands among participants of a web-based cohort: results from the NutriNet-Santé study.

**Pouchieu C**, Fassier P, Latino-Martel P, Druesne-Pecollo N, Zelek L, Bachmann P, Touillaud M, Bairati I, Hercberg S, Galan P, Cohen P, Touvier M. Dietary supplement use among cancer survivors of the NutriNet-Santé cohort study.

## **B. Autres publications**

His M, Zelek L, Deschasaux M, **Pouchieu C**, Kesse-Guyot E, Hercberg S, Galan P, Latino-Martel P, Blacher J, Touvier M.

Prospective associations between serum biomarkers of lipid metabolism and overall, breast and prostate cancer risk. Eur J Epidemiol. 2014; 29(2):119-32.

Deschasaux M, **Pouchieu C**, His M, Hercberg S, Latino-Martel P, Touvier M.

Dietary total and insoluble fiber intakes are inversely associated with prostate cancer risk. J Nutr. 2014; 144(4):504-10.

Deschasaux M, Zelek L, **Pouchieu C**, His M, Hercberg S, Galan P, Latino-Martel P, Touvier M. Prospective association between dietary fiber intake and breast cancer risk. PLoS One. 2013; 8(11):e79718.

Key TJ, Appleby PN, Travis RC, Albanes D, Alberg A, Barricarte A, Black A, Bueno-de-Mesquita B, Chan JM, Chen C, Cook MB, Donovan JL, Galan P, Gilbert R, Giles GG, Giovannucci E, Goodman GE, Goodman PJ, Gunter MJ, Hamdy FC, Heliövaara M, Helzlsouer KJ, Henderson BE, Hercberg S, Hoffman-Bolton J, Hoover RN, Johansson M, Khaw KT, King IB, Knekt P, Kolonel LN, Le Marchand L, Männistö S, Martin RM, Meyer HE, Mondul AM, Moy K, Neal DE, Neuhauser ML, Platz EA, **Pouchieu C**, Rissanen H, Schenk JM, Severi G, Stampfer MJ, Tjønneland A, Touvier M, Trichopoulos A, Weinstein SJ, Zhou C and Allen NE on behalf of the Endogenous Hormones, Nutritional Biomarkers and Prostate Cancer Collaborative Group. Carotenoids, retinol, tocopherols and prostate cancer risk: pooled analysis of 15 studies. Soumis.

## **2. Publications effectuées dans le cadre de congrès et communications**

### **A. Communications orales**

**Pouchieu C**, Castetbon K, Galan P, Hercberg S, Touvier M.

Vème Congrès International d'Épidémiologie ADEL-EPITER (Bruxelles, 12-14 Septembre 2012) : « Prise de compléments alimentaires évaluée par autoquestionnaire sur Internet (étude NutriNet-Santé) ». Abstract in Revue d'épidémiologie et de santé publique;60; Supplement 2; pS95

**Pouchieu C**, Andreeva VA, Hercberg S, Kesse-Guyot E, Péneau S, Lassale C, Touvier M.

Journées Francophones de Nutrition (Lyon, 12-14 Décembre 2012) : « Consommation de compléments alimentaires et facteurs sociodémographiques, alimentaires et de mode de vie associés dans un large échantillon d'adultes français participant à l'étude NutriNet-Santé. ». Abstract in Cahiers de Nutrition et de Diététique Décembre 2012 Vol. 47 – Hors-Série 2 p. S1-S172 / et de la revue Nutrition Clinique et Métabolisme Décembre 2012 Vol. 26 - Suppl 1 p. S1-S172

**Pouchieu C**, Hercberg S, Touvier M.

Séminaire des Doctorants (8 Février 2013, Université Paris 13, Bobigny) : «Consommation de compléments alimentaires dans la cohorte NutriNet-Santé: population générale et focus sur des groupes spécifiques»

**Pouchieu C**, Chajès V, Laporte F, Kesse-Guyot E, Galan P, Hercberg S, Latino-Martel P et Touvier M. Séminaire «Compléments alimentaires et cancer » du Cancéropôle Ile de France-NACRe (Paris, 18 novembre 2013) : « Étude prospective des liens entre taux d'acides gras plasmatiques et risque de cancer (au global et du sein) : modulation par une supplémentation en antioxydants»

Touvier M, **Pouchieu C**, Hercberg S.

Séminaire « Compléments alimentaires et cancer » du Cancéropôle Ile de France-NACRe (Paris, 18 novembre 2013) : «Consommation de compléments alimentaires dans un échantillon de 80000 adultes français - Perspectives de la cohorte NutriNet-Santé»

Deschasaux M, Zelek L, **Pouchieu C**, His M, Hercberg S, Galan P, Latino-Martel P, Touvier M. Séminaire mensuel, UMR U1153 Inserm/U1125 Inra/Cnam/Paris 13 (Bobigny, Décembre 2013) : «Etude prospective de l'association entre l'apport alimentaire en fibres et le risque de cancer du sein et de la prostate»

His M, Zelek L, Deschasaux M, **Pouchieu C**, Kesse-Guyot E, Hercberg S, Galan P, Latino-Martel P, Blacher J, Touvier M.

Séminaire mensuel, UMR U1153 Inserm/U1125 Inra/Cnam/Paris 13 (Bobigny, Janvier 2014) : «Associations prospectives entre biomarqueurs sériques du métabolisme lipidique et risque de cancer (global, sein et prostate)»

His M, Zelek L, Deschasaux M, **Pouchieu C**, Kesse-Guyot E, Hercberg S, Galan P, Latino-Martel P, Blacher J, Touvier M.

Journées Francophones de Nutrition (Bordeaux, 11-13 Décembre 2013) : «Associations prospectives entre biomarqueurs sériques du métabolisme lipidique et risque de cancer (global, sein et prostate)». Abstract in Cahiers de Nutrition et de Diététique Décembre 2013 Vol. 48 – Hors-Série 1 p. S1-S88

**Pouchieu C**, Chajès V, Laporte F, Kesse-Guyot E, Galan P, Hercberg S, Latino-Martel P, Touvier M. Séminaire mensuel, UMR U1153 Inserm/U1125 Inra/Cnam/Paris 13 (Bobigny, Février 2014) : «Étude prospective des liens entre taux d'acides gras plasmatiques et risque de cancer (au global et du sein) : modulation par une supplémentation en antioxydants»

**Pouchieu C**, Deschasaux M, Hercberg S, Druesne-Pecollo N, Latino-Martel P, Touvier M.

Séminaire mensuel, UMR U1153 Inserm/U1125 Inra/Cnam/Paris 13 (Bobigny, Mai 2014) : «Etude prospective des liens entre consommation de viandes rouges et de charcuteries et risque de cancer du sein– modulation par une supplémentation en antioxydants»

**Pouchieu C**, Deschasaux M, Hercberg S, Druesne-Pecollo N, Latino-Martel P, Touvier M.

Journée Nutrition et Cancer : Obésité et contaminants alimentaires-Thématiques émergentes, CLARA-NACRe (Lyon, 18 juin 2014) : «Etude prospective des liens entre consommation de viandes rouges et de charcuteries et risque de cancer du sein– modulation par une supplémentation en antioxydants»

**Pouchieu C**, Galan P, Ducros V, Latino-Martel P, Hercberg S, Touvier M.  
Journées AENFP (Paris, 24 Juin 2014) : «Étude prospective des liens entre concentrations plasmatiques en caroténoïdes et rétinol et risque de cancer (au global et du sein)»

## **B. Communications affichées (posters)**

**Pouchieu C**, Lévy R, Faure C, Andreeva VA, Galan P, Hercberg S, Touvier M.  
Journées Francophones de Nutrition (Bordeaux, 11-13 Décembre 2013) : «Consommation de compléments alimentaires pendant la grossesse et facteurs socioéconomiques, alimentaires et de mode de vie associés» Abstract in Cahiers de Nutrition et de Diététique Décembre 2013 Vol. 48 – Hors-Série 1 p. S1-S88

**Pouchieu C**, Chajès V, Laporte F, Kesse-Guyot E, Galan P, Hercberg S, Latino-Martel P, Touvier M. Journées Francophones de Nutrition (Bordeaux, 11-13 Décembre 2013) : «Étude prospective des liens entre taux d'acides gras plasmatiques et risque de cancer (au global et du sein) : modulation par une supplémentation en antioxydants» Abstract in Cahiers de Nutrition et de Diététique Décembre 2013 Vol. 48 – Hors-Série 1 p. S1-S88

**Pouchieu C**, Galan P, Ducros V, Latino-Martel P, Hercberg S, Touvier M.  
Journées Francophones de Nutrition (Bordeaux, 11-13 Décembre 2013) : «Étude prospective des liens entre concentrations plasmatiques en caroténoïdes et rétinol et risque de cancer (au global et du sein)» Abstract in Cahiers de Nutrition et de Diététique Décembre 2013 Vol. 48 – Hors-Série 1 p. S1-S88

Deschasaux M, **Pouchieu C**, His M, Hercberg S, Latino-Martel P, Touvier M.  
Journées Francophones de Nutrition (Bordeaux, 11-13 Décembre 2013) : «Etude prospective de l'association entre l'apport alimentaire en fibres et le risque de cancer de la prostate : modulation par les taux d'IGF, le statut pondéral et la consommation d'alcool». Abstract in Cahiers de Nutrition et de Diététique Décembre 2013 Vol. 48 – Hors-Série 1 p. S1-S88

Deschasaux M, Zelek L, **Pouchieu C**, His M, Hercberg S, Galan P, Latino-Martel P, Touvier M.  
Journées Francophones de Nutrition (Bordeaux, 11-13 Décembre 2013) : «Etude prospective de l'association entre l'apport alimentaire en fibres et le risque de cancer du sein». Abstract in Cahiers de Nutrition et de Diététique Décembre 2013 Vol. 48 – Hors-Série 1 p. S1-S88

**Pouchieu C**, Chajès V, Laporte F, Kesse-Guyot E, Galan P, Hercberg S, Latino-Martel P, Touvier M. Séminaire CLARA-NACRe (18 juin 2014, Lyon) : «Étude prospective des liens entre taux d'acides gras plasmatiques et risque de cancer (au global et du sein) : modulation par une supplémentation en antioxydants»

Deschasaux M, **Pouchieu C**, His M, Hercberg S, Latino-Martel P, Touvier M.  
Séminaire CLARA-NACRe (18 juin 2014, Lyon) : «Etude prospective de l'association entre l'apport alimentaire en fibres et le risque de cancer de la prostate : modulation par les taux d'IGF, le statut pondéral et la consommation d'alcool»

Deschasaux M, Zelek L, **Pouchieu C**, His M, Hercberg S, Galan P, Latino-Martel P, Touvier M.  
Séminaire CLARA-NACRe (18 juin 2014, Lyon) : «Etude prospective de l'association entre l'apport alimentaire en fibres et le risque de cancer du sein».

**Pour information : abstracts soumis dans le cadre de congrès :**

**Pouchieu C**, Deschasaux M, Hercberg S, Druene-pecollo N, Latino-Martel P, Touvier M. Journées Francophones de Nutrition (Bruxelles, 10-12 Décembre 2014) : «Consommation de viandes rouges et charcuteries et risque de cancer du sein – modulation par une supplémentation en antioxydants dans l'étude SU.VI.MAX »

**Pouchieu C**, Méjean C, Andreeva VA, Kesse-Guyot E, Fassier P, Galan P, Hercberg S, Touvier M. Journées Francophones de Nutrition (Bruxelles, 10-12 Décembre 2014) : «E-epidemiologie nutritionnelle: compétences informatiques des participants à une web-cohorte sur les relations nutrition-santé ».

# Introduction générale

---

Les travaux de recherche sur les compléments alimentaires réalisés au cours de cette thèse s'articulent autour de deux axes principaux:

- Prise de compléments alimentaires en population générale et dans des groupes spécifiques (fumeurs, femmes enceintes, sujets atteints de cancer ou en rémission) : facteurs associés, automédication versus prescription et pertinence de la supplémentation. (**Partie 1**)
- Epidémiologie étiologique et mécanistique des relations entre compléments alimentaires et risque de cancer, avec un focus sur la modulation de certaines associations par les compléments alimentaires (**Partie 2**)

Un axe méthodologique en e-épidémiologie nutritionnelle a complété ces deux approches (**Partie 3**).

## 1. Définition d'un complément alimentaire

### A. Définition réglementaire

#### a. Directive européenne 2002/46/CE

Depuis 2002, la publication de la Directive 2002/46/CE<sup>1</sup>, a fourni aux compléments alimentaires un cadre réglementaire propre qui leur confère un véritable statut et de fait une reconnaissance européenne. Ce référentiel réglementaire vise notamment à :

- Répondre au nombre croissant de produits disponibles sur le marché,
- Limiter les distorsions de concurrence au sein du marché libre,
- Répondre à un souhait de certains consommateurs,
- Protéger le consommateur et garantir son libre choix,
- Encadrer la composition de ces produits,
- Définir les formes d'apport en nutriments.

Ce texte les définit tels que « des denrées alimentaires dont le but est de compléter le régime alimentaire normal et qui constituent une source concentrée de nutriments ou d'autres substances ayant un effet nutritionnel ou physiologique seuls ou combinés, commercialisés sous forme de doses, à savoir les formes de présentation telles que les gélules, les pastilles, les comprimés, les pilules et autres formes similaires, ainsi que les sachets de poudre, les ampoules de liquide, les flacons munis d'un compte-goutte et les autres formes analogues de préparations liquides ou en poudre destinées à être prises en unités mesurées de faible quantité. »

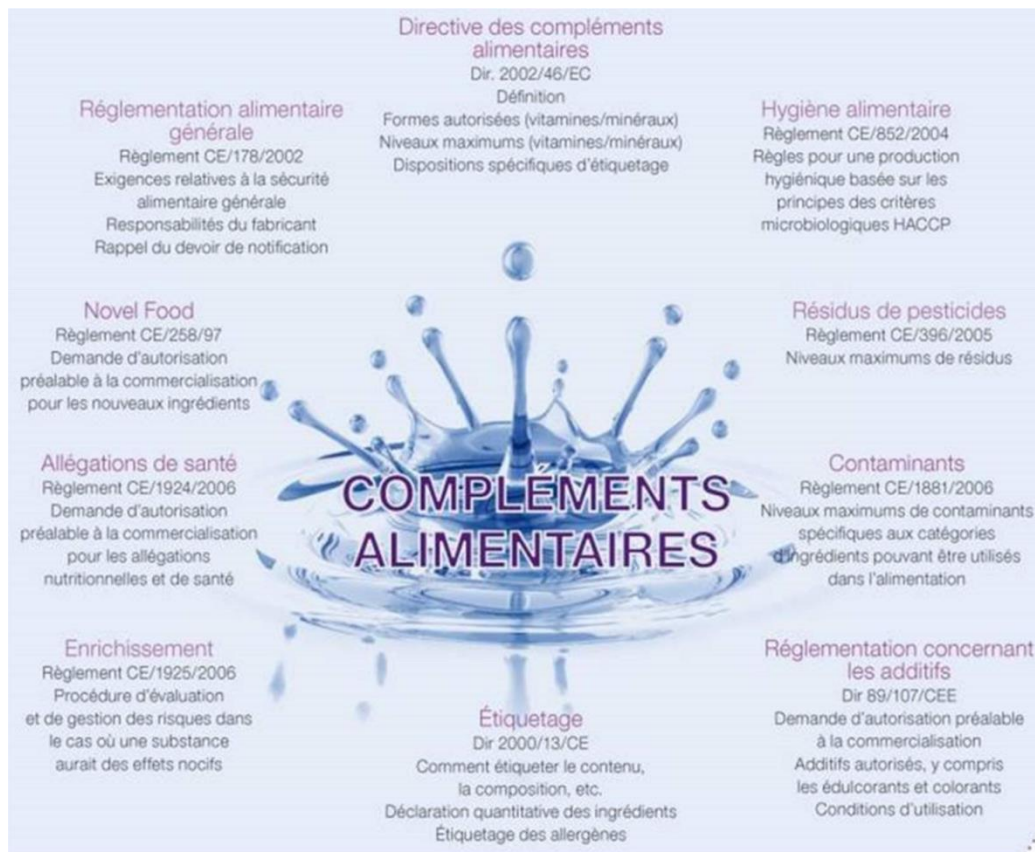
Cette Directive fournit notamment la liste des substances autorisées dans les compléments alimentaires. Toutefois, un point majeur fait encore défaut dans la réglementation européenne actuelle : les doses maximales autorisées pour chaque substance dans les compléments alimentaires et les aliments enrichis n'ont pas encore été fixées au niveau européen. Dans l'attente, le droit national prévôt concernant les dosages de ces produits.

#### b. Un texte de portée européenne transposé en droit français

Cette directive a été transposée en droit français par le Décret n°2006-352 du 20 mars 2006<sup>2</sup> (modifié par le Décret n°2011-329 du 25 mars 2011) relatif aux compléments alimentaires. Ce décret n°2006-352 impose notamment :

- Une déclaration obligatoire à la DGCCRF des nouveaux compléments alimentaires mis sur le marché ;
- Un étiquetage spécifique ;
- Des listes positives de plantes et d'autres substances utilisables dans les compléments alimentaires ainsi que les doses journalières maximales (DJM) pour les nutriments (dont les formes d'apport étaient déjà définies par la Directive 2002/46/CE puis précisées dans l'arrêté du 9 mai 2006) ;
- Une procédure de reconnaissance mutuelle en accord avec les principes émis par la Directive 2002/46/CE permet de demander l'autorisation de commercialiser des compléments alimentaires dont au moins un ingrédient n'est pas autorisé en France, mais est légalement utilisé dans un autre Etat membre. L'administration ne peut s'y opposer ou limiter son autorisation que si elle fait la preuve d'un risque pour la santé humaine (Règlement (CE) n°764/2008).





**Figure 1.** Schéma synthétique de la réglementation (directe ou indirecte) applicable aux compléments alimentaires dans l'Union Européenne

## B. Définition élargie

Les compléments alimentaires au sens réglementaire du terme (selon la directive précitée) ne sont pas considérés comme des médicaments et ne nécessitent pas d'autorisation de mise sur le marché (AMM). Pourtant, de nombreux médicaments (qui possèdent obligatoirement une AMM) constituent une source concentrée de vitamines, minéraux et autres substances comparables à celles retrouvées dans les compléments alimentaires. Prenons par exemple le cas du magnésium que l'on peut aussi bien trouver sous forme de compléments alimentaires au sens réglementaire, type Magnésium Juvamine® que sous forme de médicaments, type Mag 2®. D'un point de vue réglementaire, il est important de pouvoir distinguer les apports provenant de l'un ou l'autre des deux types de produits. Cependant, en termes de santé publique l'exposition d'intérêt concerne le total des nutriments apportés par ces deux types de produits (en plus des apports par les autres sources alimentaires). De plus, les consommateurs, pour la plupart, ne font pas la différence entre ces deux « types réglementaires » de produits. De ce fait, nous considérerons ici comme compléments alimentaires au sens large l'ensemble de ces produits (compléments au sens réglementaire + médicaments contenant principalement des vitamines et/ou minéraux). Sauf mention contraire, dans la suite du document, le terme « compléments alimentaires désignera l'ensemble de ces produits.

## 2. Le marché français des compléments alimentaires

Les données suivantes (tableaux 1 et 2 et figures 2 et 3) ont été obtenues auprès du Syndicat de la Diététique et des Compléments Alimentaires concernant les compléments alimentaires au sens réglementaire, tous confondus (vitamines/minéraux, extraits de plantes, etc.) :

**Tableau 1.** Répartition du marché des compléments alimentaires par circuit de distribution en 2013<sup>1</sup>

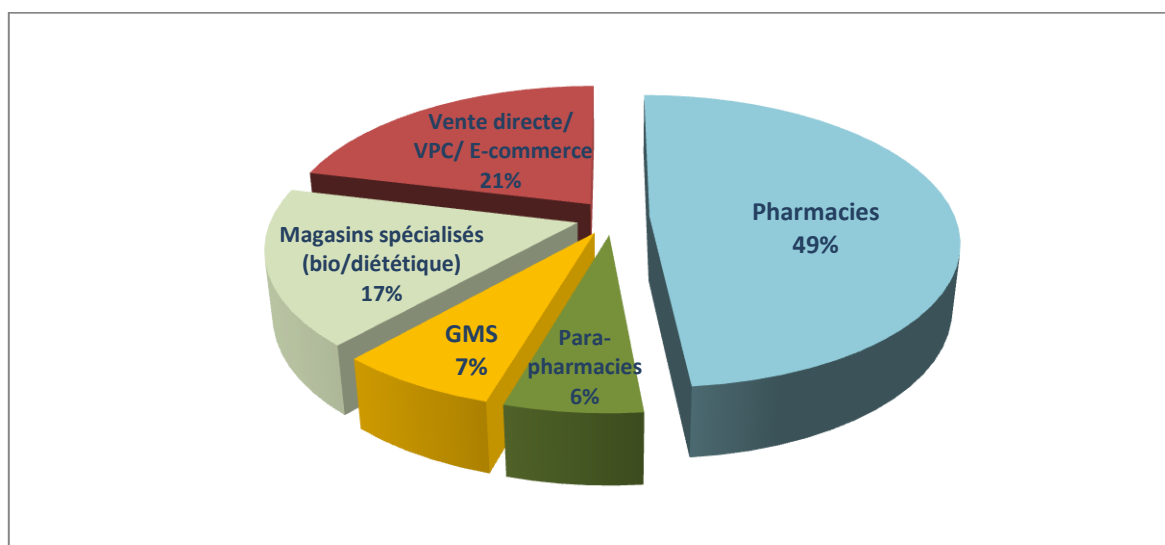
	CA 2013 (M€)	Variation 2012/2013
<b>TOTAL</b>	<b>1 353</b>	<b>+ 3,5%</b>
<b>Pharmacies<sup>2</sup></b>	648,9	+ 4,9%
<b>Parapharmacies<sup>2</sup></b>	87,6	+ 1,7%
<b>GMS<sup>3</sup></b>	92,1	- 0,5%
<b>Circuits spécialisés (bio/ diététique)<sup>4</sup></b>	237,0	+ 2,1%
<b>Vente directe (VD) / Vente par correspondance (VPC) / Vente à distance (VAD) / Ecommerce<sup>4</sup></b>	290,0	+ 3,0%

<sup>1</sup> Informations obtenues auprès du Syndicat de la Diététique et des Compléments Alimentaires

<sup>2</sup> IMS Health décembre 2013

<sup>3</sup> IRI Secodip census décembre 2013

<sup>4</sup> Distributeurs, FEVAD (Fédération e-commerce et vente à distance), FVD (Fédération de la vente directe)



Informations obtenues auprès du Syndicat de la Diététique et des Compléments Alimentaires

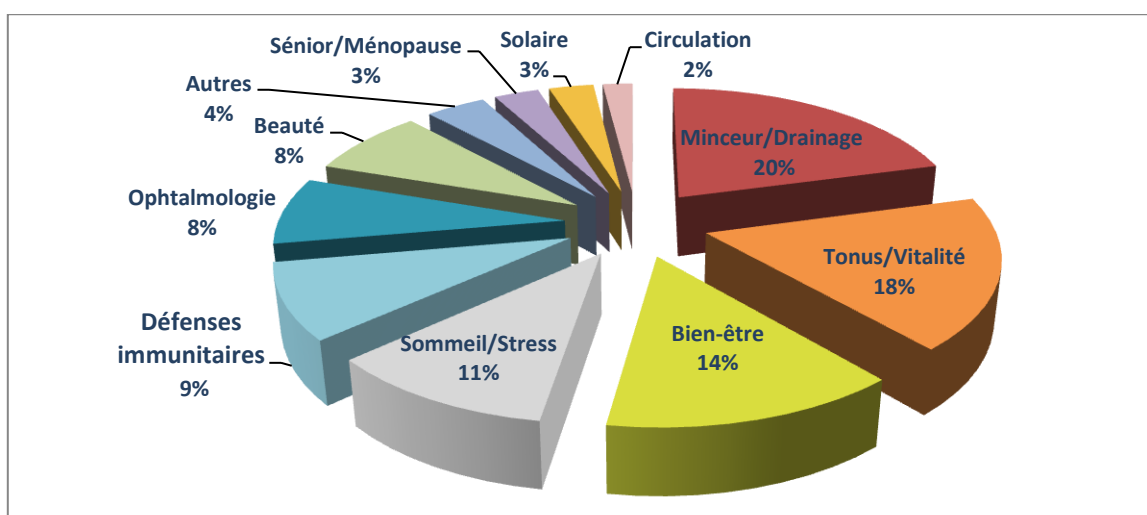
**Figure 2.** Répartition du marché des compléments alimentaires par circuit de distribution (%)

La pharmacie reste le premier circuit de vente de compléments alimentaires en France, devant les ventes directes/par correspondance/web, les magasins spécialisés, les grandes et moyennes surfaces, et les parapharmacies.

**Tableau 2.** Répartition des ventes en pharmacie par segments en 2013

SEGMENT	CA 2013 (K€)	Variation 2012/2013
<b>Minceur/Drainage</b>	135 316	+11,2%
<b>Tonus/Vitalité</b>	116 654	+14,3%
<b>Bien-être (grossesse, os, urinaire)</b>	89 771	-1,3%
<b>Défenses immunitaires</b>	58 084	+0,6%
<b>Beauté</b>	50 586	-2,8%
<b>Sommeil/Stress</b>	71 449	+13,8%
<b>Ophtalmologie</b>	49 695	-2,3%
<b>Sénior/Ménopause</b>	18 912	-16,4%
<b>Solaire</b>	17 502	-7,0%
<b>Circulation</b>	15 900	+8,8%
<b>Autres</b>	25 003	+2,7%
<b>TOTAL</b>	<b>648 873</b>	<b>+4,9%</b>

Informations obtenues auprès du Syndicat de la Diététique et des Compléments Alimentaires  
Source : IMS Health – Décembre 2013



Informations obtenues auprès du Syndicat de la Diététique et des Compléments Alimentaires  
Source : IMS Health – Décembre 2013

**Figure 3.** Répartition des ventes en pharmacie par segments (%)

En pharmacie, les segments de marché les plus fortement contributeurs à la croissance sont :

- Minceur, beauté et solaire : 32 % des ventes,
- Tonus et défenses immunitaires : 27%,
- Bien-être et sommeil : 25%.

Bien que la consommation de compléments alimentaires soit moins importante qu'aux Etats-Unis ou dans d'autres pays européens, on constate une augmentation progressive depuis ces 10 dernières années atteignant un niveau de consommation loin d'être négligeable. De ce fait, il est nécessaire d'évaluer plus en détails les pratiques de consommations de compléments alimentaires et la place que ces produits occupent dans les pratiques nutritionnelles des français.

### 3. Prise de compléments alimentaires en population générale et dans des groupes spécifiques

Il est fondamental de s'intéresser à la prise de compléments alimentaires et ses déterminants pour deux raisons. La première est que ces produits sont des sources potentiellement substantielles de nutriments et autres composés bioactifs et qu'il est donc important, dans une optique de santé publique de savoir qui en consomme, de quels types et dans quelles circonstances. La seconde est que, d'un point de vue méthodologique, il est important de comprendre comment les différents facteurs de risque potentiels (consommation de compléments alimentaires, alimentation, tabagisme, activité physique, prise de médicaments etc.) sont reliés entre eux, afin de mieux appréhender les phénomènes de confusion et d'interaction dans les études d'épidémiologie étiologique. Ce paragraphe présente l'état des lieux des connaissances sur la consommation de compléments alimentaires et ses déterminants dans différents groupes de populations.

#### A. Consommation de compléments alimentaires en population générale et chez les fumeurs

##### a. Une consommation bien établie dans plusieurs pays développés

La consommation de compléments alimentaires est largement répandue aux Etats-Unis<sup>3-5</sup>, au Canada<sup>6,7</sup> et en Australie<sup>8</sup> notamment, ainsi que dans plusieurs pays Européens<sup>9-15</sup>. Les définitions de compléments alimentaires et de consommateur de compléments, ainsi que les méthodes de mesures sont variables selon les études et les pays, il est donc difficile de fournir des chiffres parfaitement comparables de prévalences de consommation. Notamment, plusieurs études différencient les compléments vitaminiques/minéraux des autres types de compléments dans les prévalences de consommation qu'elles indiquent. Cependant, les chiffres suivants fournissent des ordres de grandeur :

-Aux Etats-Unis, selon l'étude NHANES III menée de 2007 à 2010 dans un échantillon représentatif d'adultes âgés d'au moins 20 ans<sup>3</sup> : 49% des sujets ont déclaré avoir consommé des compléments alimentaires durant le mois précédant l'enquête et près de 32% ont déclaré avoir pris au moins un complément contenant des vitamines et/ou minéraux. Dans le volet « Médecines alternatives et complémentaires » de l'étude NHIS réalisée en 2007<sup>4</sup>, 18% des sujets ont déclaré avoir consommé des compléments à base de plantes ou autres substances non vitaminiques/minérales au cours des 12 mois précédant l'enquête. Dans une étude menée sur deux cohortes, la « Nurses' Health Study » et la « Health Professionals Follow-Up Study », la prévalence de consommation de compléments alimentaires au moment des interviews, avait augmenté de 17% chez les femmes et de 25% chez les hommes entre 1986 et 2006. Cette prévalence atteignait 88,3% des femmes et 80,7% des hommes<sup>5</sup>.

-Au Canada, selon l'étude représentative « Canadian Community Health Survey » conduite en 2004 auprès de 34 381 sujets (publiée en 2010), 34% des hommes et 47% des femmes ont déclaré prendre au moins un complément vitaminique/minéral dans le mois précédant l'enquête, la plus forte prévalence de consommation de compléments (60%) ayant été observée pour les femmes de 71 ans et plus<sup>6</sup>. Dans l'étude du « Tomorrow Project » de 2000, sur un échantillon de 12 506 adultes âgés de 35-79 ans, 68% des sujets ont déclaré prendre au moins un complément alimentaire au moins une fois par semaine au cours de l'année précédant l'étude<sup>7</sup>.

-En Australie, dans une étude menée en 2005 chez 1200 sujets de plus de 65 ans, 43% ont déclaré prendre au moins un complément alimentaire au moment de l'enquête<sup>8</sup>.

-Dans l'étude nationale japonaise NILS-NSA (National Institute for Longevity Sciences Longitudinal Study of Aging) conduite en 2002 (publiée en 2006) sur 2259 sujets âgés de 40-82 ans, 55% des hommes et 61% des femmes ont déclaré avoir pris au moins un complément alimentaire au cours de l'année précédant l'enquête<sup>16</sup>.

-En Angleterre, le volet adulte de l'étude NDNS (National Diet and Nutrition Survey) menée de 2008 à 2011, sur un échantillon représentatif, montre qu'environ 23% des sujets âgés de 19-64 ans et 39% des adultes de plus de 65 ans ont déclaré avoir consommé au moins un complément lors d'un enregistrement alimentaire sur 4 jours<sup>10</sup>.

-Au Danemark, selon une étude nationale représentative de 2004, réalisée sur 4479 adultes de 18-75 ans, 60% des femmes et 51% des hommes ont déclaré une consommation habituelle d'au moins un complément vitaminique/minéral lors de l'interview<sup>12</sup>.

-En Allemagne, dans la partie nutritionnelle de l'étude représentative "German National Health Interview and Examination Study" de 1998, environ 37,8% des hommes et 48,1% des femmes de 18-79 ans (n=4030) ont déclaré prendre des compléments vitaminiques/minéraux au moins une fois sur la période d'observation de 12 mois<sup>17</sup>. Dans l'étude EPIC-Heidelberg réalisée en 1994-1998, 47% des femmes et 41% des hommes ont déclaré prendre un complément alimentaire au moins pendant 4 semaines au cours de l'année précédant l'enquête<sup>13</sup>.

-En Suisse, dans une étude représentative conduite en 2010 sur 6189 adultes, 41,5% des sujets ont déclaré avoir consommé au moins un complément vitaminique/minéral dans un fréquentiel alimentaire au cours de l'année précédant l'enquête<sup>14</sup>.

-En Espagne, dans une étude transversale représentative de 2005, incluant 6352 sujets âgés de 35-80 ans, 9,3% des participants ont déclaré avoir consommé au moins un complément alimentaire au cours des 12 derniers mois dans un fréquentiel alimentaire<sup>15</sup>.

-Selon l'Etude EPIC (European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition) menée entre 1995 et 2002 dans dix pays européens (Grèce, Espagne, Italie, France, Allemagne, Pays-Bas, Royaume-Uni, Danemark, Suède et Norvège), la prévalence de consommation de compléments alimentaires recueillie par des rappels de 24h variait fortement entre les pays du Nord et du Sud, avec la plus forte consommation au Danemark (51,0% des hommes et 65,8% des femmes) et la plus faible consommation en Grèce (2,0% des hommes, 6,7% des femmes)<sup>9</sup>.

Notons que dans tous ces pays, la prévalence peut être nettement plus importante dans des groupes de populations spécifiques comme les femmes et les individus âgés. En résumé, la consommation de compléments alimentaires concerne une proportion importante de la population dans de nombreux pays développés, en particulier sur le continent Nord-Américain. En Europe, la consommation de compléments alimentaires varie selon les pays avec des prévalences plus importantes dans les pays situés au Nord de l'Europe.

## b. Une consommation également importante en France

Quelques données sur la prévalence de consommation de compléments alimentaires sont disponibles dans la population générale française :

-L'étude INCA 2 (Etude individuelle Nationale sur les Consommations Alimentaires), réalisée sur un échantillon représentatif de la population vivant en France entre 2006 et 2007 (n=2624 d'adultes dont 58,6% de femmes)<sup>18;19</sup>, a montré que près de 20% des adultes français avaient consommé un complément alimentaire (au sens réglementaire) au moins une fois durant les 12 derniers mois (27% chez les femmes et 13% chez les hommes). Ces données ont été publiées sous forme de rapport mais aucune publication scientifique internationale n'a été réalisée<sup>18</sup>.

-Le Baromètre Santé Nutrition conduit par l'INPES (Institut National de Prévention et d'Education pour la Santé) entre 1996 et 2008<sup>20</sup> sur un échantillon représentatif des adultes français a montré une augmentation de la consommation d'au moins un complément vitaminique/minéral dans les quinze jours précédant l'enquête entre 1996 et 2008 chez les 18-75 ans (de 9,6 % à 17,0 %). Ces données sont également disponibles sous la forme d'un rapport en langue française mais n'ont pas été valorisées à l'international.

- Dans la cohorte E3N (Etude Epidémiologique de Femmes de la Mutuelle Générale de l'Education Nationale, MGEN) incluant des femmes âgées de 40 à 65 ans<sup>21</sup>, 36% de celles qui ont répondu au questionnaire « compléments alimentaires » en 2000 ont déclaré prendre un complément vitaminique/minéral au moins trois fois par semaine.

Les comportements relatifs à la santé et à l'alimentation peuvent varier d'un pays à l'autre, il est donc important de mener des études nationales sur la consommation de compléments alimentaires. Traditionnellement en France, la consommation de compléments alimentaires n'est pas aussi répandue que dans certains pays européens ou aux Etats-Unis, ce qui est dû en partie à des différences importantes de comportements alimentaires. Les quelques données existantes pour la France sont basées soit sur de petits échantillons<sup>22</sup> excluant des analyses spécifiques par groupes de population particuliers, soit sur des données anciennes<sup>23;24</sup>, et/ou n'ont pas été disséminées internationalement<sup>18;19;25</sup>. Ces études suggèrent que des facteurs sociodémographiques, alimentaires et de mode de vie tels qu'une plus grande consommation de fruits et légumes, un indice de masse corporelle (IMC) plus faible et un niveau d'activité physique plus élevé seraient corrélés à une plus forte consommation de compléments alimentaires. Les données concernant la prise de compléments et ses facteurs associés manquent dans des sous-groupes de population, comme les fumeurs pour lesquels les effets à long terme de certains compléments alimentaires pourraient augmenter le risque de cancers<sup>26-28</sup>. En outre, on manque d'information sur le rôle des professionnels de santé dans les motivations d'achats de compléments alimentaires (versus automédication).

## **B. Consommation de compléments alimentaires chez les femmes enceintes**

La grossesse est une période physiologique particulière qui entraîne une augmentation des besoins nutritionnels. Alors que les besoins nutritionnels de la population générale peuvent être satisfaits par une alimentation équilibrée, le risque d'insuffisance d'apports est plus fréquent chez la femme enceinte<sup>29</sup> et les compléments alimentaires pourraient, sous supervision médicale, contribuer à la couverture des besoins en certains nutriments essentiels pour le bon déroulement de la grossesse, comme l'acide folique, le fer, la vitamine D ou l'iode.

Par exemple, en France comme dans d'autres pays, on recommande un apport journalier de 0,4 mg/j d'acide folique avant la conception et en début de grossesse pour diminuer le risque d'anomalies de fermeture du tube neural et pour prévenir l'apparition d'anémie mégaloblastique chez la mère<sup>30-35</sup> au cours de la grossesse. En 2011, l'incidence des anomalies de fermeture du tube neural était estimée à 1 cas pour 1000 naissances en France<sup>36</sup>, alors que plus de 200 cas pourraient être évités chaque année en augmentant les apports en acide folique<sup>37</sup>. Par conséquent, certains pays ont choisi de procéder à des programmes d'enrichissement des aliments en acide folique<sup>38</sup>. D'autre part, l'anémie qui résulte d'une déficience en fer dans 2/3 des cas, est un facteur de risque d'accouchement prématuré, de faible poids de naissance et de troubles cognitifs chez l'enfant<sup>39;40</sup>. Dans les pays développés, la prévalence de l'anémie est estimée à environ 5 % avant la grossesse et a tendance à tripler au cours de la grossesse<sup>41</sup>. Par ailleurs, un taux insuffisant de vitamine D pourrait favoriser la survenue de pré-éclampsie, de diabète gestationnel, d'accouchement prématuré, de faible poids de naissance, et de faible minéralisation osseuse chez le fœtus<sup>42</sup>. Enfin, une carence en iode est associée à l'apparition de goitres maternel et fœtal, au crétinisme, à une déficience intellectuelle, à une hypothyroïdie néonatale, et à un risque accru de fausse couche et de mortalité infantile<sup>43</sup>. Par conséquent, une supplémentation modérée et contrôlée en acide folique, fer, vitamine D et iode est recommandée chez les femmes enceintes à risque d'insuffisance nutritionnelle.

A l'inverse, certaines supplémentations sont inutiles en l'absence de pathologie et devraient être évitées<sup>44</sup>. Par exemple, des apports excessifs en rétinol<sup>45</sup> et vitamine E<sup>46</sup> pourraient engendrer de sérieux effets délétères sur le développement du fœtus.

Enfin, selon les Origines Développementales de la santé et des maladies (DOHaD)<sup>47</sup>, l'exposition aux facteurs nutritionnels in utero pourrait avoir des conséquences majeures sur la santé au cours de la vie, notamment grâce à des mécanismes épigénétiques<sup>48;49</sup>.

Malgré cet enjeu majeur de santé publique, peu d'informations sont disponibles sur la consommation de compléments alimentaires chez les femmes enceintes dans le monde<sup>32;50-54</sup> et aucune étude n'a été réalisée en France. Dans les pays développés, la consommation de compléments alimentaires est largement répandue chez les femmes enceintes: 75% au Japon<sup>63</sup>, 80% au Canada<sup>55</sup>, 78-96% aux USA<sup>51;56;57</sup> ainsi qu'en Europe (85-87% en Finlande<sup>56;58</sup>, 93% en Allemagne<sup>56</sup>, 89% en Suède<sup>56</sup>) et la prise d'acide folique est souvent en tête des consommations de compléments<sup>51;55-57;59</sup>. Des études conduites dans différents pays ont montré que la consommation de compléments était plus fréquente chez les femmes enceintes plus âgées<sup>52;56;58;60</sup>, plus éduquées<sup>52;53;56;58;60</sup>, non-fumeuses et primipares<sup>52;56</sup>. En outre, on manque d'informations sur les différences d'apports nutritionnels entre les consommatrices et les non-consommatrices de compléments. Si cette consommation est en effet associée à des facteurs socio-démographiques, économiques, de mode de vie et alimentaires, il est nécessaire d'évaluer plus précisément ces associations afin de mieux cibler les recommandations nutritionnelles en matière de supplémentation pendant la grossesse.

### C. Consommation de compléments alimentaires chez les sujets atteints de cancer ou en rémission

Désespérés par leur maladie et parfois face à l'échec de la médecine traditionnelle, les patients atteints de cancer s'orientent parfois vers les médecines complémentaires et alternatives, dont la prise de compléments alimentaires. Or l'impact des compléments alimentaires sur le pronostic de cancer, et le risque de récurrence ou de second cancer reste mal connu<sup>61</sup>. Bien que des effets bénéfiques des compléments alimentaires au cours ou après les traitements anti-cancer ne soient pas exclus<sup>62-64</sup>, certaines études ont suggéré des effets délétères de certains compléments alimentaires sur le pronostic de cancer<sup>61;65-68</sup>. A l'heure actuelle, il est recommandé aux patients atteints de cancers hormonodépendants d'éviter la prise de compléments à base de phytoestrogènes<sup>61;65-68</sup>. De même, les compléments à base de  $\beta$ -carotène ne devraient pas être consommés chez les fumeurs, qu'ils soient atteints de cancer ou en bonne santé<sup>27;69;70</sup>. De plus, certaines études montrent que les compléments alimentaires à base de plantes et vitamines/minéraux sont susceptibles d'interagir avec les traitements anti-cancer ou autres traitements en cours<sup>71-74</sup>, ce qui peut s'avérer d'autant plus problématique si les médecins n'ont pas connaissance de ces pratiques d'automédication chez leurs patients. Selon une récente revue de la littérature américaine, 56% à 68% des médecins n'ont pas connaissance des pratiques de consommations de compléments alimentaires chez leurs patients<sup>75</sup>.

Dans ce contexte, il est fondamental d'évaluer les pratiques d'automédication par les compléments alimentaires chez les personnes ayant un cancer ou en rémission. Quelques études descriptives ont été publiées à l'étranger, notamment aux Etats-Unis<sup>65;75-80</sup>. Une revue récente montre que la prise de compléments alimentaires dans cette population est très importante aux Etats-Unis. Les prévalences varient entre 64 % et 81 % pour l'utilisation de compléments alimentaires vitaminiques et minéraux (contre environ 50 % dans la population générale)<sup>75</sup>. Entre 14% et 32% des individus ayant survécu à un cancer ont commencé la prise de compléments alimentaires après le diagnostic de leur maladie<sup>75</sup>. En Europe, quelques études ont fourni des informations sur la prise de compléments alimentaires chez les patients atteints de cancer et ont montré des prévalences de consommation de compléments entre 9% et 48% selon les pays<sup>81-87</sup>.

Certaines études ont rapporté que des caractéristiques socio-démographiques et de mode de vie telles que le sexe féminin et des niveaux d'éducation et de revenus plus élevés étaient associés à une plus forte prise de compléments alimentaires chez les patients atteints de cancer<sup>75;77;88</sup>.

En France, la consommation de compléments alimentaires n'est pas aussi répandue que dans les pays anglo-saxons. Les perceptions et attitudes vis-à-vis de l'alimentation sont également variables selon les pays. Toutefois, trois études fournissent quelques pistes d'informations sur la consommation de compléments alimentaires chez des patients atteints de cancer en France, mais aucune n'a été publiée dans une revue internationale. La première est une étude préliminaire conduite par le Pr Bachmann au CRLCC de Lyon<sup>89</sup>. Elle portait sur 117 patientes françaises atteintes de cancer du sein ; 47% d'entre elles avaient consommé des compléments alimentaires au cours de l'année précédente. Le second travail français est une étude sociologique conduite par l'équipe du Pr Schraub qui portait sur un petit échantillon de patients atteints de cancer toutes localisations confondues (n=46)<sup>90</sup>. Dans cette étude, 11 patients avaient déclaré prendre des vitamines lors des entretiens semi-dirigés, principalement de la vitamine C. Enfin dans la troisième étude menée par le Dr Simon sur 244 malades atteints de cancer toutes localisations confondues en cours de chimiothérapie, 17,6% ont déclaré consommer des compléments<sup>91</sup>. Les données disponibles sur la prise de compléments alimentaires chez les patients atteints de cancer en France sont



donc très limitées car elles portent soit sur un nombre restreint de sujets, soit sur des données relativement imprécises sur la prise de compléments (questionnaire peu détaillé, absence d'information sur les doses des produits consommés, etc.). Le contexte français a des particularités qui rendent nécessaires des travaux spécifiques, dans un contexte de disponibilité grandissante des compléments alimentaires dans les circuits de distribution classiques mais aussi via Internet.

#### **4. Epidémiologie étiologique et mécanistique des relations entre compléments alimentaires et risque de cancers : modulation de certaines associations par les compléments alimentaires**

Les cancers sont des pathologies multifactorielles pour lesquelles la nutrition est reconnue comme un facteur de risque (ou protecteur) majeur<sup>92</sup>. La prévention primaire des cancers est un enjeu de santé publique important et l'alimentation (dont la consommation de compléments alimentaires) représente un levier d'action stratégique car il s'agit d'un facteur modifiable. Les derniers travaux de synthèse du World Cancer Research Fund (WCRF) permettent de dresser le bilan des connaissances sur les relations entre nutrition et cancer<sup>92-97</sup>. Dans ce contexte, les compléments alimentaires représentent une exposition nutritionnelle majeure, dont les liens avec le risque de cancer restent globalement très mal connus.

##### **A. Consommation de compléments alimentaires et risque de cancers**

La consommation de certains nutriments ou substances contenus dans les compléments alimentaires pourrait agir directement en augmentant ou en diminuant le risque de cancers. L'étude du lien direct entre la consommation de compléments alimentaires et le risque de cancer ne faisant pas partie des objectifs de cette thèse (cf. Chapitre Perspectives), le paragraphe suivant présentera seulement brièvement l'état des lieux des connaissances dans ce domaine.

##### **a. Compléments alimentaires à base de $\beta$ -carotène et risque de cancers du poumon et gastrique: un lien avéré pour le cancer du poumon et suggéré pour le cancer gastrique**

Le  $\beta$ -carotène est un pigment de la famille des caroténoïdes, précurseur de la vitamine A. En France, d'après l'arrêté de 2006, les apports en  $\beta$ -carotène présent dans les compléments alimentaires ne doivent pas dépasser 800  $\mu$ g d'équivalent rétinol par jour (soit 4,8 mg/j de  $\beta$ -carotène, si l'on considère un facteur de conversion 1/6 pour le passage du rétinol alimentaire en vitamine A).

Depuis les deux grandes études d'intervention CARET<sup>98</sup> et ATBC<sup>26</sup> dans les années 90, plusieurs études ont montré une augmentation de risque de différents cancers en liens avec la prise de compléments alimentaires à base de  $\beta$ -carotène<sup>27;69</sup>. Dans le cadre du rapport WCRF/AICR de 2007<sup>92</sup>, le niveau de preuve global concernant le lien entre la consommation de compléments alimentaires à base de  $\beta$ -carotène et le risque de cancer du poumon a été jugé « convaincant » et a permis de conclure à une augmentation de risque de cancer du poumon associée à la prise de compléments alimentaires de  $\beta$ -carotène à fortes doses chez les fumeurs. Les résultats des nouvelles méta-analyses postérieures aux rapports du WCRF<sup>92-97</sup> confirment une augmentation de risque de cancer du poumon avec un niveau de preuve convaincant<sup>27;99;100</sup> et de cancer de l'estomac avec un niveau de preuve suggéré<sup>27;101</sup>,

associée à la consommation de compléments alimentaires à base de  $\beta$ -carotène à fortes doses, en particulier chez les fumeurs et les sujets exposés à l'amiante. Les résultats disponibles pour les autres localisations de cancer<sup>27;99;101-109</sup> ne permettent pas encore de conclure quant à la relation entre consommation de compléments alimentaires à base de  $\beta$ -carotène et risque de ces différents cancers.

Les mécanismes suivants semblent être impliqués dans l'augmentation de risque de certaines localisations de cancer associée à une supplémentation en  $\beta$ -carotène. Le  $\beta$ -carotène à fortes doses aurait un effet co-cancérogène en augmentant l'activation de pro-cancérogènes du tabac en molécules cancérogènes via l'activation des enzymes de phase I du métabolisme des xénobiotiques, telles que les cytochromes P450. De plus, le bêta-carotène exercerait un effet pro-oxydant car l'activation de ces enzymes s'accompagne de la production de radicaux libres<sup>110</sup>. En outre, la présence concomitante des radicaux libres issus de la fumée de cigarette et de  $\beta$ -carotène résulte en un clivage de celui-ci en nombreux composés instables, qui peuvent ensuite intervenir dans un processus d'oxydation. Enfin, combiné au condensat de fumée de cigarette, le  $\beta$ -carotène pourrait contribuer à réduire l'expression d'une protéine de réponse au stress cellulaire (hème oxygénase 1), réduction associée à une moindre production d'agents empêchant la prolifération cellulaire<sup>111</sup>.

Cependant, certaines questions restent encore en suspens et de nouvelles études prospectives et essais d'intervention sont nécessaires pour investiguer ces aspects :  
Quel est l'effet des compléments alimentaires de  $\beta$ -carotène à doses nutritionnelles sur le risque de cancers, notamment chez les fumeurs et les personnes exposées à l'amiante ?  
A partir de quelle dose de tabac l'interaction délétère avec le  $\beta$ -carotène sur le risque de cancers est-elle observée ? Les fumeurs irréguliers sont-ils également concernés ?  
La consommation de compléments alimentaires de  $\beta$ -carotène et le tabagisme doivent-ils nécessairement être simultanés pour que l'interaction délétère observée sur le risque de cancer du poumon et de l'estomac se produise ?  
Quoi qu'il en soit, dans l'état actuel des connaissances, il est fortement déconseillé aux fumeurs de consommer des compléments alimentaires à base de  $\beta$ -carotène<sup>92;112</sup>.

#### *b. Compléments alimentaires à base de phytoestrogènes et cancers hormono-dépendants*

En France, les compléments alimentaires à base de phytoestrogènes sont en majorité composés d'extraits d'isoflavones de soja, généralement à des doses journalières inférieures à 40 mg d'isoflavones. Ces molécules sont capables de se lier aux récepteurs des œstrogènes avec lesquels elles peuvent jouer un rôle agoniste ou antagoniste en fonction de facteurs tels que le niveau œstrogénique endogène<sup>113</sup>. Les études récemment publiées concernant les effets secondaires de certains traitements hormonaux de la ménopause pourraient induire un engouement accru des consommateurs pour les phytoestrogènes. En effet, les compléments alimentaires contenant des isoflavones sont généralement vendus avec des allégations fonctionnelles comme permettant de réduire les troubles liés à la ménopause, principalement les bouffées de chaleur, ainsi que les risques d'ostéoporose. Mais la consommation de phytoestrogènes dans les compléments alimentaires isolés de leurs aliments source pourraient ne pas apporter de bénéfice nutritionnel particulier et ces allégations restent à démontrer<sup>68</sup>.

Par ailleurs, le rôle des phytoestrogènes sur le risque de récurrence de cancer hormono-dépendants ou ses effets sur les traitements du cancer restent controversés<sup>114</sup>. Des études expérimentales ont montré que les isoflavones peuvent favoriser la prolifération et la croissance de tumeurs mammaires hormono-dépendantes<sup>114-116</sup>, suggérant un risque

potentiel pour les personnes ayant des antécédents personnels ou familiaux de cancers du sein hormono-dépendants.

Par ailleurs, des études expérimentales ont mis en évidence des risques d'interactions entre les phytoestrogènes et d'autres traitements hormonaux (tamoxifène par exemple) pouvant exacerber ou neutraliser ces traitements<sup>117-120</sup> mais les quelques études épidémiologiques existantes à ce sujet n'ont pas rapporté de tels effets délétères<sup>121-124</sup>.

Ainsi, en l'état actuel des connaissances, la consommation de compléments alimentaires à base de phytoestrogènes est déconseillée par l'ANSES en cas de cancers hormono-dépendants (sein, utérus, ovaires, prostates, testicules). Il en va de même lors d'un traitement à base de tamoxifène et de létrozole<sup>68</sup>.

### c. *Autres compléments alimentaires et risque de cancers : des effets qui restent à investiguer*

Différents travaux ont étudié les liens entre la consommation de compléments alimentaires de différents types (vitamines, minéraux, autres substances, seules ou combinées) et le risque de cancers. Nous présentons ici un état des lieux des résultats des études épidémiologiques prospectives sur les relations entre supplémentation en vitamines et/ou minéraux (seuls ou combinés) et risque de cancers.

Si les antioxydants contenus dans l'alimentation ont fréquemment été associés à une diminution de risque de certains cancers<sup>92</sup>, des effets opposés ont été mis en évidence avec la prise de compléments alimentaires dans certains contextes, notamment à dose élevée et/ou en interaction avec d'autres expositions. Depuis les publications alarmantes d'effet délétère chez des sujets supplémentés en  $\beta$ -carotène dans les cohortes CARET et ATBC<sup>26,98</sup>, de plus en plus de publications ont décrit une augmentation inattendue du risque de cancer chez des consommateurs de certains compléments alimentaires (à base de  $\beta$ -carotène ou non). Par exemple, dans la cohorte SMC (Swedish Mammography Cohort), la consommation de compléments alimentaires multivitaminiques était associée à une augmentation de l'incidence du cancer du sein<sup>125</sup>.

Dans l'étude SU.VI.MAX<sup>126</sup>, un apport en vitamines et minéraux antioxydants à doses nutritionnelles pendant 7,5 ans a entraîné une augmentation du risque de cancer de la prostate chez les hommes dont les taux de PSA étaient élevés. Chez les femmes, la supplémentation s'est accompagnée d'un effet défavorable pour le cancer de la peau<sup>127</sup>.

Une étude publiée fin 2011 dans Archives of Internal Medicine, menée auprès de 40 000 femmes âgées, suggérait que la prise de suppléments vitaminiques et minéraux pouvait accroître le risque de décès de 3 à 18 %<sup>128</sup>.

Dans l'étude WHI (Women's Health Initiative)<sup>129</sup>, 36 282 femmes ménopausées ont été randomisées pour recevoir 1 g de calcium + 400 UI de vitamine D sous forme de compléments pendant 7 ans. Le suivi post-intervention a continué pour 86% d'entre elles. Cinq ans après la fin de l'intervention, une diminution du risque de cancer du sein *in situ* a été observée dans le groupe supplémenté alors qu'une augmentation du risque de cancer du sein invasif a été observée chez les femmes dont les apports en vitamine D étaient supérieurs à 600 UI par jour.

La prise de compléments alimentaires en automédication pourrait donc poser un problème dans certaines populations spécifiques telles que les fumeurs ou anciens fumeurs (ces derniers semblant être particulièrement consommateurs de ce type de produits<sup>130</sup>), ou chez des sujets ayant ou ayant déjà eu un cancer ou présentant des tumeurs infra-cliniques.

D'autres études suggèrent un effet bénéfique ou une absence d'effet de ces produits sur le risque de cancer. Une récente méta-analyse basée sur plus de 20 essais cliniques randomisés n'a montré aucun effet bénéfique d'une supplémentation en vitamines et minéraux sur le risque de cancer<sup>131</sup>, et seul deux essais cliniques ont trouvé un léger bénéfice (à la limite de la significativité) d'une supplémentation en multivitamines sur le risque de cancers chez les hommes uniquement.

En 2013, une méta-analyse basée sur 13 essais cliniques et incluant près de 50000 individus, n'a montré aucun effet de la supplémentation en acide folique après 5 ans d'intervention sur l'incidence du cancer toutes localisations et par localisation de cancer (sein, prostate, colorectal et autres)<sup>132</sup>. Une autre méta-analyse de 2013, basée aussi sur 13 essais cliniques randomisés a également montré que la supplémentation en acide folique n'avait aucun effet sur l'incidence du cancer total, colorectal, de la prostate, du poumon, du sein et hématologique mais qu'elle diminuait le risque de mélanome<sup>133</sup>.

Dans l'étude d'intervention NPC (Nutritional Prevention of Cancer Trial)<sup>134</sup> dans laquelle les sujets du groupe d'intervention avaient reçu 200 mg/jour de sélénium sous forme de compléments, la supplémentation en sélénium était associée à une diminution du risque de cancer de la prostate. Au contraire, dans l'étude SELECT (Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial)<sup>135</sup> dans laquelle les sujets ont reçu 200 µg de sélénium + placebo, 400 mg d'α-tocophérol + placebo, 200 µg sélénium + 400 mg d'α-tocophérol ou deux placebos, aucune association entre la supplémentation en sélénium et le risque de cancer de la prostate n'a été mise en évidence.

L'hétérogénéité des résultats dans les études épidémiologiques prospectives soulève la complexité des liens entre la consommation de compléments alimentaires et le risque de cancers. Le design, les doses de suppléments ingérées et la durée d'exposition sont autant de facteurs qui peuvent influencer ces résultats. Ainsi, de nouvelles études de cohortes prospectives et essais cliniques randomisés bien conduits sont nécessaires pour mieux élucider les relations entre les compléments alimentaires et le risque de cancers. Ces aspects font partie des perspectives de recherche que nous présentons en dernière partie mais ne faisaient pas l'objet de la présente thèse.

## **B. Modulation de certaines relations « Nutrition-Cancer » par une supplémentation en antioxydants**

Cette question constitue le cœur de la partie étiologique de mon travail de thèse. Certaines études sur les relations entre facteurs nutritionnels et risque de cancer présentent des résultats divergents dans la littérature, ce qui laisse présager l'existence de tiers facteurs qui pourraient moduler ces relations. C'est le cas par exemple des associations entre la consommation de viandes rouges et de charcuteries et le risque de cancer du sein, et entre les taux d'acides gras plasmatiques et le risque de différents cancers. Comme montré ci-après, les antioxydants pourraient jouer le rôle de ces facteurs modulateurs.

### **a. Consommation de viandes rouges et de charcuteries et risque de cancer du sein - modulation par une supplémentation en antioxydants**

Des études expérimentales supportent un rôle pro-carcinogène des viandes rouges et des charcuteries sur le développement du cancer du sein. En effet, ces aliments contiennent des substances mutagènes résultant de la préparation ou de la transformation des viandes : les amines hétérocycliques (AHC, dont les plus répandues sont les 2-amino-1-méthyl-6-phénylimidazo [4,5-b] pyridine (PhIP)), les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)

et les composés nitrosés (CNO), qui pourraient stimuler la carcinogenèse mammaire<sup>136-143</sup>. Les viandes rouges et charcuteries représentent également des sources importantes de fer héminique qui pourrait contribuer à l'initiation de la carcinogenèse via plusieurs mécanismes<sup>144-146</sup>.

Toutefois, il existe peu de données épidémiologiques sur les associations entre la consommation de viandes rouges et de charcuteries et le risque de cancer du sein, si bien que le WCRF en a conclu en 2008 à un degré de preuve « non-concluant » du fait du manque de données prospectives<sup>93</sup>. Depuis ce rapport, deux méta-analyses et une étude prospective ont été conduites<sup>147-149</sup>. La méta-analyse de Taylor, publiée en 2009, basée sur six études cas-témoins et quatre études de cohorte chez les femmes préménopausées<sup>148</sup> a suggéré une augmentation du risque de cancer du sein associée à la consommation de viandes rouges. La méta-analyse d'Alexander de 2010<sup>149</sup>, basée sur 18 cohortes, a montré une augmentation du risque de cancer du sein associée à la consommation de charcuteries et à la consommation de viandes rouges (chez les femmes ménopausées seulement). Enfin, une étude prospective n'a observé aucune association entre la consommation de différents types de viandes et le risque de cancer du sein<sup>147</sup>. Ainsi, aucun consensus n'a pu être établi jusqu'ici et de nouvelles études prospectives sont nécessaires pour élucider de manière plus approfondie les relations entre la consommation de viandes rouges et de charcuteries et le risque de cancer du sein.

En outre, d'autres facteurs pourraient interagir avec les viandes rouges et les charcuteries et ainsi moduler leur association avec le risque de cancer, ce qui expliquerait les résultats contrastés des études épidémiologiques. Des données mécanistiques sur des modèles animaux suggèrent que les antioxydants pourraient être de bons candidats pour ce rôle modulateur. Dans des modèles de rats, il a été démontré que l'ajout d'antioxydants au régime alimentaire (tels que des dérivés d' $\alpha$ -tocophérol ou d'acide ascorbique synthétique) exerçait une action chimio-préventive contre le PhIP initiateur de la carcinogenèse mammaire<sup>150-152</sup>. Cependant, à notre connaissance, aucune étude épidémiologique prospective n'avait précédemment étudié si l'association entre la consommation de viandes rouges et charcuteries et le risque de cancer du sein était modulée par une supplémentation en antioxydants.

#### ***b. Associations entre acides gras plasmatiques et risque de cancer – modulation par une supplémentation en antioxydants***

Des données mécanistiques suggèrent que les différents types d'acides gras alimentaires pourraient influencer de manière différentielle la carcinogenèse. Par exemple, il se pourrait que les acides gras polyinsaturés n-3 (AGPI n-3) soient impliqués dans plusieurs mécanismes qui contrecarreraient certains processus mis en jeu dans la carcinogenèse<sup>153;154</sup>. En revanche, il a été suggéré dans des modèles animaux, que les AGPI n-3 et n-6 pouvaient également générer des radicaux libres et des peroxydes lipidiques à effets génotoxiques<sup>155;156</sup>.

Toutefois, les données épidémiologiques sont encore contradictoires. Etant donné que l'estimation des apports alimentaires usuels en acides gras peut entraîner des erreurs de mesure<sup>157</sup>, l'utilisation des biomarqueurs sanguins des acides gras dans les études épidémiologiques apparaît comme une alternative stratégique<sup>158-160</sup>. Une méta-analyse publiée en 2004<sup>161</sup>, basée sur trois études de cohortes prospectives a montré que les AGPI n-3 étaient associés à une diminution du risque de cancer du sein, tandis que les acides gras monoinsaturés (AGMI), l'acide oléique et l'acide palmitique étaient associés à une augmentation du risque de cancer du sein. Depuis la publication de cette méta-analyse, des études prospectives sur la relation entre les acides gras circulants et le risque de cancer du

sein<sup>162-164</sup> ont montré des résultats contrastés. Des études prospectives ont également été publiées sur le cancer de la prostate<sup>165-171</sup> et d'autres localisations de cancers<sup>168;172;173</sup>, mais les résultats restent globalement contradictoires. Ainsi, de nouvelles études prospectives sont nécessaires.

En outre, les divergences observées dans la littérature épidémiologique suggèrent l'existence d'autres facteurs qui pourraient moduler la relation entre les acides gras circulants et le risque de cancer, expliquant l'hétérogénéité des résultats entre les différentes populations. Les données mécanistiques des modèles animaux suggèrent que les antioxydants alimentaires pourraient être de bons candidats pour ce rôle modulateur<sup>174-176</sup>. Il est possible que les effets de certains acides gras sur le risque de cancer puissent être annulés ou même inversés en présence d'antioxydants. Jusqu'à présent, peu d'études épidémiologiques ont été publiées sur ce sujet et leurs résultats sont contradictoires. Bien que deux études prospectives aient suggéré une association inverse entre des apports combinés en vitamine E et AGPI à fortes doses et le risque de cancer du sein<sup>177;178</sup>, une étude prospective réalisée dans la cohorte E3N n'a montré aucune interaction significative<sup>179</sup>. De plus, dans l'étude Alpha-Tocophérol et Bêta-Carotène (ATBC), la supplémentation en  $\alpha$ -tocophérol modifiait l'association entre l'acide linoléique sérique et le risque de cancer de la prostate<sup>180</sup>. Enfin, une étude cas-témoin rapportait une diminution du risque de cancer du sein associée à des apports élevés en acide arachidonique chez les femmes qui avaient de faibles apports alimentaires en vitamine E, mais une augmentation de risque chez les femmes qui avaient des apports élevés en acide arachidonique et en vitamine E<sup>181</sup>. A notre connaissance, aucune étude épidémiologique prospective n'a investigué si les associations entre les taux d'acides gras circulants et le risque de cancer au global et du sein étaient modifiées par une supplémentation en antioxydants.

### c. Associations entre caroténoïdes et rétinol plasmatiques et risque de cancer (tous cancers et cancer du sein)

Les caroténoïdes font partie d'une grande famille de différents pigments naturels variant du jaune au rouge et sont présents dans les fruits et les légumes. L' $\alpha$ -carotène, le  $\beta$ -carotène, la  $\beta$ -cryptoxanthine, la lutéine, la zéaxanthine et le lycopène sont les plus répandus, constituant 90% des caroténoïdes circulants<sup>182</sup>. Les études expérimentales sur modèles animaux ou lignées cellulaires suggèrent que les caroténoïdes et le rétinol pourraient jouer un rôle protecteur vis-à-vis de la carcinogénèse. Certains caroténoïdes présenteraient des propriétés anti-carcinogènes via différents mécanismes, mettant notamment en jeu leurs propriétés antioxydantes. De plus, ils pourraient améliorer la communication intercellulaire, stimuler l'immunité, et inhiber la tumorigénèse et la transformation maligne. Le rétinol, quant à lui, pourrait contribuer au processus de différenciation cellulaire<sup>183;184</sup>.

Toutefois, les études épidémiologiques sur les caroténoïdes circulants sont encore contradictoires. Concernant le risque de cancer du sein, une récente méta-analyse basée sur 12 études prospectives sur les caroténoïdes circulants a suggéré que le  $\beta$ -carotène, l' $\alpha$ -carotène, la lutéine et les caroténoïdes totaux étaient associés à une diminution du risque de cancer du sein<sup>102</sup>. Une récente analyse poolée<sup>185</sup>, basée sur 8 études prospectives a observé une diminution du risque de cancer du sein associée aux concentrations plasmatiques des mêmes caroténoïdes et du lycopène. En ce qui concerne les autres localisations de cancer, des études prospectives ont investigué les liens entre les caroténoïdes plasmatiques et le risque de cancer de la prostate<sup>186-195</sup> et d'autres cancers<sup>192;194;196-201</sup> mais les résultats sont globalement contradictoires. Ainsi, de nouvelles études prospectives sont nécessaires pour mieux élucider les associations entre les caroténoïdes circulants et le risque de cancer.

## 5. E-épidémiologie et méthodologie

De manière plus transversale, au cours de ma thèse, j'ai été également impliquée dans des travaux méthodologiques visant à améliorer les outils utilisés en e-épidémiologie nutritionnelle. Ces travaux méthodologiques sont nécessaires à la bonne conduite des études épidémiologiques descriptives ou étiologiques que j'ai menées par ailleurs et qui constituaient le cœur de mon travail de thèse.

Notre équipe de recherche est pionnière dans le champ de l'e-épidémiologie au niveau international. Cette technologie représente une avancée majeure en épidémiologie car elle offre l'opportunité de collecter un grand nombre de données sur de larges échantillons de sujets de manière automatisée. Toutefois, des travaux méthodologiques sont nécessaires dans ce domaine afin de mieux connaître les avantages et les limites de ces nouvelles méthodes. L'utilisation de questionnaires administrés via Internet dans les études épidémiologiques prospectives a augmenté progressivement ces dix dernières années<sup>202-212</sup>, motivée par une importante simplification logistique (rapport coût-efficacité optimal, flexibilité concernant le lieu et le moment de remplissage, saisie instantanée des données) et des avantages scientifiques considérables (amélioration de la qualité et de la quantité des mesures d'exposition, design d'études complexes, étude de sujets sensibles ou d'évènements rares), par rapport aux méthodes traditionnelles (questionnaires papiers, interviews en face à face). D'autres caractéristiques telles que le recrutement de très larges échantillons et de populations difficiles à atteindre (CSP moins favorisées, comportements à risque) constituent également des forces de l'e-épidémiologie<sup>213;214</sup>. Cette méthode de collecte de données est de plus en plus favorisée par l'augmentation de l'accès à Internet et de l'équipement des foyers en ordinateurs personnels<sup>203</sup>. Comme aux Etats-Unis<sup>215</sup>, 78% des foyers français ont aujourd'hui un accès à Internet à domicile<sup>216</sup> contre 54% en 2007<sup>217</sup>, et 83% ont un accès via leur téléphone portable<sup>216</sup>. Dans ce contexte, une question stratégique se pose : dans quelle mesure des compétences faibles en informatique et en utilisation d'Internet peuvent représenter un obstacle à la participation aux cohortes basées sur le web ? A notre connaissance, très peu d'études épidémiologiques basées sur Internet ont fourni des informations sur le niveau de compétences en informatique de leurs participants<sup>218</sup>.

Une autre question clé, pour laquelle aucune information n'est disponible dans la littérature, concerne les contraintes (« burden ») liées à la participation à une web-cohorte perçues par les participants en fonction de leur niveau de compétences en informatique. En effet, il a été démontré que la convivialité ressentie du site web de l'étude et le niveau de difficulté des web-questionnaires perçus par les sujets pouvaient avoir un impact majeur sur la participation aux études sur Internet<sup>219-221</sup>. Améliorer les connaissances dans ce domaine permettrait aux web-cohortes actuelles et futures, par exemple, d'améliorer et d'adapter le design de leurs questionnaires en fonction de la population cible.

## 6. Objectifs de ce travail de thèse

Les objectifs de ce travail de thèse étaient les suivants :

### A. Première partie – Epidémiologie descriptive

- Evaluer de manière détaillée la consommation de compléments alimentaires en population générale et dans des groupes spécifiques (fumeurs, femmes enceintes, sujets atteints de cancer ou en rémission) chez les participants d'une large web-cohorte (l'étude NutriNet-Santé).
- Identifier les facteurs socio-démographiques, de mode de vie et alimentaires associés à la consommation de compléments alimentaires
- Evaluer le rôle du médecin et la part d'automédication dans les motivations d'achat des compléments alimentaires
- Identifier les pratiques de consommation de compléments alimentaires potentiellement « à risque » et spécifiques à chaque groupe de population

### B. Deuxième partie - Epidémiologie étiologique

- Etudier l'effet modulateur potentiel d'une supplémentation en antioxydants sur les relations nutrition-cancer suivantes dans la cohorte SU.VI.MAX (Supplémentation en Vitamines et Minéraux Anti-oXydants) :
  - ✓ Relation entre la consommation de viandes rouges et de charcuteries et le risque de cancer du sein
  - ✓ Relation entre les taux plasmatiques d'acides gras et le risque de cancer (toutes localisations et du sein)
- Etudier de manière prospective les relations entre les taux plasmatiques de caroténoïdes et de rétinol et le risque de cancer (toutes localisations et du sein)

### C. Troisième partie – Travaux méthodologiques en e-épidémiologie

- Evaluer les compétences en informatique et en utilisation d'Internet des participants de l'étude NutriNet-Santé afin de déterminer dans quelle mesure des compétences faibles dans ces deux domaines peuvent représenter un obstacle à la participation aux études basées sur le web
- Comparer les attitudes des sujets face aux contraintes liées à la participation à une web-cohorte selon leurs compétences informatiques et leurs caractéristiques sociodémographiques.

Pour l'ensemble des analyses réalisées dans le cadre de cette thèse (sauf mention contraire), tous les tests statistiques étaient bilatéraux et considérés statistiquement significatifs pour une p-value <0,05. Les analyses ont été réalisées avec le logiciel SAS (version 9,3).



Première partie – Epidémiologie  
descriptive : consommation de  
compléments alimentaires en  
population générale et dans des  
groupes spécifiques

---

Cette première partie a fait l'objet de trois publications dans des revues à comité de lecture (deux publiées et une soumise):

**Pouchieu C**, Andreeva VA, Péneau S, Kesse-Guyot E, Lassale C, Hercberg S, Touvier M. Sociodemographic, lifestyle and dietary correlates of dietary supplement use in a large sample of French adults: results from the NutriNet-Santé cohort study. *Br J Nutr.* 2013 Oct; 110(8):1480-91.

**Pouchieu C**, Lévy R, Faure C, Andreeva VA, Galan P, Hercberg S, Touvier M. Socioeconomic, lifestyle and dietary factors associated with dietary supplement use during pregnancy. *PLoS One.* 2013 Aug 13; 8(8):e70733.

**Pouchieu C**, Fassier P, Latino-Martel P, Druesne-Pecollo N, Zelek L, Bachmann P, Touillaud M, Bairati I, Hercberg S, Galan P, Cohen P, Touvier M. Dietary supplement use among cancer survivors of the NutriNet-Santé cohort study. Soumis.

Les objectifs des travaux réalisés dans cette première partie étaient:

- Evaluer de manière détaillée la consommation de compléments alimentaires en population générale et dans des groupes spécifiques (fumeurs, femmes enceintes, sujets atteints de cancer ou en rémission)
- Identifier les facteurs socio-démographiques, de mode de vie et alimentaires associés à la consommation de compléments alimentaires
- Evaluer le rôle du médecin et la part d'automédication dans les motivations d'achat des compléments alimentaires
- Identifier les pratiques de consommation de compléments alimentaires potentiellement « à risque » et spécifiques à chaque groupe de population

## 1. Population et méthodes

### A. L'étude NutriNet-Santé



L'étude NutriNet-Santé<sup>205</sup> est une grande étude de cohorte prospective d'observation portant sur une large population (plusieurs centaines de milliers de sujets visés). L'investigateur principal est le Pr Serge Hercberg, directeur de l'Equipe de Recherche en Épidémiologie Nutritionnelle (EREN). Les sujets sont des adultes de 18 ans et plus (dont la moitié environ a plus de 45 ans), recrutés par une vaste campagne multimédia grand public lancée le 11 mai 2009, relayée par de multiples canaux professionnels. L'inclusion dans la cohorte est ouverte et se poursuit actuellement. Les « Nutrinautes » sont suivis grâce au site Internet développé à cet usage ([www.etude-nutrinet-sante.fr](http://www.etude-nutrinet-sante.fr)). Tous les questionnaires sont conçus pour être remplis directement sur le site Internet, à l'aide d'une interface HTML sécurisée.

En parallèle des questionnaires sur Internet, un volet clinico-biologique est mis en place sur un sous-échantillon (19 000 sujets prélevés à ce jour, répartis sur tout le territoire de France métropolitaine). Ce volet comprend un examen clinique (pression artérielle, mesures anthropométriques, évaluation de la force musculaire, composition corporelle) ainsi que des prélèvements de sang (1 seule piqûre, 43 ml de sang) et d'urine. La centrifugation est effectuée sur place pour séparer le plasma, le sérum, le buffy-coat et les globules rouges. Les échantillons sont ensuite conservés à -80°C dans une biobanque située dans le sous-sol du laboratoire, à l'Université Paris 13.

Les prélèvements sanguins et urinaires ainsi collectés permettent l'évaluation de multiples biomarqueurs, via différents types d'analyses (génétique, protéomique, métabolique, biochimique, etc.). Le croisement des deux jeux de données (phénotypage fin des sujets via les questionnaires Internet et données clinico-biologiques) fait de cette biobanque une ressource exceptionnelle pour valider de nombreuses hypothèses, notamment en terme mécanistique, d'évaluation de biomarqueurs, et d'intégration de la dimension génétique dans diverses analyses.

L'étude NutriNet-Santé est financée par le Ministère de la Santé (DGS), l'INPES, l'InVS, la Fondation pour la Recherche Médicale, le CODDIM et du personnel de l'Inserm, l'Inra, du Cnam et de l'Université Paris 13.

La cohorte NutriNet-Santé a reçu un avis favorable du Comité de Qualification Institutionnelle (IRB Inserm 10 juillet 2008, n°IRB0000388 FWA00005831), du CCTIRS (11 juillet 2008, n°08.301) et de la CNIL (24 février 2009, n°908450), du CPP (20 avril 2010, n°2780), et de l'AFSSAPS (12 avril 2010, n°B100415-30). Un consentement électronique a été obtenu pour tous les sujets.

### B. Collecte des données

A l'inclusion et chaque année au cours du suivi, tous les sujets remplissent un dossier de base comprenant différentes parties « kit d'inclusion » : questionnaires alimentaires (3 enregistrements alimentaires de 24 heures répartis sur 15 jours), activité physique, anthropométrie, sociodémographique et de mode de vie et état de santé.



www.etude-nutrinet-sante.fr



Questionnaire activité physique



Questionnaire alimentaire



Questionnaire sociodémographique et mode de vie



Questionnaire anthropométrique



Questionnaire santé

Dans le cadre de leur surveillance, les Nutrinautes reçoivent chaque mois un e-mail automatisé les informant sur l'avancement de l'étude et sur les nouveaux questionnaires à remplir pour compléter leur dossier.

#### a. Données socio-démographiques, anthropométriques et activité physique

Le questionnaire sur les caractéristiques **sociodémographiques et de mode de vie** comporte des questions sur le statut matrimonial, le nombre d'enfants biologiques, le niveau d'éducation, la catégorie socio-professionnelle (CSP) et la consommation de tabac (type de tabac consommé, fréquence, usage passé du tabac et tabagisme passif).

Le questionnaire **anthropométrique** comporte, en plus des questions sur le poids et la taille, des questions sur l'histoire pondérale, la pratique de régimes restrictifs, l'auto-perception du poids et l'image corporelle évaluée par les silhouettes de Sorensen.

Le questionnaire sur **l'activité physique** est l'International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) en version française<sup>222</sup>. Il comporte trois parties portant sur l'activité physique intense, l'activité physique modérée et la marche, où le participant doit préciser le nombre de jours par semaine et la durée de chacune de ces activités.

Les versions auto-administrées sur Internet du questionnaire anthropométrique et du questionnaire sociodémographique ont été comparées au mode de passation traditionnel (versions papiers), montrant une très bonne concordance<sup>223;224</sup>.

#### b. Données sur l'état de santé

A l'inclusion et chaque année, un questionnaire permet de collecter des **informations sur l'état de santé** des Nutrinautes telles que le statut ménopausique, les grossesses et dates d'accouchement chez les femmes, la prise de médicaments (traitement hormonal de la ménopause, contraceptifs oraux, etc.), les antécédents personnels et familiaux de maladies, et la survenue de nouveaux événements de santé (maladies cardio-vasculaires, cancers, etc.)

De plus, au travers de **questionnaires de surveillance** réguliers (tous les 3 mois), les Nutrinautes sont invités à saisir tout nouvel événement de santé (hospitalisation, diagnostic, etc.). Les données concernant le statut vital et les causes de mortalité sont obtenues auprès

du CépiDC de l'Inserm. Les données de morbidité sont collectées via différentes sources. La principale source est la validation directe des événements déclarés par les sujets en collectant les comptes rendus anatomopathologiques et autres documents médicaux par un comité d'experts (médecins) qui valide chacun de ces événements majeurs. En outre, notre laboratoire a obtenu le droit, officialisé par un Décret en Conseil d'Etat de collecter le numéro de sécurité sociale des participants (NIR), permettant ainsi un chainage avec les données des bases médico-administratives telles que la base du SNIIRAM.

Les pathologies (dont les cancers) sont classées selon la classification internationale des maladies, 10<sup>ème</sup> édition (CIM-10)<sup>225</sup>. A ce jour, plus de 150 000 sujets sont inclus dans la cohorte NutriNet-Santé. Environ 1417 cas de cancers incidents ont déjà été enregistrés et validés.

### c. Données alimentaires

A l'inclusion, chaque année, et à mi-année, les apports alimentaires sont recueillis à l'aide de trois **enregistrements alimentaires de 24h**, non consécutifs et auto-administrés sur Internet. Les jours de recueils sont tirés au sort de façon aléatoire sur une période de 15 jours (deux jours durant la semaine et un jour de week-end). Toute consommation d'un aliment est associée à une prise alimentaire : 3 repas principaux (petit-déjeuner, déjeuner, dîner) et prises alimentaires hors repas (« Autres prises alimentaires »). Chaque prise alimentaire est associée à une heure et à un lieu qui sont enregistrés. Les participants doivent aussi indiquer les marques des aliments consommés car il peut exister une importante variabilité nutritionnelle entre les marques pour un même aliment. La taille des portions des aliments et boissons est estimée à l'aide de photographies validées proposées à l'écran aux participants<sup>226</sup>.

Journée de SAMEDI (17/01/2009) Aide

Choisissez la quantité pour "carottes râpées assaisonnées"

A C E G

part ( 50 g ) B part ( 100 g ) D part ( 150 g ) F

Sélectionnez la portion :  A  B  C  D  E  F  G

Sélectionnez le nombre de portions: 1

Si les portions proposées ne conviennent pas à votre consommation, vous pouvez préciser la quantité exacte :  g

Annuler Précédent Terminer

Figure 4. Exemple de tailles de portions alimentaires pour un même aliment

Les apports journaliers en nutriments sont calculés en utilisant la table de composition nutritionnelle « NutriNet-Santé » qui contient plus de 2500 aliments différents<sup>227</sup>. La comparaison du questionnaire alimentaire auto-administré sur Internet avec la méthode standard correspondante (interview effectuée par un(e) diététicien(ne)) a montré une très bonne concordance entre les deux méthodes<sup>228</sup>.

Un questionnaire sur la **connaissance des recommandations nutritionnelles** officielles du « Programme National Nutrition Santé »<sup>112</sup> portant sur les recommandations de consommation des groupes d'aliments principaux (fruits et légumes, produits laitiers, viande, poissons, œufs et féculents) est posé un mois après l'inclusion.

Un questionnaire sur les **produits « Bio »** est utilisé pour évaluer les opinions et les comportements des participants vis-à-vis de la consommation de produits biologiques dix mois après leur inclusion.

#### d. Consommation de compléments alimentaires

##### **1. Questionnaire adressé à la cohorte globale**

Ce questionnaire permettant de recueillir des informations sur la consommation de compléments alimentaires est posé à l'ensemble des participants, deux mois après leur inclusion (cf. annexe 2). Celui-ci se présente en cinq parties :

(1) une **introduction** présente l'intérêt de ce questionnaire, notre définition d'un complément alimentaire et quelques conseils pour aider les participants à reconnaître ce qui est ou non un complément alimentaire. Une fiche « Aide » permet de guider les participants sur des exemples de produits que l'on considère comme complément alimentaire (cf. annexe 3).

(2) une partie sur la **consommation actuelle** (au moment du questionnaire) de compléments alimentaires en leur posant la question suivante : « **Prenez-vous actuellement au moins 3 jours par semaine des compléments alimentaires en ... ? :** »

- Si le Nutrinaute coche **non** et valide cette partie, il est automatiquement dirigé vers la partie 3 du questionnaire.
- S'il en consomme actuellement, il doit spécifier le type de complément alimentaire consommé parmi une liste de 34 nutriments et substances. Il lui est conseillé de s'aider des emballages des produits.

(3) une partie sur leur **consommation passée** grâce à la question suivante : « **Au cours des 12 derniers mois y compris ces derniers jours, avez-vous consommé des compléments alimentaires ?** »

- Si le Nutrinaute coche **non** et valide cette partie, il est automatiquement dirigé vers la partie 5 du questionnaire.
- S'il coche **oui**, il doit obligatoirement renseigner le **nom** et la **marque** des produits consommés (en clair), la **forme** de présentation parmi une liste de 11 items, le **nombre de jours** par an, le **nombre d'unités** par jour de prise et la **période** de consommation parmi 6 choix de réponses, puis valider cette partie pour passer à la suite du questionnaire

Au total, les participants peuvent renseigner jusqu'à 7 produits différents.

(4) Les participants ayant déclaré une consommation d'au moins un complément au cours des 12 derniers mois, devait renseigner des **informations complémentaires** sur leur consommation:

- Le(s) **but(s)** de consommation parmi une liste de choix multiples de 14 items

- Le(s) **circonstance(s) d'achat** : « En général, vous achetez des compléments alimentaires ... ». Il devait choisir une réponse parmi une liste de 13 items (« sur prescription médicale », « sur conseil d'un médecin », « sur conseil d'un pharmacien », ...)
- S'il consommait des compléments lors de **saison(s)** particulière(s).

(5) une partie « **commentaires** » dans laquelle les Nutrinautes peuvent saisir en clair des remarques éventuelles.

Tout au long du questionnaire, des consignes sont données aux participants et des contrôles de cohérence sont effectués (des messages d'erreurs apparaissent et rendent impossible la validation du questionnaire le cas échéant). Si le Nutrinaute décide de s'arrêter au cours du remplissage, ou s'il est momentanément déconnecté du site Internet de l'étude, les données sont automatiquement sauvegardées et enregistrées en « brouillon ». Les données ne peuvent être exploitées qu'une fois le questionnaire définitivement « validé ».

Avant l'extraction des données pour effectuer les analyses, 2 relances par e-mail ont été envoyées aux Nutrinautes n'ayant pas répondu ou validé le questionnaire afin d'améliorer le taux de réponse.

## **2. Questionnaire compléments alimentaires spécifique pour les sujets atteints de cancer ou en rémission**

A partir du questionnaire compléments alimentaires « général », j'ai conçu spécifiquement un questionnaire pour recueillir la prise de compléments alimentaires et de médicaments chez les sujets atteints de cancer ou en rémission (cf. annexe 4). Ce questionnaire a été envoyé en janvier 2014 à tous les cas incidents de cancer validés (diagnostiqués depuis leur inclusion dans l'étude). Il se présente en six parties :

(1) une **introduction** (globalement similaire à celle du « questionnaire général »)

(2) une partie sur la **consommation actuelle** (au moment du questionnaire) de compléments alimentaires en leur posant la question suivante : « **Prenez-vous actuellement des compléments alimentaires en ... ?** : ».

- Si le Nutrinaute consomme des compléments alimentaires au moment du questionnaire, il doit spécifier le type de complément alimentaire consommé parmi une liste de 45 nutriments et substances. Il lui est conseillé de s'aider des emballages des produits.

(3) une partie sur la prise actuelle **de traitements anti-cancer ou autres médicaments** (au moment du questionnaire) en leur posant la question suivante : « **Quels sont les médicaments hors compléments alimentaires que vous prenez en ce moment ?** ». Les sujets peuvent renseigner jusqu'à 10 médicaments parmi une liste exhaustive de traitements reliée à la base de donnée du VIDAL<sup>229</sup>.

(4) une partie sur les **autres compléments alimentaires** consommés depuis la date de diagnostic de cancer (mais non consommés actuellement).

(5) une partie sur la **modification de la prise de compléments** alimentaires avant/après diagnostic du cancer grâce à la question suivante : « **Le diagnostic de votre cancer a-t-il eu une influence sur votre prise de compléments alimentaires ?** » Les sujets choisissent une seule réponse parmi une liste de 5 items.

(6) une partie « **commentaires** » (similaire à celle du questionnaire « général »)

Dans les parties (2) et (4), si le sujet est consommateur de compléments, il doit renseigner des **informations suivantes** pour chaque complément déclaré :

- le **nom** commercial
- la **marque**
- la **forme** galénique
- le nombre de **jours** de consommation par an
- le nombre d'**unités** prises par jour de consommation
- la **durée** de consommation (moins d'1 an, 1-2 ans, 3-5 ans, 5-10 ans, ou plus de 10 ans)
- si le complément était pris **avant** le diagnostic de cancer
- s'il a **discuté** de cette consommation avec au moins un de ses **médecins** (généraliste, oncologue, ...) et le(s) **raison(s)** pour lesquelles il ne l'a pas fait le cas échéant (parmi une liste de 4 items).
- Le(s) **but(s)** de consommation choisi(s) parmi une liste d'items classés selon 5 thématiques : raisons liées au cancer (5 items), autres raisons de santé (4 items), améliorer son bien-être au quotidien (8 items), combler des besoins particuliers (5 items), améliorer son apparence et ses performances (9 items).
- Le(s) **circonstance(s) d'achat** : « En général, vous achetez des compléments alimentaires ... ». Le sujet devait choisir une réponse parmi une liste de 14 items (« sur prescription médicale », « sur conseil d'un médecin », « sur conseil d'un pharmacien », ...)

Les Nutrinautes pouvaient renseigner ces informations pour plus de 20 compléments alimentaires différents (10 dans chaque partie).

A partir des noms et marques des compléments alimentaires déclarés par les sujets atteints de cancer ou en rémission, j'ai ensuite créé et implémenté une base de composition des compléments alimentaires dans un tableur Excel. Pour obtenir les informations nutritionnelles et les listes des ingrédients contenus dans chaque complément alimentaire, j'ai effectué des recherches sur les sites Internet officiels des marques ou en contactant directement les fabricants. J'ai également consulté la base de données du VIDAL pour les compléments alimentaires (sans AMM) vendus en pharmacie et les médicaments (avec AMM) contenant des vitamines et/ou minéraux. Sur les 1333 déclarations de produits par les participants (les noms et marques étant saisis « en clair »), 5% était non-identifiable ou n'était pas considérés comme des compléments alimentaires (il s'agissait en fait d'aliments, de médicaments homéopathiques, de produits de complémentation orale à visée thérapeutique type Clinutren, etc.). Au total, la base de données de composition nutritionnelle des compléments alimentaires consommés par les sujets atteints de cancer ou en rémission dans l'étude NutriNet-Santé répertoriait 727 produits différents avec plus de 350 substances et nutriments identifiés.



Marque	Produit	Code_marque	Code_produit	Forme galénique	Unité compo	Source d'info	Vit B1	Vit B2	Vit B3	Vit B5	Vit B6	Vit B8	Vit B9
							mg	mg	mg	mg	mg	mg	µg
Abbaye de sept fons	Vitalité		4	2 Comprimé	Unité galénique	abbayedesej	0.075	0.09	1	0.3	0.09	0.003	16.75
Abbaye de sept fons	Germalevure		4	12 Cuillère à cal	Unité galénique	abbayedesej	0.41	0.11	0.8		0.06	0.003	31.5
Abbaye de sept fons	Germasoja		4	15 Cuillère à so	Unité galénique	abbayedesej	0.03		0.25	0.015			9
Abbaye de sept fons	Huile Vierge De Germe De l		4	18 Cuillère à so	Unité galénique	abbayedeseptfons							
Almirall	Spagulax Pdr eff susp buv si		37	76 Sachet de po	Unité galénique	evidal							
ArkoPharma	Arkogélules Orthosiphon G		61	132 Gélule	Unité galénique	evidal							
ArkoPharma	Azink Optimal Adulte gélulu		61	134 Gélule	Unité galénique	<a href="http://www.saysa.fr">www.saysa.fr</a>	0.7	0.8	9	3	1	75	100
ArkoPharma	Acérola 1000 Cpr à croquer		61	141 Comprimé	Unité galénique	<a href="http://www.comptoirsante.com">www.comptoirsante.com</a>							
ArkoPharma	Perles De Peau Acide Hyalu		61	144 Gélule	Unité galénique	arkopharma							
ArkoPharma	Forcapil Gél croissance vital		61	145 Gélule	Unité galénique	evidal				9	1	0.225	100
ArkoPharma	Arkofluide Detox Bio		61	149 Ampoule	Unité galénique	<a href="http://www.beaute-test.com">http://www.beaute-test.com</a>							
ArkoPharma	Arkogélules Huile De Foie C		61	178 Gélule	Unité galénique	arkopharma							
ArkoPharma	Arkogélules Levure De Bièr		61	179 Gélule	Unité galénique	<a href="http://www.beaute-test.com">http://www.beaute-test.com</a>							
ArkoPharma	Arkogélules Radis Noir		61	181 Gélule	Unité galénique	arkogelules.fr							
ArkoPharma	Arkogélules Vitiven		61	183 Gélule	Unité galénique	evidal							
ArkoPharma	Arkogélules Ginkgo		61	188 Gélule	Unité galénique	evidal							
ArkoPharma	Arkogélules Huile De Pépin		61	191 Capsule	Unité galénique	chezpara.fr							
ArkoPharma	Arkogélules Huile De Bourr		61	198 Capsule	Unité galénique	evidal							
ArkoPharma	Cys-Control Gél confort urir		61	200 Gélule	Unité galénique	e-vidal							
ArkoPharma	Arkogélules Harpadol		61	204 Gélule	Unité galénique	ArkoPharma							
ArkoPharma	Betaselen Gél		61	205 Gélule	Unité galénique	evidal							
ArkoPharma	Arkogélules Lithothamne B		61	215 Gélule	Unité galénique	arkogélules							
ArkoPharma	Calcos Vitamine D3 Cp A Cr		61	223 Comprimé à	Unité galénique	vidal							
ArkoPharma	Arkogélules Cramberryne		61	225 Gélule	Unité galénique	<a href="http://pharmabudget.fr/">http://pharmabudget.fr/</a>							
ArkoPharma	Chondro Aid Fort Gél		61	231 Gélule	Unité galénique	evidal							
ArkoPharma	Chondro Aid Restructurant		61	232 Sachet de po	Unité galénique	<a href="http://www.easyparapharmacie.com">http://www.easyparapharmacie.com</a>							
ArkoPharma	Arkocéan Magnésium Marir		61	233 Gélule	Unité galénique	ArkoPharma							
ArkoPharma	Arkogélules Eucalyptus		61	241 Gélule	Unité galénique	arkogelules.fr							
ArkoPharma	Arko Royal Gelée Royale 10		61	249 Ampoule	Unité galénique	ArkoPharma							

Figure 5. Extrait de la base de composition des compléments alimentaires

## 2. Analyses statistiques et résultats

### A. Consommation de compléments alimentaires en population générale et selon le statut tabagique

#### a. Analyses statistiques

Les analyses portaient sur les participants inclus qui ont répondu au questionnaire « général » sur la consommation de compléments alimentaires avant janvier 2012 (n=79 786). Les proportions de consommateurs de compléments (actuels et au cours des 12 derniers mois), les types de compléments pris par les consommateurs actuels, la fréquence de consommation, les motivations et circonstances d'achat, et la saisonnalité de consommation ont été décrits dans l'échantillon total et selon le statut tabagique (chez les fumeurs, anciens fumeurs et non-fumeurs).

Nous avons comparé les consommateurs de compléments (ie. ceux qui ont consommé au moins un complément au cours des 12 derniers mois) aux non-consommateurs par des analyses de régression logistique non-conditionnelle ajustées sur l'âge et le sexe, selon leurs caractéristiques socio-démographiques (âge, sexe, région d'habitation, statut matrimonial, nombre d'enfants biologiques, niveau d'éducation, CSP), comportementales et de mode de vie (statut tabagique, pratique d'un régime restrictif, activité physique de loisir et consommation d'aliments biologiques), les facteurs anthropométriques (IMC), et d'autres facteurs (grossesse, statut ménopausique, état émotionnel ressenti, douleur physique ressentie, connaissance des recommandations du PNNS).

Nous avons inclus les sujets qui avaient validé trois enregistrements alimentaires de 24h à l'inclusion avec un apport énergétique « normal » selon les critères de Goldberg, modifiés par Black<sup>230</sup>. Nous avons comparé les apports alimentaires (hors compléments alimentaires) journaliers moyens en 23 groupes d'aliments différents, macro et micronutriments, énergie, fibres et alcool entre les consommateurs de compléments

alimentaires et les non-consommateurs par des analyses de régression logistique non-conditionnelle ajustées sur le sexe, l'âge et les apports énergétiques.

La proportion de sujets qui avaient un apport inférieur au Besoin Nutritionnel Moyen (BNM) pour la population française<sup>30</sup> a été estimée pour chaque nutriment selon le sexe. Il a été démontré qu'au niveau de la population, cette proportion aussi appelé « prévalence d'inadéquation » est un estimateur non-biaisé de la proportion de sujets ayant un apport inférieur à leur besoin<sup>231</sup>. Un modèle à erreur de mesure proposé par le National Research Council<sup>232</sup> et amélioré par Nusser et al.<sup>233</sup>, a été appliqué aux apports alimentaires journaliers observés afin d'éliminer les effets de la variabilité d'apports entre les trois jours d'enregistrements alimentaires (réduction de variance). Cette méthodologie globale pour l'évaluation de la prévalence d'inadéquation a été proposée par Carriquiry et al<sup>231</sup>. Nous avons comparé ensuite la prévalence d'inadéquation d'apports en nutriments entre les consommateurs et non-consommateurs de compléments et selon le sexe par des analyses de régression logistique non-conditionnelle, ajustées sur l'âge et l'apport énergétique.

## **b. Résultats**

### **1. Caractéristiques de la consommation de compléments alimentaires**

Les participants de l'étude NutriNet-Santé inclus dans cette analyse (n=79 786) avaient une moyenne d'âge de 45,2 ± 14,5 ans et 76% d'entre eux étaient des femmes. Cet échantillon comptait 32,4% de cadres ou de professions intellectuelles supérieures, 30,0% d'employés, 25,9% de professions intermédiaires, 5,3% de chômeurs, 3,2% d'ouvriers, 2,8% de travailleurs indépendants et 0,4% d'agriculteurs.

La consommation de compléments alimentaires selon le sexe est présentée dans le tableau 3. Environ 41% des sujets ont consommé au moins un complément au cours des 12 derniers mois et près de 25% en consommaient au moins 3 jours par semaine au moment du questionnaire (28,1% des femmes et 14,6% des hommes). Chez les consommateurs actuels, les nutriments les plus souvent consommés sous forme de compléments étaient le magnésium, la vitamine B6, la vitamine C, le zinc et le fer alors que les compléments en acides gras Ω3 et à base de plantes étaient assez faiblement consommés.

**Tableau 3.** Consommation globale et spécifique de compléments alimentaires selon le sexe, étude NutriNet-Santé, 2012

	Total (n=79786)		Hommes (n=19398)		Femmes (60388)	
	n	%	n	%	n	%
<b>Consommation au cours des 12 derniers mois<sup>1</sup> (oui)</b>	32582	40,8	4729	24,4	27853	46,1
<b>Consommation actuelle (≥3 jours/semaine) (oui)</b>	19785	24,8	2828	14,6	16957	28,1
<b>Type de compléments (chez les consommateurs actuels)<sup>2</sup></b>						
Magnésium	8324	42,1	1166	41,2	7158	42,2
Vitamine B6	5904	29,8	824	29,1	5080	30,0
Vitamine C	5387	27,2	966	34,2	4421	26,1
Zinc	4974	25,1	767	27,1	4207	24,8
Fer	4800	24,3	586	20,7	4214	24,9
Vitamine E	4655	23,5	752	26,6	3903	23,0
Thiamine	4456	22,5	396	14,0	1846	10,9
Vitamine D	4421	22,3	710	25,1	3746	22,1
Riboflavine	4381	22,1	481	17,0	3940	23,2
Folates	4153	21,0	694	24,5	3687	21,7
Acide pantothénique	3912	19,8	532	18,8	3621	21,4
Calcium	3885	19,6	550	19,4	3362	19,8
Niacine	3397	17,2	605	21,4	3214	19,0
Sélénium	3358	17,0	531	18,8	2866	16,9
Vitamine B12	3272	16,5	580	20,5	2778	16,4
Vitamine B8	2882	14,6	529	18,7	2743	16,2
Acides gras ω3	2733	13,8	377	13,3	2505	14,8
Vitamine A	2242	11,3	292	10,3	2261	13,3
Huile d'onagre, de bourrache, ou de foie de morue	1815	9,2	124	4,4	1691	10,0
Compléments à base d'acérola, de guarana ou de canneberge	1674	8,5	227	8,0	1147	6,8
Iode	1443	7,3	210	7,4	1233	7,3
Bêta-carotène	1389	7,0	203	7,2	1186	7,0
Phosphore	1121	5,7	237	8,4	884	5,2
Complément alimentaire à base de ginseng	1050	5,3	249	8,8	806	4,8
Fibres	846	4,3	131	4,6	715	4,2
Acides aminés/protéines	681	3,4	186	6,6	495	2,9
Lutéine	670	3,4	125	4,4	545	3,2
Phytoestrogènes	376	1,9	38	1,3	338	2,0
Fluor	310	1,6	63	2,2	247	1,5
Vitamine K	263	1,3	58	2,1	205	1,2
Zéaxanthine	252	1,3	62	2,2	190	1,1
Rétinol	96	0,5	23	0,8	73	0,4
Autres minéraux <sup>3</sup>	3819	19,3	437	15,5	3448	20,3
Autres compléments à base de plantes	2553	12,9	613	21,7	2120	12,5

<sup>1</sup> Consommation d'au moins un complément alimentaire au cours des 12 mois précédant le questionnaire.

<sup>2</sup> Les nutriments et autres substances étaient consommés seuls ou en combinaison.

<sup>3</sup> Potassium, cuivre, lithium, manganèse, chrome ...

Le tableau 4 présente les motivations, les circonstances d'achat et la saisonnalité de consommation des compléments. «Combattre la fatigue» et «rester en bonne santé » étaient les principales raisons de consommation déclarées alors que « compléter des apports alimentaires insuffisants » n'était cité que par 5,4% des consommateurs.

34% des compléments alimentaires étaient achetés sur prescription médicale et 21% sur le conseil d'un médecin. 21% étaient achetés sur le conseil d'un pharmacien. La consommation de ces produits augmentait en hiver et au printemps.

Au total, 61 359 compléments ont été déclarés par les participants au cours des 12 derniers mois : 41,0% des compléments étaient consommé depuis moins d'un an, 22,1% de 1 à 2 ans, 19,3% de 5 à 10 ans et 7,8% depuis plus de 10 ans. Ces compléments étaient en moyenne consommés  $94,7 \pm 108$  jours par an.

**Tableau 4.** Motivations, circonstances d'achats et saisonnalité de consommation de compléments alimentaires selon le sexe, étude NutriNet-Santé, 2012

	Total (n=32582)		Hommes (n=4729)		Femmes (n=27853)	
	n	%	n	%	n	%
<b>Motivations</b>						
Lutter contre la fatigue	13527	41,5	1733	36,6	11794	42,3
Rester en bonne santé, prévenir les maladies en général	10997	33,8	2207	46,7	8790	31,6
Résoudre ou lutter contre un (des) problème(s) de santé	10511	32,3	1224	25,9	9287	33,3
Entretenir votre beauté (ongles, peau, cheveux, etc.)	5001	15,3	224	4,7	4777	17,2
Combattre le stress	4800	14,7	459	9,7	4341	15,6
Rester jeune et/ou mieux vieillir	2906	8,9	571	12,1	2335	8,4
Comblent des besoins liés à une grossesse ou à l'allaitement	2276	7,0	4	0,1	2272	8,2
Perdre du poids, agir sur sa silhouette	1620	5,0	151	3,2	1469	5,3
Compléter des apports alimentaires insuffisants liés à un régime alimentaire particulier	1524	4,7	233	4,9	1291	4,6
Améliorer vos performances intellectuelles ou sexuelles	1439	4,4	315	6,7	1124	4,0
Comblent des besoins liés à votre activité sportive	1396	4,3	675	14,3	721	2,6
Compléter des apports alimentaires que vous jugez inadaptés (hors régime)	1770	5,4	360	7,6	1410	5,1
Ne sait pas	83	0,3	19	0,4	64	0,2
<b>Circonstances d'achat</b>						
Sur prescription médicale	11044	33,9	905	19,1	10139	36,4
Sur conseil d'un médecin	6828	21,0	738	15,6	6090	21,9
Sur conseil d'un pharmacien	6763	20,8	666	14,1	6097	21,9
Sur conseil d'un diététicien	885	2,7	104	2,2	781	2,8
Sur conseil d'un autre professionnel de santé	2105	6,5	253	5,3	1845	6,6
Sur conseil d'un parent, ami ou proche	5264	16,2	850	18,0	4414	15,8
Sur conseil reçu en magasin (hors pharmacie)	915	2,8	110	2,3	805	2,9
Parce que vous découvrez ce produit en rayon et que ses caractéristiques vous ont incité à l'acheter	4188	12,9	687	14,5	3501	12,6
Parce que vous en avez entendu parler dans un livre	3156	9,7	619	13,1	2537	9,1
Parce que vous en avez entendu parler dans les médias	2458	7,5	466	9,9	1992	7,2
Parce que vous avez vu une publicité	1081	3,3	173	3,7	908	3,3
Autre	3056	9,4	635	13,4	2421	8,7
Ne sait pas	226	0,7	59	1,2	167	0,6
<b>Consommation plus élevée durant une saison particulière (oui)</b>						
Hiver	17024	52,2	2638	55,8	14386	51,6
Automne	9505	29,2	1405	29,7	8100	29,1
Printemps	7033	21,6	788	16,6	6245	22,5
Été	4550	13,9	479	10,1	4071	14,7
	1252	3,8	120	2,5	1132	4,1

<sup>1</sup> Chez les sujets qui avaient consommé au moins un complément au cours des 12 mois précédant le questionnaire.

## 2. Caractéristiques sociodémographiques, comportementales et de mode de vie des consommateurs de compléments

Comparés aux non-consommateurs, les consommateurs de compléments étaient plus souvent des femmes, étaient plus âgés, plus éduqués, avaient un statut socio-économique plus élevé et pratiquaient plus d'activité physique (cf. tableau 5). La consommation de compléments diminuait avec le nombre d'enfants. Les consommateurs étaient plus souvent non-fumeurs, avaient un IMC plus faible et suivaient plus souvent un régime alimentaire restrictif. Les femmes qui prenaient des compléments étaient plus souvent enceintes ou ménopausées. Les consommateurs avaient plus souvent des problèmes émotionnels, des douleurs physiques, connaissaient mieux les recommandations nutritionnelles officielles du PNNS et consommaient plus souvent des aliments biologiques.

**Tableau 5.** Facteurs socio-démographiques, comportementaux et de mode de vie corrélés à la consommation de compléments alimentaires dans l'étude NutriNet-Santé, 2012 (consommateurs, n=32582 et non consommateurs, n=47204)

	n	% de consommateur dans chaque catégorie <sup>1</sup>	Analyses de régression logistique ajustées sur l'âge et le sexe		
			OR (IC-95%)	p	p <sup>2</sup> tendance linéaire
Sexe				<0,0001	
Hommes	19398	24,4	1,00		
Femmes	60388	46,1	2,87 (2,77-2,98)		
Age				<0,0001	<0,0001
≤ 35 ans	25014	36,8	1,00		
35-44 ans	15862	40,7	1,25 (1,20-1,30)		
45-55 ans	16047	43,0	1,37 (1,32-1,43)		
> 55 ans	22863	43,8	1,63 (1,57-1,69)		
Région d'habitation				<0,0001	
Paris	4041	46,0	1,00		
Région Parisienne	12384	42,1	0,81 (0,76-0,88)		
Nord	5352	36,3	0,64 (0,59-0,69)		
Nord-Ouest	11390	36,6	0,63 (0,58-0,68)		
Centre-Ouest	6779	38,5	0,68 (0,63-0,74)		
Sud-Ouest	8518	41,0	0,76 (0,70-0,82)		
Nord-Est	10163	39,6	0,74 (0,68-0,79)		
Centre-Est	10567	43,1	0,84 (0,78-0,90)		
Sud-Est	9563	44,5	0,87 (0,80-0,94)		
Corse & DOM-TOM	1029	44,0	0,89 (0,77-1,02)		
Statut matrimonial				0,08	
Marié(e) ou en couple	57671	40,5	1,00		
Divorcé(e), séparé(e) ou veuf(ve)	7869	41,6	1,02 (0,97-1,07)		
Célibataire	14246	38,7	1,05 (1,00-1,09)		
Nombre d'enfants				<0,0001	0,0008
0	27574	40,9	1,00		
1 or 2	36964	41,6	0,78 (0,75-0,81)		
≥ 3	15248	38,7	0,66 (0,63-0,69)		
Niveau d'éducation				<0,0001	
< baccalauréat	16765	34,4	1,00		
≥ baccalauréat	63021	42,6	1,59 (1,53-1,65)		
Catégorie socio-professionnelle				<0,0001	
Cadre ou profession intellectuelles supérieure	25879	43,5	1,00		
Profession intermédiaire	20676	44,4	0,95 (0,91-0,98)		
Employé	23903	38,2	0,69 (0,66-0,71)		
Ouvrier	2531	24,7	0,50 (0,45-0,55)		
Agriculteur exploitant	310	33,9	0,64 (0,50-0,81)		
Artisan, commerçant, chef d'entreprise	2264	38,1	0,79 (0,72-0,87)		
Jamais travaillé	4223	35,5	1,05 (0,54-2,15)		
Situation professionnelle				<0,0001	

Occupe un emploi	49619	41,6	1,00		
Retraité(e)	14550	42,3	0,95 (0,90-1,01)		
Elève ou étudiant(e)	6137	33,1	0,75 (0,71-0,80)		
Chômeur(se)	4794	36,9	0,80 (0,75-0,85)		
Autre <sup>3</sup>	4686	42,9	0,83 (0,78-0,89)		
Statut tabagique					<0,0001
Non-fumeur	39208	42,5	1,00		
Ancien fumeur	26708	42,4	1,02 (0,98-1,05)		
Fumeur	13870	33,2	0,70 (0,67-0,73)		
Indice de masse corporelle (Kg/m <sup>2</sup> )					<0,0001 <0,0001
Sous-poids (<18.5)	3816	48,7	1,00		
Normal (18.5-24.9)	50278	44,2	0,87 (0,82-0,93)		
Surpoids (25-29.9)	17787	34,4	0,61 (0,57-0,66)		
Obèse (≥30)	7905	30,3	0,45 (0,42-0,49)		
Pratique d'un régime alimentaire restrictif					<0,0001
Non	68099	39,6	1,00		
Oui	14687	46,3	1,22 (1,18-1,27)		
Grossesse					<0,0001
Non	58825	45,4	1,00		
Oui	1563	74,9	4,59 (4,08-5,15)		
Ménopause					<0,0001
No	41005	43,0	1,00		
Oui	19383	52,6	1,19 (1,13-1,25)		
Activité physique de loisir <sup>4</sup>					<0,0001 <0,0001
Faible	16212	39,5	1,00		
Modérée	28350	44,5	1,22 (1,17-1,27)		
Élevée	23209	42,5	1,16 (1,11-1,21)		
Gêne ressentie dans les activités quotidiennes en raison de l'état émotionnel <sup>5</sup>					<0,0001
Non	45083	45,0	1,00		
Oui	19778	51,0	1,22 (1,18-1,26)		
Douleur physique chronique <sup>5</sup>					<0,0001
Non	18637	42,3	1,00		
Oui	46224	48,7	1,24 (1,20-1,29)		
Connaissance des recommandations du PNNS <sup>6</sup>					<0,0001 <0,0001
Faible (0-2)	22896	41,1	1,00		
Moyenne (3)	21750	43,8	1,03 (0,99-1,07)		
Élevée (4-5)	26651	48,2	1,16 (1,12-1,21)		
Consommation d'aliments biologiques <sup>7</sup>					<0,0001
Jamais (évite d'en consommer)	17222	37,0	1,00		
Indifférente	4860	32,0	0,94 (0,87-1,00)		
Occasionnelle	25377	43,7	1,39 (1,34-1,45)		
Régulière	11365	60,8	2,61 (2,48-2,74)		

<sup>1</sup>Les consommateurs étaient les sujets qui avaient pris au moins un complément au cours des 12 mois précédant le questionnaire compléments alimentaires.

<sup>2</sup>Les tests de tendance linéaire étaient effectués en utilisant le score ordinal des modalités de chaque variable. Toutes les caractéristiques ont été comparées entre les consommateurs et les non consommateurs de compléments alimentaires. Modélisation de la probabilité d'être consommateur de compléments.

<sup>3</sup>Congé sabbatique, préparation à un concours, au foyer, en invalidité/longue maladie

<sup>4</sup>Du fait de données manquantes, l'échantillon était composé de 28 876 consommateurs et de 38 895 non- consommateurs de compléments.

<sup>5</sup>Du fait de données manquantes, l'échantillon était composé de 30 374 consommateurs et de 34 487 non- consommateurs.

<sup>6</sup>Du fait de données manquantes, l'échantillon était composé de 31 780 consommateurs et de 39 517 non-consommateurs.

<sup>7</sup>Déterminé par analyse des correspondances multiples en utilisant les données de mesure de la consommation d'aliments biologiques. Du fait de données manquantes, l'échantillon était composé de 25 947 consommateurs et 32 877 non-consommateurs de compléments.

### 3. Apports alimentaires et nutritionnels associés à la consommation de compléments alimentaires

Nous avons inclus 55 569 sujets « normo-déclarants » ayant complété trois enregistrements alimentaires de 24h.

Le tableau 6 présente la comparaison des apports alimentaires quotidiens moyens chez les consommateurs et non-consommateurs de compléments alimentaires. Dans l'ensemble, les consommateurs de compléments avaient une alimentation plus saine que les non consommateurs : ils consommaient plus de légumes, de fruits, de soupes et bouillons, d'aliments complets, de légumineuses, de poissons et fruits de mer, de céréales du petit-déjeuner, de sucre et confiseries, de substituts de repas, et buvaient plus de boissons non sucrées. Ils consommaient aussi moins de pommes de terre, de produits laitiers, de viandes et d'œufs, de volailles, de charcuteries, de gâteaux/biscuits/pâtisseries, de snacks/pizzas et buvaient moins de boissons alcoolisées.

**Tableau 6.** Comparaison des consommateurs et des non-consommateurs de compléments alimentaires selon les apports alimentaires quotidiens dans l'étude NutriNet-Santé, 2012

	Non-Consommateurs (n=31378)		Consommateurs <sup>1</sup> (n=24191)		p <sup>3</sup> tendance linéaire
	Moyenne (g/j)	SE	Moyenne (g/j)	SE	
Légumes	209,0	2,0	229,0	2,1	<0,0001
Fruits	223,0	2,8	251,9	2,9	<0,0001
Soupes et bouillons	28,6	0,9	31,1	0,9	<0,0001
Pommes de terre et tubercules	46,3	0,8	42,8	0,9	<0,0001
Pâtes, riz, semoule, pain, farine, autres céréales	179,4	1,3	178,9	1,4	0,3727
Aliments complets	54,9	1,0	68,7	1,1	<0,0001
Légumineuses	8,1	0,4	9,4	0,4	<0,0001
Produits laitiers	200,6	2,5	195,2	2,6	<0,0001
Viandes et abats	51,0	0,7	45,3	0,8	<0,0001
Volailles	27,1	0,6	25,6	0,6	<0,0001
Œufs	12,3	0,4	12,5	0,4	0,442
Poissons et fruits de mer	36,1	0,7	39,0	0,7	<0,0001
Charcuteries	34,9	0,6	31,6	0,6	<0,0001
Matières grasses et sauces	35,5	0,4	35,2	0,4	<0,0001
Matières grasses (huile, beurre, margarine)	20,4	0,3	20,7	0,3	0,0215
Céréales du petit-déjeuner	7,5	0,3	10,0	0,3	<0,0001
Sucre/confiseries/fruits secs/desserts	82,8	1,1	86,3	1,2	<0,0001
Gâteaux/biscuits/pâtisseries	38,0	0,9	37,3	0,9	0,1133
Snacks, pizza, tartes	34,8	0,8	31,8	0,9	<0,0001
Boissons non-sucrées	1046,8	9,1	1174,4	9,3	<0,0001
Boissons sucrées	52,2	1,8	44,4	1,9	<0,0001
Boissons alcoolisées	120,7	2,5	112,4	2,5	<0,0001
Substituts de repas	2,7	0,3	4,0	0,3	<0,0001

<sup>1</sup>Les consommateurs étaient les sujets qui avaient pris au moins un complément alimentaire au cours des 12 mois précédant le questionnaire.

Chez les sujets ayant rempli trois enregistrements alimentaires à l'inclusion.

Analyses de régression logistique non-conditionnelle ajustées sur le sexe, l'âge et les apports énergétiques.

Le tableau 7 présente la comparaison des apports nutritionnels quotidiens moyens entre les consommateurs et non-consommateurs de compléments alimentaires (apports par l'alimentation, hors compléments alimentaires). Les consommateurs avaient des apports nutritionnels significativement plus élevés en énergie, glucides simples et complexes, fibres, acides gras insaturés et moins élevés en alcool, protéines, lipides totaux et acides gras saturés (AGS). Ils avaient aussi des apports nutritionnels plus élevés pour la plupart des

vitamines et minéraux (ie. thiamine, riboflavine, niacine, acide pantothénique, vitamine B6, folates, vitamine B12,  $\beta$ -carotène, vitamines A, C, D et E, calcium, fer, magnésium, phosphore et potassium). Les consommateurs de compléments alimentaires avaient des apports plus faibles en sodium.

**Tableau 7.** Comparaison des consommateurs et des non-consommateurs de compléments selon les apports alimentaires quotidiens en énergie et nutriments dans l'étude NutriNet-Santé, 2012

	Non-consommateurs (n=31378)		Consommateurs <sup>1</sup> (n=24191)		p tendance linéaire
	Moyenne	SE	Moyenne	SE	
Energie (kcal)	2035,0	2,7	2071,6	3,4	<0,0001
Alcool (g)	10,6	0,1	9,8	0,1	<0,0001
Glucides totaux (g)	200,4	0,2	203,4	0,3	<0,0001
Glucides simples (g)	91,3	0,2	94,7	0,2	<0,0001
Amidon (g)	108,4	0,2	108,0	0,2	0,1
Fibres (g)	18,6	0,0	20,4	0,0	<0,0001
Protéines (g)	81,0	0,1	80,2	0,1	<0,0001
Lipides totaux (g)	78,8	0,1	78,4	0,1	0,0003
Acides gras saturés (g)	32,5	0,0	31,5	0,1	<0,0001
Acides gras mono-insaturés (g)	28,5	0,0	28,8	0,0	<0,0001
Acides gras poly-insaturés (g)	11,9	0,0	12,3	0,0	<0,0001
Thiamine (mg)	1,2	0,0	1,3	0,0	<0,0001
Riboflavine (mg)	1,7	0,0	1,8	0,0	<0,0001
Niacine (mg)	18,2	0,0	18,7	0,0	<0,0001
Acide Pantothénique (mg)	5,4	0,0	5,5	0,0	<0,0001
Vitamine B6 (mg)	1,7	0,0	1,8	0,0	<0,0001
Folates ( $\mu$ g)	331,2	0,6	354,3	0,8	<0,0001
Vitamine B12 ( $\mu$ g)	5,5	0,0	5,8	0,1	<0,0001
Rétinol ( $\mu$ g)	518,8	5,3	512,5	6,6	0,4
$\beta$ -carotène ( $\mu$ g)	3677,9	17,4	4063,8	21,8	<0,0001
Vitamine A totale ( $\mu$ g)	1197,2	12,5	1251,8	15,7	0,003
Vitamine C (mg)	113,2	0,5	121,8	0,6	<0,0001
Vitamine D ( $\mu$ g)	2,7	0,0	2,9	0,0	<0,0001
Vitamine E ( $\mu$ g)	10,1	0,0	10,8	0,0	<0,0001
Sodium (mg)	2517,9	3,7	2484,7	4,7	<0,0001
Calcium (mg)	889,9	1,6	910,2	2,0	<0,0001
Fer (mg)	12,4	0,0	13,1	0,0	<0,0001
Magnésium (mg)	311,3	0,5	330,7	0,6	<0,0001
Phosphore (mg)	1256,0	1,5	1281,1	1,9	<0,0001
Potassium (mg)	2984,9	3,9	3103,4	4,9	<0,0001
Zinc (mg)	10,4	0,0	10,3	0,0	0,05

<sup>1</sup>Les consommateurs étaient les sujets qui avaient pris au moins un complément alimentaire au cours des 12 mois précédant le questionnaire.

Chez les sujets qui avaient rempli trois enregistrements alimentaires à l'inclusion.

Les analyses de régression logistique non-conditionnelle (p-value qui compare les consommateurs et les non-consommateurs de compléments) étaient ajustées sur le sexe, l'âge et l'apport énergétique.

Le tableau 8 compare les prévalences d'inadéquation d'apport en nutriments (provenant des aliments uniquement) selon le sexe entre les consommateurs et non-consommateurs de compléments alimentaires. La prévalence d'inadéquation était significativement plus faible chez les consommateurs que chez les non-consommateurs de compléments pour la plupart des nutriments (pour la thiamine, les folates, les vitamines B6, C et E, le calcium et le magnésium quel que soit le sexe, ainsi que pour la riboflavine, l'acide pantothénique et le fer



chez les femmes uniquement). Seule la prévalence d'inadéquation en vitamine B12 était plus élevée chez les femmes consommatrices de compléments que chez les non-consommatrices.

**Tableau 8.** Comparaison des prévalences d'inadéquation d'apport alimentaire par micronutriment, stratifiée sur le sexe et la consommation de compléments dans l'étude NutriNet-Santé, 2012<sup>1</sup>

	Hommes				Femmes			
	Prévalences d'inadéquations <sup>2</sup> (%)				Prévalences d'inadéquations <sup>2</sup> (%)			
	Non- consommateurs (n=9889)	Consommateurs <sup>3</sup> (n=3450)	OR (IC-95%) <sup>4</sup>	p	Non consommatrices (n=21489)	Consommatrices <sup>3</sup> (n=20741)	OR (IC-95%) <sup>4</sup>	p
Thiamine	16,3	13,6	0,81 (0,73-0,90)	<0,0001	10,9	8,8	0,84 (0,79-0,88)	<0,0001
Riboflavine	3,8	3,5	0,95 (0,80-1,12)	0,5	14,7	11,2	0,90 (0,85-0,95)	0,0002
Niacine	0,1	0,6	0,89 (0,69-1,14)	0,3	0,9	0,7	0,99 (0,88-1,11)	0,8
Acide Pantothénique	3,3	2,1	0,86 (0,71-1,04)	0,1	16,4	11,4	0,87 (0,83-0,92)	<0,0001
Vitamine B6	16,4	11,6	0,64 (0,57-0,72)	<0,0001	15,5	10,4	0,79 (0,75-0,83)	<0,0001
Folates	7,4	4,4	0,71 (0,61-0,83)	<0,0001	10,1	4,6	0,62 (0,58-0,66)	<0,0001
Vitamine B12	0,1	0,6	1,23 (1,00-1,51)	0,06	2,4	2,9	1,14 (1,07-1,22)	0,0002
Vitamine A	5,0	4,1	0,84 (0,74-0,95)	0,007	1,4	0,6	0,73 (0,68-0,80)	<0,0001
Vitamine C	30,6	21,0	0,72 (0,66-0,79)	<0,0001	34,8	30,6	0,76 (0,73-0,79)	<0,0001
Vitamine E	33,3	23,4	0,70 (0,63-0,76)	<0,0001	49,6	38,3	0,72 (0,69-0,76)	<0,0001
Calcium	18,4	17,3	0,85 (0,76-0,94)	0,002	34,3	33,0	0,87 (0,83-0,91)	<0,0001
Fer	0,0	0,0	0,75 (0,51-1,12)	0,2	54,8	40,7	0,76 (0,73-0,80)	<0,0001
Magnésium	51,3	38,8	0,60 (0,55-0,66)	<0,0001	60,4	46,5	0,67 (0,64-0,70)	<0,0001
Phosphore	0,2	0,1	0,18 (0,04-0,90)	0,04	0,0	0,0	0,88 (0,69-1,13)	0,3
Zinc	13,2	12,8	1,03 (0,93-1,15)	0,6	22,9	21,5	1,02 (0,97-1,07)	0,5

<sup>1</sup>Chez les sujets qui avaient rempli trois enregistrements alimentaires à l'inclusion.

<sup>2</sup>Modélisation de la probabilité d'avoir des apports alimentaires en micronutriment inférieur au BNM (ce qui correspond à la prévalence d'inadéquation d'apport alimentaire en micronutriment, au niveau populationnel).

<sup>3</sup>Les consommateurs étaient les sujets qui avaient pris au moins un complément alimentaire au cours des 12 mois précédant le questionnaire.

<sup>4</sup>Les analyses de régression logistique non-conditionnelle qui comparaient les consommateurs aux non-consommateurs de compléments étaient ajustées sur l'âge et les apports énergétiques.

#### 4. Consommation de compléments alimentaires selon le statut tabagique

Dans cette étude, 17,4% des sujets étaient fumeurs et 33,5% étaient anciens fumeurs. Comparés aux non-fumeurs (n'ayant jamais fumé), les fumeurs consommaient moins souvent des compléments au moment du questionnaire (OR=0,76 [0,72-0,80]) ou au cours des 12 derniers mois (cf. tableau 5). Les consommateurs actuels représentaient 19,0% des fumeurs, 27,2% des anciens fumeurs et 25,2% des non-fumeurs. Les types de nutriments les plus souvent consommés étaient les mêmes quel que soit le statut tabagique (magnésium, vitamine B6 et C en tête).

La consommation de compléments à base de  $\beta$ -carotène était globalement faible dans la cohorte mais n'était pas plus basse chez les fumeurs malgré les risques potentiels (1,5% des fumeurs, 2,0% des anciens fumeurs et 1,7% des non-fumeurs,  $p=0,25$ ). Celle-ci était plus élevée en été. Notamment, 11% des femmes consommatrices de compléments alimentaires et fumeuses consommaient des compléments à base de  $\beta$ -carotène en été (cf. tableaux 9 et 10).

**Tableau 9.** Prise de compléments à base de  $\beta$ -carotène chez les consommateurs de compléments alimentaires, étude NutriNet-Santé, 2012

	Total %		En été %
Total	7,0	Tous	8,6
Hommes (n=2828)	7,2	Hommes (n=654)	6,7
Femmes (n=16957)	7,0	Femmes (n=4008)	8,9

**Tableau 10.** Prise estivale de compléments à base de  $\beta$ -carotène selon le statut tabagique chez les consommateurs de compléments alimentaires, étude NutriNet-Santé, 2012

	Fumeurs (n=617) %	Ancien fumeurs (n=1715) %	Non- fumeurs (n=2330) %
Total	10,2	9,3	7,7
Hommes (n=654)	6,8	8,7	4,3
Femmes (n=4008)	10,8	9,4	8,2

Les motivations de prise de compléments variaient entre les fumeurs et les non-fumeurs. Les fumeurs consommaient moins souvent des compléments pour «lutter contre des problèmes de santé» ou «combler des besoins particuliers liés à l'activité physique» (respectivement 33,1% et 3,9%), mais plus souvent pour «combattre le stress» (17,5%), «perdre du poids» (7,3%), «améliorer les performances intellectuelles» (6,1%) et «compenser des apports alimentaires insuffisants» (6,5%).

La consommation de compléments en automédication était plus répandue chez les fumeurs que chez les non-fumeurs : seulement 30,9% des fumeurs consommateurs de compléments prenaient ces produits sur prescription médicale et 2,4% sur le « conseil d'un diététicien » (contre 36,3% et 3,2% respectivement chez les non-fumeurs). De plus, les fumeurs achetaient plus souvent des compléments sur « le conseil d'un parent ou d'un ami » que les non-fumeurs ou anciens fumeurs (respectivement 17,4, 14,4, et 13,8%).

## **B. Consommation de compléments alimentaires chez les femmes enceintes**

### **a. Analyses statistiques**

Les analyses portaient sur toutes les femmes incluses avant septembre 2012 et qui ont rempli le questionnaire « général » sur la consommation de compléments au moment de leur grossesse (n=903). Nous avons calculé la proportion de consommatrices de compléments alimentaires dans tout l'échantillon et selon le trimestre de grossesse et décrit les types de compléments consommés et les circonstances d'achat. Nous avons comparé les consommatrices de compléments alimentaires (au global et également, d'acide folique en particulier) aux non-consommatrices par des analyses de régression logistique non-conditionnelle ajustées sur l'âge, selon leurs caractéristiques sociodémographiques (région d'habitation, statut matrimonial, nombre d'enfants biologiques, niveau d'éducation, CSP et niveau de revenu), leurs connaissances des recommandations du PNNS et leur consommation d'aliments biologiques.

Les apports alimentaires (hors compléments alimentaires) quotidiens moyens en aliments et nutriments ont été comparés par des analyses de régression logistique non-conditionnelle ajustées sur l'âge, le nombre d'enregistrements alimentaires de 24h et les

apports énergétiques moyens. Seules les femmes qui avaient rempli au moins un enregistrement de 24h durant leur grossesse et qui étaient « normo-déclarantes » selon les critères de Goldberg<sup>230</sup> ont été incluses dans ces analyses (n=666).

## **b. Résultats**

Parmi les 903 femmes qui ont rempli le questionnaire compléments alimentaires au moment de leur grossesse, 31% étaient dans leur 1<sup>er</sup> trimestre de grossesse, 36% dans leur 2<sup>ème</sup> et 33% dans leur 3<sup>ème</sup>. Les participantes étaient âgées en moyenne de  $31,7 \pm 4,1$  ans. Une forte proportion de femmes enceintes (64,9%) consommait des compléments au moins trois jour par semaine au moment du questionnaire alors que seulement 29,1% des femmes non-enceintes de la cohorte et en âge de procréer en consommaient. De plus, la consommation de compléments augmentait significativement au cours de la grossesse (passant de 58%, 62% à 75% au 1<sup>er</sup>, 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> trimestre de grossesse).

### **1. Facteurs sociodémographiques, économiques, et de mode de vie associés à la consommation de compléments alimentaires (au global, et d'acide folique en particulier)**

Comparées aux non-consommatrices, les consommatrices de compléments alimentaires étaient plus âgées, vivaient plus souvent en Ile de France, n'avaient pas d'enfant, avaient des revenus plus élevés et occupaient un poste de cadre ou une profession intellectuelle supérieure (cf. tableau 11). Ces mêmes facteurs étaient aussi significativement associés à la consommation d'acide folique (p=0,02 pour l'âge, 0,01 pour la région d'habitation, 0,001 pour le nombre d'enfants, 0,001 pour le revenu et 0,007 pour la CSP).

**Tableau 11.** Caractéristiques démographiques, socioéconomiques et de mode de vie associées à la consommation de compléments alimentaires chez les femmes enceintes de l'étude NutriNet-Santé, 2012

	Total (n=903)		Non-consommatrices (n=317)		Consommatrices <sup>1</sup> (n=386)		Régressions logistiques ajustées sur l'âge	
	n	%	n	%	n	%	OR (IC-95%)	P <sup>2</sup>
Age (ans) <sup>3</sup>	31,7	4,07	31,1	4,22	32,1	3,94	1,06 (1,02-1,10)	0,001
Région d'habitation								0,0007
Région Parisienne	198	21,9	46	14,5	152	25,9	1,00	
Nord	66	7,3	33	10,4	33	5,6	0,26 (0,09-0,77)	
Nord-Ouest	142	15,7	48	15,1	94	16,0	0,61 (0,38-0,99)	
Centre	225	24,9	76	24,0	149	25,4	0,61 (0,40-0,95)	
Sud-Ouest	71	7,9	27	8,5	44	7,5	0,52 (0,29-0,93)	
Nord-Est	97	10,7	37	11,7	60	10,2	0,52 (0,31-0,89)	
Sud-Est	89	9,9	42	13,2	47	8,0	0,35 (0,20-0,59)	
Corse & DOM-TOM	15	1,7	8	2,5	7	1,2	0,26 (0,09-0,77)	
Statut matrimonial								0,6
Mariée ou en couple	847	93,8	295	93,1	552	94,2	1,00	
Seule	56	6,2	22	6,9	34	5,8	0,84 (0,48-1,48)	
Nombre d'enfants								0,003
0	518	57,4	171	53,9	347	59,2	1,00	
1	262	29,0	97	30,6	165	28,2	0,70 (0,50-0,97)	
≥ 2	123	13,6	49	15,5	74	12,6	0,52 (0,34-0,82)	
Niveau d'éducation								0,4
< baccalauréat	37	4,1	16	5,0	21	3,6	1,00	
≥ baccalauréat	866	95,9	301	95,0	565	96,4	1,32 (0,67-2,60)	
Niveau de revenu (€/mois)								0,0004
<1670	71	7,9	35	11,0	36	6,1	1,00	
1670-3130	328	36,3	134	42,3	194	33,1	1,35 (0,81-2,27)	
>3130	504	55,8	148	46,7	356	60,8	2,09 (1,25-3,50)	
Catégorie socio-professionnelle								0,008
Cadre ou profession intellectuelle supérieure	322	35,7	94	29,7	228	38,9	1,00	
Profession intermédiaire	253	28,0	79	24,9	174	29,7	0,96 (0,67-1,39)	
Employé	280	31,0	119	37,5	161	27,5	0,61 (0,43-0,87)	
Ouvrier, agriculteur, artisan, commerçant, chef d'entreprise	28	3,1	14	4,4	14	2,4	0,42 (0,19-0,92)	
Jamais travaillé	20	2,2	11	3,5	9	1,5	0,45 (0,17-1,16)	
Connaissance des recommandations du PNNS <sup>4</sup>								0,1
Faible (0-2)	191	21,2	78	22,9	113	19,0	1,00	
Moyenne (3)	217	24,0	73	23,2	144	25,1	1,35 (0,90-2,02)	
Elevée (4-5)	495	54,8	166	53,9	329	55,9	1,34 (0,94-1,89)	
Consommation d'aliments biologiques <sup>5</sup>								0,2
Jamais (évite d'en consommer)	191	25,5	79	29,7	112	23,2	1,00	
Indifférente	88	11,7	32	12,0	56	11,6	1,18 (0,70-2,00)	
Occasionnelle	239	31,9	75	28,2	164	34,0	1,53 (1,03-2,28)	
Régulière	231	30,8	80	30,1	151	31,3	1,37 (0,92-2,05)	

<sup>1</sup>Les consommatrices étaient les femmes enceintes qui avaient pris au moins un complément alimentaire au moins 3 jours par semaine au moment du questionnaire.

<sup>2</sup>P de tendance linéaire (pour l'âge, le nombre d'enfants, le niveau de revenu, et les connaissances des recommandations du PNNS) ou P global (pour toutes les autres variables).

<sup>3</sup>Les valeurs sont n, % pour toutes les variables à l'exception de l'âge où les valeurs sont des moyennes et SD.

<sup>4</sup>Programme National Nutrition Santé

<sup>5</sup>Déterminé par une analyse des correspondances multiples en utilisant les données du questionnaire sur la consommation d'aliments biologiques. Du fait de données manquantes, l'échantillon était composé de 483 consommatrices et 366 non-consommatrices de compléments alimentaires.

## **2. Description de la consommation globale et spécifique en fonction du trimestre de grossesse**

L'acide folique, le fer et le magnésium étaient les nutriments les plus souvent consommés sous forme de compléments par les femmes enceintes de la cohorte NutriNet-Santé (cf. tableau 12). L'acide folique était consommé par près d'une femme sur deux dans leur 1<sup>er</sup> trimestre de grossesse. La proportion de consommatrices de compléments en fer triplait significativement du 1<sup>er</sup> au 3<sup>ème</sup> trimestre. 15,5 % des femmes consommait des compléments en vitamine D de manière régulière/quotidienne (mais nous n'avions pas d'information sur la prise de vitamine D à dose unique). La proportion de consommatrices de vitamine D durant la grossesse était de 16,9%, 14,8%, 15,4% et 9,8% chez les femmes qui accouchaient au printemps, en été, en automne et en hiver, respectivement. La proportion de femmes enceintes qui consommaient des compléments à base d'iode était de 25,6% au 2<sup>ème</sup> trimestre de grossesse. La consommation de compléments contenant du rétinol atteignait 5,8% des femmes au cours du dernier trimestre de grossesse. Les compléments en vitamine E étaient consommés par 29% des femmes dans leur 2<sup>ème</sup> trimestre de grossesse. Environ 11% des femmes consommaient des compléments à base de plantes.

**Tableau 12.** Consommation globale et spécifique de compléments alimentaires chez les femmes enceintes et selon le trimestre de grossesse, étude NutriNet-santé, 2012<sup>1</sup>

	Total (n=903)		1 <sup>st</sup> T (n=281)		2 <sup>nd</sup> T (n=328)		3 <sup>rd</sup> T (n=294)		p <sup>2</sup>
	n	%	n	%	n	%	n	%	
<b>Consommation globale de compléments</b>	586	64,9	163	58,0	204	62,2	219	74,5	0,0001
<b>Types de compléments<sup>3</sup></b>									
Acide folique	406	45,0	141	50,2	144	43,9	121	41,2	0,07
Fer	380	42,1	52	18,5	140	42,7	188	63,9	<0,0001
Magnésium	289	32,0	57	20,3	111	33,8	121	41,2	<0,0001
Vitamine B6	240	26,6	48	17,1	105	32,0	87	29,6	<0,0001
Thiamine	233	25,8	49	17,4	105	32,0	79	26,9	0,0002
Riboflavine	229	25,4	46	16,4	103	31,4	80	27,2	<0,0001
Vitamine E	205	22,7	39	13,9	95	29,0	71	24,1	<0,0001
Vitamine B12	197	21,8	46	16,4	83	25,3	68	23,1	0,02
Zinc	187	20,7	41	14,6	83	25,3	63	21,4	0,004
Vitamine B8	182	20,2	38	13,5	79	24,1	65	22,1	0,004
Iode	182	20,2	37	13,2	84	25,6	61	20,7	0,0007
Acide pantothenique	165	18,3	42	14,9	70	21,3	53	18,0	0,07
Autres minéraux <sup>4</sup>	148	16,4	31	11,0	64	19,5	53	18,0	0,01
Vitamine D	140	15,5	35	12,5	60	18,3	45	15,3	0,1
Vitamine C	142	15,7	23	8,2	68	20,7	51	17,3	0,0001
Niacine	134	14,8	37	13,2	51	15,5	46	15,6	0,6
Acides gras ω3	99	11,0	20	7,1	47	14,3	32	10,9	0,02
Calcium	92	10,2	17	6,0	36	11,0	39	13,3	0,02
Autres compléments à base de plantes	72	8,0	20	7,1	26	7,9	26	8,8	0,97
Sélénium	69	7,6	8	2,8	33	10,1	28	9,5	0,003
Rétinol	41	4,5	6	2,1	18	5,5	17	5,8	0,08
Phosphore	27	3,0	8	2,8	10	3,0	9	3,1	0,98
Huile d'onagre, de bourrache ou de foie de morue	18	2,0	4	1,4	11	3,4	3	1,0	0,1
Bêta-carotène	11	1,2	1	0,4	5	1,5	5	1,7	0,3
Fluoride	11	1,2	3	1,1	3	0,9	5	1,7	0,7
CA à base d'acérola, de guarana ou de canneberge	10	1,1	3	1,1	5	1,5	2	0,7	0,6
Vitamine K	6	0,7	2	0,7	3	0,9	1	0,3	0,7
Fibres	4	0,4	3	1,1	1	0,3	0	0,0	0,6
Compléments à base de ginseng	3	0,3	2	0,7	0	0,0	1	0,3	0,8
Acides aminés/protéines	3	0,3	1	0,4	1	0,3	1	0,3	0,99
Phytoestrogènes (soja)	2	0,2	2	0,7	0	0,0	0	0,0	0,99
Lutéine	1	0,1	0	0,0	0	0,0	1	0,3	-

T, trimestre ; CA, compléments alimentaires

<sup>1</sup> Les consommatrices étaient les femmes enceintes qui avaient pris au moins un complément alimentaire au moins 3 jours par semaine au moment du questionnaire.

<sup>2</sup> Les consommatrices globales et spécifiques de compléments étaient comparées selon le trimestre de grossesse par des analyses de régression logistique non-conditionnelle ajustées sur l'âge.

<sup>3</sup> Les nutriments et autres substances étaient consommés seuls ou en combinaison.

<sup>4</sup> Potassium, cuivre, lithium, manganèse, chrome et autres minéraux.

### 3. Circonstances d'achats des compléments alimentaires

Du fait de données manquantes, 37 femmes étaient exclues des analyses présentées dans le tableau 13. Les compléments alimentaires étaient prescrits ou recommandés par un médecin dans la grande majorité des cas (86,7%). La consommation de compléments sur prescription médicale augmentait significativement de 67% au 1<sup>er</sup> trimestre à 76% au 3<sup>ème</sup> trimestre de grossesse. Les compléments étaient pris sur le conseil d'un pharmacien chez 18,6% des consommatrices.

**Tableau 13.** Circonstances d'achats des consommatrices de compléments alimentaires chez les femmes enceintes de l'étude NutriNet-Santé<sup>1</sup>

Circonstances d'achats	Chez les 549 consommatrices de compléments	
	n	%
Sur prescription ou conseil médical	476	86,7
Sur prescription médicale	382	69,6
Sur conseil d'un médecin	160	29,1
Sur conseil d'un pharmacien	102	18,6
Sur conseil d'un diététicien	6	1,1
Sur conseil d'un autre professionnel de santé	31	5,6
Sur conseil d'un parent, ami ou proche	45	8,2
Parce que vous découvrez ce produit en rayon et que ses caractéristiques vous ont incité à l'acheter	25	4,6
Parce que vous en avez entendu parler dans un livre	17	3,1
Parce que vous en avez entendu parler dans les médias	17	3,1
Sur conseil reçu en magasin (hors pharmacie)	7	1,3
Parce que vous avez vu une publicité	2	0,4
Autres circonstances	24	4,4
Ne sait pas	1	0,2

<sup>1</sup> Les consommatrices étaient les femmes enceintes qui prenaient au moins un complément alimentaire au moins trois jours par semaine au moment du questionnaire.

<sup>2</sup> Plusieurs réponses possibles par femme.

#### **4. Apports nutritionnels via l'alimentation en fonction de la consommation de compléments alimentaires**

Sur les 903 femmes enceintes, 74% (n=666) avaient rempli au moins un enregistrement alimentaire de 24h au cours de leur grossesse, étaient « normo-déclarantes » et ont donc pu être incluses dans les analyses suivantes. La plupart des femmes (73%) avaient rempli trois enregistrements alimentaires de 24h, 17% en avaient rempli deux et 10% en avaient rempli un seul. Comme le montre le tableau 14, les consommatrices de compléments avaient des apports alimentaires (hors compléments) significativement plus élevés en la plupart des vitamines et minéraux (en thiamine, riboflavine, vitamine B6, acide folique,  $\beta$ -carotène, vitamine E, fer, magnésium, et potassium) et légèrement plus faibles en vitamine D que les non-consommatrices. En ce qui concerne les apports en acide folique d'origine alimentaire uniquement, seulement 181 femmes (27%) atteignaient les apports recommandés en acide folique (0,4mg/jour) et cette proportion était significativement plus élevée chez les consommatrices de compléments d'acide folique que chez les non-consommatrices (33% vs 23% ; p=0.002).

**Tableau 14.** Apports nutritionnels quotidiens moyens via l'alimentation, au global et selon la consommation de compléments alimentaires chez les femmes enceintes de l'étude NutriNet-Santé, 2012

	Total <sup>1</sup> (n=666)		Non-Consommatrices (n=237)		Consommatrices <sup>2</sup> (n=429)		p <sup>3</sup>
	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	
Energie (kcal)	1999,1	459,3	1978,5	463,5	2010,4	457,0	0,4
Alcool (g)	0,2	1,7	0,2	1,8	0,2	1,6	0,6
Glucides totaux (g)	222,1	58,0	218,5	59,7	224,2	57,0	0,2
Glucides simples (g)	110,6	37,3	107,5	40,3	112,3	35,5	0,07
Amidon (g)	110,9	34,3	110,3	34,3	111,2	34,4	0,6
Fibres (g)	19,6	6,6	18,8	6,3	20,0	6,8	0,09
Protéines (g)	79,6	19,2	79,1	18,3	80,0	19,7	0,8
Lipides totaux (g)	87,0	26,4	86,7	26,2	87,2	26,5	0,3
Acides gras saturés (g)	37,7	12,9	38,0	12,9	37,6	12,9	0,07
Acides gras monoinsaturés (g)	31,9	10,6	31,4	10,4	32,2	10,7	0,8
Acides gras polyinsaturés (g)	11,3	4,6	11,2	5,0	11,3	4,3	0,8
Acides gras omega 3 (g)	1,2	0,6	1,2	0,7	1,2	0,6	0,5
Acides gras omega 6 (g)	9,3	4,2	9,3	4,7	9,4	3,9	0,9
Thiamine (mg)	1,3	0,5	1,3	0,5	1,4	0,5	0,01
Riboflavine (mg)	1,8	0,7	1,8	0,6	1,9	0,7	0,01
Niacine (mg)	17,9	6,4	17,4	5,9	18,3	6,6	0,2
Acide Pantothénique (mg)	5,5	1,7	5,4	1,7	5,6	1,7	0,3
Vitamine B6 (mg)	1,8	0,6	1,7	0,6	1,8	0,7	0,004
Folates (µg)	344,8	116,5	328,6	111,3	353,7	118,4	0,02
Vitamine B12 (µg)	4,7	5,7	5,1	8,6	4,5	3,1	0,2
Rétinol (µg)	507,2	679,9	521,5	747,9	499,2	640,0	0,5
Bêta-carotène (µg)	3289,5	2562,0	2938,9	2006,5	3483,1	2805,9	0,02
Vitamine C (mg)	131,6	95,7	124,0	63,1	135,8	109,4	0,2
Vitamine D (µg)	2,5	1,9	2,7	2,3	2,4	1,5	0,03
Vitamine E (µg)	12,0	4,9	11,4	5,2	12,3	4,7	0,04
Sodium (mg)	2618,4	837,3	2584,6	760,7	2637,1	877,0	0,8
Calcium (mg)	1037,7	330,1	1008,9	327,0	1053,6	331,1	0,1
Fer (mg)	13,0	4,6	12,2	4,0	13,4	4,9	0,003
Magnésium (mg)	320,7	92,5	305,7	78,4	329,0	98,5	0,003
Phosphore (mg)	1298,9	321,8	1278,7	304,7	1310,0	330,7	0,52
Potassium (mg)	3012,2	764,1	2905,3	728,4	3071,3	777,7	0,02
Zinc (mg)	10,6	3,2	10,4	2,9	10,7	3,4	0,6

<sup>1</sup>Chez les femmes enceintes qui avaient rempli au moins un enregistrement alimentaire de 24h au cours de leur grossesse.

<sup>2</sup>Les consommatrices de compléments alimentaires étaient les femmes enceintes qui avaient pris au moins un complément au moins 3 jours par semaine au moment du questionnaire.

<sup>3</sup>Analyses de régression logistique non-conditionnelle ajustées sur l'âge, le nombre d'enregistrements alimentaires de 24h et les apports énergétiques.

## C. Consommation de compléments alimentaires chez les sujets atteints de cancer ou en rémission

### a. Analyses statistiques

Nous avons calculé les proportions de consommateurs de compléments alimentaires (consommation d'au moins un complément après le diagnostic de cancer) dans l'échantillon total, selon le sexe et les principales localisations de cancer (cancer du sein et de la prostate). Nous avons décrit les circonstances d'achat, la durée de consommation du complément et la communication de cette consommation avec un médecin.

Nous avons comparé les consommateurs de compléments aux non-consommateurs par des analyses de régression logistique non-conditionnelle ajustées sur le sexe et l'âge, selon leurs caractéristiques sociodémographiques, anthropométriques et de mode de vie



(sexe, âge, région d'habitation, statut matrimonial, nombre d'enfants biologiques, niveau d'éducation, statut tabagique, IMC et activité physique de loisir).

Les participants « normo-déclarants » selon les critères de Black et qui ont répondu à au moins deux enregistrements alimentaires après leur diagnostic de cancer ont été inclus dans les analyses sur les données alimentaires (n = 668). La plupart des participants avaient trois enregistrements alimentaires disponibles et seuls 7% n'en n'avaient que deux. Les apports moyens journaliers en macro et micro-nutriments ont été estimés à partir de l'alimentation seule, puis à partir de l'alimentation totale (aliments et compléments alimentaires). Les apports nutritionnels ont ensuite été comparés chez les consommateurs et non-consommateurs de compléments par des analyses de régression logistique non-conditionnelle ajustées sur l'âge, le sexe, le nombre d'enregistrements alimentaires de 24h et les apports énergétiques moyens. Pour chaque nutriment, la proportion de l'apport quotidien total issue des compléments a été estimée chez les consommateurs de compléments alimentaires en général et chez les consommateurs de compléments alimentaires contenant spécifiquement le nutriment étudié.

Nous avons aussi évalué le nombre de sujets ayant des pratiques de prise de compléments potentiellement « à risque », telles que décrites dans la littérature : 1) consommation de compléments à base de  $\beta$ -carotène chez les fumeurs<sup>27;66;69</sup>, 2) consommation de compléments alimentaire qui devraient être évités chez certains patients atteints de cancer comme les phytoestrogènes chez les sujets atteints de cancers hormono-dépendants<sup>68;71</sup>, et 3) consommation simultanées de compléments alimentaires et de médicaments pour lesquels des interactions délétères (de gravité modérée ou sévère) ont été décrites dans la littérature<sup>71-74</sup>.

## **b. Résultats**

En janvier 2014, 1490 sujets avaient développé un cancer incident depuis le début de l'étude. Parmi eux, 1081 (73%) ont répondu au questionnaire complément alimentaire « spécifique ». Notre échantillon de survivants du cancer était âgé de  $60,1 \pm 10,9$  ans en moyenne et incluait 68% de femmes. Les cancers étaient principalement des cancers du sein (43%), de la prostate (19%) et de la peau (15%). Il s'est écoulé en moyenne  $22,3 \pm 14,6$  mois entre le diagnostic de cancer et le questionnaire compléments alimentaires « spécifique ».

### **1. Consommation de compléments alimentaires globale et spécifique**

La consommation de compléments alimentaires est présentée dans le tableau 15 selon le sexe et chez les survivants du cancer du sein et de la prostate. Au total, 62% des femmes (n=455) et 29% des hommes (n=101) avaient consommé au moins un complément alimentaire après leur diagnostic de cancer (n=566) : 442 en avaient consommé au moment du questionnaire et 114 en avaient consommé à un autre moment après leur diagnostic de cancer. Chez les consommateurs actuels, 52% prenaient 1 seul complément, 24% en prenaient 2 et 24% en prenaient au moins trois de façon simultanée. Chaque individu prenait en moyenne  $1,9 \pm 1,4$  complément alimentaire. La vitamine D, la vitamine B6, le magnésium et la vitamine C étaient les compléments les plus souvent consommés. Après leur diagnostic de cancer, 14,3% des sujets ont commencé à consommer des compléments alimentaire, 9,3% ont continué à en prendre mais ont modifié les types de compléments consommés, et 3,9% ont arrêté d'en consommer.

**Tableau 15.** Consommation de compléments alimentaires chez les survivants du cancer de l'étude NutriNet-Santé, 2014

	Total (n=1081)		Hommes (n=350)		Femmes (n=731)		Cas de cancers du sein (n=382)		Cas de cancers de la prostate (n=168)	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<b>Consommation globale après cancer<sup>1</sup> (oui)</b>	556	51,4	101	28,9	455	62,2	261	68,3	48	28,6
<b>Type de compléments (chez les consommateurs de compléments)<sup>2</sup> (oui)</b>										
Vitamine D	251	45,1	34	33,7	217	47,7	128	48,9	19	39,6
Vitamine B6	209	37,6	40	39,6	169	37,1	94	35,9	19	39,6
Magnésium	184	33,1	35	34,7	149	32,7	85	32,4	21	43,8
Vitamine C	175	31,5	41	40,6	134	29,5	79	30,2	21	43,8
Zinc	161	29,0	33	32,7	128	28,1	76	29,0	15	31,3
Vitamine E	159	28,6	34	33,7	125	27,5	72	27,5	18	37,5
Folates	145	26,1	32	31,7	113	24,8	60	22,9	15	31,3
Thiamine	138	24,8	31	30,7	107	23,5	60	22,9	16	33,3
Riboflavine	136	24,5	32	31,7	104	22,9	60	22,9	17	35,4
Niacine	134	24,1	30	29,7	104	22,9	61	23,3	16	33,3
Calcium	122	21,9	21	20,8	101	22,2	53	20,2	13	27,1
Sélénium	115	20,7	23	22,8	92	20,2	54	20,6	11	22,9
Fer	114	20,5	26	25,7	88	19,3	45	17,2	12	25,0
Acide pantothénique	108	19,4	22	21,8	86	18,9	50	19,1	11	22,9
Vitamine B12	91	16,4	25	24,8	66	14,5	32	12,2	11	22,9
Vitamine B8	91	16,4	18	17,8	73	16,0	38	14,5	7	14,6
Polyphénols	81	14,6	18	17,8	63	13,8	39	14,9	9	18,8
Acérola, guarana ou canneberge	74	13,3	12	11,9	62	13,6	35	13,4	3	6,3
Fibres	72	12,9	15	14,9	57	12,5	43	16,4	8	16,7
Probiotiques	71	12,8	9	8,9	62	13,6	42	16,0	2	4,2
Acides aminés/protéines	68	12,2	13	12,9	55	12,1	32	12,2	3	6,3
Phytoestrogènes	64	11,5	16	15,8	48	10,5	26	9,9	8	16,7
Rétinol	61	11,0	9	8,9	52	11,4	30	11,5	4	8,3
Acides gras ω3	56	10,1	15	14,9	41	9,0	28	10,7	9	18,8
Iode	55	9,9	11	10,9	44	9,7	23	8,8	4	8,3
β-carotène	46	8,3	9	8,9	37	8,1	19	7,3	4	8,3
Phosphore	43	7,7	9	8,9	34	7,5	21	8,0	3	6,3
Desmodium	40	7,2	2	2,0	38	8,4	28	10,7	1	2,1
Huile d'onagre, de bourrache ou de foie de morue	33	5,9	1	1,0	32	7,0	23	8,8	1	2,1
Ginseng	33	5,9	8	7,9	25	5,5	9	3,4	2	4,2
Lutéine	31	5,6	14	13,9	17	3,7	7	2,7	6	12,5
Zéaxanthine	13	2,3	6	5,9	7	1,5	3	1,1	3	6,3
Huile de lin	13	2,3	3	3,0	10	2,2	5	1,9	3	6,3
Levure de riz rouge	10	1,8	3	3,0	7	1,5	3	1,1	1	2,1
Lycopène	9	1,6	1	1,0	8	1,8	6	2,3	0	0,0
Echinacée	7	1,3	1	1,0	6	1,3	4	1,5	1	2,1
Vitamine K	5	0,9	2	2,0	3	0,7	0	0,0	2	4,2
DHEA	4	0,7	0	0,0	4	0,9	1	0,4	0	0,0
Phytoprogestagènes	4	0,7	0	0,0	4	0,9	3	1,1	0	0,0
Fluor	4	0,7	0	0,0	4	0,9	4	1,5	0	0,0
Luzerne	3	0,5	0	0,0	3	0,7	3	1,1	0	0,0
Cohosh noir	1	0,2	0	0,0	1	0,2	0	0,0	0	0,0
Autres minéraux <sup>3</sup>	121	21,8	28	27,7	93	20,4	59	22,5	16	33,3
Autres compléments à base de plantes	34	6,1	7	6,9	27	5,9	12	4,6	4	8,3

<sup>1</sup>Au moins un complément alimentaire consommé après le diagnostic de cancer.

<sup>2</sup>Les nutriments et autres substances pouvaient être consommés seuls ou combinés dans un seul complément alimentaire. Les pourcentages ont été calculés chez les consommateurs de compléments au global.

<sup>3</sup>Potassium, cuivre, lithium, manganèse, chrome et autres minéraux.

## **2. Motivations et circonstances d'achat des compléments alimentaires et implication des médecins**

Comme le montre le tableau 16, 48% des consommateurs prenaient des compléments alimentaires motivés directement par le cancer en lui-même (pour atténuer les effets secondaires des traitements ou lutter contre les récives par exemple). Les autres raisons souvent citées étaient pour « renforcer les défenses de l'organisme » (53,8%) et « lutter contre la fatigue » (38,7%). Des motivations similaires étaient rapportées par les hommes et les femmes et par les survivants de cancer du sein et de la prostate.

Parmi les 1140 compléments alimentaires déclarés par les participants, seulement la moitié d'entre eux (54%) étaient pris sur prescription ou conseil d'un médecin (cf. tableau 17). La prise de compléments sous prescription ou conseil médical était plus élevée pour les compléments à base de vitamine D (81%), moyenne pour certains compléments en vitamines et minéraux (i.e., 43% pour la vitamine C et le magnésium, 47% pour la vitamine B6) et plus faible pour les compléments à base de plantes ou autres substances naturelles (36% pour les compléments en acérola/guarana/canneberge et 24% pour les phytoestrogènes).

Parmi les 1140 compléments rapportés, seulement la moitié (54%) étaient consommés depuis plus d'un an. Pour 35% des compléments déclarés, aucun des médecins n'étaient informés de la consommation de compléments par leurs patients. La principale raison citée par les sujets était que les praticiens ne demandaient pas à leurs patients s'ils consommaient des compléments (86%).

**Tableau 16.** Motivations de consommations des compléments alimentaires chez les survivants du cancer<sup>1</sup>, Etude NutriNet-Santé, 2014

	Total (n=522)		Hommes (n=97)		Femmes (n=425)		Cancers du sein (n=246)		Cancers de la prostate (n=46)	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<b>Lutter contre le cancer</b>	249	47,7	41	42,3	208	48,9	140	56,9	20	43,5
Atténuer les effets secondaires des traitements	147	28,2	12	12,4	133	31,3	101	41,1	4	8,7
Lutter contre les récives	72	13,8	15	15,5	57	13,4	41	16,7	8	17,4
Contrôler ma maladie	53	10,2	15	15,5	38	8,9	22	8,9	9	19,6
Atténuer les symptômes	45	8,6	8	8,2	37	8,7	27	11,0	3	6,5
Autres raisons liées au cancer	42	8,0	14	14,4	37	8,7	18	7,3	2	4,3
<b>Autres raisons de santé (non liées au cancer)</b>	432	82,8	82	84,5	350	82,4	202	82,1	40	87,0
Renforcer les défenses de l'organisme	281	53,8	56	57,7	225	52,9	130	52,8	30	65,2
Résoudre ou lutter contre un autre problème de santé	191	36,6	32	33,0	159	37,4	83	33,7	17	37,0
Prévenir les maladies en général	78	14,9	18	18,6	60	14,1	33	13,4	9	19,6
Autres raisons liées à la santé	60	11,5	8	8,2	52	12,2	34	13,8	4	8,7
<b>Améliorer mon bien-être au quotidien</b>	311	59,6	60	61,9	251	59,1	151	61,4	30	65,2
Lutter contre la fatigue	202	38,7	41	42,3	161	37,9	92	37,4	20	43,5
Combattre le stress	67	12,8	7	7,2	60	14,1	29	11,8	3	6,5
Améliorer le sommeil	54	10,3	3	3,1	51	12,0	31	12,6	1	2,2
Soulager les troubles féminins liés à la ménopause	45	8,6	0	0,0	45	10,6	30	12,2	0	0,0
Faciliter la digestion, le confort intestinal	31	5,9	6	6,2	27	6,4	14	5,7	2	4,3
Améliorer la circulation	23	4,4	5	5,2	18	4,2	9	3,7	3	6,5
Soulager les troubles liés au syndrome prémenstruel	2	0,4	0	0,0	2	0,5	1	0,4	0	0,0
Autres raisons liées au bien-être	82	15,7	19	19,6	63	14,8	39	15,9	10	21,7
<b>Comblent des besoins particuliers</b>	178	34,1	44	45,4	134	31,5	78	31,7	25	54,3
Compléter des apports alimentaires insuffisants liés à un régime alimentaire particulier	75	14,4	21	21,6	54	12,7	30	12,2	12	26,1
Compléter des apports alimentaires que je pense inadaptés (hors régime particulier)	65	12,5	10	10,3	55	12,9	33	13,4	8	17,4
Liés à votre activité physique ou sportive	47	9,0	17	17,5	30	7,1	19	7,7	10	21,7
Liés à une grossesse ou allaitement	4	0,8	0	0,0	4	0,9	0	0,0	0	0,0
<b>Améliorer mon apparence ou mes performances</b>	221	42,3	48	49,5	173	40,7	111	45,1	27	58,7
Mieux Vieillir	131	25,1	38	39,2	93	21,9	54	22,0	24	52,2
Entretenir ma beauté/mon apparence	75	14,4	6	6,2	69	16,2	46	18,7	2	4,3
Améliorer mes performances intellectuelles	31	5,9	7	7,2	24	5,6	17	6,9	3	6,5
Rester jeune	12	2,3	8	8,2	4	0,9	3	1,2	4	8,7
Perdre du poids	10	1,9	1	1,0	9	2,1	6	2,4	0	0,0
Agir sur ma silhouette	10	1,9	0	0,0	10	2,4	6	2,4	0	0,0
améliorer performances sexuelles	1	0,2	1	1,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Prendre du poids	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Autres raisons liées à l'apparence ou performances	30	5,7	4	4,1	26	6,1	15	6,1	2	4,3

<sup>1</sup>Au moins un complément alimentaire consommé après le diagnostic de cancer. Les données sur les motivations d'achat de compléments étaient manquantes pour 34 consommateurs. Plusieurs réponses étaient possibles.

**Tableau 17.** Circonstances d'achat, durée de consommation, et communication avec le médecin traitant pour les 1140 compléments alimentaires déclarés par les survivants du cancer de l'étude NutriNet-Santé, 2014

	Nombre de compléments alimentaires	%
<b>Circonstances d'achat<sup>1</sup></b>		
Sur prescription médicale	451	39,6
Sur le conseil d'un médecin (sans prescription)	168	14,7
Découvert par moi-même dans un magasin	141	12,4
Sur le conseil d'un pharmacien	111	9,7
Sur le conseil d'un ami/ membre de la famille	105	9,2
Sur le conseil d'un autre professionnel de santé	64	5,6
Entendu parler dans les médias (télévision, magazine, etc.)	47	4,1
Entendu parler dans un livre	46	4,0
Vu dans une publicité	31	2,7
Sur le conseil d'un diététicien	25	2,2
Sur le conseil d'un autre patient	20	1,8
Sur un conseil reçu en magasin (hors pharmacie)	12	1,1
Sur le conseil d'un professionnel de l'activité physique	8	0,7
Autres circonstances	40	3,5
<b>Durée de consommation (ans)</b>		
< 1	506	44,4
1-2	283	24,8
3-5	210	18,5
5-10	86	7,5
>10	55	4,8
<b>Avez-vous informé l'un de vos médecins<sup>2</sup> à propos de votre consommation de compléments?</b>		
Oui	742	65,1
Non	398	34,9
<b>Raisons de ne pas informer le médecin<sup>1</sup></b>		
Il n'a pas demandé	343	86,2
Il n'a pas besoin d'être au courant	85	21,4
Il ne pourrait pas comprendre	41	10,3
Il désapprouverait	17	4,3

<sup>1</sup> Plusieurs réponses possibles.

<sup>2</sup> Médecin généraliste, oncologue ou autre médecin.

<sup>3</sup> Parmi les 348 compléments pour lesquels les participants avaient coché « non » à la question précédente. Plusieurs réponses étaient possibles.

### **3. Facteurs socio-démographiques, anthropométriques et de mode de vie corrélés à la consommation de compléments alimentaires**

Les facteurs socio-démographiques, anthropométriques et de mode de vie corrélés à la consommation de compléments alimentaires sont présentés dans le tableau 18. Comparés aux non consommateurs, les consommateurs de compléments alimentaires étaient plus souvent des femmes ( $p < 0,0001$ ), avaient un niveau d'éducation plus élevé ( $p = 0,0001$ ), étaient plus souvent non-fumeurs ( $p = 0,03$ ) et avaient plus souvent un poids « normal » ( $p = 0,0005$ ).

**Tableau 18.** Facteurs socio-démographiques, comportementaux et de mode de vie associés à la consommation de compléments alimentaires chez les survivants du cancer de l'étude NutriNet-Santé, 2014

	Total (n=1081)		% de prise de compléments dans chaque catégorie <sup>1</sup>		Analyses de régression logistique ajustées sur le sexe et l'âge	
	n	%	n	%	OR (IC-95%)	p
<b>Sexe</b>						<0,0001
Hommes	350	32,38	101	28,9	1,00	
Femmes	731	67,62	455	62,2	4,24 (3,15-5,71)	
<b>Age</b>						0,2
< 55 ans	306	28,31	170	55,6	1,00	
55-65 ans	387	35,80	215	55,6	1,32 (0,96-1,81)	
> 65 ans	388	35,89	171	44,1	1,17 (0,83-1,64)	
<b>Région d'habitation</b>						0,9
Banlieue parisienne	236	21,83	125	53,0	1,00	
Nord, Nord-Est	147	13,60	70	47,6	0,84 (0,55-1,30)	
Nord-Ouest	194	17,95	94	48,5	0,85 (0,57-1,27)	
Sud-Ouest	122	11,29	67	54,9	1,07 (0,68-1,70)	
Centre	229	21,18	123	53,7	1,02 (0,69-1,49)	
Sud-Est	146	13,51	73	50,0	0,97 (0,63-1,50)	
Autres régions <sup>2</sup>	7	0,65	4	57,1	1,48 (0,29-7,43)	
<b>Statut matrimonial</b>						0,8
Marié(e) ou en couple	802	74,19	394	49,1	1,00	
Divorcé(e)/séparé(e)/veuf(ve)	189	17,48	108	57,1	1,10 (0,78-1,54)	
Célibataire	90	8,33	54	60,0	1,14 (0,72-1,82)	
<b>Enfants biologiques</b>						0,09
Oui	367	33,95	176	48,0	1,00	
Non	714	66,05	380	53,2	0,79 (0,61-1,04)	
<b>Niveau d'éducation</b>						0,0001
≤ Baccalauréat	468	43,29	207	44,2	1,00	
> Baccalauréat	613	56,71	349	56,9	1,66 (1,29-2,15)	
<b>Statut tabagique</b>						0,03
Non-fumeur	436	40,33	249	57,1	1,00	
Ancien fumeur	523	48,38	255	48,8	0,57 (0,37-0,87)	
Fumeur actuel	122	11,29	52	42,6	0,90 (0,68-1,18)	
<b>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</b>						0,0005
Normal (18.5-24.9)	620	57,35	364	58,7	1,00	
Maigre (<18.5)	28	2,59	17	60,7	0,75 (0,34-1,64)	
En surpoids et obèse (≥25)	433	40,06	175	40,4	0,59 (0,45-0,77)	
<b>Activité physique de loisir<sup>3</sup></b>						0,2
Élevée	350	39,64	167	47,7	1,00	
Modérée	328	37,15	185	56,4	1,31 (0,95-1,81)	
Faible	205	23,22	107	52,2	1,12 (0,77-1,62)	

<sup>1</sup> Au moins un complément alimentaire consommé après le diagnostic de cancer.

<sup>2</sup> Départements et territoires d'Outre-Mer

<sup>3</sup> Mesuré par le questionnaire IPAQ. A cause de données manquantes, les proportions de sujets ont été calculées sur 833 participants (459 consommateurs de compléments et 424 non-consommateurs).

#### **4. Apports nutritionnels en fonction de la consommation de compléments et contribution de ces produits aux apports**

Les apports nutritionnels et énergétiques quotidiens moyens sont comparés chez les consommateurs et non consommateurs de compléments alimentaires dans le tableau 19. En ne considérant que les apports alimentaires, les consommateurs de compléments avaient déjà des apports plus importants en fibres, vitamines B6, B9 et C, fer, magnésium, potassium et zinc. En considérant les apports totaux (aliments et compléments), les consommateurs de compléments avaient en plus des apports plus élevés en thiamine, riboflavine, niacine, acide pantothénique, vitamines D et E, et calcium que les non-consommateurs.

La contribution des compléments alimentaires aux apports nutritionnels totaux était très élevée pour certains nutriments : chez les consommateurs du nutriment spécifique, ils représentaient plus de la moitié des apports quotidiens totaux pour les vitamines D (89%), B6 (68%) et E (68%) et B12 (50%) et plus d'un tiers des apports totaux pour les fibres, thiamine, acide pantothénique, folates, rétinol, vitamine C et calcium.

**Tableau 19.** Comparaison des apports quotidiens moyens en énergie et nutriments provenant de l'alimentation seule puis de l'alimentation et des compléments alimentaires, entre les consommateurs et les non-consommateurs de compléments alimentaires, chez les survivants du cancer de l'étude NutriNet-Santé, 2014<sup>1</sup>

	Alimentation			Alimentation + compléments alimentaires							
	Non-consommateurs de CA (n=398)		Consommateurs de CA (n=270)	Consommateurs de CA au global (n=270)			Consommateurs du nutriment spécifique par les CA				
	Apports quotidiens moyens (SE) <sup>2</sup>		Apports quotidiens moyens (SE) <sup>2</sup>	P	Apports quotidiens moyens (SE) <sup>2</sup>		P	% apportés par les CA	n	% apportés par les CA	
Energie (kcal)	2096,7	(37,8)	2129,8	(43,4)	0,4	2133,8	(43,4)	0,3	0,2	95	0,2
Alcool (g)	12,2	(1,1)	11,1	(1,2)	0,3	11,1	(1,2)	0,3	0,0	0	0,0
Glucides totaux (g)	192,4	(3,0)	193,6	(3,4)	0,7	193,9	(3,4)	0,6	0,2	91	0,5
Glucides simples (g)	88,9	(2,4)	92,3	(2,7)	0,1	92,3	(2,7)	0,1	0,0	45	0,3
Glucides complexes (g)	102,9	(2,4)	100,6	(2,8)	0,3	100,6	(2,8)	0,3	0,0	0	0,0
Fibres (g)	19,3	(0,6)	21,3	(0,6)	0,0002	24,9	(1,2)	0,0001	14,5	42	38,0
Protéines (g)	85,3	(1,2)	85,7	(1,4)	0,8	87,8	(2,0)	0,1	2,4	79	11,1
Lipides totaux (g)	82,2	(1,2)	82,3	(1,4)	0,9	82,4	(1,4)	0,9	0,1	84	0,1
Acides gras saturés (g)	32,6	(0,7)	31,9	(0,8)	0,3	31,9	(0,8)	0,3	0,0	44	0,0
Acides gras monoinsaturés (g)	31,6	(0,6)	32,2	(0,7)	0,2	32,2	(0,7)	0,3	0,0	13	0,0
Acides gras polyinsaturés (g)	11,4	(0,3)	11,7	(0,4)	0,4	11,7	(0,4)	0,3	0,0	65	3,3
Thiamine (mg)	1,2	(0,0)	1,2	(0,0)	0,5	1,4	(0,1)	<0,0001	14,3	97	36,8
Riboflavine (mg)	1,9	(0,0)	1,9	(0,1)	0,9	2,1	(0,1)	0,02	9,5	96	26,9
Niacine (mg)	20,7	(0,5)	21,3	(0,5)	0,2	23,1	(0,6)	0,0001	7,8	97	22,8
Acide Pantothénique (mg)	5,7	(0,1)	5,8	(0,1)	0,3	6,5	(0,2)	<0,0001	10,8	80	34,1
Vitamine B6 (mg)	1,8	(0,0)	2,0	(0,0)	0,001	3,6	(0,8)	<0,0001	44,4	151	68,3
Folates (µg)	335,2	(9,4)	354,6	(10,8)	0,03	468,7	(21,8)	<0,0001	24,3	110	37,9
Vitamine B12 (µg)	7,5	(0,5)	7,2	(0,6)	0,6	8,3	(1,1)	0,4	13,3	65	50,0
Rétinol (µg)	602,8	(76,9)	554,9	(88,4)	0,5	610,7	(92,0)	0,9	9,1	45	41,5
β-carotène (µg)	3881,8	(242,5)	4087,2	(278,9)	0,4	4219,9	(291,8)	0,1	3,1	27	32,8
Vitamine C (mg)	115,6	(7,7)	132,4	(8,9)	0,03	156,9	(10,6)	<0,0001	15,6	123	40,4
Vitamine D (µg)	3,1	(0,2)	3,4	(0,3)	0,2	15,9	(3,0)	<0,0001	78,6	205	89,4
Vitamine E (µg)	12,5	(0,4)	12,8	(0,4)	0,4	19,8	(4,1)	<0,0001	35,4	113	67,6
Sodium (mg)	2903,5	(65,6)	2928,1	(75,4)	0,7	2929	(75,6)	0,7	0,0	54	0,6
Calcium (mg)	907,8	(22,5)	923,2	(25,8)	0,4	1112,9	(152,6)	<0,0001	17,0	102	49,3
Fer (mg)	13,4	(0,3)	14,9	(0,4)	<0,0001	15,9	(0,5)	<0,0001	6,3	84	20,4
Magnésium (mg)	337,3	(7,9)	365,8	(9,1)	0,0002	389,1	(10,6)	<0,0001	6,0	123	15,1
Phosphore (mg)	1320,8	(27,1)	1353,7	(24,2)	0,1	1354	(24,2)	0,1	0,0	33	2,1
Potassium (mg)	3229,9	(59,5)	3411,3	(68,4)	0,002	3416,1	(68,5)	0,001	0,1	33	2,0
Zinc (mg)	11,3	(0,2)	12,0	(0,3)	0,005	13,0	(0,3)	<0,0001	7,7	117	26,1

<sup>1</sup> Chez les sujets "normo-déclarants" ayant au moins un enregistrement alimentaire de 24h disponible après le diagnostic de cancer. Les consommateurs de compléments alimentaires étaient les sujets qui avaient consommé au moins un complément alimentaire après le diagnostic de cancer.

<sup>2</sup> Les moyennes (SE) et les analyses de régression logistique non-conditionnelle (effectuées pour calculer la p-value de la comparaison des consommateurs de compléments et des non-consommateurs) étaient ajustées sur le sexe, l'âge, le nombre d'enregistrements alimentaires de 24h et les apports énergétiques.



## 5. Pratiques de consommation de compléments alimentaires potentiellement à risque

Parmi les 442 consommateurs actuels de compléments (i.e., au moment du questionnaire), 81 (18%) avaient déclaré des pratiques de consommation considérées « à risque » d'après les données disponibles dans la littérature. Ces pratiques sont listées dans le tableau 20 (un sujet pouvait cumuler plusieurs pratiques « à risque ») : 30 participants ayant une histoire tabagique avaient consommé des compléments à base de  $\beta$ -carotène (6 fumeurs actuels et 24 anciens fumeurs), 44 avaient pris des compléments alimentaires contre-indiqués dans certains types de cancer et 39 participants avaient pris simultanément des compléments et des médicaments pour lesquels des interactions délétères (modérées ou sévères) étaient répertoriées.

**Tableau 20.** Pratiques de consommation de compléments alimentaires potentiellement délétères chez les survivants du cancer de l'étude NutriNet-Santé, 2014

	Nombre de sujets
<b>Consommation de compléments à base de <math>\beta</math>-carotène chez les fumeurs</b>	
$\beta$ -carotène / fumeurs actuels	6
$\beta$ -carotène / anciens fumeurs	24
<b>Consommation de compléments alimentaires à éviter chez les patients atteints de cancers hormono-dépendants</b>	
Phytoestrogènes / Cancers du sein	26
Gattilier / Cancers du sein	3
DHEA / Cancers du sein	1
Phytoestrogènes / Cancer des ovaires ou de l'endomètre	5
Phytoestrogènes / Cancer de la prostate	8
Saw palmetto / Cancer de la prostate	1
<b>Consommation simultanée de compléments alimentaires et médicaments à interactions délétères sévères ou modérées</b>	
Vitamine E / Anticoagulants-antiagrégants plaquettaires	10
Niacine / Statines	7
Carthame / Anticoagulants-antiagrégants plaquettaires	3
Lin / Antiagrégants plaquettaires	3
Curcuma / Anticoagulants-antiagrégants plaquettaires	2
Potassium / Spironolactone	2
Echinacea / Antiagrégants plaquettaires	2
Ginseng / Anticoagulants-antiagrégants plaquettaires	2
Gingko biloba / Anticoagulants	1
Glucosamine / Antiagrégants plaquettaires	1
Potassium / Captopril	1
Levure de riz rouge / Hypocholestérolémiant	1
Valériane / Tamoxifène	1
Quinquina / Anticoagulants	1
Milk thisle / Anticoagulants	1
Soja / Anticoagulants	1

### 3. Discussion de la première partie

#### A. Discussion et mise en perspective des résultats

##### a. Une consommation de compléments alimentaires importante en population générale et dans les groupes spécifiques étudiés

L'étude NutriNet-Santé a permis de mettre en évidence l'importance de la consommation de compléments alimentaires chez les adultes français (24% des hommes et 45% des femmes dans cette étude), notamment dans des groupes spécifiques, avec une plus forte consommation chez les femmes enceintes (65%) et les sujets atteints de cancer ou en rémission (51%). Cependant, les types de compléments consommés différaient entre ces sous-groupes, motivés par des raisons spécifiques.

En population générale, le magnésium et les vitamines B6 et C étaient les substances les plus souvent consommées via les compléments, comme observé dans l'étude CCAF<sup>25</sup>. La principale raison de consommation citée était de « lutter contre la fatigue », ce qui a également été observé dans l'étude ECCA<sup>234</sup>. Une certaine cohérence existait entre les types de compléments les plus souvent consommés et la principale raison de prise de compléments. En effet, l'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA) a récemment trouvé une relation causale entre certaines carences nutritionnelles (en particulier le magnésium, la vitamine C et la vitamine B6) et un état de fatigue chronique, autorisant les denrées alimentaires contenant au moins 15% de l'AJR pour 100g, à porter des allégations nutritionnelles relatives à la fatigue<sup>235-237</sup>. En revanche, une raison fondée qui aurait pu motiver la consommation de compléments (compléter les apports alimentaires insuffisants liés à un régime alimentaire particulier) concernait seulement 10% des consommateurs. De plus, des situations spécifiques (souvent associées à un inconfort physique ou psychologique) tels que le suivi d'un régime restrictif, la grossesse, la ménopause et des plaintes physiques ou émotionnelles chroniques étaient associées à une consommation plus élevée de compléments. Par ailleurs, la prise de compléments ne semblait pas être temporaire car les compléments étaient souvent consommés sur une longue période, ce qui suggère qu'ils pourraient engendrer des effets sur la santé à long terme. Enfin, les compléments étaient principalement consommés en hiver, comme dans les études INCA2 et ECCA<sup>18;238</sup>.

Nous avons observé que les fumeurs avaient moins tendance à consommer des compléments que les non-fumeurs, comme dans la cohorte E3N<sup>130</sup>. Cependant, la consommation de compléments chez les fumeurs était loin d'être négligeable (19%) bien que ses effets potentiels sur la santé en association avec le tabagisme soient mal connus. Notamment, il a été démontré que le  $\beta$ -carotène augmentait le risque de cancer chez les fumeurs<sup>27;239</sup>. Dans notre étude, 11% des femmes fumeuses consommatrices de compléments alimentaires prenaient du  $\beta$ -carotène sous forme de compléments en été. Ces résultats suggèrent que les fumeurs n'ont probablement pas conscience de ce risque, ou que les professionnels de santé sont mal informés pour les mettre en garde<sup>240</sup>. Les compléments les plus consommés étaient les mêmes quel que soit le statut tabagique, mais les raisons de consommation différaient. Comparés aux non-fumeurs, les fumeurs consommaient plus souvent des compléments pour lutter contre le stress, perdre du poids, ou compenser un apport alimentaire insuffisant.

Chez les femmes enceintes, les besoins nutritionnels en certains nutriments clés augmentent au cours de la grossesse, ce qui peut nécessiter une supplémentation nutritionnelle sous contrôle médical. L'acide folique et le fer étaient dans ce groupe de population, les nutriments les plus consommés. Toutefois, alors qu'elle est recommandée chez les femmes en début de grossesse, la prise d'acide folique ne dépassait pas 50% des femmes au premier trimestre dans notre étude. Ces consommatrices d'acide folique étaient plus nombreuses que dans l'enquête nationale périnatale française de 2010<sup>241</sup> (40% prenaient de l'acide folique durant leur grossesse et 24% avant et/ou au moment de la conception) mais moins nombreuses que dans d'autres pays développés<sup>32;51;55;59;242</sup>. Le risque potentiel d'une supplémentation systématique en acide folique a été soulevé mais une récente méta-analyse sur 13 essais cliniques a montré qu'une telle supplémentation n'augmentait pas le risque de cancers<sup>132</sup>. Un autre problème suscité par cette supplémentation réside dans le fait que les femmes qui ont des grossesses non planifiées peuvent éventuellement manquer la période déterminante pendant laquelle la supplémentation aurait été bénéfique<sup>38;243</sup>.

Les besoins en fer augmentent aussi pendant la grossesse, en particulier au cours du dernier trimestre<sup>30;39</sup>. Actuellement, il est recommandé de prescrire une supplémentation en fer si les femmes sont à risque de carence<sup>44</sup>. Ceci est cohérent avec nos résultats car le fer était le deuxième nutriment le plus fréquemment consommé, et son utilisation triplait entre le premier et le dernier trimestre, atteignant 64% des consommatrices. Toutefois, cette proportion restait plus faible que dans les autres pays développés<sup>51;58;244</sup>.

Concernant la vitamine D, la pratique actuelle en France est de prescrire une dose unique de 100 000 UI au sixième mois de grossesse, notamment si le dernier trimestre a lieu en hiver<sup>44</sup>. Cependant, notre questionnaire (conçu au départ pour la population générale) ne permettait pas de recueillir la consommation de compléments en vitamine D à dose unique. Néanmoins, notre étude fournit des données importantes sur la consommation régulière de vitamine D, qui concernait 15,5% des femmes enceintes.

L'Organisation Mondiale de la Santé recommande une dose de 250 mg/j d'iode chez les femmes enceintes qui n'ont pas accès au sel iodé<sup>245</sup>. En France, aucune supplémentation systématique en iode n'est pratiquée<sup>44</sup>. Dans notre étude, la consommation de suppléments en iode au 2<sup>ème</sup> trimestre de grossesse atteignaient 25,6% des femmes, comme on a pu l'observer aux États-Unis<sup>43</sup>.

Chez les sujets atteints de cancer ou en rémission, la consommation de compléments était plus faible que celle observée dans les études américaines<sup>75;77;246</sup> (variant de 50 à 81%) mais restait proche des chiffres observés en Europe<sup>82;83;87;247</sup>. En effet, le diagnostic d'un cancer peut influencer la consommation de compléments<sup>248;249</sup> comme le montrent nos données avec 27,5% de participants qui ont commencé, arrêté ou modifié leur consommation après leur diagnostic de cancer. Des recherches sur les croyances de cette population vis à vis des compléments alimentaires et du cancer sont nécessaires pour mieux comprendre ces changements de comportements.

En outre, la vitamine D était le nutriment le plus souvent consommé par les cancers survivants de la cohorte NutriNet-Santé (45% des consommateurs). Cette forte prévalence de consommation de vitamine D, particulièrement chez les femmes, était en accord avec certaines études américaines<sup>79;248;250</sup>. En effet, certains traitements contre le cancer comme les inhibiteurs d'aromatase utilisés pour le cancer du sein en post-ménopause et les traitements anti-androgéniques utilisés pour le cancer de la prostate<sup>251</sup> peuvent entraîner une perte osseuse et ainsi justifier la supplémentation en vitamine D.

Par ailleurs, le cancer lui-même (et ses conséquences) apparaissait comme une forte motivation de consommation. Comme précédemment observé<sup>75;77</sup>, « renforcer les défenses de l'organisme » était une raison de consommation fréquemment citée chez les survivants du cancer. En effet, certains traitements par chimiothérapie et/ou radiothérapie peuvent altérer le système immunitaire<sup>75;77</sup>. Enfin, « lutter contre la fatigue » était une motivation très souvent citée (comme dans la cohorte globale), ce qui était en accord avec la prise fréquente de magnésium, vitamine B6 et C dans cette population<sup>235-237</sup>.

#### **b. Une part importante d'automédication**

Dans la cohorte globale, près d'un consommateur sur deux prenait des compléments en automédication, 21% achetait des compléments sous conseil médical et 33% sous prescription médicale. Ces résultats étaient similaires à ceux de l'étude Inca 2<sup>18</sup>, dans laquelle la prescription ou le conseil médical représentaient 52% des achats. Chez les femmes enceintes, la part de prescription ou de conseil médical était beaucoup plus élevée (86%) mais l'automédication représentait tout de même 15% des prises environ. Notre proportion de femmes enceintes en automédication était plus faible que dans des études australiennes ou américaines<sup>59;252</sup> mais aucune donnée n'était disponible au niveau européen pour pouvoir les comparer.

Par ailleurs, le rôle du pharmacien était important aussi bien dans la cohorte globale que chez les femmes enceintes puisqu'il représentait plus de 20 % des motivations d'achat dans la cohorte globale et 18,6% chez les femmes enceintes. Ainsi, il apparaît stratégique de sensibiliser ce corps professionnel aux risques et aux bonnes pratiques de consommation de compléments alimentaires pour chaque catégorie de population, et en tenant compte des consommations de médicaments concomitantes.

Chez les sujets atteints de cancer, 45% des compléments cités étaient pris en automédication contre 55% sur prescription ou conseil médical. Cette proportion variait selon le type de complément consommé. Bien que certains compléments pris en automédication devraient être évités dans cette population, d'autres peuvent s'avérer réellement utiles sous surveillance médicale. C'est le cas par exemple, de la vitamine D, comme nous l'avons discuté précédemment. En effet, nous avons d'ailleurs observé que la part de prescription ou de conseil médical était la plus élevée pour ce nutriment (81%).

Toujours chez les sujets atteints de cancer, la prise de compléments n'était pas discutée avec un médecin (généraliste, oncologue) dans 35% des cas. Bien que cette proportion soit inférieure aux études américaines<sup>75</sup>, ce comportement reste préoccupant du fait des interactions potentielles des compléments alimentaires avec les chimiothérapies et autres traitements<sup>71-73</sup>. La raison principale évoquée par les sujets de ne pas informer leurs médecins de leurs prises de compléments était que ce dernier ne leur avait jamais posé de question à ce sujet, ce qui est en accord avec une étude américaine<sup>253</sup>. Ceci suggère que les médecins n'ont pas réellement conscience de l'importance de savoir si leurs patients atteints de cancer consomment des compléments. L'indifférence ou la neutralité des médecins perçus par les patients ainsi que la crainte qu'ils s'opposent à leur prise de compléments pourraient expliquer pourquoi les patients hésitent à discuter de leur consommation avec leurs médecins traitants<sup>75</sup>.

### c. Des caractéristiques sociodémographiques spécifiques et un mode de vie plus sain chez les consommateurs de compléments alimentaires (« healthy user profile »)

Le profil sociodémographique, comportemental et de mode de vie des consommateurs de compléments alimentaires est globalement similaire quel que soit le groupe de population étudié. Les consommateurs de compléments sont plus souvent des femmes, sont plus âgés (sauf chez les survivants du cancer), ont un IMC plus faible, appartiennent aux CSP les plus élevées et ont un mode de vie plutôt favorable à leur santé (non-fumeur et/ou activité physique plus élevée).

Des études européennes et américaines ont également constaté que les consommateurs de compléments en population générale étaient plus souvent des femmes<sup>19;238</sup>, plus âgés<sup>254</sup>, étaient plus instruits<sup>255</sup> et appartenaient à une CSP plus élevée<sup>256</sup>. D'autres études ont aussi rapporté un IMC inférieur<sup>238</sup>, des niveaux d'activité physique plus élevés<sup>130;257</sup> et un mode de vie plus sain chez les consommateurs de compléments<sup>13;258;259</sup>. Par ailleurs, nous avons observé pour la première fois en France, une meilleure connaissance des recommandations nutritionnelles officielles du PNNS et une consommation plus fréquente d'aliments biologiques chez les consommateurs de compléments, en cohérence avec le concept de « healthy user profile ».

Chez les femmes enceintes, d'autres études menées dans des pays développés<sup>51;52;58-60;260</sup> ont également montré que les consommatrices de compléments et plus spécifiquement d'acide folique étaient légèrement plus âgées et appartenaient à des CSP plus élevées. Ces inégalités démographiques et socioéconomiques associées aux comportements nutritionnels pendant la grossesse représentent un enjeu majeur de santé publique car ce sont des précurseurs d'inégalités socioéconomiques vis-à-vis de l'état de santé des générations futures<sup>261</sup>. Bien que certains compléments recommandés pendant la grossesse soient en partie remboursés par la sécurité sociale et/ou les assurances complémentaires santé, le reste à charge peut représenter un obstacle à la prise de compléments chez les femmes ayant de faibles revenus. De plus, ces dernières se rendent probablement moins souvent chez le médecin et sont peut-être moins bien informées des recommandations nutritionnelles comparées à celles issues des milieux plus aisés. Par ailleurs, les femmes ayant déjà eu des enfants prennent moins de compléments alimentaires et d'acide folique en particulier. Ce problème, observé aussi à l'étranger<sup>32;58;59</sup>, peut être lié au fait que les femmes qui ont déjà été enceintes consultent moins leur médecin en début de grossesse et/ou prennent plus de liberté vis-à-vis des recommandations du médecin.

Quant aux sujets atteints de cancer ou en rémission, leur profil était en accord avec d'autres études ayant observé que les femmes<sup>77;246;250</sup>, les sujets les plus éduqués<sup>75;77;246;262</sup>, les non-fumeurs<sup>76</sup> et ceux ayant un IMC plus faible<sup>76;246</sup> avaient tendance à consommer plus de compléments alimentaires. Cependant, nous n'avons pas mis en évidence d'associations significatives avec l'âge et le type de cancer (après ajustement sur le sexe notamment), contrairement à certaines études<sup>75;246;250</sup>.

### d. Une alimentation également plus saine chez les consommateurs de compléments alimentaires

Quel que soit le groupe de population considéré, les consommateurs de compléments alimentaires avaient une alimentation plus saine et des apports nutritionnels via les aliments plus élevés en la plupart des vitamines et minéraux que les non-consommateurs, en accord avec la littérature<sup>12;13;19;52;263</sup>.

En population générale, la prévalence d'inadéquation d'apports en nutriments était également plus faible chez les consommateurs de compléments pour la plupart des micronutriments, comme observé précédemment<sup>238;258;264</sup>, sauf pour la vitamine B12 chez les femmes. Ce dernier résultat peut s'expliquer par leur plus faible consommation de viande, source principale de vitamine B12.

Chez les femmes enceintes, une étude récente réalisée aux Pays-Bas, a montré une association inverse entre le régime méditerranéen riche en fruits, légumes, poissons, légumineuses et céréales et le risque de spina bifida dans la descendance<sup>265</sup>. La qualité nutritionnelle durant la grossesse représente un enjeu majeur de santé publique. Nos résultats soulignent l'association de deux facteurs de risque : une alimentation moins riche et une absence de supplémentation en nutriments essentiels (acide folique, fer, vitamine D, iode) qui peuvent agir en synergie sur l'augmentation du risque de pathologie chez le fœtus.

Chez les sujets atteints de cancer ou en rémission, les apports nutritionnels via les compléments alimentaires ont pu être calculés grâce à l'élaboration d'une table de composition spécifique. La forte contribution de ces produits aux apports nutritionnels totaux chez ces sujets souligne l'importance de la prise en compte de cette source de nutriments à la fois en pratique clinique et dans les études épidémiologiques. Très peu d'études ont fourni des informations détaillées sur les apports en micronutriments totaux provenant de l'alimentation et des compléments alimentaires chez les survivants du cancer<sup>78;266</sup>. Comparés aux consommateurs de compléments de l'étude américaine WHEL<sup>78</sup>, les consommateurs de notre étude avaient des apports quotidiens totaux plus faibles pour la plupart des micronutriments, excepté pour la vitamine D, les folates, le calcium et le magnésium, qui étaient similaires. Ces derniers résultats peuvent notamment s'expliquer par les différences de formulation des compléments alimentaires entre les Etats-Unis et l'Europe.

#### *e. Des comportements potentiellement délétères*

Nos travaux mettent en lumière certaines consommations de compléments alimentaires potentiellement délétères dans les groupes spécifiques étudiés.

Hormis certaines situations physiologiques particulières (carence nutritionnelle diagnostiquée par exemple) pour lesquelles les compléments alimentaires, dans le cadre d'un suivi médical adapté, pourraient conférer un bénéfice, la prudence est de rigueur quant à la consommation de ces produits pour la population générale. Cette mise en garde est fondée sur plusieurs arguments : qualité et sécurité de certains compléments questionnable<sup>267</sup>, absence de réels bénéfices démontrés sur la prévention des maladies chroniques dans les populations bien nourries, différences entre les besoins réels et les consommations de ces produits (i.e. nous avons constaté que les personnes qui consommaient des compléments était généralement celles qui en avaient le moins besoin), et dérives de consommation (i.e. les personnes mal informées peuvent penser que la consommation de compléments alimentaires peut se substituer à une alimentation variée et équilibrée). Ainsi, en population générale, la recommandation officielle pour atteindre des apports nutritionnels suffisants est de diversifier son alimentation<sup>268</sup> et d'orienter ses choix vers des aliments sains plutôt que de consommer des compléments alimentaires.

Chez les fumeurs, la consommation de compléments alimentaires à base de  $\beta$ -carotène est associée à une augmentation du risque de cancers du poumon et de l'estomac<sup>27;66;92</sup>, comme explicité en introduction. Or dans notre étude, 11% des consommatrices de compléments alimentaires fumeuses ont déclaré prendre un

complément à base de  $\beta$ -carotène en été. Il semblerait que ce groupe de population soit mal informé des conséquences de cette pratique, ce qui s'avère préoccupant au vu des risques potentiels.

Chez les femmes enceintes, la toxicité associée au surdosage de certains nutriments ou composés bioactifs et les effets potentiellement délétères de certains compléments à base de plantes (comme les phytoestrogènes), consommés seuls ou en combinaison avec des médicaments<sup>252;269</sup> incitent à surveiller les pratiques d'automédication par les compléments durant la grossesse. Par exemple, une consommation excessive de rétinol a été associée à une augmentation des effets tératogènes<sup>45;270</sup> et par conséquent une supplémentation en rétinol pendant la grossesse n'est pas recommandée. D'autre part, une étude récente a montré que des apports élevés en vitamine E alimentaire et sous forme de compléments (>14,9 mg/jour) chez la mère étaient associés à un risque neuf fois plus élevé de maladies coronariennes chez la descendance<sup>46</sup>. Dans l'étude NutriNet-Santé, 11% des femmes enceintes consommaient des compléments à base de plantes mais seulement 2 ont déclaré des compléments à base de phytoestrogènes. Près de 6% des femmes enceintes consommaient des compléments en rétinol pendant le troisième trimestre de grossesse. Par ailleurs, l'apport nutritionnel moyen en vitamine E était de 12mg/jour et près de 30% des femmes consommaient des compléments en vitamine E au cours du deuxième trimestre de leur grossesse, ce qui semble préoccupant au vu des risques potentiels précités<sup>46</sup>.

Chez les patients atteints de cancer ou en rémission, trois catégories de comportement à risque peuvent être décrites concernant leur prise de compléments :

1) de même qu'en population générale, la consommation de compléments à base de  $\beta$ -carotène représente un risque chez les fumeurs. Des études ont également suggéré que cette interaction délétère entre tabac et prise de compléments à base de  $\beta$ -carotène interviendrait aussi chez les anciens fumeurs<sup>69</sup>.

2) comme le recommandent les autorités de santé officielles, certains compléments alimentaires devraient être évités chez les patients atteints de cancer, tels que les phytoestrogènes chez les patients atteints de cancers hormonodépendants<sup>68;71;73</sup>.

3) plusieurs interactions entre les médicaments et les compléments alimentaires vitaminiques/minéraux ou à base de plantes peuvent entraîner des effets secondaires modérés ou sévères s'ils sont pris de façon simultanée (vitamine E et anticoagulants-antiagrégants plaquettaires par exemple)<sup>71-74</sup>.

Dans l'étude NutriNet-Santé, une proportion relativement élevée de sujets atteints de cancer ou en rémission consommateurs de compléments alimentaires était concernée par de telles pratiques à risque (18%). Les associations médicaments/compléments potentiellement dangereuses concernaient principalement les anticoagulants et antiagrégants plaquettaires et pas spécifiquement des traitements anti-cancer, ce qui pouvait s'expliquer par le fait que le questionnaire ait été administré en moyenne 22 mois après le diagnostic de cancer. Ces résultats sont donc préoccupants et permettent de « tirer une sonnette d'alarme », incitant à plus de vigilance quant à la consommation de compléments alimentaires chez les patients atteints de cancer.

## **B. Aspects méthodologiques et limites des études réalisées**

### **a. Représentativité des échantillons et généralisation des résultats**

L'interprétation et la généralisation de ces résultats descriptifs doivent être réalisées avec prudence en raison de la présence potentielle d'un biais de sélection qui peut nuire à la validité externe des résultats. En effet, il est probable que les participants de l'étude NutriNet-Santé soient particulièrement intéressés par la nutrition et présentent un profil particulier (notamment des comportements plus favorables à leur santé) et un meilleur état de santé global que la population adulte générale<sup>271;272</sup>.

Comparée à la population générale française, l'étude NutriNet-Santé se compose d'une majorité de femmes (76%), de personnes plus instruites et de CSP plus élevées (32% de cadre). Cependant, l'étude NutriNet-Santé donne accès à une grande diversité de populations, y compris à des catégories socio-économiques défavorisées (la proportion de 6,4% de chômeurs est certes plus faible que dans la population générale où elle avoisine les 10%, mais plus élevée que dans la plupart des études en population utilisant des méthodes traditionnelles), permettant ainsi des comparaisons entre les différentes catégories de population. De plus, la répartition géographique des participants est très proche de celle de la population française. D'autre part, il a été montré qu'Internet permettait de réduire le biais de désirabilité sociale. Ainsi, les personnes étant moins soumises au jugement direct d'un interviewer renseignent davantage et mieux des informations relatives à des sujets sensibles tels que des conduites « à risque » (consommation d'aliments gras/sucrés, consommation d'alcool, tabagisme) mais aussi leur statut social (chômage, niveau de revenu). Enfin, la possibilité de participer à l'étude via Internet, à domicile (ou ailleurs) permet de toucher tous les âges de la population et particulièrement les personnes âgées, ainsi que les personnes en situation de handicap temporaire ou permanent.

L'effet d'un potentiel biais de sélection reste prévisible et suggère une surestimation de la consommation de compléments alimentaires dans notre étude par rapport à celle de la population française, quel que soit le sous-groupe de population étudié. En effet, la prévalence de consommation de compléments alimentaires estimée dans notre cohorte était un peu plus élevée que dans l'étude INCA 2 basée sur un échantillon représentatif<sup>18</sup>. De même, la prise d'acide folique chez les femmes enceintes de la cohorte était légèrement plus importante que celle estimée dans l'enquête nationale périnatale de 2010 (40,3%)<sup>241</sup>. Un des objectifs principaux de cette thèse était d'étudier les associations entre la consommation de compléments et plusieurs facteurs individuels. Ainsi, la diversité de l'échantillon (plutôt que sa représentativité) est considéré comme le paramètre d'intérêt majeur, ainsi que la capacité à conduire des analyses stratifiées avec des effectifs suffisants dans des groupes de population spécifiques (femmes enceintes, sujets atteints de cancer ou en rémission).

### **b. Validité des données et erreurs de mesure**

#### **1. Données sur les compléments alimentaires**

Il n'existe pas de méthode de mesure standardisée de référence (gold standard) concernant le recueil de la consommation de compléments alimentaires. En effet, les études peuvent utiliser des questionnaires conçus exclusivement pour recueillir la consommation de compléments<sup>18;254;273-275</sup>, des recueils alimentaires incluant des questions sur la consommation de compléments (fréquentiels alimentaires<sup>13;259</sup>, rappels ou enregistrements de 24h<sup>7;9;11;264</sup>) ou plusieurs de ces méthodes à la fois<sup>276</sup>. Le choix des méthodes de mesure dépend principalement des objectifs et de la fenêtre d'exposition visée par chaque étude.



Notre questionnaire a fait l'objet d'une étude pilote sur un sous-échantillon de 200 Nutrinautes avant lancement. Toutes les réponses de la partie « commentaires » ont été analysées et des contrôles de cohérence entre les réponses ont été effectués. Avant son lancement, les investigateurs ont donc pu modifier et améliorer ce questionnaire notamment en ajoutant des contrôles automatiques, des messages d'aide, en clarifiant les intitulés de certaines questions, et en complétant des listes fermées de réponses au vue des items notés en clair dans les parties "précisez". Ce questionnaire a été élaboré en nous basant sur notre expérience dans la construction de questionnaires de ce type en France, le Dr Touvier ayant élaboré précédemment les questionnaires compléments alimentaires pour les études INCA2 et E3N.

De plus, les questionnaires compléments alimentaires « population générale » et « sujets atteints de cancer » font référence à des consommations passées. Le questionnaire général porte en partie sur les consommations au cours des 12 derniers mois. Le questionnaire spécifique aux survivants du cancer porte sur les consommations passées après le diagnostic de cancer. Or dans cette population, le diagnostic de cancer a eu lieu en moyenne deux ans avant la passation de ce questionnaire. Un éventuel biais de mémoire appelé aussi biais d'anamnèse, peut exister, entraînant une sous-estimation des prévalences de consommation de compléments alimentaires dans ces deux populations. Cette sous-estimation peut être plus importante chez les survivants du cancer en raison de leur moins bon état de santé.

Enfin, pour des raisons budgétaires, la base de données de composition des compléments alimentaires n'a pu être élaborée que pour les sujets atteints de cancer ou en rémission. Pour les deux autres populations (population générale et femmes enceintes), nous avons travaillé avec une approche qualitative concernant les types de compléments consommés sans pouvoir quantifier les niveaux d'apport. Ce dernier aspect fait partie de nos perspectives de recherche (cf. chapitre « Perspectives de recherches »).

## **2. Apports nutritionnels**

L'alimentation présente une variabilité individuelle importante, aussi il est nécessaire de répéter les jours d'enregistrements dans l'objectif d'estimer les apports alimentaires usuels<sup>277</sup>. Il a été démontré que des enregistrements alimentaires de 24 h répétés étaient une méthode optimale pour estimer de façon adéquate les apports usuels, minimisant la différence moyenne entre les apports déclarés et les apports réels. Dans la population totale les apports nutritionnels ont été évalués à l'aide de 3 enregistrements alimentaires de 24 h et nous avons de plus pris en compte la variabilité intra-individuelle des apports en micronutriments au cours du temps, en leur appliquant une méthode de réduction de la variance qui permet d'estimer l'apport usuel, à partir d'une période relativement courte de recueil des consommations.

En revanche comme les échantillons de femmes enceintes et de survivants du cancer étaient plus restreints (903 femmes enceintes et 1081 survivants du cancer), nous avons évalué les apports nutritionnels à partir d'au moins un enregistrement alimentaire valide, ce qui diminue la précision des apports usuels dans ces deux populations. En effet, ne sélectionner que les personnes ayant trois enregistrements alimentaires valides et « normo-déclarantes » aurait entraîné une perte de puissance donnant lieu à des échantillons différents des populations initiales. Nous n'avons pas non plus appliqué la méthode de réduction de la variance dans ces deux populations puisque certains sujets n'avaient qu'un seul recueil alimentaire de disponible. Néanmoins, la plupart des femmes enceintes (74%) et des survivants du cancer (93%) avaient validé au moins trois enregistrements alimentaires, ce qui minimisait ce biais.

### C. Première partie - Bilan des résultats clé :

Ce travail d'épidémiologie descriptive réalisé à partir des données de la cohorte NutriNet-Santé révèle :

- L'importance de la consommation de compléments alimentaires chez les adultes en population générale (24% des hommes et 45% des femmes dans cette étude) et plus particulièrement chez les femmes enceintes (65%) et les sujets atteints de cancer (51%), avec 14% de ces derniers qui ont débuté la prise de compléments suite à leur diagnostic.

- Les substances les plus consommées via les compléments étaient : le magnésium, les vitamines B6 et C dans la cohorte globale, auxquels vient s'ajouter la vitamine D chez les patients atteints de cancer. L'acide folique et le fer étaient les nutriments les plus consommés via les compléments chez les femmes enceintes.

- L'automédication par les compléments alimentaires était très répandue dans la cohorte globale (45% des prises) et chez les sujets atteints de cancer (46% des prises) et plus faible (15% des prises) chez les femmes enceintes. En revanche, les fumeurs avaient plus tendance à consommer des compléments en auto-médication.

- Les consommateurs de compléments étaient plus souvent des femmes, étaient plus âgés, avaient un IMC plus faible, appartenaient aux CSP les plus élevées, et avaient une alimentation et un mode de vie plus sain que les non-consommateurs (« healthy user profile »)

- Même dans notre population d'étude relativement aisée et éduquée, la supplémentation en acide folique en début de grossesse était insuffisante (50%) et associée à des inégalités socio-économiques et démographiques.

- Les pratiques de consommation de compléments alimentaires « à risque » étaient loin d'être négligeables, notamment:

- 11% des fumeuses consommatrices de compléments prenaient du  $\beta$ -carotène en été

- 30% des femmes consommaient des compléments à base de vitamine E au 2<sup>ème</sup> trimestre de leur grossesse (alors que leurs apports alimentaires atteignaient déjà 12 mg/j de vitamine E en moyenne) et 6% consommaient des compléments à base de rétinol au 3<sup>ème</sup> trimestre de leur grossesse.

- 18% des sujets atteints de cancer consommateurs de compléments alimentaires avaient des pratiques de consommation potentiellement « à risque » : 30 sujets ayant une histoire tabagique avaient consommé des compléments à base de  $\beta$ -carotène, 44 avaient pris des compléments alimentaires contre-indiqués dans certains types de cancer et 39 participants avaient pris simultanément des compléments et des médicaments pour lesquels des interactions délétères (modérées ou sévères) étaient répertoriées.

- Chez les sujets atteints de cancer (pour qui l'apport via les compléments a pu être quantifié), la contribution des compléments alimentaires aux apports nutritionnels totaux était très élevée pour certains nutriments (plus de la moitié des apports quotidiens totaux pour les vitamines D, B6, E et B12 et plus d'un tiers des apports totaux pour les fibres, thiamine, acide pantothénique, folates, rétinol, vitamine C et calcium).

- Pour 35% des compléments déclarés, aucun des médecins n'étaient informés de la consommation de compléments par leurs patients atteints de cancer.

## Deuxième partie : Epidémiologie étiologique : modulation de certaines relations nutrition-cancer par une supplémentation en antioxydants

---

Cette deuxième partie a fait l'objet de trois articles publiés dans des revus à comité de lecture :

**Pouchieu C**, Deschasaux M, Hercberg S, Druesne-Pecollo N, Latino-Martel P, Touvier M. Prospective association between red and processed meat intakes and breast cancer risk – Modulation by an antioxidant supplementation in the SU.VI.MAX randomized controlled trial. *Int J Epidemiol*, 2014; 1-10. doi: 10.1093/ije/dyu134.

**Pouchieu C**, Chajès V, F. Laporte, Kesse-Guyot E, Galan P, Hercberg S, Latino-Martel P, Touvier M. Prospective associations between plasma saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids and overall and breast cancer risk - modulation by antioxidants: a nested case-control study. *PLoS One*. 2014 Feb 27;9 (2):e90442.

**Pouchieu C**, Galan P, Ducros V, Latino-Martel P, Hercberg S, Touvier M. Plasma Carotenoids and Retinol and Overall and Breast Cancer Risk: A Nested Case-Control Study. *Nutr Cancer*. 2014;66(6):980-8. doi: 10.1080/01635581.2014.936952.

Certaines études sur les relations entre facteurs nutritionnels et risque de cancer présentent des résultats divergents dans la littérature, ce qui laisse présager l'existence de tiers facteurs qui pourraient moduler ces relations. C'est le cas par exemple des associations entre les taux d'acides gras plasmatiques et le risque de différents cancers ou entre la consommation de viandes rouges et de charcuteries et le risque de cancer du sein. Comme montré dans l'introduction, les antioxydants pourraient jouer le rôle de ces facteurs modulateurs.

L'objectif principal de cette partie étiologique était d'étudier le rôle modulateur potentiel d'une supplémentation en antioxydants dans les relations nutrition-cancer suivantes :

- Consommation de viandes rouges et charcuteries et risque de cancer du sein
- Concentrations en acides gras plasmatiques et risque de cancer (toutes localisations et du sein)

En outre, nous avons souhaité étudier les liens entre les taux plasmatique en caroténoïdes et rétinol, composés souvent retrouvés dans la composition des compléments alimentaires, et le risque de cancer (toutes localisations et du sein). Pour cette étude, il ne s'agissait pas d'étudier le rôle modulateur des compléments alimentaires sur ces relations, mais le  $\beta$ -carotène faisant partie de la capsule de l'essai d'intervention SU.VI.MAX, nous avons investigué ces relations au global et dans chacun des deux groupes de l'essai d'intervention SU.VI.MAX (supplémenté / placebo).

## 1. Population et méthodes

### A. La cohorte SU.VI.MAX



L'étude SU.VI.MAX est un essai d'intervention en prévention primaire randomisé en double aveugle, contrôlée contre placebo, initialement conçu pour évaluer l'effet d'une supplémentation quotidienne en vitamines et minéraux antioxydants à dose nutritionnelle sur l'incidence des maladies cardiovasculaires et des cancers<sup>126</sup>.

Les participants ont reçu soit une combinaison de 120 mg d'acide ascorbique, 30 mg de vitamine E, 6 mg de  $\beta$ -carotène, 100  $\mu$ g de sélénium, et 20 mg de zinc, soit un placebo. Ces quantités journalières représentaient des doses nutritionnelles, c'est-à-dire pouvant être atteintes avec l'alimentation. L'investigateur principal est le Pr Serge Hercberg (EREN).

L'efficacité de l'intervention a été jugée sur trois critères principaux : la mortalité globale, l'incidence des cancers (tous sites confondus) et l'incidence des maladies cardiovasculaires ischémiques. Les critères de jugement secondaires étaient la mortalité par cancer et l'incidence de certaines localisations cancéreuses, la mortalité par cardiopathie ischémique et par mort subite de cause inconnue et l'incidence d'angor. Au-delà des données spécifiques à l'essai d'intervention, à la constitution d'une banque de données importante sur la consommation alimentaire et l'état de santé a permis d'investiguer un grand nombre de relations nutrition-santé et le permet encore aujourd'hui, dans le cadre d'un design prospectif d'observation.

Au total, 13 017 sujets éligibles (7 876 femmes âgées de 35 à 60 ans à l'inclusion et 5 141 hommes âgés de 45 à 60 ans) ont été inclus entre 1994 et 1995. L'intervention (phase de supplémentation) a duré 7,5 ans et le suivi des événements de santé s'est poursuivi jusqu'en 2007 (13 ans).

L'étude SU.VI.MAX a été approuvée par le Comité Consultatif pour la Protection des Personnes se prêtant à la Recherche Biomédicale de Paris Cochin (CCPPRB n°706) et par la Commission Nationale Informatique et Liberté (CNIL n°334641). Un comité de surveillance supervisait la progression de l'étude.

Aucun effet de la supplémentation en antioxydants à dose nutritionnelle n'a été observé sur l'incidence des maladies cardiovasculaires après 7,5 années d'intervention. En revanche, la supplémentation en antioxydants était associée à une diminution de la mortalité toutes causes et de l'incidence des cancers chez les hommes, mais pas chez les femmes.

### B. Collecte des données et suivi de la cohorte

Des examens cliniques ou biologiques ont été réalisés tous les ans (l'un ou l'autre en alternance) entre 1994 et 2002. Ces examens avaient lieu soit dans des centres d'examen de santé (CES) de l'assurance maladie impliqués dans l'étude, soit dans les unités mobiles SU.VI.MAX qui permettaient de réaliser dans chaque ville-étape tous les examens cliniques ou prélèvements biologiques nécessaires.

Différents auto-questionnaires ont été également posés, à l'inclusion et régulièrement au cours du suivi. Enfin, les participants étaient invités à transmettre des informations sur leur état de santé tous les mois et sur leurs consommations alimentaires tous les deux mois. Afin de communiquer plus facilement ces informations au centre coordonnateur de l'étude, les investigateurs conseillaient aux sujets inclus dans l'étude de se munir d'un minitel qui leur

permettait d'envoyer toutes les données via un logiciel conçu spécifiquement pour l'étude. Au cas où le sujet ne s'équipait pas d'un minitel, le centre coordonnateur lui faisait parvenir des questionnaires imprimés qui devaient être retournés par courrier. En outre, il était rappelé régulièrement à chaque volontaire de transmettre tout compte-rendu relatif à des examens médicaux, qu'ils aient été réalisés sur conseil à la suite d'un bilan SU.VI.MAX, ou dans le cadre d'une autre consultation.

#### **a. Données socio-démographiques, anthropométriques et de mode de vie**

Le questionnaire rempli à l'inclusion apportait des informations sociodémographiques (sexe, date de naissance, niveau d'éducation notamment) et liées au mode de vie (tabac, activité physique, consommation d'alcool). Les mesures anthropométriques à l'inclusion ont été prises lors de l'examen clinique par les infirmières et médecins de l'étude (année 2). Le poids était mesuré à l'aide d'une balance électronique (Seca, Hambourg, Allemagne) à 0,1 kg près, chez les sujets qui devaient porter des vêtements légers sans chaussures. La taille était mesurée au centimètre près avec une toise murale dans les mêmes conditions.

#### **b. Données alimentaires**

Tous les deux mois, il était demandé aux volontaires de remplir par minitel un enregistrement alimentaire de 24 heures. Les jours choisis pour les enregistrements (soit 6 enregistrements par sujet et par an) étaient répartis sur la semaine et le weekend afin de prendre en compte la variabilité hebdomadaire, ainsi que saisonnière. Les volontaires saisissaient, selon le moment de la journée, toutes les prises alimentaires (y compris les collations) en indiquant tous les aliments consommés ainsi que les quantités correspondantes. Des précisions étaient demandées sur les lieux de prise alimentaire (domicile, restaurant, cantine etc.), les modes de préparation, l'origine des aliments (surgelés, conserve etc.). Pour la saisie des aliments consommés, les volontaires devaient se référer à un manuel spécialement conçu pour l'étude SU.VI.MAX contenant des identifiants numériques pour chaque aliment. Pour l'estimation des quantités consommées, le manuel contenait également des photos représentant plus de 250 aliments représentés en trois tailles. Les participants pouvaient aussi choisir parmi deux portions intermédiaires ou deux portions extrêmes pour un total de 7 tailles différentes de portions par aliment. Ce manuel photos a été validé<sup>278</sup>.

Les apports en nutriments, vitamines, minéraux et alcool ont été estimés en utilisant la table de composition alimentaire SU.VI.MAX<sup>279</sup>. Il était aussi fortement déconseillé aux sujets de prendre des compléments alimentaires en auto-médication durant leur participation à l'étude SU.VI.MAX.

#### **c. Données biologiques**

A l'inclusion, un prélèvement de 35 ml de sang a été effectué. Le traitement des échantillons était assuré sur place, dans les laboratoires des unités mobiles SU.VI.MAX ou des différents CES. Les échantillons ont été conservés à +4°C à l'abri de la lumière avant centrifugation et aliquotage (moins de 24h). Les échantillons étaient ensuite conservés dans l'azote liquide à -196°C. A noter que les prélèvements sanguins ont été réalisés à l'inclusion, avant le début de la supplémentation.

#### **d. Validation des évènements de santé**

Tous les événements majeurs de santé incidents déclarés par les participants étaient validés par un comité d'experts indépendant sur la base des comptes rendus anatomopathologiques et autres documents médicaux, et classés au moyen de la classification internationale des maladies (version 10)<sup>225</sup>. L'enregistrement des évènements de santé a été maintenu après la phase d'intervention, jusqu'en septembre 2007 (13 ans de suivi).

### **C. Analyses biologiques**

#### **a. Analyse des concentrations en acides gras plasmatiques**

La composition en acides gras des lipides totaux plasmatiques a été déterminée sur la base des échantillons prélevés à l'inclusion. Les lipides ont été extraits à partir de 150 µl d'aliquotes de plasma avec de l'hexane/isopropanol (3:2, v:v), saponifiés avec du NaOH dans du méthanol séché à 100°C, et les acides gras ont été méthylés dans le méthanol avec du trifluorure de bore (14 %). Les esters méthyliques d'acides gras (EMAG) ont été quantifiés par chromatographie en phase gazeuse à l'aide d'une colonne capillaire (AT-WAX Polar, longueur 30m, diamètre intérieur 0,25 mm, épaisseur du film 0,25 µm) et l'hydrogène a été utilisé comme gaz vecteur. L'identification des pics a été faite en comparant les temps d'élution des EMAG à ceux d'un mélange d'EMAG standard issus du commerce. La composition des acides gras était exprimée en pourcentages de l'aire totale de tous les pics d'acides gras identifiés. Les coefficients de variation (CV) étaient < à 23,8% pour les AGS, < 8,0 % pour les AGMI, <12,2 % pour les AGPI n-6, <7,7 % pour les AGPI n-3 et 10,3 % pour l'acide de Mead.

Les ratios suivants ont été calculés: total des AGPI n-3 sur le total des AGPI n-6, acide arachidonique sur acide di-homo-γ-linolénique (indicateur de l'activité de la Δ5-désaturase), acide di-homo-γ-linolénique sur acide linoléique (indicateur de l'activité de la Δ6-désaturase et de l'élongase), et acide oléique sur acide stéarique (indicateur de l'enzyme limitante de la Δ9-désaturase).

#### **b. Analyses des caroténoïdes et du rétinol plasmatiques**

Les concentrations plasmatiques des différents caroténoïdes et du rétinol ont été mesurées par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) sur un instrument de marque Biotek-Kontron (Laboratoire UVK, Trappes, France), composé d'une pompe à double piston modèle 525, d'un passeur automatique d'échantillons modèle 465 et d'un détecteur à barrettes de diode modèle 540. Les standards (ou étalons) de rétinol et de β-carotène ont été achetés chez Fluka (Sigma-France, L'Isle d'Abeau), et ceux des autres caroténoïdes ont été fournis par Hoffman-La Roche (Hoffman-La Roche, Bâle, Suisse). La séparation par chromatographie liquide a été réalisée sur une colonne Adsorbosphère C18 (150 mm L x 4,5 mm ID, taille des particules 3 µm) (Alltech, Templemars, France) thermostatée à 28°C avec un four à colonne modèle 402. Les caroténoïdes et le rétinol plasmatiques ont été mesurés par HPLC après double extraction par un mélange d'hexane-tétrahydrofurane. La quantification des analytes a été réalisée selon la méthode de Steghens et coll.<sup>280</sup> à laquelle de légères modifications ont été apportées. En effet, une seule colonne de 150 mm de long au lieu de deux a été employée, et l'addition de 10 ppm d'eau dans la phase mobile A ont été ajoutés afin d'améliorer la séparation du rétinol, de la lutéine et de la zéaxanthine. Le laboratoire a participé au Programme d'Assurance Qualité Externe pour les micronutriments organisé par le NIST (National Institute of Standards and Technology, New York, NY) et celui

de la Société Française Vitamines et Biofacteurs (SFVB). Des contrôles de qualité internes Chromsystems (Munich, Allemagne) ont été réalisés pour chaque série d'échantillons (un contrôle pour 10 échantillons à doser). Les limites de détection ont été calculées pour avoir un rapport signal sur bruit de fond supérieur à 5. Ainsi les limites de détection sont de 0,05  $\mu\text{M}$  pour le rétinol et 0,02  $\mu\text{M}$  pour les caroténoïdes. Toutes les concentrations de  $\beta$ -carotène,  $\alpha$ -carotène,  $\beta$ -cryptoxanthine, lycopène, lutéine et rétinol mesurées dans les échantillons étaient au-dessus des limites de détection. Les coefficients de variation intra-série (n=10) variaient de 2,5 % ( $\beta$ -cryptoxanthine) à 4,1 % (lycopène). Les coefficients de variation inter-séries (n=39) étaient de 14,3% pour le  $\beta$ -carotène, 20,3% pour l' $\alpha$ -carotène, 7,4%  $\beta$ -cryptoxanthine, 17,1% pour le lycopène, 9,2% pour la lutéine et 4,7% pour le rétinol.

## 2. Analyses statistiques et résultats

### A. Etude prospective des liens entre consommations de viandes rouges et charcuteries et risque de cancer du sein-modulation par une supplémentation en antioxydants

#### a. Analyses statistiques

Sur les 7876 femmes de l'étude SU.VI.MAX, nous en avons exclus 120 qui avaient rapporté un cancer diagnostiqué avant le début du suivi. Parmi les femmes restantes, 4684 ont fourni au moins trois enregistrements alimentaires valides au cours des deux premières années de suivi et ont donc été incluses dans les analyses. Pour étudier le risque de cancer du sein, les femmes contribuaient comme personne-temps jusqu'à la date de diagnostic de cancer du sein, la date du dernier questionnaire rempli, la date de décès ou Septembre 2007, selon l'évènement survenu en premier. Les femmes qui rapportaient un cancer différent du cancer du sein (N=164) durant la période d'étude étaient incluses et censurées à la date de diagnostic (excepté pour les carcinomes baso-cellulaire de la peau qui n'étaient pas considérés comme des cancers).

Les variables d'exposition alimentaires étaient les apports quotidiens totaux de viandes rouges et charcuteries en g/jour, estimés à partir des apports moyens de tous les enregistrements alimentaires de chaque femme durant les deux premières années de suivi. Les viandes rouges se composaient de viandes de bœuf, veau, porc, et agneau, fraîches, hachées, et congelées. Les charcuteries étaient constituées principalement de porc et de bœuf conservés par des méthodes différentes de la congélation, tels que le salage, le fumage, le marinage, le séchage à l'air, ou le chauffage et incluaient principalement le jambon, le bacon, les saucisses, les boudins, les pâtés de foie, le salami, la mortadelle et les conserves de viandes.

Les caractéristiques à l'inclusion des cas et non-cas ont été comparées par des tests de Student ou des  $\chi^2$  selon la nature des variables. Le risque de développer un cancer du sein a été comparé entre les quartiles d'apports en viandes rouges et charcuteries par des modèles de Cox (âge en échelle de temps) dans l'échantillon total puis en stratifiant sur le groupe de supplémentation en antioxydants. Comme le jambon cuit présente de meilleures qualités nutritionnelles que les autres charcuteries (moins riches en énergie, lipides et sel<sup>279</sup>, avec des taux faibles voire indétectables de HCA)<sup>281</sup>, nous avons testé un modèle en considérant les charcuteries sans jambon cuit. Nous avons effectué des tests de tendance linéaire en utilisant le score ordinal des quartiles d'apports de viandes rouges et de charcuteries. Les modèles à ajustement minimal étaient ajustés sur l'âge en échelle de



temps, le groupe d'intervention de l'étude et le nombre d'enregistrements alimentaires. Les modèles multivariés à ajustement maximal incluaient les mêmes variables, auxquelles étaient ajoutées les variables suivantes : le statut tabagique, le niveau d'éducation, le niveau d'activité physique, la taille, l'IMC, les apports énergétiques sans alcool, les apports en alcool, en lipides totaux, les antécédents familiaux de cancer du sein, le nombre d'enfants biologiques, le statut ménopausique et la prise de traitement hormonal de la ménopause (THM) à l'inclusion. Un ajustement mutuel était aussi réalisé sur les apports en viandes rouges et charcuteries, selon l'exposition considérée.

Nous avons aussi testé des ajustements supplémentaires sur les apports en fruits et légumes et sur un pattern alimentaire « santé » positivement corrélé aux apports en fruits, légumes, et fruits de mer. Ce « pattern santé » était extrait par analyse en composantes principales à partir des apports moyens de 31 groupes d'aliments en utilisant la procédure SAS "proc factor"<sup>282</sup>. Il n'y avait pas de données manquantes pour les variables d'ajustement sauf pour le statut tabagique, les niveaux d'activité physique et d'éducation pour lesquels les valeurs manquantes (< 5% pour chaque variable) étaient remplacées par la valeur modale.

Nous avons testé les interactions entre la supplémentation en antioxydants (oui/non) et les apports en viandes rouges et charcuteries (quartiles) en introduisant un terme d'interaction dans les modèles (produits des deux variables). Nous avons effectué les analyses dans l'échantillon total puis stratifiées sur le groupe de supplémentation en antioxydants. Nous avons également étudié les associations entre viandes rouges, charcuteries et risque de cancer du sein en stratifiant sur les apports en fruits et légumes totaux dans le groupe placebo (< vs ≥ médiane, soit 346,75 g/jour). Nous avons effectué des modèles séparés pour les cancers du sein survenus en pré- ou en post-ménopause (les femmes contribuaient au modèle pré-ménopause jusqu'à l'âge de la ménopause, et inversement, les femmes contribuaient au modèle post-ménopause à partir de leur âge de ménopause).

## **b. Résultats**

Au cours des 11,3 années de suivi médian (52943-personne-années), 190 femmes ont développé un premier cancer du sein primitif (59 femmes en pré-ménopause et 131 en post-ménopause) avec un âge moyen de 55,8 ans au diagnostic. Plus spécifiquement, 82% des cancers du sein étaient ER+ et 86% étaient PR+. En ce qui concerne le type histologique des cancers du sein, 67% étaient canaux, 16% lobulaires et 17% d'autres types. La taille moyenne de la tumeur était de  $16,6 \pm 13,3$  mm. Dans notre population d'étude, 2,8% des femmes étaient perdues de vue au cours du suivi (contre 5,2% dans la cohorte SU.VI.MAX globale). Le tableau 21 présente les caractéristiques des femmes à l'inclusion. Comparées aux femmes non-malades, les femmes ayant développé un cancer du sein avaient tendance à être plus âgées, plus grandes, à avoir plus d'antécédents familiaux de cancer du sein, à être plus souvent ménopausées et à prendre plus souvent un THM.

**Tableau 21.** Caractéristiques de l'échantillon à l'inclusion, dans le cadre de l'étude des relations entre consommation de viandes rouges et de charcuteries et risque de cancer du sein, cohorte SU.VI.MAX, 1994-2007

	Non Cas (n=4494)			Cas de cancer du sein (n=190)			P <sup>a</sup>
	N	%	Moyenne (SD)	N	%	Moyenne (SD)	
Age, ans			46,9 (6,6)			49,4 (6,2)	<0,0001
IMC, kg/m <sup>2</sup>			23,1 (3,7)			23,3 (4,3)	0,5
IMC ≥ 25 kg/m <sup>2</sup>	993	22,1		47	24,7		0,4
Taille, cm			161,7 (5,9)			162,6 (6,2)	0,03
Groupe d'intervention							0,4
Supplémenté en antioxydants	2229	49,6		88	46,3		
Placebo	2265	50,4		102	53,7		
Statut tabagique							0,2
Non-fumeur	2596	57,8		108	56,8		
Ancien fumeur	1299	28,9		48	25,3		
Fumeur actuel	599	13,3		34	17,9		
Activité Physique							0,2
Irrégulière	1142	25,4		57	30,0		
<1h/j de marche ou équivalent	1568	34,9		68	35,8		
≥1h/j de marche ou équivalent	1784	39,7		65	34,2		
Niveau d'éducation							0,6
Primaire	814	18,1		38	20,0		
Secondaire	1776	39,5		69	36,3		
Universitaire	1904	42,4		83	43,7		
Antécédents familiaux de cancer du sein, oui	376	8,4		31	16,3		0,0001
Statut ménopausique à l'inclusion, oui	1339	29,8		74	38,9		0,007
Prise de THM à l'inclusion, oui	1315	29,3		73	38,4		0,007
Nombre d'enfants biologiques			2,0 (1,1)			2,0 (1,2)	0,8
Nombre d'enquêtes alimentaires			9,2 (3,4)			9,4 (3,3)	0,6
Apports en énergie, kcal/j			1826,1 (471,6)			1847,4 (447,1)	0,5
Apports en alcool, g/j			10,7 (13,3)			11,8 (11,9)	0,2
Apports en lipides, g/j			79,7 (23,8)			79,0 (22,3)	0,7
Apports en viandes rouges, g/j			46,7 (31,3)			49,6 (32,9)	0,2
Apports en charcuteries, g/j			31,9 (22,2)			32,6 (17,8)	0,4
Apports en charcuteries hors jambon cuit, g/j			23,2 (19,8)			24,4 (16,4)	0,3
Apports en fruits et légumes, g/j			368,5 (163,0)			373,4 (165,9)	0,7

<sup>a</sup> P valeur de la comparaison des cas de cancer du sein et des non-cas par des tests de Student ou du  $\chi^2$ .

Le tableau 22 présente les associations entre les apports en viandes rouges et charcuteries et le risque de cancer du sein. La consommation de viandes rouges n'était pas associée au risque de cancer du sein ( $P_{\text{tendance}}=0,3$ ). En revanche, nous avons observé une augmentation de risque avec la consommation de charcuteries [ $HR_{Q4\text{vs}.Q1} = 1,45$  (IC 95% 0,92-2,27),  $P_{\text{tendance}}=0,03$ ], avec un résultat plus marqué pour les charcuteries hors jambon cuit [ $HR_{Q4\text{vs}.Q1} = 1,90$  (IC 95% 1,18-3,05),  $P_{\text{tendance}}=0,005$ ]. La consommation de charcuteries était associée à une augmentation du risque de cancer du sein chez les femmes préménopausées (59 cas/3271 femmes,  $P_{\text{tendance}}=0,03$  pour les charcuteries et  $P_{\text{tendance}}=0,009$  pour les charcuteries sans jambon cuit) mais pas chez les femmes ménopausées (131 cas/3532 femmes,  $P_{\text{tendance}}=0,2$  pour les charcuteries et  $P_{\text{tendance}}=0,07$  pour les charcuteries sans jambon cuit).

**Tableau 22.** Modèles de Cox multivariés pour les associations entre les quartiles de consommation de viandes rouges et de charcuteries et le risque de cancer du sein<sup>1</sup>, étude SU.VI.MAX, 1994–2007

Types de viandes	Q1	Q2		Q3		Q4		P <sub>tendance</sub>
	HR	HR	IC-95%	HR	IC-95%	HR	IC-95%	
<b>Modèle 1</b>								
Viandes rouges	1	0,87	0,57-1,33	1,06	0,71-1,59	1,21	0,82-1,78	0,2
Charcuteries	1	0,99	0,64-1,54	1,52	1,02-2,27	1,30	0,86-1,97	0,07
Charcuteries hors jambon cuit	1	1,41	0,90-2,20	1,74	1,12-2,69	1,64	1,06-2,53	0,02
<b>Modèle 2</b>								
Viandes rouges	1	0,82	0,58-1,36	1,05	0,70-1,58	1,19	0,79-1,80	0,3
Charcuteries	1	1,00	0,64-1,56	1,53	1,02-2,32	1,45	0,92-2,27	0,03
Charcuteries hors jambon cuit	1	1,46	0,93-2,30	1,85	1,18-2,90	1,90	1,18-3,05	0,005

<sup>1</sup>190 cas de cancer / 4684 femmes.

Le modèle 1 est ajusté sur l'âge (en échelle de temps), le groupe d'intervention et le nombre d'enquêtes alimentaires.

Le modèle 2 est ajusté sur l'âge (en échelle de temps), le groupe d'intervention, le nombre d'enquêtes alimentaires, le statut tabagique, le niveau d'éducation, le niveau d'activité physique, la taille, l'IMC, les antécédents familiaux de cancer du sein, le nombre d'enfants biologiques, le statut ménopausique à l'inclusion, la prise de THM à l'inclusion, les apports énergétiques sans alcool, les apports en alcool, les apports en lipides totaux.

De plus, le modèle sur les viandes rouges est ajusté sur les apports en charcuteries et inversement (ajustement mutuel).

Les seuils (g/j) pour les quartiles d'apports étaient 24,9/42,5/63,7 pour la viande rouge, 16,4/28,6/43,5 pour les charcuteries et 8,7/18,8/33,1 pour les charcuteries hors jambon cuit.

Bien qu'aucune interaction significative n'ait été détectée entre les apports en viandes rouges et charcuteries et le risque de cancer du sein, nous avons observé des différences dans les analyses stratifiées (cf. tableau 23). La consommation de charcuteries était associée à une augmentation de risque de cancer du sein dans le groupe placebo [HR<sub>Q4vs.Q1</sub>=2,46 (IC 95% 1,28-4,72), P<sub>tendance</sub>=0,001 pour la charcuterie], mais pas dans le groupe supplémenté en antioxydants (P<sub>tendance</sub>=0,7) (P<sub>interaction</sub>=0,06). Ces résultats étaient similaires pour les charcuteries hors jambon cuit [HR<sub>Q4vs.Q1</sub> =2,35 (IC 95% 1,24-4,44), P<sub>tendance</sub>=0,003 dans le groupe placebo et P<sub>tendance</sub>=0,3 dans le groupe supplémenté].

**Tableau 23.** Modèles de Cox multivariés pour les associations entre les quartiles de consommation de viandes rouges et de charcuteries et le risque de cancer du sein-interaction avec le groupe de supplémentation en antioxydants<sup>1</sup>, étude SU.VI.MAX, 1994–2007

Types de viandes	Q1	Q2	Q3		Q4		P <sub>interaction</sub>	P <sub>tendance</sub>
	HR	HR	IC-95%	HR	IC-95%	HR		
<i>Modèle 1</i>								
<b>Viandes rouges</b>							0,3	
Groupe placebo	1	0,70	0,39-1,25	0,99	0,58-1,68	0,97	0,57-1,63	0,8
Groupe supplémenté	1	1,13	0,60-2,12	1,18	0,63-2,20	1,57	0,87-2,86	0,1
<b>Charcuteries</b>							0,07	
Groupe placebo	1	1,25	0,65-2,39	2,27	1,27-4,06	1,90	1,04-3,47	0,008
Groupe supplémenté	1	0,79	0,43-1,46	0,99	0,56-1,77	0,89	0,49-1,60	0,9
<b>Charcuteries hors jambon cuit</b>							0,4	
Groupe placebo	1	1,23	0,65-2,32	1,87	1,04-3,38	1,82	1,01-3,26	0,02
Groupe supplémenté	1	1,57	0,83-2,97	1,59	0,83-3,04	1,42	0,74-2,73	0,4
<i>Modèle 2</i>								
<b>Viandes rouges</b>							0,3	
Groupe placebo	1	0,73	0,40-1,31	1,03	0,60-1,77	1,01	0,58-1,74	0,7
Groupe supplémenté	1	1,11	0,59-2,10	1,14	0,60-2,14	1,46	0,78-2,72	0,2
<b>Charcuteries</b>							0,06	
Groupe placebo	1	1,31	0,68-2,52	2,51	1,38-4,57	2,46	1,28-4,72	0,001
Groupe supplémenté	1	0,80	0,43-1,47	0,92	0,51-1,66	0,86	0,45-1,63	0,7
<b>Charcuteries jambon cuit</b>							0,5	
Groupe placebo	1	1,30	0,68-2,47	2,19	1,18-4,04	2,35	1,24-4,44	0,003
Groupe supplémenté	1	1,63	0,86-3,11	1,52	0,78-2,95	1,52	0,75-3,08	0,3

<sup>1</sup>102 cas / 2367 femmes dans le groupe placebo et 88 cas / 2317 femmes dans le groupe supplémenté.

Le Modèle 1 est ajusté sur l'âge (en échelle de temps) et le nombre d'enquêtes alimentaires.

Le Modèle 2 est ajusté sur l'âge (en échelle de temps) le nombre d'enquêtes alimentaires, le statut tabagique, le niveau d'éducation, le niveau d'activité physique, la taille, l'IMC, les antécédents familiaux de cancer du sein, le nombre d'enfants biologiques, le statut ménopausique à l'inclusion, la prise de THM à l'inclusion, les apports énergétiques sans alcool, les apports en alcool, les apports en lipides totaux.

De plus, le modèle sur les viandes rouges est ajusté sur les apports en charcuteries et inversement (ajustement mutuel).

Les seuils (g/j) pour les quartiles d'apports étaient 24,9/42,5/63,7 pour la viande rouge, 16,4/28,6/43,5 pour les charcuteries et 8,7/18,8/33,1 pour les charcuteries hors jambon cuit.

De même, lorsque les analyses étaient stratifiées sur la consommation de fruits et légumes dans le groupe placebo, nous avons observé une augmentation du risque de cancer avec la consommation de charcuteries hors jambon cuit ( $P_{tendance}=0,03$ ) chez les faibles consommatrices de fruits et légumes, mais pas chez les fortes consommatrices ( $P_{tendance}=0,07$ ).

Des résultats similaires étaient observés lorsque les modèles étaient ajustés sur les apports alimentaires en antioxydants à l'inclusion (les mêmes que ceux contenus dans la capsule de supplémentation) :  $HR_{Q4vs.Q1}=1,39$  (IC 95% 0,88-2,19) ( $P_{tendance}=0,05$ ) pour la charcuterie et  $HR_{Q4vs.Q1}=1,84$  (IC 95% 1,14-2,97) ( $P_{tendance}=0,009$ ) pour la charcuterie hors jambon cuit. La consommation de charcuteries était associée à une augmentation du risque de cancer du sein dans le groupe placebo seulement [ $HR_{Q4vs.Q1}=2,41$  (IC 95% 1,25-4,64),  $P_{tendance}=0,002$ ] mais pas dans le groupe supplémenté ( $P_{tendance}=0,6$ ) ( $P_{interaction}=0,06$ ). Ces résultats étaient similaires pour les charcuteries hors jambon cuit [ $HR_{Q4vs.Q1}=2,32$  (IC 95% 1,22-4,42),  $P_{tendance}=0,004$  dans le groupe placebo et  $P_{tendance}=0,5$  dans le groupe supplémenté].

Des ajustements supplémentaires sur les apports en fruits et légumes ou sur le « pattern santé » ne modifiaient pas substantiellement les résultats. Les résultats des analyses de sensibilité suivantes ne modifiaient pas non plus les résultats observés : exclusion des cas de cancers diagnostiqués durant les deux premières années de suivi

(analyses sur 165 cas/4659 femmes), analyses ciblées sur les cas de cancer invasifs (167 cas/4661 femmes), analyses ciblées sur les femmes sans histoire familiale de cancer du sein (159 cas/4277 femmes), analyses ciblées sur les femmes qui avaient déclaré prendre au moins 2/3 des capsules durant l'essai (153 cas/3652 femmes) ou analyses ciblées sur les femmes qui avaient complété plus de six enregistrements alimentaires durant les deux premières années de suivi (158 cas/3771 femmes). De plus, nous avons également effectué des analyses en considérant les apports en viandes rouges et charcuteries comme des variables dépendantes du temps, avec une valeur moyenne d'apport tous les deux ans de suivi (185 cas/4725 femmes). Encore une fois, cela ne modifiait pas nos résultats: la consommation de charcuteries était associée à une augmentation du risque de cancer du sein dans le groupe placebo [HR<sub>Q4vs.Q1</sub>=2,03 (IC 95% 1,10-3,76), P<sub>tendance</sub>=0,01], mais pas dans le groupe supplémenté en antioxydants (P<sub>tendance</sub>=0,4).

## **B. Etude prospective des liens entre acides gras plasmatiques et risque de cancer (toutes localisations et cancer du sein) – modulation par une supplémentation en antioxydants**

### **a. Etude cas témoin nichée dans la cohorte SU.VI.MAX**

Une étude cas-témoins a été mise en place afin d'inclure tous les premiers cas incidents de cancer diagnostiqués dans l'étude SU.VI.MAX entre 1994 et 2002. Les témoins ont été tirés au sort parmi les participants ayant des données de suivi complètes et n'ayant pas eu de diagnostic de cancer avant la fin du suivi. Les témoins (1/cas) ont été appariés selon le sexe, l'âge ( $\pm 6$  mois), le nombre d'enquêtes alimentaires et le groupe d'intervention (antioxydants ou placebo). Dans le cadre de cette étude, des dosages biologiques des acides gras, caroténoïdes et rétinol plasmatiques à l'inclusion ont été réalisées spécifiquement sur ce sous-échantillon.

### **b. Analyses statistiques**

Les caractéristiques à l'inclusion des cas et des témoins ont été comparées par des analyses de régression logistique conditionnelle. Le risque de développer un cancer (toutes localisations et sein) a été comparé entre les quartiles d'acides gras plasmatiques par des modèles de régression logistique conditionnelle. Les modèles multivariés ont été ajustés sur le sexe, l'âge, l'IMC, la taille, le groupe d'intervention, les apports en alcool, l'activité physique, le statut tabagique, les antécédents familiaux de cancer et le niveau d'éducation.

Dans les analyses sur le risque de cancer du sein, les modèles multivariés ont été ajustés en plus sur les antécédents familiaux de cancer du sein (à la place de cancer total), le nombre d'enfants biologiques, le statut ménopausique et la prise THM à l'inclusion. Il n'y avait pas de données manquantes pour les covariables excepté pour le statut tabagique, l'activité physique et le niveau d'éducation pour lesquelles les valeurs manquantes (< 5% pour chaque variable) ont été remplacées par la valeur modale. Des ajustements supplémentaires sur les apports en énergie, lipides, fruits et légumes et sur le nombre d'enquêtes alimentaires (variables continues) ont aussi été testés.

Comme les cas et les témoins étaient appariés sur le groupe de supplémentation en antioxydants, l'interaction statistique entre la supplémentation et les acides gras plasmatiques n'a pu être testée de manière formelle mais les analyses ont été stratifiées sur

le groupe de supplémentation. Des analyses de sensibilité ont aussi été effectuées en utilisant les valeurs absolues des acides gras (au lieu des % d'acides gras totaux).

Tous les tests statistiques étaient bilatéraux et statistiquement significatifs pour une p-value <0,05. Toutefois, nous avons également souligné les résultats qui restaient statistiquement significatifs avec un seuil plus conservateur (P <0,01), afin de prendre en compte le risque d'erreur de première espèce dans le cadre de ce travail qui comportait un nombre important de tests. Les analyses ont été réalisées avec le logiciel SAS (version 9.2).

### *c. Résultats*

Au total, 250 cas de cancers incidents ont été diagnostiqués et avaient des données disponibles sur les acides gras plasmatiques: 154 cancers du sein (63 avant et 91 après la ménopause) et 96 autres cancers (42 cancers de la prostate, 20 du colon-rectum, 19 du poumon et 15 des voies aérodigestives supérieures). En ce qui concerne les cancers du sein, 81% étaient ER+ et 71% étaient PR+. 69% des cancers du sein étaient canaux, 13% lobulaires et 18% d'autres types. La taille moyenne des tumeurs du sein était de 16,2 ± 11,8 mm. Ainsi, 250 témoins ont été randomisés et appariés aux cas de cancer. Le temps de suivi médian était de 3,7 ans pour les cas de cancer et de 7,9 ans pour les témoins.

Les caractéristiques des cas de cancer (toutes localisations et du sein) et des témoins sont décrites dans le tableau 24. Les cas de cancer étaient moins souvent en surpoids mais plus souvent obèses, fumeurs, avaient des apports plus élevés en alcool, et avaient plus souvent des antécédents familiaux de cancer du sein (pour les femmes).

Les moyennes (±SD) des pourcentages de chaque acide gras plasmatic par rapport à la concentration plasmatic en acides gras totaux sont indiquées dans le tableau 25. D'après ces analyses brutes, les concentrations plasmatiques moyennes en acide dihomog-linolénique, en acide de Mead et du rapport acide dihomog-linolénique /acide linoléique étaient plus faibles chez les cas de cancer toutes localisations que chez les témoins. Conformément au design randomisé, aucune différence de niveau plasmatic en acides gras à l'inclusion n'a été observée entre le groupe placebo et le groupe supplémenté (p> 0,05 pour tous les acides gras étudiés).

**Tableau 24.** Comparaison des caractéristiques des cas de cancer et des témoins à l'inclusion, dans le cadre de l'étude des associations entre concentrations en acides gras plasmatiques et risque de cancer (toutes localisations et cancer du sein), étude cas-témoins nichée dans la cohorte SU.VI.MAX, 1994-2007

	Témoins (n=250)	Cas de Cancer totaux (n=250)	Cas de cancer du sein (n=154)	p <sup>1</sup>
Sexe [n (%)]				
Homme	80 (32,0)	80 (32,0)		
Femme	170 (68,0)	170 (68,0)		
Age (années) <sup>2</sup>	51,3 ± 6,2	51,0 ± 6,0	49,5 ± 6,0	0,9
IMC [n (%)]				0,04
<25 kg/m <sup>2</sup>	152 (60,8)	166 (66,4)	116 (75,3)	
25 to <30 kg/m <sup>2</sup>	81 (32,4)	57 (22,8)	28 (18,2)	
≥ 30 kg/m <sup>2</sup>	17 (6,8)	27 (10,8)	10 (6,5)	
Taille (cm)	165,0 ± 7,8	165,8 ± 7,8	163,1 ± 5,9	0,1
Groupe d'intervention [n (%)]				
Supplémenté en antioxydants	115 (46,0)	115 (46,0)	75 (48,7)	
Placebo	135 (54,0)	135 (54,0)	79 (51,3)	
Statut tabagique [n (%)]				0,004
Non-fumeur	136 (54,4)	121 (48,4)	85 (55,2)	
Ancien fumeur	89 (35,6)	75 (30,0)	36 (23,4)	
Fumeurs	25 (10,0)	54 (21,6)	33 (21,4)	
Niveau d'activité physique [n (%)]				0,1
Faible	51 (20,4)	71 (28,4)	49 (31,8)	
Modéré	81 (32,4)	72 (28,8)	48 (31,2)	
Elevé	118 (47,2)	107 (42,8)	57 (37,0)	
Niveau d'éducation [n (%)]				0,3
Primaire	67 (26,8)	54 (21,6)	27 (17,5)	
Secondaire	103 (41,2)	104 (41,6)	59 (38,3)	
Universitaire	80 (32,0)	92 (36,8)	68 (44,2)	
Apports en alcool (g/j)	12,5 ± 16,7	15,5 ± 18,3	9,2 ± 11,1	0,04
Antécédents familiaux <sup>3</sup> de cancer (oui, %)	83 (33,2)	89 (35,6)	45 (29,2)	0,6
Antécédents familiaux <sup>3</sup> de cancer du sein (oui, %) <sup>4</sup>	10 (4,0)	25 (10,0)	24 (15,6)	0,001
Statut ménopausique à l'inclusion (oui, %) <sup>4</sup>	70 (28,0)	72 (28,8)	59 (38,3)	0,8
Prise de THM à l'inclusion (oui, %) <sup>4</sup>	67 (26,8)	71 (28,4)	62 (40,3)	0,6
Nombre d'enfants biologiques <sup>4</sup>	1,9 ± 1,1	1,9 ± 1,2	2,0 ± 1,2	0,6

<sup>1</sup>p valeur de la comparaison des cas de cancer toutes localisations et des témoins par régression logistique conditionnelle.

<sup>2</sup>Moyenne ± SD

<sup>3</sup>Au premier ou deuxième degré de parenté.

<sup>4</sup>Chez les femmes uniquement.

**Tableau 25.** Comparaison des concentrations en acides gras plasmatiques des cas et des témoins à l'inclusion, étude cas-témoins nichée dans la cohorte SU.VI.MAX, 1994-2007

Acides gras plasmatiques	Témoins (n=250)	Cas de cancer totaux (n=250)	Cas de cancer du sein (n=154)	P <sup>1</sup>
<b>AGS totaux</b>	28,39 $\pm$ 2,34	28,05 $\pm$ 2,36	27,78 $\pm$ 2,14	0,1
14:0 (acide myristique)	1,06 $\pm$ 0,44	1,01 $\pm$ 0,44	0,97 $\pm$ 0,43	0,2
16:0 (acide palmitique)	20,60 $\pm$ 1,97	20,32 $\pm$ 2,08	20,06 $\pm$ 1,97	0,2
18:0 (acide stéarique)	6,71 $\pm$ 0,77	6,66 $\pm$ 0,80	6,69 $\pm$ 0,86	0,5
20:0 (acide arachidique)	0,06 $\pm$ 0,02	0,06 $\pm$ 0,02	0,06 $\pm$ 0,02	0,8
<b>AGMI totaux (cis)</b>	21,67 $\pm$ 3,11	21,58 $\pm$ 3,18	21,06 $\pm$ 2,73	0,7
16:1 n-7 (acide palmitoléique)	2,23 $\pm$ 0,79	2,15 $\pm$ 0,84	2,06 $\pm$ 0,68	0,3
18:1 n-7 cis (acide vaccénique)	1,42 $\pm$ 0,24	1,47 $\pm$ 0,75	1,49 $\pm$ 0,94	0,3
18:1 n-9 (acide oléique)	18,02 $\pm$ 2,58	17,95 $\pm$ 2,55	17,52 $\pm$ 2,21	0,7
<b>AGPI n-6 totaux</b>	44,50 $\pm$ 4,57	44,62 $\pm$ 4,83	45,38 $\pm$ 4,21	0,8
18:2 n-6 (acide linoléique)	33,73 $\pm$ 4,70	34,06 $\pm$ 4,67	34,83 $\pm$ 4,17	0,4
18:3 n-6 (acide $\lambda$ -linoléique)	0,53 $\pm$ 0,22	0,49 $\pm$ 0,19	0,45 $\pm$ 0,18	0,05
20:2 n-6 (acide eicosadiénoïque)	0,21 $\pm$ 0,05	0,21 $\pm$ 0,05	0,21 $\pm$ 0,05	0,5
20:3 n-6 (acide dihomog-linoléique)	1,61 $\pm$ 0,37	1,52 $\pm$ 0,33	1,51 $\pm$ 0,36	0,003
20:4 n-6 (acide arachidonique)	8,19 $\pm$ 1,53	8,13 $\pm$ 1,59	8,18 $\pm$ 1,60	0,6
22:4 n-6 (acide docosatétraoïque)	0,21 $\pm$ 0,09	0,21 $\pm$ 0,08	0,20 $\pm$ 0,07	0,7
<b>AGPI n-3 totaux</b>	5,09 $\pm$ 1,54	5,43 $\pm$ 2,50	5,47 $\pm$ 2,71	0,08
18:3 n-3 (acide $\alpha$ -linoléique)	0,51 $\pm$ 0,15	0,52 $\pm$ 0,17	0,52 $\pm$ 0,16	0,2
20:5 n-3 (acide eicosapentaénoïque)	1,34 $\pm$ 0,82	1,52 $\pm$ 1,42	1,50 $\pm$ 1,55	0,1
22:5 n-3 (acide docosapentaénoïque)	0,55 $\pm$ 0,14	0,57 $\pm$ 0,20	0,57 $\pm$ 0,21	0,2
22:6 n-3 (acide docosahexaénoïque)	2,69 $\pm$ 0,77	2,82 $\pm$ 1,05	2,88 $\pm$ 1,10	0,1
<b>AGPI n-9</b>				
20:3 n-9 (acide de Mead)	0,15 $\pm$ 0,09	0,13 $\pm$ 0,05	0,13 $\pm$ 0,05	0,01
<b>AGPI totaux</b>	49,58 $\pm$ 4,72	50,05 $\pm$ 4,67	50,85 $\pm$ 3,78	0,2
<b>Rapports</b>				
n-3/n-6	0,12 $\pm$ 0,03	0,13 $\pm$ 0,08	0,13 $\pm$ 0,09	0,09
20:4 n-6/20:3 n-6	5,32 $\pm$ 1,58	5,59 $\pm$ 1,53	5,70 $\pm$ 1,61	0,05
20:3 n-6/18:2n-6	0,05 $\pm$ 0,01	0,04 $\pm$ 0,01	0,04 $\pm$ 0,01	0,004
18:1n-9/18:0	2,73 $\pm$ 0,52	2,73 $\pm$ 0,49	2,66 $\pm$ 0,48	0,9
Quantité totale d'acides gras ( $\mu$ mol/L) <sup>2</sup>	11038,23 $\pm$ 2013,56	11330,45 $\pm$ 2732,49	10870,56 $\pm$ 1953,79	0,3

<sup>1</sup> P valeur de la comparaison des cas de cancer toutes localisations et des témoins par régression logistique conditionnelle non ajustée

<sup>2</sup> Moyenne et SD pour la quantité totale d'acides gras. Cette information était disponible pour 174 cas de cancer (dont 113 cancers du sein) et 174 témoins.

Les associations entre les acides gras plasmatiques et le risque de cancer toutes localisations sont présentées dans le tableau 26. Nous avons observé une association inverse entre l'acide dihomog-linoléique [OR<sub>Q4vsQ1</sub>=0,49 (IC 95% 0,28-0,85), P<sub>tendance</sub>=0,002], le rapport acide dihomog-linoléique/acide linoléique [OR<sub>Q4vsQ1</sub>=0,46 (IC 95% 0,25-0,85), P<sub>tendance</sub>=0,001], l'acide de Mead [OR<sub>Q4vsQ1</sub>=0,35 (IC 95% 0,19-0,65), P<sub>tendance</sub>=0,0004], l'acide palmitoléique [OR<sub>Q4vsQ1</sub>=0,55 (IC 95% 0,30-1,01), P<sub>tendance</sub>=0,02] et le risque de cancer toutes localisations. Le rapport acide arachidonique/ acide dihomog-linoléique [OR<sub>Q4vsQ1</sub>=1,90 (IC 95% 1,09-



3,30),  $P_{\text{tendance}}=0,02$ ] et l'acide linoléique [ $OR_{Q4vsQ1}=1,91$  (IC 95% 1,06-3,43),  $P_{\text{tendance}}=0,02$ ] étaient directement associés au risque de cancer toutes localisations. Les associations respectives avec l'acide de Mead, l'acide linoléique et l'acide dihomog-linolénique persistaient après ajustement mutuel. Les résultats concernant les acides dihomog-linolénique, de Mead et le rapport acide arachidonique/acide dihomog-linolénique restaient statistiquement significatifs lorsque nous avons considéré une p-value  $<0,01$  comme seuil de significativité.

Après stratification sur le groupe d'intervention (cf. tableau 26), aucune association significative n'a été observée dans le groupe supplémenté en antioxydants. En revanche, dans le groupe placebo, les associations significatives précédentes avaient tendance à être renforcées, et des associations supplémentaires apparaissaient: les AGPI totaux étaient directement associés au risque de cancer toutes localisations [ $OR_{Q4vsQ1}=2,88$  (IC 95% 1,20-6,92),  $P_{\text{tendance}}=0,02$ ], tandis que l'acide  $\gamma$ -linoléique [ $OR_{Q4vsQ1}=0,20$  (IC 95% 0,08-0,50),  $P_{\text{tendance}}=0,001$ ], les AGS totaux [ $OR_{Q4vsQ1}=0,35$  (0,16-0,78),  $P_{\text{tendance}}=0,01$ ], et l'acide palmitique [ $OR_{Q4vsQ1}=0,28$  (IC 95% 0,11-0,29),  $P_{\text{tendance}}=0,004$ ] étaient inversement associés au risque de cancer toutes localisations. Parmi ces résultats, les acides  $\gamma$ -linoléique et palmitique restaient statistiquement significatifs lorsque une p-value  $<0,01$  était considérée comme seuil de significativité.

Les résultats observés (dans l'échantillon total et par groupe d'intervention) étaient globalement similaires pour le cancer du sein (cf. tableau 27), sauf pour l'acide dihomog-linolénique qui n'était plus statistiquement significatif. Nous avons observé une association directe entre l'acide eicosadiénoïque et le risque de cancer du sein dans le groupe placebo seulement [ $OR_{Q4vsQ1}=4,10$  (IC 95% 0,92-18,39),  $P_{\text{tendance}}=0,03$ ]. Cependant, ce dernier résultat n'était plus statistiquement significatif avec un seuil de 0,01.

Les ajustements supplémentaires sur les apports alimentaires en énergie, lipides totaux, fruits et légumes, et sur le nombre d'enquêtes alimentaires, ne modifiaient pas les résultats, de même que les analyses de sensibilité qui excluaient les cas diagnostiqués au cours de la première année de suivi ( $n = 30$ ) ou les cas de cancer du sein in situ ( $n = 20$ ). Enfin, les résultats observés restaient similaires lorsque les analyses étaient effectuées sur les valeurs absolues des acides gras plasmatiques chez les sujets ayant des données disponibles (174 cas et 174 témoins).





## C. Etude prospective des liens entre caroténoïdes et rétinol plasmatiques et risque de cancer (toutes localisations et cancer du sein)

### a. Analyses statistiques

Ces analyses sont également basées sur l'étude cas-témoins nichée dans la cohorte SU.VI.MAX précédemment décrite. Les caractéristiques à l'inclusion des cas et des témoins ont été comparées par des analyses de régression logistique conditionnelle. Les associations entre le risque de cancer (toutes localisations et du sein) et les taux plasmatiques de caroténoïdes et de rétinol (pour une augmentation de 0,1  $\mu\text{mol/L}$ ) ont été étudiées en utilisant des modèles de régression logistique conditionnelle.

En plus des facteurs d'appariement, les modèles multivariés ont été ajustés sur le sexe, l'âge, l'IMC, la taille, le groupe d'intervention, les apports en alcool, l'activité physique, le statut tabagique, les antécédents familiaux de cancer, le niveau d'éducation, le nombre d'enregistrements alimentaires, et les apports alimentaires en énergie et en lipides.

Afin de s'assurer que les associations entre caroténoïdes circulants et risque de cancer n'étaient pas uniquement le reflet plus global d'une alimentation saine, riche en fruits et légumes, nous avons aussi ajusté nos modèles sur les apports totaux en fruits et légumes.

Dans les analyses du risque de cancer du sein, les modèles multivariés ont été ajustés en plus sur les antécédents familiaux de cancer du sein, le nombre d'enfants biologiques, le statut ménopausique et la prise de THM à l'inclusion.

Comme les participants de l'essai SU.VI.MAX étaient supplémentés par une dose quotidienne d'antioxydants contenant du  $\beta$ -carotène ou un placebo, nous avons stratifié les analyses sur le groupe d'intervention. Notre hypothèse de départ était que l'association entre la concentration plasmatique en  $\beta$ -carotène à l'inclusion (pré-supplémentation) et le risque de cancer, si elle existait, apparaîtrait dans le groupe placebo, mais pas nécessairement dans le groupe supplémenté. Enfin, nous avons testé les interactions entre les concentrations en caroténoïdes et rétinol plasmatiques et le statut tabagique (2 codages testés : fumeur actuel + ancien fumeur versus n'ayant jamais fumé; fumeur actuel versus ancien fumeur + n'ayant jamais fumé) d'une part, et les apports en alcool ( $\geq$  versus  $<$  10g/j) d'autre part.

### b. Résultats

Au total, 159 cas de cancer incidents diagnostiqués au cours de suivi avaient des données disponibles sur les concentrations plasmatiques en caroténoïdes et rétinol: 100 cas de cancer du sein (43 avant et 57 après la ménopause) et 59 autres cancers (29 cancers de la prostate, 23 du colon-rectum, 8 du poumon et 9 des voies aérodigestives supérieures). Ainsi, 159 témoins ont été tirés au sort et appariés aux cas. En ce qui concerne les cancers du sein, 81% étaient ER+ et 68% étaient PR+, 69% étaient canalaire, 14% étaient lobulaires et 17% étaient d'un autre type histologique.

Les caractéristiques des cas de cancer (toutes localisations et du sein) et de leurs témoins respectifs à l'inclusion sont décrites dans le tableau 28. Les cas de cancer toutes localisations confondues étaient plus souvent obèses ( $P=0,008$ ) que leurs témoins. Les cas de cancer du sein étaient plus souvent obèses ( $P=0,04$ ), plus grandes ( $P=0,02$ ) et avaient plus souvent des antécédents familiaux de cancer du sein ( $P=0,02$ ) que leurs témoins.

**Tableau 28.** Comparaison des caractéristiques des cas de cancer et des témoins à l'inclusion, dans le cadre de l'étude des liens entre caroténoïdes et rétinol plasmatiques et risque de cancer (toutes localisations et cancer du sein), étude cas-témoins nichée dans la cohorte SU.VI.MAX, 1994-2007

	Témoins (n=159)	Cas de cancer totaux (n=159)	p <sup>1</sup>	Témoins (n=100)	Cas de cancer du sein (n=100)	p <sup>2</sup>
Sexe [n (%)]			-			
Hommes	48 (30,2)	48 (30,2)				
Femmes	111 (69,8)	111 (69,8)				
Age (années) <sup>3</sup>	51,6 (6,1)	51,6 (6,1)	0,9	49,8 (6,0)	49,8 (6,0)	0,9
BMI [n (%)]			0,008			0,04
<25 kg/m <sup>2</sup>	94 (59,1)	114 (71,7)		66 (66,0)	78 (78,0)	
25 to <30 kg/m <sup>2</sup>	52 (32,7)	28 (17,6)		28 (28,0)	14 (14,0)	
≥ 30 kg/m <sup>2</sup>	13 (8,2)	17 (10,7)		6 (6,0)	8 (8,0)	
Taille (cm) <sup>3</sup>	164,7 (9,0)	165,8 (8,0)	0,1	160,6 (6,4)	162,9 (6,0)	0,02
Groupe d'intervention [n (%)]			-			-
Supplémenté en antioxydants	78 (49,1)	78 (49,1)		50 (50,0)	50 (50,0)	
Placebo	81 (50,9)	81 (50,9)		50 (50,0)	50 (50,0)	
Statut tabagique [n (%)]			0,06			0,1
Non-fumeurs	90 (56,6)	81 (50,9)		69 (69,0)	58 (58,0)	
Anciens fumeurs	54 (34,0)	47 (29,6)		23 (23,0)	24 (24,0)	
Fumeurs actuels	15 (9,4)	31 (19,5)		8 (8,0)	18 (18,0)	
Niveau d'activité physique [n (%)]			0,2			0,7
Faible	31 (19,5)	45 (28,3)		26 (26,0)	31 (31,0)	
Modéré	56 (35,2)	47 (29,6)		36 (36,0)	34 (34,0)	
Élevé	72 (45,3)	67 (42,1)		38 (38,0)	35 (35,0)	
Niveau d'éducation [n (%)]			0,1			0,2
Primaire	47 (29,6)	36 (22,6)		26 (26,0)	21 (21,0)	
Secondaire	69 (43,4)	64 (40,3)		45 (45,0)	38 (38,0)	
Universitaire	43 (27,0)	59 (37,1)		29 (29,0)	41 (41,0)	
Apports en alcool (g/j) <sup>3</sup>	12,8 (15,9)	14,8 (17,4)	0,2	7,1 (9,3)	9,4 (11,3)	0,1
Antécédents familiaux de cancer <sup>4</sup> (oui, %)	71 (64,0)	60 (54,1)	0,2	43 (43,0)	44 (44,0)	0,9
Antécédents familiaux de cancer du sein <sup>4</sup> (oui, %)	14 (12,6)	21 (18,9)	0,06	7 (7,0)	18 (18,0)	0,02
Statut ménopausique à l'inclusion (oui, %) <sup>5</sup>	46 (41,4)	47 (42,3)	1,0	39 (39,0)	39 (39,0)	1,0
Prise de THM à l'inclusion (oui, %) <sup>5</sup>	52 (46,8)	52 (46,8)	0,9	46 (46,0)	44 (44,0)	0,7
Nombre d'enfants biologiques <sup>3,5</sup>	2,0 (1,1)	2,0 (1,2)	0,5	1,9 (1,1)	2,0 (1,3)	0,5
Apports en énergie (kcal/j) <sup>3</sup>	2070,1 (604,9)	1986,0 (598,8)	0,1	1844,8 (486,8)	1751,8 (428,1)	0,1
Apports en lipides (g/j) <sup>3</sup>	87,1 (27,8)	84,4 (28,7)	0,3	78,0 (22,6)	75,3 (21,9)	0,4
Apports en fruits (g/j) <sup>3</sup>	191,0 (106)	185,4 (105,8)	0,7	183,6 (100,8)	178,5 (101,8)	0,7
Apports en légumes (g/j) <sup>3</sup>	202,4 (91,9)	205,2 (104,5)	0,8	194,2 (90,7)	189,8 (99,2)	0,7

Les cas et les témoins étaient appariés sur le sexe, l'âge, le nombre d'enregistrements alimentaires et le groupe d'intervention.

<sup>1</sup> P valeur de la comparaison des cas de cancer toutes localisations et de leurs témoins par régression logistique conditionnelle.

<sup>2</sup> P valeur de la comparaison des cas de cancer du sein et de leurs témoins par régression logistique conditionnelle.

<sup>3</sup> Moyenne (SD)

<sup>4</sup> Au 1<sup>er</sup> ou 2<sup>ème</sup> degré de parenté

<sup>5</sup> Chez les femmes uniquement.

Les concentrations plasmatiques moyennes en caroténoïdes et rétinol sont présentées dans le tableau 29. A l'inclusion, la concentration en β-cryptoxanthine était plus faible chez les cas de cancers que chez les témoins (p=0,03).

**Tableau 29.** Concentrations en caroténoïdes et rétinol plasmatiques des cas de cancer (toutes localisations et du sein) et des témoins, étude cas-témoins nichée dans la cohorte SU.VI.MAX, 1994-2007

	Témoins (N=159)			Cas de cancer totaux (N=159)			Cas de cancer du sein (N=100)			p <sup>a</sup>
	moyenne	SD	Ecart IQ	moyenne	SD	Ecart IQ	moyenne	SD	Ecart IQ	
β-carotène (μmol/L)	0,94	0,59	0,62	0,83	0,53	0,64	0,92	0,47	0,63	0,07
α-carotène (μmol/L)	0,25	0,17	0,19	0,23	0,15	0,16	0,25	0,17	0,17	0,5
β-cryptoxanthin (μmol/L)	0,36	0,30	0,40	0,29	0,22	0,28	0,29	0,20	0,27	0,03
Lycopène (μmol/L)	0,58	0,33	0,38	0,64	0,38	0,41	0,65	0,37	0,44	0,2
Lutéine (μmol/L)	0,28	0,12	0,14	0,29	0,12	0,16	0,29	0,11	0,16	0,5
Rétinol (μmol/L)	2,12	0,49	0,67	2,14	0,51	0,62	1,97	0,41	0,53	0,8

IQ: interquartile

<sup>1</sup> P valeur de la comparaison des cas de cancer toutes localisations et de leurs témoins par régression logistique conditionnelle

Les associations entre les concentrations plasmatiques en caroténoïdes et rétinol et le risque de cancer toutes localisations sont présentées dans le tableau 30. Nous avons observé des associations inverses entre les concentrations plasmatiques en β-carotène [OR<sub>pour 0,1 μmol/L d'augmentation</sub>=0,95 (IC 95% 0,90-0,99), P<sub>tendance</sub>=0,04] et β-cryptoxanthine [OR<sub>pour 0,1 μmol/L d'augmentation</sub>=0,89 (0,81-0,99), P<sub>tendance</sub>=0,03] et le risque de cancer toutes localisations.

Lorsque les analyses étaient stratifiées sur le groupe de supplémentation (cf. tableau 30), la concentration plasmatique en β-carotène était inversement associée au risque de cancer toutes localisations dans le groupe placebo [OR<sub>pour 0,1 μmol/L d'augmentation</sub>=0,89 (IC 95% 0,80-0,99), P<sub>tendance</sub>=0,03] mais pas dans le groupe supplémenté (P<sub>tendance</sub>=0,2), conformément à notre hypothèse initiale. L'association entre la concentration plasmatique en β-cryptoxanthine et le risque de cancer toutes localisations était similaire dans l'échantillon total et dans chaque groupe d'intervention, bien que la diminution de puissance statistique ait entraîné des associations inverses à la limite de la significativité dans les analyses stratifiées (P<sub>tendance</sub>=0,05 dans le groupe placebo et 0,06 dans le groupe supplémenté). De plus, la concentration plasmatique en lycopène était directement associée au risque de cancer toutes localisations dans le groupe supplémenté en antioxydants [OR<sub>pour 0,1 μmol/L d'augmentation</sub>=1,19 (IC 95% 1,01-1,39) P<sub>tendance</sub>=0,04].

**Tableau 30.** Régression logistique conditionnelle multivariée des associations entre concentrations en caroténoïdes et rétinol plasmatiques et risque de cancer toutes localisations, étude cas-témoins nichée dans la cohorte SU.VI.MAX, 1994-2007<sup>1</sup>

	Total (N=159 cas et 159 témoins)		Groupe placebo (N=81 cas et 81 témoins)		Groupe supplémenté (N=78 cas et 78 témoins)	
	OR (IC-95 %) <sup>2</sup>	P <sub>tendance</sub>	OR (IC-95 %) <sup>2</sup>	P <sub>tendance</sub>	OR (IC-95 %) <sup>2</sup>	P <sub>tendance</sub>
β-carotène	0,95 (0,90, 0,99)	0,04	0,89 (0,80, 0,99)	0,03	0,95 (0,89, 1,02)	0,2
α-carotène	0,93 (0,79, 1,09)	0,4	0,92 (0,72, 1,17)	0,5	0,83 (0,64, 1,07)	0,1
β-cryptoxanthine	0,89 (0,81, 0,99)	0,03	0,85 (0,73, 1,00)	0,05	0,85 (0,72, 1,01)	0,06
Lycopène	1,07 (0,99, 1,15)	0,06	1,04 (0,95, 1,13)	0,4	1,19 (1,01, 1,39)	0,04
Lutéine	1,06 (0,85, 1,31)	0,6	1,07 (0,77, 1,50)	0,7	1,10 (0,76, 1,60)	0,6
Rétinol	1,00 (0,95, 1,06)	0,9	1,05 (0,97, 1,15)	0,2	0,94 (0,85, 1,04)	0,2

<sup>1</sup>En plus des facteurs d'appariement (sexe, âge, groupe d'intervention, et nombre d'enregistrements alimentaires), les modèles étaient ajustés sur l'IMC, la taille, le statut tabagique, l'activité physique, les apports en alcool, le niveau d'éducation, les antécédents familiaux de cancer, et les apports en énergie, lipides, fruits et légumes.

<sup>2</sup>OR pour une augmentation de 0,1 μmol/L de caroténoïdes plasmatiques.

Les résultats des analyses sur le risque de cancer du sein sont présentés dans le tableau 31. La concentration plasmatique en  $\beta$ -cryptoxanthine était inversement associée au risque de cancer du sein [OR<sub>pour 0,1  $\mu$ mol/L d'augmentation</sub>=0,83 (IC 95% 0,71-0,96),  $P_{tendance}$ =0,02]. Les résultats étaient similaires pour tous les caroténoïdes étudiés dans le groupe placebo et le groupe supplémenté, bien que les associations n'étaient plus statistiquement significatives en raison de la diminution de la puissance statistique.

**Tableau 31.** Régression logistique conditionnelle multivariée des associations entre concentrations plasmatiques en caroténoïdes et rétinol et risque de cancer du sein, étude cas-témoins nichée dans la cohorte SU.VI.MAX, 1994-2007<sup>1</sup>

	Total (N=100 cas et 100 témoins)		Groupe placebo (N =50 cas et 50 témoins)		Groupe supplémenté (N =50 cas et 50 témoins)	
	OR (IC-95 %) <sup>2</sup>	$P_{tendance}$	OR (IC-95 %) <sup>2</sup>	$P_{tendance}$	OR (IC-95 %) <sup>2</sup>	$P_{tendance}$
$\beta$ -carotène	0,96 (0,89, 1,03)	0,2	0,95 (0,81, 1,12)	0,6	0,89 (0,78, 1,03)	0,1
$\alpha$ -carotène	0,94 (0,77, 1,15)	0,5	0,89 (0,62, 1,30)	0,6	0,61 (0,35, 1,06)	0,1
$\beta$ -cryptoxanthine	0,83 (0,71, 0,96)	0,02	0,75 (0,54, 1,04)	0,1	0,76 (0,56, 1,01)	0,06
Lycopène	1,04 (0,95, 1,13)	0,4	1,00 (0,89, 1,13)	0,9	1,16 (0,90, 1,50)	0,3
Lutéine	1,06 (0,72, 1,56)	0,8	1,35 (0,50, 3,63)	0,6	0,82 (0,41, 1,68)	0,6
Rétinol	0,99 (0,91, 1,09)	1,0	1,16 (0,91, 1,48)	0,2	0,91 (0,79, 1,06)	0,2

<sup>1</sup>En plus des facteurs d'appariement (âge, groupe d'intervention, et nombre d'enregistrements alimentaires), les modèles étaient ajustés sur l'IMC, la taille, le statut tabagique, l'activité physique, les apports en alcool, le niveau d'éducation, les antécédents familiaux de cancer du sein, le statut ménopausique à l'inclusion, la prise de THM à l'inclusion, le nombre d'enfants biologiques et les apports en énergie, lipides, fruits et légumes.

<sup>2</sup>OR pour une augmentation de 0,1  $\mu$ mol/L de caroténoïdes plasmatiques

Les analyses de sensibilité ciblées sur les cas de cancer invasifs (n=147) ne modifiaient pas les résultats. Des résultats similaires étaient observés dans les analyses ajustées sur la saison de prélèvement sanguin. Lorsque nous avons exclu les cas de cancer diagnostiqués au cours de la première année de suivi (n = 19) et leurs témoins appariés, nous avons observé des résultats similaires :  $\beta$ -carotène [OR<sub>pour 0,1  $\mu$ mol/L d'augmentation</sub>=0,94 (IC 95% 0,89-0,99),  $P_{tendance}$ =0,03],  $\beta$ -cryptoxanthine [OR<sub>pour 0,1  $\mu$ mol/L d'augmentation</sub>=0,90 (IC 95% 0,80-0,99),  $P_{tendance}$ =0,04], et l'association directe entre la concentration plasmatique en lycopène et le risque de cancer toutes localisations devenait statistiquement significative [OR<sub>pour 0,1  $\mu$ mol/L d'augmentation</sub>=1,12 (IC 95% 1,02-1,22),  $P_{tendance}$ =0,01]. De plus, les résultats sans ajustement sur les apports en fruits et légumes étaient similaires même si l'association entre la  $\beta$ -cryptoxanthine et le risque de cancer était légèrement plus faible [OR<sub>pour 0,1  $\mu$ mol/L d'augmentation</sub>=0,91 (IC 95% 0,82-1,00),  $P_{tendance}$ =0,06]. Enfin, aucune interaction n'a été détectée entre les caroténoïdes plasmatiques et la consommation d'alcool ou de tabac dans cette étude.

### 3. Discussion de la deuxième partie

#### A. Discussion et mise en perspective des résultats

Grâce à son design randomisé en double aveugle, l'étude SU.VI.MAX nous a donné une formidable opportunité de tester le rôle modulateur potentiel des compléments alimentaires en antioxydants sur des relations nutrition-cancer au travers de deux exemples concrets:

- l'étude des relations entre la consommation de viandes rouges et de charcuteries et le risque de cancer du sein

- l'étude des relations entre les concentrations en acides gras plasmatiques et le risque de cancer (toutes localisations et du sein).

Notre hypothèse initiale de modulation a été vérifiée dans les deux cas: dans le premier exemple, nous avons observé une augmentation du risque de cancer du sein associée à la consommation de charcuteries dans le groupe placebo mais pas dans le groupe supplémenté en antioxydants. Dans le second exemple, des associations directes et inverses entre les concentrations plasmatiques en acides gras et le risque de cancer (toutes localisations et cancer du sein) ont été observées dans le groupe placebo mais pas dans le groupe supplémenté. Certaines associations n'étaient même observées que dans le groupe placebo, comme l'association directe entre les AGPI totaux et le risque de cancer toutes localisations et de cancer du sein. L'effet modulateur de cette supplémentation en antioxydants sur ces relations représente les résultats les plus importants et originaux de nos travaux étiologiques car ces aspects n'avaient jamais été testés précédemment dans des études épidémiologiques.

Par ailleurs, l'étude SU.VI.MAX nous a permis d'investiguer les liens entre les taux plasmatiques de caroténoïdes et de rétinol, nutriments souvent contenus dans la composition des compléments alimentaires, et le risque de cancer (toutes localisations et du sein). Dans cette étude, les analyses ont été stratifiées sur le groupe de supplémentation en antioxydants car la capsule de l'essai d'intervention SU.VI.MAX contenait du  $\beta$ -carotène. Ces différents résultats sont mis en regard de la littérature épidémiologique et mécanistique dans les paragraphes suivants.

#### *a. Modulation de l'association directe entre la consommation de charcuteries et le risque de cancer du sein par une supplémentation en antioxydants*

##### **1. Mise en regard de la littérature épidémiologique**

Nous avons mis en évidence une association directe entre la consommation de charcuteries et le risque de cancer du sein. En accord avec nos résultats, la méta-analyse d'études prospectives d'Alexander et al.<sup>149</sup>, a détecté un lien direct entre la consommation de charcuteries et le risque de cancer du sein mais aucune association n'a été observée dans l'étude BWH (Black Women's Health)<sup>147</sup> publiée après cette méta-analyse. Plusieurs facteurs pourraient expliquer ces résultats contradictoires: les méthodes d'évaluation alimentaire, la définition de l'exposition (groupes d'aliments, taille des portions), les différences d'exposition (seuils analytiques et niveaux d'apports) et l'ajustement sur les facteurs de confusion potentiels. Dans l'étude SU.VI.MAX, les moyennes d'apports alimentaires en viandes rouges et charcuteries se situaient dans la fourchette supérieure des valeurs européennes (24-57g/j pour les viandes rouges et 5-49g/j pour les charcuteries)<sup>283</sup> mais notre consommation de viandes rouges était légèrement plus faible et celle de charcuteries plus élevée qu'aux Etats-Unis (53g/j pour les viandes rouges et 18g/j pour les charcuteries)<sup>284</sup>. Cette consommation relativement élevée en charcuteries a renforcé notre capacité à détecter une association avec le risque de cancer du sein. Inversement, le fait qu'aucune association n'ait été observée avec la consommation de viandes rouges pourrait s'expliquer par des apports trop faibles pour mettre en évidence un éventuel effet délétère. En effet, le seuil de consommation de viandes rouges pour le quartile 4 était de 63,7 g/j, soit environ 445 g/semaine, ce qui est inférieur à la dose maximale recommandée dans la prévention du cancer colorectal (500g/semaine selon le WCRF<sup>94</sup>).

L'association directe entre la consommation de charcuteries et le risque de cancer du sein observée en pré-ménopause mais pas en post-ménopause est en faveur d'un effet oestrogénique et/ou d'un diagnostic de cancer plus précoce dû aux effets des lésions de



l'ADN. Ce résultat est cohérent avec l'association directe entre la consommation de viandes rouges et de charcuteries au cours de l'adolescence et le risque de cancer préménopausique observée dans la Nurses' Health Study II, qui était plus marquée pour les tumeurs hormono-positives<sup>285</sup>.

Nous avons mis en évidence une augmentation du risque de cancer du sein associée à la consommation de charcuteries dans le groupe placebo mais pas dans le groupe supplémenté en antioxydants. Notre étude épidémiologique était la première à tester cette potentielle modulation. De même, dans le groupe placebo, nous avons observé une augmentation du risque de cancer du sein associée à la consommation de charcuteries hors jambon cuit chez les faibles consommateurs de fruits et légumes mais pas chez les forts consommateurs, ce qui suggère que les antioxydants alimentaires (et pas seulement la supplémentation) pourraient aussi moduler l'association entre la consommation de charcuteries et le risque de cancer du sein. En accord avec ce dernier résultat, certaines études ont également suggéré une modification d'effet des apports en fruits et légumes, source d'antioxydants, sur les relations entre la consommation de charcuteries<sup>286</sup> ou des dérivés mutagènes contenus dans les charcuteries<sup>287</sup> et le risque de cancer du sein.

## **2. Plausibilité mécanistique de la relation entre consommation de charcuteries et risque de cancer du sein**

L'effet pro-carcinogène des charcuteries sur le développement tumoral mammaire est soutenu par les études expérimentales. Tout d'abord, les charcuteries sont riches en lipides saturés dont la consommation a été associée à une possible augmentation du risque de cancer du sein dans les études épidémiologiques<sup>288</sup>. Deuxièmement, les méthodes de cuisson à haute température produisent des composés tels que les HCA (dont les PhIP) et les HAP<sup>289;290</sup> qui ont été associés au développement de tumeurs mammaires dans les modèles animaux<sup>136;138;142</sup> et chez la femme<sup>291-296</sup>. Ces composés exercent un effet pro-carcinogène par altération directe de l'ADN (formation d'adduits) et potentiellement par d'autres mécanismes liés aux propriétés oestrogéniques des PhIP<sup>286;297</sup>. Troisièmement, les CNO sont aussi des agents potentiellement cancérigènes des charcuteries, résultant en partie de la réaction endogène des nitrites (ajoutés comme agents de conservation dans les charcuteries) avec d'autres précurseurs de nitrosation tels que les amines et amides<sup>139;140;143</sup>. Enfin, les charcuteries contiennent des taux élevés d'hème qui catalyse la formation endogène des CNO et la peroxydation des lipides alimentaires<sup>144-146</sup>.

## **3. Plausibilité mécanistique du rôle modulateur des antioxydants sur la relation entre consommation de charcuteries et risque de cancer du sein**

Les données mécanistiques soutiennent également le potentiel rôle modulateur de la supplémentation en antioxydants sur l'association entre la consommation de charcuteries et le risque de cancer du sein. Dans les modèles animaux, il a été suggéré que l'ajout d'antioxydants (dont l' $\alpha$ -tocophérol) au régime alimentaire des rats pourrait exercer une action chimiopréventive de la carcinogenèse mammaire induite par les PhIP<sup>150-152</sup>. Ces résultats sont cohérents avec les études expérimentales réalisées sur le cancer du côlon : Pierre et al. a montré qu'une supplémentation en antioxydants pouvait inhiber la croissance des foyers de cryptes aberrantes induites par l'hème chez le rat<sup>298</sup>. Il a aussi montré que l' $\alpha$ -tocophérol alimentaire pouvait supprimer le développement de la carcinogenèse induite chimiquement par les charcuteries chez le rat et réduire les biomarqueurs associés chez l'Homme<sup>299</sup>.

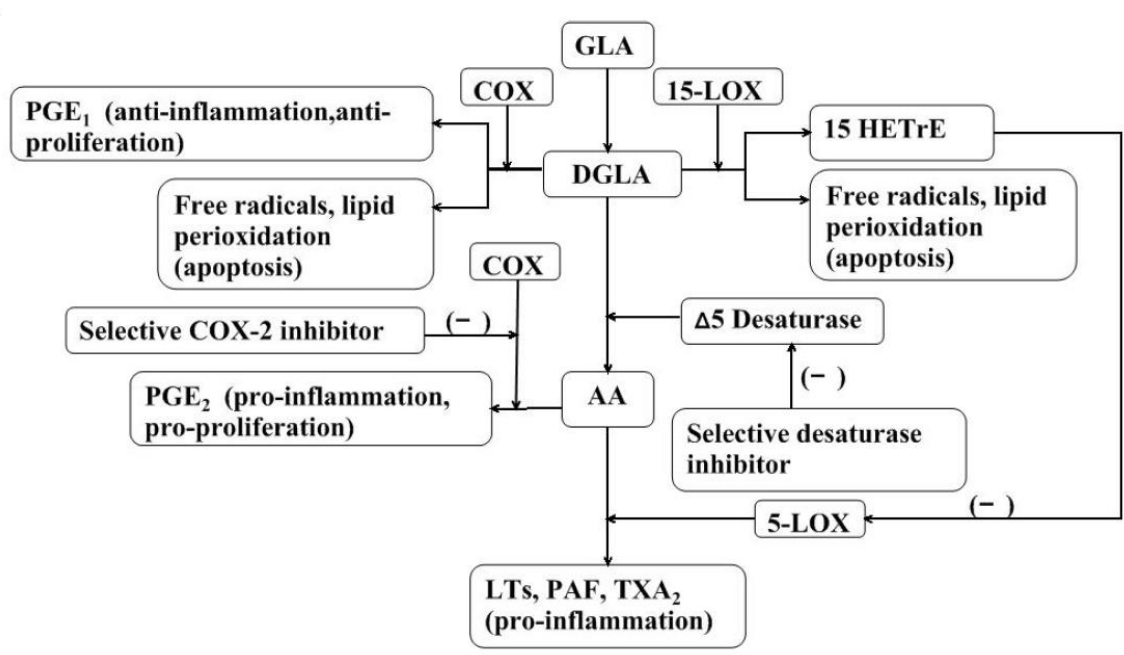
De plus, la vitamine C et d'autres antioxydants comme la vitamine E et les caroténoïdes, peuvent inhiber la formation endogène des CNO<sup>300</sup> et moduler l'association entre les CNO et le risque de cancer<sup>301</sup>. Des études expérimentales ont également montré que les antioxydants pouvaient protéger les acides gras de la peroxydation<sup>175</sup>. Comme les charcuteries contiennent des nitrates et nitrites, précurseurs des CNO<sup>141</sup>, et qu'elles sont aussi plus riches en lipides peroxydables que les viandes rouges, cela pourrait contribuer à expliquer l'association significative observée pour les charcuteries, mais pas pour les viandes rouges.

**b. Modulation des associations entre les taux plasmatiques d'acides gras et le risque de cancer (toutes localisations et cancer du sein) par une supplémentation en antioxydants**

**1. Associations entre acides gras plasmatiques et risque de cancer : comparaison avec la littérature épidémiologique et plausibilité mécanistique**

Nous avons observé des associations inverses entre les taux plasmatiques d'acide di-homo- $\gamma$ -linoléique, le ratio acide di-homo- $\gamma$ -linoléique/acide linoléique (indicateur de la  $\Delta 6$ -désaturase et élongase qui convertissent l'acide linoléique en acide di-homo- $\gamma$ -linoléique), l'acide  $\gamma$ -linoléique (dans le groupe placebo) et le risque de cancers toutes localisations. En accord avec ces résultats, une étude cas-témoin nichée dans l'essai CARET, qui incluait 641 cas de cancers, a rapporté une association inverse entre l'acide di-homo- $\gamma$ -linoléique et le risque de cancer non agressif de la prostate<sup>165</sup>. En revanche, certaines études prospectives ont rapporté des associations directes entre l'acide di-homo- $\gamma$ -linoléique et le risque d'adénocarcinome gastrique<sup>172</sup> et de cancer de la prostate<sup>168</sup>.

Bien que ces associations nécessitent d'être confirmées par d'autres études épidémiologiques prospectives, elles sont soutenues par des études mécanistiques : l'acide di-homo- $\gamma$ -linoléique inhiberait à la fois la mobilité et le pouvoir invasif des cellules cancéreuses du côlon chez l'Homme en augmentant l'expression de l'E-cadhérine<sup>302</sup>. Il pourrait réduire l'adhérence des tumeurs sur l'endothélium, facteur clé dans le processus de dissémination métastatique<sup>302</sup>. Il agirait aussi sur le métabolisme lipidique des cellules et la biosynthèse des eicosanoïdes (cyclo-oxygénase et lipoxygénase). Il peut être converti en acide 15-(S)-hydroxy-8,11,13-eicosatriénoïque et en prostaglandine E1 (PGE-1), qui possèdent des propriétés anti-inflammatoires et anti-prolifératives. Les PGE-1 pourraient également inhiber la croissance et la différenciation des cellules cancéreuses<sup>302</sup>. L'acide  $\gamma$ -linoléique, quant à lui, inhiberait la surexpression et l'hyperactivité des oncogènes de l'acide gras synthase qui est étroitement liée à la transformation maligne des cellules mammaires<sup>303</sup>.



Abréviations : AA, acide arachidonique; COX, cyclooxygénase; DGLA, acide dihomo- $\gamma$ -linoléique; GLA, acide  $\gamma$ -linoléique; 15-HETrE, acide 15-(S)-hydroxy-8,11,13-eicosatriénoïque; 15-LOX, lipoxigénase 15; LTs, leucotriènes de la série 4; PAF, facteurs d'activation plaquettaires; PGE, prostaglandines; TXA<sub>2</sub>, Thromboxane A<sub>2</sub>

**Figure 6 :** Mécanisme d'action antiprolifératif de l'acide dihomo- $\gamma$ -linoléique

A notre connaissance, l'association inverse entre l'acide de Mead et le risque de cancer (toutes localisations et du sein) mise en évidence dans cette étude n'avait jamais été investiguée auparavant dans une étude épidémiologique. Selon les données mécanistiques, l'acide de Mead peut être converti en leucotriènes C3 et D3 qui ont un effet anti-inflammatoire<sup>304</sup> et s'opposer à la formation des prostaglandines E2 (PGE-2)<sup>305</sup>.

L'acide linoléique était directement associé au risque de cancer (toutes localisations et du sein) dans notre étude. Plusieurs études épidémiologiques prospectives n'ont pas observé d'association entre l'acide linoléique et le risque de cancer<sup>167;169;171</sup> et certaines ont rapporté des associations inverses pour le risque de cancer du sein<sup>161-163</sup> et de la prostate<sup>168</sup>. Cependant, notre résultat sur l'acide linoléique est en accord avec les modèles animaux et in vitro qui ont montré que cet acide gras pourrait stimuler la croissance des tumeurs du sein et de la prostate<sup>306</sup>.

Ce résultat est également en accord avec l'association inverse entre l'acide de Mead et le risque de cancer discutée précédemment. Dans des conditions physiologiques normales, les dérivés n-9 sont formés en petite quantité et une augmentation significative du taux d'acide de Mead (un métabolite de l'acide oléique) suggère une déficience en AGPI n-3 et n-6<sup>307</sup>. Par conséquent, les résultats concernant l'acide de Mead et l'acide linoléique sont probablement partiellement interdépendants mais les associations persistaient après des ajustements mutuels sur chacun de ces acides gras.

Nous avons observé que la concentration plasmatique en acide palmitoléique était inversement associée au risque de cancer (toutes localisations et du sein). En accord avec ce résultat, une étude cas-témoin<sup>308</sup> qui incluait 291 cas de cancer a rapporté que l'acide palmitoléique provenant du tissu adipeux était inversement associé au risque de cancer du sein. En revanche, une méta-analyse de 2004<sup>161</sup> basée sur 3 études prospectives a suggéré une association directe entre l'acide palmitoléique et le risque de cancer post-ménopausal et une autre étude a montré une association directe avec le risque de cancer de la prostate<sup>170</sup>. L'acide cis-palmitoléique se trouvant principalement dans les produits laitiers, il est possible que l'association inverse avec le risque de cancer observée dans notre étude reflète en réalité

le potentiel effet protecteur d'autres substances contenues dans les produits laitiers, comme la vitamine D.

Le ratio acide arachidonique/acide dihomo-  $\gamma$ -linoléique (indicateur de l'activité de la  $\Delta 5$ -désaturase) était directement associé au risque de cancer toutes localisations dans notre étude. En accord avec ce résultat, une étude cas-témoin nichée menée en Suède a observé une augmentation du risque de cancer du sein, à limite de la significativité, associée à ce ratio<sup>164</sup>. Ce résultat est soutenu par une plausibilité mécanistique : l'acide di-homo- $\gamma$ -linoléique peut être converti par la  $\Delta 5$ -désaturase en acide arachidonique, qui peut lui-même être converti via la voie de la cyclo-oxygénase, en PGE-2, stimulatrices de la prolifération des cellules cancéreuses<sup>302</sup>.

Nous avons observé une association inverse entre les AGS (et l'acide palmitique en particulier) et le risque de cancer (toutes localisations et du sein) dans le groupe placebo uniquement. En revanche, des études épidémiologiques prospectives ont rapporté des associations directes entre l'acide palmitique circulant et le risque de cancer du sein<sup>161</sup> ou de la prostate<sup>169-171</sup>, et entre les AGS totaux et le risque de cancer du sein<sup>309</sup>. Les AGS peuvent être synthétisés de manière endogène. L'acide palmitique est le principal acide gras synthétisé par lipogénèse de novo à partir de l'acétyl-CoA et du malonyl-CoA. Il peut ensuite être désaturé en acide palmitoléique ou allongé en acide stéarique<sup>310</sup>. Ainsi, les concentrations plasmatiques en AGS ne reflètent pas forcément les apports en AGS mais plutôt la synthèse de novo des acides gras<sup>311;312</sup>. En outre, l'acide palmitique circulant pourrait détruire les tumeurs en favorisant la palmitoylation des récepteurs  $\beta$  des œstrogènes<sup>313</sup>.

Par ailleurs, nous n'avons observé aucune association entre les taux d'acides gras n-3 et le risque de cancer. Notre résultat est en accord plusieurs études prospectives conduites dans les pays occidentalisés<sup>165;169;309</sup>. A l'inverse, les résultats des études conduites dans des populations asiatiques ont mis en évidence un effet protecteur des AGPI n-3 à longue chaîne sur le risque de cancer du sein<sup>314;315</sup>. Cette divergence de résultats serait la conséquence d'apports plus élevés en AGPI n-3 à longue chaîne dans les pays asiatiques comparés aux pays occidentaux. Comme cela a été suggéré dans l'étude E3N<sup>316</sup>, les taux plasmatiques d'AGPI n-3 qui sont le reflet des apports alimentaires, étaient sans doute trop faibles dans notre étude pour exercer un effet protecteur sur le risque de cancer.

## **2. Effet modulateur d'une supplémentation en antioxydants sur les relations entre les taux plasmatiques d'acides gras et le risque de cancer : comparaison avec la littérature épidémiologique et plausibilité mécanistique**

Un des résultats les plus originaux de notre étude est que la supplémentation en antioxydants modulait clairement les associations entre les taux plasmatiques d'acides gras et le risque de cancer (toutes localisations et du sein). A notre connaissance, aucune étude épidémiologique prospective n'avait investigué le rôle modulateur d'une supplémentation en antioxydants sur ces relations. Dans l'étude ATBC, l'acide linoléique sérique était associé à une diminution du risque de cancer de la prostate chez les hommes qui avaient reçu une supplémentation en  $\alpha$ -tocophérol à forte dose (50 mg/jour) mais pas chez ceux qui avaient reçu un placebo<sup>180</sup>. Dans notre étude, aucune association n'a été trouvée dans le groupe supplémentation en antioxydants alors que toutes les associations décrites dans le paragraphe précédent ont été observées, et généralement de façon plus marquée, dans le groupe placebo.

Les AGPI totaux étaient directement associés au risque de cancer (toutes localisations et de cancer du sein) dans le groupe placebo mais pas dans le groupe supplémentation. Ce résultat est confirmé par les travaux de recherche in vivo et in vitro<sup>156;175;176</sup>. En plus de potentiels effets spécifiques et opposés des AGPI n-3 et n-6, il a été montré que les AGPI au

global pouvaient être métabolisés et transformés en peroxydes à effets potentiellement génotoxiques lorsqu'ils étaient non protégés (en présence d'un faible statut en antioxydants par exemple). En revanche, les antioxydants pourraient protéger ces AGPI de la peroxydation et ainsi annuler ces effets potentiellement pro-carcinogènes. Dans la même logique, les études in vitro et in vivo ont montré que les AGPI pourraient augmenter l'activité cytotoxique des anthracyclines pendant le traitement du cancer, mais ce mécanisme était annulé par l'ajout d'antioxydants (notamment d' $\alpha$ -tocophérol)<sup>317</sup>. Les niveaux plasmatiques d'AGPI observés dans notre étude étaient similaires à ceux d'autres cohortes française<sup>316</sup> et italienne<sup>318</sup> mais la comparaison de ces niveaux doit être réalisée avec prudence car les méthodes de mesure diffèrent d'une étude à l'autre<sup>160</sup>.

De même, l'association inverse entre l'acide de Mead et le risque de cancer a été observée dans le groupe placebo mais pas dans le groupe supplémenté. En préservant les AGPI essentiels de la peroxydation, la supplémentation en antioxydants pourrait limiter la synthèse de l'acide de Mead.

Ainsi, l'effet modulateur des antioxydants suggéré par nos résultats pourrait contribuer à expliquer les divergences de résultats observés dans la littérature épidémiologique sur les relations entre acides gras circulant et risque de cancer<sup>161;163;171;318</sup>.

### *c. Etude prospective des liens entre les taux plasmatiques de caroténoïdes et de rétinol et le risque de cancer (toutes localisations et cancer du sein)*

#### **1. Association inverse entre $\beta$ -carotène plasmatique et risque de cancer toutes localisations : comparaison avec la littérature épidémiologique et plausibilité mécanistique**

Nous avons observé une association inverse entre la concentration plasmatique en  $\beta$ -carotène et le risque de cancer toutes localisations confondues dans le groupe placebo. Ce résultat est en accord avec notre hypothèse de départ : cette relation a été observée dans le groupe placebo mais pas dans le groupe supplémenté pour lequel la concentration en  $\beta$ -carotène a été modifiée immédiatement après l'inclusion, par la supplémentation en antioxydants qui contenait du  $\beta$ -carotène. Les différences de sources (aliments ou suppléments) et de doses de  $\beta$ -carotène mises en jeu peuvent également expliquer ces résultats contrastés entre les deux groupes de supplémentation. Cependant, les participants de l'étude SU.VI.MAX avaient reçu une supplémentation en  $\beta$ -carotène (et d'autres antioxydants) à doses nutritionnelles (6 mg/j), nettement plus faibles que celles administrées dans d'autres études d'intervention, comme l'essai CARET<sup>192</sup>, dans lequel des effets délétères sur le risque de cancer ont été rapportés.

En accord avec ce résultat, des études prospectives ont trouvé une association inverse entre les concentrations en  $\beta$ -carotène et le risque de cancer de l'estomac<sup>198</sup>, du sein<sup>102;185</sup> ou du colon-rectum<sup>196</sup>. Cependant, certaines études n'ont détecté aucune association<sup>186;189;191;192;199;201</sup> et d'autres ont observé une augmentation du risque de cancer de la prostate (au global<sup>187</sup> et stade III ou IV<sup>190</sup>). Les études qui n'ont trouvé aucune association entre les taux plasmatiques de  $\beta$ -carotène et le risque de cancer présentaient des concentrations en  $\beta$ -carotène généralement plus faibles (range : 0,11-0,47  $\mu\text{mol/L}$ )<sup>189;190;192;197;199;319</sup> que celles observées dans notre étude (0,94  $\mu\text{mol/L}$  chez les témoins ; 0,83  $\mu\text{mol/L}$  chez les cas), ce qui pourraient expliquer en partie les divergences de résultats entre les études épidémiologiques. De plus, une interaction entre les apports en  $\beta$ -carotène et le tabac a été décrite dans la littérature<sup>69</sup>, même si celle-ci n'a pas été observée dans cette étude sur le  $\beta$ -carotène plasmatique, où la proportion de fumeurs était

relativement faible. Ainsi, il est possible que, dans les populations étudiées, la proportion de fumeurs ait une influence sur l'association entre les niveaux plasmatiques de  $\beta$ -carotène et le risque de cancer.

Cette association inverse entre le taux plasmatique de  $\beta$ -carotène et le risque de cancer est soutenue par une plausibilité mécanistique : le  $\beta$ -carotène diminuerait la prolifération cellulaire, provoquerait l'apoptose<sup>320;321</sup> et pourrait interférer avec les signaux des œstrogènes dans les cellules cancéreuses mammaires<sup>321;322</sup>. Le mode d'action moléculaire du  $\beta$ -carotène pourrait être induit par l'acide rétinoïque via l'activation de la transcription d'une série de gènes à activité antiproliférative ou pro-apoptotique distincte, permettant l'élimination des cellules néoplasiques et pré-néoplasiques dont les lésions sont irréversibles<sup>323</sup>.

Enfin, il est possible que l'association inverse entre le  $\beta$ -carotène et le risque de cancer toutes localisations ait été influencée par les cancers du poumon<sup>92</sup>, des voies aérodigestives supérieures<sup>92</sup> et du colon-rectum<sup>196;201</sup> (qui représentaient plus de 25% des cas de cancer totaux dans cette étude). Comme la puissance statistique était trop faible pour réaliser des analyses par localisation de cancer (excepté pour le cancer du sein), d'autres études sont nécessaires pour élucider ce résultat.

## **2. Association inverse entre $\beta$ -cryptoxanthine et risque de cancer (toutes localisations et cancer du sein) : comparaison avec la littérature épidémiologique et plausibilité mécanistique**

Nous avons observé une association inverse entre la concentration plasmatique en  $\beta$ -cryptoxanthine et le risque de cancer toutes localisations et du sein. Il est possible que l'association sur les cancers globaux ait été influencée par la relation entre la  $\beta$ -cryptoxanthine et le risque de cancer du sein car les cas de cancers du sein représentaient environ 62% des cas totaux de cette étude.

En accord avec ce résultat, des études prospectives ont trouvé des associations inverses entre le taux de  $\beta$ -cryptoxanthine circulante et le risque d'adénocarcinome gastrique<sup>199</sup>, de cancer gastrique non-cardia<sup>197</sup> et de cancer du poumon (chez les femmes)<sup>192</sup>. En revanche, certaines études n'ont détecté aucune association entre le taux de  $\beta$ -cryptoxanthine plasmatique et le risque de cancer de la prostate<sup>189-192</sup>, du sein<sup>102;185</sup> et de cancer colorectal<sup>196</sup>. Les études qui n'ont observé aucune association avaient des concentrations en  $\beta$ -cryptoxanthine généralement plus faibles (range: 0,10-0,25  $\mu\text{mol/L}$ )<sup>189;196;319;324;325</sup> que celles observées dans notre population (0,36  $\mu\text{mol/L}$  chez les témoins; 0,29  $\mu\text{mol/L}$  chez les cas), ce qui pourraient expliquer en partie les divergences de résultats observés entre les études épidémiologiques. Comparée à d'autres populations européennes<sup>326</sup>, notre population d'étude avait des apports plus élevés en agrumes (moyenne ( $\pm$ SD) : 53,0 ( $\pm$ 51,4) g/j), source principale de  $\beta$ -cryptoxanthine. Comme les agrumes sont aussi riches en polyphénols, dont la naringénine (flavonoïde) qui présente une activité phyto-œstrogénique<sup>327</sup>, il est difficile de distinguer le potentiel effet protecteur de la  $\beta$ -cryptoxanthine de celui de ces autres composés.

Cette association inverse entre le taux plasmatique de  $\beta$ -cryptoxanthine et le risque de cancer (toutes localisations et du sein) est en accord avec les modèles animaux et in vitro : la  $\beta$ -cryptoxanthine, qui est constituée de cycles  $\beta$ -ionones non-substitués et qui présente des propriétés provitaminiques A, exerce plusieurs activités biologiques dont l'élimination des radicaux libres, l'amélioration de la communication intercellulaire, l'immunomodulation et la régulation de l'activité enzymatique liée à la carcinogénèse<sup>323;328-330</sup>.

### **3. Association directe entre lycopène et risque de cancer toutes localisations dans le groupe supplémenté : comparaison avec la littérature épidémiologique et plausibilité mécanistique**

Nous avons observé une association directe entre la concentration plasmatique en lycopène et le risque de cancer dans le groupe supplémenté en antioxydants, et au global, et lorsque nous avons exclus les cas de cancer diagnostiqués durant la première année de suivi.

Les résultats des études épidémiologiques concernant cette relation sont contradictoires : une étude prospective incluant 1683 cas de cancer de la prostate a rapporté qu'une augmentation de 10 mg/dL de lycopène sérique était associée à un risque 8% plus élevé de cancer de la prostate<sup>193</sup>. Une étude basée sur 153 cas de cancer invasifs a suggéré une association directe à la limite de la significativité entre le lycopène et le risque de cancer du sein<sup>324</sup>. En accord avec ce point, des associations directes entre les apports en lycopène et le risque de cancer colorectal et rectal ont été rapportées dans une étude cas-témoin<sup>331</sup> et une étude prospective<sup>332</sup>, respectivement. En revanche, des études prospectives sur le risque de cancer de la prostate<sup>186;190-192;194</sup>, de l'estomac<sup>198;199</sup>, du colon-rectum<sup>196</sup> ou du sein<sup>102</sup> n'ont pas détecté d'association et certaines ont même suggéré une association inverse avec le risque de cancer toutes localisations<sup>194</sup>, de la prostate<sup>92;189</sup>, ou du sein<sup>185</sup>. Notamment, une analyse « poolée » de 15 études prospectives (dans laquelle les données de l'étude SU.VI.MAX ont été incluses), le lycopène circulant était inversement associé au risque de cancer agressif de la prostate<sup>333</sup>. Toutefois, dans notre étude, les cas de cancer de la prostate ne représentaient que 18% des cas de cancer totaux.

La plupart des études qui avaient observé une relation inverse entre les taux de lycopène circulant et le risque de cancer<sup>185;189;194</sup> présentaient des concentrations en lycopène généralement plus faibles (entre 0,10 et 0,50  $\mu\text{mol/L}$ ) que celles observées dans notre étude (0,58  $\mu\text{mol/L}$  chez les témoins ; 0,64  $\mu\text{mol/L}$  chez les cas) ou dans d'autres études qui avaient trouvé des associations directes avec le risque de cancer<sup>194;324</sup> (range : 0,70 et 0,78  $\mu\text{mol/L}$ ), ce qui peut expliquer en partie les différences de résultats observés.

De plus, certaines études in vivo et vitro ont suggéré la possibilité d'effets potentiellement délétères du lycopène : conversion du lycopène en produits d'oxydation dans les tissus exposés au stress oxydatif<sup>334</sup>, activité pro-oxydante<sup>335</sup>, lésions directes de l'ADN<sup>336-338</sup>, effets pro-inflammatoires<sup>339;340</sup> et augmentation de la génotoxicité des substances carcinogènes<sup>341;342</sup>. Dans une étude cas-témoins nichée, les taux sériques d'IGFBP-3 (Insulin-like growth factor binding protein-3) diminuaient avec l'augmentation des concentrations sériques en lycopène<sup>343</sup>. Ainsi, l'association prospective entre la concentration plasmatique en lycopène et le risque de cancers nécessite une étude plus approfondie.

#### **B. Aspects méthodologiques et limites des études réalisées**

##### **a. Puissance statistique**

Le nombre relativement limité de cas de cancers ne nous a pas permis d'investiguer séparément d'autres localisations de cancers que le sein dans nos travaux portant sur les acides gras et sur les caroténoïdes plasmatiques. En outre, pour l'ensemble de nos travaux étiologiques sur le cancer du sein, les effectifs ne nous ont pas permis d'étudier séparément les différents types histologiques et types de récepteurs hormonaux. De plus, la puissance statistique n'était pas suffisante pour pouvoir stratifier les analyses simultanément sur le groupe de supplémentation en antioxydants et le statut ménopausique. Notre capacité à détecter certaines associations a peut-être été limitée par le nombre de cas inclus dans les

différentes analyses. Toutefois, il est peu probable que cette limite explique les associations observées, qui étaient statistiquement significatives malgré cette limite de puissance.

### **b. Risque d'erreur de première espèce**

Certains de nos résultats pourraient être en partie expliqués par une erreur de première espèce (faux positifs liés à la multiplicité des tests). La question se pose particulièrement pour la problématique « acides gras plasmatiques – cancer », pour laquelle le nombre de tests réalisés est relativement élevé. Cependant, nous nous sommes efforcés de bien spécifier nos modèles analytiques en ajustant uniquement sur les covariables les plus pertinentes pour minimiser le risque d'erreur de type I. Notre protocole initial stipulait un seuil  $\alpha$  de 5%. Nous n'avons pas appliqué de seuil  $\alpha$  trop conservateur afin de ne pas diminuer la puissance statistique et de ne pas augmenter le risque d'erreur de type II. En outre, les résultats que nous avons observés étaient soutenus par des hypothèses et par une plausibilité biologique, et le nombre de résultats statistiquement significatifs observés dans ces travaux était largement supérieur aux 5% d'erreur de première espèce. En outre, tous les résultats significatifs étaient observés dans le groupe placebo seulement (pour nos travaux portant sur la modulation par la supplémentation en antioxydants), alors qu'une erreur de type I aurait conduit à des résultats significatifs répartis aléatoirement au sein des deux groupes de supplémentation. Ainsi, il est peu probable que les erreurs de première espèce aient joué un grand rôle dans les associations observées.

### **c. Combinaison d'antioxydants**

Dans le cadre de l'essai randomisé SU.VI.MAX, les participants du groupe supplémenté ont reçu un mélange d'antioxydants (120 mg d'acide ascorbique, 30 mg de vitamine E, 6 mg de  $\beta$ -carotène, 100  $\mu$ g de sélénium, et 20 mg de zinc), il n'était donc pas possible d'identifier si un antioxydant particulier était plus impliqué dans l'effet modulateur des relations nutrition-cancer étudiées.

Dans le cadre des travaux sur les acides gras, deux études prospectives ont suggéré une association inverse entre des apports combinés en vitamine E et AGPI à fortes doses et le risque de cancer du sein<sup>177;178</sup> et l'étude ATBC a montré que la supplémentation en  $\alpha$ -tocophérol modifiait l'association entre l'acide linoléique sérique et le risque de cancer de la prostate<sup>180</sup>. De plus, une étude cas-témoin rapportait une diminution du risque de cancer du sein associée à des apports élevés en acide arachidonique chez les femmes qui avaient de faibles apports alimentaires en vitamine E, mais une augmentation de risque chez les femmes qui avaient des apports élevés en acide arachidonique et en vitamine E<sup>181</sup>. Ainsi, on peut supposer que la vitamine E liposoluble ait pu jouer un rôle majeur dans la modulation des relations entre acides gras plasmatiques et risque de cancer.

Dans le cadre des travaux sur les charcuteries, il a été suggéré que l'ajout d'antioxydants (dont l' $\alpha$ -tocophérol) au régime alimentaire des rats pourrait exercer une action chimiopréventive de la carcinogenèse mammaire induite par les Phip<sup>150-152</sup>. Il a été montré que l' $\alpha$ -tocophérol alimentaire pouvait supprimer le développement de la carcinogenèse induite chimiquement par les charcuteries chez le rat et réduire les biomarqueurs associés chez l'Homme<sup>299</sup>. La vitamine C et d'autres antioxydants comme la vitamine E et le  $\beta$ -carotène, peuvent inhiber la formation endogène des CNO<sup>300</sup> et d'après une étude épidémiologique, la vitamine C pourrait moduler l'association entre les CNO et le risque de cancer<sup>301</sup>. Il est donc possible que la vitamine E, la vitamine C et le  $\beta$ -carotène agissent en synergie dans la modification d'effet des relations entre la consommation de charcuteries et le risque de cancer du sein.



#### d. *Mesure unique des biomarqueurs plasmatiques à l'inclusion*

Dans le cadre des travaux sur les acides gras et les caroténoïdes, les biomarqueurs nutritionnels plasmatiques n'ont été mesurés qu'une seule fois à l'inclusion. En ce qui concerne les acides gras plasmatiques, il aurait été intéressant d'étudier leur évolution au cours du temps, dans l'échantillon total et par groupe de supplémentation, mais cette information n'était pas disponible. En effet, plusieurs facteurs ont pu modifier les profils plasmatiques au cours du suivi, comme la variation de la lipogenèse endogène ou de facteurs alimentaires (apports lipidiques et consommation de fruits et légumes) par exemple. Dans le cadre du travail sur les caroténoïdes plasmatiques également, l'évaluation du statut plasmatique à différents moments au cours du suivi aurait permis une estimation plus précise de l'exposition à long terme<sup>190</sup>.

#### e. *Consommation spontanée de compléments alimentaires*

Les informations sur la consommation volontaire de compléments alimentaires (autres que la capsule de l'intervention) au cours de l'étude n'était pas disponible. Toutefois, celle-ci était probablement extrêmement faible, car les participants recevaient régulièrement des consignes leur demandant d'éviter toute automédication par les compléments (en dehors de la capsule de l'essai). Par ailleurs, la conformité au protocole était élevée et similaire dans les groupes placebo et supplémenté (pourcentage moyen de capsules prises = 84% dans chaque groupe).

#### f. *Données biologiques manquantes*

Certains acides gras ou caroténoïdes plasmatiques n'ont pas pu être investigués au cours de ces travaux étiologiques. Des études ont suggéré une augmentation de risque de cancer du sein, de la prostate ou du colon-rectum associée à des concentrations élevées en certains AGMI *trans*<sup>173;316;344</sup> mais aucune information sur ces acides gras n'était disponible dans l'étude SU.VI.MAX. Par ailleurs, la concentration plasmatique en zéaxanthine était indisponible pour 24 des 318 sujets inclus dans les analyses sur les taux de caroténoïdes car leur concentration était inférieure au seuil de détection. De plus, chez les sujets pour lesquels cette donnée était disponible, les niveaux plasmatiques de zéaxanthine étaient trop faibles pour effectuer des analyses statistiques.

### C. Deuxième partie - Bilan des résultats clé :

- Notre étude prospective suggère que la consommation de charcuteries serait associée à un risque accru de cancer du sein, en accord avec les données expérimentales. Après stratification sur le groupe de supplémentation de l'essai randomisé SU.VI.MAX, cette association était statistiquement significative dans le groupe placebo, mais pas dans le groupe supplémenté en antioxydants. Ces résultats suggèrent donc que les antioxydants pourraient moduler cette association en contrecarrant les effets potentiellement pro-cancérogènes des charcuteries sur le risque de cancer du sein.
- Nous avons mis en évidence des associations directes et inverses entre plusieurs acides gras plasmatiques spécifiques et le risque de cancer (toutes localisations et du sein) dont l'association inverse entre l'acide de Mead et le risque de cancer jamais étudiée auparavant. Après stratification des analyses, des associations ont été observées dans le groupe placebo de l'essai SU.VI.MAX uniquement. Notamment, les acides gras polyinsaturés étaient directement associés au risque de cancer toutes localisations et du sein dans le groupe placebo mais pas dans le groupe supplémenté en antioxydants. Cette étude prospective suggère ainsi que les antioxydants pourraient modifier les associations acides gras – cancer en s'opposant aux effets potentiels des acides gras sur la carcinogénèse.
- Notre étude prospective a mis en évidence une association inverse entre les concentrations plasmatiques en  $\beta$ -cryptoxanthine et le risque de cancer toutes localisations et de cancer du sein, et une association inverse entre la concentration plasmatique en  $\beta$ -carotène et le risque de cancer toutes localisations.

# Troisième partie : Travaux méthodologiques en e-Epidémiologie

---

Cette troisième partie a fait l'objet d'une publication soumise dans une revue à comité de lecture :

**Pouchieu C**, Méjean C, Andreeva VA, Kesse-Guyot E, Fassier P, Galan P, Hercberg S, Touvier M. Computer literacy, adhesion and attitude towards study demands among participants of a web-based cohort: results from the NutriNet-Santé study. Soumis

L'e-épidémiologie représente une avancée majeure en épidémiologie car elle offre l'opportunité de collecter un grand nombre de données sur de larges échantillons de sujets de manière automatisée, permettant ainsi une simplification de la logistique et une nette diminution des coûts des études. Les travaux méthodologiques en e-épidémiologie nutritionnelle sont nécessaires à la bonne conduite des études épidémiologiques descriptives ou étiologiques (telles que celles réalisées dans les parties 1 et 2) afin de mieux connaître les avantages et les limites de ces nouvelles méthodes.

L'objectif des travaux méthodologiques que j'ai conduits sur cette thématique était double :

- Evaluer les compétences en informatique et en utilisation d'Internet des participants de l'étude NutriNet-Santé
- Comparer les attitudes des sujets face aux contraintes liées à la participation à cette web-cohorte en fonction de leurs compétences informatiques et de leurs caractéristiques sociodémographiques.

## 1. Population et méthodes

Ces travaux sont basés sur la cohorte NutriNet-Santé que nous avons précédemment décrite dans la première partie de cette thèse.

En Octobre 2013, les sujets ont reçu (via l'interface web de l'étude) un questionnaire que j'ai élaboré, portant sur leurs compétences en informatique et en utilisation d'Internet (cf. annexe 5). Nous avons demandé aux participants d'auto-évaluer leur niveau de compétence en informatique (en se classant dans l'une des 4 catégories suivantes : inexpérimenté, novice, expérimenté ou expert) et s'ils étaient capables d'effectuer certaines tâches informatiques spécifiques/liées à Internet dans le but d'évaluer leur profil de connaissances dans ce domaine. Ce questionnaire visait également à recueillir des informations sur les contraintes liées à la participation à l'étude perçues par les répondants (fréquence des questionnaires et temps de remplissage jugés acceptable, facilité perçue d'utilisation du site Web, satisfaction vis-à-vis des modes de communication entre les investigateurs et les participants) ainsi que sur d'autres aspects liés à leur participation (temps de remplissage réel des questionnaires, intérêt pour les rubriques d'information, intérêt potentiel pour une application NutriNet-Santé pour smartphone). Ce questionnaire n'était pas obligatoire et aucun rappel n'a été envoyé aux non-répondants.



Sur les 123 984 participants inclus dans l'étude entre mai 2009 et octobre 2013, 43 028 personnes (35%) ont répondu au questionnaire optionnel sur les compétences en informatiques et en utilisation d'Internet.

Les caractéristiques socio-démographiques sont présentées sous forme d'effectifs et de pourcentages de l'échantillon total, de même que les compétences informatiques globales et spécifiques.

Les opinions sur les contraintes de participation à l'étude, perçues par les répondants étaient comparées par analyses de régression logistique non-conditionnelle selon les caractéristiques socio-démographiques (sexe : femmes versus hommes, âge : >50 ans versus ≤ 50 ans et niveau d'éducation : ≥ versus < au Baccalauréat) et selon le niveau auto-évalué de compétence informatique (expert-expérimenté versus novice-inexpérimenté).

Les durées de remplissage des questionnaires (durées réelles et durées jugées acceptables) étaient comparées par des analyses de régression linéaire multivariée selon les mêmes caractéristiques socio-démographiques et selon le niveau auto-évalué de compétence informatique. Les variables de durée de remplissage étaient log-transformées pour améliorer la normalité. Les modèles multivariés étaient mutuellement ajustés sur le sexe, l'âge, le niveau d'éducation et le niveau de compétence informatique.

## 2. Résultats

### A. Compétences en informatique et en utilisation d'Internet

Les caractéristiques socio-démographiques de l'échantillon sont présentées dans le tableau 32. Au total, 76% des participants était des femmes et la moyenne d'âge était de 51,2 ans ( $\pm$  14,5). Cet échantillon était composé de 35% de cadres ou professions intellectuelles supérieures, 28% de professions intermédiaires, 27% d'employés, 3% d'artisans ou commerçants, 3% d'agriculteurs et ouvriers et de 4% de personnes n'ayant jamais travaillé.

**Tableau 32. Caractéristiques des participants à l'inclusion, Etude NutriNet-Santé, 2013**

	Cohorte NutriNet-Santé Totale (n=123 984)		Répondants au questionnaire «NutriNet, Internet et vous ? » (n=43 028)	
	N	%	N	%
Sexe				
Femmes	96912	78,2	32731	76,1
Hommes	27072	21,8	10297	23,9
Classes d'âge (années)				
< 30	18518	14,9	4298	10,0
30-44	40432	32,6	10626	24,7
45-59	35923	29,0	13623	31,7
≥ 60	29111	23,5	14481	33,7
Niveau d'éducation				
2ème ou 3ème cycle universitaire	40274	32,5	14457	33,6
Bts, dut, dest, deug, licence	36579	29,5	12663	29,4
Baccalauréat, bep, cap	43070	34,7	14526	33,8
Certificat d'études primaires	2375	1,9	942	2,2
Aucun diplôme	1686	1,4	440	1,0
Niveau de compétence informatique				
Expert			5365	12,5
Expérimenté			27428	63,7
Novice			9288	21,6
Inexpérimenté			947	2,2

Une proportion importante de participants (24%) déclarait être novice ou inexpérimenté en informatique. Ceci s'illustre par la description des compétences spécifiques (cf. tableau 33) : par exemple, 35% ne savaient pas utiliser les raccourcis claviers simples (i.e., CTRL+C, CTRL+V) et près de 38% ne savait pas téléphoner via Internet (exemple : Skype) ou poster des messages dans des forums de discussion.

**Tableau 33.** Auto-évaluation des compétences informatiques et Internet des participants ( $n=43\ 028$ ),  
Etude NutriNet-Santé, 2013

Compétences informatiques	Réponses Positives à la question « Savez-vous ... ? »	
	n	%
Copier ou déplacer un fichier ou un répertoire	39693	92,2
Utiliser l'outil copier/coller à l'intérieur d'un document	37827	87,9
Graver ou copier un CD/DVD	32466	75,5
Installer de nouveau périphériques (modem, imprimante, scanner, webcam, etc.)	31465	73,1
Utiliser les formules arithmétiques basiques dans un tableur (Excel, Open Office Calc, etc.)	27357	63,6
Créer un diaporama sur PowerPoint ou sur un autre logiciel	25102	58,3
Utiliser les raccourcis clavier (CTRL+C, CTRL+V, CTRL+X, etc.)	28147	65,4
Compresser/décompresser (or zipper) des fichiers	23794	55,3
Installer ou mettre à jour un système d'exploitation (Windows XP, Vista, 7, 8, Mac OS, Linux)	18992	44,1
Modifier ou vérifier les paramètres de configuration d'un logiciel	18352	42,7
Mettre à niveau un ordinateur (fixe ou portable) en changeant le disque dur ou la mémoire vive (RAM)	6614	15,4
Écrire un programme en langage informatique (C, C++, PHP, HTML, Java, etc.)	3359	7,8
<b>Compétences en utilisation d'Internet</b>		
Utiliser un moteur de recherche (Google, Yahoo, Bing, etc.)	42288	98,3
Envoyer des e-mails avec des fichiers en pièce jointe (document, photo, etc.)	41333	96,1
Remplir en ligne des formulaires administratifs (caf, déclaration d'impôt, etc.)	39718	92,3
Acheter ou vendre des biens et des services sur des sites en ligne	36509	84,8
Utiliser un logiciel de messagerie instantanée (Yahoo, Facebook, Skype, Windows Messenger, etc.)	29522	68,6
Téléphoner en vous connectant à Internet (Skype, Yahoo Messenger, Google Talk, etc.)	26881	62,5
Poster des messages dans un forum de discussion en ligne ou lors d'un « chat »	26361	61,3
Télécharger des films, de la musique, des jeux, etc.	26019	60,5
Modifier les règles de sécurité de votre navigateur Internet	24019	55,8
Mettre en ligne des textes, des jeux, des photos, des films ou de la musique (sur des réseaux sociaux comme Facebook ou Twitter par exemple)	21025	48,9
Créer et gérer un blog	10158	23,6
Créer et gérer un site web	6435	15,0

## **B. Opinions et attitudes envers les contraintes de l'étude**

Globalement, l'acceptation des contraintes de l'étude était élevée : 95% ont rapporté que le site Internet de l'étude était facile d'utilisation, 91% étaient satisfaits de la fréquence actuelle d'envoi des questionnaires (environ 1/mois) et 25% avaient même rapporté qu'une fréquence plus élevée que celle actuellement mise en place serait acceptable (cf. tableau 34). 87% des répondants préféraient les modes de communications actuels (e-mails et site Internet) et ne voulaient pas être contactés par d'autres moyens (téléphone, courrier postal et interview en face à face).

Malgré des compétences informatiques en moyenne plus faibles ( $P<0,0001$ ), les femmes étaient plus « positives » que les hommes vis-à-vis de l'utilisation du site Internet de l'étude ( $P < 0,0001$ ), étaient plus intéressées par la rubrique d'information ( $P=0,0003$ ) et étaient plus satisfaites par la fréquence actuelle d'envoi des questionnaires ( $P<0,0001$ ) (cf. tableau 34). A choisir un autre mode de communication que l'actuel, les femmes préféraient être contactées par courriers postaux ou lors de réunions de groupe alors que les hommes

préféraient être contactés par téléphone ou lors d'entretiens privés avec le personnel de l'étude.

Les participants plus âgés (>50 ans) étaient plus intéressés par la rubrique d'information du site ( $P < 0,0001$ , cf. tableau 34) mais moins satisfaits de la fréquence d'envoi des questionnaires ( $OR_{>50 \text{ vs } \leq 50 \text{ans}} = 1,25$ , 95% IC: 1,15-1,35,  $P < 0,0001$ ) comparé aux sujets plus jeunes ( $\leq 50$  ans).

Malgré un niveau de compétence informatique plus élevé ( $P < 0,0001$ ), les sujets plus éduqués semblaient être plus réticents à se conformer aux exigences de l'étude que les sujets moins éduqués : ils étaient « plus négatifs » vis à vis de l'utilisation du site Internet ( $OR_{\geq \text{Bac vs } < \text{Bac}} = 1,45$ , 95% IC: 1,32-1,59), moins intéressés par la rubrique d'information et moins satisfaits de la fréquence d'envoi des questionnaires ( $P < 0,0001$  pour toutes ces variables). Les sujets plus éduqués préféraient être contactés par Internet plutôt que par d'autres modes de communication ( $P < 0,0001$ ).

De manière logique, les sujets plus compétents en informatique se sentaient plus à l'aise avec le site Internet et préféraient la communication en ligne pour participer à l'étude ( $P < 0,0001$ ).

Globalement, 21% des sujets étaient intéressés par le développement d'une application 'NutriNet-Santé' pour smartphone. Les hommes, les adultes jeunes et les sujets les plus compétents en informatique étaient plus intéressés par une telle application ( $P < 0,0001$ ).

### **C. Durée effective et durée jugée acceptable pour le remplissage des questionnaires**

La durée de remplissage effective des questionnaires était plus élevée chez les femmes, les sujets plus âgés, moins éduqués et moins compétents en informatique (cf. tableau 35). Ces catégories de sujets déclaraient une durée jugée acceptable plus importante pour le remplissage d'un questionnaire ( $P = 0,004$  pour le sexe et  $P < 0,0001$  pour l'âge, le niveau d'éducation et le niveau de compétence informatique).



**Tableau 34.** Opinions et attitudes des participants face aux contraintes de l'étude NutriNet-Santé selon le sexe, l'âge, le niveau d'éducation et le niveau de compétence informatique, Etude NutriNet-Santé, 2013<sup>1</sup>

	Sexe (Femmes vs Hommes)				Age (>50 vs ≤50 ans)			Niveau d'éducation (≥ vs < 12 y au Bac)			Niveau de compétence informatique (Expérimenté vs novice)			
	N	%	OR	95%IC	P <sup>b</sup>	OR	95%IC	P <sup>b</sup>	OR	95%IC	P <sup>b</sup>	OR	95%IC	P <sup>b</sup>
L'utilisation générale du site est facile					<0,0001			0,06			<0,0001			0,0001
D'accord	40662	94,5	1,00	Référence		1,00	Référence		1,00	Référence		1,00	Référence	
Pas d'accord	2366	5,5	0,65	0,59-0,71		1,09	1,00-1,19		1,45	1,32-1,59		0,82	0,74-0,91	
Les rubriques d'information sont intéressantes					0,0003			<0,0001			<0,0001			<0,0001
D'accord	29231	67,9	1,00	Référence		1,00	Référence		1,00	Référence		1,00	Référence	
Pas d'accord	2042	4,7	0,61	0,55-0,68		0,62	0,56-0,68		2,05	1,85-2,28		1,16	1,03-1,31	
Je ne consulte pas ces rubriques	11755	27,3	0,90	0,86-0,95		0,52	0,50-0,55		2,17	2,07-2,28		1,14	1,07-1,20	
Que pensez-vous de la fréquence d'envoi des questionnaires?					<0,0001			<0,0001			<0,0001			0,1
La fréquence actuelle me convient	39293	91,3	1,00	Référence		1,00	Référence		1,00	Référence		1,00	Référence	
Je reçois trop de questionnaires	2900	6,7	0,80	0,73-0,87		1,25	1,15-1,35		1,62	1,48-1,76		0,95	0,86-1,04	
J'aimerais recevoir des questionnaires plus souvent	835	1,9	1,01	0,85-1,21		0,30	0,25-0,35		0,61	0,53-0,70		1,18	0,98-1,42	
Quelle est la fréquence maximale qui vous semblerait acceptable pour le remplissage des questionnaires ? <sup>2</sup>					0,07			<0,0001			<0,0001			<0,0001
Un par semaine	2126	4,9	0,96	0,86-1,07		0,32	0,29-0,36		0,68	0,62-0,74		1,14	1,01-1,28	
Un tous les 15 jours	8726	20,3	0,99	0,94-1,06		0,51	0,49-0,54		0,98	0,93-1,04		1,18	1,11-1,26	
Un par mois (=fréquence actuelle)	24936	58,0	1,00	Référence		1,00	Référence		1,00	Référence		1,00	Référence	
Un tous les trois mois	6138	14,3	1,00	0,94-1,07		1,37	1,29-1,46		1,03	0,97-1,09		0,95	0,89-1,01	
Un tous les six mois	829	1,9	0,75	0,64-0,88		1,53	1,31-1,80		1,15	0,99-1,33		0,83	0,71-0,98	
Un par an	273	0,6	0,67	0,52-0,87		1,85	1,39-2,47		1,04	0,82-1,35		0,87	0,66-1,15	
Préfèreriez-vous être contacté autrement que par Internet?														
Oui, par courrier postal	2206	5,1	1,35	1,20-1,52	<0,0001	0,57	0,52-0,62	<0,0001	0,70	0,64-0,76	<0,0001	0,50	0,46-0,55	<0,0001
Oui, par téléphone	1123	2,6	0,83	0,73-0,96	0,01	0,78	0,69-0,89	0,0001	0,85	0,75-0,96	0,01	0,67	0,59-0,77	<0,0001
Oui, lors d'un rendez-vous privé	1441	3,3	0,77	0,69-0,87	<0,0001	1,08	0,96-1,21	0,2	0,97	0,86-1,08	0,5	0,71	0,63-0,80	<0,0001
Oui, lors d'une réunion	1037	2,4	1,31	1,12-1,53	0,0006	1,89	1,64-2,17	<0,0001	0,87	0,77-0,99	0,04	0,97	0,84-1,12	0,7
Non, le mode actuel me convient mieux	37221	86,5	0,96	0,89-1,02	0,2	1,16	1,10-1,24	<0,0001	1,25	1,18-1,33	<0,0001	1,62	1,52-1,72	<0,0001
Etes-vous intéressé par le développement d'une application "Nutrinet" pour smartphone?					<0,0001			<0,0001			0,001			<0,0001
Oui	8970	20,8	1,00	Référence		1,00	Référence		1,00	Référence		1,00	Référence	
Non	27385	63,6	1,25	1,18-1,33		3,24	3,07-3,42		1,00	0,95-1,06		0,40	0,38-0,43	
Je ne sais pas	6673	15,5	1,10	1,02-1,19		2,28	2,13-2,44		0,90	0,84-0,97		0,52	0,48-0,57	

Abréviations: IC, intervalle de confiance; OR, odd ratio

<sup>1</sup> Les analyses de régression logistique étaient mutuellement ajustées sur le sexe, l'âge, le niveau d'éducation et le niveau de compétence informatique

<sup>2</sup> Les tests de tendance linéaire étaient réalisés en utilisant le score ordinal dans chaque catégorie (P de tendance).

**Tableau 35.** Comparaison des durées moyennes de remplissage des questionnaires (en min) selon le sexe, l'âge, le niveau d'éducation et le niveau de compétence informatique perçu par les participants, Etude NutriNet-Santé, 2013<sup>1</sup>

Type de questionnaire	Sexe					Age					Niveau d'éducation					Niveau de compétence informatique				
	Femmes		Hommes		P	>50 ans		≤50 ans		P	≥ Bac		<Bac		P	Expérimenté		Novice		P
moy	SE	moy	SE	moy		SE	moy	SE	moy		SE	moy	SE	moy		SE	moy	SE	moy	
<u>Durées réelles</u>																				
Socio-démographique	14,0	0,05	13,3	0,09	<0,0001	14,9	0,06	12,4	0,08	<0,0001	12,9	0,07	14,4	0,08	<0,0001	12,7	0,05	14,6	0,09	<0,0001
Anthropométrique	10,9	0,05	10,4	0,08	<0,0001	1,6	0,05	9,6	0,07	<0,0001	9,6	0,06	11,6	0,07	<0,0001	9,9	0,05	11,3	0,08	<0,0001
Santé	12,1	0,05	12,0	0,09	0,4	13,6	0,06	10,5	0,08	<0,0001	10,9	0,07	13,2	0,08	<0,0001	11,2	0,05	13,0	0,09	<0,0001
Activité physique	12,2	0,05	11,4	0,08	<0,0001	12,7	0,06	10,9	0,07	<0,0001	11,2	0,06	12,4	0,07	<0,0001	11,0	0,05	12,6	0,08	<0,0001
Alimentaire	22,6	0,08	22,5	0,15	0,5	24,5	0,10	20,5	0,13	<0,0001	22,5	0,11	22,5	0,12	0,9	21,0	0,09	24,0	0,15	<0,0001
<u>Durée jugée acceptable</u>																				
pour un questionnaire NutriNet-Santé	33,9	0,44	31,6	0,77	0,004	36,4	0,51	29,2	0,68	<0,0001	29,3	0,55	36,3	0,64	<0,0001	29,7	0,44	35,9	0,77	<0,0001

Abréviations: SE, écart-type; min, minutes ; moy, moyenne

<sup>1</sup> Les analyses de régression linéaire étaient mutuellement ajustées sur le sexe, l'âge, le niveau d'éducation et le niveau de compétence informatique

Les durées moyennes de remplissage étaient log-transformées pour améliorer la normalité. Les moyennes présentées sont ajustées sur les covariables du modèle (lsmeans).

### 3. Discussion de la troisième partie

#### A. Discussion et mise en perspective des résultats

Favorisée par l'augmentation de l'accès à Internet dans les foyers<sup>203</sup>, l'épidémiologie s'est progressivement développée ces dix dernières années<sup>202-212</sup> car elle offre une importante simplification logistique et des avantages scientifiques et financiers considérables par rapport aux méthodes traditionnelles.

##### a. Une proportion non négligeable de Nutrinautes novices en informatique

Une question stratégique en e-épidémiologie est la suivante: dans quelle mesure des compétences faibles en informatique et en utilisation d'Internet peuvent représenter un obstacle à la participation aux web-cohortes? Chaque année, la Commission Européenne collecte des données sur les compétences numériques de la population, en demandant aux individus s'ils avaient déjà réalisé certaines activités informatiques et/ou relatives à Internet (Eurostat). Dans leur rapport annuel de 2012, 41% de la population française avaient déclaré n'avoir aucune compétence ou de faibles compétences informatiques<sup>345</sup>. La proportion de participants qui se déclaraient novices ou inexpérimentés en informatique était plus faible (24%) dans notre échantillon, en accord avec le fait que l'accès à Internet était un critère d'inclusion et que les CSP les plus élevées étaient surreprésentées dans notre étude. Cette proportion est toutefois substantielle dans le cadre d'une étude basée sur Internet.

Une étude a suggéré que les individus issus des CSP les plus élevées acquéraient des compétences plus pratiques et administratives de l'utilisation d'Internet étant donné leur utilisation régulière au cours de leurs études universitaires ou dans le cadre de leurs activités professionnelles<sup>346</sup>. Dans notre échantillon, la proportion de participants qui savaient « installer de nouveaux logiciels », « compresser/décompresser des fichiers » ou « utiliser les formules arithmétiques dans un tableur » était plus élevée que dans la population française<sup>347;348</sup>. Notre population d'étude semblait être mieux qualifiée pour une utilisation plus pratique et professionnelle d'Internet que pour une utilisation de loisir ou de divertissement que la population française en général, avec des proportions plus élevées de participants qui savaient « envoyer des e-mails avec des pièces jointes » ou « remplir des formulaires administratifs en ligne » et des proportions plus faibles de sujets qui savaient « télécharger des films, de la musique et des jeux » ou « mettre en ligne des textes, des jeux, photos, films ou musiques ». L'âge plus avancé de notre cohorte par rapport à la population française contribue probablement également à expliquer ces différences.

Pour répondre à notre question initiale, la proportion substantielle (1/4 environ) de sujets novices ou inexpérimentés en informatique suggère que la participation à des web-cohortes est loin d'être restreinte aux personnes très à l'aise en informatique. Etant donné l'augmentation rapide des compétences numériques des citoyens de l'UE<sup>345</sup>, cette tendance sera renforcée dans un futur proche, évoluant vers une élimination complète des obstacles liés aux compétences informatiques pour la participation aux web-cohortes.

##### b. Une attitude plus positive vis-à-vis des contraintes de l'étude chez les femmes et les participants moins éduqués, pourtant moins qualifiés en informatique

Plusieurs catégories de sujets telles que femmes ou les participants moins éduqués, ayant pourtant de plus faibles compétences informatiques en moyenne, étaient plus « positives »

envers l'étude et moins réticentes à se conformer à ses exigences. En effet, le niveau de satisfaction global était élevé en ce qui concerne le design de l'étude, avec une majorité de sujets qui appréciaient les paramètres actuellement en vigueur comme la fréquence d'envoi des questionnaires (environ un/mois) et le temps nécessaire au remplissage des questionnaires (moins de 30 min/questionnaire). Cependant, les caractéristiques socio-démographiques modulaient ces opinions. En plus de leur participation plus élevée (76%, ce qui était attendu pour une étude sur des questions de nutrition), les femmes avaient tendance à être plus motivées et satisfaites de l'étude que leurs homologues masculins. Contrairement aux adultes plus âgés (>50 ans), les jeunes adultes se sentaient plus à l'aise avec le site Internet et les questionnaires. En revanche, les sujets plus instruits étaient plus réticents à se conformer aux exigences de l'étude. Plusieurs raisons peuvent expliquer ce résultat. Tout d'abord, les sujets plus éduqués sont généralement exposés à une multitude d'activités numériques et de sites Internet au cours de leurs activités professionnelles et de loisirs<sup>346</sup>, ce qui pourrait les rendre par conséquent plus exigeants sur le design et la convivialité des questionnaires. Deuxièmement, comme ils passent plus de temps sur Internet<sup>349</sup>, ils sont plus souvent sollicités pour répondre à des questionnaires en tout genre via des spams, ce qui les rend moins réceptifs aux questionnaires de l'étude.

Ces résultats fournissent des informations utiles pour optimiser les investigations actuelles et futures basées sur Internet. Par exemple, des investigations spécifiques, optionnelles et qui ne nécessitent pas nécessairement le recrutement de sous-échantillons représentatifs de la cohorte pourraient être proposées seulement aux catégories de sujets les plus réceptives, identifiées dans cette étude.

### **c. Le smartphone : une future stratégie de recrutement ?**

La proportion de répondants qui préféraient le mode de communication actuel (e-mails et site Internet) aux modes plus traditionnels (téléphone, courriers postaux ou interview en face à face) était élevée (87%), particulièrement chez les sujets plus âgés, plus instruits et avec des compétences informatiques plus élevées. Cependant, contrairement à d'autres études<sup>350-352</sup>, l'objectif de ces travaux n'était pas de tester le taux de réponse selon le mode d'enquête mais d'évaluer la satisfaction globale des participants vis-à-vis du mode d'enquête par Internet. Ainsi, ce résultat doit être nuancé car des recherches antérieures indiquent que les répondants ont tendance à préférer le mode d'enquête par lequel ils sont interrogés<sup>353</sup>.

La proportion de sujets intéressés par le développement d'une application NutriNet-Santé pour smartphone était relativement faible au global (21%). L'utilisation de smartphone est moins répandue chez les participants de l'étude NutriNet-Santé (34% en 2013) que dans la population générale française (50% en 2013)<sup>354</sup>. Dans notre échantillon, l'intérêt pour une application smartphone était fortement modulé par plusieurs paramètres : notamment, les hommes et les jeunes adultes sont ceux qui en démontraient le plus grand intérêt. Ainsi, donner la possibilité de participer à une étude de recherche via une application smartphone serait une opportunité stratégique de recruter ces catégories de participants, qui sont actuellement sous-représentées dans cette cohorte.

## **B. Aspects méthodologiques et limites de l'étude réalisée**

Premièrement, il convient de rester prudent quant à l'extrapolation de nos résultats à toutes les études basées sur Internet, car l'étude NutriNet-Santé incluait un échantillon de

volontaires acceptant de participer à une étude sur la santé et la nutrition. Comparé aux estimations nationales<sup>355;356</sup>, l'étude NutriNet-Santé incluait plus de femmes et de personnes issues des CSP plus élevées.

Deuxièmement, le taux de réponse à ce questionnaire spécifique, optionnel et sans relance sur les compétences en informatique/Internet était de 35%. En effet, la non-réponse à ce questionnaire ne modifiait pas le statut de participation des sujets. Comparé aux non-répondants, les répondants étaient plus souvent des hommes, plus jeunes et plus éduqués. Par conséquent, nous avons peut-être sous-estimé les proportions de personnes novices et inexpérimentées en informatique. De plus, le questionnaire a été administré quatre ans après le lancement de la cohorte. Il est donc possible que cette étude sous-représente les sujets qui auraient abandonné l'étude en raison de difficultés liées à l'utilisation des ordinateurs et d'Internet. Pour limiter ce biais dans les futures études de ce type, il serait pertinent d'évaluer le niveau de compétence informatique et en utilisation d'Internet des participants en début de suivi, quelques mois après le lancement de la web-cohorte.

Comme c'est souvent le cas dans les études de cohortes prospectives dans lesquelles des questionnaires obligatoires et optionnels sont envoyés aux participants, le degré d'implication varie entre les sujets. Quand le questionnaire sur les compétences informatiques a été envoyé en Octobre 2013, 78380 sujets étaient considérés comme des « répondants réguliers » aux questionnaires optionnels (c'est-à-dire qu'ils avaient rempli au moins un questionnaire au cours des 6 derniers mois). Basé sur cette population, le taux de réponse à ce questionnaire était plus élevé (55%).

Enfin, étant donné que les compétences en informatique/Internet étaient auto-évaluées, un biais de désirabilité sociale a pu se produire, ce qui pourrait entraîner une surestimation du nombre d'experts/expérimentés en informatique. Cependant, notre méthode d'évaluation des compétences informatiques était similaire à celle utilisée par la Commission Européenne<sup>345</sup>, permettant la comparaison de nos résultats avec la population européenne.

### **C. Troisième partie – Bilan des résultats clé :**

Ces travaux méthodologiques en e-épidémiologie fournissent des informations utiles pour optimiser la mise en place et le suivi des web-cohortes actuelles et futures:

- Près d'un quart des sujets (24%) étaient inexpérimentés ou novices en informatique, suggérant que ces caractéristiques ne constituent pas un obstacle majeur à la participation à des cohortes sur Internet
- Les femmes et les participants avec un niveau d'éducation plus faible, ayant pourtant de plus faibles compétences informatiques en moyenne, étaient plus « positifs » envers l'étude et moins réticents à se conformer à ses exigences
- Le développement d'une application NutriNet-Santé dédiée pour smartphone pourrait stimuler la participation des hommes et des jeunes adultes, qui sont relativement moins représentés dans cette e-cohorte.

# Perspectives de recherche

---

## 1. Elaboration d'une base de données de composition des compléments alimentaires pour l'ensemble de la cohorte NutriNet-Santé

La base de données de composition des compléments alimentaire que j'ai élaborée nous a permis d'évaluer précisément les apports en micronutriments provenant des compléments alimentaires dans l'échantillon des sujets atteints de cancer de l'étude NutriNet-Santé (base pilote, 727 produits, correspondant aux déclarations de 1333 sujets). Il s'agit donc maintenant d'élargir cette base en intégrant les compléments alimentaires consommés par l'ensemble de la cohorte NutriNet-Santé. Pour la mise en place de cette table de plus grande ampleur, l'utilisation d'une base de données relationnelle (sous ACCESS par exemple) pourra être envisagée afin de stocker, organiser et mettre en relation les différents types d'informations : nom, marque, forme galénique, source d'information, ingrédients, constituants (excipients, substances actives), unités, posologie, etc. Les données de la table de composition pilote sous Excel pourront y être facilement intégrées.

A ce jour, j'ai déjà effectué un premier travail de « nettoyage » des noms et marques des compléments alimentaires déclarés par les 79386 premiers participants ayant répondu au questionnaire compléments alimentaires. Plus de 60 000 produits ont été enregistrés et après 6 mois de « nettoyage », j'ai répertorié plus de 8000 produits différents pour lesquels les compositions nutritionnelles devaient être recherchées. L'élaboration de la table de composition pour la cohorte complète représente une perspective majeure pour la thématique « compléments alimentaires » dans NutriNet.

Grâce à cette table de composition des compléments, les apports totaux provenant des aliments et des compléments alimentaires pourront être précisément estimés dans la cohorte afin d'évaluer la contribution des compléments alimentaires à l'équilibre nutritionnel et leur lien avec l'incidence des pathologies étudiées.

## 2. Optimisation des outils de recueil des consommations de compléments alimentaires

Chez les femmes enceintes, un questionnaire spécifique sur la consommation de compléments alimentaires pourrait être dérivé du questionnaire adressé à la cohorte globale et posé à chaque trimestre de grossesse dès lors qu'une femme déclare une grossesse dans les questionnaires de surveillance des événements de santé. Ceci permettrait d'évaluer la prise de compléments tout au long de la grossesse. De plus, des questions sur la prise de compléments et notamment d'acide folique avant la grossesse (période cruciale pour la prévention des anomalies de fermeture du tube neural<sup>38;243</sup>), ainsi que des questions sur des facteurs pouvant influencer la prise de compléments (grossesse médicalement assistée versus spontanées ; grossesse planifiée versus imprévue<sup>357</sup>) devraient être ajoutées au questionnaire. Celui-ci prendra également en compte de manière plus adaptée les prises de vitamine D « one shot » (types ampoules de ZymaD, souvent prises au dernier trimestre de grossesse).

A terme, afin de limiter les erreurs liées à l'interprétation des compléments déclarés (noms et marques actuellement saisis en clair), et de limiter fortement le temps nécessaire au nettoyage de ces variables, le web-questionnaire « compléments alimentaire » pourrait être directement « relié » à la base de composition des compléments, permettant aux consommateurs de choisir les produits parmi une liste d'items « fermés », correspondant

chacun à un complément alimentaire bien défini. Comme de nouveaux compléments arrivent régulièrement sur le marché, les déclarations en clairs devront rester possibles en plus de la liste fermée, qui devra être régulièrement actualisée.

En outre, le développement de technologies innovantes pourrait améliorer le recueil de données des compléments alimentaires. Par exemple, les Nutrinautes pourraient utiliser leur smartphone pour photographier les emballages de compléments non répertoriés dans la base de données. Ces photographies pourraient ensuite être téléchargées via l'interface du questionnaire. Des contrôles d'image devront être intégrés au questionnaire afin d'assurer une lecture claire des informations. Ainsi les investigateurs vérifieraient les produits consommés et récupérerait directement les données de composition de ces compléments.

### **3. Analyses étiologiques prospectives dans la cohorte NutriNet-Santé sur les relations compléments alimentaires-cancer**

Les études transversales descriptives menées dans la cohorte NutriNet-Santé ont permis de mettre en évidence des facteurs associés à la consommation de compléments alimentaires qui permettront de mieux contrôler les facteurs de confusion potentiels dans les futures études étiologiques sur les relations entre la consommation de compléments alimentaires et le risque de cancers dans NutriNet, lorsqu'une durée de suivi suffisamment longue aura été atteinte. En 2015, l'étude aura débuté depuis 7 ans pour les premiers inclus, et les analyses de type étiologiques vont pouvoir démarrer.

Comme nous l'avons évoqué en introduction, tout reste encore à investiguer, aussi bien en prévention primaire que secondaire/tertiaire sur la thématique « compléments alimentaires–cancer ». Entre autres analyses, nous pourrions nous intéresser plus spécifiquement à l'association entre la consommation de compléments à base de  $\beta$ -carotène et le risque de cancers liés au tabac chez les fumeurs<sup>27;239</sup> afin de répondre aux différentes questions en suspens concernant notamment les fenêtres d'exposition et les doses de tabac et de  $\beta$ -carotène nécessaires à l'apparition de l'interaction délétère entre ces deux facteurs. La taille d'échantillon importante dans cette cohorte permettra des analyses fines par localisation et par types de cancers (récepteurs hormonaux notamment pour le cancer du sein).

Par ailleurs, l'impact des compléments alimentaires sur le pronostic vital des sujets atteints de cancer reste très mal connu<sup>61;65</sup>. Des études prospectives sur les relations entre la consommation de compléments alimentaires et le risque de mortalité, de récurrence ou de second cancer pourront être conduites par localisation de cancer et par types de compléments. Par exemple, ces analyses prospectives pourront porter sur l'effet des compléments en antioxydants (seuls ou combinés) sur le pronostic vital des femmes atteintes du cancer du sein ou en rémission.

### **4. Analyses prospectives de l'effet modulateur des antioxydants sur les relations nutrition-cancer : vérification de nos hypothèses dans la cohorte NutriNet-Santé**

Notre équipe était la première à avoir investigué l'effet modulateur potentiel d'une supplémentation en antioxydants sur certaines relations nutrition-cancer dans une étude épidémiologique (essai SU.VI.MAX). De ce fait, de nouvelles études épidémiologiques et



mécanistiques sont nécessaires pour mieux élucider l'influence des antioxydants seuls ou combinés sur ces relations (effets pro-ou anti-cancérogènes des charcuteries et des acides gras notamment).

Ces travaux épidémiologiques pourront donc être reconduits dans la cohorte NutriNet-Santé qui comportera un nombre de cas de cancers nettement supérieur à celui de la cohorte SU.VI.MAX. L'étude NutriNet-Santé n'étant pas une étude d'intervention, nous pourrions nous intéresser au rôle modulateur potentiel des apports alimentaires et/ou du statut plasmatique en antioxydants (au global et par type d'antioxydants, comme la vitamine E, la vitamine C et le  $\beta$ -carotène) dans les relations nutrition-cancer étudiées dans cette thèse, ou dans d'autres relations, comme par exemple entre les CNO et le risque de cancers<sup>301</sup>.

Suite aux travaux réalisés sur les charcuteries et le risque de cancer du sein, une collaboration s'est développée entre l'EREN et l'équipe du Pr Denis Corpet (INRA UMR1331 ToxAlim E9-PPCA Food-Cancer). Pour investiguer plus précisément ces relations, nous envisageons de travailler avec eux sur la teneur en un acide sialique particulier (l'acide N-glycolyl Neuraminique, NGNA ou Neu5Gc), que ne portent ni les cellules d'oiseau ni les cellules humaines. Il est par contre présent dans les viandes et les laits des autres mammifères et représente donc une différence majeure entre les viandes de porc et de volaille. Cet acide pourrait, d'après les données expérimentales, jouer un rôle sur l'inflammation et, chez des souris KO, sur le développement d'un cancer<sup>358;359</sup>.

## 5. E-épidémiologie

Dans le questionnaire « NutriNet-Santé, Internet et vous ? » que j'ai conçu, une partie du questionnaire était consacrée à des questions sur l'utilisation d'Internet relative à la nutrition et à la santé. Par exemple, nous avons demandé aux participants s'ils avaient utilisé Internet au cours des 12 derniers mois pour : rechercher des informations sur la santé/la nutrition (si oui, sur quels sites internet précisément), acheter des compléments alimentaires en ligne, communiquer (par e-mail ou internet) avec un médecin ou un autre professionnel de santé, etc (cf. annexe 5). Ces données sont actuellement analysées par une stagiaire de l'équipe, sous la direction du Dr. Touvier avec qui je participe à l'organisation du plan d'analyse.

Depuis son lancement en mai 2009 en France, l'étude NutriNet-Santé est pionnière dans le domaine de l'e-épidémiologie nutritionnelle au niveau international. Le volet Belge de « l'étude NutriNet-Santé » a été lancé en juin 2013 avec un appel au volontariat pour recruter 50 000 internautes belges (30 000 inclus) pour participer à la cohorte de 500 000 Nutrinautes européens francophones. Ce volet belge est coordonné par le Pr Jean Neve (ULB Bruxelles) et le Pr Véronique Maindix (Institut Paul Lambin, Bruxelles). Les questionnaires ont été adaptés au contexte belge avec notamment, pour les questionnaires alimentaires l'introduction de nombreux aliments spécifiques (stoemp, boulette liégeoise, sauce lapin, pistolets, anguille au vert,...) et les dénominations d'aliments communs ont été adaptées (chicons, vs endives par exemple,..). Un volet similaire est actuellement en cours de lancement en Suisse. A terme, l'équipe souhaite étendre ce réseau aux autres pays européens, en traduisant et adaptant l'outil français aux différents contextes nationaux.

Des travaux de recherche méthodologiques en e-épidémiologie et des collaborations sont aussi développés avec différentes équipes au niveau international nouvellement

impliquées dans la mise en place d'e-cohortes dans le domaine de la nutrition (Dr Amy Subar, National Cancer Institute (USA) et Pr Janet Cade, Leeds (UK) par exemple). A terme, il serait stratégique d'arriver à pooler, croiser et mettre en relation les différentes études existantes, voire de mettre en place un outil standardisé de recueil de données et de suivi des participants via Internet, au niveau international. L'outil Internet pourrait grandement faciliter cette démarche, moyennant une réflexion en amont sur la standardisation des outils, tout en conservant les spécificités nationales et culturelles. Cette problématique méthodologique semble particulièrement porteuse pour l'avenir de l'épidémiologie nutritionnelle.

# Conclusion générale

---

Ce travail de thèse a permis d'aborder la problématique des compléments alimentaires en santé publique sous deux angles d'approche complémentaires: celui de l'épidémiologie descriptive, se basant sur les comportements de consommation de compléments alimentaires et ses facteurs associés dans différents groupes de population stratégiques, et celui de l'épidémiologie étiologique, apportant des hypothèses et éléments novateurs quant à un potentiel rôle modulateur des compléments en antioxydants vis-à-vis de certaines relations nutrition-cancer. Ce travail a également été complété par une approche méthodologique contribuant, de manière transversale, à améliorer les outils utilisés en épidémiologie.

L'étude NutriNet-Santé fournit des informations actualisées et détaillées sur l'utilisation et les déterminants de la prise de compléments alimentaires dans une grande cohorte française (près de 80 000 sujets), mettant notamment l'accent sur les fumeurs, dont les effets à long terme de l'utilisation de compléments alimentaires sont mal documentés et pourraient représenter un risque. Cette étude révèle que les consommateurs de compléments alimentaires ont globalement un mode de vie plus sain que les non-consommateurs (en termes d'alimentation, de tabagisme, d'activité physique et d'autres paramètres). Les pratiques d'automédication par les compléments étaient considérables (plus de 45%). Les fumeurs consommaient moins de compléments alimentaires que les non-fumeurs mais leur consommation était loin d'être négligeable (19%), avec 11% des femmes fumeuses consommatrices de compléments alimentaires qui déclaraient prendre des compléments à base de  $\beta$ -carotène en été.

Ce large échantillon fournit également, pour la première fois en France, des informations détaillées sur l'utilisation des compléments alimentaires et les facteurs associés pendant la grossesse. Même dans cette population relativement bien éduquée et sensibilisée aux questions de nutrition, la supplémentation en acide folique en début de grossesse était insuffisante (seulement 50 %) alors que seulement 27% des femmes atteignaient les apports recommandés en acide folique par l'alimentation. Cette supplémentation était en outre associée à des disparités socio-économiques et démographiques.

Chez les sujets atteints de cancer ou en rémission, la prise de compléments alimentaires était très répandue (51%) et contribuaient considérablement aux apports nutritionnels totaux, avec 14% de sujets qui ont commencé à prendre des compléments alimentaires après le diagnostic de cancer. Cette étude souligne l'absence de communication entre les médecins et leurs patients au sujet des compléments consommés et l'importance de l'automédication (45%). Fait plus inquiétant, nous avons détecté une proportion importante de pratiques de prise de compléments alimentaires potentiellement à risque dans cette population (18% des consommateurs de compléments étaient concernés par au moins une de ces pratiques).

Dans le cadre du volet étiologique de mes travaux, l'étude SU.VI.MAX suggère qu'une supplémentation en antioxydants pourrait jouer un rôle modulateur clé dans plusieurs relations nutrition-cancer. Deux relations ont été plus spécifiquement étudiées : la relation entre la consommation de viandes rouges et de charcuteries et le risque de cancer du sein et la relation entre les taux d'acides gras plasmatiques et le risque de cancer (toutes localisations et du sein). A notre connaissance, le rôle modulateur potentiel d'une supplémentation en antioxydants dans ces relations n'avait jamais été étudié auparavant dans une étude épidémiologique prospective.

Premièrement, nous avons mis en évidence une association directe entre la consommation de charcuteries et le risque de cancer du sein, soutenue par une plausibilité mécanistique. En outre, notre hypothèse de départ a été vérifiée : la consommation de charcuteries était associée à une augmentation de risque de cancer du sein dans le groupe placebo mais pas dans le groupe supplémenté en antioxydants, ce qui suggère que les antioxydants pourraient contrecarrer les effets potentiellement pro-carcinogènes des charcuteries dans la carcinogénèse mammaire.

Deuxièmement, nous avons mis en évidence plusieurs associations entre des acides gras plasmatiques spécifiques et le risque de cancer toutes localisations et de cancer du sein, qui s'appuient toutes sur une plausibilité mécanistique suggérée par les études expérimentales in vitro et in vivo. Nous avons observé notamment pour la première fois une association inverse entre l'acide de Mead et le risque de cancer (toutes localisations et sein). Notre hypothèse initiale de l'effet modulateur d'une supplémentation en antioxydants sur ces relations a été vérifiée. Dans les analyses stratifiées sur le groupe de supplémentation, les associations entre les taux plasmatiques d'acides gras et le risque de cancer étaient observées seulement dans le groupe placebo. Par exemple, les AGPI totaux étaient directement associés au risque de cancer (toutes localisations et du sein) dans le groupe placebo mais pas dans le groupe supplémenté, en cohérence avec les hypothèses mécanistiques de protection des acides gras insaturés par les antioxydants, vis-à-vis de la peroxydation.

Troisièmement, l'étude SU.VI.MAX nous a permis d'investiguer les relations entre les taux plasmatiques de caroténoïdes et de rétinol, nutriments souvent retrouvés dans la composition des compléments alimentaires, et le risque de cancer (toutes localisations et du sein). En accord avec les hypothèses issues des études expérimentales, nous avons observé une association inverse entre le taux plasmatique de  $\beta$ -cryptoxanthine et le risque de cancer (toutes localisations et du sein), ainsi qu'une association inverse entre le taux plasmatique de  $\beta$ -carotène et le risque de cancer toutes localisations.

Mes travaux méthodologiques sur l'étude NutriNet-Santé nous ont permis d'obtenir de nouvelles informations sur les compétences informatiques et l'acceptation des contraintes liées à la participation à une grande web-cohorte. Ces résultats sont utiles pour optimiser les investigations actuelles et futures sur Internet, dans un contexte de développement rapide de l'e-épidémiologie au niveau international, et d'une littérature actuelle encore rare dans le domaine. Une part importante (1/4) de la population d'étude rapportait un faible niveau de compétences informatique/Internet, suggérant que cette caractéristique ne constitue pas un obstacle majeur à la participation à des cohortes sur Internet. Les résultats suggéraient également que des catégories de sujets comme les femmes ou les participants avec un niveau d'éducation plus faible, ayant pourtant de plus faibles compétences informatiques en moyenne, étaient plus positives envers l'étude et moins réticentes à se conformer à ses exigences. Cette étude a également mis en évidence que le développement d'une application dédiée pour smartphone pourrait stimuler la participation des catégories de sujets (hommes, jeunes adultes) qui sont relativement moins représentées dans les e-cohortes portant sur des problématiques liées à la santé.

Enfin, cette thèse a également été pour moi l'occasion de participer à d'autres travaux en épidémiologie nutritionnelle sur la thématique Nutrition-Cancer qui ont fait l'objet de publications dans des revues internationales à comité de lecture (cf. liste des publications). Ces travaux portaient notamment sur :

-2 études prospectives des relations entre les apports en fibres et le risque de cancer du sein et de la prostate

-1 étude prospective des relations entre les biomarqueurs sériques du métabolisme lipidique et le risque de cancer au global, du sein et de la prostate

-1 analyse « poolée » de 15 études prospectives sur les relations entre les caroténoïdes, le rétinol, les tocophérols et le risque de cancer de la prostate, dans le cadre d'un projet international coordonné par l'Université d'Oxford.

De manière générale, l'ensemble de mes travaux de thèse apportent des éléments d'information et de compréhension sur le rôle et la place des compléments alimentaires (antioxydants et autres) en santé publique, qui contribueront, à terme, à améliorer les recommandations en matière de prévention nutritionnelle des cancers et d'autres pathologies chroniques.

# Références

---

- 1 Journal officiel des Communautés européennes. Directive 2002/46/CE du Parlement Européen et du Conseil du 10 juin 2002 relative au rapprochement des législations des Etats membres concernant les compléments alimentaires. 2002.
- 2 Décret n°2006-352 du 20 mars 2006 relatif aux compléments alimentaires- Version consolidée au 14 avril 2011. 2006.
- 3 Bailey RL, Gahche JJ, Miller PE, Thomas PR, Dwyer JT. Why US adults Use dietary Supplements. *JAMA Intern Med* 2013; **173**:355-61.
- 4 Wu CH, Wang CC, Kennedy J. Changes in Herb and Dietary Supplement Use in the US Adult Population: A Comparison of the 2002 and 2007 National Health Interview Surveys. *Clin Therap* 2011; **33**:1749-58.
- 5 Kim HJ, Giovannucci E, Rosner B, Willett WC, Cho E. Longitudinal and Secular Trends in Dietary Supplement Use: Nurses' Health Study and Health Professionals Follow-Up Study, 1986-2006. *J Aca Nutr Diet* 2014; **114**:436-43.
- 6 Vatanparast H, Adolphe J, Whiting S. Socio-economic status and vitamin/ mineral supplement use in Canada. *Health Rep* 2010; **21**:19-25.
- 7 Robson PJ, Siou GL, Ullman R, Bryant HE. Sociodemographic, health and lifestyle characteristics reported by discrete groups of adult dietary supplement users in Alberta, Canada: findings from The Tomorrow Project. *Pub Health Nutr* 2008; **11**:1238-47.
- 8 Brownie S. Predictors of dietary and health supplement use in older Australians. *Aus J Adv Nurs* 2006; **23**:26-32.
- 9 Skeie G, Braaten T, Hjartaker A, al. Use of dietary supplements in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition calibration study. *Eur J Clin Nutr* 2009; **63**:S226-S238.
- 10 Food Standards Agency, Department of Health. National Diet and Nutrition Survey Headline results from Years 1, 2 and 3 (combined) of the Rolling Programme (2008/2009 - 2010/11). Norwich, UK: HMSO; 2011, 79 pages.
- 11 McNaughton SA, Mishra GD, Paul AA, al. Supplement Use Is Associated with Health Status and Health-Related Behaviors in the 1946 British Birth Cohort. *J Nutr* 2005; **135**:1782-9.
- 12 Tetens I, Biltoft-Jensen A, Spagner C, al. Intake of micronutrients among Danish adult users and non-users of dietary supplements. *Food Nutr Res* 2011; **55**.
- 13 Reinert A, Rohrmann S, Becker N, al. Lifestyle and diet in people using dietary supplements. *Eur J Nutr* 2007; **46**:165-73.
- 14 van der Horst K, Siegrist M. Vitamin and mineral supplement users. Do they have healthy or unhealthy dietary behaviours? *Appetite* 2011.
- 15 Rovira MA, Grau M, Castañer O, Covas MI, Schröder H. Dietary Supplement Use and Health-Related Behaviors in a Mediterranean Population. *J Nutr Educ Behav* 2013; **45**:386-91.

- 16 Imai T, Nakamura M, Ando F, Shimokata H. Dietary Supplement Use by Community-living Population in Japan: Data from the National Institute for Longevity Sciences Longitudinal Study of Aging (NILS-LSA). *J Epidemiol* 2006; **16**:249-60.
- 17 Beitz R, Mensink G, Fischer B, Thamm M. Vitamins-dietary intake and intake from dietary supplements in germany. *Eur J Clin Nutr* 2002; **56**:539-45.
- 18 Agence Francaise de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA). Étude Individuelle Nationale des Consommations Alimentaires 2 (INCA 2) (2006-2007). Paris: Parimage; 2009, 227 pages.
- 19 Pilorin T, Hebel P. Consommation de compléments alimentaires en France: profil des consommateurs et contribution à l'équilibre nutritionnel. *Cahi Nutr Diét* 2012; **47**:147-55.
- 20 Escalon H, Bossard C, Beck F. Baromètre Santé Nutrition 2008. Saint-Denis: INPES, 2009, 426 pages.
- 21 Touvier M, Niravong M, Volatier JL, et al. Dietary patterns associated with vitamin/mineral supplement use and smoking among women of the E3N-EPIC cohort. *Eur J Clin Nutr* 2009; **63**:39-47.
- 22 Touvier M, Boutron-Ruault MC, Volatier JL, Martin A. Efficacy and safety of regular vitamin and mineral supplement use in France: results from the ECCA study. *Int J Vitam Nutr Res* 2005; **75**:201-9.
- 23 Touvier M, Niravong M, Volatier JL, et al. Dietary patterns associated with vitamin/mineral supplement use and smoking among women of the E3N-EPIC cohort. *Eur J Clin Nutr* 2009; **63**:39-47.
- 24 Touvier M, Kesse E, Volatier JL, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC. Dietary and cancer-related behaviors of vitamin/mineral dietary supplement users in a large cohort of French women. *Eur J Nutr* 2006; **45**:205-14.
- 25 Centre de Recherche pour l'Etude et l'Observation des Conditions de vie (CREDOC). Comportements et consommations alimentaires en France (CCAF 2004). Paris: Ed. TEC & DOC; 2004, 33 pages.
- 26 Albanes D, Heinonen OP, Taylor PR, al. Alpha-Tocopherol and beta-carotene supplements and lung cancer incidence in the alpha-tocopherol, beta-carotene cancer prevention study: effects of base-line characteristics and study compliance. *J Natl Cancer Inst* 1996; **88**:1560-70.
- 27 Druesne-Pecollo N, Latino-Martel P, Norat T, et al. Beta-carotene supplementation and cancer risk: a systematic review and metaanalysis of randomized controlled trials. *Int J Cancer* 2010; **127**:172-84.
- 28 Touvier M, Kesse E, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC. Dual Association of beta-carotene with risk of tobacco-related cancers in a cohort of French women. *J Natl Cancer Inst* 2005; **97**:1338-44.
- 29 Blumfield ML, Hure AJ, Macdonald-Wicks L, Smith R, Collins CE. A systematic review and meta-analysis of micronutrient intakes during pregnancy in developed countries. *Nutr Rev* 2013; **71**:118-32.



- 30 Martin A. The "apports nutritionnels conseillés (ANC)" for the French population. *Reprod Nutr Dev* 2001; **41**:119-28.
- 31 Lassi ZS, Salam RA, Haider BA, Bhutta ZA. Folic acid supplementation during pregnancy for maternal health and pregnancy outcomes. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; **3**.
- 32 McNally S, Bourke A. Periconceptional folic acid supplementation in a nationally representative sample of mothers. *Ir Med J* 2012; **105**:236-8.
- 33 Nilsen RM, Vollset SE, Gjessing HK, et al. Patterns and predictors of folic acid supplement use among pregnant women: the Norwegian Mother and Child Cohort Study. *Am J Clin Nutr* 2006; **84**:1134-41.
- 34 Vandevijvere S, Amsalkhir S, Van Oyen H, Moreno-Reyes R. Determinants of folate status in pregnant women: results from a national cross-sectional survey in Belgium. *Eur J Clin Nutr* 2012; **66**:1172-7.
- 35 Candito M, Rivet R, Herbeth B, et al. Nutritional and genetic determinants of vitamin B and homocysteine metabolisms in neural tube defects: A multicenter case–control study. *Am J Med Genet Part A* 2008; **146A**:1128-33.
- 36 European Surveillance of Congenital Anomalies. Prevalence tables. 2012. <http://www.eurocat-network.eu/ACCESSPREVALENCEDATA/PrevalenceTables>.
- 37 AFSSA. Enrichissement de la farine en vitamines B en France: proposition d'un programme-pilote. 2003. <http://www.ladocumentationfrancaise.fr/var/storage/rapports-publics/044000441/0000.pdf>.
- 38 Castillo-Lancellotti C, Tur JA, Uauy R. Impact of folic acid fortification of flour on neural tube defects: a systematic review. *Public Health Nutr* 2012; **FirstView**:1-11.
- 39 Milman N. Iron in Pregnancy – How Do We Secure an Appropriate Iron Status in the Mother and Child? *Ann Nutr Metab* 2011; **59**:50-4.
- 40 Alwan NA, Greenwood DC, Simpson NAB, McArdle HJ, Godfrey KM, Cade JE. Dietary iron intake during early pregnancy and birth outcomes in a cohort of British women. *Hum Reprod* 2011; **26**:911-9.
- 41 Schlienger JL. Dietary supplements during pregnancy: a review. *Medecine des Maladies Metaboliques* 2011; **5**:521-32.
- 42 Li W, Green T, Innis S, et al. Suboptimal vitamin D levels in pregnant women despite supplement use. *Can J Public Health* 2011; **102**:308-12.
- 43 Stagnaro-Green A, Sullivan S, Pearce EN. Iodine Supplementation during Pregnancy and Lactation. *JAMA* 2012; **308**:2463-4.
- 44 Haute Autorité de Santé. Recommandations professionnelles. Comment mieux informer les femmes enceintes? 2006. [http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/Infos\\_femmes\\_enceintes\\_fiche.pdf](http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/Infos_femmes_enceintes_fiche.pdf).
- 45 Schnorr CE, Morrone MDS, Weber MH, Lorenzi R, Behr GAn, Moreira JCF. The effects of vitamin A supplementation to rats during gestation and lactation upon redox parameters: Increased

- oxidative stress and redox modulation in mothers and their offspring. *Food Chem Toxicol* 2011; **49**:2645-54.
- 46 Smedts HPM, de Vries JH, Rakhshandehroo M, et al. High maternal vitamin E intake by diet or supplements is associated with congenital heart defects in the offspring. *BJOG: Intern J Obstetr Gynaecol* 2009; **116**:416-23.
- 47 Barouki R, Gluckman P, Grandjean P, Hanson M, Heindel J. Developmental origins of non-communicable disease: Implications for research and public health. *Environ Health* 2012; **11**:42.
- 48 Steegers-Theunissen RPM, Obermann-Borst SA, Kremer D, Lindemans J, Siebel C, al. Periconceptional Maternal Folic Acid Use of 400 µg per Day Is Related to Increased Methylation of the IGF2 Gene in the Very Young Child. *PLoS ONE* 2009; **4**:e7845.
- 49 Jaddoe VW. Fetal nutritional origins of adult diseases: challenges for epidemiological research. *Eur J Epidemiol* 2008; **23**:767-71.
- 50 Picciano MF, McGuire MK. Use of dietary supplements by pregnant and lactating women in North America. *Am J Clin Nutr* 2009; **89**:663S-7S.
- 51 Branum AM, Bailey R, Singer BJ. Dietary Supplement Use and Folate Status during Pregnancy in the United States. *J Nutr* 2013.
- 52 Haugen M, Brantsaeter AL, Alexander J, Meltzer HM. Dietary Supplements Contribute Substantially to the Total Nutrient Intake in Pregnant Norwegian Women. *Ann Nutr Metab* 2008; **52**:272-80.
- 53 Tarrant RC, Sheridan-Pereira M, McCarthy RA., Younger KM, Kearney J. Maternal and infant nutritional supplementation practices in Ireland: implications for clinicians and policymakers. *Ir Med J* 2011; **104**:173-7.
- 54 Jensen CB, Petersen Sesilje B., Granström Charlotta, Maslova E, Molgaard C, Olsen SF. Sources and Determinants of Vitamin D Intake in Danish Pregnant Women. *Nutrients* 2012; **4**:259-72.
- 55 Roy A, Evers SE, Campbell MK. Dietary supplement use and iron, zinc and folate intake in pregnant women in London, Ontario. *Chronic Dis Inj Can* 2012; **32**:76-83.
- 56 Aronsson C, Vehik K, Yang J, et al. Use of dietary supplements in pregnant women in relation to sociodemographic factors - a report from The Environmental Determinants of Diabetes in the Young (TEDDY) study. *Public Health Nutr* 2013; **16**:1390-402.
- 57 Oliver EM, Grimshaw KEC, Schoemaker AA, et al. Dietary Habits and Supplement Use in Relation to National Pregnancy Recommendations: Data from the EuroPrevall Birth Cohort. *Matern Child Health J* 2014; 1-18.
- 58 Arkkola T, Uusitalo U, Pietikainen M, et al. Dietary intake and use of dietary supplements in relation to demographic variables among pregnant Finnish women. *Br J Nutr* 2006; **96**:913-20.
- 59 Forster DA, Wills G, Denning A, Bolger M. The use of folic acid and other vitamins before and during pregnancy in a group of women in Melbourne, Australia. *Midwifery* 2009; **25**:134-46.

- 60 Sullivan KM, Ford ES, Azrak MF, Mokdad AH. Multivitamin use in pregnant and nonpregnant women: results from the Behavioral Risk Factor Surveillance System. *Public Health Rep* 2009; **124**:384-90.
- 61 Giovannucci E, Chan AT. Role of vitamin and mineral supplementation and aspirin use in cancer survivors. *J Clin Oncol* 2010; **28**:4081-5.
- 62 Block KI, Koch AC, Mead MN, Tothy PK, Newman RA, Gyllenhaal C. Impact of antioxidant supplementation on chemotherapeutic toxicity: a systematic review of the evidence from randomized controlled trials. *Int J Cancer* 2008; **123**:1227-39.
- 63 Tang JY, Fu T, LeBlanc E, Manson JE, et al. Calcium Plus Vitamin D Supplementation and the Risk of Nonmelanoma and Melanoma Skin Cancer: Post Hoc Analyses of the Women's Health Initiative Randomized Controlled Trial. *J Clin Oncol* 2011; **29**:3078-84.
- 64 Bougnoux P, Hajjaji N, Ferrasson MN, Giraudeau B, Couet C, Le Floch O. Improving outcome of chemotherapy of metastatic breast cancer by docosahexaenoic acid: a phase II trial. *Br J Cancer* 2009; **101**:1978-85.
- 65 Greenlee H, Kwan ML, Kushi LH, et al. Antioxidant supplement use after breast cancer diagnosis and mortality in the Life After Cancer Epidemiology (LACE) cohort. *Cancer* 2012; **118**:2048-58.
- 66 Latino-Martel P, Bachmann P, et le groupe de travail SFNEP oncology nutrition guidelines. Antioxydative nutritional supplements throughout the cancer treatment process. *Nutr Clin Metab* 2012; **26**:238-46.
- 67 Bairati I, Meyer F, Gélinas M, et al. A Randomized Trial of Antioxidant Vitamins to Prevent Second Primary Cancers in Head and Neck Cancer Patients. *J Natl Cancer Inst* 2005; **97**:481-8.
- 68 AFSSA Groupe de Travail phyto-oestrogènes. Sécurité et bénéfices des phyto-estrogènes apportés par l'alimentation - Recommandations (Safety and benefits of phytoestrogens from food - Recommendations). Maison-Alfort: AFSSA; 2005, 440 pages.
- 69 Touvier M, Kesse E, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC. Dual Association of beta-carotene with risk of tobacco-related cancers in a cohort of French women. *J Natl Cancer Inst* 2005; **97**:1338-44.
- 70 Meyer F, Bairati I, Fortin A, et al. Interaction between antioxidant vitamin supplementation and cigarette smoking during radiation therapy in relation to long-term effects on recurrence and mortality: A randomized trial among head and neck cancer patients. *Int J Cancer* 2008; **122**:1679-83.
- 71 Tsai HH, Lin HW, Simon Pickard A, Tsai HY, Mahady GB. Evaluation of documented drug interactions and contraindications associated with herbs and dietary supplements: a systematic literature review. *Int J Clin Pract* 2012; **66**:1056-78.
- 72 Tsai HH, Lin HW, Lu YH, Chen YL, Mahady G. A Review of Potential Harmful Interactions between Anticoagulant/Antiplatelet Agents and Chinese Herbal Medicines. *PLoS ONE* 2013; **8**:e64255.
- 73 Cassileth BR and Lucarelli, CD. Herb-drug Interactions in oncology. Hamilton, ON: BC Decker; 2003, 769 pages.

- 74 Sparreboom A, Cox MC, Acharya MR, Figg WD. Herbal Remedies in the United States: Potential Adverse Interactions With Anticancer Agents. *J Clin Oncol* 2004; **22**:2489-503.
- 75 Velicer CM, Ulrich CM. Vitamin and mineral supplement use among US adults after cancer diagnosis: a systematic review. *J Clin Oncol* 2008; **26**:665-73.
- 76 Bright-Ghebry M, Makambi K, Rohan J, et al. Use of multivitamins, folic acid and herbal supplements among breast cancer survivors: the black women's health study. *BMC Complement Altern Med* 2011; **11**:30.
- 77 Ferrucci LM, McCorkle R, Smith T, Stein KD, Cartmel B. Factors Related to the Use of Dietary Supplements by Cancer Survivors. *J Altern Complement Med* 2009; **15**:673-80.
- 78 Saquib J, Rock CL, Natarajan L, Saquib N, al. Dietary intake, supplement use, and survival among women diagnosed with early-stage breast cancer. *Nutr Cancer* 2011; **63**:327-33.
- 79 Zirpoli G, Brennan P, Hong CC, et al. Supplement use during an intergroup clinical trial for breast cancer (S0221). *Breast Cancer Res Treat* 2013; **137**:903-13.
- 80 Greenlee H, Kwan M, Ergas I, et al. Changes in vitamin and mineral supplement use after breast cancer diagnosis in the pathways study: a prospective cohort study. *BMC Cancer* 2014; **14**:382.
- 81 Fox P, Butler M, Coughlan B, al. Using a mixed methods research design to investigate complementary alternative medicine (CAM) use among women with breast cancer in Ireland. *Eur J Onco Nurs* 2012.
- 82 Molassiotis A, Panteli V, Patiraki E, et al. Complementary and alternative medicine use in lung cancer patients in eight European countries. *Complement Therap Clin Pract* 2006; **12**:34-9.
- 83 Westerlund A, Steineck G, Bälter K, Stattin P, Grönberg H, Hedelin M. Dietary supplement use patterns in men with prostate cancer: the Cancer Prostate Sweden study. *Ann Oncol* 2011; **22**:967-72.
- 84 Ritchie MR. Use of herbal supplements and nutritional supplements in the UK: what do we know about their pattern of usage? *Proc Nutr Soc* 2007; **66**:479-82.
- 85 Hutchinson J, Burley VJ, Greenwood DC, Thomas JD, Cade JE. High-dose vitamin C supplement use is associated with self-reported histories of breast cancer and other illnesses in the UK Women's Cohort Study. *Public Health Nutr* 2011; **14**:768-77.
- 86 Pedersen CG, Christensen S, Jensen AB, Zachariae R, al. Prevalence, socio-demographic and clinical predictors of post-diagnostic utilisation of different types of complementary and alternative medicine (CAM) in a nationwide cohort of Danish women treated for primary breast cancer. *Eur J Cancer* 2009; **45**:3172-81.
- 87 Molassiotis A, Fernandez-Ortega P, Pud D. Complementary and alternative medicine use in colorectal cancer patients in seven European countries. *Complement Therap Med* 2005; **13**:251-7.
- 88 Holmes VA, Barnes MS, Alexander HD, McFaul P, Wallace JMW. Vitamin D deficiency and insufficiency in pregnant women : a longitudinal study. *Br J Nutr* 2009; **102**:876-81.

- 89 Kempf A, Touillaud M, Foucaut A, Gargi T, et al. Consommation de compléments nutritionnels chez les patientes traitées par chimiothérapies pour cancer localisé du sein en 2009-2010. Session de posters aux 8èmes Journées Francophones de Nutrition organisées par la Société Française de Nutrition (SFN) et la Société Francophone Nutrition Clinique et Métabolisme (SFNEP), Lille, 8-10 décembre 2010. Résumé publié dans le supplément de Nutrition clinique et métabolisme 2010. *Cah Nutr Diét* 2010; **45**:105-6.
- 90 Schraub S. Étude sociologique du recours aux médecines alternatives en cancérologie. *Médecine et Culture* 2009; **11**:2-10.
- 91 Simon L, Beretz A, Bagot JL, Lobstein A, Rubinstein I, Schraub S. Complementary and alternative medicines taken by cancer patients. *Bull Cancer* 2007; **94**:483-8.
- 92 American Institute for Cancer Research / World Cancer Research Fund. Food, Nutrition, Physical Activity and the Prevention of Cancer: a Global Perspective. Washington, DC: AICR; 2007, 517 pages.
- 93 World Cancer Research Fund / American Institute for Cancer Research. Systematic Literature Review - Continuous Update Project. The Associations between Food, Nutrition and Physical Activity and the Risk of Breast Cancer. 2008.
- 94 World Cancer Research Fund / American Institute for Cancer Research. Systematic Literature Review-Continuous Update Project. The Associations between Food, Nutrition and Physical Activity and the Risk of Colorectal Cancer. 2010.
- 95 World Cancer Research Fund / American Institute for Cancer Research. Systematic Literature Review-Continuous Update Project Report: The Associations between Food, Nutrition and Physical Activity and the Risk of Pancreatic Cancer. 2011.
- 96 World Cancer Research Fund / American Institute for Cancer Research. Systematic Literature Review-Continuous Update Project Report: The Associations between Food, Nutrition and Physical Activity and the Risk of Endometrial Cancer. 2012.
- 97 World Cancer Research Fund / American Institute for Cancer Research. Systematic Literature Review-Continuous Update Project Report: The Associations between Food, Nutrition and Physical Activity and the Risk of Ovarian Cancer. 2013.
- 98 Omenn GS, Goodman GE, Thornquist MD, et al. Effects of a combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. *N Engl J Med* 1996; **334**:1150-5.
- 99 Bardia A, Tleyjeh IM, Cerhan JR, et al. Efficacy of Antioxidant Supplementation in Reducing Primary Cancer Incidence and Mortality: Systematic Review and Meta-analysis. *Mayo Clin Proc* 2008; **83**:23-34.
- 100 Tanvetyanon T, Bepler G. Beta-carotene in multivitamins and the possible risk of lung cancer among smokers versus former smokers. *Cancer* 2008; **113**:150-7.
- 101 Bjelakovic G, Nikolova D, Simonetti RG, Gluud C. Antioxidant supplements for prevention of gastrointestinal cancers: a systematic review and meta-analysis. *Lancet* 2002; **364**:1219-28.
- 102 Aune D, Chan DS, Vieira AR, et al. Dietary compared with blood concentrations of carotenoids and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Am J Clin Nutr* 2012; **96**:356-73.

- 103 Jiang L, Yang Kh, Tian Jh, et al. Efficacy of Antioxidant Vitamins and Selenium Supplement in Prostate Cancer Prevention: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Nutr Cancer* 2010; **62**:719-27.
- 104 Stratton J, Godwin M. The effect of supplemental vitamins and minerals on the development of prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *Fam Pract* 2011; **28**:243-52.
- 105 Neuhouser ML, Barnett MJ, Kristal AR, et al. Dietary Supplement Use and Prostate Cancer Risk in the Carotene and Retinol Efficacy Trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; **18**:2202-6.
- 106 Ezzedine K, Latreille J, Kesse-Guyot E, et al. Incidence of skin cancers during 5-year follow-up after stopping antioxidant vitamins and mineral supplementation. *Eur J Cancer* 2010; **46**:3316-22.
- 107 Wright ME, Virtamo J, Hartman AM, et al. Effects of  $\alpha$ -tocopherol and  $\beta$ -carotene supplementation on upper aerodigestive tract cancers in a large, randomized controlled trial. *Cancer* 2007; **109**:891-8.
- 108 Lin J, Cook NR, Albert C, et al. Vitamins C and E and Beta Carotene Supplementation and Cancer Risk: A Randomized Controlled Trial. *J Nat Cancer Inst* 2009; **101**:14-23.
- 109 Li Q, Chuang SC, Eluf-Neto J, et al. Vitamin or mineral supplement intake and the risk of head and neck cancer: pooled analysis in the INHANCE consortium. *Int J Cancer* 2012; **131**:1686-99.
- 110 Paolini M, Abdel-Rahman S, Sapone A, et al. Beta-carotene: a cancer chemopreventive agent or a co-carcinogen? *Mutat Res* 2003; **543**:195-200.
- 111 Brambilla D, Mancuso C, Scuderi M, et al. The role of antioxidant supplement in immune system, neoplastic, and neurodegenerative disorders: a point of view for an assessment of the risk/benefit profile. *Nutr J* 2008; **7**:29.
- 112 NACRe, INCa, DGS. Nutrition et Prévention des cancers : des connaissances scientifiques aux recommandations. Boulogne-Billancourt : INCa, 2009.
- 113 Setchell KD. Phytoestrogens: the biochemistry, physiology, and implications for human health of soy isoflavones. *Am J Clin Nutr* 1998; **68**:1333S-46S.
- 114 Duffy C, Perez K, Partridge A. Implications of Phytoestrogen Intake for Breast Cancer. *CA Cancer J Clin* 2007; **57**:260-77.
- 115 Allred CD, Allred KF, Ju YH, Virant SM, Helferich WG. Soy Diets Containing Varying Amounts of Genistein Stimulate Growth of Estrogen-dependent (MCF-7) Tumors in a Dose-dependent Manner. *Cancer Res* 2001; **61**:5045-50.
- 116 Ju YH, Allred KF, Allred CD, Helferich WG. Genistein stimulates growth of human breast cancer cells in a novel, postmenopausal animal model, with low plasma estradiol concentrations. *Carcinogenesis* 2006; **27**:1292-9.
- 117 Liu B, Edgerton S, Yang X, et al. Low-Dose Dietary Phytoestrogen Abrogates Tamoxifen-Associated Mammary Tumor Prevention. *Cancer Res* 2005; **65**:879-86.
- 118 Constantinou AI, White BEP, Tonetti D, et al. The soy isoflavone daidzein improves the capacity of tamoxifen to prevent mammary tumours. *Eur J Cancer* 2005; **41**:647-54.

- 119 Ju Y, Doerge D, Woodling K, Hartman J, Kwak J, al. Dietary genistein negates the inhibitory effect of letrozole on the growth of aromatase-expressing estrogen-dependent human breast cancer cells (MCF-7Ca) in vivo. *Carcinogenesis* 2005; **29**:2162-8.
- 120 van Duursen MBM, Smeets EEJW, Rijk JCW, Nijmeijer SM, van den Berg M. Phytoestrogens in menopausal supplements induce ER-dependent cell proliferation and overcome breast cancer treatment in an in vitro breast cancer model. *Toxicol Appl Pharmacol* 2013; **269**:132-40.
- 121 Caan BJ, Natarajan L, Parker B, et al. Soy Food Consumption and Breast Cancer Prognosis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011; **20**:854-8.
- 122 Guha N, Kwan M, Quesenberry C, Weltzien E, Castillo A, Caan B. Soy isoflavones and risk of cancer recurrence in a cohort of breast cancer survivors: the Life After Cancer Epidemiology study. *Breast Cancer Res Treat* 2009; **118**:395-405.
- 123 Kang X, Zhang Q, Wang S, Huang X, Jin S. Effect of soy isoflavones on breast cancer recurrence and death for patients receiving adjuvant endocrine therapy. *CMAJ* 2010; **182**:1857-62.
- 124 Shu X, Zheng Y, Cai H, et al. Soy Food Intake and Breast Cancer Survival. *JAMA* 2009; **302**:2437-43.
- 125 Larsson SC, Akesson A, Bergkvist L, Wolk A. Multivitamin use and breast cancer incidence in a prospective cohort of Swedish women. *Am J Clin Nutr* 2010; **91**:1268-72.
- 126 Hercberg S, Galan P, Preziosi P, et al. The SU.VI.MAX study: a randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals. *Arch Intern Med* 2004; **164**:2335-42.
- 127 Hercberg S, Ezzedine K, Guinot C, et al. Antioxidant Supplementation Increases the Risk of Skin Cancers in Women but Not in Men. *J Nutr* 2007; **137**:2098-105.
- 128 Mursu J. Dietary supplements and mortality rate in older women: The iowa women's health study. *Arch Intern Med* 2011; **171**:1625-33.
- 129 Cauley JA, Chlebowski RT, Wactawski-Wende J, et al. Calcium Plus Vitamin D Supplementation and Health Outcomes Five Years After Active Intervention Ended: The Women's Health Initiative. *J Womens Health* 2013; **22**:915-29.
- 130 Touvier M, Kesse E, Volatier JL, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC. Dietary and cancer-related behaviors of vitamin/mineral dietary supplement users in a large cohort of French women. *Eur J Nutr* 2006; **45**:205-14.
- 131 Fortmann SP, Burda BU, Senger CA, Lin JS, Whitlock EP. Vitamin and mineral supplements in the primary prevention of cardiovascular disease and cancer: An updated systematic evidence review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med* 2013; **159**:824-34.
- 132 Vollset SE, Clarke R, Lewington S, et al. Effects of folic acid supplementation on overall and site-specific cancer incidence during the randomised trials: meta-analyses of data on 50000 individuals. *Lancet* 2013.
- 133 Qin X, Cui Y, Shen L, et al. Folic acid supplementation and cancer risk: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Int J Cancer* 2013; **133**:1033-41.

- 134 Duffield-Lillico AJ, Dalkin BL, Reid ME, et al. Selenium supplementation, baseline plasma selenium status and incidence of prostate cancer: an analysis of the complete treatment period of the Nutritional Prevention of Cancer Trial. *BJU Int* 2003; **91**:608-12.
- 135 Nicastro HL, Dunn BK. Selenium and Prostate Cancer Prevention: Insights from the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). *Nutrients* 2013; **5**:1122-48.
- 136 El-Bayoumy K, Chae YH, Upadhyaya P, et al. Comparative tumorigenicity of benzo[a]pyrene, 1-nitropyrene and 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine administered by gavage to female CD rats. *Carcinogenesis* 1995; **16**:431-4.
- 137 Genkinger JM, Koushnik A. Meat consumption and Cancer risk. *Plos Med* 2007; **4**:e345.
- 138 Ito N, Hasegawa R, Sano M, et al. A new colon and mammary carcinogen in cooked food, 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP). *Carcinogenesis* 1991; **12**:1503-6.
- 139 Lijinsky W. N-Nitroso compounds in the diet. *Mut Res* 1999; **443**:129-38.
- 140 Joosen AMCP, Kuhnle GGC, Aspinall SM, et al. Effect of processed and red meat on endogenous nitrosation and DNA damage. *Carcinogenesis* 2009; **30**:1402-7.
- 141 Santarelli RL, Vendevre JL, Naud N, et al. Meat processing and colon carcinogenesis: cooked, nitrite-treated, and oxidized high-heme cured meat promotes mucin-depleted foci in rats. *Cancer Prev Res (Phila Pa)* 2010; **3**:852-64.
- 142 Shirai T, Tamano S, Sano M, Masui T, Hasegawa R, Ito N. Carcinogenicity of 20-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5b]pyridine (PhIP) in rats: dose response studies. In: Heterocyclic amines in cooked foods: possible human carcinogens. Adamson R, Gustafsson JA, Ito N, Nagao M, Sugimura T, Wkabayashi K, et al., editors. Princeton, NJ: Princeton Scientific Publication Co; 1995.
- 143 Tricker A. N-nitroso compounds and man: sources of exposure, endogenous formation and occurrence in body fluids. *Eur J Cancer Prev* 1997; **6**:226-68.
- 144 Bastide NM, Pierre FHF, Corpet DE. Heme Iron from Meat and Risk of Colorectal Cancer: A Meta-analysis and a Review of the Mechanisms Involved. *Cancer Prev Res* 2011; **4**:177-84.
- 145 Santarelli RL, Pierre F, Corpet DE. Processed Meat and Colorectal Cancer: A Review of Epidemiologic and Experimental Evidence. *Nutr Cancer* 2008; **60**:131-44.
- 146 Tappel A. Heme of consumed red meat can act as a catalyst of oxidative damage and could initiate colon, breast and prostate cancers, heart disease and other diseases. *Med Hyp* 2007; **68**:562-4.
- 147 Genkinger J, Makambi K, Palmer J, Rosenberg L, Adams-Campbell L. Consumption of dairy and meat in relation to breast cancer risk in the Black Women's Health Study. *Cancer Causes Control* 2013; **24**:675-84.
- 148 Taylor V, Misra M, Mukherjee S. Is red meat intake a risk factor for breast cancer among premenopausal women? *Breast Cancer Res Treat* 2009; **117**:1-8.
- 149 Alexander DD, Morimoto LM, Mink PJ, Cushing CA. A review and meta-analysis of red and processed meat consumption and breast cancer. *Nutr Res Rev* 2010; **23**:349-65.



- 150 Hagiwara A, Boonyaphiphat P, Tanaka H, et al. Organ-dependent modifying effects of caffeine, and two naturally occurring antioxidants alpha-tocopherol and n-tritriacontane-16,18-dione, on 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP)-induced mammary and colonic carcinogenesis in female F344 rats. *Jpn J Cancer Res* 1999; **90**:399-405.
- 151 Hirose M, Akagi K, Hasegawa R, et al. Chemoprevention of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4, 5-b]-pyridine (PhIP)-induced mammary gland carcinogenesis by antioxidants in F344 female rats. *Carcinogenesis* 1995; **16**:217-21.
- 152 Hirose M, Nishikawa A, Shibutani M, Imai T, Shirai T. Chemoprevention of heterocyclic amine-induced mammary carcinogenesis in rats. *Environ Mol Mutagen* 2002; **39**:271-8.
- 153 Pauwels EK, Kairemo K. Fatty acid facts, part II: role in the prevention of carcinogenesis, or, more fish on the dish? *Drug News Perspect* 2008; **21**:504-10.
- 154 Larsson SC, Kumlin M, Ingelman-Sundberg M, Wolk A. Dietary long-chain n-3 fatty acids for the prevention of cancer: a review of potential mechanisms. *Am J Clin Nutr* 2004; **79**:935-45.
- 155 Welsch CW. Enhancement of mammary tumorigenesis by dietary fat; review of potential mechanisms. *Am J Clin Nutr* 1987; **45**:192-202.
- 156 Serini S, Fasano E, Piccioni E, Cittadini ARM, Calviello G. Dietary n-3 Polyunsaturated Fatty Acids and the Paradox of Their Health Benefits and Potential Harmful Effects. *Chem Res Toxicol* 2011; **24**:2093-105.
- 157 Bingham SA, Luben R, Welch A, Wareham N, Khaw KT, Day N. Are imprecise methods obscuring a relation between fat and breast cancer? *Lancet* 2003; **362**:212-4.
- 158 Arab L. Biomarkers of Fat and Fatty Acid Intake. *J Nutr* 2003; **133**:925S-32S.
- 159 Zock PL, Mensink RP, Harryvan J, de Vries JHM, Katan MB. Fatty Acids in Serum Cholesteryl Esters as Quantitative Biomarkers of Dietary Intake in Humans. *Am J Epidemiol* 1997; **145**:1114-22.
- 160 Byers T, Giesecker K. Issues in the design and interpretation of studies of fatty acids and cancer in humans. *Am J Clin Nutr* 1997; **66**:1541S-7S.
- 161 Saadatian-Elahi M, Norat T, Goudable JI, Riboli E. Biomarkers of dietary fatty acid intake and the risk of breast cancer: A meta-analysis. *Int J Cancer* 2004; **111**:584-91.
- 162 Takata Y, King I, Neuhaus M, et al. Association of serum phospholipid fatty acids with breast cancer risk among postmenopausal cigarette smokers. *Cancer Causes Control* 2009; **20**:497-504.
- 163 Rissanen H, Knekt P, Jarvinen R, Salminen I, Hakulinen T. Serum Fatty Acids and Breast Cancer Incidence. *Nutr Cancer* 2003; **45**:168-75.
- 164 Wirfalt E, Vessby B, Mattisson I, Gullberg B, Olsson H, Berglund G. No relations between breast cancer risk and fatty acids of erythrocyte membranes in postmenopausal women of the Malmo Diet Cancer cohort (Sweden). *Eur J Clin Nutr* 2004; **58**:761-70.

- 165 Cheng TYD, King IB, Barnett MJ, et al. Serum Phospholipid Fatty Acids, Genetic Variation in Myeloperoxidase, and Prostate Cancer Risk in Heavy Smokers: A Gene-Nutrient Interaction in the Carotene and Retinol Efficacy Trial. *Am J Epidemiol* 2013; **177**:1106-17.
- 166 Gann PH, Hennekens CH, Sacks FM, Grodstein F, Giovannucci EL, Stampfer MJ. Prospective Study of Plasma Fatty Acids and Risk of Prostate Cancer. *J Natl Cancer Inst* 1994; **86**:281-6.
- 167 Brasky TM, Till C, White E, et al. Serum Phospholipid Fatty Acids and Prostate Cancer Risk: Results From the Prostate Cancer Prevention Trial. *Am J Epidemiol* 2011; **173**:1429-39.
- 168 Chavarro JE, Stampfer MJ, Li H, Campos H, Kurth T, Ma J. A Prospective Study of Polyunsaturated Fatty Acid Levels in Blood and Prostate Cancer Risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007; **16**:1364-70.
- 169 Crowe FL, Allen NE, Appleby PN, et al. Fatty acid composition of plasma phospholipids and risk of prostate cancer in a case-control analysis nested within the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Am J Clin Nutr* 2008; **88**:1353-63.
- 170 Harvei S, Bjerve KS, Tretli S, Jellum E, Røsbjerg TE, Vatten L. Prediagnostic level of fatty acids in serum phospholipids: Om-3 and Om-6 fatty acids and the risk of prostate cancer. *Int J Cancer* 1997; **71**:545-51.
- 171 Park SY, Wilkens L, Henning S, et al. Circulating fatty acids and prostate cancer risk in a nested case-control study: the Multiethnic Cohort. *Cancer Causes Control* 2009; **20**:211-23.
- 172 Chajès V, Jenab M, Romieu I, et al. Plasma phospholipid fatty acid concentrations and risk of gastric adenocarcinomas in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-EURGAST). *Am J Clin Nutr* 2011; **94**:1304-13.
- 173 Kojima M, Wakai K, Tokudome S, et al. Serum Levels of Polyunsaturated Fatty Acids and Risk of Colorectal Cancer: A Prospective Study. *Am J Epidemiol* 2005; **161**:462-71.
- 174 Colas S, Germain E, Arab K, Maheo K, Goupille C, Bougnoux P.  $\alpha$ -Tocopherol Suppresses Mammary Tumor Sensitivity to Anthracyclines in Fish Oil-Fed Rats. *Nutr Cancer* 2005; **51**:178-83.
- 175 Nohl H, Rohr-Udilova N, Gille L, et al. Suppression of Tumour-promoting Factors in Fat-induced Colon Carcinogenesis by the Antioxidants Caroverine and Ubiquinone. *Anticancer Res* 2005; **25**:2793-800.
- 176 Welsch CW. Review of the effects of dietary fat on experimental mammary gland tumorigenesis: role of lipid peroxidation. *Free Radic Biol Med* 1995; **18**:757-73.
- 177 Verhoeven DTH, Assen N, Goldbohm RA, et al. Vitamins C and E, retinol, beta-carotene and dietary fibre in relation to breast cancer risk: a prospective cohort study. *Br J Cancer* 1997; **75**:149-55.
- 178 Michels KB, Holmberg L, Bergkvist L, Ljung H, Bruce A, Wolk A. Dietary antioxidant vitamins, retinol, and breast cancer incidence in a cohort of Swedish women. *Int J Cancer* 2001; **91**:563-7.
- 179 Thiébaud ACM, Chajès V, Gerber M, et al. Dietary intakes of Omega-6 and Omega-3 polyunsaturated fatty acids and the risk of breast cancer. *Int J Cancer* 2009; **124**:924-31.

- 180 Maññisto S, Pietinen P, Virtanen MJ, et al. Fatty Acids and Risk of Prostate Cancer in a Nested Case-Control Study in Male Smokers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003; **12**:1422-8.
- 181 Nkondjock A, Shatenstein B, Ghadirian P. A case-control study of breast cancer and dietary intake of individual fatty acids and antioxidants in Montreal, Canada. *Breast* 2003; **12**:128-35.
- 182 Namitha JJ, Negi PS. Chemistry and biotechnolgy of carotenoids. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2010; **50**:728-60.
- 183 Krinsky NI, Johnson EJ. Carotenoid actions and their relation to health and disease. *Mol Aspects Med* 2005; **26**:459-516.
- 184 Chatterjee M, Roy K, Janarthan M, Das S, Chatterjee M. Biological Activity of Carotenoids: Its Implications in Cancer Risk and Prevention. *Curr Pharm Biotech* 2013; **13**:180-90.
- 185 Eliassen AH, Hendrickson SJ, Brinton LA, et al. Circulating Carotenoids and Risk of Breast Cancer: Pooled Analysis of Eight Prospective Studies. *J Natl Cancer Inst* 2012; **104**:1905-16.
- 186 Beilby J, Ambrosini GL, Rossi E, de Klerk NH, Musk AW. Serum levels of folate, lycopene,  $\beta$ -carotene, retinol and vitamin E and prostate cancer risk. *Eur J Clin Nutr* 2010; **64**:1235-8.
- 187 Karppi J, Kurl S, Laukkanen JA, Kauhanen J. Serum Beta-Carotene in Relation to Risk of Prostate Cancer: The Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study. *Nutr Cancer* 2012; **64**:361-7.
- 188 Mondul AM, Watters JL, Maññisto S, et al. Serum Retinol and Risk of Prostate Cancer. *Am J Epidemiol* 2011; **173**:813-21.
- 189 Key TJ, Appleby PN, Allen NE, et al. Plasma carotenoids, retinol, and tocopherols and the risk of prostate cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition study. *Am J Clin Nutr* 2007; **86**:672-81.
- 190 Peters U, Leitzmann MF, Chatterjee N, et al. Serum Lycopene, Other Carotenoids, and Prostate Cancer Risk: a Nested Case-Control Study in the Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian Cancer Screening Trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007; **16**:962-8.
- 191 Wu K, Erdman JW, Schwartz SJ, et al. Plasma and Dietary Carotenoids, and the Risk of Prostate Cancer: A Nested Case-Control Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004; **13**:260-9.
- 192 Goodman GE, Schaffer S, Omenn GS, Chen C, King I. The Association between Lung and Prostate Cancer Risk, and Serum Micronutrients: Results and Lessons Learned from B-Carotene and Retinol Efficacy Trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003; **12**:518-26.
- 193 Kristal AR, Till C, Platz EA, et al. Serum Lycopene Concentration and Prostate Cancer Risk: Results from the Prostate Cancer Prevention Trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011; **20**:638-46.
- 194 Karppi J, Kurl S, Nurmi T, Rissanen TH, Pukkala E, Nyssönen K. Serum Lycopene and the Risk of Cancer: The Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor (KIHD) Study. *Ann Epidemiol* 2009; **19**:512-8.
- 195 Schenk JM, Riboli E, Chatterjee N, et al. Serum Retinol and Prostate Cancer Risk: a Nested Case-Control Study in the Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian Cancer Screening Trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; **18**:1227-31.

- 196 Kabat GC, Kim MY, Sarto GE, Shikany JM, Rohan TE. Repeated measurements of serum carotenoid, retinol and tocopherol levels in relation to colorectal cancer risk in the Women's Health Initiative. *Eur J Clin Nutr* 2012; **66**:549-54.
- 197 Abnet CC, Qiao YL, Dawsey SM, et al. Prospective study of serum retinol, beta-carotene, beta-cryptoxanthin, and lutein/zeaxanthin and esophageal and gastric cancers in China. *Cancer Causes Control* 2003; **14**:645-55.
- 198 Yuan JM, Ross RK, Gao Yt, Qu YH, Chu XD, Yu MC. Prediagnostic Levels of Serum Micronutrients in Relation to Risk of Gastric Cancer in Shanghai, China. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004; **13**:1772-80.
- 199 Jenab M, Riboli E, Ferrari P, et al. Plasma and dietary carotenoid, retinol and tocopherol levels and the risk of gastric adenocarcinomas in the European prospective investigation into cancer and nutrition. *Br J Cancer* 2006; **95**:406-15.
- 200 Wakai K, Suzuki K, Ito Y, et al. Serum Carotenoids, Retinol, and Tocopherols, and Colorectal Cancer Risk in a Japanese Cohort: Effect Modification by Sex for Carotenoids. *Nutr Cancer* 2005; **51**:13-24.
- 201 Malila N, Virtamo J, Virtanen M, Pietinen P, Albanes D, Teppo L. Dietary and serum alpha-tocopherol, beta-carotene and retinol, and risk for colorectal cancer in male smokers. *Eur J Clin Nutr* 2002; **56**:615-21.
- 202 Turner C, Bain C, Schluter PJ, et al. Cohort Profile: The Nurses and Midwives e-Cohort Study—A Novel Electronic Longitudinal Study. *Int J Epidemiol* 2009; **38**:53-60.
- 203 Smith B, Smith TC, Gray GC, Ryan MAK. When Epidemiology Meets the Internet: Web-based Surveys in the Millennium Cohort Study. *Am J Epidemiol* 2007; **166**:1345-54.
- 204 Russell CW, Boggs DA, Palmer JR, Rosenberg L. Use of a Web-based Questionnaire in the Black Women's Health Study. *Am J Epidemiol* 2010; **172**:1286-91.
- 205 Hercberg S, Castetbon K, Czernichow S, et al. The Nutrinet-Sante Study: a web-based prospective study on the relationship between nutrition and health and determinants of dietary patterns and nutritional status. *BMC Public Health* 2010; **10**:242.
- 206 Pizzi C, De Stavola BL, Pearce N, et al. Selection bias and patterns of confounding in cohort studies: the case of the NINFEA web-based birth cohort. *J Epidemiol Community Health* 2012; **66**:976-81.
- 207 Gallacher J, Collins R, Elliott P, et al. A Platform for the Remote Conduct of Gene-Environment Interaction Studies. *PLoS ONE* 2013; **8**:e54331.
- 208 Bajardi P, Vespignani A, Funk S, et al. Determinants of follow-up participation in the internet-based European Influenza surveillance platform Influenzanet. *J Med Internet Res* 2014; **16**:e78.
- 209 Formica M, Kabbara K, Clark R, McAlindon T. Can clinical trials requiring frequent participant contact be conducted over the Internet? Results from an online randomized controlled trial evaluating a topical ointment for herpes labialis. *J Med Internet Res* 2004; **6**:e6.
- 210 Gray G, Chesbrough K, Ryan M, et al. The millennium Cohort Study: a 21-year prospective cohort study of 140,000 military personnel. *Mil Med* 2002; **167**:483-8.

- 211 McAlindon T, Formica M, Kabbara K, LaValley M, Lehmer M. Conducting clinical trials over the internet: feasibility study. *BMJ* 2003; **327**:484-7.
- 212 Link M, Mokdad A. Alternative Modes for Health Surveillance Surveys: An Experiment with Web, Mail, and Telephone. *Epidemiology* 2005; **16**:701-4.
- 213 Ekman A, Litton JE. New times, new needs; e-epidemiology. *Eur J Epidemiol* 2007; **22**:285-92.
- 214 Schatzkin A, Subar A, Moore S, et al. Observational epidemiologic studies of nutrition and cancer: the next generation (with better observation). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; **18**:1026-32.
- 215 United States Census Bureau. Computer and Internet Access in the United States: 2012. 2014. <https://www.census.gov/hhes/computer/>.
- 216 GfK/Médiamétrie. Référence des Equipements Multimédias - 3ème trimestre 2013. 2014. <http://www.gfk.com/fr/news-and-events/press-room/press-releases/pages/gfkm%C3%A9diam%C3%A9trie-r%C3%A9f%C3%A9rence-des-equipements-multim%C3%A9dias-3%C3%A8me-trimestre-2013.aspx>.
- 217 INSEE (Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques). L'internet de plus en plus prisé, l'internaute de plus en plus mobile. 2014. [http://www.insee.fr/fr/themes/document.asp?ref\\_id=ip1452](http://www.insee.fr/fr/themes/document.asp?ref_id=ip1452).
- 218 Mathew M, Morrow JR, Frierson GM, Bain TM. Assessing Digital Literacy in Web-Based Physical Activity Surveillance: The WIN Study. *Am J Health Promot* 2011; **26**:90-5.
- 219 van Gelder MMHJ, Bretveld RW, Roeleveld N. Web-based Questionnaires: The Future in Epidemiology? *Am J Epidemiol* 2010; **172**:1292-8.
- 220 Ekman A, Klint Å, Dickman P, Adami HO, Litton JE. Optimizing the design of web-based questionnaires : experience from a population-based study among 50,000 women. *Eur J Epidemiol* 2007; **22**:293-300.
- 221 Casey TW, Poropat A. Beauty is more than screen deep: Improving the web survey respondent experience through socially-present and aesthetically-pleasing user interfaces. *Comput Hum Behav* 2014; **30**:153-63.
- 222 Craig CL MASM. International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. *Med Sci Sports Exerc* 2003; **35**:1381-95.
- 223 Vergnaud AC, Touvier M, Méjean C, et al. Agreement between web-based and paper versions of a socio-demographic questionnaire in the NutriNet-Santé study. *Int J Public Health* 2011; **56**:407-17.
- 224 Touvier M, Mejean C, Kesse-Guyot E, et al. Comparison between web-based and paper versions of a self-administered anthropometric questionnaire. *Eur J Epidemiol* 2010; **25**:287-96.
- 225 WHO. ICD-10, International classification of diseases and related health problems.10th revision. Geneva,Switzerland: World Health Organization, 1993.
- 226 Hercberg S, Deheeger M, Preziosi P. SU.VI.MAX Portions alimentaires manuel-photos pour l'estimation des quantités. Paris: Editions polytechnica, 2002, pages.

- 227 Hercberg S. Table de composition des aliments-NutriNet-Santé. Paris: Editions Économica, 2013, pages.
- 228 Touvier M, Kesse-Guyot E, Mejean C, et al. Comparison between an interactive web-based self-administered 24 h dietary record and an interview by a dietitian for large-scale epidemiological studies. *Br J Nutr* 2011; **105**:1055-64.
- 229 Medication database for the French market VIDAL. 2014 [www.evidal.fr](http://www.evidal.fr).
- 230 Black AE. Critical evaluation of energy intake using the Goldberg cut-off for energy intake:basal metabolic rate. A practical guide to its calculation, use and limitations. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000; **24**:1119-30.
- 231 Carriquiry AL. Assessing the prevalence of nutrient inadequacy. *Public Health Nutr* 1999; **2**:23-33.
- 232 National Research Council. Nutrient adequacy : assessment using food consumption surveys, Subcommittee on Criteria for Dietary Evaluation. Washington, D.C: The National Academies Press, 1986.
- 233 Nusser SM, Carriquiry AL, Dodd KW, Fuller WA. A Semiparametric Transformation Approach to Estimating Usual Daily Intake Distributions. *J Am Stati Assoc* 1996; **91**:1440-9.
- 234 Touvier M, Dufour A, Gourillon S, Potier de Courcy G, Volatier JL, Martin A. Les forts consommateurs de compléments alimentaires en France : résultats de l'enquête ECCA. *Cah Nutr Diét* 2003; **38**:187-94.
- 235 EFSA Panel on Dietetic Products NaAN. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to magnesium and "hormonal health" (ID 243), reduction of tiredness and fatigue (ID 244), contribution to normal psychological functions (ID 245, 246), maintenance of normal blood glucose concentrations (ID 342), maintenance of normal blood pressure (ID 344, 366, 379), protection of DNA, proteins and lipids from oxidative damage (ID 351), maintenance of the normal function of the immune system (ID 352), maintenance of normal blood pressure during pregnancy (ID 367), resistance to mental stress (ID 375, 381), reduction of gastric acid levels (ID 376), maintenance of normal fat metabolism (ID 378) and maintenance of normal muscle contraction (ID 380, ID 3083) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *Efsa journal* 2010; **8(10)**:1-35.
- 236 EFSA Panel on Dietetic Products NaAN. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to vitamin B6 and contribution to normal homocysteine metabolism (ID 73, 76, 199), maintenance of normal bone (ID 74), maintenance of normal teeth (ID 74), maintenance of normal hair (ID 74), maintenance of normal skin (ID 74), maintenance of normal nails (ID 74), contribution to normal energy-yielding metabolism (ID 75, 214), contribution to normal psychological functions (ID 77), reduction of tiredness and fatigue (ID 78), and contribution to normal cysteine synthesis (ID 4283) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *Efsa journal* 2010; **8(10)**:1-35.
- 237 EFSA Panel on Dietetic Products NaAN. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to vitamin C and reduction of tiredness and fatigue (ID 139, 2622), contribution to normal psychological functions (ID 140), regeneration of the reduced form of vitamin E (ID 202), contribution to normal energy-yielding metabolism (ID 2334, 3196), maintenance of the normal function of the immune system (ID 4321) and protection of DNA, proteins and lipids

- from oxidative damage (ID 3331) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *Efsa journal* 2010; **8(10)**:1-20.
- 238 Touvier M, Boutron-Ruault MC, Volatier JL, Martin A. Efficacy and safety of regular vitamin and mineral supplement use in France: results from the ECCA study. *Int J Vitam Nutr Res* 2005; **75**:201-9.
- 239 Jeon YJ, Myung SK, Lee EH, al. Effects of Beta-Carotene Supplements on Cancer Prevention: Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Nutr Cancer* 2011; **63**:1196-207.
- 240 Ventola C. Current Issues Regarding Complementary and Alternative Medicine (CAM) in the United States. *Pharma Therap* 2010; **35**:461-8.
- 241 Ministère de l'Emploi du Travail et de la Santé, INSERM. Enquête Nationale Périnatale 2010. Les naissances en 2010 et leur évolution depuis 2003. 2011.
- 242 Barbour RS, Macleod M, Mires G, Anderson AS. Uptake of folic acid supplements before and during pregnancy: focus group analysis of women s views and experiences. *J Hum Nutr Diet* 2012; **25**:140-7.
- 243 Berry RJ, Bailey L, Mulinare J, Bower C, Folic Acid Working Group. Fortification of flour with folic acid. *Food Nutr Bull* 2010; S22-35.
- 244 Knudsen VK, Hansen HS, Ovesen L, Mikkelsen TB, Olsen SuF. Iron supplement use among Danish pregnant women. *Public Health Nutr* 2007; **10**:1104-10.
- 245 WHO/UNICEF. Reaching Optimal Iodine Nutrition in Pregnant and Lactating Women and Young Children. Geneva: WHO, 2007.
- 246 Miller PE, Vasey JJ, Short PF, Hartman TJ. Dietary supplement use in adult cancer survivors. *Oncol Nurs Forum* 2009; **36**:61-8.
- 247 Velentzis L, Keshtgar M, Woodside J, et al. Significant changes in dietary intake and supplement use after breast cancer diagnosis in a UK multicentre study. *Breast Cancer Res Treat* 2011; **128**:473-82.
- 248 Patterson RE, Neuhouser ML, Hedderson MM, Schwartz SM, Standish LJ, Bowen DJ. Changes in diet, physical activity, and supplement use among adults diagnosed with cancer. *J Am Diet Assoc* 2003; **103**:323-8.
- 249 Wiygul JB, Evans BR, Peterson BL, et al. Supplement use among men with prostate cancer. *Urology* 2005; **66**:161-6.
- 250 Osian SR, Leal AD, Allmer C, et al. Widespread Use of Complementary and Alternative Medicine (CAM) among Non-Hodgkin Lymphoma (NHL) Survivors. *Leuk Lymphoma* 2014; 1-32.
- 251 Limburg C, Maxwell C, Mautner B. Prevention and Treatment of Bone Loss in Patients With Nonmetastatic Breast or Prostate Cancer Who Receive Hormonal Ablation Therapy. *Clin J Oncol Nurs* 2014; **18**:223-30.
- 252 Tsui B, Dennehy CE, Tsourounis C. A survey of dietary supplement use during pregnancy at an academic medical center. *Am J Obstet Gynecol* 2001; **185**:433-7.

- 253 Hall JD, Bissonette EA, Boyd JC, Theodorescu D. Motivations and influences on the use of complementary medicine in patients with localized prostate cancer treated with curative intent: results of a pilot study. *BJU Int* 2003; **91**:603-7.
- 254 Satia-Abouta J, Kristal AR, Patterson RE, Littman AJ, Stratton KL, White E. Dietary supplement use and medical conditions: the VITAL study. *Am J Prev Med* 2003; **24**:43-51.
- 255 Mileva-Peceva R, Zafirova-Ivanovska B, Milev M., al. Sociodemographic predictors and reasons for vitamin and/or mineral food supplement use in a group of outpatients in Skopje. *Contributions, Sec Biol Med Sci MASA* 2011; **32**:127-39.
- 256 Murphy SP, Poos MI. Dietary Reference Intakes: summary of applications in dietary assessment. *Public Health Nutr* 2002; **5**:843-9.
- 257 Gardiner P, Kemper KJ, Legedza A, al. Factors associated with herb and dietary supplement use by young adults in the United States. *BMC Complement Altern Med* 2007; **7**:39.
- 258 Bailey RL, Fulgoni VL, III, Keast DR, al. Dietary supplement use is associated with higher intakes of minerals from food sources. *Am J Clin Nutr* 2011; **94**:1376-81.
- 259 Mullie P, Clarys P, Hulens M, et al. Socioeconomic, health, and dietary determinants of multivitamin supplements use in Belgium. *Int J Public Health* 2011; **56**:289-94.
- 260 Zetstra-van der Woude P, de Walle HEK, de Jong-van den Berg L. Periconceptional folic acid use: Still room to improve. *Birth Defects Res Part A: Clin Mol Teratol* 2012; **94**:96-101.
- 261 Hanson M, Gluckman P, Ma R, Matzen P, Biesma R. Early life opportunities for prevention of diabetes in low and middle income countries. *BMC Public Health* 2012; **12**:1025.
- 262 Walshe R, James EL, Macdonald-Wicks L, et al. Socio-demographic and medical correlates of the use of biologically based complementary and alternative medicines amongst recent Australian cancer survivors. *Prev Med* 2012; **54**:23-6.
- 263 Gahche J, Bailey R, Burt V, al. Dietary supplement use among U.S. adults has increased since NHANES III (1988-1994). *NCHS Data Brief* 2011; 1-8.
- 264 Shakur YA, Tarasuk V, Corey P, al. A Comparison of Micronutrient Inadequacy and Risk of High Micronutrient Intakes among Vitamin and Mineral Supplement Users and Nonusers in Canada. *J Nutr* 2012; **142**:534-40.
- 265 Vujkovic M, Steegers EA, Looman CW, Ocké MC, van der Spek PJ, Steegers-Theunissen RP. The maternal Mediterranean dietary pattern is associated with a reduced risk of spina bifida in the offspring. *BJOG* 2009; **116**:408-15.
- 266 Inoue-Choi M, Greenlee H, Oppeneer SJ, Robien K. The Association between Postdiagnosis Dietary Supplement Use and Total Mortality Differs by Diet Quality among Older Female Cancer Survivors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2014; **23**:865-75.
- 267 Palmer ME, Haller C, McKinney PE, et al. Adverse events associated with dietary supplements: an observational study. *Lancet* 2003; **361**:101-6.



- 268 Maillot M, Vieux F, Ferguson EF, Volatier JL, Amiot MJp, Darmon N. To Meet Nutrient Recommendations, Most French Adults Need to Expand Their Habitual Food Repertoire. *J Nutr* 2009; **139**:1721-7.
- 269 Buehler BA. Interactions of herbal products with conventional medicines and potential impact on pregnancy. *Birth Defects Res Part B: Dev Reprod Tox* 2003; **68**:494-5.
- 270 European Food Safety Authority. Tolerable Upper Intake levels For Vitamins and Minerals by the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA) and Scientific Committee on Food (SCF). 2006. <http://www.efsa.europa.eu/en/ndatopics/docs/ndatolerableuil.pdf>.
- 271 Galea S, Tracy M. Participation Rates in Epidemiologic Studies. *Ann Epidemiol* 2007; **17**:643-53.
- 272 Rothman K, Greenland S, Lash T. Modern epidemiology. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2008, 851 pages.
- 273 Bailey RL, Gahche JJ, Lentino CV, al. Dietary supplement use in the United States, 2003-2006. *J Nutr* 2011; **141**:261-6.
- 274 Giammarioli S, Boniglia C, Carratù B, et al. Use of food supplements and determinants of usage in a sample Italian adult population. *Pub Health Nutr* 2013; **16**:1768-81.
- 275 Kim J, Lee JS, Shin A, et al. Sociodemographic and lifestyle factors are associated with the use of dietary supplements in a Korean population. *J Epidemiol* 2010; **20**:197-203.
- 276 Foote JA, Murphy SP, Wilkens LR, Hankin JH, Henderson BE, Kolonel LN. Factors Associated with Dietary Supplement Use among Healthy Adults of Five Ethnicities. *Am J Epidemiol* 2003; **157**:888-97.
- 277 Ma Y, Olendzki BC, Pagoto SL, et al. Number of 24-Hour Diet Recalls Needed to Estimate Energy Intake. *Ann Epidemiol* 2009; **19**:553-9.
- 278 Le Moullec N, Deheeger M, Preziosi P, et al. Validation du manuel photos utilisé pour l'enquête alimentaire SU.VI.MAX. [Validation of the food portion size booklet used in the SU.VI.MAX study]. *Cah Nutr Diét* 1996; **31**:158-64.
- 279 Hercberg S. Table de Composition SU.VI.MAX des Aliments. Paris: Les éditions INSERM/Economica, 2005, 182 pages.
- 280 Steghens JP, van Kappel AL, Riboli E, Collombel C. Simultaneous measurement of seven carotenoids, retinol and alpha-tocopherol in serum by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 1997; **694**:71-81.
- 281 Sinha R, Knize MG, Salmon CP, et al. Heterocyclic amine content of pork products cooked by different methods and to varying degrees of doneness. *Food Chem Toxicol* 1998; **36**:289-97.
- 282 Kim J-O, Mueller C. Factor Analysis: Statistical Methods and Practical Issues. Thousand Oaks, CA: Sage Publications, 1978, 88 pages.
- 283 Linseisen J, Kesse E, Slimani N, et al. Meat consumption in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) cohorts: results from 24-hour dietary recalls. *Public Health Nutr* 2002; **5**:1243-58.

- 284 Daniel CR, Cross AJ, Koebnick C, Sinha R. Trends in meat consumption in the United States. *Public Health Nutr* 2011; **14**:575-83.
- 285 Linos E, Willett WC, Cho E, Colditz G, Frazier LA. Red Meat Consumption during Adolescence among Premenopausal Women and Risk of Breast Cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008; **17**:2146-51.
- 286 Steck S, Gaudet M, Eng S, et al. Cooked Meat and Risk of Breast Cancer—Lifetime Versus Recent Dietary Intake. *Epidemiology* 2007; **18**:373-82.
- 287 Wu K, Sinha R, Holmes MD, Giovannucci E, Willett W, Cho E. Meat Mutagens and Breast Cancer in Postmenopausal Women—A Cohort Analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; **19**:1301-10.
- 288 Thiébaud ACM, Kipnis V, Chang SC, et al. Dietary Fat and Postmenopausal Invasive Breast Cancer in the National Institutes of Health-AARP Diet and Health Study Cohort. *JNCI* 2007; **99**:451-62.
- 289 Kazerouni N, Sinha R, Hsu CH, Greenberg A, Rothman N. Analysis of 200 food items for benzo[a]pyrene and estimation of its intake in an epidemiologic study. *Food Chem Toxicol* 2001; **39**:423-36.
- 290 Knize MG, Sinha R, Salmon CP, et al. Formation of heterocyclic amine mutagens/carcinogens during cooking of muscle meat. *J Muscle Foods* 1996; **7**:271-9.
- 291 Zheng W, Sang-Ah L. Well-done Meat Intake, Heterocyclic Amine Exposure, and Cancer Risk. *Nutr Cancer* 2009; **61**:437-46.
- 292 Mordukhovich I, Rossner P, Terry M, et al. Associations between Polycyclic Aromatic Hydrocarbon-Related Exposures and p53 Mutations in Breast Tumors. *Environ Health Perspect* 2009; **118**:511-8.
- 293 Bonner MR, Han D, Nie J, et al. Breast Cancer Risk and Exposure in Early Life to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Using Total Suspended Particulates as a Proxy Measure. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; **14**:53-60.
- 294 Gammon MD, Santella RM, Neugut AI, et al. Environmental Toxins and Breast Cancer on Long Island. I. Polycyclic Aromatic Hydrocarbon DNA Adducts. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002; **11**:677-85.
- 295 Rundle A, Tang D, Hibshoosh H, et al. The relationship between genetic damage from polycyclic aromatic hydrocarbons in breast tissue and breast cancer. *Carcinogenesis* 2000; **21**:1281-9.
- 296 Sinha R, Gustafson DR, Kulldorff M, Wen WQ, Cerhan JR, Zheng W. 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine, a Carcinogen in High-Temperature-Cooked Meat, and Breast Cancer Risk. *J Natl Cancer Inst* 2000; **92**:1352-4.
- 297 Egeberg R, Olsen A, Autrup H, et al. Meat consumption, N-acetyl transferase 1 and 2 polymorphism and risk of breast cancer in Danish postmenopausal women. *Eur J Cancer Prev* 2008; **17**:39-47.

- 298 Pierre F, Taché S, Petit CR, Van der Meer R, Corpet DE. Meat and cancer: haemoglobin and haemin in a low-calcium diet promote colorectal carcinogenesis at the aberrant crypt stage in rats. *Carcinogenesis* 2003; **24**:1683-90.
- 299 Pierre F, Martin O, Santarelli RL, et al. Calcium and  $\alpha$ -tocopherol suppress cured-meat promotion of chemically induced colon carcinogenesis in rats and reduce associated biomarkers in human volunteers. *Am J Clin Nutr* 2013; **98**:1255-62.
- 300 Mirvish SS. Effects of vitamins C and E on N-nitroso compound formation, carcinogenesis, and cancer. *Cancer* 1986; **58**:1842-50.
- 301 Loh YH, Jakszyn P, Luben RN, Mulligan AA, Mitrou PN, Khaw KT. N-nitroso compounds and cancer incidence: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) Norfolk Study. *Am J Clin Nutr* 2011; **93**:1053-61.
- 302 Wang X, Lin H, Gu Y. Multiple roles of dihomo-gamma-linolenic acid against proliferation diseases. *Lipids Health Dis* 2012; **11**:25.
- 303 Menendez JA, Ropero S, Mehmi I, Atlas E, Colomer R, Lupu R. Overexpression and hyperactivity of breast cancer-associated fatty acid synthase (oncogenic antigen-519) is insensitive to normal arachidonic fatty acid-induced suppression in lipogenic tissues but it is selectively inhibited by tumoricidal  $\gamma$ -linolenic and  $\delta$ -linolenic fatty acids: A novel mechanism by which dietary fat can alter mammary tumorigenesis. *Int J Oncol* 2004; **24**:1369-83.
- 304 Hammarstrom S. Conversion of 5,8,11-eicosatrienoic acid to leukotrienes C3 and D3. *J Biol Chem* 1981; **256**:2275-9.
- 305 Jakschik BA, Morrison AR, Sprecher H. Products derived from 5,8,11-eicosatrienoic acid by the 5-lipoxygenase-leukotriene pathway. *J Biol Chem* 1983; **258**:12797-800.
- 306 Rose DP. Effects of dietary fatty acids on breast and prostate cancers: evidence from in vitro experiments and animal studies. *Am J Clin Nutr* 1997; **66**:1513S-22S.
- 307 Comba A, Lin YH, Eynard A, Valentich M, Fernandez-Zapico Mn, Pasqualini Ma. Basic aspects of tumor cell fatty acid-regulated signaling and transcription factors. *Cancer Metastasis Rev* 2011; **30**:325-42.
- 308 Simonsen NR, Fernandez-Crehuet Navajas J, Martin-Moreno JM, et al. Tissue stores of individual monounsaturated fatty acids and breast cancer: the EURAMIC study. European Community Multicenter Study on Antioxidants, Myocardial Infarction, and Breast Cancer. *Am J Clin Nutr* 1998; **68**:134-41.
- 309 Bassett JK, Severi G, Hodge AM, et al. Plasma phospholipid fatty acids, dietary fatty acids and prostate cancer risk. *Int J Cancer* 2013; **133**:1881-91.
- 310 Wakil SJ, Stoops JK, Joshi VC. Fatty Acid Synthesis and its Regulation. *Annu Rev Biochem* 1983; **52**:537-79.
- 311 Food and Agriculture Organization of the United Nations Food and Nutrition. Fats and fatty acids in human nutrition: report of an expert consultation. Geneva: FAO, 2010.

- 312 Chajès V, Joulin V, Clavel-Chapelon F. The fatty acid desaturation index of blood lipids, as a biomarker of hepatic stearyl-CoA desaturase expression, is a predictive factor of breast cancer risk. *Curr Opin Lipidol* 2011; **22**:6-10.
- 313 Marino M, Ascenzi P. Membrane association of estrogen receptor  $\alpha$  and  $\beta$  influences 17 $\beta$ -estradiol-mediated cancer cell proliferation. *Steroids* 2008; **73**:853-8.
- 314 Wakai K, Tamakoshi K, Date C, et al. Dietary intakes of fat and fatty acids and risk of breast cancer: A prospective study in Japan. *Cancer Sci* 2005; **96**:590-9.
- 315 Kuriki K, Hirose K, Wakai K, et al. Breast cancer risk and erythrocyte compositions of n-3 highly unsaturated fatty acids in Japanese. *Int J Cancer* 2007; **121**:377-85.
- 316 Chajès V, Thiébaud ACM, Rotival M, et al. Association between Serum trans-Monounsaturated Fatty Acids and Breast Cancer Risk in the E3N-EPIC Study. *Am J Epidemiol* 2008; **167**:1312-20.
- 317 Colas S, Mahéo K, Denis F, et al. Sensitization by Dietary Docosahexaenoic Acid of Rat Mammary Carcinoma to Anthracycline: A Role for Tumor Vascularization. *Clin Cancer Res* 2006; **12**:5879-86.
- 318 Pala V, Krogh V, Muti P, et al. Erythrocyte Membrane Fatty Acids and Subsequent Breast Cancer: a Prospective Italian Study. *J Natl Cancer Inst* 2001; **93**:1088-95.
- 319 Hultén K, Van Kappel A, Winkvist A, et al. Carotenoids, alpha-tocopherols, and retinol in plasma and breast cancer risk in northern Sweden. *Cancer Causes Control* 2001; **12**:529-37.
- 320 Cui Y, Lu Z, Bai L, Shi Z, Zhao We, Zhao B.  $\beta$ -Carotene induces apoptosis and up-regulates peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  expression and reactive oxygen species production in MCF-7 cancer cells. *Eur J Cancer* 2007; **43**:2590-601.
- 321 Hua S, Kittler R, White KP. Genomic antagonism between retinoic acid and estrogen signaling in breast cancer. *Cell* 2009; **137**:1259-71.
- 322 Tang XY, Gudas LJ. Retinoids, retinoic acid receptors and cancer. *Annu Rev Pathol* 2011; **6**:64.
- 323 Tanaka T, Sugiura H, Inaba R, et al. Immunomodulatory action of citrus auraptene on macrophage functions and cytokine production of lymphocytes in female BALB/c mice. *Carcinogenesis* 1999; **20**:1471-6.
- 324 Kabat GC, Kim M, Adams-Campbell LL, et al. Longitudinal study of serum carotenoid, retinol, and tocopherol concentrations in relation to breast cancer risk among postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 2009; **90**:162-9.
- 325 Maillard V, Kuriki K, Lefebvre B, et al. Serum carotenoid, tocopherol and retinol concentrations and breast cancer risk in the E3N-EPIC study. *Int J Cancer* 2010; **127**:1188-96.
- 326 Gonzalez CA, Lujan-Barroso L, Bueno-de-Mesquita HB, et al. Fruit and vegetable intake and the risk of gastric adenocarcinoma: A reanalysis of the european prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC-EURGAST) study after a longer follow-up. *Int J Cancer* 2012; **131**:2910-9.
- 327 Ruh MF, Zacharewski T, Connor K, Howell J, Chen I, Safe S. Naringenin: A weakly estrogenic bioflavonoid that exhibits antiestrogenic activity. *Biochem Pharmacol* 1995; **50**:1485-93.

- 328 Tanaka T, Schnimizu M, Moriwaki H. Cancer Chemoprevention by Carotenoids. *Molecules* 2012; **17**:3202-42.
- 329 Faure H, Fayol V, Galabert C, et al. Carotenoids: 1. metabolism and physiology. *Ann Biol Clin (Paris)* 1999; **57**:169-83.
- 330 Lorenzo Y, Azqueta A, Luna L, Bonilla F, Dominguez G, Collins AR. The carotenoid  $\beta$ -cryptoxanthin stimulates the repair of DNA oxidation damage in addition to acting as an antioxidant in human cells. *Carcinogenesis* 2009; **30**:308-14.
- 331 Chaitey Y, Gruber SB, Ben-Amotz A, et al. Smoking attenuates the negative association between carotenoids consumption and colorectal cancer risk. *Cancer Causes Control* 2009; **20**:1327-38.
- 332 Park SY, Nomura A, Murphy SP, Wilkens LR, Henderson BE, Kolonel LN. Carotenoid Intake and colorectal Cancer Risk: The Multiethnic Cohort Study. *J Epidemiol* 2009; **19**:63-71.
- 333 Key T, Appleby P, Travis R, et al. Carotenoids, retinol, tocopherols and prostate cancer risk: pooled analysis of 15 studies. 2014; Soumis.
- 334 Nagao A. Oxidative Conversion of Carotenoids to Retinoids and Other Products. *J Nutr* 2004; **134**:237S-40S.
- 335 Yeh SL, Hu ML. Antioxidant and pro-oxidant effects of lycopene in comparison with  $\beta$ -carotene on oxidant-induced damage in Hs68 cells. *J Nutr Biochem* 2000; **11**:548-54.
- 336 Yeh SL, Hu ML, Huang CS. Lycopene enhances UVA-induced DNA damage and expression of heme oxygenase-1 in cultured mouse embryo fibroblasts. *Eur J Nutr* 2005; **44**:365-70.
- 337 Yeh S, Hu ML. Induction of oxidative DNA damage in human foreskin fibroblast Hs68 cells by oxidized beta-Carotene and lycopene. *Free Radic Res* 2001; **35**:203-13.
- 338 Hwang ES, Bowen PE. Effects of lycopene and tomato paste extracts on DNA and lipid oxidation in LNCaP human prostate cancer cells. *Biofactors* 2005; **23**:97-105.
- 339 Napolitano M, De Pascale C, Wheeler-Jones C, Botham KM, Bravo E. Effects of lycopene on the induction of foam cell formation by modified LDL. *Am J Physiol* 2007; **293**:E1820-E1827.
- 340 Veeramachaneni S, Ausman LM, Choi SW, Russell RM, Wang XD. High Dose Lycopene Supplementation Increases Hepatic Cytochrome P450E1 Protein and Inflammation in Alcohol-Fed Rats. *J Nutr* 2008; **138**:1329-35.
- 341 Guttenplan JB, Chen M, Kosinska W, Thompson S, Zhao Z, Cohen LA. Effects of a lycopene-rich diet on spontaneous and benzo[a]pyrene-induced mutagenesis in prostate, colon and lungs of the *lacZ* mouse. *Cancer Letters* 2001; **164**:1-6.
- 342 Dingley KH, Ubick EA, Chiarappa-Zucca ML, et al. Effect of Dietary Constituents With Chemopreventive Potential on Adduct Formation of a Low Dose of the Heterocyclic Amines PhIP and IQ and Phase II Hepatic Enzymes. *Nutr Cancer* 2003; **46**:212-21.
- 343 Susuki K, Ito Y, Hashimoto S, et al. Association of serum retinol and carotenoids with insulin-like growth factors and insulin-like growth factor binding protein-3 among control subjects of a nested case-control study in the Japan Collaborative Cohort Study. *Asian Pac J Cancer Prev* 2009; **10**:Suppl : 29-35.

- 344 King IB, Kristal AR, Schaffer S, Thornquist M, Goodman GE. Serum Trans-Fatty Acids Are Associated with Risk of Prostate Cancer in  $\beta$ -Carotene and Retinol Efficacy Trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; **14**:988-92.
- 345 Eurostat. Digital Agenda Scoreboard: France : Internet usage and digital skills - 2013 Report. 2013. <https://ec.europa.eu/digital-agenda/en/scoreboard/france>.
- 346 CREDOC (Centre de Recherche pour l'Etude et l'Observation des Conditions de vie). Enquête « Conditions de vie et Aspirations des Français » La diffusion des technologies de l'information et de la communication dans la société française. 2012. [http://www.arcep.fr/uploads/tx\\_gspublication/etude-credoc-2008-101208.pdf](http://www.arcep.fr/uploads/tx_gspublication/etude-credoc-2008-101208.pdf).
- 347 Eurostat. Individuals' level of computer skills. 2014. [http://appsso.eurostat.ec.europa.eu/nui/show.do?dataset=isoc\\_sk\\_cskl\\_i&lang=en](http://appsso.eurostat.ec.europa.eu/nui/show.do?dataset=isoc_sk_cskl_i&lang=en).
- 348 Eurostat. Individuals' level of Internet skills. 2014. [http://appsso.eurostat.ec.europa.eu/nui/show.do?dataset=isoc\\_sk\\_iskl\\_i&lang=en](http://appsso.eurostat.ec.europa.eu/nui/show.do?dataset=isoc_sk_iskl_i&lang=en).
- 349 U.S Census Bureau and U.S.Department of Commerce Economics and Statistics Administration. Computer and Internet Use in the United States, by Thomas File. 2013. [www.census.gov/prod/2013pubs/p20-569.pdf](http://www.census.gov/prod/2013pubs/p20-569.pdf).
- 350 Diment K, Garrett-Jones S. How Demographic Characteristics Affect Mode Preference in a Postal/Web Mixed-Mode Survey of Australian Researchers. *Soc Sci Comput Rev* 2007; **25**:410-7.
- 351 Shih T, Fan X. Response Rates and Mode Preferences in Web-Mail Mixed-Mode Surveys: A Meta-Analysis. *Int J Internet Science* 2007; **2**:59-82.
- 352 Olson K, Smyth JD, Wood HM. Does Giving People Their Preferred Survey Mode Actually Increase Survey Participation Rates? An Experimental Examination. *Public Opin Q* 2012; **76**:611-35.
- 353 Millar, MM, O'Neill, AC, Dillman, DA, and Social and Economic Sciences Research Center. Are Mode Preferences Real? 2009. <http://www.sesrc.wsu.edu/dillman/papers/2009/Tech%20Report%20FINAL%20Feb%2023.pdf>.
- 354 Deloitte. Etude sur les usages mobiles 2013. 2013. [http://www.deloitterecrite.fr/sites/www.deloitterecrite.fr/files/etude/1685/etude\\_sur\\_les\\_usages\\_mobiles\\_2013.pdf](http://www.deloitterecrite.fr/sites/www.deloitterecrite.fr/files/etude/1685/etude_sur_les_usages_mobiles_2013.pdf).
- 355 INSEE (Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques). Population by sex and age on 1st January 2014, France except Mayotte. 2014. [http://www.insee.fr/en/themes/detail.asp?reg\\_id=0&ref\\_id=bilan-demo&page=donnees-detaillees/bilan-demo/pop\\_age2b.htm](http://www.insee.fr/en/themes/detail.asp?reg_id=0&ref_id=bilan-demo&page=donnees-detaillees/bilan-demo/pop_age2b.htm).
- 356 INSEE (Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques). Population en emploi selon le sexe et la catégorie socioprofessionnelle en 2012. 2013. [http://www.insee.fr/fr/themes/tableau.asp?reg\\_id=0&ref\\_id=NATnon03173](http://www.insee.fr/fr/themes/tableau.asp?reg_id=0&ref_id=NATnon03173).
- 357 Timmermans S, Jaddoe VWV, Mackenbach JP, Hofman A, Steegers-Theunissen RgPM, Steegers EAP. Determinants of folic acid use in early pregnancy in a multi-ethnic urban population in The Netherlands: The Generation R study. *Prev Med* 2008; **47**:427-32.

- 358 Samraj A, Läubli H, Varki N, Varki A. Involvement of a Non-Human Sialic Acid in Human Cancer. *Front Oncol* 2014; **4**.
- 359 Hedlund M, Padler-Karavani V, Varki NM, Varki A. Evidence for a human-specific mechanism for diet and antibody-mediated inflammation in carcinoma progression. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2008; **105**:18936-41.

# Annexes

---



**Articles scientifiques publiés (ou soumises) dans des revues internationales à comité de lecture :**

**Pouchieu C**, Andreeva VA, Péneau S, Kesse-Guyot E, Lassale C, Hercberg S, Touvier M. Sociodemographic, lifestyle and dietary correlates of dietary supplement use in a large sample of French adults: results from the NutriNet-Santé cohort study. *Br J Nutr.* 2013; 110(8):1480-91.

**Pouchieu C**, Lévy R, Faure C, Andreeva VA, Galan P, Hercberg S, Touvier M. Socioeconomic, lifestyle and dietary factors associated with dietary supplement use during pregnancy. *PLoS One.* 2013 Aug 13;8(8):e70733.

**Pouchieu C**, Chajès V, Laporte F, Kesse-Guyot E, Galan P, Hercberg S, Latino-Martel P, Touvier M.

Prospective associations between plasma saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids and overall and breast cancer risk - modulation by antioxidants: a nested case-control study. *PLoS One.* 2014 Feb 27;9(2):e90442.

**Pouchieu C**, Galan P, Ducros V, Latino-Martel P, Hercberg S, Touvier M.

Plasma Carotenoids and Retinol and Overall and Breast Cancer Risk: A Nested Case-Control Study. *Nutr Cancer*, In Press.

**Pouchieu C**, Deschasaux M, Hercberg S, Druesne-Pecollo N, Latino-Martel P, Touvier M.

Prospective association between red and processed meat intakes and breast cancer risk – Modulation by an antioxidant supplementation in the SU.VI.MAX randomized controlled trial. *Int J Epidemiol.* 2014: 1-10. doi: 10.1093/ije/dyu134.

**Pouchieu C**, Méjean C, Andreeva VA, Kesse-Guyot E, Fassier P, Galan P, Hercberg S, Touvier M.

Computer literacy, adhesion and attitude towards study demands among participants of a web-based cohort: results from the NutriNet-Santé study. *J Med Internet Res*, Soumis

**Pouchieu C**, Fassier P, Latino-Martel P, Druesne-Pecollo N, Zelek L, Bachmann P, Touillaud M, Bairati I, Hercberg S, Galan P, Cohen P, Touvier M.

Dietary supplement use among cancer survivors of the NutriNet-Santé cohort study. *Br J Cancer*, Soumis

## Sociodemographic, lifestyle and dietary correlates of dietary supplement use in a large sample of French adults: results from the NutriNet-Santé cohort study

Camille Pouchieu<sup>1\*</sup>, Valentina A. Andreeva<sup>1</sup>, Sandrine Péneau<sup>1</sup>, Emmanuelle Kesse-Guyot<sup>1</sup>, Camille Lassale<sup>1</sup>, Serge Hercberg<sup>1,2</sup> and Mathilde Touvier<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Université Paris 13, Sorbonne Paris Cité, UREN (Nutritional Epidemiology Research Unit), Inserm (U557), Inra (U1125), Cnam, SMBH Paris 13, 74 rue Marcel Cachin, F-93017 Bobigny Cedex, France

<sup>2</sup>Département de Santé Publique, Hôpital Avicenne, F-93017 Bobigny Cedex, France

(Submitted 19 July 2012 – Final revision received 13 December 2012 – Accepted 30 January 2013)

### Abstract

Information on the determinants of dietary supplement (DS) use in France is largely lacking, especially in population subgroups such as smokers. Also, little is known about the role of health professionals in DS purchases. The aim of the present study was to describe DS use along with its sociodemographic, lifestyle and dietary correlates in a large sample of French adults (age 18+ years) participating in the NutriNet-Santé cohort study. Data were collected by self-administered Internet questionnaires. Food intakes were assessed by 24 h dietary records. Data on DS use were available for 79 786 participants. Supplement users were compared with non-users by logistic regression. Current DS use at least three times/week was reported by 14.6% of men and 28.1% of women. Mg, and vitamins B<sub>6</sub> and C were the most frequently consumed nutrients. DS were prescribed or recommended by a physician in 54.9% of the cases. DS use was positively associated with knowledge of nutritional recommendations and organic product consumption, following a healthier diet and lifestyle (non-smoker, moderate leisure-time physical activity). Current smokers used less DS than did non-smokers, but their DS consumption was substantial (19.0%) and they were more likely to self-medicate. The present study provides updated and detailed information on DS use determinants in a large French cohort, including a focus on smokers, for whom the long-term effects of DS use are poorly documented and could represent a risk. These findings pave the way for future aetiological studies.

**Key words:** Dietary supplements: Motivation: Health behaviour: Smoking status

Dietary supplements (DS) are defined as 'foodstuffs the purpose of which is to supplement the normal diet and which are concentrated sources of nutrients or other substances with a nutritional or physiological effect, alone or in combination, marketed in dose form [...] (European Directive 2002/46/CE). In the USA, DS use is widespread and well documented<sup>(1–4)</sup>. In Europe, several studies have also investigated the determinants and prevalence of DS use, and showed that DS use was lower than that in the USA<sup>(5–7)</sup>. However, such knowledge as regards the French context is largely lacking. Since health and nutrition-related behaviours may strongly vary from one country to another, it is important to conduct country-specific studies regarding DS use. Traditionally in France, DS use has not been a practice as common as in other European countries or in the USA, partly due to the underlying differences in attitudes towards diet and nutrition. The few existing French studies about DS use were based on

very small samples<sup>(8)</sup>, are outdated<sup>(2)</sup> or were restricted to specific subgroups<sup>(9,10)</sup>. In 2005<sup>(11)</sup> and 2006<sup>(12)</sup>, DS use was assessed in nationally representative samples of the French population, but the findings of these two studies have not been disseminated internationally. In addition, they were based on a relatively small sample of subjects, thereby not allowing specific analyses on DS use in population subgroups. These studies have suggested that the proportion of DS users increased steadily over time, and also revealed several socio-demographic and lifestyle correlates of DS use, such as a higher intake of fruits and vegetables, with a lower BMI and higher levels of physical activity. If DS use is indeed associated with several sociodemographic, economic, lifestyle and dietary factors, a precise assessment of these associations and of DS users' profile is an important parameter for future aetiological studies on nutritional intake, DS use and chronic disease risk. The objectives of the present study were to

**Abbreviation:** DS, dietary supplement.

\* **Corresponding author:** C. Pouchieu, email c.pouchieu@uren.smbh.univ-paris13.fr

provide updated and detailed data on DS use and to explore sociodemographic, lifestyle and dietary correlates of DS use in the NutriNet-Santé study, which involves a large cohort of French volunteers. We also evaluated the role of physicians in the motivation for DS purchases and the proportion of self-medication, as limited information was available on this topic in France<sup>(13,14)</sup>. Finally, growing evidence of increased cancer risk exists regarding the association between tobacco smoking and the use of some DS such as  $\beta$ -carotene supplements<sup>(15–17)</sup>. Thus, we also described DS use (types, motivations, self-medication, etc.) according to smoking status.

## Methods

### Study population

The NutriNet-Santé study is the first Web-based, general population, prospective observational cohort study worldwide aimed at elucidating the link between nutrition and health. Specifically, it was launched in France in the spring of 2009 to evaluate the determinants of eating behaviour and the relationship between nutrition and chronic disease risk<sup>(18)</sup>. Participants were recruited by a vast multimedia campaign. Inclusion criteria pertain to residence in France, age  $\geq 18$  years and access to the Internet. Registration and participation took place online using a dedicated web site ([www.etude-nutrinet-sante.fr](http://www.etude-nutrinet-sante.fr)). By January 2012, 102988 volunteers had completed all of the baseline questionnaires and were included in the study. Follow-up is planned for at least 10 years. The present study was approved by the International Research Board of the French Institute for Health and Medical Research (IRB Inserm no. 0000388FWA00005831) and the 'Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés' (CNIL no. 908450 and no. 909216).

### Data collection

Participants filled in self-administered, Web-based questionnaires at baseline and then regularly during the follow-up. Written informed consent was obtained from all subjects.

### Dietary supplement use

The questionnaire regarding DS use was administered 2 months after inclusion. In the present study, we considered as DS both true DS and medicinal supplements (supplements considered as pharmaceutical products in France, and mainly composed of vitamins and minerals). Participants were asked whether they were currently taking any supplement at least 3 d/week at the time of the DS questionnaire ('current DS users'), and were also asked to specify the type of DS using a list of thirty-four different nutrients and substances. They were also asked whether they took any DS in the past 12 months (at least once). The frequency and duration of use for each DS was assessed, thereby permitting the calculation of the average number of days of use in the last 12 months and the overall duration of use. The questionnaire also included assessment of the circumstances and motivations

for DS use, the physician's role in DS purchases and the seasonality of DS use.

### Sociodemographic, lifestyle and behavioural data

At inclusion, self-administered questionnaires collected data on sociodemographic and lifestyle characteristics, including age, sex, marital status, number of children, education, occupation, smoking status, anthropometry, following a restrictive diet, pregnancy and menopause in women, and leisure-time physical activity (estimated with the International Physical Activity Questionnaire<sup>(19)</sup>). The instruments were tested against traditional assessment methods (paper or interview by a health professional)<sup>(20–22)</sup>.

### Dietary data

At inclusion, participants were asked to complete three non-consecutive, self-administered, Web-based 24 h dietary records, the days for which were randomly assigned during a 2-week period (2 d during the week and 1 d during the weekend). Participants were included in the NutriNet-Santé cohort if they provided at least one 24 h dietary record at baseline. All foods and beverages consumed at breakfast, lunch or dinner were recorded. For foods with potentially high nutrient variability, participants were also asked to provide the brand name. Participants estimated the portion size for each reported food and beverage item using validated photographs<sup>(23)</sup>. A comparison of the Web-based dietary assessment with a traditional dietitian's interview showed good agreement between the two methods<sup>(21)</sup>. Daily dietary intakes of various nutrients were calculated using the 'NutriNet-Santé' food composition table, which included more than 2500 different foods.

Knowledge of official nutritional recommendations as provided in the 'French National Nutrition and Health Program'<sup>(24)</sup> was also assessed. It pertained to recommendations regarding five main food groups (fruits and vegetables, dairy products, meat, fish and starchy food). Finally, a specific questionnaire was used to assess the opinion and behaviour of the participants towards organic food consumption.

### Statistical analyses

All participants of the cohort who were included before January 2012 and who answered the DS questionnaire were included in the analyses ( $n$  79 786). Proportions of DS users (current users and users of at least one supplement during the past 12 months), types of DS consumed by current users, frequency, circumstances, motivations and seasonality of use were described in the full sample and also by smoking status (current, former and never smokers).

OR and 95% CI were calculated by age- and sex-adjusted logistic regression analyses comparing DS users (i.e. those who reported DS use at least once during the past 12 months) and non-users regarding their sociodemographic characteristics (age, sex, geographical region, marital status, number of children, education and occupation), lifestyle and behavioural factors (smoking status, BMI, current practice of

a restrictive diet, leisure-time physical activity, pregnancy, self-perceived emotional state and physical pain, knowledge of official nutritional recommendations and organic food consumption). *P* values from the Wald test were provided. Tests for linear trend were performed using the ordinal score on categories of each variable.

Only subjects who provided three dietary records at baseline and who were normo-energy reporters according to the Goldberg criterion<sup>(25)</sup> were included in the analysis relative to dietary data. The mean daily intakes of twenty-three different food groups, dietary micro- and macronutrients, energy, dietary fibre and alcohol were compared by logistic regression analyses between DS users and non-users after adjustment for sex, age and energy intake. The proportion of subjects with reported intake below the estimated average requirement for the French population<sup>(26)</sup> was estimated for each nutrient by sex. It was established that, at the population level, this proportion represents an unbiased estimate of the proportion of subjects whose intake is below their respective requirements, also called 'prevalence of inadequacy'<sup>(27)</sup>. When an individual has intake below his/her requirement, this may lead to a risk of chronic insufficient intake, and possibly, deficiency. The measurement error model proposed by the National Research Council<sup>(28)</sup> and developed by Nusser *et al.*<sup>(29)</sup> was applied to the observed daily dietary intake, in order to remove the effects of day-to-day intake variability. The prevalence of inadequate dietary nutrient intake was then compared between DS users and non-users in men and women by logistic regressions adjusted for age and energy intake.

A *P* value < 0.05 was considered as significant in all statistical tests. All tests were two-sided. All analyses were carried out with SAS software (release 9.1; SAS Institute, Inc.).

## Results

### *Proportion of dietary supplement users, type, motivations and circumstances of dietary supplement use*

The average age of the participants (*n* 79786) was 45.2 (SD 14.5) years and women constituted 76% of the sample. Among the study population, 32.4% were executives or had an intellectual profession, 30.0% were employees, 25.9% had an intermediate profession, 5.3% were unemployed, 3.2% were manual workers, 2.8% were self-employed and 0.4% were farmers. The proportions of overweight (not including obesity) and obese subjects were 22 and 10%, respectively.

DS use among men and women is presented in Table 1. About 41% of the subjects reported the use of at least one DS during the 12 months preceding the survey. About 25% of the respondents were current users (DS use at least 3 d/week at the time of the DS questionnaire: 28.1% in women and 14.6% in men). In current DS users, Mg, vitamin B<sub>6</sub>, vitamin C, Zn and Fe were the most frequently used nutrients, whereas *n*-3 fatty acids and herbal supplement use were relatively low (Table 1).

Motivations, circumstances of DS purchases and seasonality are presented in Table 2. The main reasons for DS use were

to 'overcome tiredness' and to 'stay healthy', whereas 'compensating for an inadequate dietary intake' was quoted by only 5.4% of the DS users. DS were mainly purchased with a prescription, following medical advice or a recommendation by a pharmacist. DS use was increased during the autumn and winter months.

In the last 12 months, 61 359 DS were declared by the participants. Among them, 41.0% were used for less than 1 year, 22.1% were used 1–2 years, 19.3% were used over 3–5 years, 9.8% were used 5–10 years and 7.8% were used for more than 10 years. In the last 12 months, the average duration of DS use was 94.7 (SE 108)d (data not shown).

### *Sociodemographic, lifestyle and behavioural correlates of dietary supplement use*

When compared with non-users, DS users were more likely to be women, older, more educated, better employed and more physically active (Table 3). DS use decreased with the number of children. Users were more likely to be non-smokers, to have a lower BMI and to follow a restrictive diet. Women who took supplements were more likely to be pregnant or postmenopausal. Users were more likely to report emotional problems, physical pain, increased familiarity with official nutritional recommendations (recommendations of the French National Nutrition and Health Program) and organic food consumption.

### *Dietary supplement use according to smoking status*

In the study population, 17.4% were current smokers and 33.5% were former smokers. When compared with never smokers, current smokers were less likely to be current DS users (OR 0.76, 95% CI 0.72, 0.80; data not shown) or to have used DS during the past 12 months (Table 3). The proportion of current DS users was 19.0% in smokers, 27.2% in former smokers and 25.2% in never smokers. Hierarchy of nutrients consumed (Mg, vitamin B<sub>6</sub> and vitamin C) was the same regardless of the smoking status (data not shown). β-Carotene supplement use was low overall (1.5% in smokers, 2.0% in former smoker and 1.7% in never smokers, *P*=0.25).

Motivations for DS use differed between current and never smokers (data not shown). Current smokers were less likely to indicate reasons such as 'overcome health problems' or 'meet specific needs related to a sports practice' (33.1 and 3.9%, respectively), and were more likely to give reasons such as 'to counter stress' (17.5%), 'to lose weight' (7.3%), 'to improve intellectual performance' (6.1%) and 'to compensate for an inadequate diet' (6.5%). In total, 7.3% of current smokers used DS because of specific needs related to pregnancy (almost as much as in never smokers: 7.7%). When compared with never smokers, current smokers were more likely to self-medicate with DS, whereas having a medical prescription or receiving advice by a dietitian was reported by 30.9 and 2.4%, respectively (*v.* 36.3 and 3.2%, respectively, among never smokers). Also, current smokers were more likely to purchase DS following non-medical advice (i.e. from

**Table 1.** Dietary supplement (DS) use in men (*n* 19 398) and women (*n* 60 388) in the NutriNet-Santé cohort study, 2012

(Number of subjects and percentages)

	All		Men		Women	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
DS use during the past 12 months* (yes)	32 582	40.8	4729	24.4	27 853	46.1
Current DS use $\geq$ 3 d/week (yes)	19 785	24.8	2828	14.6	16 957	28.1
Types of DS used (current users only)†						
Mg	8324	42.1	1166	41.2	7158	42.2
Vitamin B <sub>6</sub>	5904	29.8	824	29.1	5080	30.0
Vitamin C	5387	27.2	966	34.2	4421	26.1
Zn	4974	25.1	767	27.1	4207	24.8
Fe	4800	24.3	586	20.7	4214	24.9
Vitamin E	4655	23.5	752	26.6	3903	23.0
Thiamin	4456	22.5	396	14.0	1846	10.9
Vitamin D	4421	22.3	710	25.1	3746	22.1
Riboflavin	4381	22.1	481	17.0	3940	23.2
Folate	4153	21.0	694	24.5	3687	21.7
Pantothenic acid	3912	19.8	532	18.8	3621	21.4
Ca	3885	19.6	550	19.4	3362	19.8
Niacin	3397	17.2	605	21.4	3214	19.0
Se	3358	17.0	531	18.8	2866	16.9
Vitamin B <sub>12</sub>	3272	16.5	580	20.5	2778	16.4
Vitamin B <sub>9</sub>	2882	14.6	529	18.7	2743	16.2
<i>n</i> -3 Fatty acids	2733	13.8	377	13.3	2505	14.8
Vitamin A	2242	11.3	292	10.3	2261	13.3
Evening primrose, borage or cod-liver oil	1815	9.2	124	4.4	1691	10.0
Acerola, guarana or cranberry supplement	1674	8.5	227	8.0	1147	6.8
I	1443	7.3	210	7.4	1233	7.3
$\beta$ -Carotene	1389	7.0	203	7.2	1186	7.0
P	1121	5.7	237	8.4	884	5.2
Ginseng	1050	5.3	249	8.8	806	4.8
Fibres	846	4.3	131	4.6	715	4.2
Amino acids/proteins	681	3.4	186	6.6	495	2.9
Lutein	670	3.4	125	4.4	545	3.2
Phyto-oestrogens	376	1.9	38	1.3	338	2.0
F	310	1.6	63	2.2	247	1.5
Vitamin K	263	1.3	58	2.1	205	1.2
Zeaxanthin	252	1.3	62	2.2	190	1.1
Retinol	96	0.5	23	0.8	73	0.4
Other minerals‡	3819	19.3	437	15.5	3448	20.3
Other herbal supplements	2553	12.9	613	21.7	2120	12.5

\*  $\geq$ 1 DS during the 12 months preceding the DS questionnaire.

† Nutrients and other substances were taken alone or in combination.

‡ K, Cu, Li, Mn, Ce and others.

a friend/parent) than were non-smokers or former smokers (17.4, 14.4 and 13.8%, respectively; data not shown).

#### *Dietary intake associated with dietary supplement use*

Among the 79 786 subjects with available DS data, 55 569 provided three dietary records and were normo-energy reporters, and thus were included in the following analyses.

Daily food intakes in DS users and non-users are compared in Table 4. Overall, DS users had a healthier diet than non-users – they ate more vegetables, fruits, soups/broth, whole-grain foods, pulses, fish/seafood, breakfast cereals, sugar/confectionery and meal substitutes, and drank more unsweetened drinks. They also ate less potatoes, dairy products, meat and offal, poultry, processed meat, cakes/biscuits/pastries, snacks/pizzas and drank less alcoholic beverages.

Daily dietary energy and nutrient intake in DS users and non-users are compared in Table 5. DS users had higher

food intakes of energy, total and simple carbohydrates, fibres, unsaturated fatty acids, but had lower intakes of alcohol, proteins, total lipids and SFA. They also had higher dietary intakes for most vitamins and minerals (i.e. thiamin, riboflavin, niacin, pantothenic acid, vitamin B<sub>6</sub>, folate, vitamin B<sub>12</sub>,  $\beta$ -carotene, vitamins A, C, D and E, Ca, Fe, Mg, P and K). DS users had lower intakes of Na than did DS non-users.

The prevalences of dietary nutrient inadequacy (intakes from food) in DS users and non-users were compared by sex in Table 6. The prevalence of inadequacy was statistically significantly lower in DS users compared with non-users regarding most nutrients (thiamin, folate, vitamins B<sub>6</sub>, A, C and E, Ca and Mg in men and women, plus riboflavin, pantothenic acid and Fe in women only). Only the prevalence of inadequacy for vitamin B<sub>12</sub> intake was higher in women DS users than in non-users.

**Table 2.** Reasons for use, circumstances of dietary supplement (DS) purchases and seasonality of use in DS users in the NutriNet-Santé cohort study (*n* 32 582; men *n* 4729, women *n* 27 853), 2012\*

(Number of subjects and percentages)

	All		Men		Women	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
<b>Reasons for DS use</b>						
Overcome tiredness	13 527	41.5	1733	36.6	11 794	42.3
Stay healthy	10 997	33.8	2207	46.7	8790	31.6
Solve or overcome health problems	10 511	32.3	1224	25.9	9287	33.3
Beauty	5001	15.3	224	4.7	4777	17.2
Counter stress	4800	14.7	459	9.7	4341	15.6
Stay young	2906	8.9	571	12.1	2335	8.4
Pregnancy	2276	7.0	4	0.1	2272	8.2
Lose weight	1620	5.0	151	3.2	1469	5.3
Compensate for an inadequate dietary intake due to a restrictive diet	1524	4.7	233	4.9	1291	4.6
Improve intellectual performance	1439	4.4	315	6.7	1124	4.0
Meet specific needs related to a sports practice	1396	4.3	675	14.3	721	2.6
Compensate for a dietary intake perceived as inadequate (without a restrictive diet)	1770	5.4	360	7.6	1410	5.1
Do not know	83	0.3	19	0.4	64	0.2
<b>Circumstances of DS purchases</b>						
With a medical prescription	11 044	33.9	905	19.1	10 139	36.4
Following medical advice	6828	21.0	738	15.6	6090	21.9
Following the advice of a pharmacist	6763	20.8	666	14.1	6097	21.9
Following the advice of a dietitian	885	2.7	104	2.2	781	2.8
Following the advice of another health professional	2105	6.5	253	5.3	1845	6.6
Following the advice of a friend/family member	5264	16.2	850	18.0	4414	15.8
Following non-professional advice received on site	915	2.8	110	2.3	805	2.9
Discovered the DS in the store	4188	12.9	687	14.5	3501	12.6
Read about the DS in a book	3156	9.7	619	13.1	2537	9.1
Heard about the DS in the media	2458	7.5	466	9.9	1992	7.2
Saw an advertisement	1081	3.3	173	3.7	908	3.3
Other circumstances	3056	9.4	635	13.4	2421	8.7
Do not know	226	0.7	59	1.2	167	0.6
<b>Higher DS use during a particular season (yes)</b>						
Winter	17 024	52.2	2638	55.8	14 386	51.6
Autumn	9505	29.2	1405	29.7	8100	29.1
Spring	7033	21.6	788	16.6	6245	22.5
Summer	4550	14.0	479	10.1	4071	14.8
	1252	3.8	120	2.5	1132	4.1

 \* In subjects who reported use of  $\geq 1$  DS during the 12 months preceding the DS questionnaire.

## Discussion

The present study sheds light on DS use in a large sample of French adults. In the present analyses, Mg emerged as the most frequently used supplement, followed by vitamins B<sub>6</sub> and C, which is in accordance with the results from the Comportements et consommations alimentaires en France (CCAF) study<sup>(30)</sup>. The principal reason cited for DS use in the present study was 'to overcome tiredness', in line with the results of the ECCA (Enquête sur les Consommateurs de Compléments Alimentaires) study<sup>(13)</sup>. There was consistency between the most frequently cited DS used and the main reasons for use. Indeed, the European Food Safety Authority has recently recognised a causal relationship between some nutrient deficiency (notably Mg, vitamin C and vitamin B<sub>6</sub>) and fatigue, thus authorising claims related to the management of fatigue as regards dietary products that contain at least 15% of the RDA/100 g<sup>(31–33)</sup>. In contrast, a well-founded reason that could motivate DS use (i.e. 'to compensate for inadequate dietary intake') was cited by only 10.1% of the users. In addition, specific conditions (often associated with physical

or psychological discomfort) such as undergoing a restrictive diet, pregnancy, menopause and chronic emotional or physical pain were associated with a higher DS use in the present study. DS use did not appear to be a temporary trend, as it was often reported over a long period of time, suggesting that long-term effects on health are possible. Winter was also reported as the main season for DS use in the INCA2 (Étude Individuelle Nationale des Consommations Alimentaires 2) and the ECCA studies<sup>(8,14)</sup>.

About half of the DS users were self-medicated, whereas 21% of the DS purchases followed medical advice and another 33% were purchased with a prescription. In addition, the role of the pharmacist was noteworthy, as it represented more than 20% of the reported motivations for DS purchases. These results were in accordance with the INCA2 study<sup>(14)</sup>, where medical prescription or advice represented 52% and advice from a pharmacist represented 18%. It has been suggested that pharmacists might be ill-equipped to counsel patients on these products and an ethical issue stemming from the profit motive may occur<sup>(34)</sup>.

**Table 3.** Sociodemographic, lifestyle and behavioural correlates of dietary supplement (DS) use in the NutriNet-Santé cohort, 2012 (*n* 32 582 DS users\* and 47 204 non-users)  
(Number of subjects and percentages; odds ratios and 95% confidence intervals)

	<i>n</i>	Percentage of DS users in each category	Age- and sex-adjusted logistic regression analyses			
			OR	95% CI	<i>P</i>	<i>P</i> for trend†
Sex					<0.0001	
Male	19 398	24.4	1.00			
Female	60 388	46.1	2.87	2.77, 2.98		
Age (years)					<0.0001	<0.0001
≤ 35	25 014	36.8	1.00			
35–44	15 862	40.7	1.25	1.20, 1.30		
45–55	16 047	43.0	1.37	1.32, 1.43		
> 55	22 863	43.8	1.63	1.57, 1.69		
Geographical region					<0.0001	
Paris	4041	46.0	1.00			
Paris suburb	12 384	42.1	0.81	0.76, 0.88		
North	5352	36.3	0.64	0.59, 0.69		
North-west	11 390	36.6	0.63	0.58, 0.68		
Central-west	6779	38.5	0.68	0.63, 0.74		
South-west	8518	41.0	0.76	0.70, 0.82		
North-east	10 163	39.6	0.74	0.68, 0.79		
Central-east	10 567	43.1	0.84	0.78, 0.90		
South-east	9563	44.5	0.87	0.80, 0.94		
Corsica and overseas departments/territories	1029	44.0	0.89	0.77, 1.02		
Marital status					0.08	
Married or living with a partner	57 671	40.5	1.00			
Divorced/separated/widowed	7869	41.6	1.02	0.97, 1.07		
Single	14 246	38.7	1.05	1.00, 1.09		
Number of children					<0.0001	0.0008
0	27 574	40.9	1.00			
1 or 2	36 964	41.6	0.78	0.75, 0.81		
≥ 3	15 248	38.7	0.66	0.63, 0.69		
Education					<0.0001	
< 12 years of schooling	16 765	34.4	1.00			
≥ 12 years of schooling	63 021	42.6	1.59	1.53, 1.65		
Socio-professional categories					<0.0001	
Executives and intellectual professions	25 879	43.5	1.00			
Intermediate professions	20 676	44.4	0.95	0.91, 0.98		
Employees	23 903	38.2	0.69	0.66, 0.71		
Manual workers	2531	24.7	0.50	0.45, 0.55		
Farmers	310	33.9	0.64	0.50, 0.81		
Self-employed	2264	38.1	0.79	0.72, 0.87		
Never employed	4223	35.5	1.05	0.54, 2.15		
Job status					<0.0001	
In service	49 619	41.6	1.00			
Retired	14 550	42.3	0.95	0.90, 1.01		
Student	6137	33.1	0.75	0.71, 0.80		
Unemployed	4794	36.9	0.80	0.75, 0.85		
Others‡	4686	42.9	0.83	0.78, 0.89		
Smoking status					<0.0001	
Never smoker	39 208	42.5	1.00			
Former smoker	26 708	42.4	1.02	0.98, 1.05		
Current smoker	13 870	33.2	0.70	0.67, 0.73		
BMI (kg/m <sup>2</sup> )					<0.0001	<0.0001
Underweight (< 18.5)	3816	48.7	1.00			
Normal weight (18.5–24.9)	50 278	44.2	0.87	0.82, 0.93		
Overweight (25–29.9)	17 787	34.4	0.61	0.57, 0.66		
Obese (≥ 30)	7905	30.3	0.45	0.42, 0.49		
Current practice of a restrictive diet					<0.0001	
No	68 099	39.6	1.00			
Yes	14 687	46.3	1.22	1.18, 1.27		
Pregnant women					<0.0001	
No	58 825	45.4	1.00			
Yes	1563	74.9	4.59	4.08, 5.15		
Postmenopausal women					<0.0001	
No	41 005	43.0	1.00			
Yes	19 383	52.6	1.19	1.13, 1.25		

Table 3. Continued

	n	Percentage of DS users in each category	Age- and sex-adjusted logistic regression analyses			
			OR	95 % CI	P	P for trend†
Leisure-time physical activity§					<0.0001	<0.0001
Low	16 212	39.5	1.00			
Moderate	28 350	44.5	1.22	1.17, 1.27		
High	23 209	42.5	1.16	1.11, 1.21		
Self-perceived limitations in daily activities due to a negative emotional state					<0.0001	
No	45 083	45.0	1.00			
Yes	19 778	51.0	1.22	1.18, 1.26		
Chronic physical pain					<0.0001	
No	18 637	42.3	1.00			
Yes	46 224	48.7	1.24	1.20, 1.29		
Knowledge of official nutritional recommendations¶					<0.0001	<0.0001
Poor (0–2)	22 896	41.1	1.00			
Average (3)	21 750	43.8	1.03	0.99, 1.07		
Good (4–5)	26 651	48.2	1.16	1.12, 1.21		
Organic food consumption**					<0.0001	
Never (avoid organic products)	17 222	37.0	1.00			
Indifferent to organic food	4 860	32.0	0.94	0.87, 1.00		
Occasional consumption	25 377	43.7	1.39	1.34, 1.45		
Regular consumption	11 365	60.8	2.61	2.48, 2.74		

\* DS users were defined as subjects who used  $\geq 1$  DS during the 12 months preceding the DS questionnaire.

† Tests for linear trend were performed using the ordinal score on categories of each variable. DS users were compared with non-users for all the characteristics. The probability of being a DS user is modelled.

‡ Sabbatical leave, preparation for an examination, homemaker, illness.

§ Because of missing values, sample sizes were 28 876 supplement users and 38 895 non-users.

|| Because of missing values, sample sizes were 30 374 supplement users and 34 487 non-users.

¶ From the French National Nutrition and Health Program. Because of missing values, sample sizes were 31 780 supplement users and 39 517 non-users.

\*\* Determined by multiple correspondence analysis using data from the organic food consumption measure (five clusters defined by the first three discriminant axes). Because of missing values, sample sizes were 25 947 supplement users and 32 877 non-users.

**Table 4.** Comparison of daily food intake (g/d) in dietary supplement (DS) users\* (n 24 191) and non-users (n 31 378) in the NutriNet-Santé cohort study†  
(Mean values with their standard errors)

	Non-users‡		Users‡		P for trend
	Mean	SE	Mean	SE	
Vegetables	202.0	0.7	220.7	0.9	<0.0001
Fruits	230.1	1.0	257.1	1.3	<0.0001
Soups and broths	26.8	0.3	28.8	0.4	<0.0001
Potatoes and tubers	47.6	0.3	44.1	0.4	<0.0001
Pasta, rice, semolina, bread, flour, other cereals	178.8	0.5	178.9	0.6	0.8
Whole-grain foods	51.0	0.4	64.1	0.5	<0.0001
Pulses	8.4	0.1	9.5	0.2	<0.0001
Dairy products	203.2	0.9	197.7	1.2	<0.0001
Meat and offal	49.6	0.3	44.2	0.3	<0.0001
Poultry	26.3	0.2	24.9	0.2	<0.0001
Eggs	12.2	0.1	12.5	0.2	0.09
Fish and seafood	37.4	0.3	40.1	0.3	<0.0001
Processed meat	35.3	0.2	32.0	0.3	<0.0001
Fats and sauces	37.9	0.1	38.2	0.2	0.04
Fats (oil, butter, margarine)	21.4	0.1	22.1	0.1	0.1
Breakfast cereals	7.4	0.1	10.0	0.1	<0.0001
Sugar/confectionery/dried fruits/desserts	62.7	0.4	66.9	0.5	<0.0001
Cakes/biscuits/pastries	53.6	0.3	52.4	0.4	0.009
Snacks, pizza, pies	36.2	0.3	33.5	0.4	<0.0001
Unsweetened soft drinks	1040.2	3.4	1170.6	4.2	<0.0001
Sweetened soft drinks	58.2	0.7	52.3	0.8	<0.0001
Alcoholic drinks	124.1	0.9	114.8	1.1	<0.0001
Meal substitutes	0.8	0.1	1.9	0.1	<0.0001

\* DS users were defined as subjects who used  $\geq 1$  DS during the 12 months preceding the DS questionnaire.

† In subjects with three dietary records at baseline.

‡ Logistic regression analysis comparing DS users and non-users with adjustment for sex, age and energy intake.



**Table 5.** Comparison of daily dietary energy and nutrient intake in dietary supplement (DS) users\* (*n* 24 191) and non-users (*n* 31 378) in the NutriNet-Santé cohort study†

(Mean values with their standard errors)

	Non-users‡		Users‡		<i>P</i> for trend
	Mean	SE	Mean	SE	
Energy					< 0.0001
kcal	2035.0	2.7	2071.6	3.4	
kJ	8514.4	11.3	8667.6	14.2	
Alcohol (g)	10.6	0.1	9.8	0.1	< 0.0001
Total carbohydrates (g)	200.4	0.2	203.4	0.3	< 0.0001
Simple carbohydrates (g)	91.3	0.2	94.7	0.2	< 0.0001
Starch (g)	108.4	0.2	108.0	0.2	0.1
Fibres (g)	18.6	0.0	20.4	0.0	< 0.0001
Proteins (g)	81.0	0.1	80.2	0.1	< 0.0001
Total lipids (g)	78.8	0.1	78.4	0.1	0.0003
SFA (g)	32.5	0.0	31.5	0.1	< 0.0001
MUFA (g)	28.5	0.0	28.8	0.0	< 0.0001
PUFA (g)	11.9	0.0	12.3	0.0	< 0.0001
Thiamin (mg)	1.2	0.0	1.3	0.0	< 0.0001
Riboflavin (mg)	1.7	0.0	1.8	0.0	< 0.0001
Niacin (mg)	18.2	0.0	18.7	0.0	< 0.0001
Pantothenic acid (mg)	5.4	0.0	5.5	0.0	< 0.0001
Vitamin B <sub>6</sub> (mg)	1.7	0.0	1.8	0.0	< 0.0001
Folate (μg)	331.2	0.6	354.3	0.8	< 0.0001
Vitamin B <sub>12</sub> (μg)	5.5	0.0	5.8	0.1	< 0.0001
Retinol (μg)	518.8	5.3	512.5	6.6	0.4
β-Carotene (μg)	3677.9	17.4	4063.8	21.8	< 0.0001
Total vitamin A (μg)	1197.2	12.5	1251.8	15.7	0.003
Vitamin C (mg)	113.2	0.5	121.8	0.6	< 0.0001
Vitamin D (μg)	2.7	0.0	2.9	0.0	< 0.0001
Vitamin E (μg)	10.1	0.0	10.8	0.0	< 0.0001
Na (mg)	2517.9	3.7	2484.7	4.7	< 0.0001
Ca (mg)	889.9	1.6	910.2	2.0	< 0.0001
Fe (mg)	12.4	0.0	13.1	0.0	< 0.0001
Mg (mg)	311.3	0.5	330.7	0.6	< 0.0001
P (mg)	1256.0	1.5	1281.1	1.9	< 0.0001
K (mg)	2984.9	3.9	3103.4	4.9	< 0.0001
Zn (mg)	10.4	0.0	10.3	0.0	0.05

\*DS users were defined as subjects who used  $\geq 1$  DS during the 12 months preceding the DS questionnaire.

† In subjects with three dietary records at baseline.

‡ Logistic regression analysis (performed to derive the *P* value for the comparison between DS users and non-users) was adjusted for sex, age and energy intake.

Concerning the sociodemographic, lifestyle and behavioural profile of DS users, several studies in other developed countries have also found that supplement users were more often women<sup>(8,12)</sup>, older<sup>(35)</sup>, had a higher level of education<sup>(7)</sup>, belonged to a higher socio-professional category<sup>(36)</sup> and lived in small-sized households<sup>(8)</sup>. Lower BMI<sup>(8)</sup>, higher leisure-time physical activity levels<sup>(3,10)</sup> and healthier lifestyle among users than non-users<sup>(37–39)</sup> have also been reported. In addition, we observed, for the first time in France, that DS users were more likely to report increased knowledge of nutritional recommendations and increased organic food consumption, adding consistency to the ‘healthy DS users’ profile.

As reported previously, using another French cohort, we observed that current smokers were less likely to be DS users than were non-smokers<sup>(10)</sup>, which is consistent with a healthier lifestyle. However, DS use in smokers was non-negligible (19%), despite the fact that the potential health effects of DS use in association with tobacco smoking are

not well known. Notably, it has been shown that β-carotene supplements increase cancer risk in smokers<sup>(16,40)</sup>. β-Carotene DS use was low in the present study, but interestingly, it was not lower among smokers, despite the demonstrated cancer risk in that subgroup. This finding suggests that smokers might not be aware of that risk, or that health care professionals might not be well informed<sup>(41)</sup>. The most commonly used DS were the same regardless of smoking status, but the reasons for use differed. When compared with never smokers, smokers were more likely to use DS to overcome stress, to lose weight, to compensate for inadequate dietary intake and were more likely to self-medicate, which increases the potential risks associated with DS use in this sub-population.

Considering food and dietary nutrient intake, DS users had a healthier diet than non-users, as observed previously<sup>(2,12,38,42)</sup>. The prevalence of inadequate dietary nutrient intake was also lower in DS users compared with non-users for most micronutrients, in both men and women, as reported



**Table 6.** Comparison of the prevalence of dietary nutrient inadequacy stratified by sex and dietary supplement (DS) use in the NutriNet-Santé cohort study\* (Odds ratios and 95% confidence intervals)

	Men						Women					
	Prevalence of inadequacy† (%)			OR for inadequacy§	95% CI	P	Prevalence of inadequacy† (%)			OR for inadequacy§	95% CI	P
	DS non-users (n 9889)	DS users (n 3450)‡					DS non-users (n 21 489)‡	DS users (n 20 741)				
Thiamin	16.3	13.6	0.81	0.73, 0.90	<0.0001	10.9	8.8	0.84	0.79, 0.88	<0.0001		
Riboflavin	3.8	3.5	0.95	0.80, 1.12	0.5	14.7	11.2	0.90	0.85, 0.95	0.0002		
Niacin	0.1	0.6	0.89	0.69, 1.14	0.3	0.9	0.7	0.99	0.88, 1.11	0.8		
Pantothenic acid	3.3	2.1	0.86	0.71, 1.04	0.1	16.4	11.4	0.87	0.83, 0.92	<0.0001		
Vitamin B <sub>6</sub>	16.4	11.6	0.64	0.57, 0.72	<0.0001	15.5	10.4	0.79	0.75, 0.83	<0.0001		
Folate	7.4	4.4	0.71	0.61, 0.83	<0.0001	10.1	4.6	0.62	0.58, 0.66	<0.0001		
Vitamin B <sub>12</sub>	0.1	0.6	1.23	1.00, 1.51	0.06	2.4	2.9	1.14	1.07, 1.22	0.0002		
Vitamin A	5.0	4.1	0.84	0.74, 0.95	0.007	1.4	0.6	0.73	0.68, 0.80	<0.0001		
Vitamin C	30.6	21.0	0.72	0.66, 0.79	<0.0001	34.8	30.6	0.76	0.73, 0.79	<0.0001		
Vitamin E	33.3	23.4	0.70	0.63, 0.76	<0.0001	49.6	38.3	0.72	0.69, 0.76	<0.0001		
Ca	18.4	17.3	0.85	0.76, 0.94	0.002	34.3	33.0	0.87	0.83, 0.91	<0.0001		
Fe	0.0	0.0	0.75	0.51, 1.12	0.2	54.8	40.7	0.76	0.73, 0.80	<0.0001		
Mg	51.3	38.8	0.60	0.55, 0.66	<0.0001	60.4	46.5	0.67	0.64, 0.70	<0.0001		
P	0.2	0.1	0.18	0.04, 0.90	0.04	0.0	0.0	0.88	0.69, 1.13	0.3		
Zn	13.2	12.8	1.03	0.93, 1.15	0.6	22.9	21.5	1.02	0.97, 1.07	0.5		

\* In subjects with three dietary records at baseline.

† The probability of dietary nutrient intakes below the estimated average requirements for the French population.

‡ DS users were defined as subjects who used ≥ 1 DS during the 12 months preceding the DS questionnaire.

§ Logistic regression analysis comparing DS users and non-users, adjusted for age and energy intake. Reference, DS non-users.

previously<sup>(8,37,43)</sup>, except for vitamin B<sub>12</sub> in women. In fact, DS users ate less meat than did non-users, meat being a major contributor of vitamin B<sub>12</sub> intake.

The present study highlighted a risk of insufficient dietary intakes as regards several nutrients in the whole population study. Increased nutrient intake through tablets or pills under medical supervision is justified under certain physiological situations (such as pregnancy). However, several arguments encourage caution regarding supplement use for the general population. They pertain to the quality and safety of DS<sup>(44)</sup>, the absence of clear benefits in chronic disease management in well-nourished populations, the need–use disparity (i.e. increased DS use by those who have the least need for them, as shown in the present study), the behavioural impact (e.g. people might believe that DS use can act as a substitute for a diversified and balanced diet) and the potential deleterious effects of some DS in certain population subgroups (e.g. β-carotene use in smokers<sup>(15–17)</sup>, or DS–drug interactions in individuals taking certain medications<sup>(45,46)</sup>). Thus, the official recommendation for the general population is to increase dietary variety<sup>(47)</sup> and improve healthy food choices rather than to use DS in order to achieve adequate nutrient intakes.

Several limitations of the present study should be mentioned. Caution is needed in extrapolating the present results to the general population, as the present study was based on a volunteer sample. Participants were primarily women, mostly belonging to the highest socio-professional categories than the general population. For instance, the proportion of DS users in the present study was slightly higher than the prevalence of DS use assessed in the French INCA2 study (2006) using a nationally representative sample. Similarly, the percentage of organic food consumers in the present study was higher than that in the general population (about 60% in the NutriNet-Santé study compared with 43% in a representative French study<sup>(48)</sup>). This could partly be attributed to sample composition (i.e. the large proportion of women in the present study, who tend to consume more DS<sup>(11,13,14)</sup> and organic foods<sup>(48)</sup>, than men) and to the self-selection of participants in a nutrition-focused study. However, the present Web-based study allowed the inclusion of subjects from lower socio-professional categories, who are usually difficult to reach. Next, significant associations occurring purely by chance cannot be excluded. However, the present results are hypothesis-driven and supported by available data in the literature. The number of statistically significant results observed in the present study was far above the 5% error of the first kind and most of them were highly significant ( $P < 0.0001$ ). Finally, data collection is based on self-administered questionnaires and the DS questionnaire might engender a memory bias because subjects were asked for the motivations and circumstances of their DS purchases over the past 12 months.

In conclusion, the NutriNet-Santé study provided new and detailed information on DS use. Overall, the present results suggest that DS users had an overall healthier profile (in terms of diet, smoking status, physical activity and other parameters) and better knowledge of nutritional recommendations. This is

consistent with the findings observed in other developed countries<sup>(3,37–39,49,50)</sup>, which suggests that despite very different behaviours, opinions and culture regarding food, health and nutrition, the profile of DS users is overall stable across such countries. The present study also highlighted the importance of self-medication practices regarding DS use (more than 45%). The large sample of subjects allowed analysing subgroups of interest (such as smokers), for whom some DS may increase the risk regarding chronic pathologies such as cancer. Current smokers used less DS than did non-smokers, but their DS consumption was substantial (19.0%) and they were more likely to self-medicate. Finally, the correlates of DS use highlighted in the present study could be useful in properly controlling for potential confounders in future prospective aetiological studies on the relationship between DS use and chronic disease.

### Acknowledgements

The NutriNet-Santé cohort study is funded by the following public institutions: Ministère de la Santé (DGS); Institut de Veille Sanitaire (InVS); Institut National de la Prévention et de l'Éducation pour la Santé (INPES); Fondation pour la Recherche Médicale (FRM); Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM); Institut National de la Recherche agronomique (INRA); Conservatoire National des Arts et Métiers (CNAM); Paris 13 University. The authors' responsibilities were as follows: C. P. and M. T. designed the research; C. P., M. T. and S. H. conducted the research; C. P. analysed the data and led the writing; M. T. supervised the study; V. A. A., S. P., E. K.-G., C. L., S. H. and M. T. contributed to the data interpretation and revised each draft for important intellectual content; M. T. had primary responsibility for the final content. All authors read and approved the final manuscript. The authors declare that there are no conflicts of interest.

### References

1. Bailey RL, Gahche JJ, Lentino CV, *et al.* (2011) Dietary supplement use in the United States, 2003–2006. *J Nutr* **141**, 261–266.
2. Gahche J, Bailey R, Burt V, *et al.* (2011) Dietary supplement use among U.S. adults has increased since NHANES III (1988–1994). *NCHS Data Brief* 1–8.
3. Gardiner P, Kemper KJ, Legedza A, *et al.* (2007) Factors associated with herb and dietary supplement use by young adults in the United States. *BMC Complement Altern Med* **7**, 39.
4. Murphy SP, Wilkens LR, Monroe KR, *et al.* (2011) Dietary supplement use within a multiethnic population as measured by a unique inventory method. *J Am Diet Assoc* **111**, 1065–1072.
5. Skeie G, Braaten T, Hjartaker A, *et al.* (2009) Use of dietary supplements in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition calibration study. *Eur J Clin Nutr* **63**, S226–S238.
6. Marques-Vidal P, Pecoud A, Hayoz D, *et al.* (2007) Prevalence and characteristics of vitamin or dietary supplement

- users in Lausanne, Switzerland: the CoLaus study. *Eur J Clin Nutr* **63**, 273–281.
7. Mileva-Pecheva R, Zafirova-Ivanovska B, Milev M, *et al.* (2011) Sociodemographic predictors and reasons for vitamin and/or mineral food supplement use in a group of outpatients in Skopje. *Prilozi* **32**, 127–139.
  8. Touvier M, Boutron-Ruault MC, Volatier JL, *et al.* (2005) Efficacy and safety of regular vitamin and mineral supplement use in France: results from the ECCA study. *Int J Vitam Nutr Res* **75**, 201–209.
  9. Picciano MF & McGuire MK (2009) Use of dietary supplements by pregnant and lactating women in North America. *Am J Clin Nutr* **89**, 663–667.
  10. Touvier M, Kesse E, Volatier JL, *et al.* (2006) Dietary and cancer-related behaviors of vitamin/mineral dietary supplement users in a large cohort of French women. *Eur J Nutr* **45**, 205–214.
  11. Centre de Recherche pour l'Etude et l'Observation des Conditions de vie (CREDOC) (2004) *Comportements et consommations alimentaires en France (CCAF 2004) (Behavior and Food Consumption in France (CCAF 2004))*. Paris: Editions TEC & DOC.
  12. Pilon T & Hebel P (2012) Consommation de compléments alimentaires en France: profil des consommateurs et contribution à l'équilibre nutritionnel (Consumption of dietary supplements in France: consumer patterns and contribution to the nutritional balance). *Cabi Nutr Diét* **47**, 147–155.
  13. Touvier M, Dufour A, Gourillon S, *et al.* (2003) Les forts consommateurs de compléments alimentaires en France: résultats de l'enquête ECCA (Regular dietary supplement users in France: results from the ECCA survey). *Cabi Nutr Diét* **38**, 187–194.
  14. Agence Française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA) (2009) *Étude Individuelle Nationale des Consommations Alimentaires 2 (INCA 2) (2006–2007) (Second National Individual study of Dietary Consumption (2006–2007))*. Paris: AFSSA.
  15. Albanes D, Heinonen OP, Taylor PR, *et al.* (1996) Alpha-tocopherol and beta-carotene supplements and lung cancer incidence in the alpha-tocopherol, beta-carotene cancer prevention study: effects of base-line characteristics and study compliance. *J Natl Cancer Inst* **88**, 1560–1570.
  16. Druesne-Pecollo N, Latino-Martel P, Norat T, *et al.* (2010) Beta-carotene supplementation and cancer risk: a systematic review and metaanalysis of randomized controlled trials. *Int J Cancer* **127**, 172–184.
  17. Touvier M, Kesse E, Clavel-Chapelon F, *et al.* (2005) Dual association of beta-carotene with risk of tobacco-related cancers in a cohort of French women. *J Natl Cancer Inst* **97**, 1338–1344.
  18. Hercberg S, Castetbon K, Czernichow S, *et al.* (2010) The Nutrinet-Santé Study: a web-based prospective study on the relationship between nutrition and health and determinants of dietary patterns and nutritional status. *BMC Public Health* **10**, 242.
  19. Craig CL, Marshall AL, Sjöström M, *et al.* (2003) International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. *Med Sci Sports Exerc* **35**, 1381–1395.
  20. Vergnaud AC, Touvier M, Mejean C, *et al.* (2011) Agreement between web-based and paper versions of a socio-demographic questionnaire in the NutriNet-Santé study. *Int J Public Health* **56**, 407–417.
  21. Touvier M, Kesse-Guyot E, Mejean C, *et al.* (2011) Comparison between an interactive web-based self-administered 24 h dietary record and an interview by a dietitian for large-scale epidemiological studies. *Br J Nutr* **105**, 1055–1064.
  22. Touvier M, Mejean C, Kesse-Guyot E, *et al.* (2010) Comparison between web-based and paper versions of a self-administered anthropometric questionnaire. *Eur J Epidemiol* **25**, 287–296.
  23. Hercberg S, Deheeger M & Preziosi P (2002) *SU.VI.MAX Portions alimentaires manuel-photos pour l'estimation des quantités (SU.VI.MAX. Photograph Book for the Estimation of portion sizes)*. Paris: Editions Polytechnica.
  24. Plan National Nutrition Santé (PNNS) (2009) *Nutrition et Prévention des cancers: des connaissances scientifiques aux recommandations (Nutrition and Cancer Prevention: From Scientific Knowledge to Recommendations)*. Paris: Comelli.
  25. Black AE (2000) Critical evaluation of energy intake using the Goldberg cut-off for energy intake: basal metabolic rate. A practical guide to its calculation, use and limitations. *Int J Obes Relat Metab Disord* **24**, 1119–1130.
  26. Martin A (2001) *Apports nutritionnels conseillés pour la population française (Recommended Dietary Allowances for the French Population)*, 3rd ed. Paris: Tec & Doc Lavoisier.
  27. Carriquiry AL (1999) Assessing the prevalence of nutrient inadequacy. *Public Health Nutr* **2**, 23–33.
  28. National Research Council (1985) *Nutrient Adequacy: Assessment using Food Consumption Surveys, Subcommittee on Criteria for Dietary Evaluation*. Washington, DC: National Research Council.
  29. Nusser SM, Carriquiry AL, Dodd KW, *et al.* (1996) A semi-parametric transformation approach to estimating usual daily intake distributions. *J Am Stat Assoc* **91**, 1440–1449.
  30. Gainier C, Hebel P (2005) Qui sont les consommateurs de compléments alimentaires et les consommateurs d'aliments santé? (Who are the consumers of dietary supplements and health food consumers?) In IREMAS 2eme colloque international, Paris.
  31. EFSA Panel on Dietetic Products NaAN (2010) Scientific opinion on the substantiation of health claims related to magnesium and "hormonal health" (ID 243), reduction of tiredness and fatigue (ID 244), contribution to normal psychological functions (ID 245, 246), maintenance of normal blood glucose concentrations (ID 342), maintenance of normal blood pressure (ID 344, 379), protection of DNA, proteins and lipids from oxidative damage (ID 351), maintenance of the normal function of the immune system (ID 352), maintenance of normal blood pressure during pregnancy (ID 367), resistance to mental stress (ID 375, 381), reduction of gastric acid levels (ID 376), maintenance of normal fat metabolism (ID 378) and maintenance of normal muscle contraction (ID 380, ID 3083) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No. 1924/2006. *EFSA J* **8**, 1–35.
  32. EFSA Panel on Dietetic Products NaAN (2010) Scientific opinion on the substantiation of health claims related to vitamin B<sub>6</sub> and contribution to normal homocysteine metabolism (ID 73, 199), maintenance of normal bone (ID 74), maintenance of normal teeth (ID 74), maintenance of normal hair (ID 74), maintenance of normal skin (ID 74), maintenance of normal nails (ID 74), contribution to normal energy-yielding metabolism (ID 75, 214), contribution to normal psychological functions (ID 77), reduction of tiredness and fatigue (ID 78), and contribution to normal cysteine synthesis (ID 4283) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No. 1924/2006. *EFSA J* **8**, 1–35.
  33. EFSA Panel on Dietetic Products NaAN (2010) Scientific opinion on the substantiation of health claims related to vitamin C and reduction of tiredness and fatigue (ID 139, 2622), contribution to normal psychological functions

- (ID 140), regeneration of the reduced form of vitamin E (ID 202), contribution to normal energy-yielding metabolism (ID 2334, 3196), maintenance of the normal function of the immune system (ID 4321) and protection of DNA, proteins and lipids from oxidative damage (ID 3331) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No. 1924/2006. *EFSA J* **8**, 1–20.
34. Boon H, Hirschhorn K, Griener G, *et al.* (2009) The ethics of dietary supplements and natural health products in pharmacy practice: a systematic documentary analysis. *Int J Pharm Pract* **17**, 31–38.
  35. Satia-Abouta J, Kristal AR, Patterson RE, *et al.* (2003) Dietary supplement use and medical conditions: the VITAL study. *Am J Prev Med* **24**, 43–51.
  36. Murphy SP & Poos MI (2002) Dietary reference intakes: summary of applications in dietary assessment. *Public Health Nutr* **5**, 843–849.
  37. Bailey RL, Fulgoni VLIII, *et al.* (2011) Dietary supplement use is associated with higher intakes of minerals from food sources. *Am J Clin Nutr* **94**, 1376–1381.
  38. Reinert A, Rohrmann S, Becker N, *et al.* (2007) Lifestyle and diet in people using dietary supplements. *Eur J Nutr* **46**, 165–173.
  39. Mullie P, Clarys P, Hulens M, *et al.* (2011) Socioeconomic, health, and dietary determinants of multivitamin supplements use in Belgium. *Int J Public Health* **56**, 289–294.
  40. Jeon YJ, Myung SK, Lee EH, *et al.* (2011) Effects of beta-carotene supplements on cancer prevention: meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutr Cancer* **63**, 1196–1207.
  41. Ventola C (2010) Current issues regarding complementary and alternative medicine (CAM) in the United States. *Pharma Therap* **35**, 461–468.
  42. Tetens I, Biloft-Jensen A, Spagner C, *et al.* (2011) Intake of micronutrients among Danish adult users and non-users of dietary supplements. *Food Nutr Res* **55** (Epublication ahead of print version 7 September 2011).
  43. Shakur YA, Tarasuk V, Corey P, *et al.* (2012) A comparison of micronutrient inadequacy and risk of high micronutrient intakes among vitamin and mineral supplement users and nonusers in Canada. *J Nutr* **142**, 534–540.
  44. Palmer ME, Haller C, McKinney PE, *et al.* (2003) Adverse events associated with dietary supplements: an observational study. *Lancet* **361**, 101–106.
  45. Tsai HH, Lin HW, Simon Pickard A, *et al.* (2012) Evaluation of documented drug interactions and contraindications associated with herbs and dietary supplements: a systematic literature review. *Int J Clin Pract* **66**, 1056–1078.
  46. Hardy ML (2008) Dietary supplement use in cancer care: help or harm. *Hematol Oncol Clin North Am* **22**, 581–617, vii.
  47. Maillot M, Vieux F, Ferguson EF, *et al.* (2009) To meet nutrient recommendations, most French adults need to expand their habitual food repertoire. *J Nutr* **139**, 1721–1727.
  48. Agence bio CSA (2011) *Baromètre de consommation et de perception des produits biologiques en France (Barometer of Consumption and Perception of Organic Products in France)*. Edition 2011.
  49. Beitz R, Mensink GBM, Hintzpeter B, *et al.* (2004) Do users of dietary supplements differ from nonusers in their food consumption? *Eur J Epidemiol* **19**, 335–341.
  50. McNaughton SA, Mishra GD, Paul AA, *et al.* (2005) Supplement use is associated with health status and health-related behaviors in the 1946 British birth cohort. *J Nutr* **135**, 1782–1789.

# Socioeconomic, Lifestyle and Dietary Factors Associated with Dietary Supplement Use during Pregnancy

Camille Pouchieu<sup>1\*</sup>, Rachel Lévy<sup>1,2</sup>, Céline Faure<sup>1,2</sup>, Valentina A. Andreeva<sup>1</sup>, Pilar Galan<sup>1</sup>, Serge Hercberg<sup>1,3</sup>, Mathilde Touvier<sup>1</sup>

**1** Nutritional Epidemiology Research Team, Sorbonne Paris Cité Research Center, Insem U557, Inra, Cnam, Paris 13 University, SMBH Paris 13, Bobigny, France, **2** Reproductive Biology Unit-CECOS, Jean Verdier Hospital, Bondy, France, **3** Public Health Department, Avicenne Hospital, Bobigny, France

## Abstract

**Background:** Information on dietary supplement (DS) use during pregnancy is largely lacking. Besides, little is known about the share of DS use as self-medication versus such use following a physician's advice/prescription. Our aim was to evaluate DS use and its socioeconomic, lifestyle and dietary correlates among pregnant women participating in the French NutriNet-Santé cohort study.

**Method:** Data were collected by self-administered web-based questionnaires. Food intake was assessed by repeated 24 h dietary records. 903 pregnant women provided data on their DS use (both "regular" DS and medication containing mainly vitamins/minerals). Supplement users were compared to non-users by unconditional logistic regression.

**Results:** DS use—in general and as regards folic acid in particular—was positively correlated with age, being primiparous, having higher income and belonging to a higher socioprofessional category. DS users had significantly higher dietary intakes of most vitamins and minerals. The proportion of DS users (e.g., those reporting use at least three days a week) increased significantly with the trimester of pregnancy (58.0%, 62.2% and 74.5%, respectively). 50.2% of women in their 1st trimester used folic acid. The proportion of iron users tripled from the 1st to the 3rd trimester (18.5 to 63.9%). DS use was prescribed or recommended by a physician in 86.7% of the cases.

**Conclusion:** This study provided new and detailed information on DS use and its correlates during pregnancy. Even in this relatively well-educated population, folic acid supplementation at the beginning of pregnancy was inadequate and was associated with socioeconomic and demographic disparities.

**Citation:** Pouchieu C, Lévy R, Faure C, Andreeva VA, Galan P, et al. (2013) Socioeconomic, Lifestyle and Dietary Factors Associated with Dietary Supplement Use during Pregnancy. PLoS ONE 8(8): e70733. doi:10.1371/journal.pone.0070733

**Editor:** Shannon M. Hawkins, Baylor College of Medicine, United States of America

**Received:** April 30, 2013; **Accepted:** June 27, 2013; **Published:** August 13, 2013

**Copyright:** © 2013 Pouchieu et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Funding:** The NutriNet-Santé cohort study is funded by the following public institutions: Ministère de la Santé, Institut de Veille Sanitaire (InVS), Institut National de la Prévention et de l'Éducation pour la Santé (INPES), Fondation pour la Recherche Médicale (FRM), Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), Conservatoire National des Arts et Métiers (CNAM) and Paris 13 University. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

**Competing Interests:** The authors have declared that no competing interests exist.

\* E-mail: c.pouchieu@uren.smbh.univ-paris13.fr

## Introduction

Pregnancy is a physiologically-specific period during which the needs for some nutrients increase. While the nutrient requirements of the general population can be met by an adequate diet, risk of suboptimal micronutrient intake is common during pregnancy [1] and supplements might be useful to meet dietary requirements for specific key nutrients. In France as in several other countries, 0.4 mg/day of folic acid is recommended before the conception, at the beginning of pregnancy to reduce the risk of neural tube defects (NTD), and also later during pregnancy, to prevent megaloblastic anemia in the mother [2–7]. The 2011 incidence of NTD in France was estimated at 1.0 case per 1000 births [8], while upwards of 200 cases per year could be prevented by improving folic acid intake [9]. This has led some countries to proceed with large-scale dietary folic acid fortification programmes [10]. The prevalence of anemia in developed countries (due to iron deficiency in 2/3 of the cases) is estimated at around 5% before

pregnancy and is tripled during pregnancy [11]. Anemia is a risk factor for preterm delivery, low birth weight and cognitive impairment in the infant [12,13]. Vitamin D deficiency has been associated with the risk of pre-eclampsia, gestational diabetes, preterm delivery, low birth weight, and low fetal bone mineral content [14]. Iodine deficiency is associated with maternal and fetal goiter, cretinism, intellectual impairments, neonatal hypothyroidism, increased risk of miscarriage and infant mortality [15]. Thus, folic acid, iron, vitamin D and iodine supplementation at moderate doses is recommended for pregnant women at risk of deficiency. In contrast, other systematic supplementation is not necessary in the absence of specific pathological situations and some supplements should even be avoided [16]. Excessive intake of retinol [17] or vitamin E [18], for example, may have serious deleterious effects on fetal development. According to the Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD) concept [19], exposure to nutritional factors in utero is likely to have major

health consequences in later life, notably through epigenetic mechanisms [20,21].

Despite being of major public health concern, little information is available regarding dietary supplement (DS) use in pregnant women worldwide [4,22–26]. Some studies conducted in various countries have suggested that DS use may be more frequent in older [24,27,28], well-educated [24,25,27,28], non-smoking and primiparous women [24]. However, information is lacking about differences in nutrient intake from food between pregnant DS users and non-users. If DS use is indeed associated with different sociodemographic, economic, lifestyle, and dietary factors, an accurate assessment of these associations is necessary in order to better target the nutritional recommendations regarding pregnant women's supplementation with specific nutrients.

Our objectives were: 1) to investigate the demographic, socioeconomic, lifestyle and dietary correlates of overall and folic acid DS use in pregnant women included in the NutriNet-Santé cohort study; and 2) to assess the role of physicians in the motives for DS purchases and the proportion of self-medicating users.

## Methods

### Study population

Worldwide, the NutriNet-Santé study is the first large-scale population-based prospective cohort study that is exclusively Internet-based. It aims at elucidating the relationships between nutrition and chronic disease risk, as well as defining the determinants of eating behaviour [29]. It was launched in France in May 2009. Adults ( $\geq 18$  y) living in France and having access to the Internet are recruited via mass-media campaigns. The study was approved by the Institutional Review Board of the French Institute for Health and Medical Research (IRB Inserm n°0000388FWA00005831) and the "Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés" (CNIL n°908450 and n°909216). Written informed consent was obtained from all subjects.

### Data collection

Participants fill in self-administered web-based questionnaires at baseline and then regularly during the follow-up. Several of the baseline questionnaires were tested and compared against traditional assessment methods (paper questionnaires or interviews by a dietitian) [30–32]. In the NutriNet-Santé study, 60388 women had completed the DS questionnaire.

**Pregnancy data.** At baseline and regularly over the follow-up, data on current pregnancy and due date were collected through health status questionnaires.

**Dietary supplement use.** The questionnaire regarding DS use was administered two months after baseline in the entire cohort. In our study, we considered as DS both regular DS and medicinal supplements mainly composed of vitamins and minerals, which are treated as pharmaceutical products in France. Participants were asked if they were currently taking any supplement at least 3 days a week. They were also asked to specify the type of DS using a list of 34 different nutrients and substances. They had to refer to the nutritional information on the packaging of the DS that they were currently taking. Circumstances of DS purchase (notably role of physicians versus self-medication) were also reported.

**Demographic, socioeconomic, lifestyle and behavioural data.** At baseline, self-administered questionnaires were used to collect data on demographic, socioeconomic and lifestyle characteristics, including age, geographical region, marital status, number of children, educational level, socioprofessional category, and income.

**Dietary data.** Each year, the participants are asked to complete three non-consecutive self-administered web-based 24 h dietary records, the days for which are randomly assigned during a two-week period (two days during the week and one day during the weekend). All foods and beverages consumed at breakfast, lunch, dinner and at all other occasions are recorded. For foods with potentially high nutrient variability, participants are also asked to provide the brand name. The participants are asked to estimate the portion size for each reported food and beverage item using validated photographs [33]. Daily dietary intakes of energy and nutrients are then calculated using the NutriNet-Santé food composition table, which includes more than 2500 different foods.

Knowledge of official nutritional recommendations as provided in the French National Nutrition and Health Programme (PNNS) was also assessed. Finally, a specific questionnaire was used to assess the opinion and behaviour of women as regards organic food.

### Statistical analyses

All women who entered the cohort before September 2012 and had completed the DS questionnaire while pregnant were included in the present study ( $n = 903$ ).

We estimated the proportion of DS users overall and according to the trimester of pregnancy. Types of DS as well as circumstances of purchase were also described.

DS users (overall and specifically regarding folic acid) and non-users were compared by age-adjusted unconditional logistic regression analyses, regarding their sociodemographic characteristics (age, geographical region, marital status, number of children, education, income, and socioprofessional category), knowledge of official nutritional recommendations and organic food consumption. Odds ratios (OR) and 95% confidence intervals (CI) were calculated.

The mean daily intake of dietary micro- and macro-nutrients was compared via logistic regression between DS users and non-users after adjustment for age, number of 24 h records and energy intake. Only women who provided at least one dietary record during their pregnancy and who were normo-energy reporters according to the Goldberg criteria [34] were included in this part of the analysis.

A P-value  $< 0.05$  was considered significant in all statistical tests. All tests were two-sided. Analyses were carried out with SAS software (Release 9.1, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

## Results

Among the 903 pregnant women included in this study, 31% were in the 1<sup>st</sup> trimester of pregnancy, 36% in the 2<sup>nd</sup>, and 33% in the 3<sup>rd</sup> at the time of the DS questionnaire completion. Sociodemographic characteristics of the study population are presented in Table 1. The average age of the participants was  $31.7 \pm 4.07$  years. A high proportion of pregnant women (64.9%) used DS at least three days a week. The corresponding proportion among the non-pregnant women of childbearing age in the cohort was only 29.1% (data not shown). The proportion of DS users increased significantly with the trimester of pregnancy (58.0%, 62.2% and 74.5% in the first, second and third trimester, respectively).

### Demographic, socioeconomic and behavioural correlates of overall and folic acid dietary supplement use

As compared with non-users (Table 1), pregnant women who used DS were more likely to be older, to live in the Paris

**Table 1.** Demographic, socioeconomic and lifestyle correlates of dietary supplement use in pregnant women of the NutriNet-Santé cohort study.

	All Pregnant women		Supplement Non-Users		Supplement Users <sup>1</sup>		Age adjusted logistic regression analyses	
	(n = 903)		(n = 317)		(n = 586)		OR	p <sup>2</sup>
	n	%	n	%	n	%		
Age <sup>3</sup>	31.7	4.07	31.1	4.22	32.1	3.94	1.06 [1.02–1.10]	0.001
Geographical region								0.0007
Paris metropolitan area	198	21.9	46	14.5	152	25.9	1.00	
North	66	7.3	33	10.4	33	5.6	0.26 [0.09–0.77]	
North-West	142	15.7	48	15.1	94	16.0	0.61 [0.38–0.99]	
Center	225	24.9	76	24.0	149	25.4	0.61 [0.40–0.95]	
South-West	71	7.9	27	8.5	44	7.5	0.52 [0.29–0.93]	
North-East	97	10.7	37	11.7	60	10.2	0.52 [0.31–0.89]	
South-East	89	9.9	42	13.2	47	8.0	0.35 [0.20–0.59]	
Corsica & overseas depts/territories	15	1.7	8	2.5	7	1.2	0.26 [0.09–0.77]	
Marital Status								0.6
Married or living with partner	847	93.8	295	93.1	552	94.2	1.00	
Single	56	6.2	22	6.9	34	5.8	0.84 [0.48–1.48]	
Number of children								0.003
0	518	57.4	171	53.9	347	59.2	1.00	
1	262	29.0	97	30.6	165	28.2	0.70 [0.50–0.97]	
2 & more	123	13.6	49	15.5	74	12.6	0.52 [0.34–0.82]	
Education								0.4
<12 years of schooling	37	4.1	16	5.0	21	3.6	1.00	
>= 12 years of schooling	866	95.9	301	95.0	565	96.4	1.32 [0.67–2.60]	
Income (€/month)								0.0004
<1670	71	7.9	35	11.0	36	6.1	1.00	
1670–3130	328	36.3	134	42.3	194	33.1	1.35 [0.81–2.27]	
>3130	504	55.8	148	46.7	356	60.8	2.09 [1.25–3.50]	
Socioprofessional category								0.008
Executive and intellectual professions	322	35.7	94	29.7	228	38.9	1.00	
Intermediate professions	253	28.0	79	24.9	174	29.7	0.96 [0.67–1.39]	
Employees	280	31.0	119	37.5	161	27.5	0.61 [0.43–0.87]	
Manual workers, farmers and self-employed	28	3.1	14	4.4	14	2.4	0.42 [0.19–0.92]	
Never employed	20	2.2	11	3.5	9	1.5	0.45 [0.17–1.16]	
Knowledge of official nutritional recommendations <sup>4</sup>								0.1
Poor (0–2)	191	21.2	78	22.9	113	19.0	1.00	
Average (3)	217	24.0	73	23.2	144	25.1	1.35 [0.90–2.02]	
Good (4–5)	495	54.8	166	53.9	329	55.9	1.34 [0.94–1.89]	
Organic food consumption <sup>5</sup>								0.2
Never (avoid organic products)	191	25.5	79	29.7	112	23.2	1.00	
Indifferent to organic food	88	11.7	32	12.0	56	11.6	1.18 [0.70–2.00]	
Occasional consumption	239	31.9	75	28.2	164	34.0	1.53 [1.03–2.28]	
Regular consumption	231	30.8	80	30.1	151	31.3	1.37 [0.92–2.05]	

<sup>1</sup>Dietary supplement users were defined as the subjects who used dietary supplement(s) at least 3 days a week at the time of the DS questionnaire.

<sup>2</sup>P for linear trend (with adjustment for age, number of children, income, and knowledge of nutritional recommendations) or overall P (for all other variables).

<sup>3</sup>Values are n % for all variables except for age where values are mean SD.

<sup>4</sup>From the French National Nutrition and Health Programme.

<sup>5</sup>Determined by multiple correspondence analysis of data from a questionnaire on organic food consumption (5 clusters defined by the first 3 discriminant axes). Because of missing values, the proportions of subjects were calculated with 483 supplement users and 266 non-users.

doi:10.1371/journal.pone.0070733.t001



metropolitan area, to have had no biological children, to have a higher income, and to occupy an executive/high-skilled position (compared to manual workers and low-skilled staff). The same correlates were statistically significant specifically for folic acid supplement use ( $P=0.02$  for age,  $0.01$  for geographical region,  $0.0001$  for number of children,  $0.001$  for income, and  $0.007$  for socioprofessional category, data not tabulated).

### Overall and specific DS use according to the trimester of pregnancy

The three substances most commonly reported were folic acid, iron and magnesium (Table 2). About half of the women used folic acid in the 1<sup>st</sup> trimester. The proportion of iron users tripled from the 1<sup>st</sup> to the 3<sup>rd</sup> trimester. 15.5% of women reported taking vitamin D supplements on a regular/daily basis (information about single-dose use was not available). The proportion of vitamin D users during pregnancy was respectively 16.9%, 14.8%, 15.4% and 9.8% in women who delivered during the spring, summer, fall and winter, respectively (data not shown). The proportion of pregnant women using iodine DS reached 25.6% in the 2<sup>nd</sup> trimester. Retinol supplement use reached 5.8% during the last trimester of pregnancy. Vitamin E supplements were used by 29.0% of women in the 2<sup>nd</sup> trimester. About 11% of the women reported taking herbal supplements.

### Circumstances of dietary supplement purchase

37 women were excluded from these analyses because of missing data. A very high proportion of pregnant women (86.7%) reported taking DS with a medical prescription or following physician advice (Table 3). The proportion of users of prescribed DS increased significantly from 67% in the 1<sup>st</sup> trimester to 76% in the 3<sup>rd</sup> trimester. 18.6% of pregnant women reported taking their supplements following advice of a pharmacist.

### Dietary intake associated with DS use

Among the 903 pregnant women included in this study, 74% ( $n=666$ ) provided dietary data during their pregnancy and were normo-reporters; thus they were included in the following analyses. Most of those participants (73%) provided three 24 h dietary records, 17% provided 2 dietary records and only 10% provided only 1 record. DS users had significantly higher dietary intakes of most vitamins and minerals (i.e. thiamin, riboflavin, vitamin B6, folic acid, beta-carotene, vitamin E, iron, magnesium and potassium) (Table 4). DS users had slightly lower intakes of vitamin D than did DS non-users. Regarding folic acid intake from food, only 181 (27%) pregnant women reached the recommended dose of 0.4 mg/day and this proportion was significantly higher in folic acid supplement users than in non-users (33% vs. 23%;  $P=0.002$ , data not tabulated).

### Discussion

The present study highlighted demographic, socioeconomic and lifestyle disparities associated with DS use. Users of DS in general and of folic acid in particular were slightly older and belonged to higher socioeconomic classes, consistent with reports from other developed countries [23,24,27,28,35,36]. Demographic and socioeconomic disparities associated with nutritional behaviour during pregnancy are of major public health importance as they are the precursors of socioeconomic inequalities regarding the health status of the next generation [37]. While some medicinal supplements recommended during pregnancy were partly reimbursed by social security/assistance programmes, the extra cost to the patient may deter DS purchases in low-income households.

Besides, women with low income likely visit physicians less often and are might be less aware of nutritional recommendations compared to their more affluent counterparts.

The fact that women who already had children took fewer DS in general and folic acid in particular is also of major concern and has been observed in other countries [4,28,36]. This may be related to the fact that women who have already been pregnant in the past have fewer physician consultations in early pregnancy and/or are less compliant with the physician's recommendations.

Disparities between pregnant DS users and non-users also appeared as regards nutritional intake from food. Indeed, DS users had significantly higher dietary intakes of most vitamins and minerals, as previously reported in pregnant women [24] and in the general adult population [38]. A recent study in the Netherlands showed an inverse association between a Mediterranean diet rich in fruit, vegetables, fish, legumes and cereals and the risk of spina bifida in the offspring [39]. Thus, diet quality during pregnancy is of major public health importance. Our results highlight a combination of two risk factors (a poorer diet and an absence of supplementation for key nutrients) that may act synergically to increase the risk of disease in the foetus.

Whereas medical prescription or advice represented about 55% of DS use in the general NutriNet-Santé study [38], this proportion was much higher in pregnant women (86.7%), while self-medication with DS was still reported by about 15% of the pregnant women. This proportion was much lower than those documented in Australian and US studies [36,40]. To our knowledge, such data have not been published for other European countries. In our study, 18.6% of DS users reported taking their supplements following advice of a pharmacist. It has been suggested that some pharmacists might be ill-equipped to counsel pregnant women about these products, and an ethical issue stemming from the profit-motive may occur [41].

During pregnancy, the nutritional requirements for several key nutrients (folic acid, iron, vitamin D and iodine in particular) increase, hence, supplemental intake under medical supervision may be beneficial. In our study, only 27% of pregnant women reached the recommended folate intake of 0.4 mg/day with food only. In turn, folic acid was the most frequently used nutrient in DS in our study. The proportion of folic acid users was higher than that observed in the 2010 French perinatal survey (40% took folic acid supplements during pregnancy and 24% before and/or at the time of conception [42]) but much lower than in other developed countries [4,23,36,43,44]. The potential harm of systematic folic acid supplementation has been questioned, but a recent meta-analysis of 13 trials showed that folic acid supplementation did not increase cancer risk at any site [45]. One of the issues regarding folic acid supplementation is that unplanned pregnancies possibly miss the critical period during which supplementation would be beneficial. [10,46]

Iron requirements increase during pregnancy, especially over the last trimester [2,12]. The current recommendation is to prescribe iron supplementation if women are at risk of insufficiency [16]. This is consistent with our results: iron was the second most frequently used supplemental nutrient, and its use tripled between the first and the last trimester, reaching 64% of users. However, this proportion is lower than in other developed countries [23,28,47].

Next, the current practice in France is to prescribe a single dose of 100 000 IU of vitamin D at the sixth month of pregnancy notably when the last trimester would take place in the winter [16]. However, our DS questionnaire (designed for the general population) did not capture information about the use of single-dose vitamin D medication. Nonetheless, our study provides

**Table 2.** Overall and specific dietary supplement use in pregnant women of the NutriNet-Santé cohort study, according to the trimester of pregnancy<sup>1</sup>.

	All pregnant women		1 <sup>st</sup> trimester		2 <sup>nd</sup> trimester		3 <sup>rd</sup> trimester		p <sup>2</sup>
	(n = 903)		(n = 281)		(n = 328)		(n = 294)		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
<b>Overall supplement use</b>	586	64.9	163	58.0	204	62.2	219	74.5	0.0001
<b>Specific supplement use<sup>3</sup></b>									
Folic acid	406	45.0	141	50.2	144	43.9	121	41.2	0.07
Iron	380	42.1	52	18.5	140	42.7	188	63.9	<0.0001
Magnesium	289	32.0	57	20.3	111	33.8	121	41.2	<0.0001
Vitamin B6	240	26.6	48	17.1	105	32.0	87	29.6	<0.0001
Thiamin	233	25.8	49	17.4	105	32.0	79	26.9	0.0002
Riboflavin	229	25.4	46	16.4	103	31.4	80	27.2	<0.0001
Vitamin E	205	22.7	39	13.9	95	29.0	71	24.1	<0.0001
Vitamin B12	197	21.8	46	16.4	83	25.3	68	23.1	0.02
Zinc	187	20.7	41	14.6	83	25.3	63	21.4	0.004
Vitamin B8	182	20.2	38	13.5	79	24.1	65	22.1	0.004
Iodine	182	20.2	37	13.2	84	25.6	61	20.7	0.0007
Pantothenic acid	165	18.3	42	14.9	70	21.3	53	18.0	0.07
Other minerals <sup>4</sup>	148	16.4	31	11.0	64	19.5	53	18.0	0.01
Vitamin D	140	15.5	35	12.5	60	18.3	45	15.3	0.1
Vitamin C	142	15.7	23	8.2	68	20.7	51	17.3	0.0001
Niacin	134	14.8	37	13.2	51	15.5	46	15.6	0.6
ω3 fatty acids	99	11.0	20	7.1	47	14.3	32	10.9	0.02
Calcium	92	10.2	17	6.0	36	11.0	39	13.3	0.02
Other herbal supplement	72	8.0	20	7.1	26	7.9	26	8.8	0.97
Selenium	69	7.6	8	2.8	33	10.1	28	9.5	0.003
Retinol	41	4.5	6	2.1	18	5.5	17	5.8	0.08
Phosphorus	27	3.0	8	2.8	10	3.0	9	3.1	0.98
Evening primrose, borage, or cod liver oil	18	2.0	4	1.4	11	3.4	3	1.0	0.1
Beta-carotene	11	1.2	1	0.4	5	1.5	5	1.7	0.3
Fluoride	11	1.2	3	1.1	3	0.9	5	1.7	0.7
Acerola, guarana or cranberry supplement	10	1.1	3	1.1	5	1.5	2	0.7	0.6
Vitamin K	6	0.7	2	0.7	3	0.9	1	0.3	0.7
Fiber	4	0.4	3	1.1	1	0.3	0	0.0	0.6
Ginseng	3	0.3	2	0.7	0	0.0	1	0.3	0.8
Amino acids/proteins	3	0.3	1	0.4	1	0.3	1	0.3	0.99
Phytoestrogens	2	0.2	2	0.7	0	0.0	0	0.0	0.99
Lutein	1	0.1	0	0.0	0	0.0	1	0.3	-

<sup>1</sup>DS users were defined as the subjects who used dietary supplement(s) at least 3 days a week at the time of the DS questionnaire.

<sup>2</sup>Comparison of overall and specific DS use among pregnant women according to the trimester of pregnancy by unconditional logistic regression analysis adjusted for age.

<sup>3</sup>Nutrients and other substances were consumed alone or in combination in the same DS.

<sup>4</sup>Potassium, copper, lithium, manganese, chromium, and others.

doi:10.1371/journal.pone.0070733.t002

important data on regular vitamin D supplement use, which concerned 15.5% of pregnant women.

The World Health Organization recommends a dose of 250 µg/d of iodine for pregnant women if access to iodized salt cannot be guaranteed [48]. In France, no systematic iodine supplementation is practiced [16]. In our study, the proportion of pregnant women using iodine supplementation reached 25.6%

among those who were in their second trimester of pregnancy, as also observed in the US [15].

In contrast, several arguments encourage caution regarding supplement use as self-medication during pregnancy. They pertain to the potential toxicity associated with overdose of some nutrients or bioactive compounds and the potential deleterious effects of some herbal supplements, alone or when combined with certain

**Table 3.** Motives for dietary supplement purchase in pregnant women of the NutriNet-Santé cohort study.

Motives for dietary supplement purchase <sup>2</sup>	Pregnant women who used supplements <sup>1</sup>	
	n	%
With medical prescription or advice	476	86.7
With medical prescription	382	69.6
Following medical advice	160	29.1
Following advice of a pharmacist	102	18.6
Following advice of a dietitian	6	1.1
Following advice of another health professional	31	5.6
Following advice of a friend/family member	45	8.2
Discovered DS in the store by themselves	25	4.6
Read about the DS in a book	17	3.1
Learned about the DS from the media (television, magazine, etc.)	17	3.1
Following advice received in the store (except in a pharmacy)	7	1.3
Saw an advertisement	2	0.4
Other circumstances	24	4.4
Do not know	1	0.2

<sup>1</sup>DS users were defined as the subjects who used dietary supplement(s) at least 3 days a week at the time of the dietary supplement questionnaire. Data regarding circumstances of dietary supplement use were available for 94% of supplement users (i.e. 549 women out of 586).

<sup>2</sup>Several answers possible.

doi:10.1371/journal.pone.0070733.t003

medications [40,49]. Excessive retinol intake is associated with increased risk of teratogenicity [17,50] and retinol supplementation during pregnancy is not recommended. In our study, 5.8% of pregnant women used retinol supplements during the third trimester. A recent study showed that high maternal dietary and supplemental intake of vitamin E (>14.9 mg/day) was associated with a nine-fold increased risk of coronary heart disease in the offspring [18]. Thus, vitamin E DS use during pregnancy is of major concern. In our study, mean intake of vitamin E from food was 12 mg/day and nearly 30% of women used vitamin E supplements during the second trimester of pregnancy. 11% of the pregnant women used herbal supplements and only two women in this study took phyto-oestrogen supplementation.

To our knowledge, this epidemiologic study is the first which examined DS use and its correlates in French pregnant women. Its strengths include a substantial number of subjects, detailed evaluation of socioeconomic and lifestyle factors associated with DS use and detailed information on dietary intake.

Several limitations should be acknowledged. Caution is needed when extrapolating our results to pregnant women in general as this study was based on a sample of volunteers involved in an Internet-based cohort study on nutrition and health. Compared to pregnant women in the general French population, those participating in our study were older, better educated, and belonged to higher socioprofessional categories [42]. However, the direction of bias is predictable and suggests that supplement use in French pregnant women is probably slightly lower than what is observed in the present study. In addition, the major objective of this work was to investigate the associations between DS use and several individual-level correlates. Thus, the diversity of the sample (rather than its representativeness) is regarded the important parameter. Besides, this study included about 8% of women from lower socioprofessional categories (a population group that is usually difficult to reach), allowing us to perform between-class comparisons. Second, no information was available regarding folic

acid and other DS use before pregnancy, while this period is critical regarding NTD prevention. Third, the distinction between medically-assisted versus spontaneous and planned versus unplanned pregnancies could not be made in this study while these factors may influence DS use [51]. Fourth, longitudinal follow-up of DS use during pregnancy was not available in this study (women were divided according to trimester groups in a cross-sectional manner). Fifth, although three dietary records are appropriate to adequately estimate energy intake [52], they may not capture all of the variability of dietary intake during the entire pregnancy. Next, the nutrient doses from the DS were not quantified. Finally, no information was available regarding biomarkers of nutritional status or ethnicity in this study, since a specific authorization is required in France to collect such sensitive data.

## Conclusion

This study provides new and detailed information on DS use and its correlates during pregnancy, highlighting socioeconomic differences in that dietary behaviour. In particular, women from lower socioeconomic classes were less likely to benefit from folic acid supplementation. 15% of pregnant women relied on self-medication. Even in this relatively well-educated and well-off population, folic acid supplementation at the beginning of pregnancy remained insufficient (only 50%), whereas only 27% of women reached the recommended 0.4 mg/day with food intake. In contrast, irrelevant supplementation practices have been identified (notably for retinol and vitamin E). It appears necessary to increase awareness among health professionals regarding the importance of recommending use of the right nutrient at the right moment (not only for the first but also for subsequent pregnancies; pre- and post-conception), while avoiding unnecessary (and even potentially hazardous) supplementation, with special attention paid to the lower socioeconomic strata.

**Table 4.** Daily dietary nutrient intake of pregnant women of the NutriNet-Santé study, overall and according to dietary supplement use.

	All <sup>1</sup>		Non-Users of supplements		Users of supplements <sup>2</sup>		P <sup>3</sup>
	(n = 666)		(n = 237)		(n = 429)		
	mean	SD	mean	SD	mean	SD	
Energy (kcal)	1999.1	459.3	1978.5	463.5	2010.4	457.0	0.4
Alcohol (g)	0.2	1.7	0.2	1.8	0.2	1.6	0.6
Total carbohydrates (g)	222.1	58.0	218.5	59.7	224.2	57.0	0.2
Simple carbohydrates (g)	110.6	37.3	107.5	40.3	112.3	35.5	0.07
Starches (g)	110.9	34.3	110.3	34.3	111.2	34.4	0.6
Fiber (g)	19.6	6.6	18.8	6.3	20.0	6.8	0.09
Proteins (g)	79.6	19.2	79.1	18.3	80.0	19.7	0.8
Total lipids (g)	87.0	26.4	86.7	26.2	87.2	26.5	0.3
Saturated fatty acids (g)	37.7	12.9	38.0	12.9	37.6	12.9	0.07
Monounsaturated fatty acids (g)	31.9	10.6	31.4	10.4	32.2	10.7	0.8
All polyunsaturated fatty acids (g)	11.3	4.6	11.2	5.0	11.3	4.3	0.8
n-3 polyunsaturated fatty acids (g)	1.2	0.6	1.2	0.7	1.2	0.6	0.5
n-6 polyunsaturated fatty acids (g)	9.3	4.2	9.3	4.7	9.4	3.9	0.9
Thiamin (mg)	1.3	0.5	1.3	0.5	1.4	0.5	0.01
Riboflavin (mg)	1.8	0.7	1.8	0.6	1.9	0.7	0.01
Niacin (mg)	17.9	6.4	17.4	5.9	18.3	6.6	0.2
Pantothenic acid (mg)	5.5	1.7	5.4	1.7	5.6	1.7	0.3
Vitamin B6 (mg)	1.8	0.6	1.7	0.6	1.8	0.7	0.004
Folate (µg)	344.8	116.5	328.6	111.3	353.7	118.4	0.02
Vitamin B12 (µg)	4.7	5.7	5.1	8.6	4.5	3.1	0.2
Retinol (µg)	507.2	679.9	521.5	747.9	499.2	640.0	0.5
Beta carotene (µg)	3289.5	2562.0	2938.9	2006.5	3483.1	2805.9	0.02
Vitamin C (mg)	131.6	95.7	124.0	63.1	135.8	109.4	0.2
Vitamin D (µg)	2.5	1.9	2.7	2.3	2.4	1.5	0.03
Vitamin E (mg)	12.0	4.9	11.4	5.2	12.3	4.7	0.04
Sodium (mg)	2618.4	837.3	2584.6	760.7	2637.1	877.0	0.8
Calcium (mg)	1037.7	330.1	1008.9	327.0	1053.6	331.1	0.1
Iron (mg)	13.0	4.6	12.2	4.0	13.4	4.9	0.003
Magnesium (mg)	320.7	92.5	305.7	78.4	329.0	98.5	0.003
Phosphorus (mg)	1298.9	321.8	1278.7	304.7	1310.0	330.7	0.52
Potassium (mg)	3012.2	764.1	2905.3	728.4	3071.3	777.7	0.02
Zinc (mg)	10.6	3.2	10.4	2.9	10.7	3.4	0.6

<sup>1</sup>In pregnant women who provided at least one dietary record during their pregnancy.

<sup>2</sup>DS users were defined as the subjects who used dietary supplement(s) at least 3 days a week at the time of completion of the dietary supplement questionnaire.

<sup>3</sup>Unconditional logistic regression analyses adjusted for age, number of 24 h records and energy intake.

doi:10.1371/journal.pone.0070733.t004

## Acknowledgments

The authors thank Gwenaél Monot, Paul Flanzky, Mohand Ait Oufella, Yasmína Chelghoum, and Than Duong Van (computer scientists), Florence Charpentier (dietitian), Anne-Sylvie Monot-Berroyer (communication assistant), Nathalie Arnault, Véronique Gourlet, Fabien Szabo, Laurent Bourhis, and Stephen Besseau (statisticians), and Rachida Mehroug (logistics assistant) for their technical contribution to the NutriNet-Santé study.

## Author Contributions

Conceived and designed the experiments: CP MT. Performed the experiments: CP MT SH. Analyzed the data: CP. Wrote the paper: CP. Supervised the study: MT. Contributed to the data interpretation and revised each draft for important intellectual content: RL CF VAA PG SH MT. Had primary responsibility for the final content: MT. Read and approved the final manuscript: CP RL CF VAA PG SH MT.

## References

- Blumfield ML, Hure AJ, Macdonald-Wicks L, Smith R, Collins CE (2013) A systematic review and meta-analysis of micronutrient intakes during pregnancy in developed countries. *Nutr Rev* 71: 118–132.
- Martin A. (2001) The "rapports nutritionnels conseillés (ANC)" for the French population. *Reprod Nutr Dev* 41: 119–128. 10.1051/rnd:2001100.
- Lassi ZS, Salam RA, Haider BA, Bhutta ZA (2013) Folic acid supplementation during pregnancy for maternal health and pregnancy outcomes. *Cochrane Database Syst Rev* 3. Art. No: CD006896.10.1002/14651858.CD006896.pub2.
- McNally S, Bourke A (2012) Periconceptional folic acid supplementation in a nationally representative sample of mothers. *Ir Med J* 105: 236–8.
- Nilsen RM, Vollset SE, Gjessing HK, Magnus P, Meltzer HM, et al. (2006) Patterns and predictors of folic acid supplement use among pregnant women: the Norwegian Mother and Child Cohort Study. *Am J Clin Nutr* 84: 1134–1141.
- Vandevijvere S, Amsalkhir S, Van Oyen H, Moreno-Reyes R (2012) Determinants of folate status in pregnant women: results from a national cross-sectional survey in Belgium. *Eur J Clin Nutr* 66: 1172–1177.
- Candito M, Rivet R, Herbeth B, Boisson C, Rudigoz RC, et al. (2008) Nutritional and genetic determinants of vitamin B and homocysteine metabolisms in neural tube defects: A multicenter case-control study. *Am J Med Genet Part A* 146A: 1128–1133.
- EUROCAT (2012) Prevalence Tables. Available: <http://www.eurocat-network.eu/ACCESSPREVALENCEDATA/PrevalenceTables> (data uploaded 04/12/2012). Accessed 17 June 2013.
- AFSSA (2003) Enrichissement de la farine en vitamines B en France: proposition d'un programme-pilote. Available : <http://www.ladocumentationfrancaise.fr/var/storage/rapports-publics/044000441/0000.pdf>. Accessed 17 June 2013.
- Castillo-Lancellotti C, Tur JA, Uauy R (2012) Impact of folic acid fortification of flour on neural tube defects: a systematic review. *Public Health Nutr* 16: 901–911.
- Schlienger JL (2011) Dietary supplements during pregnancy: a review. *Medicine des Maladies Métaboliques* 5: 521–532.
- Milman N (2011) Iron in Pregnancy – How Do We Secure an Appropriate Iron Status in the Mother and Child? *Ann Nutr Metab* 59: 50–54. 10.1159/000321229.
- Alwan NA, Greenwood DC, Simpson NAB, McArdle HJ, Godfrey KM, et al. (2011) Dietary iron intake during early pregnancy and birth outcomes in a cohort of British women. *Hum Reprod* 26: 911–919.
- Li W, Green TJ, Innis SM, Barr SJ, Whiting SJ, et al. (2011) Suboptimal vitamin D levels in pregnant women despite supplement use. *Can J Public Health* 102: 308–12.
- Stagnaro-Green A, Sullivan S, Pearce EN (2012) Iodine Supplementation during Pregnancy and Lactation. *JAMA* 308: 2463–2464.
- Haute Autorité de Santé (2006) Recommandations professionnelles. Comment mieux informer les femmes enceintes? Available : [http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/Infos\\_femmes\\_enceintes\\_fiche.pdf](http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/Infos_femmes_enceintes_fiche.pdf). Accessed : 30 April 2013.
- Schnorr CE, Morrone MdaS, Weber MH, Lorenzi R, Behr GA, et al. (2011) The effects of vitamin A supplementation to rats during gestation and lactation upon redox parameters: Increased oxidative stress and redox modulation in mothers and their offspring. *Food and Chem Toxicol* 49: 2645–2654.
- Smedts HP, de Vries JH, Rakhshandehroo M, Wildhagen MF, Verkleij-Hagoort AC, et al. (2009) High maternal vitamin E intake by diet or supplements is associated with congenital heart defects in the offspring. *BJOG: Intern J Obstet Gynaecol* 116: 416–423.
- Barouki R, Gluckman P, Grandjean P, Hanson M, Heindel J (2012) Developmental origins of non-communicable disease: Implications for research and public health. *Environ Health* 11: 1–42. 10.1186/1476-069X-11-42.
- Stegers-Theunissen RP, Obermann-Borst SA, Kremer D, Lindemans J, Siebel C, et al. (2009) Periconceptional Maternal Folic Acid Use of 400 µg per Day Is Related to Increased Methylation of the IGF2 Gene in the Very Young Child. *PLoS ONE* 4: e7845. 10.1371/journal.pone.0007845.
- Jaddoe VW (2008) Fetal nutritional origins of adult diseases: challenges for epidemiological research. *Eur J Epidemiol* 23: 767–771. 10.1007/s10654-008-9304-9.
- Picciano MF, McGuire MK (2009) Use of dietary supplements by pregnant and lactating women in North America. *Am J Clin Nutr* 89: 663S–667S.
- Branum AM, Bailey R, Singer BJ (2013) Dietary Supplement Use and Folate Status during Pregnancy in the United States. *J Nutr*. 10.3945/jn.112.169987.
- Haugen M, Brantsaeter AL, Alexander J, Meltzer HM (2008) Dietary Supplements Contribute Substantially to the Total Nutrient Intake in Pregnant Norwegian Women. *Ann Nutr Metab* 52: 272–280.
- Tarrant RC, Sheridan-Pereira M, McCarthy RA, Younger KM, Kearney JM (2011) Maternal and infant nutritional supplementation practices in Ireland: implications for clinicians and policymakers. *Ir Med J* 104: 173–7.
- Jensen CB, Petersen SB, Granström C, Maslova E, Molgaard C, et al. (2012) Sources and Determinants of Vitamin D Intake in Danish Pregnant Women. *Nutrients* 4: 259–272. 10.3390/nu4040259.
- Sullivan KM, Ford ES, Azrak MF, Mokdad AH (2009) Multivitamin use in pregnant and nonpregnant women: results from the Behavioral Risk Factor Surveillance System. *Public Health Rep* 124: 384–90.
- Arkkola T, Uusitalo U, Pietikainen M, Metsala J, Kronberg-Kippila C, et al. (2006) Dietary intake and use of dietary supplements in relation to demographic variables among pregnant Finnish women. *Br J Nutr* 96: 913–920.
- Hercberg S, Castetbon K, Czernichow S, Malon A, Mejean C, et al. (2010) The Nutrinet-Santé Study: a web-based prospective study on the relationship between nutrition and health and determinants of dietary patterns and nutritional status. *BMC Public Health* 10: 242. 10.1186/1471-2458-10-242.
- Touvier M, Mejean C, Kesse-Guyot E, Pollet C, Malon A, et al. (2010) Comparison between web-based and paper versions of a self-administered anthropometric questionnaire. *Eur J Epidemiol* 25: 287–296.
- Touvier M, Kesse-Guyot E, Mejean C, Pollet C, Malon A, et al. (2011) Comparison between an interactive web-based self-administered 24 h dietary record and an interview by a dietitian for large-scale epidemiological studies. *Br J Nutr* 105: 1055–1064. 10.1017/S0007114510004617.
- Vergnaud AC, Touvier M, Mejean C, Kesse-Guyot E, Pollet C, et al. (2011) Agreement between web-based and paper versions of a socio-demographic questionnaire in the NutriNet-Santé study. *Intern J Public Health* 56: 407–417. 10.1007/s00038-011-0257-5.
- Hercberg S, Deheeger M, Preziosi P. (2002) SU.VI.MAX Portions alimentaires manuel-photos pour l'estimation des quantités. Paris: Editions polytechnica.132 p.
- Black AE (2000) Critical evaluation of energy intake using the Goldberg cut-off for energy intake:basal metabolic rate. A practical guide to its calculation, use and limitations. *Int J Obes Relat Metab Disord* 24: 1119–1130.
- Woude P, Walle HE, Berg LT (2012) Periconceptional folic acid use: Still room to improve. *Birth Defects Res Part A: Clin Mol Teratol* 94: 96–101. 10.1002/bdra.22382.
- Forster DA, Wills G, Denning A, Bolger M (2009) The use of folic acid and other vitamins before and during pregnancy in a group of women in Melbourne, Australia. *Midwifery* 25: 134–146. 10.1016/j.midw.2007.01.019.
- Hanson M, Gluckman P, Ma R, Matzen P, Biesma R (2012) Early life opportunities for prevention of diabetes in low and middle income countries. *BMC Public Health* 12: 1025. 10.1186/1471-2458-12-1025.
- Pouchieu C, Andreeva V, Péneau S, Kesse-Guyot E, Lassale C, et al. (2013) Socio-demographic, lifestyle and dietary correlates of dietary supplement use in a large sample of French adults: results from the Nutrinet-Santé cohort study. *Br J Nutr FirstView* 1–12. 10.1017/S0007114513000615.
- Vujkovic M, Steegers EA, Looman CW, Ocké MC, van der Spek PJ, et al. (2009) The maternal Mediterranean dietary pattern is associated with a reduced risk of spina bifida in the offspring. *BJOG* 116: 408–415.
- Tsui B, Dennehy CE, Tsourounis C (2001) A survey of dietary supplement use during pregnancy at an academic medical center. *Am J Obstet Gynecol* 185: 433–437. 10.1067/mob.2001.116688.
- Boon H, Hirschkom K, Griener G, Cali M (2009) The Ethics of Dietary Supplements and Natural Health Products in Pharmacy Practice: A Systematic Documentary Analysis. *Int J Pharm Pract* 17: 31–38.
- Ministère de l'Emploi du Travail et de la Santé, INSERM (2011) Enquête Nationale Périnatale 2010. Les naissances en 2010 et leur évolution depuis 2003. Available: [http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/Les\\_naissances\\_en\\_2010\\_et\\_leur\\_evolution\\_depuis\\_2003.pdf](http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/Les_naissances_en_2010_et_leur_evolution_depuis_2003.pdf). Accessed 30 April 2013.
- Barbour RS, Macleod M, Mires G, Anderson AS (2012) Uptake of folic acid supplements before and during pregnancy: focus group analysis of women's views and experiences. *J Hum Nutr Diet* 25: 140–147. 10.1111/j.1365-277X.2011.01216.x.
- Roy A, Evers SE, Campbell MK (2012) Dietary supplement use and iron, zinc and folate intake in pregnant women in London, Ontario. *Chronic Dis Inj Can* 32: 76–83.
- Vollset SE, Clarke R, Lewington S, Ebbing M, Halsey J, et al. (2013) Effects of folic acid supplementation on overall and site-specific cancer incidence during the randomised trials: meta-analyses of data on 50000 individuals. *Lancet* 381: 1029–36.
- Berry RJ, Bailey L, Mulinare J, Bower C, Folic Acid Working Group (2010) Fortification of flour with folic acid. *Food Nutr Bull* S22–35.
- Knudsen VK, Hansen HS, Ovesen L, Mikkelsen TB, Olsen SuF (2007) Iron supplement use among Danish pregnant women. *Public Health Nutr* 10: 1104–1110.
- WHO/UNICEF (2007) Reaching Optimal Iodine Nutrition in Pregnant and Lactating Women and Young Children. Available : [http://www.who.int/nutrition/publications/WHOSStatement\\_IDD\\_pregnancy.pdf](http://www.who.int/nutrition/publications/WHOSStatement_IDD_pregnancy.pdf). Accessed 30 April 2013.
- Buehler BA (2003) Interactions of herbal products with conventional medicines and potential impact on pregnancy. *Birth Defects Res Part B: Dev Reprod Tox* 68: 494–495.
- European Food Safety Authority (2006) Tolerable Upper Intake Levels For Vitamins and Minerals by the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA) and Scientific Committee on Food (SCF). Available: <http://www.efsa.europa.eu/en/ndatopics/docs/ndatolerableuil.pdf>. Accessed 30 April 2013.
- Timmermans S, Jaddoe VW, Mackenbach JP, Hofman A, Steegers-Theunissen RP, et al. (2008) Determinants of folic acid use in early pregnancy in a multi-

- ethnic urban population in The Netherlands: The Generation R study. *Preventive Medicine* 47: 427–432.
52. Ma Y, Olendzki BC, Pagoto SL, Hurley TG, Magner RP, et al. (2009) Number of 24-Hour Diet Recalls Needed to Estimate Energy Intake. *Ann Epidemiol* 19: 553–559.



Original article

## Prospective association between red and processed meat intakes and breast cancer risk: modulation by an antioxidant supplementation in the SU.VI.MAX randomized controlled trial

Camille Pouchieu,<sup>1\*</sup> Mélanie Deschasaux,<sup>1</sup> Serge Hercberg,<sup>1,2</sup>  
Nathalie Druesne-Pecollo,<sup>1</sup> Paule Latino-Martel<sup>1</sup> and Mathilde Touvier<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sorbonne Paris Cité, Epidemiology and Biostatistics Research Center, Nutritional Epidemiology Research Team (EREN), Inserm U1153; Inra U1125; Cnam; Paris 13,7 and 5 Universities, Bobigny, France and <sup>2</sup>Public Health Department, Avicenne Hospital, Bobigny, France

\*Corresponding author. UREN, SMBH Paris 13, 74 rue Marcel Cachin, F-93017 Bobigny Cedex, France.

E-mail: c.pouchieu@uren.smbh.univ-paris13.fr

Accepted 5 June 2014

### Abstract

**Background:** The level of evidence regarding the association between red and processed meat intakes and breast cancer risk is still low, due to insufficient prospective studies. Moreover, mechanistic data suggest that some antioxidants may modulate this relationship but epidemiological evidence is lacking. Our objectives were to investigate relationships between red and processed meat intakes and breast cancer risk, and to study whether an antioxidant supplementation modulates these associations, which, to our knowledge, has never been investigated before.

**Methods:** The SU.VI.MAX study was a randomized, double-blind, placebo-controlled trial in which participants received a combination of low-dose antioxidants or a placebo from 1994 to 2002. This observational prospective analysis included 4684 women among whom 190 developed a first incident breast cancer between 1994 and 2007 [mean (range) follow-up = 11.3 (0–13)years]. Baseline dietary data were assessed by repeated dietary records in 1994–1995. Associations between quartiles of red and processed meat intakes and breast cancer risk were characterized by multivariate Cox proportional hazards models.

**Results:** Breast cancer risk was directly associated with processed meat intake [hazard ratio (HR)<sub>Q4vsQ1</sub> = 1.45 (0.92–2.27),  $P_{\text{trend}}$  = 0.03] and this association was stronger when excluding cooked ham [HR<sub>Q4vsQ1</sub> = 1.90 (1.18–3.05),  $P_{\text{trend}}$  = 0.005]. In stratified analyses, processed meat intake was directly associated with breast cancer risk in the placebo group only [HR<sub>Q4vsQ1</sub> = 2.46 (1.28–4.72),  $P_{\text{trend}}$  = 0.001], but not in the supplemented group [HR<sub>Q4vsQ1</sub> = 0.86 (0.45–1.63),  $P_{\text{trend}}$  = 0.7].

**Conclusion:** Processed meat intake was prospectively associated with increased breast cancer risk. This study also suggests that antioxidants may modulate this

association by counteracting the potential pro-carcinogenic effects of processed meat on breast cancer.

**Key words:** Meat, meat products, breast cancer, antioxidants, prospective studies

### Key Messages

- Epidemiological studies found inconsistent results regarding the association between red and processed meat intakes and breast cancer risk, and experimental studies suggested that some antioxidants such as  $\alpha$ -tocopherol may modify these relationships.
- Using data from the SU.VI.MAX study, we investigated the prospective relationships between red and processed meat intakes and breast cancer risk, and the modifying effect of an antioxidant supplementation.
- Overall, processed meat intake was associated with increased breast cancer risk. This association was observed in the placebo group but not in the antioxidant-supplemented group.
- This study suggests that supplemental and possibly dietary antioxidants may counteract the potential pro-carcinogenic effects of processed meat on breast carcinogenesis.

## Introduction

Experimental studies support a pro-carcinogenic role of red and processed meat in the development of breast cancer. Indeed, these foods contain mutagenic by-products, such as heterocyclic amines [HCAs, among which the most prevalent are: 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP)], polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and N-nitroso compounds (NOCs), resulting from meat processing or preparation, that stimulate mammary carcinogenesis in experimental studies.<sup>1–8</sup> Red and processed meats are also important sources of the most bioavailable heme iron, which may contribute to initiate carcinogenesis via several mechanisms.<sup>9–11</sup>

However, epidemiological evidence regarding the association between red and processed meat intakes and breast cancer risk is lacking. In the framework of the Continuous Update Project in 2010, the World Cancer Research Fund (WCRF) / American Institute for Cancer Research (AICR) stated that the available evidence was still insufficient to conclude regarding the associations between red or processed meat intakes and premenopausal or postmenopausal breast cancer risk.<sup>12</sup> A meta-analysis based on six case-control studies and four cohort studies among premenopausal women<sup>13</sup> suggested an increased breast cancer risk associated with red meat consumption. Another meta-analysis,<sup>14</sup> which included data from the Pooling Project (eight cohorts) and from 10 other cohorts, showed an increased breast cancer risk associated with processed meat intakes overall and with red meat intakes in postmenopausal women only. After these two meta-analyses, one

prospective study was published and observed null associations between types of meat intake and breast cancer risk.<sup>15</sup> Thus, no consensus has been reached so far and new prospective studies are needed to more thoroughly elucidate the relationship between red and processed meat intakes and breast cancer risk.

In addition, other factors may interact with red and processed meat and thereby modulate their association with cancer risk, explaining contrasting results across epidemiological studies. Mechanistic data from animal models suggest that antioxidants may be good candidates for this modulatory role. Indeed, it has been shown that the addition of antioxidant to the diet (such as  $\alpha$ -tocopherol or synthetic ascorbic acid derivatives) exert a chemopreventive action against PhIP-induced mammary carcinogenesis in rats.<sup>16–18</sup> However, to our knowledge, no prospective epidemiological study has previously investigated whether the associations between red and processed meat intakes and breast cancer risk are modulated by an antioxidant supplementation.

Thus, the objectives of this study were: (i) to prospectively investigate the association between red and processed meat intakes and breast cancer risk; and (ii) to assess the potential modulatory effect of an antioxidant supplementation on these relationships.

## Methods

### Study population

The 'Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants' (SU.VI.MAX) study is a population-based,



double-blind, placebo-controlled, randomized trial (Trial Registration [clinicaltrials.gov](http://clinicaltrials.gov) Identifier: NCT00272428) initially designed to assess the effect of a daily antioxidant supplementation on the incidence of cardiovascular disease and cancer.<sup>19</sup> A total of 13 017 subjects were enrolled in 1994–95. All participants took either a single daily capsule of a combination of 120 mg ascorbic acid, 30 mg vitamin E, 6 mg beta carotene, 100 µg selenium and 20 mg zinc, or a placebo. Random treatment allocation was performed by block-sequence generation stratified by sex and age group. The intervention study lasted 7.5 years and follow-up of health events continued until September 2007. Subjects provided written informed consent, and the study was approved by the Ethics Committee for Studies with Human Subjects at the Paris-Cochin Hospital (CCPPRB n°706) and the Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (CNIL n°334641). Overall, breast cancer rates were not associated with the antioxidant supplementation, either during the trial or during the post-supplementation period.<sup>20</sup>

### Baseline data collection

At enrolment, self-administered questionnaires were filled in by participants about socio-demographics (date of birth, educational level), smoking status, medication use including baseline use of hormonal treatment for menopause (HTM), number of live births, family history of breast cancer and menopausal status. Baseline physical activity was self-evaluated by asking the participants if they currently practised a regular physical activity and, if yes, if it was equivalent to 1 h/day of walking or less. Anthropometric measurements were taken during a baseline clinical examination. Weight was measured with an electronic scale (Seca, Hamburg, Germany) by study nurses and physicians for subjects in light clothing and with no shoes to the nearest 0.1 kg, and height was measured to the nearest 1 cm with a wall-mounted stadiometer in the same conditions.

During the follow-up period, participants were invited to complete a dietary record every 2 months, in which they declared all foods and beverages consumed during periods of 24 h. These dietary records were randomly distributed between week and weekend days and over seasons to take into account intra-individual variability. Dietary records from the first 2 years of follow-up were used in the present study to comply with the prospective design. Completion was made through the Minitel Telematic Network, a French telephone-based terminal equivalent to an internet prototype. Portion sizes were assessed thanks to a validated picture booklet<sup>21</sup> and the amounts consumed from composite dishes were estimated using French recipes validated by food and nutrition professionals. The mean daily

energy, alcohol and nutrient intakes were estimated using a published French food composition table.<sup>22</sup> Subjects were advised against taking any self-prescribed dietary supplements during their participation in the SU.VI.MAX study.

Dietary exposure variables considered in the present analysis were total daily intake of red meat and processed meat in g/day. Red meat consisted of fresh, minced and frozen beef, veal, por, and lamb. Processed meats were mostly pork and beef preserved by methods other than freezing, such as salting, smoking, marinating, air-drying or heating and included ham, bacon, sausages, blood sausages, liver pâté, salami, mortadella, tinned meat and others.

### Case ascertainment

Health events occurring during the follow-up were self-reported by participants. Medical data were then gathered from participants, physicians and/or hospitals and reviewed by an independent physician expert committee. Pathological reports were used to validate the cases and to extract cancer characteristics (histological type, estrogen and progesterone receptors, tumour size, number of nodes, cancer grade). Cases were classified using the International Chronic Diseases Classification, 10th Revision, Clinical Modification (ICD-10).<sup>23</sup> All first incident primary breast cancers were considered as cases in this study.

### Statistical analyses

From among the 7876 female participants in the SU.VI.MAX study, we excluded 120 women who reported a cancer diagnosis before the start of the follow-up. Among the remaining subjects, 4684 provided at least three valid dietary records within the first 2 years of follow-up and thus remained available for analysis. For overall breast cancer analysis, women contributed person-time until the date of diagnosis of breast cancer, the date of last completed questionnaire, the date of death or September 2007, whichever occurred first. Women who reported a cancer other than breast cancer ( $N = 164$ ) during the study period were included and censored at the date of diagnosis (except basal cell skin carcinoma, not considered as cancer). Nutrient intakes were estimated by the average intake calculated from all dietary records for each woman.

The participants' baseline characteristics were compared between cases and non-cases using Student's  $t$  tests or  $\chi^2$  tests. Hazards ratios (HRs) and 95% confidence intervals (CIs), obtained from Cox proportional hazards models with age as the primary time variable, were used to characterize the association between quartiles of red and processed meat and incident breast cancer risk.

Since cooked ham generally presents specific (better) nutritional qualities than other processed meats (less rich in energy, lipids and salt,<sup>22</sup> with very low-to-undetectable levels of HCAs),<sup>24</sup> we also tested a model considering processed meat excluding cooked ham, as done previously.<sup>25</sup> Tests for linear trend were performed using the ordinal score on quartiles of red and processed meat intakes. Minimally adjusted models were controlled for age as time-scale, intervention group of the SU.VI.MAX trial (antioxidant supplementation/placebo) and number of dietary records (continuous). Fully adjusted multivariate models included the same variables, to which were added the following: smoking status (never, former or current), educational level (primary, secondary or university), physical activity (irregular, <1 h/d or ≥1 h/d walking or equivalent), height (continuous), body mass index (BMI; continuous), without alcohol energy intake (continuous), alcohol intake (continuous), total lipid intake (continuous), family history of breast cancer (yes/no), number of live births (continuous), menopausal status at baseline (yes/no), use of HTM at baseline (yes/no), and mutual adjustment for red and processed meat intakes (quartiles).

Further adjustments for fruit and vegetable intakes and for an overall healthy dietary pattern that was positively correlated with vegetable, fruit, and seafood intakes were also tested. This healthy pattern was extracted by principal component analysis, using the SAS 'proc factor' procedure, from mean intakes of 31 food groups.<sup>26</sup> There was no missing datum for covariates except for smoking status, physical activity and educational level for which missing values (less than 5% for each variable) were replaced by the modal value. Interaction between antioxidant supplementation (yes/no) and red or processed meat intakes (quartiles) was tested by introducing an interaction term into the models (product of the two variables). Analyses were conducted overall and then stratified by antioxidant supplementation group of the SU.VI.MAX trial. Associations were also examined after stratification by total intake of fruits and vegetables (< vs ≥median, i.e. 346.75 g/day), within the placebo group. Models were also computed separately for premenopausal and postmenopausal breast cancers (women contributed to the premenopausal model until their age of menopause, and conversely, women contributed to the post-menopausal model from their age of menopause). All tests were two-sided. SAS version 9.3 (SAS Institute, Cary, NC) was used for analyses.

## Results

During a median follow-up of 11.3 years (52 943 person-years), 190 women developed a first primary breast cancer

(59 premenopausal and 131 postmenopausal) with a mean age at diagnosis of 55.8 years. Among breast cancers, 82% were estrogen receptor positive (ER+) and 86% were progesterone receptor positive (PR+). Regarding histological type of breast cancers, 67% were ductal, 16% were lobular and 17% derived from other types. Mean tumour size was 16.6 mm (6 13.3 mm). In our study population, 2.8% of the women were lost to follow-up (5.2% in the overall SU.VI.MAX trial). Table 1 presents baseline characteristics of the subjects. Compared with non-cases, breast cancer cases tended to be older, taller, to have more family history of breast cancer, to be more often menopausal and to use HTM more often.

Table 2 presents associations between red and processed meat intake and breast cancer risk. Red meat intake was not associated with breast cancer risk ( $P_{\text{trend}}=0.3$ ). Processed meat intake was associated with increased breast cancer risk [ $\text{HR}_{\text{Q4vs.Q1}}=1.45$  (95% CI 0.92–2.27),  $P_{\text{trend}}=0.03$ ]. This result was strengthened when processed meat without cooked ham was considered [ $\text{HR}_{\text{Q4vs.Q1}}=1.90$  (95% CI 1.18–3.05),  $P_{\text{trend}}=0.005$ ]. Processed meat intake was associated with increased breast cancer risk in premenopausal women (59 cases/3271 women,  $P_{\text{trend}}=0.03$  for processed meat and  $P_{\text{trend}}=0.009$  for processed meat excluding ham) but not in postmenopausal women (131 cases/3532 women,  $P_{\text{trend}}=0.2$  for processed meat and  $P_{\text{trend}}=0.07$  for processed meat excluding ham) (data not shown).

Although no statistical interaction was detected between red and processed meat intakes and supplementation group on breast cancer risk, differences were observed in stratified analyses (Table 3). Processed meat intake was associated with increased breast cancer risk in the placebo group only [ $\text{HR}_{\text{Q4vs.Q1}}=2.46$  (95% CI 1.28–4.72),  $P_{\text{trend}}=0.001$ ], but not in the antioxidant-supplemented group ( $P_{\text{trend}}=0.7$ ) ( $P$  for interaction = 0.06). The results were similar with processed meat excluding cooked ham [ $\text{HR}_{\text{Q4vs.Q1}}=2.35$  (95% CI 1.24–4.44),  $P_{\text{trend}}=0.003$  in the placebo group and  $P_{\text{trend}}=0.3$  in the supplemented group].

Consistently, when analyses were stratified by fruit and vegetable intake within the placebo group, we observed an increased breast cancer risk with processed meat intake excluding cooked ham in lower ( $P_{\text{trend}}=0.03$ ) but not in higher ( $P_{\text{trend}}=0.07$ ) fruit and vegetable consumers.

Similar results were observed when models were adjusted for baseline dietary antioxidant intakes (the same as those contained in the capsule):  $\text{HR}_{\text{Q4vs.Q1}}$  for processed meat intake was 1.39 (95% CI 0.88–2.19) ( $P_{\text{trend}}=0.05$ ) and  $\text{HR}_{\text{Q4vs.Q1}}=1.84$  (95% CI 1.14–2.97) ( $P_{\text{trend}}=0.009$ ) for processed meat excluding cooked ham. Processed meat intake was associated with increased breast cancer risk in the

**Table 1.** Baseline characteristics of the study population, SU.VI.MAX cohort, France, 1994–2007

Characteristic	Non cases			Breast cancer cases			P-value <sup>a</sup>
	(n=4494)			(n=190)			
	N	%	Mean (SD)	N	%	Mean (SD)	
Age, years			46.9 (6.6)			49.4 (6.2)	<0.0001
BMI, <sup>b</sup> kg/m <sup>2</sup>			23.1 (3.7)			23.3 (4.3)	0.5
BMI <sup>b</sup> ≥25 kg/m <sup>2</sup>	993	22.1		47	24.7		0.4
Height, cm			161.7 (5.9)			162.6 (6.2)	0.03
Intervention group							0.4
Antioxidant supplementation	2229	49.6		88	46.3		
Placebo	2265	50.4		102	53.7		
Smoking status							0.2
Never smoker	2596	57.8		108	56.8		
Former smoker	1299	28.9		48	25.3		
Current smoker	599	13.3		34	17.9		
Physical activity							0.2
Irregular	1142	25.4		57	30.0		
<1 h/d walking or equivalent	1568	34.9		68	35.8		
≥1 h/d walking or equivalent	1784	39.7		65	34.2		
Educational level							0.6
Primary	814	18.1		38	20.0		
Secondary	1776	39.5		69	36.3		
University	1904	42.4		83	43.7		
Family history of breast cancer, yes	376	8.4		31	16.3		0.0001
Menopausal status at baseline, yes	1339	29.8		74	38.9		0.007
Use of HTM at baseline, yes	1315	29.3		73	38.4		0.007
Number of live births			2.0 (1.1)			2.0 (1.2)	0.8
Number of dietary records			9.2 (3.4)			9.4 (3.3)	0.6
Energy intake, kcal/day			1826.1 (471.6)			1847.4 (447.1)	0.5
Alcohol intake, g/day			10.7 (13.3)			11.8 (11.9)	0.2
Lipid intake, g/day			79.7 (23.8)			79.0 (22.3)	0.7
Red meat, g/day			46.7 (31.3)			49.6 (32.9)	0.2
Processed meat, g/day			31.9 (22.2)			32.6 (17.8)	0.4
Processed meat excluding cooked ham, g/day			23.2 (19.8)			24.4 (16.4)	0.3
Fruit and vegetable intake, g/day			368.5 (163.0)			373.4 (165.9)	0.7

SD, standard deviation; BMI, body mass index; HTM, hormonal treatment for menopause; N or n, number of subjects.

<sup>a</sup>P-value for the comparison between breast cancer cases and non-cases by Student's *t* test or  $\chi^2$  test where appropriate. All statistical tests were 2-sided.

<sup>b</sup>Weight (kg)/height (m)<sup>2</sup>.

placebo group only [HR<sub>Q4vs.Q1</sub> = 2.41 (95% CI 1.25–4.64),  $P_{\text{trend}} = 0.002$ ], but not in the antioxidant-supplemented group ( $P_{\text{trend}} = 0.6$ ) ( $P$  for interaction = 0.06). The results were similar for processed meat excluding cooked ham [HR<sub>Q4vs.Q1</sub> = 2.32 (95% CI 1.22–4.42),  $P_{\text{trend}} = 0.004$  in the placebo group and  $P_{\text{trend}} = 0.5$  in the supplemented group]. Further adjustments for fruit and vegetable intake or for an overall healthy dietary pattern did not substantially modify the findings (data not shown). Sensitivity analyses excluding breast cancer cases diagnosed within the first 2 years of follow-up did not modify the findings (165 cases/4659 women), nor did sensitivity analyses focusing only on invasive breast cancers (167 cases/4661 women), or focusing on women without family history of breast cancer (159

cases/4277 women), or focusing on women who declared having taken at least two thirds of the capsules during the trial (153 cases/3652 women). Likewise, results were unchanged when considering only women who completed more than six dietary records during the first 2 years of follow-up (158 cases/3771 women). We also performed analyses considering red and processed meat intakes as time-dependent variables with one averaged value of intake per 2 years of follow-up (185 cases/4725 women). Again, this did not modify our findings: processed meat intake was associated with increased breast cancer risk in the placebo group [HR<sub>Q4vs.Q1</sub> = 2.03 (95% CI 1.10–3.76),  $P_{\text{trend}} = 0.01$ ], but not in the antioxidant-supplemented group ( $P_{\text{trend}} = 0.4$ ).

**Table 2.** Associations between quartiles of red and processed meat intake and breast cancer risk from multivariate Cox proportional hazards models,<sup>a</sup> SU.VI.MAX cohort, France, 1994–2007

Type of meat	Q1	Q2		Q3		Q4		P for trend
	HR	HR	95% CI	HR	95% CI	HR	95% CI	
<b>Model 1</b>								
Red meat	1	0.87	0.57–1.33	1.06	0.71–1.59	1.21	0.82–1.78	0.2
Processed meat	1	0.99	0.64–1.54	1.52	1.02–2.27	1.30	0.86–1.97	0.07
Processed meat excluding cooked ham	1	1.41	0.90–2.20	1.74	1.12–2.69	1.64	1.06–2.53	0.02
<b>Model 2</b>								
Red meat	1	0.82	0.58–1.36	1.05	0.70–1.58	1.19	0.79–1.80	0.3
Processed meat	1	1.00	0.64–1.56	1.53	1.02–2.32	1.45	0.92–2.27	0.03
Processed meat excluding cooked ham	1	1.46	0.93–2.30	1.85	1.18–2.90	1.90	1.18–3.05	0.005

HR, hazard ratio; CI, confidence interval; Q, quartile.

<sup>a</sup>190 cases / 4684 women.

Model 1 is adjusted for age (time scale), intervention group and number of dietary records.

Model 2 is adjusted for age (time scale), intervention group, number of dietary records, smoking status, educational level, physical activity, height, BMI, family history of breast cancer, menopausal status at baseline, use of HTM at baseline, number of live births, without-alcohol energy intake, alcohol intake, total lipid intake. In addition, the red meat model is adjusted for processed meat intake and conversely (mutual adjustment).

Cut-offs (g/d) for quartiles of intakes were 24.9/42.5/63.7 for red meat, 16.4/28.6/43.5 for processed meat and 8.7/18.8/33.1 for processed meat excluding cooked ham.

**Table 3.** Associations between quartiles of meat intake and breast cancer risk from multivariate Cox proportional hazards models and interaction with an antioxidant supplementation,<sup>a</sup> SU.VI.MAX cohort, France, 1994–2007

Type of meat	Q1	Q2		Q3		Q4		P <sub>interaction</sub>	P <sub>trend</sub>
	HR	HR	95% CI	HR	95% CI	HR	95% CI		
<b>Model 1</b>									
Red meat								0.3	
Placebo group	1	0.70	0.39–1.25	0.99	0.58–1.68	0.97	0.57–1.63		0.8
Antioxidant-supplemented group	1	1.13	0.60–2.12	1.18	0.63–2.20	1.57	0.87–2.86		0.1
Processed meat								0.07	
Placebo group	1	1.25	0.65–2.39	2.27	1.27–4.06	1.90	1.04–3.47		0.008
Antioxidant-supplemented group	1	0.79	0.43–1.46	0.99	0.56–1.77	0.89	0.49–1.60		0.9
Processed meat excluding cooked ham								0.4	
Placebo group	1	1.23	0.65–2.32	1.87	1.04–3.38	1.82	1.01–3.26		0.02
Antioxidant-supplemented group	1	1.57	0.83–2.97	1.59	0.83–3.04	1.42	0.74–2.73		0.4
<b>Model 2</b>									
Red meat								0.3	
Placebo group	1	0.73	0.40–1.31	1.03	0.60–1.77	1.01	0.58–1.74		0.7
Antioxidant-supplemented group	1	1.11	0.59–2.10	1.14	0.60–2.14	1.46	0.78–2.72		0.2
Processed meat								0.06	
Placebo group	1	1.31	0.68–2.52	2.51	1.38–4.57	2.46	1.28–4.72		0.001
Antioxidant-supplemented group	1	0.80	0.43–1.47	0.92	0.51–1.66	0.86	0.45–1.63		0.7
Processed meat excluding cooked ham								0.5	
Placebo group	1	1.30	0.68–2.47	2.19	1.18–4.04	2.35	1.24–4.44		0.003
Antioxidant-supplemented group	1	1.63	0.86–3.11	1.52	0.78–2.95	1.52	0.75–3.08		0.3

HR hazard ratio; CI, confidence interval; Q, quartile.

<sup>a</sup>102 cases / 2367 women in the placebo group and 88 cases / 2317 women in the supplemented group.

Model 1 is adjusted for age (time scale) and number of dietary records.

Model 2 is adjusted for age (time scale), number of dietary records, smoking status, educational level, physical activity, height, BMI, family history of breast cancer, menopausal status at baseline, use of HTM at baseline, number of live births, without-alcohol energy intake, alcohol intake, total lipid intake. In addition, the red meat model is adjusted for processed meat intake and conversely (mutual adjustment).

Cut-offs (g/d) for quartiles of intakes were 24.9/42.5/63.7 for red meat, 16.4/28.6/43.5 for processed meat and 8.7/18.8/33.1 for processed meat excluding cooked ham.

## Discussion

In this prospective study, processed meat intake was directly associated with breast cancer risk. In addition, to our knowledge, this study was the first to prospectively examine the potential modulatory role of an antioxidant supplementation on the relationships between red and processed meat intake and breast cancer risk. Interestingly, we observed an increased breast cancer risk associated with processed meat intake in the placebo group but not in the antioxidant-supplemented group.

The meta-analysis of Alexander *et al.*,<sup>14</sup> based on prospective studies, also detected a direct association between processed meat intake and breast cancer risk. In contrast, in the prospective Black Women's Health Study<sup>15</sup> published after this meta-analysis, no association between processed meat intake and breast cancer risk was observed. A wide array of factors may explain different results across prospective studies: methods of dietary assessment, exposure definition (food groups, serving sizes), exposure contrasts (analytical cut-points and comparisons of intake levels) and adjustment for potential confounders. Our baseline intakes fell within the upper range of European values for red meat (24–57 g/day) and processed meat (5–49 g/day).<sup>27</sup> Compared with US values (53 g/d for red meat and 18 g/d for processed meat),<sup>28</sup> red meat intake was slightly lower but intake of processed meat was higher in our study. This wide range of processed meat intake strengthened our ability to detect some association with breast cancer risk. Conversely, the fact that no association was observed with red meat intake in this study may be explained by intake values that were too low to properly investigate any adverse effect. Indeed, the cut-off for quartile 4 of red meat intake was 63.7 g/d, i.e. about 445 g/week, which is lower than the upper dose recommended in colorectal cancer prevention (500 g/week according to the WCRF<sup>29</sup>).

Our observation of an increased association between processed meat and breast cancer before but not after menopause is in favour of an estrogenic effect and/or a reduction of the time to cancer diagnosis due to DNA damage effects. Our result is consistent with the observation in the Nurses' Health Study II of a positive association between red and processed meat consumption during adolescence and premenopausal cancer, which was more pronounced in hormone-positive tumours.<sup>30</sup>

One of the most salient and original findings of our study is the fact that an antioxidant supplementation modulated the association between processed meat intake and breast cancer risk. Besides, in the placebo group, we also observed an increased breast cancer risk with processed meat intake excluding cooked ham in lower but not

in higher fruit and vegetable consumers. This suggests that dietary (and not only supplemental) antioxidants may also modulate the association between processed meat intake and breast cancer risk. Consistently with this last finding, previous studies suggested an effect modification of fruit and vegetable intakes (sources of antioxidants) on the relationship between cooked meat<sup>31</sup> or meat-derived product mutagenic intakes and breast cancer risk.<sup>32</sup>

Biological plausibility supports a pro-carcinogenic effect of processed meat on breast tumour development. First, processed meat is rich in saturated fat that has been associated with increased breast cancer risk in epidemiological studies.<sup>33</sup> Second, high-temperature cooking methods produce compounds such as HCAs (including PhIP) and PAHs<sup>34,35</sup> which have been associated with mammary tumour development in animal<sup>2–4</sup> and human<sup>36–41</sup> studies. These compounds exert a pro-carcinogenic effect through direct DNA damage (formation of DNA adducts) and possibly via other mechanisms such as estrogenic properties of PhIP.<sup>31,42</sup> Third, another group of potential carcinogens in processed meat are NOCs, partly resulting from the endogenous reaction of nitrite (added as preservatives in processed meat) with other nitrosation precursors such as amines and amides.<sup>5–7</sup> Last, processed meat contains high levels of heme that catalyzes the endogenous formation of NOCs and the peroxidation of dietary fats.<sup>9–11</sup>

Mechanistic data also support the observed modulatory role of an antioxidant supplementation in the association between processed meat intake and breast cancer risk. In animal models, it has been shown that the addition of antioxidants to the diet, including  $\alpha$ -tocopherol, may exert a chemopreventive action against PhIP-induced mammary carcinogenesis.<sup>16,18</sup> Interestingly, these results are consistent with experimentations conducted on another cancer site, i.e. the colon. Indeed, Pierre *et al.*<sup>43</sup> showed that antioxidant supplementation inhibited the haemin-induced aberrant crypt foci promotion in rats. The same team recently showed that dietary  $\alpha$ -tocopherol suppressed cured-meat promotion of chemically induced carcinogenesis in rats and reduced associated biomarkers in human volunteers.<sup>44</sup>

The observed interaction between processed meat (but not red meat) and antioxidants guides the interpretation towards the putative pro-carcinogenic mechanisms that are more likely to be reversed by antioxidants, such as those involving NOCs and peroxidation processes. Indeed, vitamin C and other antioxidants such as vitamin E and some carotenoids, can inhibit endogenous NOC formation<sup>45</sup> and modulate the association between NOC and cancer risk.<sup>46</sup> Experimental studies also showed that antioxidants can protect fatty acids from peroxidation.<sup>47</sup> Contrary to red meat, processed meat is a source of nitrate and nitrites,

precursors of NOCs.<sup>1</sup> Processed meat is also richer than red meat in peroxidable lipids. This could explain why we observed results for processed meat but not for red meat.

Strengths of this study included its prospective design, the wide range of potential lifestyle and dietary confounding factors taken into account, and the originality of the hypothesis tested, i.e. for the first time in an epidemiological study, the investigation of a potential modulatory role of an antioxidant supplementation in the association between red and processed meat intakes and breast cancer risk.

Some limitations should be acknowledged. First, although the number of breast cancer cases was reasonably large overall, it did not allow us to investigate separately the different histological and receptor types of breast cancers<sup>30</sup> and polymorphisms of enzymes involved in the metabolism of genotoxic compounds and estrogens.<sup>42,48,49</sup> Besides, statistical power was not sufficient to simultaneously stratify analyses by antioxidant supplementation group and menopausal status. Nevertheless, even if our ability to detect some of the hypothesized observations may have been limited by the number of cases, this limitation is unlikely to explain the observed relationships. An initial power analysis indicated that with  $\alpha=5\%$  and Power  $(1-\beta)=80\%$ , our data allowed the detection of an effect (HR) $\leq 0.5$  or  $\geq 1.8$  among the placebo group and  $\leq 0.4$  or  $\geq 1.9$  among the intervention group. These effect sizes correspond to those expected in this field of nutritional epidemiology. Second, even if the number of lost-to-follow-up women was very low (2.8%), they tended to be younger, to be less often menopausal, to use HTM less often and to have had fewer live births, compared with women who remained in the study. Third, since participants received a combination of antioxidants, it was not possible to identify whether one of them was more particularly involved in the studied modulation. However, it can be postulated that  $\alpha$ -tocopherol may have played a central role, as previously suggested.<sup>16,44</sup> Last, information about spontaneous use of dietary supplements (other than the intervention capsule) was not available. However, subjects were monthly advised against such practices during the trial. Besides, compliance with the trial protocol was high<sup>19</sup> and was similar in the supplemented and the placebo groups (mean percentage of capsule taken = 84% in each group).

In conclusion, this prospective study suggests that processed meat intake, but not red meat intake, is associated with increased breast cancer risk, in line with experimental data. This study also suggests that supplemental (and possibly dietary) antioxidants may modulate this association by counteracting the potential pro-carcinogenic effects of processed meat on breast cancer. To our knowledge, this

potential modulatory role of an antioxidant supplementation in the relationship between red and processed meat intakes and breast cancer risk has never been investigated before in any prospective epidemiological study. Literature regarding beneficial or harmful effects of antioxidant supplementation on cancer risk is contrasted,<sup>50</sup> and our study adds to the current debate on this topic. Further research is needed to gain more insights into the effects of red and processed meat intakes on breast carcinogenesis and into the potential effect-modifier role of individual or combined antioxidants (from supplements and diet) in this relationship.

## Funding

Camille Pouchieu was funded by a grant from the French Ministry of Research and Higher Education (no. 11/ED G/UREN/2011). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish or preparation of the manuscript.

## Acknowledgments

The authors thank Gwenael Monot, Younes Esseddik, Paul Flanzly, Mohand Ait Oufella, Yasmina Chelghoum and Than Duong Van (computer scientists), Florence Charpentier (dietitian), Nathalie Arnault, Véronique Gourlet, Fabien Szabo, Laurent Bourhis and Stephen Besseau (statisticians) and Rachida Mehroug (logistics assistant) for their technical contribution to the SU.VI.MAX study. These persons have confirmed their agreement.

**Conflict of interest:** There are no competing financial interests in relation to this work.

## References

1. Santarelli RL, Vendevre JL, Naud N *et al.* Meat processing and colon carcinogenesis: cooked, nitrite-treated, and oxidized high-heme cured meat promotes mucin-depleted foci in rats. *Cancer Prev Res* 2010;3:852–64.
2. Ito N, Hasegawa R, Sano M *et al.* A new colon and mammary carcinogen in cooked food, 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP). *Carcinogenesis* 1991;12:1503–06.
3. Shirai T, Tamano S, Sano M, Masui T, Hasegawa R, Ito N. Carcinogenicity of 20-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5b]pyridine (PhIP) in rats: dose response studies. In: Adamson R, Gustafsson JA, Ito N *et al.* (eds). *Heterocyclic Amines in Cooked Foods: Possible Human Carcinogens*. Princeton, NJ: Princeton Scientific Publication, 1995.
4. El-Bayoumy K, Chae YH, Upadhyaya P *et al.* Comparative tumorigenicity of benzo[a]pyrene, 1-nitropyrene and 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine administered by gavage to female CD rats. *Carcinogenesis* 1995;16:431–34.
5. Lijinsky W. N-nitroso compounds in the diet. *Mut Res* 1999;443:129–38.
6. Tricker A. N-nitroso compounds and man: sources of exposure, endogenous formation and occurrence in body fluids. *Eur J Cancer Prev* 1997;6:226–68.

7. Joosen AMCP, Kuhnle GGC, Aspinall SM *et al.* Effect of processed and red meat on endogenous nitrosation and DNA damage. *Carcinogenesis* 2009;**30**:1402–07.
8. Genkinger JM, Koushnik A. Meat consumption and cancer risk. *Plos Med* 2007;**4**:e345.
9. Tappel A. Heme of consumed red meat can act as a catalyst of oxidative damage and could initiate colon, breast and prostate cancers, heart disease and other diseases. *Med Hypotheses* 2007;**68**:562–64.
10. Santarelli RL, Pierre F, Corpet DE. Processed meat and colorectal cancer: a review of epidemiologic and experimental evidence. *Nutr Cancer* 2008;**60**:131–44.
11. Bastide NM, Pierre FHF, Corpet DE. Heme iron from meat and risk of colorectal cancer: a meta-analysis and a review of the mechanisms involved. *Cancer Prev Res* 2011;**4**:177–84.
12. World Cancer Research Fund / American Institute for Cancer Research. *Continuous Update Project. Keeping the Science Current: Breast Cancer*. Washington, DC: AICR, 2010.
13. Taylor V, Misra M, Mukherjee S. Is red meat intake a risk factor for breast cancer among premenopausal women? *Breast Cancer Res Treat* 2009;**117**:1–8.
14. Alexander DD, Morimoto LM, Mink PJ, Cushing CA. A review and meta-analysis of red and processed meat consumption and breast cancer. *Nutr Res Rev* 2010;**23**:349–65.
15. Genkinger J, Makambi K, Palmer J, Rosenberg L, Adams-Campbell L. Consumption of dairy and meat in relation to breast cancer risk in the Black Women's Health Study. *Cancer Causes Control* 2013;**24**:675–84.
16. Hirose M, Nishikawa A, Shibutani M, Imai T, Shirai T. Chemoprevention of heterocyclic amine-induced mammary carcinogenesis in rats. *Environ Mol Mutagen* 2002;**39**:271–78.
17. Hagiwara A, Boonyaphiphat P, Tanaka H *et al.* Organ-dependent modifying effects of caffeine, and two naturally occurring antioxidants alpha-tocopherol and n-tritriacontane-16,18-dione, on 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP)-induced mammary and colonic carcinogenesis in female F344 rats. *Jpn J Cancer Res* 1999;**90**:399–405.
18. Hirose M, Akagi K, Hasegawa R *et al.* Chemoprevention of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4, 5-b]-pyridine (PhIP)-induced mammary gland carcinogenesis by antioxidants in F344 female rats. *Carcinogenesis* 1995;**16**:217–21.
19. Hercberg S, Galan P, Preziosi P *et al.* The SU.VI.MAX study: a randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals. *Arch Intern Med* 2004;**164**:2335–42.
20. Hercberg S, Kesse-Guyot E, Druesne-Pecollo N *et al.* Incidence of cancers, ischemic cardiovascular diseases and mortality during 5-year follow-up after stopping antioxidant vitamins and minerals supplements: A postintervention follow-up in the SU.VI.MAX Study. *Int J Cancer* 2010;**127**:1875–81.
21. Le Moullec N, Deheeger M, Preziosi P *et al.* Validation du manuel photos utilisé pour l'enquête alimentaire SU.VI.MAX. [Validation of the food portion booklet used in the SU.VI.MAX study.] *Cabi Nutr Diét* 1996;**31**:158–64.
22. Hercberg S. *Table de Composition SU.VI.MAX des Aliments*. [SU.VI.MAX table of food ingredients]. Paris: Les éditions INSERM/Economica, 2005.
23. WHO. *ICD-10, International Classification of Diseases and Related Health Problems. 10th Revision*. Geneva: World Health Organization, 1993.
24. Sinha R, Knize MG, Salmon CP *et al.* Heterocyclic amine content of pork products cooked by different methods and to varying degrees of doneness. *Food Chem Toxicol* 1998;**36**:289–97.
25. Touvier M, Niravong M, Volatier JL *et al.* Dietary patterns associated with vitamin/mineral supplement use and smoking among women of the E3N-EPIC cohort. *Eur J Clin Nutr* 2009;**63**:39–47.
26. Kim J-O, Mueller C. *Factor Analysis: Statistical Methods and Practical Issues*. Thousand Oaks, CA: Sage Publications, 1978.
27. Linseisen J, Kesse E, Slimani N *et al.* Meat consumption in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) cohorts: results from 24-hour dietary recalls. *Public Health Nutr* 2002;**5**:1243–58.
28. Daniel CR, Cross AJ, Koenig C, Sinha R. Trends in meat consumption in the United States. *Public Health Nutr* 2011;**14**:575–83.
29. World Cancer Research Fund / American Institute for Cancer Research. *Continuous Update Project. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Colorectal Cancer*. Washington, DC: AICR, 2011.
30. Linos E, Willett WC, Cho E, Colditz G, Frazier LA. Red meat consumption during adolescence among premenopausal women and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008;**17**:2146–51.
31. Steck S, Gaudet M, Eng S *et al.* Cooked meat and risk of breast cancer—lifetime versus recent dietary intake. *Epidemiology* 2007;**18**:373–82.
32. Wu K, Sinha R, Holmes MD, Giovannucci E, Willett W, Cho E. Meat mutagens and breast cancer in postmenopausal women—a cohort analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010;**19**:1301–10.
33. Thiébaud ACM, Kipnis V, Chang SC *et al.* Dietary fat and postmenopausal invasive breast cancer in the National Institutes of Health-AARP Diet and Health Study Cohort. *J Natl Cancer Inst* 2007;**99**:451–62.
34. Kazerouni N, Sinha R, Hsu CH, Greenberg A, Rothman N. Analysis of 200 food items for benzo[a]pyrene and estimation of its intake in an epidemiologic study. *Food Chem Toxicol* 2001;**39**:423–36.
35. Knize MG, Sinha R, Salmon CP *et al.* Formation of heterocyclic amine mutagens/carcinogens during cooking of muscle meat. *J Muscle Foods* 1996;**7**:271–79.
36. Zheng W, Sang-Ah L. Well-done meat intake, heterocyclic amine exposure, and cancer risk. *Nutr Cancer* 2009;**61**:437–46.
37. Mordukhovich I, Rossner P, Terry M *et al.* Associations between polycyclic aromatic hydrocarbon-related exposures and p53 mutations in breast tumors. *Environ Health Perspect* 2009;**118**:511–18.
38. Bonner MR, Han D, Nie J *et al.* Breast cancer risk and exposure in early life to polycyclic aromatic hydrocarbons using total suspended particulates as a proxy measure. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;**14**:53–60.
39. Gammon MD, Santella RM, Neugut AI *et al.* Environmental toxins and breast cancer on Long Island. I. Polycyclic aromatic hydrocarbon DNA adducts. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002;**11**:677–85.

40. Rundle A, Tang D, Hibshoosh H *et al.* The relationship between genetic damage from polycyclic aromatic hydrocarbons in breast tissue and breast cancer. *Carcinogenesis* 2000;**21**:1281–89.
41. Sinha R, Gustafson DR, Kulldorff M, Wen WQ, Cerhan JR, Zheng W. 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine, a carcinogen in high-temperature-cooked meat, and breast cancer risk. *J Natl Cancer Inst* 2000;**92**:1352–54.
42. Egeberg R, Olsen A, Autrup H *et al.* Meat consumption, N-acetyl transferase 1 and 2 polymorphism and risk of breast cancer in Danish postmenopausal women. *Eur J Cancer Prev* 2008;**17**:39–47.
43. Pierre F, Taché S, Petit CR, Van der Meer R, Corpet DE. Meat and cancer: haemoglobin and haemin in a low-calcium diet promote colorectal carcinogenesis at the aberrant crypt stage in rats. *Carcinogenesis* 2003;**24**:1683–90.
44. Pierre F, Martin O, Santarelli RL *et al.* Calcium and a-tocopherol suppress cured-meat promotion of chemically induced colon carcinogenesis in rats and reduce associated biomarkers in human volunteers. *Am J Clin Nutr* 2013;**98**:1255–62.
45. Mirvish SS. Effects of vitamins C and E on N-nitroso compound formation, carcinogenesis, and cancer. *Cancer* 1986;**58**:1842–50.
46. Loh YH, Jakszyn P, Luben RN, Mulligan AA, Mitrou PN, Khaw KT. N-nitroso compounds and cancer incidence: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) Norfolk Study. *Am J Clin Nutr* 2011;**93**:1053–61.
47. Nohl H, Rohr-Udilova N, Gille L *et al.* Suppression of tumour-promoting factors in fat-induced colon carcinogenesis by the antioxidants caroverine and ubiquinone. *Anticancer Res* 2005;**25**:2793–800.
48. Zheng W, Xie D, Cerhan JR, Sellers TA, Wen W, Folsom AR. Sulfotransferase 1A1 polymorphism, endogenous estrogen exposure, well-done meat intake, and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;**10**:89–94.
49. Krajcinovic M, Ghadirian P, Richer C *et al.* Genetic susceptibility to breast cancer in French-Canadians: Role of carcinogen-metabolizing enzymes and gene-environment interactions. *Int J Cancer* 2001;**92**:220–25.
50. Fortmann SP, Burda BU, Senger CA, Lin JS, Whitlock EP. Vitamin and mineral supplements in the primary prevention of cardiovascular disease and cancer: An updated systematic evidence review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med* 2013;**159**:824–34.



# Prospective Associations between Plasma Saturated, Monounsaturated and Polyunsaturated Fatty Acids and Overall and Breast Cancer Risk – Modulation by Antioxidants: A Nested Case-Control Study

Camille Pouchieu<sup>1\*</sup>, Véronique Chajès<sup>2</sup>, François Laporte<sup>3</sup>, Emmanuelle Kesse-Guyot<sup>1</sup>, Pilar Galan<sup>1</sup>, Serge Hercberg<sup>1,4</sup>, Paule Latino-Martel<sup>1</sup>, Mathilde Touvier<sup>1</sup>

**1** Sorbonne Paris Cité, Nutritional Epidemiology Research Team (EREN), Epidemiology and Biostatistics Center, Insem U1153, Inra U1125, Cnam, University Paris 13, University Paris 5, University Paris 7, Bobigny, France, **2** Nutrition and Metabolism, International Agency for Research on Cancer, Lyon, France, **3** Department of Integrated Biology, University Hospital of Grenoble, Grenoble, France, **4** Public Health Department, Avicenne Hospital, Bobigny, France

## Abstract

**Background:** Mechanistic data suggest that different types of fatty acids play a role in carcinogenesis and that antioxidants may modulate this relationship but epidemiologic evidence is lacking. Our aim was to investigate the association between plasma saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids (SFAs, MUFAs and PUFAs) and overall and breast cancer risk and to evaluate the potential modulatory effect of an antioxidant supplementation on these relationships.

**Methods:** A nested case-control study included all first incident cancer cases diagnosed in the SU.VI.MAX study between 1994 and 2002 ( $n = 250$  cases, one matched control/case). Participants to the SU.VI.MAX randomized controlled trial received either vitamin/mineral antioxidants or placebo during this intervention period. Baseline fatty acid composition of plasma total lipids was measured by gas chromatography. Conditional logistic regression was performed overall and stratified by intervention group.

**Results:** Dihomo- $\gamma$ -linolenic acid ( $P_{\text{trend}} = 0.002$ ), the dihomom- $\gamma$ -linolenic/linoleic acids ratio ( $P_{\text{trend}} = 0.001$ ), mead acid ( $P_{\text{trend}} = 0.0004$ ), and palmitoleic acid ( $P_{\text{trend}} = 0.02$ ) were inversely associated with overall cancer risk. The arachidonic/dihomom- $\gamma$ -linolenic acids ratio ( $P_{\text{trend}} = 0.02$ ) and linoleic acid ( $P_{\text{trend}} = 0.02$ ) were directly associated with overall cancer risk. Similar results were observed for breast cancer specifically. In stratified analyses, associations were only observed in the placebo group. Notably, total PUFAs were directly associated with overall ( $P_{\text{trend}} = 0.02$ ) and breast cancer risk in the placebo group only.

**Conclusion:** Specific SFAs, MUFAs and PUFAs were prospectively differentially associated with cancer risk. In addition, this study suggests that antioxidants may modulate these associations by counteracting the potential effects of these fatty acids on carcinogenesis.

**Citation:** Pouchieu C, Chajès V, Laporte F, Kesse-Guyot E, Galan P, et al. (2014) Prospective Associations between Plasma Saturated, Monounsaturated and Polyunsaturated Fatty Acids and Overall and Breast Cancer Risk – Modulation by Antioxidants: A Nested Case-Control Study. PLoS ONE 9(2): e90442. doi:10.1371/journal.pone.0090442

**Editor:** Giovanna Bermano, Robert Gordon University, United Kingdom

**Received:** October 15, 2013; **Accepted:** January 30, 2014; **Published:** February 27, 2014

**Copyright:** © 2014 Pouchieu et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Funding:** This study was funded by the French Ministry of Health. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

**Competing Interests:** The authors have declared that no competing interests exist.

\* E-mail: c.pouchieu@uren.smbh.univ-paris13.fr

## Introduction

Mechanistic data suggest that different types of dietary fatty acids may influence carcinogenesis in different ways. For instance, n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFAs) may be involved in several mechanisms that counteract carcinogenic processes [1,2]. In contrast, it has been suggested in rat models that n-3 or n-6 PUFAs may also generate free oxygen radicals and lipid peroxides that convey genotoxic effects [3,4].

However, epidemiological data remain inconsistent. As estimation of usual dietary fatty acid intake may be prone to measurement errors [5], the use of blood fatty acid biomarkers

in epidemiological studies appears as a strategic alternative [6–8]. A meta-analysis published in 2004 [9] and including three prospective cohort studies on circulating fatty acids [10–12] showed that total n-3 PUFAs were associated with decreased breast cancer risk, while total monounsaturated fatty acids (MUFAs), oleic acid and the saturated palmitic acid were associated with increased breast cancer risk. Since then, several prospective studies have been conducted on circulating fatty acids and the risk of breast cancer [13–15], showing contrasting results. Prospective studies have also been published for prostate [16–22]

and other cancers [19,23,24], but results remain overall inconsistent. Thus, new prospective studies are needed.

Moreover, this high level of heterogeneity within epidemiological data may support the existence of other factors that could modulate the relationship between circulating fatty acids and cancer risk, explaining contrasted results across different populations. Mechanistic data from animal models suggest that dietary antioxidants may be good candidates for this modulatory role [25–27]. It is possible that the effects of specific fatty acids on cancer risk may be cancelled or even reversed by the presence of antioxidants. So far, a limited number of epidemiologic studies have been published on this topic, and their results were divergent: whereas 2 prospective studies suggested an inverse association of breast cancer risk with combined high intakes of vitamin E and PUFA [28,29], one prospective study within the French E3N cohort failed to show any significant interaction [30]. In the Alpha-Tocopherol Beta-Carotene Study (ATBC),  $\alpha$ -tocopherol supplementation modified the association between serum linoleic acid and prostate cancer risk [31]. Finally, a case-control study reported a decreased risk of breast cancer associated with high arachidonic acid intakes among women with low vitamin E intakes, but an increased risk among women with both high arachidonic acid and vitamin E intakes [32]. To our knowledge, no prospective epidemiologic study has investigated whether the associations between circulating SFAs, MUFAs, PUFAs and overall and breast cancer risk were modified by antioxidant supplementation.

Thus, the objectives of the present study were 1) to prospectively investigate the relationships between plasma SFAs, MUFAs, PUFAs and the risk of overall and breast cancer; and 2) to assess the potential modulatory effect of an antioxidant supplementation on these relationships.

## Materials and Methods

### Study population

The “Supplementation en Vitamines et Minéraux Antioxydants” study (SU.VI.MAX) is a population-based, double-blind, placebo-controlled, randomized trial (Trial Registration clinicaltrials.gov Identifier: NCT00272428) initially designed to assess the effect of a daily antioxidant supplementation on the incidence of cardiovascular disease and cancer [33]. A total of 13,017 subjects were enrolled in 1994–1995. All participants took a single daily capsule of a combination of 120 mg of ascorbic acid, 30 mg of vitamin E, 6 mg of beta carotene, 100  $\mu$ g of selenium, and 20 mg of zinc, or a placebo. The intervention study lasted 7.5y. Subjects provided written informed consent, and the study was approved by the Ethics Committee for Studies with Human Subjects at the Paris-Cochin Hospital (CCPPRB n°706) and the “Commission Nationale de l’Informatique et des Libertés” (CNIL n°334641).

### Data and blood collection

At enrollment, all participants underwent a clinical examination and anthropometric measurements by the study nurses and physicians. They completed questionnaires regarding sociodemographic data, smoking, physical activity, and medication use. Fasting blood samples were taken up at inclusion from all subjects (before randomization and start of the intervention). Samples were centrifuged immediately after blood draw, and plasma aliquots were then preserved in sodium heparin. Less than one hour after blood draw, plasma aliquots were stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  in dry ice for shipment to the central biobank (maximum 24 hours), where they were stored frozen in liquid nitrogen ( $-70^{\circ}\text{C}$ ).

### Case ascertainment

Major health events were self-reported by subjects during follow-up. Investigations were conducted in all declared cancer cases to obtain medical data from participants, physicians, and/or hospitals. All information was reviewed by an independent expert committee and cases were validated by pathological reports and classified using the International Chronic Diseases Classification, 10th Revision, Clinical Modification (ICD-10) [34].

### Nested case-control study

A case-control study nested in the SU.VI.MAX cohort was designed to include all first primary incident cancer cases diagnosed between baseline in 1994 and December 2002. Controls (one per case) were randomly selected among participants with complete follow-up data and without cancer diagnosis by the end of follow-up and were matched by gender, age ( $\pm 6$  months), number of dietary records and intervention group of the trial (antioxidants or placebo).

### Analyses of plasma fatty acid composition

Baseline plasma samples of selected subjects were used to determine the fatty acid composition of total lipids. Lipids were extracted from 150  $\mu$ l aliquots of plasma with hexane/isopropanol (3:2, v:v), saponified with NaOH in dry methanol at  $100^{\circ}\text{C}$ , and the fatty acids were methylated with boron trifluoride (14%) in methanol. The fatty acid methyl esters were quantified by gas chromatography using a capillary column (AT-WAX polar 30 m length, 0.25 mm i.d., film thickness 0.25  $\mu$ m), and hydrogen as carrier gas. Peak identification was made by comparison of their elution times with that of a mixture of commercial standards. Fatty acid composition was expressed as percentages of the total area of all fatty acid peaks. The coefficients of variation (CVs) were  $< 23.8\%$  for the saturated fatty acids (SFAs),  $< 8.0\%$  for cis MUFAs,  $< 12.2\%$  for n-6 PUFAs,  $< 7.7\%$  for n-3 PUFAs and  $10.3\%$  for Mead acid.

We calculated the following ratios: total n-3 PUFAs to total n-6 PUFAs, arachidonic acid to dihomo- $\gamma$ -linolenic acid (indicator of the activity of  $\Delta 5$ -desaturase), dihomo- $\gamma$ -linolenic acid to linoleic acid (indicator of the activity of  $\Delta 6$ -desaturase and elongase), and oleic acid to stearic acid (indicator of the rate-limiting enzyme  $\Delta 9$ -desaturase).

### Statistical analyses

Baseline characteristics of participants were compared between cancer cases and controls by using conditional logistic regression analyses. ORs and 95% confidence intervals for overall and breast cancer risk associated with quartiles of each plasma fatty acid, fatty acid categories and ratios were examined by using conditional logistic regression models. Multivariate models were adjusted for gender, age, body mass index (BMI), height, intervention group, alcohol intake, physical activity, smoking status, family history of cancer, and educational level. In breast cancer analyses, multivariate models were further adjusted for family history of breast cancer, number of children, menopausal status and use of menopausal hormone therapy at baseline. There was no missing data for covariates except for smoking status, physical activity and educational level for which missing values (less than 5% for each variable) were replaced by the modal value. Adjustment variables were coded as indicated in Table 1. Further adjustments for energy, total lipid, and fruit and vegetable intakes, and number of dietary records (continuous variables) were also tested.

Since cases and controls were matched for the antioxidant supplement group, statistical interaction between antioxidant

**Table 1.** Baseline characteristics of cancer cases and matched controls.

	Controls (n = 250)	Overall cancer cases (n = 250)	Breast cancer cases (n = 154)	p <sup>1</sup>
Gender [n (%)]				
Men	80 (32.0)	80 (32.0)		
Women	170 (68.0)	170 (68.0)		
Age (y) <sup>2</sup>	51.3±6.2	51.0±6.0	49.5±6.0	0.9
BMI [n (%)]				0.04
<25 kg/m <sup>2</sup>	152 (60.8)	166 (66.4)	116 (75.3)	
25 to <30 kg/m <sup>2</sup>	81 (32.4)	57 (22.8)	28 (18.2)	
≥ 30 kg/m <sup>2</sup>	17 (6.8)	27 (10.8)	10 (6.5)	
Height (cm)	165.0±7.8	165.8±7.8	163.1±5.9	0.1
Intervention group [n (%)]				
Yes	115 (46.0)	115 (46.0)	75 (48.7)	
No (placebo)	135 (54.0)	135 (54.0)	79 (51.3)	
Smoking status [n (%)]				0.004
Never smokers	136 (54.4)	121 (48.4)	85 (55.2)	
Former smokers	89 (35.6)	75 (30.0)	36 (23.4)	
Current smokers	25 (10.0)	54 (21.6)	33 (21.4)	
Physical activity [n (%)]				0.1
Low	51 (20.4)	71 (28.4)	49 (31.8)	
Moderate	81 (32.4)	72 (28.8)	48 (31.2)	
High	118 (47.2)	107 (42.8)	57 (37.0)	
Educational level [n (%)]				0.3
Primary	67 (26.8)	54 (21.6)	27 (17.5)	
Secondary	103 (41.2)	104 (41.6)	59 (38.3)	
University	80 (32.0)	92 (36.8)	68 (44.2)	
Alcohol intake (g/d)	12.5±16.7	15.5±18.3	9.2±11.1	0.04
Family history <sup>3</sup> of any cancer (yes. %)	83 (33.2)	89 (35.6)	45 (29.2)	0.6
Family history <sup>3</sup> of breast cancer (yes. %) <sup>4</sup>	10 (4.0)	25 (10.0)	24 (15.6)	0.001
Menopausal status (yes. %) <sup>4</sup>	70 (28.0)	72 (28.8)	59 (38.3)	0.8
Use of hormonal treatment for menopause (yes. %) <sup>4</sup>	67 (26.8)	71 (28.4)	62 (40.3)	0.6
Number of biologic children <sup>4</sup>	1.9±1.1	1.9±1.2	2.0±1.2	0.6

<sup>1</sup>P value for the comparison of overall cancer cases and controls by conditional logistic regression.

<sup>2</sup>Mean ± SD (all such values).

<sup>3</sup>In first or second degree relatives.

<sup>4</sup>In women only.

doi:10.1371/journal.pone.0090442.t001

supplementation and plasma fatty acids could not be formally tested. However, stratified analyses were performed by running the models separately in supplemented and non-supplemented subjects. In sensitivity analyses, models were also performed on the absolute values of fatty acids. All statistical tests were two-sided, and  $P < 0.05$  was considered statistically significant, however, we also pointed out results that remained statistically significant with a more conservative threshold ( $P < 0.01$ ). Analyses were performed with SAS software (v9.2; SAS Institute Inc, Cary, North Carolina).

## Results

A total of 250 incident cancer cases were diagnosed during follow-up: 154 breast and 96 other cancer cases (42 prostate, 20 colorectal, 19 lung, and 15 upper aerodigestive tract cancers). In breast cancer cases, 63 were premenopausal and 91 were postmenopausal. 81% were estrogen receptor positive (ER+) and

71% were progesterone receptor positive (PR+). 69% of breast cancers were ductal, 13% were lobular and 18% derived from other histological types. Mean tumor size was 16.2 ( $\pm 11.75$ ) mm for breast tumor. 250 controls were randomly selected and matched to cases. Median follow-up time was 3.7 y for cancer cases and 7.9 y for controls. The characteristics of overall and breast cancer cases and controls are described in **Table 1**. Cancer cases were less frequently overweight but more frequently obese, more often current smokers, had higher alcohol intake and had more often family history of breast cancer (for women). Means ( $\pm$ SDs) of the percentages of each plasma fatty acids are shown in **Table 2** for overall cancer cases, breast cancer cases and controls. In this crude analysis, plasma concentrations of dihomogamma-linolenic acid, mead acid and the dihomogamma-linolenic/linoleic acids ratio were lower in cancer cases than in controls. In addition, as expected due to the random design, no difference in baseline

**Table 2.** Plasma concentrations of fatty acids at baseline among cases and controls.

Fatty acids	Controls	Overall cancer	Breast cancer	p <sup>1</sup>
	(n = 250)	cases (n = 250)	cases (n = 154)	
	% of total fatty acids ( $\pm$ SD)			
Total SFAs	28.39 $\pm$ 2.34	28.05 $\pm$ 2.36	27.78 $\pm$ 2.14	0.1
14:0 (myristic acid)	1.06 $\pm$ 0.44	1.01 $\pm$ 0.44	0.97 $\pm$ 0.43	0.2
16:0 (palmitic acid)	20.60 $\pm$ 1.97	20.32 $\pm$ 2.08	20.06 $\pm$ 1.97	0.2
18:0 (stearic acid)	6.71 $\pm$ 0.77	6.66 $\pm$ 0.80	6.69 $\pm$ 0.86	0.5
20:0 (arachidic acid)	0.06 $\pm$ 0.02	0.06 $\pm$ 0.02	0.06 $\pm$ 0.02	0.8
Total MUFAs ( <i>cis</i> )	21.67 $\pm$ 3.11	21.58 $\pm$ 3.18	21.06 $\pm$ 2.73	0.7
16:1 n-7 (palmitoleic acid)	2.23 $\pm$ 0.79	2.15 $\pm$ 0.84	2.06 $\pm$ 0.68	0.3
18:1 n-7 <i>cis</i> (vaccenic acid)	1.42 $\pm$ 0.24	1.47 $\pm$ 0.75	1.49 $\pm$ 0.94	0.3
18:1 n-9 (oleic acid)	18.02 $\pm$ 2.58	17.95 $\pm$ 2.55	17.52 $\pm$ 2.21	0.7
Total n-6 PUFAs	44.50 $\pm$ 4.57	44.62 $\pm$ 4.83	45.38 $\pm$ 4.21	0.8
18:2 n-6 (linoleic acid)	33.73 $\pm$ 4.70	34.06 $\pm$ 4.67	34.83 $\pm$ 4.17	0.4
18:3 n-6 ( $\gamma$ -linolenic acid)	0.53 $\pm$ 0.22	0.49 $\pm$ 0.19	0.45 $\pm$ 0.18	0.05
20:2 n-6 (eicosadienoic acid)	0.21 $\pm$ 0.05	0.21 $\pm$ 0.05	0.21 $\pm$ 0.05	0.5
20:3 n-6 (dihomo- $\gamma$ -linolenic acid)	1.61 $\pm$ 0.37	1.52 $\pm$ 0.33	1.51 $\pm$ 0.36	0.003
20:4 n-6 (arachidonic acid)	8.19 $\pm$ 1.53	8.13 $\pm$ 1.59	8.18 $\pm$ 1.60	0.6
22:4 n-6 (docosatetraenoic acid)	0.21 $\pm$ 0.09	0.21 $\pm$ 0.08	0.20 $\pm$ 0.07	0.7
Total n-3 PUFAs	5.09 $\pm$ 1.54	5.43 $\pm$ 2.50	5.47 $\pm$ 2.71	0.08
18:3 n-3 ( $\alpha$ -linolenic acid)	0.51 $\pm$ 0.15	0.52 $\pm$ 0.17	0.52 $\pm$ 0.16	0.2
20:5 n-3 (eicosapentaenoic acid)	1.34 $\pm$ 0.82	1.52 $\pm$ 1.42	1.50 $\pm$ 1.55	0.1
22:5 n-3 (docosapentaenoic acid)	0.55 $\pm$ 0.14	0.57 $\pm$ 0.20	0.57 $\pm$ 0.21	0.2
22:6 n-3 (docosahexaenoic acid)	2.69 $\pm$ 0.77	2.82 $\pm$ 1.05	2.88 $\pm$ 1.10	0.1
n-9 PUFAs				
20:3 n-9 (mead acid)	0.15 $\pm$ 0.09	0.13 $\pm$ 0.05	0.13 $\pm$ 0.05	0.01
Total PUFAs	49.58 $\pm$ 4.72	50.05 $\pm$ 4.67	50.85 $\pm$ 3.78	0.2
Ratio				
n-3/n-6	0.12 $\pm$ 0.03	0.13 $\pm$ 0.08	0.13 $\pm$ 0.09	0.09
20:4 n-6/20:3 n-6	5.32 $\pm$ 1.58	5.59 $\pm$ 1.53	5.70 $\pm$ 1.61	0.05
20:3 n-6/18:2n-6	0.05 $\pm$ 0.01	0.04 $\pm$ 0.01	0.04 $\pm$ 0.01	0.004
18:1n-9/18:0	2.73 $\pm$ 0.52	2.73 $\pm$ 0.49	2.66 $\pm$ 0.48	0.9
Quantity of total fatty acids ( $\mu$ mol/L) <sup>2</sup>	11038.23 $\pm$ 2013.56	11330.45 $\pm$ 2732.49	10870.56 $\pm$ 1953.79	0.3

<sup>1</sup>P for the comparison of overall cancer cases and controls by unadjusted conditional logistic regression (only matching factors).

<sup>2</sup>Mean and SD for total quantity of fatty acids. This information was available for 174 cancer cases (among which 113 breast cancers) and 174 controls.  
doi:10.1371/journal.pone.0090442.t002

plasma fatty acid levels was observed between the placebo and the supplemented group ( $p > 0.05$  for all studied fatty acids, data not tabulated).

Associations between plasma fatty acids and overall cancer risk are presented in **Table 3**. Dihomo- $\gamma$ -linolenic acid ( $OR_{Q4vs.Q1} = 0.49$ , 95%CI = 0.28–0.85,  $P_{trend} = 0.002$ ), the di-homo- $\gamma$ -linolenic/linoleic acids ratio ( $OR_{Q4vs.Q1} = 0.46$ , 95%CI = 0.25–0.85,  $P_{trend} = 0.001$ ), mead acid ( $OR_{Q4vs.Q1} = 0.35$ , 95%CI = 0.19–0.65,  $P_{trend} = 0.0004$ ), and palmitoleic acid ( $OR_{Q4vs.Q1} = 0.55$ , 95%CI = 0.30–1.01,  $P_{trend} = 0.02$ ) were inversely associated with overall cancer risk. The arachidonic/dihomo- $\gamma$ -linolenic acids ratio ( $OR_{Q4vs.Q1} = 1.90$ , 95%CI = 1.09–3.30,  $P_{trend} = 0.02$ ) and linoleic acid ( $OR_{Q4vs.Q1} = 1.91$ , 95%CI = 1.06–3.43,  $P_{trend} = 0.02$ ) were directly associated with overall cancer risk. The associations between mead acid, linoleic and di-homo- $\gamma$ -linolenic acids and cancer risk persisted after mutual adjustment for each

other. Results for di-homo- $\gamma$ -linolenic acid, mead acid and the di-homo- $\gamma$ -linolenic/linoleic acids ratio remained statistically significant when a p-value of 0.01 for significance was considered.

When analyses were stratified by intervention group (**Table 3**), no significant association was observed in the antioxidant group. In contrast, in the placebo group, previous significant associations tended to be strengthened, and further associations appeared: total PUFAs were directly associated with overall cancer risk ( $OR_{Q4vs.Q1} = 2.88$ , 95%CI = 1.20–6.92,  $P_{trend} = 0.02$ ) whereas  $\gamma$ -linolenic acid ( $OR_{Q4vs.Q1} = 0.20$ , 95%CI = 0.08–0.50;  $P_{trend} = 0.001$ ), total SFA ( $OR_{Q4vs.Q1} = 0.35$ , 95%CI = 0.16–0.78;  $P_{trend} = 0.01$ ), and palmitic acid ( $OR_{Q4vs.Q1} = 0.28$ , 95%CI = 0.11–0.29,  $P_{trend} = 0.004$ ) were associated with decreased overall cancer risk. Among these results, those regarding  $\gamma$ -linolenic and palmitic



Table 3. Cont.

Plasma fatty acids	All (n <sub>cases</sub> = 250 and n <sub>controls</sub> = 250)				Placebo group (n <sub>cases</sub> = 135 and n <sub>controls</sub> = 135)				Intervention group (n <sub>cases</sub> = 115 and n <sub>controls</sub> = 115)							
	OR (95%CI)	Q1 (ref)	Q2	Q3	Q4	P trend (ref)	Q1	Q2	Q3	Q4	P trend (ref)	Q1	Q2	Q3	Q4	P trend
18:1n-7/18:0	0.90 (0.52–1.55)	1	0.90 (0.53–1.54)	0.90 (0.53–1.54)	1.19 (0.69–2.06)	0.6	0.94 (0.44–2.01)	0.86 (0.39–1.88)	1.42 (0.64–3.17)	0.4	0.94 (0.40–2.20)	1.05 (0.47–2.36)	1.15 (0.50–2.64)	0.7		

<sup>†</sup>Adjusted for gender, age, intervention group (except in the models stratified on this variable), body mass index, height, smoking status, physical activity, alcohol intake, educational level and family history of cancer. doi:10.1371/journal.pone.0090442.t003

acids remained statistically significant when a p-value of 0.01 for significance was considered.

Similar trends were observed for breast cancer specifically (Table 4) regarding all results (overall and stratified by intervention group) except for findings related to dihomo- $\gamma$ -linolenic acid that were not statistically significant and for a direct association that was observed between eicosadienoic acid and breast cancer risk in the placebo group (OR<sub>Q4vsQ1</sub> = 4.10, 95%CI = 0.92–18.39, P<sub>trend</sub> = 0.03). However the later result was no longer statistically significant if a p-value threshold of 0.01 was considered.

Further adjustment for energy, total lipid, and fruit and vegetable intakes, and number of dietary records did not modify the findings, neither did the sensitivity analyses excluding cases (n = 30) diagnosed during the first year of follow-up nor excluding the in-situ breast cancer cases (n = 20) (data not shown). Results were also similar when analyses were performed on the absolute values of fatty acids, for subjects with such available data (n = 174 cases and 174 controls) (data not shown).

### Discussion

In this prospective study, we observed inverse associations between dihomo- $\gamma$ -linolenic acid, the dihomo- $\gamma$ -linolenic/linoleic acids ratio,  $\gamma$ -linolenic acid (placebo group), mead acid, palmitoleic acid and overall cancer risk, and direct associations between the arachidonic/dihomo- $\gamma$ -linolenic acids ratio, linoleic acid and overall cancer risk. Similar results were observed for breast cancer specifically. In addition, to our knowledge, this study was the first to prospectively examine the potential modulatory role of an antioxidant supplementation on the relationships between circulating SFAs, MUFAs and PUFAs and overall and breast cancer risk. Interestingly, no association was observed in the antioxidant-supplemented group, whereas all previously described associations were found in the placebo group, such as a direct association between total PUFAs and overall and breast cancer risk.

We observed inverse associations between dihomo- $\gamma$ -linolenic acid, the ratio of dihomo- $\gamma$ -linolenic/linoleic acids (indicator of the  $\Delta 6$  desaturase and elongase which converts linoleic acid into dihomo- $\gamma$ -linolenic acid),  $\gamma$ -linolenic acid (placebo group) and overall cancer risk. Consistently, a prospective case-control study nested in the Carotene and Retinol Efficacy Trial (CARET), including 641 cases, reported an inverse association between dihomo- $\gamma$ -linolenic acid and non-aggressive prostate cancer risk [16]. In contrast, some prospective studies reported direct associations between dihomo- $\gamma$ -linolenic and gastric adenocarcinoma [23] and prostate cancer [19] risk. Although these associations require further investigation, our findings are supported by mechanistic studies: dihomo- $\gamma$ -linolenic acid inhibits both motility and invasiveness of human colon cancer cells by increasing the expression of E-cadherin, and it reduces tumor-endothelium adhesion, a key factor in the establishment of distant metastases [35]. Dihomo- $\gamma$ -linolenic acid interferes in cellular lipid metabolism and eicosanoid (cyclooxygenase and lipoxygenase) biosynthesis. It can be further converted by inflammatory cells to 15-(S)-hydroxy-8,11,13-eicosatrienoic acid and prostaglandin E1 (PGE1), that possess both anti-inflammatory and anti-proliferative properties. PGE1 could also induce growth inhibition and differentiation of cancer cells [35]. Regarding  $\gamma$ -linolenic acid, it has been shown to inhibit the overexpression and hyperactivity of fatty acid synthase oncogene closely linked to malignant transformation of mammary cells [36].

**Table 4.** Multivariate conditional logistic regression for the relationship between plasma fatty acid concentrations and breast cancer risk<sup>1</sup>.

Plasma fatty acids	All (n <sub>cases</sub> = 154 and n <sub>controls</sub> = 154)					Placebo group (n <sub>cases</sub> = 79 and n <sub>controls</sub> = 79)					Intervention group (n <sub>cases</sub> = 75 and n <sub>controls</sub> = 75)				
	OR (95%CI)					OR (95%CI)					OR (95%CI)				
	Q1 (ref)	Q2	Q3	Q4	P trend	Q1 (ref)	Q2	Q3	Q4	P trend	Q1 (ref)	Q2	Q3	Q4	P trend
Total SFAs	1	1.40 (0.66–2.99)	0.87 (0.40–1.91)	0.78 (0.38–1.62)	0.4	1	1.80 (0.53–6.13)	0.72 (0.19–2.76)	0.23 (0.06–0.88)	0.02	1	1.02 (0.30–3.44)	0.79 (0.24–2.57)	2.27 (0.75–6.90)	0.2
14:0 (myristic acid)	1	1.49 (0.67–3.33)	0.95 (0.43–2.07)	0.83 (0.36–1.90)	0.4	1	1.32 (0.37–4.62)	0.88 (0.22–3.45)	0.39 (0.10–1.55)	0.1	1	2.19 (0.59–8.13)	1.09 (0.35–3.39)	2.34 (0.64–8.53)	0.3
16:0 (palmitic acid)	1	1.37 (0.63–2.97)	0.49 (0.20–1.21)	0.78 (0.35–1.77)	0.2	1	1.11 (0.33–3.67)	0.45 (0.10–1.96)	0.20 (0.05–0.86)	0.01	1	1.60 (0.49–5.24)	0.46 (0.12–1.74)	2.97 (0.81–10.80)	0.2
18:0 (stearic acid)	1	0.62 (0.28–1.36)	1.15 (0.52–2.55)	1.05 (0.50–2.19)	0.6	1	0.86 (0.23–3.27)	0.49 (0.15–1.66)	0.44 (0.13–1.43)	0.1	1	0.31 (0.09–1.13)	1.76 (0.47–6.68)	2.44 (0.74–8.10)	0.06
20:0 (arachidic acid)	1	1.33 (0.56–3.16)	1.01 (0.43–2.39)	1.36 (0.57–2.39)	0.7	1	1.48 (0.40–5.46)	1.07 (0.27–4.24)	1.21 (0.30–4.87)	0.5	1	1.07 (0.26–4.47)	0.92 (0.24–3.46)	1.94 (0.49–7.71)	0.4
Total MUFAs, cis	1	1.16 (0.52–2.59)	0.34 (0.14–0.86)	0.86 (0.37–2.00)	0.3	1	1.15 (0.33–4.02)	0.23 (0.05–1.04)	0.55 (0.13–2.45)	0.3	1	1.03 (0.31–3.42)	0.41 (0.11–1.62)	1.25 (0.37–4.16)	0.8
16:1 n-7 (palmitoleic acid)	1	0.78 (0.37–1.68)	0.49 (0.21–1.18)	0.41 (0.17–1.01)	0.04	1	0.14 (0.03–0.78)	0.03 (0.00–0.32)	0.03 (0.00–0.29)	0.001	1	1.41 (0.51–3.93)	1.58 (0.47–5.26)	1.48 (0.39–5.62)	0.4
18:1 n-7 cis (vaccenic acid)	1	0.59 (0.27–1.29)	1.33 (0.62–2.86)	0.68 (0.32–1.48)	0.8	1	0.54 (0.14–2.13)	2.57 (0.68–9.74)	0.77 (0.21–2.88)	1.0	1	0.71 (0.25–2.02)	0.99 (0.36–2.75)	0.68 (0.23–1.97)	0.6
18:1 n-9 (oleic acid)	1	0.83 (0.38–1.84)	0.49 (0.20–1.17)	0.95 (0.40–2.27)	0.6	1	0.53 (0.16–1.79)	0.28 (0.07–1.17)	0.46 (0.09–2.23)	0.3	1	1.21 (0.36–4.12)	0.54 (0.14–2.18)	1.72 (0.52–5.74)	0.6
Total n-6 PUFAs	1	0.81 (0.37–1.80)	1.66 (0.75–3.65)	1.42 (0.63–3.24)	0.2	1	0.91 (0.26–3.23)	4.91 (1.07–22.50)	6.77 (1.34–34.18)	0.02	1	0.47 (0.13–1.79)	0.90 (0.26–3.18)	0.35 (0.10–1.25)	0.3
18:2 n-6 (linoleic acid)	1	1.86 (0.88–3.95)	1.78 (1.58–9.04)	2.06 (0.88–4.80)	0.04	1	1.71 (0.51–5.75)	4.83 (1.11–20.97)	6.90 (1.38–34.51)	0.01	1	2.73 (0.82–9.15)	3.26 (0.89–11.89)	0.60 (0.16–2.30)	1.0
18:3 n-6 (γ-linolenic acid)	1	0.95 (0.42–2.14)	0.86 (0.38–1.97)	0.58 (0.25–1.35)	0.2	1	0.28 (0.06–1.19)	0.34 (0.07–1.64)	0.10 (0.02–0.63)	0.07	1	2.43 (0.67–8.77)	1.53 (0.44–5.30)	1.46 (0.44–4.87)	0.9
20:2 n-6 (eicosadienoic acid)	1	0.88 (0.42–1.82)	1.22 (0.53–2.79)	1.13 (0.54–2.36)	0.6	1	0.81 (0.24–2.68)	4.40 (0.95–20.43)	4.10 (0.92–18.39)	0.03	1	1.68 (0.51–5.54)	0.85 (0.24–2.94)	0.70 (0.24–2.06)	0.4
20:3 n-6 (dihomo-γ-linolenic acid)	1	1.55 (0.70–3.42)	0.70 (0.33–1.50)	0.67 (0.31–1.46)	0.1	1	1.32 (0.41–4.28)	0.71 (0.24–2.11)	0.99 (0.29–3.34)	0.8	1	2.61 (0.67–10.26)	0.66 (0.18–2.37)	0.59 (0.18–2.37)	0.2
20:4 n-6 (arachidonic acid)	1	1.12 (0.52–2.43)	1.08 (0.45–2.56)	1.04 (0.44–2.44)	1.0	1	1.02 (0.32–3.27)	1.19 (0.32–4.47)	1.02 (0.26–3.97)	0.9	1	1.35 (0.38–4.86)	0.65 (0.15–2.85)	1.13 (0.32–4.08)	0.8
22:4 n-6 (docosatetraenoic acid)	1	2.44 (1.07–5.56)	1.60 (0.71–3.62)	1.57 (0.72–3.43)	0.5	1	1.29 (0.42–3.96)	1.06 (0.31–3.63)	1.27 (0.40–4.04)	0.8	1	11.21 (2.02–62.08)	2.90 (0.76–6.43)	1.80 (0.50–6.43)	0.7
Total n-3 PUFAs	1	0.62 (0.27–1.43)	0.74 (0.31–1.74)	0.82 (0.36–1.85)	0.9	1	0.70 (0.19–2.57)	0.59 (0.16–2.16)	1.28 (0.32–5.21)	0.7	1	0.41 (0.10–1.69)	1.17 (0.32–4.35)	0.56 (0.18–1.78)	0.5
18:3 n-3 (α-linolenic acid)	1	1.33 (0.57–3.12)	0.94 (0.38–2.28)	1.08 (0.44–2.62)	0.8	1	0.77 (0.17–3.38)	1.29 (0.31–5.30)	0.73 (0.19–2.77)	1.00	1	1.54 (0.46–2.14)	0.52 (0.13–2.00)	1.43 (0.35–5.81)	1.0
20:5 n-3 (eicosapentaenoic acid)	1	1.12 (0.52–2.40)	0.58 (0.26–1.33)	1.06 (0.48–2.34)	0.7	1	1.58 (0.45–5.48)	0.24 (0.06–0.99)	1.72 (0.44–6.71)	0.9	1	0.88 (0.27–2.87)	0.91 (0.27–3.14)	0.75 (0.22–2.61)	0.6
22:5 n-3 (docosapentaenoic acid)	1	0.93 (0.45–1.93)	0.72 (0.35–1.51)	0.98 (0.45–2.12)	0.8	1	1.41 (0.47–4.20)	0.38 (0.09–1.68)	1.35 (0.34–5.33)	0.8	1	0.57 (0.17–1.91)	0.69 (0.24–1.98)	0.61 (0.20–1.84)	0.3
22:6 n-3 (docosahexaenoic acid)	1	1.14 (0.52–2.51)	0.95 (0.45–2.02)	1.00 (0.52–2.51)	0.9	1	2.70 (0.77–9.41)	1.11 (0.32–3.79)	2.02 (0.59–6.95)	0.5	1	0.64 (0.18–2.29)	0.87 (0.30–2.54)	0.54 (0.17–1.78)	0.3
n-9 PUFAs															

Table 4. Cont.

Plasma fatty acids	All (n <sub>cases</sub> = 154 and n <sub>controls</sub> = 154)					Placebo group (n <sub>cases</sub> = 79 and n <sub>controls</sub> = 79)					Intervention group (n <sub>cases</sub> = 75 and n <sub>controls</sub> = 75)				
	OR (95%CI)					OR (95%CI)					OR (95%CI)				
	Q1 (ref)	Q2	Q3	Q4	P trend	Q1 (ref)	Q2	Q3	Q4	P trend	Q1 (ref)	Q2	Q3	Q4	P trend
20:3 n-9 (mead acid)	1	0.62 (0.28–1.39)	0.48 (0.20–1.14)	0.35 (0.14–0.90)	0.02	1	0.30 (0.07–1.33)	0.19 (0.04–0.83)	0.02 (0.00–0.23)	0.004	1	0.89 (0.27–2.97)	0.68 (0.18–2.54)	1.11 (0.33–3.72)	1.0
Total PUFAs	1	1.43 (0.63–3.22)	1.40 (0.65–3.03)	1.93 (0.86–4.32)	0.1	1	2.93 (0.66–12.93)	2.89 (0.76–10.94)	6.88 (1.53–30.89)	0.02	1	0.66 (0.18–2.39)	0.69 (0.20–2.33)	0.65 (0.17–2.47)	0.5
Ratios															
n-3/n-6 PUFAs	1	1.13 (0.50–2.58)	0.76 (0.32–1.80)	1.02 (0.45–2.30)	0.8	1	1.30 (0.39–4.39)	0.59 (0.18–1.93)	1.41 (0.42–4.68)	0.9	1	1.01 (0.27–3.74)	1.01 (0.25–4.10)	0.87 (0.25–3.00)	0.7
20:4 n-6/20:3 n-6	1	1.31 (0.59–2.88)	1.32 (0.56–3.10)	2.06 (0.87–4.85)	0.1	1	1.61 (0.52–4.96)	1.61 (0.42–6.14)	1.14 (0.32–3.99)	0.9	1	0.63 (0.13–2.96)	1.24 (0.31–5.04)	3.21 (0.65–16.01)	0.08
20:3 n-6/18:2n-6	1	1.31 (0.55–3.09)	0.67 (0.30–1.49)	0.47 (0.19–1.14)	0.03	1	0.97 (0.23–4.01)	0.43 (0.10–1.83)	0.26 (0.05–1.33)	0.07	1	1.90 (0.56–6.44)	0.88 (0.28–2.72)	0.70 (0.21–2.35)	0.4
18:1n-9/18:0	1	0.55 (0.24–1.27)	0.76 (0.35–1.62)	0.69 (0.31–1.53)	0.5	1	0.61 (0.18–2.05)	0.53 (0.16–1.81)	0.88 (0.24–3.19)	1.0	1	0.30 (0.07–1.24)	1.13 (0.35–3.64)	0.49 (0.15–1.62)	0.8

<sup>†</sup>Adjusted for gender, age, intervention group (except in the models stratified on this variable), number of dietary records, body mass index, height, smoking status, physical activity, alcohol intake, educational level, family history of breast cancer, menopausal status, use of hormonal treatment for menopause and number of children. doi:10.1371/journal.pone.0090442.t004

To our knowledge, the inverse association observed in the present study between mead acid and the risk of overall and breast cancer has not been previously documented in epidemiologic studies. Mechanistic data support this result. Mead acid is converted to C3 and D3 leukotrienes, which have an anti-inflammatory effect [37], and opposes 2-series prostaglandin (PGE-2) production from arachidonic acid [38].

Linoleic acid was directly associated with overall and breast cancer risk. Prospective epidemiological studies have generally failed to establish clear evidence of an association between linoleic acid and cancer risk [18,20,22], though a significant inverse association has been reported in some studies with breast [9,13,15] and prostate [19] cancers. However, our finding on linoleic acid is consistent with animal and in vitro models, which have shown its ability to promote breast and prostate cancer growth [39].

This result is also consistent with the previously discussed inverse association observed between mead acid and cancer risk. Indeed, under normal physiological conditions, n-9 derivatives are formed in small amounts, and a significant increase in mead acid status (a metabolite of oleic acid) suggests a deficiency of n-6 (and n-3) essential fatty acids [40]. Thus, both results are probably interrelated. However, these associations persisted after mutual adjustment for each of these fatty acids.

We found that an increasing concentration of palmitoleic acid was associated with a decreased risk of overall and breast cancer. Consistent with our findings, a case-control study [41] including 291 cancer cases reported a significant reduction in breast cancer risk associated with palmitoleic acid in adipose tissue. In contrast, a meta-analysis conducted in 2004 and involving 3 prospective studies [9] observed direct association between palmitoleic acid and post-menopausal breast cancer risk and one prospective study observed direct association with prostate cancer risk [21]. Cis-palmitoleic acid is mainly found in dairy products, thus, we cannot rule out the fact that its observed association with cancer risk reflects in fact a potentially protective effect of other components of dairy products, such as vitamin D.

The ratio of arachidonic/dihomo- $\gamma$ -linolenic acids (indicator of the  $\Delta 5$  desaturase activity) was associated with an increased risk of overall cancer. In line with this finding, a Swedish nested case-control study observed a borderline non-significant increase in breast cancer risk associated with this ratio [14]. This result is supported by mechanistic plausibility: dihomogamma-linolenic is converted to arachidonic acid that can be converted, via the cyclooxygenase pathway, in PGE-2 that stimulate cancer cell proliferation [35].

One of the most salient and original findings of our study is the fact that antioxidant supplementation strongly modulated the associations between circulating SFAs, MUFAs, PUFAs and cancer risk. In the ATBC Study, serum linoleic acid was inversely associated with prostate cancer risk only among men who received high-dose  $\alpha$ -tocopherol supplements (50 mg/day) [31]. In contrast, in our study, no association was found in the intervention group, whereas all previously described associations were observed and generally strengthened in the placebo group. Total PUFAs were associated with increased overall and breast cancer risk in the placebo group, whereas this relationship was not observed in the antioxidant-supplemented group. These results are consistent with mechanisms observed in some experimental studies [4,26,27]. Indeed, in addition to the specific and contrasted effects of n-3 and n-6 PUFAs, these studies suggested that when unprotected (low antioxidant status), PUFAs in general could be metabolized and transformed into peroxides that may convey genotoxic effects, whereas antioxidants protect PUFAs from peroxidation, thereby



potentially cancelling these carcinogenic properties. In addition, *in vitro* and *in vivo* models showed that several PUFAs increased cytotoxic activity of anthracyclines during cancer treatment, but this mechanism was abolished by antioxidant addition (notably  $\alpha$ -tocopherol) [42]. The overall PUFA level observed in the present study was similar to the one observed in another French cohort [43] and an Italian study [10]. However, caution is needed in the comparison of circulating fatty acid levels across studies since measurement method may be different [8].

Similarly, the previously discussed inverse association between mead acid and overall and breast cancer risk was observed in the placebo but not in the antioxidant-supplemented group. Indeed, antioxidant supplementation, by preserving essential PUFAs from peroxidation, may limit the synthesis of mead acid.

This modulation by antioxidant intake may explain discrepancies between previous studies investigating the associations between circulating PUFAs and cancer risk [9,10,15,22].

Our results showed an inverse association between SFAs (and more specifically palmitic acid) and the risk of overall and breast cancers in the placebo group only. In contrast, several prospective epidemiological studies have reported direct associations between palmitic acid and prostate [20–22] or breast [9] cancer risk, and between total SFAs and breast cancer risk [44]. SFAs can be synthesized endogenously. Palmitic acid is the major fatty acid produced by *de novo* lipogenesis from acetyl CoA and malonyl CoA and is further desaturated to palmitoleic acid or elongated to stearic acid [45]. Thus, plasma concentrations of SFAs do not systematically reflect SFA intakes but rather endogenous *de-novo* fatty acid synthesis [46,47]. Circulating palmitic acid could favour palmitoylation of estrogen  $\beta$ -receptors allowing their tumor suppressor function [48].

Strengths of our study include its prospective design, the wide range of circulating SFAs, MUFAs and PUFAs studied and, for the first time in an epidemiological study, the investigation of a potential modulatory role of an antioxidant supplementation in the association between plasma fatty acids and overall and breast cancer risk.

Some limitations should be acknowledged. First, plasma composition of fatty acids was evaluated only once, at baseline. It would have been interesting to evaluate how this composition varied in time after inclusion, overall and by antioxidant supplementation group, but this information was not available. Indeed, several factors may have modified plasma fatty acids profiles during follow-up, such as variation in endogenous lipogenesis or dietary factors. In addition, it cannot be ruled out that other factors than antioxidant supplementation may also have modified the associations between fatty acid levels and cancer risk during follow-up, such as use of specific drugs or weight change over time. However, these could not be investigated in the present study. Second, the fatty acid composition of plasma was determined based on total lipids. Other biomarkers such as fatty acid composition of plasmatic phospholipids or fatty acids from adipose tissue are more appropriate to reflect long-term fatty acid intake [6]. This limitation could explain why we did not detect some associations. For instance, we observed no relationship between n-3 PUFAs and cancer risk. Another explanation could be that n-3 PUFA intake is too low to exert a protective effect, as suggested in the E3N Study [43]. However, this finding is in agreement with most prospective studies conducted in Western countries [16,20,44]. Third, several studies suggested an increasing risk of breast, prostate or colorectal cancer associated with increasing concentrations of some individual *trans*-MUFAs [24,43,49], but no information was available for plasma concen-

trations of *trans* fatty acids in the present study. Fourth, as participants received a combination of antioxidants, it was not possible to identify if one of them was more particularly involved in the modulation of the association between plasma fatty acids and cancer risk. However, it can be postulated that the fat-soluble vitamin E may have played a central role, as previously suggested [31]. Next, regarding the multiple testing, several fatty acids were investigated, thus significant associations occurring purely by chance cannot be excluded. However, we strove to specify our models well, adjusting for the most pertinent covariates to minimize the potential for Type I error. Our initial protocol stipulated an alpha level of 0.05. We did not employ an overly conservative alpha level in order not to decrease the available statistical power and also in order not to increase the likelihood of a Type II error. Our results are hypothesis driven and supported by biologic plausibility, and the number of statistically significant results observed in our study was far above the 5% error of the first kind. Besides, all significant results were observed only in the placebo group, whereas type I error would have led to randomly distributed significant results across supplementation groups. Thus, the observed findings cannot be explained entirely by chance. Next, matching of cases and controls for the supplementation group prevented us from testing the statistical significance of observed interactions between antioxidant supplementation and plasma fatty acids. This should be investigated in future prospective studies. Finally, since the present study is observational and not interventional, causality of observed associations cannot be established. Levels of plasma fatty acids are related to each other. Thus, despite mechanistic plausibility of each observed association, it cannot be ruled out that these relationships may not be causal, but may in fact reflect complex mechanisms that involve interrelated fatty acids.

In conclusion, this prospective study highlighted several inverse or direct associations between specific plasma SFAs, MUFAs, PUFAs and cancer risk that were supported by mechanistic plausibility. Notably, for the first time, we have found a negative association between mead acid and overall and breast cancer risk. Our initial hypothesis of a modulatory effect of an antioxidant supplementation on these relationships was verified. To our knowledge, this had never been investigated before in any epidemiological study on circulating fatty acids and overall or breast cancer risk. Additional prospective studies and mechanistic data are needed to better apprehend the influence of antioxidants on the potential pro- and anti-carcinogenic effects of fatty acids.

## Acknowledgments

The authors thank Sandrine Bertrais and Luc Dauchet for their contribution to the setting of the nested case-control study. The authors also thank Gwenael Monot, Younes Esseddik, Paul Flanzky, Mohand Ait Oufella, Yasmina Chelghoum, and Than Duong Van (computer scientists), Florence Charpentier (dietitian), Nathalie Arnault, Véronique Gourlet, Fabien Szabo, Laurent Bourhis, and Stephen Besseau (statisticians), and Rachida Mehroug (logistics assistant) for their technical contribution to the SU.VI.MAX study.

## Author Contributions

Conceived and designed the experiments: CP MT. Performed the experiments: FL PG SH. Analyzed the data: CP. Wrote the paper: CP. Contributed to the data interpretation and revised each draft for important intellectual content: VC FL EKG PG SH PLM MT. Had primary responsibility for the final content and supervised the study: MT.

## References

- Pauwels EK, Kairemo K (2008) Fatty acid facts, part II: role in the prevention of carcinogenesis, or, more fish on the dish? *Drug News Perspect* 21: 504–10.
- Larsson SC, Kumlin M, Ingelman-Sundberg M, Wolk A (2004) Dietary long-chain n-3 fatty acids for the prevention of cancer: a review of potential mechanisms. *Am J Clin Nutr* 79: 935–945.
- Welsch CW (1987) Enhancement of mammary tumorigenesis by dietary fat: review of potential mechanisms. *Am J Clin Nutr* 45: 192–202.
- Serini S, Fasano E, Piccioni E, Cittadini ARM, Calviello G (2011) Dietary n-3 Polyunsaturated Fatty Acids and the Paradox of Their Health Benefits and Potential Harmful Effects. *Chem Res Toxicol* 24: 2093–2105.
- Bingham SA, Luben R, Welch A, Wareham N, Khaw KT, et al. (2003) Are imprecise methods obscuring a relation between fat and breast cancer? *Lancet* 362: 212–214.
- Arab L (2003) Biomarkers of Fat and Fatty Acid Intake. *J Nutr* 133: 925S–932S.
- Zock PL, Mensink RP, Harryvan J, de Vries JHM, Katan MB (1997) Fatty Acids in Serum Cholesteryl Esters as Quantitative Biomarkers of Dietary Intake in Humans. *Am J Epidemiol* 145: 1114–1122.
- Byers T, Gieseker K (1997) Issues in the design and interpretation of studies of fatty acids and cancer in humans. *Am J Clin Nutr* 66: 1541S–1547S.
- Saadatian-Elahi M, Norat T, Goudable JJ, Riboli E (2004) Biomarkers of dietary fatty acid intake and the risk of breast cancer: A meta-analysis. *Int J Cancer* 111: 584–591.
- Pala V, Krogh V, Muti P, Chajès V, Riboli E, et al. (2001) Erythrocyte Membrane Fatty Acids and Subsequent Breast Cancer: a Prospective Italian Study. *J Natl Cancer Inst* 93: 1088–1095.
- Chajès V, Hultén K, Van Kappel AL, Winkvist A, Kaaks R, et al. (1999) Fatty-acid composition in serum phospholipids and risk of breast cancer: An incident case-control study in Sweden. *Int J Cancer* 83: 585–590.
- Saadatian-Elahi M, Toniolo P, Ferrari P, Goudable J, Akhmedkhanov A, et al. (2002) Serum fatty acids and risk of breast cancer in a nested case-control study of the New York University Women's Health Study. *IARC Sci Publ* 156: 227–30.
- Takata Y, King I, Neuhauser M, Schaffer S, Barnett M, et al. (2009) Association of serum phospholipid fatty acids with breast cancer risk among postmenopausal cigarette smokers. *Cancer Causes Control* 20: 497–504.
- Wirfalt E, Vessby B, Mattisson I, Gullberg B, Olsson H, et al. (2004) No relations between breast cancer risk and fatty acids of erythrocyte membranes in postmenopausal women of the Malmö Diet Cancer cohort (Sweden). *Eur J Clin Nutr* 58: 761–770.
- Rissanen H, Knekt P, Jarvinen R, Salminen I, Hakulinen T (2003) Serum Fatty Acids and Breast Cancer Incidence. *Nutr Cancer* 45: 168–175.
- Cheng TYD, King IB, Barnett MJ, Ambrosone CB, Thornquist MD, et al. (2013) Serum Phospholipid Fatty Acids, Genetic Variation in Myeloperoxidase, and Prostate Cancer Risk in Heavy Smokers: A Gene-Nutrient Interaction in the Carotene and Retinol Efficacy Trial. *Am J Epidemiol* 177: 1106–1117.
- Gann PH, Hennekens CH, Sacks FM, Grodstein F, Giovannucci EL, et al. (1994) Prospective Study of Plasma Fatty Acids and Risk of Prostate Cancer. *J Natl Cancer Inst* 86: 281–286.
- Brasky TM, Till C, White E, Neuhauser ML, Song X, et al. (2011) Serum Phospholipid Fatty Acids and Prostate Cancer Risk: Results From the Prostate Cancer Prevention Trial. *Am J Epidemiol* 173: 1429–1439.
- Chavarro JE, Stampfer MJ, Li H, Campos H, Kurth T, et al. (2007) A Prospective Study of Polyunsaturated Fatty Acid Levels in Blood and Prostate Cancer Risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 16: 1364–1370.
- Crowe FL, Allen NE, Appleby PN, Overvad K, Aardestrup IV, et al. (2008) Fatty acid composition of plasma phospholipids and risk of prostate cancer in a case-control analysis nested within the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Am J Clin Nutr* 88: 1353–1363.
- Harvei S, Bjerve KS, Tretli S, Jellum E, Røsbak TE, et al. (1997) Prediagnostic level of fatty acids in serum phospholipids: Om-3 and Om-6 fatty acids and the risk of prostate cancer. *Int J Cancer* 71: 545–551.
- Park SY, Wilkens L, Henning S, Le Marchand L, Gao K, et al. (2009) Circulating fatty acids and prostate cancer risk in a nested case-control study: the Multiethnic Cohort. *Cancer Causes Control* 20: 211–223.
- Chajès V, Jenab M, Romieu I, Ferrari P, Dahm CC, et al. (2011) Plasma phospholipid fatty acid concentrations and risk of gastric adenocarcinomas in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-EUR-GAST). *Am J Clin Nutr* 94: 1304–1313.
- Kojima M, Wakai K, Tokudome S, Suzuki K, Tamakoshi K, et al. (2005) Serum Levels of Polyunsaturated Fatty Acids and Risk of Colorectal Cancer: A Prospective Study. *Am J Epidemiol* 161: 462–471.
- Colas S, Germain E, Arab K, Maheo K, Goupille C, et al. (2005)  $\alpha$ -Tocopherol Suppresses Mammary Tumor Sensitivity to Anthracyclines in Fish Oil-Fed Rats. *Nutr Cancer* 51: 178–183.
- Nohl H, Rohr-Udilova N, Gille L, Bieberschulte W, Jurek D, et al. (2005) Suppression of Tumour-promoting Factors in Fat-induced Colon Carcinogenesis by the Antioxidants Caroverine and Ubiquinone. *Anticancer Res* 25: 2793–2800.
- Welsch CW (1995) Review of the effects of dietary fat on experimental mammary gland tumorigenesis: role of lipid peroxidation. *Free Radic Biol Med* 18: 757–73.
- Verhoeven DTH, Assen N, Goldbohm RA, Dorant E, van 't Veer P, et al. (1997) Vitamins C and E, retinol, beta-carotene and dietary fibre in relation to breast cancer risk: a prospective cohort study. *Br J Cancer* 75: 149–155.
- Michels KB, Holmberg L, Bergkvist L, Ljung H, Bruce A, et al. (2001) Dietary antioxidant vitamins, retinol, and breast cancer incidence in a cohort of Swedish women. *International Journal of Cancer* 91: 563–567.
- Thiébaud ACM, Chajès V, Gerber M, Boutron-Ruault MC, Joulin V, et al. (2009) Dietary intakes of Omega-6 and Omega-3 polyunsaturated fatty acids and the risk of breast cancer. *International Journal of Cancer* 124: 924–931.
- Maññisto S, Pietinen P, Virtanen MJ, Salminen I, Albanes D, et al. (2003) Fatty Acids and Risk of Prostate Cancer in a Nested Case-Control Study in Male Smokers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 12: 1422–1428.
- Nkondjock A, Shatenstein B, Ghadirian P (2003) A case-control study of breast cancer and dietary intake of individual fatty acids and antioxidants in Montreal, Canada. *Breast* 12: 128–135.
- Hercberg S, Galan P, Preziosi P, Bertrais S, Mennen L, et al. (2004) The SU.VI.MAX study: a randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals. *Arch Intern Med* 164: 2335–2342.
- WHO (1993) ICD-10, International classification of diseases and related health problems. 10th revision.
- Wang X, Lin H, Gu Y (2012) Multiple roles of dihomo-gamma-linolenic acid against proliferation diseases. *Lipids Health Dis* 11: 25.
- Menendez JA, Ropero S, Mehmi I, Atlas E, Colomer R, et al. (2004) Overexpression and hyperactivity of breast cancer-associated fatty acid synthase (oncogenic antigen-519) is insensitive to normal arachidonic fatty acid-induced suppression in lipogenic tissues but it is selectively inhibited by tumoricidal alpha-linolenic and gamma-linolenic fatty acids: A novel mechanism by which dietary fat can alter mammary tumorigenesis. *Int J Oncol* 24: 1369–1383.
- Hammarstrom S (1981) Conversion of 5,8,11-eicosatrienoic acid to leukotrienes C3 and D3. *J Biol Chem* 256: 2275–2279.
- Jakschik BA, Morrison AR, Sprecher H (1983) Products derived from 5,8,11-eicosatrienoic acid by the 5-lipoxygenase-leukotriene pathway. *J Biol Chem* 258: 12797–12800.
- Rose DP (1997) Effects of dietary fatty acids on breast and prostate cancers: evidence from in vitro experiments and animal studies. *Am J Clin Nutr* 66: 1513S–1522S.
- Comba A, Lin YH, Eynard A, Valentich M, Fernandez-Zapico Mn, et al. (2011) Basic aspects of tumor cell fatty acid-regulated signaling and transcription factors. *Cancer Metastasis Rev* 30: 325–342.
- Simonsen NR, Fernandez-Crehuet Navajas J, Martin-Moreno JM, Strain JJ, et al. (1998) Tissue stores of individual monounsaturated fatty acids and breast cancer: the EURAMIC study. European Community Multicenter Study on Antioxidants, Myocardial Infarction, and Breast Cancer. *Am J Clin Nutr* 68: 134–141.
- Colas S, Mahéo K, Denis F, Goupille C, Hoinard C, Champeroux P, Tranquart F, Bougnoux P (2006) Sensitization by Dietary Docosahexaenoic Acid of Rat Mammary Carcinoma to Anthracycline: A Role for Tumor Vascularization. *Clin Cancer Res* 12: 5879–5886.
- Chajès V, Thiébaud ACM, Rotival M, Gauthier E, Maillard V, et al. (2008) Association between Serum trans-Monounsaturated Fatty Acids and Breast Cancer Risk in the E3N-EPIC Study. *Am J Epidemiol* 167: 1312–1320.
- Bassett JK, Severi G, Hodge AM, MacInnis RJ, Gibson RA, et al. (2013) Plasma phospholipid fatty acids, dietary fatty acids and prostate cancer risk. *Int J Cancer* 133: 1882–1891.
- Wakil SJ, Stoops JK, Joshi VC (1983) Fatty Acid Synthesis and its Regulation. *Annu Rev Biochem* 52: 537–579.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations Food and Nutrition (2010) Fats and fatty acids in human nutrition: report of an expert consultation. Paper 91. FAO, Rome.
- Chajès V, Joulin V, Clavel-Chapelon F (2011) The fatty acid desaturation index of blood lipids, as a biomarker of hepatic stearoyl-CoA desaturase expression, is a predictive factor of breast cancer risk. *Curr Opin Lipidol* 22: 6–10.
- Marino M, Ascenzi P (2008) Membrane association of estrogen receptor  $\alpha$  and  $\beta$  influences 17 $\beta$ -estradiol-mediated cancer cell proliferation. *Steroids* 73: 853–858.
- King IB, Kristal AR, Schaffer S, Thornquist M, Goodman GE (2005) Serum Trans-Fatty Acids Are Associated with Risk of Prostate Cancer in  $\beta$ -Carotene and Retinol Efficacy Trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 14: 988–992.

# Plasma Carotenoids and Retinol and Overall and Breast Cancer Risk: A Nested Case-Control Study

**Camille Pouchieu and Pilar Galan**

*Sorbonne Paris Cité Research Center, Nutritional Epidemiology Research Team, Inserm U557, Inra U1125, Cnam, Paris 13 University, Bobigny, France*

**Véronique Ducros**

*Department of Biochemistry, University Hospital of Grenoble, Grenoble, France*

**Paule Latino-Martel**

*Sorbonne Paris Cité Research Center, Nutritional Epidemiology Research Team, Inserm U557, Inra U1125, Cnam, Paris 13 University, Bobigny, France*

**Serge Hercberg**

*Sorbonne Paris Cité Research Center, Nutritional Epidemiology Research Team, Inserm U557, Inra U1125, Cnam, Paris 13 University, Bobigny, France and Public Health Department, Avicenne Hospital, Bobigny, France*

**Mathilde Touvier**

*Sorbonne Paris Cité Research Center, Nutritional Epidemiology Research Team, Inserm U557, Inra U1125, Cnam, Paris 13 University, Bobigny, France*

---

Experimental studies suggest that carotenoids and retinol may play a role in carcinogenesis, but epidemiological evidence is lacking. We investigated the prospective associations between plasma concentrations of major carotenoids and retinol, and overall and breast cancer risk. A nested case-control study included all first incident cancer cases diagnosed in the SU.VI.MAX cohort between 1994 and 2002 ( $n = 159$  cases, 1 matched control/case). Baseline plasma concentrations of carotenoids and retinol were measured by high-performance liquid chromatography. Conditional logistic regression was used to assess odds ratios for an increase of  $0.1 \mu\text{mol/L}$  [odds ratio (OR)] and 95% confidence intervals (CI). Plasma  $\beta$ -carotene (OR = 0.95, 95% CI = 0.90–0.99,  $P_{\text{trend}} = 0.04$ ) and  $\beta$ -cryptoxanthin concentrations (OR = 0.89, 95% CI = 0.81–0.99,  $P_{\text{trend}} = 0.03$ ) were inversely associated with overall cancer risk. Plasma  $\beta$ -cryptoxanthin concentration was inversely associated with breast cancer risk (OR = 0.83, 95% CI = 0.71–0.96,  $P_{\text{trend}} = 0.02$ ). The OR between plasma lycopene concentration and overall cancer risk was 1.07 (0.99–1.15),  $P_{\text{trend}} = 0.06$ . This association turned significant ( $P_{\text{trend}} = 0.01$ ) when excluding cancer cases diagnosed during the first year of follow-up. This

prospective study suggests an inverse association between plasma concentrations of  $\beta$ -cryptoxanthin and both overall and breast cancer risk, and an inverse association between  $\beta$ -carotene and overall cancer risk. The direct association between lycopene concentration and cancer risk deserves further investigation.

---

## INTRODUCTION

Carotenoids constitute a wide and diverse group of natural pigments ranging from yellow to red in fruits and vegetables.  $\alpha$ -Carotene,  $\beta$ -carotene,  $\beta$ -cryptoxanthin, lutein, zeaxanthin, and lycopene are the most prevalent, comprising 90% of circulating carotenoids (1). Several biologically plausible mechanisms suggest that carotenoids and retinol may play a role in carcinogenesis. Several carotenoids are suspected to present anticarcinogenic properties, via different possible mechanisms including antioxidation, enhanced gap-junction intercellular communication, immunoenhancement, inhibition of tumorigenesis and malignant transformation, inhibition of cell proliferation, and metabolism to retinoids, which, in turn, contribute to cellular differentiation (2,3).

However, epidemiological data remain inconsistent. Because estimation of usual dietary carotenoids intake may be prone to measurement errors, the use of blood biomarkers in epidemiological studies appears as a strategic alternative (4).

---

Submitted 24 October 2013; accepted in final form 10 March 2014.

Address correspondence to Camille Pouchieu, UREN, SMBH Paris 13, 74 rue Marcel Cachin, F-93017 Bobigny Cedex, France. Phone: +33 1 48 38 89 57. Fax: +33 1 48 38 89 31. E-mail: c.pouchieu@uren.smbh.univ-paris13.fr

Regarding breast cancer, a recent meta-analysis (5) that included 12 prospective studies on circulating carotenoids suggested that  $\beta$ -carotene,  $\alpha$ -carotene, lutein, and total carotenoids concentrations may be associated with decreased breast cancer risk. A recent pooled analysis (6) of 8 prospective studies on circulating carotenoids observed a decreased risk of breast cancer associated with plasma concentrations of the same nutrients and with lycopene concentrations. Regarding other cancer locations, prospective studies using biomarkers of plasma carotenoids have been published for prostate (7–16) and other cancers (13,15,17–22) but results remain overall inconsistent. Therefore, new prospective studies are needed to more thoroughly elucidate the associations between carotenoids and cancer risk.

The objective of the present study was to investigate the relationships between baseline plasma concentrations of main carotenoids and retinol and between the risk of overall and breast cancer. With its prospective design, its careful control for various anthropometric, lifestyle, and dietary confounders and its simultaneous investigation of several carotenoids, this study adds new information about the associations between main carotenoids and overall and breast cancer risk, in a context of conflicting literature.

## METHODS AND MATERIALS

### Study Population

The Supplementation en Vitamines et Minéraux Antioxydants (SU.VI.MAX) study is a population-based, double-blind, placebo-controlled, randomized trial (Trial Registration clinicaltrials.gov Identifier: NCT00272428) initially designed to assess the effect of a daily antioxidant supplementation on the incidence of cardiovascular disease and cancer (23). A total of 13,017 subjects were enrolled in 1994–1995. All participants took a single daily capsule of a combination of 120 mg of ascorbic acid, 30 mg of vitamin E, 6 mg of  $\beta$ -carotene, 100  $\mu$ g of selenium, and 20 mg of zinc, or a placebo. The intervention study lasted 7.5 yr. Subjects provided written informed consent, and the study was approved by the Ethics Committee for Studies with Human Subjects at the Paris-Cochin Hospital (CCPPRB n°706) and the Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (CNIL n°334641).

### Baseline Data and Blood Collection

At enrollment, all participants underwent a clinical examination and anthropometric measurements by the study nurses and physicians. They completed questionnaires regarding sociodemographic data, smoking, physical activity, and medication use.

Fasting blood samples were taken up at inclusion from all subjects (before randomization and start of the intervention). Samples were centrifuged immediately after blood draw, and

plasma aliquots were then preserved in sodium heparin. Less than 1 h after blood draw, plasma aliquots were stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  in dry ice for shipment to the central biobank (maximum 24 h), where they were stored frozen in liquid nitrogen ( $-70^{\circ}\text{C}$ ).

Dietary data were collected by using the Minitel Telematic Network, a small terminal that was widely used as an adjunct to the telephone in France at the beginning of the study. Participants were invited to provide a 24-h dietary record every 2 mo. These records were randomly distributed over 2 weekend days and 4 weekdays per year, so that each day of the week and all seasons were covered to account for individual variability in intake. Only dietary records of the first 2 yr of follow-up were considered in the current study for purposes of consistency with a prospective design. Portion sizes were estimated by using a validated picture booklet distributed to the participants at enrollment (24). French recipes validated by food and nutrition professionals were used to assess the amounts consumed from composite dishes. The mean daily energy, alcohol, and nutrient intakes were estimated by using a published French food composition table (25). Subjects were advised against taking any self-prescribed dietary supplements during their participation in the SU.VI.MAX study.

### Case Ascertainment

Major health events were self-reported by subjects during follow-up. Investigations were conducted in all declared cancer cases to obtain medical data from participants, physicians, and/or hospitals. All information was reviewed by an independent expert committee and cases were validated by pathological reports and classified using the *International Chronic Diseases Classification*, 10th rev., clinical modification (26).

### Nested Case-Control Study

A case-control study nested in the SU.VI.MAX cohort was designed to include all first primary incident cancer cases diagnosed between baseline in 1994 and December 2002. Controls (1 per case) were randomly selected among participants with complete follow-up data and without cancer diagnosis by the end of follow-up (2002) and were matched by gender, age ( $\pm 6$  mo), number of dietary records (continuous), and intervention group of the trial (antioxidants or placebo). A total of 159 incident cancer cases were diagnosed during follow-up: 100 breast cancers and 59 other cancer cases (29 prostate, 23 colorectal, 8 lung, and 9 upper aerodigestive tract cancers). Thus 159 controls were randomly selected and matched to cases. In breast cancer cases, 43 were premenopausal and 57 were postmenopausal; 81% were estrogen receptor positive (ER+) and 68% were progesterone receptor positive (PR+); and 69% were ductal, 14% were lobular, and 17% derived from other histological types.

### Laboratory Analyses of Plasma Carotenoids and Retinol

Plasma carotenoids and retinol concentrations were measured with a Biotek-Kontron high-performance liquid chromatography (HPLC) system (UVK Lab, Trappes, France), which consisted of a 525 dual pump, a 465 autosampler, and a 540 diode array detector. Retinol and  $\beta$ -carotene standards were purchased from Fluka (Sigma-France, L'Isle d'Abeau, France), and other carotenoids standards were provided by Hoffman-La Roche (Hoffman-La Roche, Basel, Switzerland). The liquid chromatography separation was run on an Alltech Adsorbosphere C18 column (150  $\times$  4.5 mm ID, 3- $\mu$ m particle size; Templemars, France), which was thermostated at 28°C with a 402 column oven. Plasma carotenoids and retinol were measured by HPLC after 2 extractions with a hexane-tetrahydrofuran mixture. For quantification, the method of Steghens and colleagues (27) with minor modifications was used. Indeed, a single 150 mm-long column instead 2, and the addition of 10 ppm water in mobile phase A were added to improve the separation of retinol, lutein, and zeaxanthin. The laboratory participated in the NIST (National Institute of Standards and Technology, New York, NY), in the Micronutrients Measurements Quality Assurance program and in the French Society for Vitamins and Biofactors (SFVB) external quality assurance program. Chrom-Systems (Munich, Germany) internal controls were analyzed in each batch measurements (1 control to 10 unknown serums). The limits of detection were calculated as fivefold the maximum baseline noise in the region of the peaks. Hence we found limits of detection of 0.05  $\mu$ M for retinol, and 0.02  $\mu$ M for the carotenoids. All measured concentrations of  $\beta$ -carotene,  $\alpha$ -carotene,  $\beta$ -cryptoxanthin, lycopene, lutein, and retinol were above detection limits. Intra-batch coefficients of variation (CVs; tested 10 times in the same run) ranged from 2.5% ( $\beta$ -cryptoxanthin) to 4.1% (lycopene). Inter-batch CVs (tested in 39 separate runs) were 14.3% for  $\beta$ -carotene, 20.3% for  $\alpha$ -carotene, 7.4% for  $\beta$ -cryptoxanthin, 17.1% for lycopene, 9.2% for lutein, and 4.7% for retinol.

### Statistical Analyses

Baseline characteristics of participants were compared between overall cancer cases and controls by using conditional logistic regression analyses. ORs and 95% confidence intervals (CI) for overall and breast cancer risk associated with 0.1  $\mu$ mol/L increase plasma carotenoids and retinol were examined by using conditional logistic regression models. This increment has been chosen because it allowed us to properly graduate the statistical distribution of plasma carotenoid levels observed in our population study. In addition to matching factors, multivariate models were adjusted for body mass index, height, alcohol intake, physical activity, smoking status, educational level, family history of cancer in first- or second-degree relatives, energy and lipid intakes. To check that studied associations between circulating carotenoids and cancer risk were not only driven by an overall healthy diet rich in fruit

and vegetables, we also tested an adjustment for overall fruit and vegetable intake. In breast cancer analyses, multivariate models were further adjusted for family history of breast cancer, number of biological children, menopausal status and menopausal hormone therapy at baseline. These covariates were coded as indicated in Table 1.

Because participants to the SU.VI.MAX trial were ever supplemented with a daily dose of antioxidants including  $\beta$ -carotene or received a placebo, we stratified analyses by antioxidant intervention group. Our hypothesis was that the association between baseline (presupplementation)  $\beta$ -carotene plasma concentration and cancer risk, if any, would appear in the placebo group but not necessarily in the supplemented group.

Interactions between plasma concentrations of carotenoids and retinol and smoking status (ever vs. never smokers or current vs. nonsmokers) and alcohol intake ( $\geq$  vs.  $<$ 10 g/day) were tested. All statistical tests were 2-sided, and  $P < 0.05$  was considered statistically significant. Analyses were performed with SAS software (v9.2; SAS Institute, Cary, NC).

### RESULTS

The characteristics of overall and breast cancer cases and corresponding controls are described in Table 1. Compared to matched controls, overall cancer cases were more frequently obese ( $P = 0.008$ ). Compared to their controls, breast cancer cases were less frequently overweight but more frequently obese ( $P = 0.04$ ), were taller ( $P = 0.02$ ), and were more likely to have family history of breast cancer ( $P = 0.02$ ). Mean ( $\pm$ SD) plasma concentrations of carotenoids and retinol are presented in Table 2.

Associations between plasma carotenoids and retinol and overall cancer risk are presented in Table 3. Plasma concentrations of  $\beta$ -carotene [OR<sub>for an increase of 0.1  $\mu$ mol/L</sub> = 0.95 (0.90–0.99);  $P_{\text{trend}} = 0.04$ ] and  $\beta$ -cryptoxanthin [OR<sub>for an increase of 0.1  $\mu$ mol/L</sub> = 0.89 (0.81–0.99),  $P_{\text{trend}} = 0.03$ ] were inversely associated with overall cancer risk.

When analyses were stratified by antioxidant intervention group (Table 3), increasing baseline plasma concentration of  $\beta$ -carotene was associated with a decreased risk of overall cancer in the placebo group [OR<sub>for an increase of 0.1  $\mu$ mol/L</sub> = 0.89 (0.80–0.99);  $P_{\text{trend}} = 0.03$ ] but not in the supplemented group ( $P_{\text{trend}} = 0.2$ ), consistent with our initial hypothesis. The association between plasma  $\beta$ -cryptoxanthin and overall cancer risk was similar overall and in each group of the trial, although statistical power reduction led to borderline nonsignificant inverse associations in stratified analyses ( $P_{\text{trend}} = 0.05$  in the placebo group and 0.06 in the supplemented group). Plasma lycopene was associated with an increased risk of overall cancer in the antioxidant intervention group [OR<sub>for an increase of 0.1  $\mu$ mol/L</sub> = 1.19 (1.01–1.39)  $P_{\text{trend}} = 0.04$ ].

Results for breast cancer are presented in Table 4.  $\beta$ -cryptoxanthin was inversely associated with breast cancer risk (OR<sub>for an increase of 0.1  $\mu$ mol/L</sub> = 0.83 (0.71–0.96),  $P_{\text{trend}} = 0.02$ ). Results

TABLE 1  
Baseline characteristics of cancer cases and matched controls in the Supplementation en Vitamines et Minéraux Antioxydants (SU.VI.MAX) study

Characteristic	Controls for overall cancer cases ( <i>n</i> = 159)	Overall cancer cases ( <i>n</i> = 159)	<i>P</i> <sup>a</sup>	Controls for breast cancer cases ( <i>n</i> = 100)	Breast cancer cases ( <i>n</i> = 100)	<i>P</i> <sup>b</sup>
Gender, <i>n</i> (%)						
Men	48 (30.2)	48 (30.2)				
Women	111 (69.8)	111 (69.8)				
Age (y) <sup>c</sup>	51.6 (6.1)	51.6 (6.1)	0.9	49.8 (6.0)	49.8 (6.0)	0.9
BMI, <i>n</i> (%)			0.008			0.04
<25 kg/m <sup>2</sup>	94 (59.1)	114 (71.7)		66 (66.0)	78 (78.0)	
25 to <30 kg/m <sup>2</sup>	52 (32.7)	28 (17.6)		28 (28.0)	14 (14.0)	
≥ 30 kg/m <sup>2</sup>	13 (8.2)	17 (10.7)		6 (6.0)	8 (8.0)	
Height (cm) <sup>c</sup>	164.7 (9.0)	165.8 (8.0)	0.1	160.6 (6.4)	162.9 (6.0)	0.02
Intervention group, <i>n</i> (%)						—
Yes	78 (49.1)	78 (49.1)		50 (50.0)	50 (50.0)	
No (placebo)	81 (50.9)	81 (50.9)		50 (50.0)	50 (50.0)	
Smoking status, <i>n</i> (%)			0.06			0.1
Never smokers	90 (56.6)	81 (50.9)		69 (69.0)	58 (58.0)	
Former smokers	54 (34.0)	47 (29.6)		23 (23.0)	24 (24.0)	
Current smokers	15 (9.4)	31 (19.5)		8 (8.0)	18 (18.0)	
Physical activity, <i>n</i> (%)			0.2			0.7
Low	31 (19.5)	45 (28.3)		26 (26.0)	31 (31.0)	
Moderate	56 (35.2)	47 (29.6)		36 (36.0)	34 (34.0)	
High	72 (45.3)	67 (42.1)		38 (38.0)	35 (35.0)	
Educational level, <i>n</i> (%)			0.1			0.2
Primary	47 (29.6)	36 (22.6)		26 (26.0)	21 (21.0)	
Secondary	69 (43.4)	64 (40.3)		45 (45.0)	38 (38.0)	
University	43 (27.0)	59 (37.1)		29 (29.0)	41 (41.0)	
Alcohol intake (g/day) <sup>c</sup>	12.8 (15.9)	14.8 (17.4)	0.2	7.1 (9.3)	9.4 (11.3)	0.1
Family history <sup>d</sup> of any cancer (yes,%)	71 (64.0)	60 (54.1)	0.2	43 (43.0)	44 (44.0)	0.9
Family history <sup>d</sup> of breast cancer (yes,%) <sup>d</sup>	14 (12.6)	21 (18.9)	0.06	7 (7.0)	18 (18.0)	0.02
Menopausal status (yes,%) <sup>e</sup>	46 (41.4)	47 (42.3)	1.0	39 (39.0)	39 (39.0)	1.0
Use of HTM (yes,%) <sup>e</sup>	52 (46.8)	52 (46.8)	0.9	46 (46.0)	44 (44.0)	0.7
Number of biologic children <sup>e</sup>	2.0 (1.1)	2.0 (1.2)	0.5	1.9 (1.1)	2.0 (1.3)	0.5
Energy intake (kcal/day) <sup>c</sup>	2070.1 (604.9)	1986.0 (598.8)	0.1	1844.8 (486.8)	1751.8 (428.1)	0.1
Lipid intake (g/day) <sup>c</sup>	87.1 (27.8)	84.4 (28.7)	0.3	78.0 (22.6)	75.3 (21.9)	0.4
Fruit intake (g/day) <sup>c</sup>	191.0 (106)	185.4 (105.8)	0.7	183.6 (100.8)	178.5 (101.8)	0.7
Vegetable intake (g/day) <sup>c</sup>	202.4 (91.9)	205.2 (104.5)	0.8	194.2 (90.7)	189.8 (99.2)	0.7

BMI = body mass index; HTM = treatment for menopause.

Cases and controls were matched by gender, age, number of dietary records, and intervention group of the SU.VI.MAX trial.

<sup>a</sup>*P* value for the comparison of overall cancer cases and corresponding controls by conditional logistic regression.

<sup>b</sup>*P* value for the comparison of breast cancer cases and corresponding controls by conditional logistic regression.

<sup>c</sup>Mean (*SD*) (all such values).

<sup>d</sup>In first- or second-degree relatives.

<sup>e</sup>In women only.

were similar in the placebo and the supplemented groups for all studied nutrients, although associations were not statistically significant due to restricted sample size in these stratified analyses.

In sensitivity analyses, the results were unchanged when focusing only on invasive cancer cases (*n* = 147). Similar

results were observed when analyses were adjusted for season of blood drawn. When excluding cancer cases diagnosed during the first year of follow-up (*n* = 19) and matched controls, results were similar for main results, that is, plasma  $\beta$ -carotene [OR<sub>for an increase of 0.1  $\mu$ mol/L</sub> = 0.94 (0.89–0.99) *P*<sub>trend</sub> = 0.03]

TABLE 2  
Baseline plasma concentrations of carotenoids and retinol among cancer cases and controls

	Controls for overall cancer cases ( <i>n</i> = 159)			Overall cancer cases ( <i>n</i> = 159)			Breast cancer cases ( <i>n</i> = 100)			<i>P</i> <sup>a</sup>
	Mean	<i>SD</i>	IQ range	Mean	<i>SD</i>	IQ range	Mean	<i>SD</i>	IQ range	
$\beta$ -carotene ( $\mu\text{mol/L}$ )	0.94	0.59	0.62	0.83	0.53	0.64	0.92	0.47	0.63	0.07
$\alpha$ -carotene ( $\mu\text{mol/L}$ )	0.25	0.17	0.19	0.23	0.15	0.16	0.25	0.17	0.17	0.5
$\beta$ -cryptoxanthin ( $\mu\text{mol/L}$ )	0.36	0.30	0.40	0.29	0.22	0.28	0.29	0.20	0.27	0.03
Lycopene ( $\mu\text{mol/L}$ )	0.58	0.33	0.38	0.64	0.38	0.41	0.65	0.37	0.44	0.2
Lutein ( $\mu\text{mol/L}$ )	0.28	0.12	0.14	0.29	0.12	0.16	0.29	0.11	0.16	0.5
Retinol ( $\mu\text{mol/L}$ )	2.12	0.49	0.67	2.14	0.51	0.62	1.97	0.41	0.53	0.8

IQ range = interquartile range.

<sup>a</sup>*P* value for the comparison of overall cancer cases and controls by unadjusted conditional logistic regression (only matching factors).

and plasma  $\beta$ -cryptoxanthin [OR<sub>for an increase of 0.1  $\mu\text{mol/L}$</sub>  = 0.90 (0.80–0.99) *P*<sub>trend</sub> = 0.04], and the direct association between plasma lycopene and cancer risk turned statistically significant [OR<sub>for an increase of 0.1  $\mu\text{mol/L}$</sub>  = 1.12 (1.02–1.22) *P*<sub>trend</sub> = 0.01]. Results without adjustment for fruit and vegetable intake were very similar for all models, although the association between  $\beta$ -cryptoxanthin and overall cancer risk was slightly weaker [OR for an increase of 0.1  $\mu\text{mol/L}$  = 0.91 (0.82–1.00) *P*<sub>trend</sub> = 0.06]. No interaction was detected between plasma carotenoids and alcohol intake or smoking status.

## DISCUSSION

In this prospective study, we observed inverse associations between plasma concentrations of  $\beta$ -carotene and  $\beta$ -cryptoxanthin and overall cancer risk and between plasma  $\beta$ -cryptoxanthin and breast cancer risk. A direct association between

plasma lycopene concentration and overall cancer risk was also observed when excluding cancer cases diagnosed during the first year of follow-up and in the antioxidant supplemented group.

The observation of an inverse association between plasma  $\beta$ -carotene and overall cancer risk is consistent with our initial hypothesis: This relationship was observed in the placebo group but not in the intervention group, for which plasma concentrations of  $\beta$ -carotene were modified immediately after baseline, due to the antioxidant supplementation that included  $\beta$ -carotene. Another explanation for this difference could be that the association between  $\beta$ -carotene and cancer risk is likely to be influenced by the source of  $\beta$ -carotene (food or supplement) and the doses involved. However, participants to the SU.VI.MAX trial received a supplementation of  $\beta$ -carotene (and other antioxidants) at nutritional doses (6 mg/day) that were largely lower than those administered in previous intervention studies, such as the CARET trial (13), in which

TABLE 3  
Multivariate conditional logistic regression for the association between plasma carotenoids and retinol concentrations and overall cancer risk<sup>a</sup>

	All (159 cancer cases and 159 controls)		Placebo group (81 cancer cases and 81 controls)		Supplemented group (78 cancer cases and 78 controls)	
	OR for an increase of 0.1 $\mu\text{mol/L}$ (95% CI)	<i>P</i> <sub>trend</sub>	OR for an increase of 0.1 $\mu\text{mol/L}$ (95% CI)	<i>P</i> <sub>trend</sub>	OR for an increase of 0.1 $\mu\text{mol/L}$ (95% CI)	<i>P</i> <sub>trend</sub>
$\beta$ -carotene	0.95 (0.90, 0.99)	0.04	0.89 (0.80, 0.99)	0.03	0.95 (0.89, 1.02)	0.2
$\alpha$ -carotene	0.93 (0.79, 1.09)	0.4	0.92 (0.72, 1.17)	0.5	0.83 (0.64, 1.07)	0.1
$\beta$ -cryptoxanthin	0.89 (0.81, 0.99)	0.03	0.85 (0.73, 1.00)	0.05	0.85 (0.72, 1.01)	0.06
Lycopene	1.07 (0.99, 1.15)	0.06	1.04 (0.95, 1.13)	0.4	1.19 (1.01, 1.39)	0.04
Lutein	1.06 (0.85, 1.31)	0.6	1.07 (0.77, 1.50)	0.7	1.10 (0.76, 1.60)	0.6
Retinol	1.00 (0.95, 1.06)	0.9	1.05 (0.97, 1.15)	0.2	0.94 (0.85, 1.04)	0.2

95% CI = 95% confidence interval; OR = odds ratio.

<sup>a</sup>In addition to matching factors (gender, age, intervention group, and number of dietary records), models were adjusted for body mass index, height, smoking status, physical activity, alcohol intake, educational level, family history of cancer, energy, lipid, and fruit and vegetable intakes.

TABLE 4

Multivariate conditional logistic regression for the association between plasma carotenoids and retinol concentrations and breast cancer risk (100 breast cancer cases and 100 controls)<sup>a</sup>

	All (100 cancer cases and 100 controls)		Placebo group (50 cancer cases and 50 controls)		Supplemented group (50 cancer cases and 50 controls)	
	OR for an increase of 0.1 $\mu\text{mol/L}$ (95% CI)	$P_{\text{trend}}$	OR for an increase of 0.1 $\mu\text{mol/L}$ (95% CI)	$P_{\text{trend}}$	OR for an increase of 0.1 $\mu\text{mol/L}$ (95% CI)	$P_{\text{trend}}$
$\beta$ -carotene	0.96 (0.89, 1.03)	0.2	0.95 (0.81, 1.12)	0.6	0.89 (0.78, 1.03)	0.1
$\alpha$ -carotene	0.94 (0.77, 1.15)	0.5	0.89 (0.62, 1.30)	0.6	0.61 (0.35, 1.06)	0.1
$\beta$ -cryptoxanthin	0.83 (0.71, 0.96)	0.02	0.75 (0.54, 1.04)	0.1	0.76 (0.56, 1.01)	0.06
Lycopene	1.04 (0.95, 1.13)	0.4	1.00 (0.89, 1.13)	0.9	1.16 (0.90, 1.50)	0.3
Lutein	1.06 (0.72, 1.56)	0.8	1.35 (0.50, 3.63)	0.6	0.82 (0.41, 1.68)	0.6
Retinol	0.99 (0.91, 1.09)	1.0	1.16 (0.91, 1.48)	0.2	0.91 (0.79, 1.06)	0.2

<sup>a</sup>In addition to matching factors (age, intervention group, and number of dietary records), models were adjusted for body mass index, height, smoking status, physical activity, alcohol intake, educational level, family history of breast cancer, menopausal status and use of hormonal treatment for menopause at baseline, number of children, and energy, lipid, and fruit and vegetable intakes.

deleterious effects on cancer risk have been reported. Consistent with our findings, several prospective studies observed an inverse association between blood concentrations of  $\beta$ -carotene and the risk of gastric (19), breast (5,6) or colorectal (17) cancers. However, some studies did not detect any association (7,10,12,13,20,22), and some observed an increased risk of prostate cancer (overall (8) and Stage III or IV (11)) associated with prediagnosis blood concentrations of  $\beta$ -carotene. In studies that observed no association between circulating  $\beta$ -carotene and cancer risk, mean or median concentrations of plasma  $\beta$ -carotene were overall lower (range: 0.11–0.47  $\mu\text{mol/L}$ ) (10,11,13,18,20,28) compared to those observed in our study (0.94  $\mu\text{mol/L}$  in controls; 0.83  $\mu\text{mol/L}$  in cases), which may explain some of the discrepancies between epidemiological studies. In addition, although not observed in the present study where the proportion of smokers is relatively low, an interaction between  $\beta$ -carotene intake and tobacco has been previously described (29). Thus it can be hypothesized that the association between plasma  $\beta$ -carotene levels and cancer risk may partly vary according to the proportion of smokers in the studied populations.

Our finding of an inverse association between plasma  $\beta$ -carotene and overall cancer risk is supported by mechanistic plausibility:  $\beta$ -carotene may reduce cell proliferation and induce apoptosis (30,31) and may interfere with estrogen signaling in breast cancer cells (31,32). Likewise, the molecular mode of the action of  $\beta$ -carotene might be mediated by retinoic acid through transcriptional activation of a series of genes with distinct antiproliferative or proapoptotic activity, which allows for the elimination of neoplastic and preneoplastic cells with irreparable alterations (33).

It cannot be ruled out that the inverse association observed between plasma  $\beta$ -carotene and overall cancer risk was in fact driven by specific cancers, such as lung (34), upper

aerodigestive tract (34), and colorectal cancers (17,22) (which represented 25% of cancer cases in our study population). Because statistical power was too low to perform analyses by cancer site in our study (except for breast), further research is needed to elucidate this point.

Plasma concentrations of  $\beta$ -cryptoxanthin were inversely associated with both overall and breast cancer risk. It is possible that the observed inverse association between  $\beta$ -cryptoxanthin and overall cancer risk was in fact driven by the relationship between  $\beta$ -cryptoxanthin and breast cancer risk (representing 62% of all cancer cases in our study). In line with our finding, previous prospective studies reported inverse associations between circulating  $\beta$ -cryptoxanthin and gastric adenocarcinoma (20), noncardia gastric cancer (18), and lung cancer risk (in women) (13). In contrast, several studies detected no association between plasma  $\beta$ -cryptoxanthin and the risk of prostate (10–13), breast (5,6), and colorectal (17) cancers. In studies that observed no association between circulating  $\beta$ -cryptoxanthin levels and cancer risk, mean or median concentrations of  $\beta$ -cryptoxanthin were lower (range: 0.10–0.25  $\mu\text{mol/L}$ ) (10,17,28,35,36) compared to those observed in our study (0.36  $\mu\text{mol/L}$  in controls; 0.29  $\mu\text{mol/L}$  in cases), which may partly explain discrepancies between epidemiological results. Consistently, our study population had a relatively high intake of citrus fruits [mean ( $\pm$ SD): 53.0 ( $\pm$ 51.4) g/day] compared to other European populations (37), citrus fruits being major contributors to  $\beta$ -cryptoxanthin intake. Because citrus fruits are also sources of many phenolics, among them the flavonoid naringenin which presents phytoestrogenic activity (38), it is difficult to disentangle the potential protective effect of these compounds from the effect of  $\beta$ -cryptoxanthin.

However, the inverse association observed between plasma  $\beta$ -cryptoxanthin concentration and overall and breast cancer



risk is consistent with animal and in vitro models:  $\beta$ -cryptoxanthin, that is constituted of nonsubstituted  $\beta$ -ionone cycles and has provitamin A properties, exhibits several biological activities, including the scavenging of free radicals, enhancement of gap junctions, immunomodulation, and regulation of the enzyme activity involved in carcinogenesis (33,39–41).

Interestingly, a direct association between plasma lycopene concentration and overall cancer risk was observed. This association was statistically significant in the antioxidant supplemented group, and for the overall population study when excluding cancer cases diagnosed during the first year of follow-up. Previous epidemiological results regarding lycopene and cancer risk differed across studies: In line with our result, a prospective study including 1683 prostate cancer cases reported that a 10-mg/dL increase in serum lycopene concentration was associated with an 8% (95% CI: 1–16) increased risk of prostate cancer diagnosed without a biopsy prompt, which were cancers generally not detected, similarly for low- and high-grade cancers (14). Another study on 153 invasive cases suggested a borderline direct association between serum concentration of lycopene and breast cancer risk (35). In contrast, several prospective studies did not detect any association between blood concentrations of lycopene and prostate (7,11–13,15), gastric (19,20), colorectal (17), or breast (5) cancer risk and some suggested an inverse association with prostate (10,34), breast (6), and overall (15) cancer risk. In most studies that found inverse associations between circulating lycopene and cancer risk, mean or median concentrations of lycopene tended to be generally lower (between 0.10 and 0.50  $\mu\text{mol/L}$ ) (6,10,15) compared to those observed in our study (0.58  $\mu\text{mol/L}$  in controls; 0.64  $\mu\text{mol/L}$  in cases) and in other studies that observed direct associations between lycopene and cancer risk (between 0.70 and 0.78  $\mu\text{mol/L}$ ) (14,35), which may contribute to explain these discrepancies. Consistently, positive associations between lycopene intake and colorectal and rectal cancer (men) were also reported in a case-control and a prospective study respectively (42,43). In addition, several studies suggest that lycopene could exert differential effects as compared to other carotenoids. In vitro or animal experiments reported potential deleterious effects such as conversion of lycopene to oxidation products that might occur in biological tissue exposed to oxidative stress (44), prooxidant activity (45), direct DNA damage (46–48) or increase of carcinogen-induced genotoxicity (49,50), and proinflammatory effects (51,52). In a nested case-control study, serum insulin-like growth factor-binding protein 3 (IGFBP-3) levels decreased with increasing serum lycopene concentrations, such decreased IGFBP-3 levels being associated with an increased risk of several common cancers (53). Thus, the prospective association between lycopene blood concentration and the risk of different cancers and the possible interaction of lycopene with cancer risk factors requires further investigation.

Some limitations should be acknowledged. First, the relatively small number of cases prevented us from testing stratified analyses by tumor receptor (for breast cancers) and may have limited our ability to detect some of the hypothesized associations. However, this is unlikely to explain the observed relationships that were statistically significant despite the potential power limitation. Second, for zeaxanthin, the determination of plasma concentrations was missing for 24 subjects out of 318 because concentrations were below the detection limit and, in subjects for whom zeaxanthin plasma concentrations could be assessed, values were too low in both cases and controls to perform statistical analyses for this carotenoid. Third, plasma composition of carotenoids was evaluated only once, at baseline. Assessment of carotenoid status at multiple time points would have resulted in more precise estimates of long term exposure (11). CVs of laboratory assays were not likely to impact the comparisons between cancer cases and controls. In addition, laboratory technicians were blinded to case-control status, thus analytic variation was taken into account whatever the group. Finally, residual confounding cannot be ruled out. However, a wide range of potential confounding factors has been taken into account. Notably fruit and vegetable are sources of many other substances that may exert a potentially protective effect against cancers. It is also a proxy for an overall healthy diet. Thus, adjusting models for fruit and vegetable intake allowed us to limit potential confounding from these other factors.

## CONCLUSION

This study suggests an inverse association between prediagnosis plasma concentrations of  $\beta$ -cryptoxanthin and both overall and breast cancer risk, and an inverse association between  $\beta$ -carotene and overall cancer risk, that are all supported by mechanistic plausibility. The direct association between circulating lycopene and cancer risk observed in this study and previously suggested in 2 previous prospective studies needs further investigation.

## FUNDING

This work was done at the Sorbonne Paris Cité Research Center, Nutritional Epidemiology Research Team, Inserm U557, Inra U1125, Cnam, Paris 13 University in Bobigny (France). This study was funded by the French Ministry of Health. The authors thank Sandrine Bertrais and Luc Dauchet for their contribution to the setting of this nested case-control study. The authors also thank Gwenaél Monot, Younes Esseddik, Paul Flanzky, Mohand Ait Oufella, Yasmina Chelghoum, and Than Duong Van (computer scientists); Florence Charpentier (dietitian); Nathalie Arnault, Véronique Gourlet, Fabien Szabo, Laurent Bourhis, and Stephen Besseau (statisticians); and Rachida Mehroug (logistics assistant) for their technical contribution to the SU.VI.MAX study.

## REFERENCES

- Namitha JJ and Negi PS: Chemistry and biotechnology of carotenoids. *Crit Rev Food Sci Nutr* **50**, 728–760, 2010.
- Krinsky NI and Johnson EJ: Carotenoid actions and their relation to health and disease. *Mol Aspects Med* **26**, 459–516, 2005.
- Chatterjee M, Roy K, Janarthan M, Das S, and Chatterjee M: Biological Activity of Carotenoids: Its Implications in Cancer Risk and Prevention. *Curr Pharm Biotech* **13**, 180–190, 2013.
- Campbell DR, Gross MD, Martini MC, Grandits GA, Slavin JL, et al.: Plasma carotenoids as biomarkers of vegetable and fruit intake. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **3**, 493–500, 1994.
- Aune D, Chan DS, Vieira AR, Navarro Rosenblatt DA, Vieira R, et al.: Dietary compared with blood concentrations of carotenoids and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Am J Clin Nutr* **96**, 356–373, 2012.
- Eliassen AH, Hendrickson SJ, Brinton LA, Buring JE, Campos H, et al.: Circulating carotenoids and risk of breast cancer: pooled analysis of eight prospective studies. *J Natl Cancer Inst* **104**, 1905–1916, 2012.
- Beilby J, Ambrosini GL, Rossi E, de Klerk NH, and Musk AW: Serum levels of folate, lycopene, b-carotene, retinol and vitamin E and prostate cancer risk. *Eur J Clin Nutr* **64**, 1235–1238, 2010.
- Karppi J, Kurl S, Laukkanen JA, and Kauhanen J: Serum beta-carotene in relation to risk of prostate cancer: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study. *Nutr Cancer* **64**, 361–367, 2012.
- Mondul AM, Watters JL, Männistö S, Weinstein SJ, Snyder K, et al.: Serum retinol and risk of prostate cancer. *Am J Epidemiol* **173**, 813–821, 2011.
- Key TJ, Appleby PN, Allen NE, Travis RC, Roddam AW, et al.: Plasma carotenoids, retinol, and tocopherols and the risk of prostate cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition Study. *Am J Clin Nutr* **86**, 672–681, 2007.
- Peters U, Leitzmann MF, Chatterjee N, Wang Y, Albanes D, et al.: Serum lycopene, other carotenoids, and prostate cancer risk: a nested case-control study in the Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian Cancer Screening Trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **16**, 962–968, 2007.
- Wu K, Erdman JW, Schwartz SJ, Platz EA, Leitzmann M, et al.: Plasma and dietary carotenoids, and the risk of prostate cancer: a nested case-control study. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* **13**, 260–269, 2004.
- Goodman GE, Schaffer S, Omenn GS, Chen C, and King I: The association between lung and prostate cancer risk, and serum micronutrients: results and lessons learned from B-Carotene and Retinol Efficacy Trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **12**, 518–526, 2003.
- Kristal AR, Till C, Platz EA, Song X, King IB, et al.: Serum lycopene concentration and prostate cancer risk: results from the Prostate Cancer Prevention Trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **20**, 638–646, 2011.
- Karppi J, Kurl S, Nurmi T, Rissanen TH, Pukkala E, et al.: Serum lycopene and the risk of cancer: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor (KIHD) Study. *Ann Epidemiol* **19**, 512–518, 2009.
- Schenk JM, Riboli E, Chatterjee N, Leitzmann MF, Ahn J, et al.: Serum retinol and prostate cancer risk: a nested case-control study in the Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian Cancer Screening Trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **18**, 1227–1231, 2009.
- Kabat GC, Kim MY, Sarto GE, Shikany JM, and Rohan TE: Repeated measurements of serum carotenoid, retinol and tocopherol levels in relation to colorectal cancer risk in the Women's Health Initiative. *Eur J Clin Nutr* **66**, 549–554, 2012.
- Abnet CC, Qiao YL, Dawsey SM, Buckman DW, Yang CS, et al.: Prospective study of serum retinol, beta-carotene, beta-cryptoxanthin, and lutein/zeaxanthin and esophageal and gastric cancers in China. *Cancer Causes Control* **14**, 645–655, 2003.
- Yuan JM, Ross RK, Gao Yt, Qu YH, Chu XD, et al.: Prediagnostic levels of serum micronutrients in relation to risk of gastric cancer in Shanghai, China. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **13**, 1772–1780, 2004.
- Jenab M, Riboli E, Ferrari P, Friesen M, Sabate J, et al.: Plasma and dietary carotenoid, retinol and tocopherol levels and the risk of gastric adenocarcinomas in the European prospective investigation into cancer and nutrition. *Br J Cancer* **95**, 406–415, 2006.
- Wakai K, Suzuki K, Ito Y, Kojima M, Tamakoshi K, et al.: Serum Carotenoids, retinol, and tocopherols, and colorectal cancer risk in a Japanese cohort: effect modification by sex for carotenoids. *Nutr Cancer* **51**, 13–24, 2005.
- Malila N, Virtamo J, Virtanen M, Pietinen P, Albanes D, et al.: Dietary and serum alpha-tocopherol, beta-carotene and retinol, and risk for colorectal cancer in male smokers. *Eur J Clin Nutr* **56**, 615–621, 2002.
- Hercberg S, Galan P, Preziosi P, Bertrais S, Mennen L, et al.: The SU.VI. MAX study: a randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals. *Arch Intern Med* **164**, 2335–2342, 2004.
- Le Moullec N, Deheeger M, Preziosi P, Montero P, Valeix P, et al.: Validation du manuel photos utilisé pour l'enquête alimentaire SU.VI.MAX. [Validation of the food portion size booklet used in the SU.VI.MAX study]. *Cah Nutr Diét* **31**, 158–164, 1996.
- Hercberg S: *Table de Composition SU.VI.MAX des Aliments*. Paris, France: Les éditions INSERM/Economica, 2005
- World Health Organization: *ICD-10, International classification of diseases and related health problems. 10th revision*. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 1993.
- Steghens JP, van Kappel AL, Riboli E, and Collombel C: Simultaneous measurement of seven carotenoids, retinol and alpha-tocopherol in serum by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* **694**, 71–81, 1997.
- Hultén K, Van Kappel A, Winkvist A, Kaaks R, Hallmans G, et al.: Carotenoids, alpha-tocopherols, and retinol in plasma and breast cancer risk in northern Sweden. *Cancer Causes Control* **12**, 529–537, 2001.
- Touvier M, Kesse E, Clavel-Chapelon F, and Boutron-Ruault MC: Dual association of beta-carotene with risk of tobacco-related cancers in a cohort of French women. *J Natl Cancer Inst* **97**, 1338–1344, 2005.
- Cui Y, Lu Z, Bai L, Shi Z, Zhao W, et al.: b-Carotene induces apoptosis and up-regulates peroxisome proliferator-activated receptor g expression and reactive oxygen species production in MCF-7 cancer cells. *Eur J Cancer* **43**, 2590–2601, 2007.
- Hua S, Kittler R, and White KP: Genomic antagonism between retinoic acid and estrogen signaling in breast cancer. *Cell* **137**, 1259–1271, 2009.
- Tang XY and Gudas LJ: Retinoids, retinoic acid receptors and cancer. *Annu Rev Pathol* **6**, 64, 2011.
- Tanaka T, Schnimizu M, and Moriwaki H: Cancer chemoprevention by carotenoids. *Molecules* **17**, 3202–3242, 2012.
- American Institute for Cancer Research/World Cancer Research Fund: *Food, Nutrition, Physical Activity and the Prevention of Cancer: a global perspective*. Washington, DC: American Institute for Cancer Research, 2007.
- Kabat GC, Kim M, Adams-Campbell LL, Caan BJ, Chlebowski RT, et al.: Longitudinal study of serum carotenoid, retinol, and tocopherol concentrations in relation to breast cancer risk among postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* **90**, 162–169, 2009.
- Maillard V, Kuriki K, Lefebvre B, Boutron-Ruault MC, Lenoir GM, et al.: Serum carotenoid, tocopherol and retinol concentrations and breast cancer risk in the E3N-EPIC study. *Int J Cancer* **127**, 1188–1196, 2010.
- Gonzalez CA, Lujan-Barroso L, Bueno-de-Mesquita HB, Jenab M, Duell EJ, et al.: Fruit and vegetable intake and the risk of gastric adenocarcinoma: A reanalysis of the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC-EURGAST) study after a longer follow-up. *International Journal of Cancer* **131**, 2910–299, 2012.
- Ruh MF, Zacharewski T, Connor K, Howell J, Chen I, et al.: Naringenin: a weakly estrogenic bioflavonoid that exhibits antiestrogenic activity. *Biochemical Pharmacology* **50**, 1485–1493, 1995.

39. Faure H, Fayol V, Galabert C, Grolier P, Le Moel G, et al.: Carotenoids: 1. metabolism and physiology. *Ann Biol Clin (Paris)* **57**, 169–183, 1999.
40. Tanaka T, Sugiura H, Inaba R, Nishikawa A, Murakami A, et al.: Immunomodulatory action of citrus auraptene on macrophage functions and cytokine production of lymphocytes in female BALB/c mice. *Carcinogenesis* **20**, 1471–1476, 1999.
41. Lorenzo Y, Azqueta A, Luna L, Bonilla F, Dominguez G, et al.: The carotenoid b-cryptoxanthin stimulates the repair of DNA oxidation damage in addition to acting as an antioxidant in human cells. *Carcinogenesis* **30**, 308–314, 2009.
42. Chaïter Y, Gruber SB, Ben-Amotz A, Almog R, Rennert HS, et al.: Smoking attenuates the negative association between carotenoids consumption and colorectal cancer risk. *Cancer Causes Control* **20**, 1327–1338, 2009.
43. Park SY, Nomura A, Murphy SP, Wilkens LR, Henderson BE, et al.: Carotenoid Intake and colorectal Cancer Risk: The Multiethnic Cohort Study. *J Epidemiol* **19**, 63–71, 2009.
44. Nagao A: Oxidative conversion of carotenoids to retinoids and other products. *J Nutr* **134**, 237S–240S, 2004.
45. Yeh SL and Hu ML: Antioxidant and pro-oxidant effects of lycopene in comparison with b-carotene on oxidant-induced damage in Hs68 cells. *J Nutr Biochem* **11**, 548–554, 2000.
46. Yeh SL, Hu ML, and Huang CS: Lycopene enhances UVA-induced DNA damage and expression of heme oxygenase-1 in cultured mouse embryo fibroblasts. *Eur J Nutr* **44**, 365–370, 2005.
47. Yeh S and Hu ML: Induction of oxidative DNA damage in human foreskin fibroblast Hs68 cells by oxidized beta-Carotene and lycopene. *Free Radic Res* **35**, 203–213, 2001.
48. Hwang ES and Bowen PE: Effects of lycopene and tomato paste extracts on DNA and lipid oxidation in LNCaP human prostate cancer cells. *Biofactors* **23**, 97–105, 2005.
49. Guttenplan JB, Chen M, Kosinska W, Thompson S, Zhao Z, et al.: Effects of a lycopene-rich diet on spontaneous and benzo[a]pyrene-induced mutagenesis in prostate, colon and lungs of the lacZ mouse. *Cancer Letters* **164**, 1–6, 2001.
50. Dingley KH, Ubick EA, Chiarappa-Zucca ML, Nowell S, Abel S, et al.: Effect of dietary constituents with chemopreventive potential on adduct formation of a low dose of the heterocyclic amines PhIP and IQ and Phase II hepatic enzymes. *Nutr Cancer* **46**, 212–221, 2003.
51. Napolitano M, De Pascale C, Wheeler-Jones C, Botham KM, and Bravo E: Effects of lycopene on the induction of foam cell formation by modified LDL. *Am J Physiol* **293**, E1820–E1827, 2007.
52. Veeramachaneni S, Ausman LM, Choi SW, Russell RM, and Wang XD: High dose lycopene supplementation increases hepatic cytochrome P4502E1 protein and inflammation in alcohol-fed rats. *J Nutr* **138**, 1329–1335, 2008.
53. Susuki K, Ito Y, Hashimoto S, Kawado M, Inoue T, et al.: Association of serum retinol and carotenoids with insulin-like growth factors and insulin-like growth factor binding protein-3 among control subjects of a nested case-control study in the Japan Collaborative Cohort Study. *Asian Pac J Cancer Prev* **10**(Suppl), 29–35, 2009.

## **Computer literacy, adhesion and attitude towards study demands among participants of a web-based cohort: results from the NutriNet-Santé study**

Camille Pouchieu<sup>1</sup>, Caroline Méjean<sup>1</sup>, Valentina A. Andreeva<sup>1</sup>, Emmanuelle Kesse-Guyot<sup>1</sup>, Philippine Fassier<sup>1</sup>, Pilar Galan<sup>1</sup>, Serge Hercberg<sup>1,2</sup> and Mathilde Touvier<sup>1</sup>.

### **Author affiliations:**

<sup>1</sup>Sorbonne Paris Cité Epidemiology and Biostatistics Research Center, Nutritional Epidemiology Research Team (EREN), Inserm U1153; Inra U1125; Cnam; Paris 13, 7 and 5 Universities, SMBH Paris 13, 74 rue Marcel Cachin, F-93017 Bobigny Cedex, France.

<sup>2</sup>Public Health Department, Avicenne Hospital, F-93017 Bobigny Cedex, France

### **Corresponding author:**

Camille Pouchieu

EREN, SMBH Paris 13, 74 rue Marcel Cachin, F-93017 Bobigny Cedex, France

Telephone number: 00 33 1 48 38 89 57

Fax number: 00 33 1 48 38 89 31

E-mail: c.pouchieu@eren.smbh.univ-paris13.fr

**Keywords:** Computer literacy, E-epidemiology, Internet, Web-based cohorts

**Word count:** 2840

## **ABSTRACT**

**Backgrounds:** Information about computer skills, adhesion and attitude towards study demands of participants involved in web-based cohorts is largely lacking, despite the worldwide expansion of e-epidemiology. Our objectives were to assess computer and Internet skills of participants in a web-based cohort study, and to compare their attitude towards study demands according to sociodemographic background and computer literacy.

**Methods:** Data were collected in 2013 by self-administered web-based questionnaires among 43028 participants to the NutriNet-santé cohort. Comparisons were performed by unconditional logistic and linear regression analyses.

**Results:** About one quarter of the subjects (24%) reported being inexperienced or novice in computer use. Women tended to be more “positive” than men towards the study, whereas better educated participants less likely to accept constraints regarding the frequency ( $P < 0.0001$ ) or completion time ( $P < 0.0001$ ) of the questionnaires. This study provides useful information for optimizing future web-based research investigations.

**Conclusions:** A substantial proportion of the participants had low perceived computer/Internet skills, suggesting that this does not represent a barrier to participation in web-based cohorts. This study further suggested that several categories of subjects with lower computer skills (e.g., women, or participants with lower educational level) were more positive towards the study and less reluctant to comply with its demands.

## INTRODUCTION

The use of web-based questionnaires in prospective epidemiological studies has increased steadily over the past decade,[1-11] driven by substantial logistic simplification (cost-effectiveness, convenience regarding place/time of survey completion, ease of converting data to an analyzable format) and scientific advantages (improved quality and quantity of exposure measurement, complex research designs, study of sensitive topics or rare conditions) of Web compared to traditional methods (paper-and-pencil questionnaires, face-to-face interviews). Other features, such as recruitment of very large samples and hard-to-reach populations (low socioeconomic strata, risky behavior profiles), quick returns and data management facility and flexibility are also strengths of e-epidemiology.[12, 13] This medium for data collection is being increasingly favored given the growth of web access and the use of personal computers.[2] As observed in the United-States,[14] 78% of French households had Internet access at home in 2013,[15] against 54% in 2007,[16] and 83% had internet access via a mobile.[15] In this context, it remains unknown the extent to which low computer and Internet literacy represent a barrier to participation in web-based studies. Very few web-based epidemiological studies have provided information about the level of computer and Internet skills of their participants.[17]

Another key question pertains to perceived respondent burden in web-based studies (e.g. regarding frequency and length of questionnaires) and its variability according to computer skills, age, gender and the educational level of participants. Indeed, it has been shown that perceived ease and user-friendliness of the study web-site and the level of perceived difficulty of questionnaires completion may have major impact on response and completion rates in e-epidemiology.[18-20] However, data is lacking in the literature regarding opinions and acceptance of respondent burden in web-based studies and its correlation with computer skills of participants. Filling this knowledge gap would be useful for ongoing and future web-based cohort studies, for instance, for improving and adapting the design of questionnaires according to the target population.

Thus, our objectives were 1) to assess computer and Internet skills of participants in a large web-based cohort (the NutriNet-Santé study), and 2) to compare their attitude towards study demands according to sociodemographic background and computer literacy.

## MATERIALS AND METHODS

### Subjects

The ongoing NutriNet-Santé Study is the first web-based, general population cohort study worldwide aiming at elucidating the link between nutrition and health.[4] It was launched in France in May 2009 to evaluate the determinants and characteristics of eating behavior and the relationship between nutrition and chronic disease risk. Participants are recruited by a vast multimedia campaign. Inclusion criteria are age  $\geq 18$  y and access to the Internet. Registration and participation take place online using a dedicated and secure website ([www.etude-nutrinet-sante.fr](http://www.etude-nutrinet-sante.fr)). Participants receive regular e-mails informing them about a new questionnaire available for completion and communicating study results and newsletters. The study website also provides general information on health and nutrition topics and on scientific publications related to the cohort. Contact between investigators and study participants is ensured by the Internet (dedicated web-site and e-mails). This study was approved by the Institutional Review Board of the French Institute for Health and Medical Research (IRB Inserm n°

0000388FWA00005831) and the "Comission Nationale de l'Informatique et des Libertés" (CNIL n° 908450 and n° 909216).

## Data collection

Participants completed a baseline set of five self-administered, web-based questionnaires on socio-demographic and lifestyle characteristics, anthropometrics, dietary intake (using repeated 24-hour dietary records) and physical activity along with health status. Thereafter, these baseline questionnaires are administered each year for information update. All these instruments have been tested against traditional assessment methods (paper questionnaires or interview by a health professional).[21-23]

Data on socio-demographic characteristics included age, gender, education and occupation. In October 2013, subjects were sent a computer literacy web questionnaire in which they were asked to self-evaluate their level of computer skills (novice, inexperienced, experienced or expert) and to report if they were able to perform specific computer/internet tasks in order to evaluate their computer literacy profile. This questionnaire also aimed to gather information on perceived respondent burden in the NutriNet-Santé study (ease of website use, interest in the information section, acceptable frequency and completion time of the questionnaires, satisfaction with the communication between study staff and participants, potential interest in a NutriNet-Santé smartphone application). Modalities of response were those described in table 3. This questionnaire was not mandatory and no reminders were sent to non-responders.

## Statistical analyses

From the 123 984 participants included in the NutriNet-Santé study between May 2009 and October 2013, 43 028 individuals (35%) returned the optional questionnaire on computer skills and Internet use.

Sociodemographic characteristics are presented in a frequency/percent format for the entire sample: gender, age (<30 years, 30-44 years, 45-59 years,  $\geq$  60 years), educational level (>12 or  $\leq$ 12 years of schooling), occupational category (farmers, manual workers, employees, intermediate professions/ skilled office work, self-employed, managerial staff, never employed). Similarly, overall and task-specific computer skills are presented in a frequency/percent format.

Opinions about respondent burden in the NutriNet-santé study were compared by multivariate unconditional logistic regression analyses according to socio-demographic characteristics (gender: women versus men, age: >50y versus  $\leq$ 50y and education: >12y versus  $\leq$ 12y of schooling) and self-evaluated level of computer skills (experienced-expert versus novice-inexperienced). Actual and self-perceived acceptable questionnaire completion times were compared by multivariate linear regression analyses according to the same socio-demographic characteristics and self-evaluated level of computer skills. These variables were log-transformed to improve normality. Adjusted means and standard errors (SE) were reported. Multivariate models were mutually adjusted for gender, age, educational level, and self-evaluated level of computer skills.

P-value < 0.05 was considered statistically significant. Analyses were carried out with SAS (version 9.3, SAS Institute Inc, Cary, NC, USA).

## RESULTS

Sociodemographic characteristics of the study population (n=43 028) were presented in Table 1. In all, 76% of the participants were women and mean age was 51.2 years (SD=14.5). The

sample included 35% of managerial staff, 28% of intermediate professions/skilled office work, 27% of employees, 3% of self-employed, 3% of farmers and manual workers and 4% of never-employed subjects (current occupation or most recent job for retired or currently unemployed subjects).

**Table 1.** Baseline characteristics of respondents to the computer literacy questionnaire, NutriNet-Santé cohort, France, 2013

	Full NutriNet-Santé cohort (n=123 984)		Respondents to the computer literacy questionnaire (n=43 028)	
	N	%	N	%
Gender				
Female	96912	78.2	32731	76.1
Male	27072	21.8	10297	23.9
Age categories (years)				
< 30	18518	14.9	4298	10.0
30-44	40432	32.6	10626	24.7
45-59	35923	29.0	13623	31.7
≥ 60	29111	23.5	14481	33.7
Educational level				
Advanced/graduate degree (≥17 y of schooling)	40274	32.5	14457	33.6
Undergraduate degree (13-16 y of schooling)	36579	29.5	12663	29.4
Secondary degree (≤12 y of schooling)	43070	34.7	14526	33.8
Elementary degree (≤5 y of schooling)	2375	1.9	942	2.2
No degree	1686	1.4	440	1.0
Level of computer skills				
Expert			5365	12.5
Experienced			27428	63.7
Novice			9288	21.6
Inexperienced			947	2.2

### Computer and Internet skills

A substantial proportion of the participants (24%) evaluated themselves as novice or inexperienced in computer use. This was illustrated by the description of specific skills (Table 2). For instance, 35% did not know usual keyboard shortcuts (e.g., CTRL+C, CTRL+V). About 38% did not know how to place a telephone call by the Internet or how to post messages on discussion forums.

**Table 2.** Self-reported computer and Internet skills of participants (n=43 028), NutriNet-Santé Study, France, 2013

Computer skills	Positive responses	
	n	%

Copy or move a file or folder	39693	92.2
Transfer files between a computer and a device (digital camera, USB stick, cell phone, MP3 player, etc.)	37827	87.9
Burn or copy a CD/DVD	32466	75.5
Install new devices (modem, printer, scanner, webcam, etc.)	31465	73.1
Use basic arithmetic formulas in a spreadsheet (Excel, Open Office Calc, etc.)	27357	63.6
Create electronic presentation	25102	58.3
Use keyboard shortcuts (CTRL+C, CTRL+V, CTRL+X, etc.)	28147	65.4
Compress/decompress (or zip) files	23794	55.3
Install or update an operating system (Windows XP, Windows Vista, Windows 7, Windows 8, Mac OS, Linux)	18992	44.1
Change or check the configuration settings for a software	18352	42.7
Upgrade a computer (desktop or laptop) by changing the hard disk or memory (RAM)	6614	15.4
Write a computer program (C, C++, PHP, HTML, Java, etc.)	3359	7.8
<b>Internet skills</b>		
Use a search engine (Google, Yahoo, Bing, etc.)	42288	98.3
Send e-mails with attached files (document, photo, etc.)	41333	96.1
Fill in administrative forms online	39718	92.3
Buy or sell goods and services online	36509	84.8
Use instant messaging software (Yahoo, Facebook, Skype, Windows Messenger, Google Talk, Trillian, etc.)	29522	68.6
Phone by connecting to the Internet (Skype, Yahoo Messenger, Google Talk, etc.)	26881	62.5
Post messages in online discussion forum or chat site	26361	61.3
Download movies, music, games, etc.	26019	60.5
Change the security parameters of a web browser	24019	55.8
Upload text, games, photos, movies or music (on social networks like Facebook or Twitter, for example)	21025	48.9
Create and manage a blog	10158	23.6
Create and manage a website	6435	15.0

## Opinions and attitudes towards study demands

Overall acceptance of the study was high: 95% reported that the website use was easy, 91% were satisfied with the current frequency of questionnaire administration, and 25% reported that even a higher frequency than the one currently employed (i.e. 1 questionnaire/month) would be acceptable (Table 3). 87% of the respondents preferred the current communication modes (e-mail and Internet web-site) and did not wish to be contacted by any other means (telephone, postal mail or face-to-face interaction).

Despite their relatively lower computer skills ( $P < 0.0001$ ), women were more “positive” than men regarding facility of use of the study website ( $OR_{\text{female vs male}}$  disagreeing with the assertion “The overall website use is easy” = 0.65, 95% confidence interval (CI): 0.59, 0.71,  $P < 0.0001$ ), reported more interest in the information section ( $P = 0.0003$ ) and supported the current frequency of questionnaire administration ( $P < 0.0001$ ) (Table 3). Alternative contact modes such as postal mail or participant in-person meetings were more frequently endorsed by women, while other communication modalities such as telephone or direct appointments with study staff were more likely to be endorsed by men.

Older subjects ( $> 50y$ ) were more interested in the information section on the website ( $P < 0.0001$ , Table 3) yet also more inclined to report dissatisfaction with the number of administered questionnaires ( $OR_{>50 \text{ vs } \leq 50y}$  for the assertion “I receive questionnaires too often”=1.25, 95% CI: 1.15, 1.35,  $P < 0.0001$ ) compared with subjects aged 50y or younger. Despite having higher computer skills ( $P < 0.0001$ ), subjects with higher educational levels



appeared to be more demanding regarding the study format compared with subjects with  $\leq 12$  y of schooling: they were more likely to judge unfavorably the ease of use of the website ( $OR_{>12 \text{ vs } \leq 12 \text{ y of schooling}}=1.45$ , 95% CI: 1.32, 1.59) and reported lower interest in the information section as well as dissatisfaction with the number of administered questionnaires ( $P < 0.0001$  for all). In contrast, the Internet communication mode was preferred over more direct contacts by subjects with higher education ( $P < 0.0001$ ).

Subjects with higher computer skills were more likely to feel comfortable with the website and with online communication regarding their study participation (both  $P < 0.0001$ ).

Overall, 21% of the subjects reported being interested in the development of a NutriNet-Santé smartphone application. Men, younger people, and subjects with higher self-reported computer skills were more interested in such an application (all  $P < 0.0001$ ).

**Table 3.** Opinions and attitude towards the NutriNet-Santé Study demands according to gender, age, education and self-evaluated level of computer skills, NutriNet-Santé Study, France, 2013\*

	N	%	Gender (Female vs Male)			Age (>50 y vs ≤50 y)			Educational level (> 12 y vs ≤ 12 y of schooling)			Level of computer skills (Experienced vs novice)		
			OR	95%CI	P**	OR	95%CI	P**	OR	95%CI	P**	OR	95%CI	P**
The overall website use is easy					<0.0001			0.06			<0.0001			0.0001
Agree	40662	94.5	1.00	Referent		1.00	Referent		1.00	Referent		1.00	Referent	
Disagree	2366	5.5	0.65	0.59, 0.71		1.09	1.00, 1.19		1.45	1.32, 1.59		0.82	0.74, 0.91	
The information section is interesting					0.0003			<0.0001			<0.0001			<0.0001
Agree	29231	67.9	1.00	Referent		1.00	Referent		1.00	Referent		1.00	Referent	
Disagree	2042	4.7	0.61	0.55, 0.68		0.62	0.56, 0.68		2.05	1.85, 2.28		1.16	1.03, 1.31	
I don't read these sections	11755	27.3	0.90	0.86, 0.95		0.52	0.50, 0.55		2.17	2.07, 2.28		1.14	1.07, 1.20	
What do you think about the frequency of the questionnaire mailing?					<0.0001			<0.0001			<0.0001			0.1
The current frequency suits me	39293	91.3	1.00	Referent		1.00	Referent		1.00	Referent		1.00	Referent	
I receive questionnaires too often	2900	6.7	0.80	0.73, 0.87		1.25	1.15, 1.35		1.62	1.48, 1.76		0.95	0.86, 1.04	
I would like to receive questionnaires more often	835	1.9	1.01	0.85, 1.21		0.30	0.25, 0.35		0.61	0.53, 0.70		1.18	0.98, 1.42	
What is the maximum acceptable frequency to complete a questionnaire? <sup>2</sup>					0.07			<0.0001			<0.0001			<0.0001
One per week	2126	4.9	0.96	0.86, 1.07		0.32	0.29, 0.36		0.68	0.62, 0.74		1.14	1.01, 1.28	
One every two weeks	8726	20.3	0.99	0.94, 1.06		0.51	0.49, 0.54		0.98	0.93, 1.04		1.18	1.11, 1.26	
One per month (=current frequency)	24936	58.0	1.00	Referent		1.00	Referent		1.00	Referent		1.00	Referent	
One every three months	6138	14.3	1.00	0.94, 1.07		1.37	1.29, 1.46		1.03	0.97, 1.09		0.95	0.89, 1.01	
One every six months	829	1.9	0.75	0.64, 0.88		1.53	1.31, 1.80		1.15	0.99, 1.33		0.83	0.71, 0.98	
One per year	273	0.6	0.67	0.52, 0.87		1.85	1.39, 2.47		1.04	0.82, 1.35		0.87	0.66, 1.15	
Would you prefer to be contacted by means other than the Internet?														
Yes, by mail	2206	5.1	1.35	1.20, 1.52	<0.0001	0.57	0.52, 0.62	<0.0001	0.70	0.64, 0.76	<0.0001	0.50	0.46, 0.55	<0.0001
Yes, by phone	1123	2.6	0.83	0.73, 0.96	0.01	0.78	0.69, 0.89	0.0001	0.85	0.75, 0.96	0.01	0.67	0.59, 0.77	<0.0001
Yes, with a personal appointment	1441	3.3	0.77	0.69, 0.87	<0.0001	1.08	0.96, 1.21	0.2	0.97	0.86, 1.08	0.5	0.71	0.63, 0.80	<0.0001
Yes, at a meeting	1037	2.4	1.31	1.12, 1.53	0.0006	1.89	1.64, 2.17	<0.0001	0.87	0.77, 0.99	0.04	0.97	0.84, 1.12	0.7
No, the current method suits me	37221	86.5	0.96	0.89, 1.02	0.2	1.16	1.10, 1.24	<0.0001	1.25	1.18, 1.33	<0.0001	1.62	1.52, 1.72	<0.0001
Are you interested in the development of a "Nutrinet" smartphone application?					<0.0001			<0.0001			0.001			<0.0001
Yes	8970	20.8	1.00	Referent		1.00	Referent		1.00	Referent		1.00	Referent	
No	27385	63.6	1.25	1.18, 1.33		3.24	3.07, 3.42		1.00	0.95, 1.06		0.40	0.38, 0.43	
I don't know	6673	15.5	1.10	1.02, 1.19		2.28	2.13, 2.44		0.90	0.84, 0.97		0.52	0.48, 0.57	

Abbreviations: CI, confidence interval; OR, odd ratio

\* Logistic regression analyses mutually adjusted for gender, age, education and level of computer skills.

\*\* Tests for linear trend were performed using the ordinal score for each category. P values for trend are reported.

### **Actual and self-perceived acceptable questionnaire completion time**

Questionnaire completion time was higher for women, older subjects, those with lower educational level and lower computer skills (Table 4). These categories of subjects were more disposed to spend time answering questionnaires, with higher acceptable completion durations declared ( $P = 0.004$  for gender and  $P < 0.0001$  for age, educational level and computer skills).

**Table 4.** Comparison of mean response time for questionnaires (in min) according to gender, age, educational level and self-evaluated computer skills, NutriNet-Santé Study, France, 2013\*

Type of questionnaire	Gender				<i>P</i>	Age				<i>P</i>	Educational level				<i>P</i>	Level of computer skills				<i>P</i>
	Female		Male			>50 y		≤50 y			>12 y		≤12 y			Experienced		Novice		
	mean	SE	mean	SE		mean	SE	mean	SE		mean	SE	mean	SE		mean	SE	mean	SE	
Socio-demographic	14.0	0.05	13.3	0.09	<0.0001	14.9	0.06	12.4	0.08	<0.0001	12.9	0.07	14.4	0.08	<0.0001	12.7	0.05	14.6	0.09	<0.0001
Anthropometric	10.9	0.05	10.4	0.08	<0.0001	11.6	0.05	9.6	0.07	<0.0001	9.6	0.06	11.6	0.07	<0.0001	9.9	0.05	11.3	0.08	<0.0001
Health	12.1	0.05	12.0	0.09	0.4	13.6	0.06	10.5	0.08	<0.0001	10.9	0.07	13.2	0.08	<0.0001	11.2	0.05	13.0	0.09	<0.0001
Physical activity	12.2	0.05	11.4	0.08	<0.0001	12.7	0.06	10.9	0.07	<0.0001	11.2	0.06	12.4	0.07	<0.0001	11.0	0.05	12.6	0.08	<0.0001
Dietary intake	22.6	0.08	22.5	0.15	0.5	24.5	0.10	20.5	0.13	<0.0001	22.5	0.11	22.5	0.12	0.9	21.0	0.09	24.0	0.15	<0.0001
Completion time deemed acceptable for a NutriNet-Santé questionnaire	33.9	0.44	31.6	0.77	0.004	36.4	0.51	29.2	0.68	<0.0001	29.3	0.55	36.3	0.64	<0.0001	29.7	0.44	35.9	0.77	<0.0001

Abbreviations: SE, standard error of the mean; min, minutes.

\*Linear regression analyses mutually adjusted for gender, age, education and level of computer skills. Mean completion time of questionnaires was log-transformed to improve normality.

## DISCUSSION

To our knowledge, the present study is the first to shed light on computer skills and attitudes towards study demands of a large sample of French volunteers in a web-based cohort. The main results showed that a substantial proportion of the participants (about a quarter) declared being inexperienced or novice in computer use. Women tended to be more positive than men towards the study and its format, whereas participants with higher educational level were less likely to be satisfied with the study demands, notably regarding the frequency and completion time of the questionnaires.

A key question in e-epidemiology pertains to the extent to which low computer skills represents a barrier to participation. Every year, the European Union Commission collects data on the digital skills of the population, measured by asking individuals if they had ever performed certain computer and/or internet related activities (Eurostat). In their 2012 report, 41% of the French population reported having either low or no computer skills.[24] The proportion of novice/inexperienced computer users was lower in our study population (24%). This was expected since access to the Internet is an inclusion criterion and since higher socio-professional categories were slightly (and commonly) overrepresented. Individuals in the latter category may have acquired a more practical and administrative use of the web[25] given its regular use in the framework of their professional activity or during their university studies. Likewise, the proportion of NutriNet-Santé participants who could “install new devices,” “compress/decompress files” or “use basic arithmetic formulas in a spreadsheet” was higher than observed in the French general population.<sup>237;238</sup> Our study population seemed to be better qualified for a more practical/working use of the Internet than for a leisure/entertainment use, with higher proportions of participants who could “send e-mails with attached files” or “fill in administrative forms online” and lower proportions of subjects who could “download movies, music, games” or “upload texts, games, photos, movies or music.” Older age of our cohort compared to the French general population probably contributes to explain these differences. However, a notable finding was that the proportion of computer novice/inexperienced subjects was non-negligible, suggesting that participation in web-based cohorts is not restricted to computer experts. Given the rapid increase in digital skills among EU citizens,[24] this trend will be strengthened in the near future, moving towards a complete elimination of computer skills-related barriers.

Interestingly, several categories of subjects with lower computer skills (e.g., women, or participants with lower educational levels) were in fact more positive towards the study and more accepting of the respondent burden. Indeed, overall satisfaction was high regarding the design of the study, with the majority of subjects reporting support for parameters that are currently in effect in terms of questionnaire frequency (about one/month) and time needed for completion (less than 30 min/questionnaire). However, socio-demographic characteristics modulated these opinions. In addition to their higher participation (76%, which was expected for a study related to nutrition questions), female volunteers tended to be more motivated and satisfied by the study than were their male counterparts. Unlike older adults (>50y), younger adults felt more comfortable with the website and the questionnaires. Interestingly, participants with higher levels of education were somewhat less satisfied with the demands of study participation. This could be explained by several reasons. First, subjects with higher educational levels are usually exposed to a variety of digital activities and Internet web-sites during their professional activities and their leisure time,[25] and thus, may be more demanding on the design and the usability of questionnaires. Second, as they spend more time on the Internet,[28] they are more often deluged with all types of questionnaires via spams, making them less receptive to the questionnaires of the study. These results provide useful information for web-based study protocol optimization. For instance, when applicable, ancillary protocols that are optional and do not necessarily necessitate the recruitment of representative subsamples

of the cohort could only be geared towards the most receptive categories of subjects, identified in this study.

The proportion of respondents who preferred the current communication modes (e-mail and Internet web-site compared to telephone, postal mail or face-to-face interactions) was high (87%), especially in older participants, better educated and with higher computer skills. However, unlike some previous studies,[29-31] the present one was not designed as an experiment to test response rate according to survey mode but only to evaluate the overall satisfaction level of participant regarding survey mode. Thus, this figure should be toned down by the fact that prior research indicates that respondents tend to prefer the mode in they were interviewed.<sup>237</sup> Overall, the proportion of subjects interested in the development of a NutriNet-Santé smartphone application was relatively limited (21%). In fact, smartphone use in our study (34% in 2013, data not shown) was less widespread than in the general French population (50%).[33] In our sample, interest in a smartphone application was strongly modulated by several parameters: notably, men and younger adults were those who demonstrated the highest interest. Thus, giving the opportunity to participate in a research study via a smartphone application would provide a strategic opportunity to recruit participants who are currently under-represented in the cohort.

Strengths of this study pertain to the use of a large population-based cohort sample and availability of detailed information on computer/Internet skills and attitude towards demands of an Internet-based study, in the context of growing interest in e-epidemiology coupled with scarce knowledge about these parameters.

Several limitations should be acknowledged. First, caution is needed in extrapolating our results to all web-based investigations, since the NutriNet-Santé study involved a sample of volunteers who accepted to participate in a survey on nutrition and health. Compared to national estimates,[34, 35] the NutriNet-Santé study included more women and individuals belonging to higher socio-professional categories. Second, response rate to this specific non-mandatory computer/Internet skills questionnaire was 35%. In fact, non-response to this questionnaire did not alter the enrollment status of the participants. Compared to non-responders, responders were more likely to be men, younger and better educated. Thus, we may have underestimated the proportions of novice/inexperienced computer users. Besides, the questionnaire was administered four years after the launch of the cohort. Thus, it is possible that this survey underrepresented subjects who might have dropped out of the study due to difficulties related to computer/Internet use. As it is usually the case in prospective cohorts in which mandatory and non-mandatory questionnaires are sent to participants, the level of implication varies between subjects. When the computer literacy questionnaire was administered in October 2013, 78380 subjects were regular respondents to optional questionnaires (at least 1 questionnaire filled in the last 6 months). Based on this population, response rate to the present questionnaire was higher (55%). Lastly, a social desirability bias may have occurred since computer and Internet skills were self-evaluated, which may have led to an overestimation of expertise. However, our method was similar to the one used by the EU Commission for such assessment.[24]

In conclusion, this study provided new information on computer skills, adhesion and attitude towards study demands according to sociodemographic profiles of participants involved in a large population-based web cohort. These results are useful for optimizing current and future web-based investigations, in the context of rapid development of e-epidemiology and the currently scarce e-methodology literature. A substantial part of the study population reported low computer/Internet skills, suggesting that this characteristic does not constitute a barrier to participation in web-based cohorts. The finding further suggested that several categories of subjects with lower computer skills (e.g., women, or participants with lower educational levels) were more positive towards the study and less reluctant to comply with its demands. This study also highlighted that developing a dedicated smartphone application may

boost interest in participation among categories of subjects who are relatively less represented in health-related e-cohorts, such as men and young adults.

### **Acknowledgements**

The authors thank Younes Esseddik, Paul Flanzy, Mohand Ait Oufella, Yasmina Chelghoum, and Than Duong Van (computer scientists), Florence Charpentier (dietitian), Elise Martin (communication assistant), Nathalie Arnault, Véronique Gourlet, Fabien Szabo, Laurent Bourhis, and Stephen Besseau (statisticians), and Rachida Mehroug (logistics assistant) for their technical contribution to the NutriNet-Santé study.

**Competing interest** none declared.

**Contributors** CP and MT designed the research; CP, MT and SH conducted the research; CP analysed the data and led the writing; MT supervised the study; CM, VAA, EKG, PF, PG, SH and MT contributed to the data interpretation and revised each draft for important intellectual content; MT had primary responsibility for the final content. All authors read and approved the final manuscript.

**Funding** This work was supported by the following public institutions: Ministère de la Santé, Institut de Veille Sanitaire (InVS), Institut National de la Prévention et de l'Éducation pour la Santé (INPES), Fondation pour la Recherche Médicale (FRM), Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), Conservatoire National des Arts et Métiers (CNAM) and Université Paris 13.

**Provenance and peer review** Not commissioned; externally peer reviewed.

### **What is already known on this subject?**

- E-epidemiology has developed drastically during the last decade, driven by substantial logistic and cost advantages.
- The extent to which low computer and Internet literacy represents a barrier to participation in web-based studies remains unknown.
- Data is lacking regarding perceived respondent burden in web-based studies and its variability according to computer skills of participants.

### **What this study adds?**

- A substantial part of the study population reported low computer literacy, suggesting that this characteristic does not constitute a major barrier to participation in web-based cohorts.
- Several categories of subjects with lower computer skills (e.g., women, or participants with lower educational levels) were more positive towards the study and less reluctant to comply with its demands.
- These results are useful for optimizing current and future web-based investigations.

## Reference List

- 1 Turner C, Bain C, Schluter PJ et al. Cohort Profile: The Nurses and Midwives e-Cohort Study—A Novel Electronic Longitudinal Study. *Int J Epidemiol* 2009;38:53-60.
- 2 Smith B, Smith TC, Gray GC et al. When Epidemiology Meets the Internet: Web-based Surveys in the Millennium Cohort Study. *Am J Epidemiol* 2007;166:1345-1354.
- 3 Russell CW, Boggs DA, Palmer JR et al. Use of a Web-based Questionnaire in the Black Women's Health Study. *Am J Epidemiol* 2010;172:1286-1291.
- 4 Hercberg S, Castetbon K, Czernichow S et al. The Nutrinet-Sante Study: a web-based prospective study on the relationship between nutrition and health and determinants of dietary patterns and nutritional status. *BMC Public Health* 2010;10:242.
- 5 Pizzi C, De Stavola BL, Pearce N et al. Selection bias and patterns of confounding in cohort studies: the case of the NINFEA web-based birth cohort. *J Epidemiol Community Health* 2012;66:976-981.
- 6 Gallacher J, Collins R, Elliott P et al. A Platform for the Remote Conduct of Gene-Environment Interaction Studies. *PLoS ONE* 2013;8:e54331.
- 7 Bajardi P, Vespignani A, Funk S et al. Determinants of follow-up participation in the internet-based European Influenza surveillance platform Influenzanet. *J Med Internet Res* 2014;16:e78.
- 8 Formica M, Kabbara K, Clark R et al. Can clinical trials requiring frequent participant contact be conducted over the Internet? Results from an online randomized controlled trial evaluating a topical ointment for herpes labialis. *J Med Internet Res* 2004;6:e6.
- 9 Gray G, Chesbrough K, Ryan M et al. The millennium Cohort Study: a 21-year prospective cohort study of 140,000 military personnel. *Mil Med* 2002;167:483-8.
- 10 McAlindon T, Formica M, Kabbara K et al. Conducting clinical trials over the internet: feasibility study. *BMJ* 2003;327:484-487.
- 11 Link M, Mokdad A. Alternative Modes for Health Surveillance Surveys: An Experiment with Web, Mail, and Telephone. *Epidemiology* 2005;16:701-704.
- 12 Ekman A, Litton JE. New times, new needs; e-epidemiology. *Eur J Epidemiol* 2007;22:285-292.
- 13 Schatzkin A, Subar A, Moore S et al. Observational epidemiologic studies of nutrition and cancer: the next generation (with better observation). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009;18:1026-32.
- 14 Computer and Internet Access in the United States: 2012 [Internet]. United States Census Bureau. [Cited 2014 Apr 23]. <https://www.census.gov/hhes/computer/>
- 15 Référence des Equipements Multimédias - 3ème trimestre 2013 [Internet]. GFK/Médiamétrie. [Cited 2014 Apr 23].



- 16 L'internet de plus en plus prisé, l'internaute de plus en plus mobile [Internet]. INSEE (Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques). [Cited 2013 Jun]. [http://www.insee.fr/fr/themes/document.asp?ref\\_id=ip1452](http://www.insee.fr/fr/themes/document.asp?ref_id=ip1452)
  - 17 Mathew M, Morrow JR, Frierson GM et al. Assessing Digital Literacy in Web-Based Physical Activity Surveillance: The WIN Study. *Am J Health Promot* 2011;26:90-95.
  - 18 van Gelder MMHJ, Bretveld RW, Roeleveld N. Web-based Questionnaires: The Future in Epidemiology? *Am J Epidemiol* 2010;172:1292-1298.
  - 19 Ekman A, Klint Å, Dickman P et al. Optimizing the design of web-based questionnaires : experience from a population-based study among 50,000 women. *Eur J Epidemiol* 2007;22:293-300.
  - 20 Casey TW, Poropat A. Beauty is more than screen deep: Improving the web survey respondent experience through socially-present and aesthetically-pleasing user interfaces. *Comput Hum Behav* 2014;30:153-163.
  - 21 Vergnaud AC, Touvier M, Méjean C et al. Agreement between web-based and paper versions of a socio-demographic questionnaire in the NutriNet-Santé study. *Int J Public Health* 2011;56:407-417.
  - 22 Touvier M, Mejean C, Kesse-Guyot E et al. Comparison between web-based and paper versions of a self-administered anthropometric questionnaire. *Eur J Epidemiol* 2010;25:287-296.
  - 23 Touvier M, Kesse-Guyot E, Mejean C et al. Comparison between an interactive web-based self-administered 24 h dietary record and an interview by a dietitian for large-scale epidemiological studies. *Br J Nutr* 2011;105:1055-1064.
  - 24 Digital Agenda Scoreboard: France : Internet usage and digital skills - 2013 Report [Internet]. Eurostat. [Cited 2014 Apr 10]. <https://ec.europa.eu/digital-agenda/en/scoreboard/france>
  - 25 CREDOC (Centre de Recherche pour l'Etude et l'Observation des Conditions de vie). Enquête « Conditions de vie et Aspirations des Français » La diffusion des technologies de l'information et de la communication dans la société française. 2012. Paris.
- Ref Type: Report
- 26 Individuals' level of computer skills [Internet]. Eurostat. [Cited 2014 Feb 10]. [http://appsso.eurostat.ec.europa.eu/nui/show.do?dataset=isoc\\_sk\\_cskl\\_i&lang=en](http://appsso.eurostat.ec.europa.eu/nui/show.do?dataset=isoc_sk_cskl_i&lang=en)
  - 27 Individuals' level of Internet skills [Internet]. Eurostat. [Cited 2014 Apr 10]. [http://appsso.eurostat.ec.europa.eu/nui/show.do?dataset=isoc\\_sk\\_iskl\\_i&lang=en](http://appsso.eurostat.ec.europa.eu/nui/show.do?dataset=isoc_sk_iskl_i&lang=en)
  - 28 Computer and Internet Use in the United States, by Thomas File [Internet]. U.S Census Bureau and U.S.Department of Commerce Economics and Statistics Administration. [Cited 2014 Apr 23]. [www.census.gov/prod/2013pubs/p20-569.pdf](http://www.census.gov/prod/2013pubs/p20-569.pdf)
  - 29 Diment K, Garrett-Jones S. How Demographic Characteristics Affect Mode Preference in a Postal/Web Mixed-Mode Survey of Australian Researchers. *Soc Sci Comput Rev* 2007;25:410-417.

- 30 Shih T, Fan X. Response Rates and Mode Preferences in Web-Mail Mixed-Mode Surveys: A Meta-Analysis. *Int J Internet Science* 2007;2:59-82.
- 31 Olson K, Smyth JD, Wood HM. Does Giving People Their Preferred Survey Mode Actually Increase Survey Participation Rates? An Experimental Examination. *Public Opin Q* 2012;76:611-635.
- 32 Are Mode Preferences Real? [Internet]. Millar, MM, O'Neill, AC, Dillman, DA, and Social and Economic Sciences Research Center. [Cited 2014 Jun 10]. <http://www.sesrc.wsu.edu/dillman/papers/2009/Tech%20Report%20FINAL%20Feb%2023.pdf>
- 33 Etude sur les usages mobiles 2013 [Internet]. Deloitte. [Cited 2013 Sep]. [http://www.deloitte.com/view/fr\\_FR/fr/mediatheque/3145b4e9ada51410VgnVCM1000003256f70aRCRD.htm](http://www.deloitte.com/view/fr_FR/fr/mediatheque/3145b4e9ada51410VgnVCM1000003256f70aRCRD.htm)
- 34 Population by sex and age on 1st January 2014, France except Mayotte [Internet]. INSEE (Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques). [Cited 2014 Apr 10]. [http://www.insee.fr/en/themes/detail.asp?reg\\_id=0&ref\\_id=bilan-demo&page=donnees-detaillees/bilan-demo/pop\\_age2b.htm](http://www.insee.fr/en/themes/detail.asp?reg_id=0&ref_id=bilan-demo&page=donnees-detaillees/bilan-demo/pop_age2b.htm)
- 35 Population en emploi selon le sexe et la catégorie socioprofessionnelle en 2012 [Internet]. INSEE (Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques). [Cited 2014 Apr 10]. [http://www.insee.fr/fr/themes/tableau.asp?reg\\_id=0&ref\\_id=NATnon03173](http://www.insee.fr/fr/themes/tableau.asp?reg_id=0&ref_id=NATnon03173)

## **Dietary supplement use among cancer survivors of the NutriNet-Santé cohort study**

Camille Pouchieu<sup>1</sup>, Philippine Fassier<sup>1</sup>, Nathalie Druesne-Pecollo<sup>1</sup>, Laurent Zelek<sup>1</sup>, Patrick Bachmann<sup>2</sup>, Marina Touillaud<sup>2</sup>, Isabelle Bairati<sup>1,3</sup>, Serge Hercberg<sup>1,4</sup>, Pilar Galan<sup>1</sup>, Patrice Cohen<sup>5</sup>, Paule Latino-Martel<sup>1</sup>, Mathilde Touvier<sup>1</sup>.

### **Author affiliations:**

<sup>1</sup>Sorbonne Paris Cité, Epidemiology and Biostatistics Research Center, Nutritional Epidemiology Research Team (EREN), Inserm U1153; Inra U1125; Cnam; Paris 13, 7 and 5 Universities, Bobigny, France

<sup>2</sup>Cancer, Environment and Nutritional Unit, Anticancer Center Léon-Bérard, Lyon, France.

<sup>3</sup>Laval University Cancer Research Center, Quebec City, QC, Canada

<sup>4</sup>Public Health Department, Avicenne Hospital, Bobigny, France

<sup>5</sup>DySola, EA 4701, Rouen University, Rouen, France

### **Corresponding author:**

Camille Pouchieu

EREN, SMBH Paris 13, 74 rue Marcel Cachin, F-93017 Bobigny Cedex, France

Telephone number: +33 1 48 38 89 57

Fax number: +33 1 48 38 89 31

E-mail: c.pouchieu@eren.smbh.univ-paris13.fr

## **Abstract**

Dietary supplements (DS) may influence cancer prognosis. Their use in cancer patients has been described in the United-States but data are largely lacking in Europe and notably in France. Our objectives were 1) to assess DS use and its sociodemographic, lifestyle, and dietary correlates in a large sample of French cancer survivors; 2) to evaluate the involvement of physicians in such DS use; 3) to assess the extent of potentially deleterious practices. Data were collected by self-administered web-based questionnaires among participants of the NutriNet-Santé cohort. Data on DS use was available for 1081 cancer survivors. DS users were compared to non-users by unconditional logistic regressions. DS use was reported by 62% of women and 29% of men. Vitamins D, B6, C and magnesium were the most frequently consumed nutrients. 14% of cancer survivors initiated DS use after diagnosis. For 35% of DS consumed, subjects did not inform their attending physician. DS use was associated with a healthier lifestyle (normal-weight, never-smoking, better diet) and substantially contributed to nutrient intake. 18% of DS users had potentially deleterious DS use practices such as simultaneous use of vitamin E and anticoagulant-antiplatelet agents, use of  $\beta$ -carotene and smoking or use of phytoestrogens in hormone-dependent cancer patients. This study suggests that DS use is widespread among cancer survivors, with a large part taken without any medical supervision, and a substantial proportion of risky practices. Physicians should be encouraged to discuss more systematically about DS use with their patients.

**Keywords:** Dietary supplements, motivations, correlates, cancer survivors.

## Introduction

Disconcerted by their illness and sometimes disappointed by traditional medicine, cancer patients can move towards complementary and alternative medicines, including use of dietary supplements (DS). However, the impact of DS on cancer prognosis, risk of recurrence and risk of second cancer remains unclear [1]. While beneficial effects of DS taken during or after cancer treatment are not excluded [2-4], several studies have reported deleterious effects of some DS on cancer prognosis [1,5-8]. Presently, it is recommended that phytoestrogen DS should be avoided in hormone-dependent cancer patients [6,9]. Similarly,  $\beta$ -carotene DS should not be used in cancer patients, as well as in healthy people, who are smokers [10-12]. In addition, studies have shown that some vitamin/mineral or herbal DS may interact with anti-cancer or other active treatments [9,13-15]. This may be particularly problematic if attending physicians have no knowledge of these self-medication practices in their patients. According to a recent review of United States studies, 56% to 68% of the physicians are not aware of DS use among their cancer patients [16].

In this context, it is essential to assess DS use and its correlates in cancer patients and survivors. Such observational studies have been published in the United States [8,16-21]. A recent review showed that DS use was widespread in American cancer patients with a prevalence of vitamin and mineral DS use varying between 64% and 81% [16]. Between 14% and 32% of the survivors began taking their supplements after diagnosis [16]. Fewer studies provided information on DS use in cancer patients in European countries [22-28], showing prevalence of DS use that varied from 9% to 48% across countries.

Several socio-demographic and lifestyle characteristics such as female gender, higher level of education and higher income have been reported to be associated with the use of DS. However, no epidemiological study has been published for France on this topic. Perceptions and attitudes towards food and nutrition may strongly vary across countries. Thus, specific research is needed, in a context of increasing availability of DS in the traditional distribution channels but also via the Internet.

The objectives of the present study were 1) to assess DS use and its sociodemographic, lifestyle, and dietary correlates in a large sample of French cancer survivors involved in the NutriNet-Santé cohort; 2) to evaluate the role and the involvement of physicians in DS use of cancer patients; 3) to assess the extent of potentially deleterious practices such as use of  $\beta$ -carotene DS in smokers, use of phytoestrogen DS in hormone-dependent cancer patients and contraindicated DS-medication simultaneous use.

## Materials and methods

### Subjects

The NutriNet-Santé Study is a population-based prospective observational cohort followed via the Internet ([www.etude-nutrinet-sante.fr](http://www.etude-nutrinet-sante.fr)). Its main objective is to assess the relationships between nutrition and chronic disease risk, as well as determinants of eating behaviour<sup>120</sup>. It was launched in France in May 2009. Using mass-media campaigns, adults aged 18 years or older and having access to the Internet were invited to participate. All subjects signed an electronic informed consent. The NutriNet-Santé study was approved by the Institutional Review Board of the French Institute for Health and Medical Research (IRB Inserm n°0000388FWA00005831) and the "Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés" (CNIL n°908450 and n°909216).

### Data collection

Participants completed several self-administered web-based questionnaires at baseline and then regularly during the follow-up. All baseline questionnaires were tested and compared against traditional assessment methods (paper questionnaires or interviews by a dietitian) [30-32].

#### Case ascertainment

Participants self-declared any cancer diagnosis during the study follow-up through regular questionnaires and a permanent web-interface. Medical data were then gathered through participants, physicians, and/or hospitals and reviewed by an independent physician expert committee. Pathological reports were used to validate cancer cases and to extract cancer clinical data. Cases were classified using the International Chronic Diseases Classification, 10th Revision, Clinical Modification (ICD-10) [33].

#### Dietary supplement and medication use

The questionnaire assessing DS and medication use, specifically designed for cancer survivors, was sent in January 2014 to all first incident primary cancer cases (diagnosed after their enrollment in the cohort). In this study, we considered as DS both regular DS and medicinal supplements mainly composed of vitamins and minerals, which are treated as pharmaceutical products in France. In contrast, clinical oral nutritional supplements such as Renutryl® or Clinutren® were not considered as DS in this survey. Indeed, these specific products, rich in energy and/or protein are administered to undernourished patients to stimulate weight gain and avoid malnutrition.

Participants were asked about their DS use at the time of the completion of the questionnaire (“current use”). In addition, cancer patients had to report their DS use since the date of their cancer diagnosis. For each DS, they reported the commercial name, brand, form, number of days of use per year, and number of units per day of use. The questionnaire included assessment of circumstances and motivations for DS use (close-ended questions), as well as questions on DS use changes after cancer diagnosis. For each DS, participants were asked if they had told at least one of their attending physicians about this DS use and the reasons why they did not, when appropriate. Subjects also reported all anti-cancer or other medications taken at the time of the DS questionnaire (chosen among an exhaustive list based on the VIDAL, a reference French drug database [34]). A DS composition database was created and implemented based on information found on official brands’ websites or direct contact with manufacturers.

#### Socio-demographic, lifestyle and anthropometric data

Self-administered questionnaires are yearly administered during follow-up to collect and update data on socio-demographic, lifestyle and behavioural characteristics including gender, age, geographical region, marital status, number of children, educational level, smoking status, anthropometry and leisure time physical activity (estimated with the validated International Physical Activity Questionnaire [35]). Data collected after cancer diagnosis and the closest to the DS questionnaire were used in this study.

#### Dietary data

Each year, participants are asked to complete three non-consecutive self-administered web-based 24-hour dietary records, the days for which are randomly assigned during a two-week period (two days during the week and one day during the weekend). All foods and beverages consumed at breakfast, lunch, dinner and at all other occasions are recorded. For foods with potentially high nutrient variability, participants are also asked to provide the brand name. Participants are asked to estimate the portion size for each reported food and beverage item using validated photographs. Daily dietary intakes of energy and nutrients are then calculated

using the NutriNet-Santé food composition table [36], which includes more than 2500 different foods.

#### Statistical analyses

Proportions of DS users (i.e., at least one DS taken after cancer diagnosis) and type and motivations of DS use were calculated overall and also by gender and main cancer sites (breast and prostate) in a cross sectional design. For each DS reported in the study, circumstances of DS purchase, duration of use and communication with a physician about this use were described.

DS users and non-users were compared by age and gender-adjusted unconditional logistic regression analyses, regarding their sociodemographic, anthropometric and lifestyle characteristics (gender, age, geographical region, marital status, number of children, educational level, smoking status, body mass index (BMI) and leisure time physical activity). Odds ratios (OR) and their 95% confidence intervals (CI) were calculated.

Participants who provided at least two dietary records after cancer diagnosis and who were normo-energy reporters according to the Black criteria[37] were included in dietary data analyses (n=668). Most participants provided three 24h dietary records and only 7% provided two records. The mean daily intake of dietary macro- and micro-nutrients from food only and from food and supplements were compared by unconditional logistic regression between DS users and non-users after adjustment for age, gender, number of 24h dietary records and energy intake. For each nutrient, proportion of total daily intake brought by DS was also estimated both in overall DS users and in DS users of the specific nutrient.

The number of subjects with risky practices of DS use was assessed. Such practices pertained to: 1) use of  $\beta$ -carotene DS in smokers [5,10,11], 2) use of DS that should be avoided in certain cancer patients such as phytoestrogens in hormone-dependent cancers [6,9] and 3) simultaneous use of DS (current use at the time of the DS and medication questionnaire) and drugs for which deleterious interactions of moderate-to-major severity have been described in the literature [9,13-15].

P-value <0.05 was considered statistically significant. All tests were two-sided. Analyses were carried out with SAS software (Release 9.3, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

## Results

A total of 1490 subjects developed an incident primary cancer between the beginning of the study and January 2014. Among them, 1081 (73%) answered the DS questionnaire (participation rate=73%). The average age of cancer survivors was  $60.2 \pm 10.9$  years. Women constituted 68% of the sample. Main cancer sites were breast (43 %), followed by prostate (19%) and skin (15%). Mean time between cancer diagnosis and the DS questionnaire was  $22.3 \pm 14.6$  months.

#### Overall and specific dietary supplement use

DS use by gender and among breast and prostate cancer survivors is presented in Table 1. 62% of women (n=455) and 29% of men (n=101) reported the use of at least one DS after cancer diagnosis (n=556 in all): 442 were current users (at the time of the DS questionnaire) and 114 took DS since their cancer diagnosis but not currently. In current users, the number of DS taken simultaneously was 1, 2 or  $\geq 3$ , in respectively 52%, 24% and 24% of the subjects. The mean number of DS taken was  $1.9 \pm 1.4$ . Vitamin D, vitamin B6, magnesium, and vitamin C were the most frequently used nutrients from DS. After cancer diagnosis, 14% of subjects started DS use, 9% kept using DS but modified the types of DS used, and 4% stopped using DS (data not tabulated).

## Motivations for DS use, circumstances of purchase and involvement of attending physicians

Reasons for DS use directly related to cancer itself (such as reduce adverse effects of treatments or decrease recurrence risk) were cited by 48% of DS users (Table 2, several answers possible). Other frequently cited reasons were “to strengthen immune system” (54%) and “to overcome tiredness” (39%). Similar motivations were reported by men and women and for breast and prostate cancers.

Among the 1140 DS reported by the participants, only about half of them (54%) were taken following medical prescription or advice (Table 3). Medical prescription or advice was higher for vitamin D DS (81%), medium for many vitamins and minerals (e.g., 43% for vitamin C and magnesium and 47% for vitamin B6) and lower for herbal/natural DS: 36% for acerola/guarana and 24% for phytoestrogen DS (data not tabulated). Among the 1140 DS reported, 56% were used for more than 1 year. For 35% of reported DS, participants did not inform any of their attending physicians (general practitioner, oncologist or other) about their use. Main reason cited was that physicians did not ask their patients about their DS use (86%).

## Socio-demographic, lifestyle and anthropometric correlates of DS use

Socio-demographic, lifestyle and anthropometric correlates of DS use are reported in Table 4. As compared to non-users, DS users were more likely to be women ( $P<0.0001$ ), with higher educational level ( $P=0.0001$ ), never-smokers ( $P=0.03$ ) and with a normal weight ( $P=0.0005$ ).

## Dietary correlates of DS use and its contribution to nutrient intake

Daily dietary energy and nutrient intakes in DS users and non-users are compared in Table 5. When considering food intake only, DS users already had significantly higher intakes of fibers, vitamins B6, B9 and C, iron, magnesium, potassium and zinc. When considering total intake (food+DS), DS users additionally had higher intakes of thiamin, riboflavin, niacin, pantothenic acid, vitamins D and E, and calcium compared to non-users.

Contribution of DS to total nutrient intake was very high for some nutrients: in DS users of the specific nutrient, they represented more than half of the total daily intakes for vitamins D (89%), B6 (68%), E (68%), and B12 (50%) and more than a third of total intake for fibers, thiamin, pantothenic acid, folate, retinol, vitamin C and calcium.

## Potentially risky DS use practices

Among the 442 DS current users (i.e., at the time of the DS and medication questionnaire), 81 (18%) reported DS practices that were considered as “risky” in the literature. Such practices are listed in Table 6 (one patient may cumulate several risky practices): 30 participants with smoking history used  $\beta$ -carotene DS (6 current and 24 former smokers), 44 used DS that were contraindicated for specific cancer sites and 39 participants simultaneously used DS and drugs for which deleterious interactions of moderate-to-major severity are indexed.

## Discussion

DS use was widespread in this large sample of French cancer patients or survivors (29% of men and 62% of women). These proportions were lower than those observed in various American studies (from 50% to 81% of DS users) [16,18,38] but were closer to figures observed in other European countries [23,24,28,39]. As reported previously [40,41], cancer diagnosis influenced DS use. Indeed, our findings showed that 28% of participants have started, stopped or modified

their DS use after cancer diagnosis. Research into patient's beliefs regarding DS and cancer is needed to better understand these changes.

As observed in the NutriNet-Santé cohort for the general population [42], vitamins B6 and C, and magnesium DS were among the most frequently consumed. In addition, in this population of cancer survivors, vitamin D emerged as the most frequent supplementation (45% of DS users). This high prevalence of vitamin D DS use, especially in women, was consistent with prior investigations conducted in the US [20,40,43]. Indeed, several anti-cancer treatments such as aromatase inhibitors used in postmenopausal breast cancers and androgen-deprivation therapy used in prostate cancer [44] may induce bone loss and thus justify vitamin D supplementation.

Cancer itself and its consequences appeared as a strong motivation for DS use. Another frequently cited motivation was to "strengthen immune system", in line with previous studies [16,18] and with the fact that immune system is often altered by chemotherapy and radiotherapy treatments. To "overcome tiredness" was also among main motivations for DS use in the NutriNet-Santé general cohort [42] and was in line with frequent use of vitamins B6 and C and magnesium DS, recognized by the European Food Safety Authorities for their anti-fatigue properties [45-47].

About 45% of DS use corresponded to self-medication, while 55% were taken following medical prescription or advice. This proportion varied across DS types. While some types of self-medicated DS should be avoided by cancer survivors, others may truly be useful if consumed under medical supervision. For instance, this is the case for vitamin D, as previously discussed. Consistently, we observed that the proportion of medical prescription or advice was higher for this nutrient (81%).

A substantial proportion (35%) of DS use was not discussed with a physician. Although this proportion was lower than in US studies (56-68%) [16], it remains of concern, considering potential interactions between DS and adjuvant therapy or other medications [9,13,14]. The main reason for not informing their physician was simply that the latter did not ask about DS use by their patient, in line with the literature<sup>69</sup>. This suggests that physicians are not fully aware of the medical importance of knowing whether their cancer patients are using DS. It has also been hypothesized that the perception of physician neutrality or indifference, or possibly even fear of physician opposition were reasons why patients may be hesitant to communicate with them about DS use [16].

Previous studies of DS use in cancer survivors in other countries also found that female gender [18,38,43], higher education [16,18,38,49], non-smoking [17] and lower BMI [17,38] were associated with DS use. These factors have also been associated with DS use in the general French population [42,50]. Although some studies have identified older age [38,43] as a correlate of DS use, it was not a significant predictor in our population. Likewise, a review on vitamin and mineral supplement use among US cancer survivors [16] pointed out that DS use may differ by the type of cancer but we did not find significant association in our population between main cancer types after age and gender adjustment (data not shown).

As observed in the general population [42], DS use was associated with a healthier diet, with already higher intakes of fibers and several vitamins and minerals from food only. The high contribution of DS to total nutrient intake highlights the importance of taking this source of intake into consideration both in clinical practice and in nutritional epidemiological studies. Few studies have provided detailed information about total micronutrient intake from food and supplements in cancer survivors [19,51]. Compared to DS users of the American WHEL Study [19], DS users in the present study had lower total daily intake for almost all micronutrients, except for vitamin D, folate, calcium and magnesium, which were similar. These differences may notably be explained by the variability of DS formulations between the United-States and Europe.

Several interactions between herbal or vitamin/mineral DS and drugs that may lead to moderate-to-major adverse effects have been well documented [9,13-15]. As recommended by



official authorities, some DS should also be avoided by certain cancer patients, such as phytoestrogens in hormone-dependent cancers [6,9,14]. Another recognized potentially deleterious practice is the use of  $\beta$ -carotene DS in smokers, due to increased lung and gastric cancers risk [5,10,52]. Although this point deserves further investigation, some studies suggested that a deleterious interaction with  $\beta$ -carotene DS use may also occur in former (and not only in current) smokers [11]. A relatively high proportion of DS users in this study (18%) were concerned by such potentially risky practices. Potentially problematic DS/drug associations reported in this study mainly concerned anticoagulants/antiplatelet agents and not specifically anti-cancer treatments, which may be explained by the fact that the DS questionnaire was administered 22 months after diagnosis in average.

Strengths of this study included a large number of cancer cases, detailed data about DS use (including precise doses and composition) and its dietary and lifestyle correlates, information about drugs taken simultaneously, and originality in a French/European context.

The main limitation was that our study population may not be representative of all French male and female cancer survivors since the NutriNet-Santé study involved volunteers who accepted to participate in a cohort on nutrition and health. Compared to national estimates [53,54], the NutriNet-Santé study included more women and individuals belonging to higher socio-professional categories. In addition, some eligible cancer survivors did not answer to the DS questionnaire. Compared to respondents, non-respondents were more likely to be women, to have more children and to have other cancers than those mainly represented in the cohort ( $p < 0.0001$ , data not shown). However, response rate to this DS questionnaire was high (73%) compared to similar epidemiological studies [18,21,41,49,55]. In addition, since the DS questionnaire was administered 22 months after diagnosis in average, a memory bias may have occurred for DS that were not currently taken by the participants. Finally, although the sample size was reasonably large overall, only the main cancer sites (i.e., breast and prostate) could be analyzed and other sites with lower incidence could not be investigated separately.

In conclusion, this study provides new and detailed information about DS use and its correlates in a large sample of French cancer survivors. The findings suggest that DS use was widespread in this population and substantially contributed to total nutrient intake, with 14% of subjects who initiated DS use after diagnosis. DS users had an overall healthier profile (in terms of diet, smoking status and BMI) than non-users. This study highlighted the absence of communication about DS use between patients and health care professionals (for 35% of reported DS) and the importance of self-medication (45%). Worryingly, a substantial proportion of risky practices were detected (in 18% of DS users), such as simultaneous use of vitamin E and anticoagulant-antiplatelet agents, use of  $\beta$ -carotene and smoking or use of phytoestrogens in hormone-dependent cancer patients. Physicians should be encouraged to discuss more systematically about DS use with their patients and warn them about risky practices. Finally, given the widespread use of DS in cancer patients and survivors, further etiological research is needed to better elucidate its impact on cancer prognosis, risk of recurrence and risk of second cancer.

## **Acknowledgements**

The authors thank Younes Essedic, Paul Flanzky, Mohand Ait Oufella, Yasmina Chelghoum, and Than Duong Van (computer scientists), Florence Charpentier (dietician), Elise Martin (communication assistant), Nathalie Arnault, Véronique Gourlet, Fabien Szabo, Laurent Bourhis, and Stephen Besseau (statisticians), and Rachida Mehroug (logistics assistant) for their technical contribution to the NutriNet-Santé study. This work was supported by the 2013 Research Prize from the French Nutrition Society. Camille Pouchieu was funded by a grant from the French Ministry of Research and Higher Education (n°11/ED G/UREN/2011).

## Conflicts of interest

The authors declare that they have no conflicts of interest.

## References

1. Giovannucci E, Chan AT. Role of vitamin and mineral supplementation and aspirin use in cancer survivors. *J Clin Oncol* 2010;28:4081-5.
2. Block KI, Koch AC, Mead MN, et al. Impact of antioxidant supplementation on chemotherapeutic toxicity: a systematic review of the evidence from randomized controlled trials. *Int J Cancer* 2008;123:1227-39.
3. Tang JY, Fu T, LeBlanc E, et al. Calcium Plus Vitamin D Supplementation and the Risk of Nonmelanoma and Melanoma Skin Cancer: Post Hoc Analyses of the Women's Health Initiative Randomized Controlled Trial. *J Clin Oncol* 2011;29:3078-84.
4. Bougnoux P, Hajjaji N, Ferrasson MN, et al. Improving outcome of chemotherapy of metastatic breast cancer by docosahexaenoic acid: a phase II trial. *Br J Cancer* 2009;101:1978-85.
5. Latino-Martel P, Bachmann P, et le groupe de travail SFNEP oncology nutrition guidelines. Antioxydative nutritional supplements throughout the cancer treatment process. *Nutr Clin Metab* 2012;26:238-46.
6. AFSSA Groupe de Travail phyto-oestrogènes Sécurité et bénéfices des phyto-estrogènes apportés par l'alimentation - Recommandations (Safety and benefits of phytoestrogens from food - Recommendations). In: Agence française de sécurité sanitaire des aliments, ed. Maison-Alfort; 2005. pp 1-440.
7. Bairati I, Meyer F, Gélinas M, et al. A Randomized Trial of Antioxidant Vitamins to Prevent Second Primary Cancers in Head and Neck Cancer Patients. *J Nat Cancer Inst* 2005;97:481-8.
8. Greenlee H, Kwan ML, Kushi LH, et al. Antioxidant supplement use after breast cancer diagnosis and mortality in the Life After Cancer Epidemiology (LACE) cohort. *Cancer* 2012;118:2048-58.
9. Tsai HH, Lin HW, Simon Pickard A, et al. Evaluation of documented drug interactions and contraindications associated with herbs and dietary supplements: a systematic literature review. *Int J Clin Pract* 2012;66:1056-78.
10. Druesne-Pecollo N, Latino-Martel P, Norat T, et al. Beta-carotene supplementation and cancer risk: a systematic review and metaanalysis of randomized controlled trials. *Int J Cancer* 2010;127:172-84.
11. Touvier M, Kesse E, Clavel-Chapelon F, et al. Dual Association of beta-carotene with risk of tobacco-related cancers in a cohort of French women. *J Natl Cancer Inst* 2005;97:1338-44.
12. Meyer F, Bairati I, Fortin A, et al. Interaction between antioxidant vitamin supplementation and cigarette smoking during radiation therapy in relation to long-term effects on recurrence and mortality: A randomized trial among head and neck cancer patients. *Int J Cancer* 2008;122:1679-83.

13. Tsai HH, Lin H-W, Lu Y-H, et al. A Review of Potential Harmful Interactions between Anticoagulant/Antiplatelet Agents and Chinese Herbal Medicines. *PLoS ONE* 2013;8:e64255.
14. Cassileth BR. *Herb-drug Interactions in oncology*. Lewiston, NY: BC Decker, Inc; 2003.
15. Sparreboom A, Cox MC, Acharya MR, et al. Herbal Remedies in the United States: Potential Adverse Interactions With Anticancer Agents. *J Clin Oncol* 2004;22:2489-503.
16. Velicer CM, Ulrich CM. Vitamin and mineral supplement use among US adults after cancer diagnosis: a systematic review. *J Clin Oncol* 2008;26:665-73.
17. Bright-Ghebry M, Makambi K, Rohan J, et al. Use of multivitamins, folic acid and herbal supplements among breast cancer survivors: the black women's health study. *BMC Complement Altern Med* 2011;11:30.
18. Ferrucci LM, McCorkle R, Smith T, et al. Factors Related to the Use of Dietary Supplements by Cancer Survivors. *J Altern Complement Med* 2009;15:673-80.
19. Saquib J, Rock CL, Natarajan L, et al. Dietary intake, supplement use, and survival among women diagnosed with early-stage breast cancer. *Nutr Cancer* 2011;63:327-33.
20. Zirpoli G, Brennan P, Hong CC, et al. Supplement use during an intergroup clinical trial for breast cancer (S0221). *Breast Cancer Res Treat* 2013;137:903-13.
21. Greenlee H, Kwan M, Ergas I, et al. Changes in vitamin and mineral supplement use after breast cancer diagnosis in the pathways study: a prospective cohort study. *BMC Cancer* 2014;14:382.
22. Fox P, Butler M, Coughlan B, et al. Using a mixed methods research design to investigate complementary alternative medicine (CAM) use among women with breast cancer in Ireland. *Eur J Onco Nurs* 2012.
23. Molassiotis A, Panteli V, Patiraki E, et al. Complementary and alternative medicine use in lung cancer patients in eight European countries. *Complement Therap Clin Pract* 2006;12:34-9.
24. Westerlund A, Steineck G, Bälter K, et al. Dietary supplement use patterns in men with prostate cancer: the Cancer Prostate Sweden study. *Ann Oncol* 2011;22:967-72.
25. Ritchie MR. Use of herbal supplements and nutritional supplements in the UK: what do we know about their pattern of usage? *Proc Nutr Soc* 2007;66:479-82.
26. Hutchinson J, Burley VJ, Greenwood DC, et al. High-dose vitamin C supplement use is associated with self-reported histories of breast cancer and other illnesses in the UK Women's Cohort Study. *Public Health Nutr* 2011;14:768-77.
27. Pedersen CG, Christensen S, Jensen AB, et al. Prevalence, socio-demographic and clinical predictors of post-diagnostic utilisation of different types of complementary and alternative medicine (CAM) in a nationwide cohort of Danish women treated for primary breast cancer. *Eur J Cancer* 2009;45:3172-81.

28. Molassiotis A, Fernandez-Ortega P, Pud D. Complementary and alternative medicine use in colorectal cancer patients in seven European countries. *Complement Therap Med* 2005;13:251-7.
29. Hercberg S, Castetbon K, Czernichow S, et al. The Nutrinet-Sante Study: a web-based prospective study on the relationship between nutrition and health and determinants of dietary patterns and nutritional status. *BMC Public Health* 2010;10:242.
30. Touvier M, Kesse-Guyot E, Mejean C, et al. Comparison between an interactive web-based self-administered 24 h dietary record and an interview by a dietitian for large-scale epidemiological studies. *Br J Nutr* 2011;105:1055-64.
31. Vergnaud AC, Touvier M, Méjean C, et al. Agreement between web-based and paper versions of a socio-demographic questionnaire in the NutriNet-Santé study. *Int J Public Health* 2011;56:407-17.
32. Touvier M, Mejean C, Kesse-Guyot E, et al. Comparison between web-based and paper versions of a self-administered anthropometric questionnaire. *Eur J Epidemiol* 2010;25:287-96.
33. WHO ICD-10, International classification of diseases and related health problems. 10th revision. World Health Organization: Geneva, Switzerland, 1993.
34. VIDAL. Medication database for the French market VIDAL. 2014. [www.evidal.fr](http://www.evidal.fr). Accessed 1 May, 2014.
35. Craig CL MASM. International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. *Med Sci Sports Exerc* 2003;35:1381-95.
36. Hercberg S. Table de composition des aliments-NutriNet-Santé. Paris: 2013.
37. Black AE. Critical evaluation of energy intake using the Goldberg cut-off for energy intake: basal metabolic rate. A practical guide to its calculation, use and limitations. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000;24:1119-30.
38. Miller PE, Vasey JJ, Short PF, et al. Dietary supplement use in adult cancer survivors. *Oncol Nurs Forum* 2009;36:61-8.
39. Velentzis L, Keshtgar M, Woodside J, et al. Significant changes in dietary intake and supplement use after breast cancer diagnosis in a UK multicentre study. *Breast Cancer Res Treat* 2011;128:473-82.
40. Patterson RE, Neuhaus ML, Hedderson MM, et al. Changes in diet, physical activity, and supplement use among adults diagnosed with cancer. *J Am Diet Assoc* 2003;103:323-8.
41. Wiygul JB, Evans BR, Peterson BL, et al. Supplement use among men with prostate cancer. *Urology* 2005;66:161-6.
42. Pouchieu C, Andreeva V, Péneau S, et al. Socio-demographic, lifestyle and dietary correlates of dietary supplement use in a large sample of French adults: results from the Nutrinet-Santé cohort study. *Br J Nutr* 2013;110:1480-91.

43. Osian SR, Leal AD, Allmer C, et al. Widespread Use of Complementary and Alternative Medicine (CAM) among Non-Hodgkin Lymphoma (NHL) Survivors. *Leuk Lymphoma* 2014;1-32.
44. Limburg C, Maxwell C, Mautner B. Prevention and Treatment of Bone Loss in Patients With Nonmetastatic Breast or Prostate Cancer Who Receive Hormonal Ablation Therapy. *Clin J Oncol Nurs* 2014;18:223-30.
45. EFSA Panel on Dietetic Products NaAN. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to magnesium and "hormonal health" (ID 243), reduction of tiredness and fatigue (ID 244), contribution to normal psychological functions (ID 245, 246), maintenance of normal blood glucose concentrations (ID 342), maintenance of normal blood pressure (ID 344, 366, 379), protection of DNA, proteins and lipids from oxidative damage (ID 351), maintenance of the normal function of the immune system (ID 352), maintenance of normal blood pressure during pregnancy (ID 367), resistance to mental stress (ID 375, 381), reduction of gastric acid levels (ID 376), maintenance of normal fat metabolism (ID 378) and maintenance of normal muscle contraction (ID 380, ID 3083) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *Efsa journal* 2010;8(10):1-35.
46. EFSA Panel on Dietetic Products NaAN. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to vitamin B6 and contribution to normal homocysteine metabolism (ID 73, 76, 199), maintenance of normal bone (ID 74), maintenance of normal teeth (ID 74), maintenance of normal hair (ID 74), maintenance of normal skin (ID 74), maintenance of normal nails (ID 74), contribution to normal energy-yielding metabolism (ID 75, 214), contribution to normal psychological functions (ID 77), reduction of tiredness and fatigue (ID 78), and contribution to normal cysteine synthesis (ID 4283) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *Efsa journal* 2010;8(10):1-35.
47. EFSA Panel on Dietetic Products NaAN. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to vitamin C and reduction of tiredness and fatigue (ID 139, 2622), contribution to normal psychological functions (ID 140), regeneration of the reduced form of vitamin E (ID 202), contribution to normal energy-yielding metabolism (ID 2334, 3196), maintenance of the normal function of the immune system (ID 4321) and protection of DNA, proteins and lipids from oxidative damage (ID 3331) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *Efsa journal* 2010;8(10):1-20.
48. Hall JD, Bissonette EA, Boyd JC, et al. Motivations and influences on the use of complementary medicine in patients with localized prostate cancer treated with curative intent: results of a pilot study. *BJU Int* 2003;91:603-7.
49. Walshe R, James EL, Macdonald-Wicks L, et al. Socio-demographic and medical correlates of the use of biologically based complementary and alternative medicines amongst recent Australian cancer survivors. *Prev Med* 2012;54:23-6.
50. Touvier M, Kesse E, Volatier JL, et al. Dietary and cancer-related behaviors of vitamin/mineral dietary supplement users in a large cohort of French women. *Eur J Nutr* 2006;45:205-14.
51. Inoue-Choi M, Greenlee H, Oppeneer SJ, et al. The Association between Postdiagnosis Dietary Supplement Use and Total Mortality Differs by Diet Quality among Older Female Cancer Survivors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2014;23:865-75.

52. AICR/WCRF. American Institute for Cancer Research / World Cancer Research Fund - Food, Nutrition, Physical Activity and the Prevention of Cancer: a Global Perspective. Washington, DC: AICR; 2007.
53. INSEE (Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques). Population by sex and age on 1st January 2014, France except Mayotte. 2014. [http://www.insee.fr/en/themes/detail.asp?reg\\_id=0&ref\\_id=bilan-demo&page=donnees-detaillees/bilan-demo/pop\\_age2b.htm](http://www.insee.fr/en/themes/detail.asp?reg_id=0&ref_id=bilan-demo&page=donnees-detaillees/bilan-demo/pop_age2b.htm). Accessed 10 Apr, 2014.
54. INSEE (Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques). Population en emploi selon le sexe et la catégorie socioprofessionnelle en 2012. 2013. [http://www.insee.fr/fr/themes/tableau.asp?reg\\_id=0&ref\\_id=NATnon03173](http://www.insee.fr/fr/themes/tableau.asp?reg_id=0&ref_id=NATnon03173). Accessed 10 Apr, 2014.
55. Greenlee H, Gammon MD, Abrahamson PE, et al. Prevalence and predictors of antioxidant supplement use during breast cancer treatment. *Cancer* 2009;115:3271-82.

**Table 1** Dietary supplement (DS) use in cancer survivors (n=1081), NutriNet-Santé cohort study, France, 2014

	All		Men (n=350)		Women (n=731)		Breast cancer cases (n=382)		Prostate cancer cases (n=168)	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<b>Overall DS use after cancer diagnosis<sup>a</sup> (yes)</b>	556	51.4	101	28.9	455	62.2	261	68.3	48	28.6
<b>Specific DS use, among users<sup>b</sup> (yes)</b>										
Vitamin D	251	45.1	34	33.7	217	47.7	128	48.9	19	39.6
Vitamin B6	209	37.6	40	39.6	169	37.1	94	35.9	19	39.6
Magnesium	184	33.1	35	34.7	149	32.7	85	32.4	21	43.8
Vitamin C	175	31.5	41	40.6	134	29.5	79	30.2	21	43.8
Zinc	161	29.0	33	32.7	128	28.1	76	29.0	15	31.3
Vitamin E	159	28.6	34	33.7	125	27.5	72	27.5	18	37.5
Folate	145	26.1	32	31.7	113	24.8	60	22.9	15	31.3
Thiamin	138	24.8	31	30.7	107	23.5	60	22.9	16	33.3
Riboflavin	136	24.5	32	31.7	104	22.9	60	22.9	17	35.4
Niacin	134	24.1	30	29.7	104	22.9	61	23.3	16	33.3
Calcium	122	21.9	21	20.8	101	22.2	53	20.2	13	27.1
Selenium	115	20.7	23	22.8	92	20.2	54	20.6	11	22.9
Iron	114	20.5	26	25.7	88	19.3	45	17.2	12	25.0
Pantothenic acid	108	19.4	22	21.8	86	18.9	50	19.1	11	22.9
Vitamin B12	91	16.4	25	24.8	66	14.5	32	12.2	11	22.9
Vitamin B8	91	16.4	18	17.8	73	16.0	38	14.5	7	14.6
Polyphenols	81	14.6	18	17.8	63	13.8	39	14.9	9	18.8
Acerola, guarana or cranberry	74	13.3	12	11.9	62	13.6	35	13.4	3	6.3
Fibers	72	12.9	15	14.9	57	12.5	43	16.4	8	16.7
Probiotics	71	12.8	9	8.9	62	13.6	42	16.0	2	4.2
Amino acids/proteins	68	12.2	13	12.9	55	12.1	32	12.2	3	6.3
Phytoestrogen	64	11.5	16	15.8	48	10.5	26	9.9	8	16.7
Retinol	61	11.0	9	8.9	52	11.4	30	11.5	4	8.3
ω3 fatty acids	56	10.1	15	14.9	41	9.0	28	10.7	9	18.8
Iodine	55	9.9	11	10.9	44	9.7	23	8.8	4	8.3
β-carotene	46	8.3	9	8.9	37	8.1	19	7.3	4	8.3
Phosphorus	43	7.7	9	8.9	34	7.5	21	8.0	3	6.3
Desmodium	40	7.2	2	2.0	38	8.4	28	10.7	1	2.1
Evening primrose, borage, or cod liver oil	33	5.9	1	1.0	32	7.0	23	8.8	1	2.1
Ginseng	33	5.9	8	7.9	25	5.5	9	3.4	2	4.2
Lutein	31	5.6	14	13.9	17	3.7	7	2.7	6	12.5
Zeaxanthin	13	2.3	6	5.9	7	1.5	3	1.1	3	6.3
Flaxseed oil	13	2.3	3	3.0	10	2.2	5	1.9	3	6.3
Red yeast rice	10	1.8	3	3.0	7	1.5	3	1.1	1	2.1
Lycopene	9	1.6	1	1.0	8	1.8	6	2.3	0	0.0
Echinacea	7	1.3	1	1.0	6	1.3	4	1.5	1	2.1
Vitamin K	5	0.9	2	2.0	3	0.7	0	0.0	2	4.2
DHEA	4	0.7	0	0.0	4	0.9	1	0.4	0	0.0
Phytoprogestagen	4	0.7	0	0.0	4	0.9	3	1.1	0	0.0
Fluoride	4	0.7	0	0.0	4	0.9	4	1.5	0	0.0
Alfalfa	3	0.5	0	0.0	3	0.7	3	1.1	0	0.0
Black cohosh	1	0.2	0	0.0	1	0.2	0	0.0	0	0.0
Other minerals <sup>c</sup>	121	21.8	28	27.7	93	20.4	59	22.5	16	33.3
Other herbal supplements	34	6.1	7	6.9	27	5.9	12	4.6	4	8.3

<sup>a</sup> At least one DS taken after cancer diagnosis.

<sup>b</sup> In decreasing order of frequency. Nutrients and other substances were consumed alone or in combination in a single DS.

Percentages were calculated among overall DS users.

<sup>c</sup> Potassium, copper, lithium, manganese, chromium, others.

**Table 2** Reasons for dietary supplement (DS) use in cancer survivors (n=522), NutriNet-Santé Study, 2014

	All		Men (n=97)		Women (n=425)		Breast cancer cases (n=246)		Prostate cancer cases (n=46)	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<b>Reasons for DS use</b>										
<u>Fight against cancer</u>	249	47.7	41	42.3	208	48.9	140	56.9	20	43.5
Reduce adverse effects of cancer treatments	147	28.2	12	12.4	133	31.3	101	41.1	4	8.7
Decrease recurrence risk	72	13.8	15	15.5	57	13.4	41	16.7	8	17.4
Manage my disease	53	10.2	15	15.5	38	8.9	22	8.9	9	19.6
Reduce symptoms	45	8.6	8	8.2	37	8.7	27	11.0	3	6.5
Other reason related to cancer	42	8.0	14	14.4	37	8.7	18	7.3	2	4.3
<u>Health issues other than cancer</u>	432	82.8	82	84.5	350	82.4	202	82.1	40	87.0
Strengthen immune system	281	53.8	56	57.7	225	52.9	130	52.8	30	65.2
Solve or fight against health problems	191	36.6	32	33.0	159	37.4	83	33.7	17	37.0
Prevent diseases	78	14.9	18	18.6	60	14.1	33	13.4	9	19.6
Other reason related to health problem	60	11.5	8	8.2	52	12.2	34	13.8	4	8.7
<u>Improve general well-being</u>	311	59.6	60	61.9	251	59.1	151	61.4	30	65.2
Overcome tiredness	202	38.7	41	42.3	161	37.9	92	37.4	20	43.5
Counter stress	67	12.8	7	7.2	60	14.1	29	11.8	3	6.5
Improve sleeping	54	10.3	3	3.1	51	12.0	31	12.6	1	2.2
Relieve disorders related to menopause	45	8.6	0	0.0	45	10.6	30	12.2	0	0.0
Digestion, intestinal comfort	31	5.9	6	6.2	27	6.4	14	5.7	2	4.3
Circulation	23	4.4	5	5.2	18	4.2	9	3.7	3	6.5
Relieve disorders related to premenstrual syndrome	2	0.4	0	0.0	2	0.5	1	0.4	0	0.0
Other reason related to general well-being	82	15.7	19	19.6	63	14.8	39	15.9	10	21.7
<u>Fill in special needs</u>	178	34.1	44	45.4	134	31.5	78	31.7	25	54.3
Compensate inadequate dietary intake associated with a restrictive diet	75	14.4	21	21.6	54	12.7	30	12.2	12	26.1
Compensate dietary intake perceived as inadequate (without restrictive diet)	65	12.5	10	10.3	55	12.9	33	13.4	8	17.4
Fill in special needs related to sport practice	47	9.0	17	17.5	30	7.1	19	7.7	10	21.7
Fill in special needs related to pregnancy	4	0.8	0	0.0	4	0.9	0	0.0	0	0.0
<u>Improve my appearance and performance</u>	221	42.3	48	49.5	173	40.7	111	45.1	27	58.7
Age well	131	25.1	38	39.2	93	21.9	54	22.0	24	52.2
Beauty	75	14.4	6	6.2	69	16.2	46	18.7	2	4.3
Improve intellectual performance	31	5.9	7	7.2	24	5.6	17	6.9	3	6.5
Stay young	12	2.3	8	8.2	4	0.9	3	1.2	4	8.7
Lose weight	10	1.9	1	1.0	9	2.1	6	2.4	0	0.0
Act on my silhouette	10	1.9	0	0.0	10	2.4	6	2.4	0	0.0
Improve sexual performance	1	0.2	1	1.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Put on weight	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Other reason related to appearance or performance	30	5.7	4	4.1	26	6.1	15	6.1	2	4.3

<sup>a</sup> At least one DS taken after cancer diagnosis. Data regarding reasons for DS use were missing for 34 DS users. Several answers were possible.



**Table 3** Circumstances of purchase, duration of use, and communication with the attending physician for the 1140 dietary supplements (DS) reported by cancer survivors of the NutriNet-Santé cohort study, France, 2014

	number of DS (n=1140)	%
<b>Circumstances of DS purchase<sup>a</sup></b>		
On medical prescription	451	39.6
On medical advice (without prescription)	168	14.7
Discovered the DS in-store by themselves	141	12.4
On the advice of a pharmacist	111	9.7
On the advice of a friend/family member	105	9.2
On the advice of another health professional	64	5.6
Heard of the DS from the media (television, magazine, etc.)	47	4.1
Heard of the DS from a book	46	4.0
Saw an advertisement	31	2.7
On the advice of a dietician	25	2.2
On the advice of another patient	20	1.8
On advice received in-store (except chemistry)	12	1.1
On the advice of a physical activity professional	8	0.7
Other circumstances	40	3.5
<b>Duration of DS use</b>		
< 1 year	506	44.4
1-2 years	283	24.8
3-5 years	210	18.5
5-10 years	86	7.5
>10 years	55	4.8
<b>Have you informed one of your physicians<sup>b</sup> about this DS use?</b>		
Yes	742	65.1
No	398	34.9
<b>Reasons for not informing the physician<sup>c</sup></b>		
He did not ask	343	86.2
He does not need to know	85	21.4
He could not understand	41	10.3
He would disapprove	17	4.3

<sup>a</sup>Several answers were possible.

<sup>b</sup>General practitioner, oncologist or other attending physician.

<sup>c</sup>Among the 398 DS for which participants answered “no” to the previous question. Several answers were possible.

**Table 4** Socio-demographic, lifestyle and behavioural correlates of dietary supplement (DS) use in cancer survivors, NutriNet-Santé cohort study, France, 2014

	All (n=1081)		% of DS users in each category <sup>a</sup>		Age and gender adjusted logistic regression analyses	
	n	%	n	%	OR (95% CI)	p
Gender						<0.0001
Male	350	32.38	101	28.9	1.00	
Female	731	67.62	455	62.2	4.24 (3.15-5.71)	
Age						0.2
< 55 years	306	28.31	170	55.6	1.00	
55-65 years	387	35.80	215	55.6	1.32 (0.96-1.81)	
> 65 years	388	35.89	171	44.1	1.17 (0.83-1.64)	
Geographical region						0.9
Paris suburb	236	21.83	125	53.0	1.00	
North-North East	147	13.60	70	47.6	0.84 (0.55-1.30)	
North-West	194	17.95	94	48.5	0.85 (0.57-1.27)	
South-West	122	11.29	67	54.9	1.07 (0.68-1.70)	
Center	229	21.18	123	53.7	1.02 (0.69-1.49)	
South-East	146	13.51	73	50.0	0.97 (0.63-1.50)	
Others <sup>b</sup>	7	0.65	4	57.1	1.48 (0.29-7.43)	
Marital Status						0.8
Married or with partner	802	74.19	394	49.1	1.00	
Divorced/separated/widowed	189	17.48	108	57.1	1.10 (0.78-1.54)	
Single	90	8.33	54	60.0	1.14 (0.72-1.82)	
Children						0.09
yes	367	33.95	176	48.0	1.00	
no	714	66.05	380	53.2	0.79 (0.61-1.04)	
Education						0.0001
≤ 12 years of schooling	468	43.29	207	44.2	1.00	
> 12 years of schooling	613	56.71	349	56.9	1.66 (1.29-2.15)	
Smoking status						0.03
Never smoker	436	40.33	249	57.1	1.00	
Former smoker	523	48.38	255	48.8	0.57 (0.37-0.87)	
Current smoker	122	11.29	52	42.6	0.90 (0.68-1.18)	
Body Mass Index (Kg/m <sup>2</sup> )						0.0005
Normal weight (18.5-24.9)	620	57.35	364	58.7	1.00	
Underweight (<18.5)	28	2.59	17	60.7	0.75 (0.34-1.64)	
Overweight or obese (≥25)	433	40.06	175	40.4	0.59 (0.45-0.77)	
Leisure physical activity <sup>c</sup>						0.2
High	350	39.64	167	47.7	1.00	
Moderate	328	37.15	185	56.4	1.31 (0.95-1.81)	
Low	205	23.22	107	52.2	1.12 (0.77-1.62)	

<sup>a</sup> At least one DS taken after cancer diagnosis.

<sup>b</sup> Overseas departments/territories

<sup>c</sup> As measures by the IPAQ questionnaire. Because of missing values, the proportions of subjects were calculated on 883 participants (459 DS users and 424 non-users).

**Table 5** Comparison of daily dietary energy and nutrient intakes from food only and from food and dietary supplements (DS), between DS users and non-users among cancer survivors of the NutriNet-Santé cohort study, France, 2014<sup>a</sup>

	Food only			Food + DS					
	Non-Users (n=398)	DS users (n=270)	p	Overall DS users (n=270)		DS users of the specific nutrient			
	Mean daily nutrient intake (SE) <sup>b</sup>	Mean daily nutrient intake (SE) <sup>b</sup>		Mean daily nutrient intake (SE) <sup>b</sup>	p	% of intake from DS	N	% of intake from DS	
Energy (kcal)	2096.7 (37.8)	2129.8 (43.4)	0.4	2133.8 (43.4)	0.3	0.2	95	0.2	
Alcohol (g)	12.2 (1.1)	11.1 (1.2)	0.3	11.1 (1.2)	0.3	0.0	0	0.0	
Total carbohydrates (g)	192.4 (3.0)	193.6 (3.4)	0.7	193.9 (3.4)	0.6	0.2	91	0.5	
Simple carbohydrates (g)	88.9 (2.4)	92.3 (2.7)	0.1	92.3 (2.7)	0.1	0.0	45	0.3	
Starch (g)	102.9 (2.4)	100.6 (2.8)	0.3	100.6 (2.8)	0.3	0.0	0	0.0	
Fibers (g)	19.3 (0.6)	21.3 (0.6)	0.0002	24.9 (1.2)	0.0001	14.5	42	38.0	
Proteins (g)	85.3 (1.2)	85.7 (1.4)	0.8	87.8 (2.0)	0.1	2.4	79	11.1	
Total lipids (g)	82.2 (1.2)	82.3 (1.4)	0.9	82.4 (1.4)	0.9	0.1	84	0.1	
Saturated fatty acids (g)	32.6 (0.7)	31.9 (0.8)	0.3	31.9 (0.8)	0.3	0.0	44	0.0	
Monounsaturated fatty acids (g)	31.6 (0.6)	32.2 (0.7)	0.2	32.2 (0.7)	0.3	0.0	13	0.0	
Polyunsaturated fatty acids (g)	11.4 (0.3)	11.7 (0.4)	0.4	11.7 (0.4)	0.3	0.0	65	3.3	
Thiamin (mg)	1.2 (0.0)	1.2 (0.0)	0.5	1.4 (0.1)	<0.0001	14.3	97	36.8	
Riboflavin(mg)	1.9 (0.0)	1.9 (0.1)	0.9	2.1 (0.1)	0.02	9.5	96	26.9	
Niacin (mg)	20.7 (0.5)	21.3 (0.5)	0.2	23.1 (0.6)	0.0001	7.8	97	22.8	
Pantothenic acid (mg)	5.7 (0.1)	5.8 (0.1)	0.3	6.5 (0.2)	<0.0001	10.8	80	34.1	
Vitamin B6 (mg)	1.8 (0.0)	2.0 (0.0)	0.001	3.6 (0.8)	<0.0001	44.4	151	68.3	
Folate (µg)	335.2 (9.4)	354.6 (10.8)	0.03	468.7 (21.8)	<0.0001	24.3	110	37.9	
Vitamin B12 (µg)	7.5 (0.5)	7.2 (0.6)	0.6	8.3 (1.1)	0.4	13.3	65	50.0	
Retinol (µg)	602.8 (76.9)	554.9 (88.4)	0.5	610.7 (92.0)	0.9	9.1	45	41.5	
β carotene (µg)	3881.8 (242.5)	4087.2 (278.9)	0.4	4219.9 (291.8)	0.1	3.1	27	32.8	
Vitamin C (mg)	115.6 (7.7)	132.4 (8.9)	0.03	156.9 (10.6)	<0.0001	15.6	123	40.4	
Vitamin D (µg)	3.1 (0.2)	3.4 (0.3)	0.2	15.9 (3.0)	<0.0001	78.6	205	89.4	
Vitamin E (µg)	12.5 (0.4)	12.8 (0.4)	0.4	19.8 (4.1)	<0.0001	35.4	113	67.6	
Sodium (mg)	2903.5 (65.6)	2928.1 (75.4)	0.7	2929 (75.6)	0.7	0.0	54	0.6	
Calcium (mg)	907.8 (22.5)	923.2 (25.8)	0.4	1112.9 (152.6)	<0.0001	17.0	102	49.3	
Iron (mg)	13.4 (0.3)	14.9 (0.4)	<0.0001	15.9 (0.5)	<0.0001	6.3	84	20.4	
Magnesium (mg)	337.3 (7.9)	365.8 (9.1)	0.0002	389.1 (10.6)	<0.0001	6.0	123	15.1	
Phosphorus (mg)	1320.8 (27.1)	1353.7 (24.2)	0.1	1354 (24.2)	0.1	0.0	33	2.1	
Potassium (mg)	3229.9 (59.5)	3411.3 (68.4)	0.002	3416.1 (68.5)	0.001	0.1	33	2.0	
Zinc (mg)	11.3 (0.2)	12.0 (0.3)	0.005	13.0 (0.3)	<0.0001	7.7	117	26.1	

<sup>a</sup> In subjects with at least one 24h dietary record after cancer diagnosis, normo-energy reporters. DS users were defined as subjects who used at least one DS after cancer diagnosis.

<sup>b</sup> Mean (SE) and logistic regression analysis (performed to derive the p value for the comparison between DS users and non-users) were adjusted for gender, age, number of 24h dietary records and energy intake.

**Table 6** Potentially deleterious dietary supplement (DS) use practices in cancer survivors, NutriNet-Santé cohort study, France, 2014

	Number of subjects
<b>Use of <math>\beta</math>-carotene DS in smokers</b>	
$\beta$ -carotene / current smokers	6
$\beta$ -carotene / former smokers	24
<b>Use of DS that should be avoided in hormone-dependent cancer patients</b>	
Phytoestrogens / Breast cancer	26
Chasteberry / Breast cancer	3
DHEA / Breast cancer	1
Phytoestrogens / Ovarian or Endometrial cancers	5
Phytoestrogens / Prostate cancer	8
Saw palmetto / Prostate cancer	1
<b>Simultaneous use of DS and medications that may lead to moderate-to-severe deleterious interactions</b>	
Vitamin E / anticoagulant-antiplatelet agents	10
Niacin / statins	7
Safflower / anticoagulant-antiplatelet agents	3
Flaxseed / antiplatelet agents	3
Turmeric / anticoagulant-antiplatelet agents	2
Potassium / spironolactone	2
Echinacea / antiplatelet agents	2
Ginseng / anticoagulant-antiplatelet agents	2
Gingko biloba / anticoagulant agents	1
Glucosamin / antiplatelet agents	1
Potassium / captopril	1
Red yeast rice / anti-cholesterol drugs	1
Valerian / tamoxifen	1
Cinchona / anticoagulant agents	1
Milk thistle / anticoagulant agents	1
Soya / anticoagulant agents	1

### **Posters :**

**Pouchieu C**, Lévy R, Faure C, Andreeva VA, Galan P, Hercberg S, Touvier M.

Journées Francophones de Nutrition (Bordeaux, 11-13 Décembre 2013) : «Consommation de compléments alimentaires pendant la grossesse et facteurs socioéconomiques, alimentaires et de mode de vie associés»

**Pouchieu C**, Chajès V, Laporte F, Kesse-Guyot E, Galan P, Hercberg S, Latino-Martel P, Touvier M. Journées Francophones de Nutrition (Bordeaux, 11-13 Décembre 2013) et Séminaire CLARA-NACRe (18 juin 2014, Lyon) : «Étude prospective des liens entre taux d'acides gras plasmatiques et risque de cancer (au global et du sein) : modulation par une supplémentation en antioxydants»

**Pouchieu C**, Galan P, Ducros V, Latino-Martel P, Hercberg S, Touvier M.

Journées Francophones de Nutrition (Bordeaux, 11-13 Décembre 2013) : «Étude prospective des liens entre concentrations plasmatiques en caroténoïdes et rétinol et risque de cancer (au global et du sein)»

## Consommation de compléments alimentaires pendant la grossesse et facteurs socioéconomiques, alimentaires et de mode de vie associés

C. Pouchieu<sup>1</sup>, R.Lévy<sup>1,2</sup>, C.Faure<sup>1,2</sup>, V.A. Andreeva<sup>1</sup>, P.Galan<sup>1</sup>, S. Hercberg<sup>1</sup> et M.Touvier<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unité de recherche en épidémiologie nutritionnelle, UREN (Inserm/Inra/Cnam/Paris13), Bobigny / [c.pouchieu@uren.smbh.univ-paris13.fr](mailto:c.pouchieu@uren.smbh.univ-paris13.fr)

<sup>2</sup>Département de Biologie de la Reproduction-CECOS, Hôpital Jean Verdier, Bondy

**Introduction** Les données sur la consommation de compléments alimentaires (CA) pendant la grossesse sont rares. Aucune étude n'a été publiée sur ce sujet en France. De plus, la part relative de l'automédication versus prescription médicale est mal connue.



**Objectifs** 1) étudier les **facteurs socio-démographiques, économiques, de mode de vie et alimentaires associés** à la consommation de **CA en général et d'acide folique en particulier** chez les femmes enceintes; 2) évaluer le **rôle du médecin** dans les motivations d'achat des CA et la proportion d'**automédication** chez les consommatrices de CA.

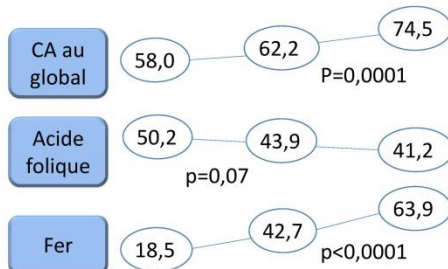
### Méthodes

- 903 femmes enceintes de l'étude NutriNet-Santé (âge moyen : 31,7 ans)
- Auto-questionnaires sur Internet
- Apports alimentaires évalués par enregistrements de 24h répétés
- CA: au sens réglementaires + médicaments riches en vitamines et/ou minéraux
- Régressions logistiques multivariées ajustées sur l'âge pour comparer les consommatrices (au moins 3 j/semaine) aux non-consommatrices de CA



### Résultats

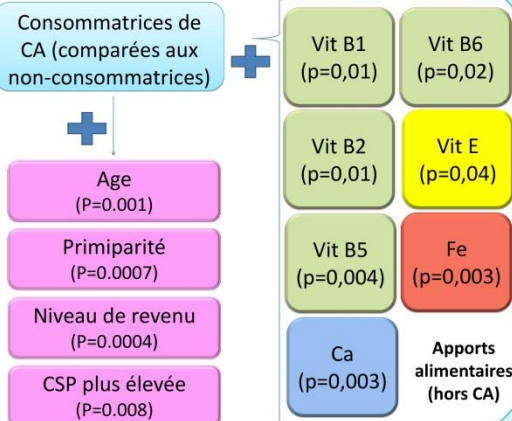
Consommation de CA (%) selon le trimestre de grossesse



### Prescription ou conseil médical



86,7% des prises de CA



### Conclusion

Cette étude fournit des informations détaillées et actualisées sur la consommation de CA et ses déterminants pendant la grossesse. Même dans cette population relativement aisée et éduquée, la supplémentation en acide folique en début de grossesse était insuffisante et associée à des inégalités socio-économiques et démographiques.

Publication: Pouchieu C, Lévy R, Faure C, Andreeva VA, Galan P, Hercberg S and Touvier M. Socioeconomic, lifestyle and dietary factors associated with dietary supplement use during pregnancy. *PLoS One*. 2013 Aug 13;8(8):e70733.



## Étude prospective des liens entre taux d'acides gras plasmatiques et risque de cancer (au global et du sein) : modulation par une supplémentation en antioxydants

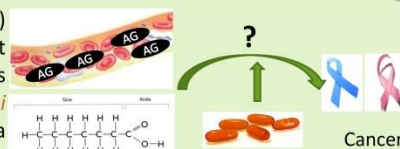
C. Pouchieu<sup>1</sup>, V. Chajès<sup>2</sup>, F. Laporte<sup>3</sup>, E. Kesse-Guyot<sup>1</sup>, P. Galan<sup>1</sup>, S. Hercberg<sup>1</sup>, P. Latino-Martel et M. Touvier<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unité de recherche en épidémiologie nutritionnelle, UREN (Inserm/Inra/Cnam/Paris13), Bobigny / [c.pouchieu@uren.smbh.univ-paris13.fr](mailto:c.pouchieu@uren.smbh.univ-paris13.fr)

<sup>2</sup>Nutrition et Métabolisme, Centre International de Recherche sur le Cancer, Lyon

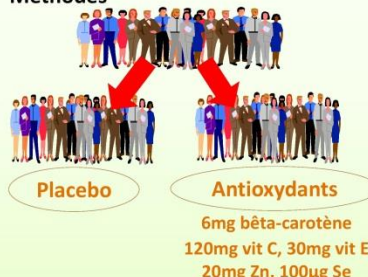
<sup>3</sup>Département de Biologie Intégré, Université de Grenoble, Grenoble

**Introduction** Des données mécanistiques suggèrent que les **acides gras (AG)** joueraient un rôle dans la carcinogénèse et que les **antioxydants** pourraient moduler cette relation. Cependant, les données épidémiologiques montrent des résultats contrastés (*Pauwels 2008, Larsson 2004, Serini 2011, Saadatian-Elahi 2004, Chajès 2011*) entre AG circulants et **risque de cancer** et aucune étude n'a investigué si une supplémentation en antioxydants modulait ces relations.



**Objectifs 1/** Etudier les relations prospectives entre les taux d'acides gras plasmatiques et le risque de cancer (au global et du sein) **et 2/** Evaluer l'effet modificateur potentiel d'une supplémentation en antioxydants sur ces relations

### Méthodes



- **Etude cas témoin nichée** dans la cohorte **SU.VI.MAX**
- Premiers cancers incidents diagnostiqués entre 1994 et 2002 (n=250, dont 154 cancers du sein)
- Appariement: **1 témoin/cas** (âge, sexe, nombre d'enregistrements de 24h, groupe de supplémentation SU.VI.MAX)
- Composition en AG des lipides plasmatiques totaux mesurée à l'inclusion par chromatographie en phase gazeuse
- Risque de cancer: **régression logistique conditionnelle multivariée**, au global puis stratifié sur le groupe de supplémentation.
- Ajustement: IMC, taille, activité physique, niveau d'étude, statut tabagique, conso d'alcool, atcd familiaux de cancer (+ atcds de cancer du sein, nb d'enfants, statut ménopausique et utilisation de traitement hormonal de la ménopause → cancer du sein)

### Résultats

#### Associations entre acides gras plasmatiques et risque de cancer toutes localisations confondues

	Total (n <sub>cas</sub> =250 et n <sub>témoins</sub> =250) OR <sub>Q4/Q1</sub> et P <sub>trend</sub>	Groupe Placebo (n <sub>cas</sub> =135 et n <sub>témoins</sub> =135) OR <sub>Q4/Q1</sub> et P <sub>trend</sub>	Groupe supplémenté (n <sub>cas</sub> =115 et n <sub>témoins</sub> =115) OR <sub>Q4/Q1</sub> et P <sub>trend</sub>
<b>Acide linoléique (18:2 n-6)</b>	1,91 (1,06-3,43) p=0,02	2,26 (0,91-5,62) p=0,02	
<b>Acide γ-linolénique (18:3 n-6)</b>		0,20 (0,08-0,50) p=0,001	
<b>Acide dihomog-γ-linolénique (20:3 n-6)</b>	0,49 (0,28-0,85) p=0,002	0,43 (0,20-0,93) p=0,02	
<b>Acide de Mead (20:3 n-9)</b>	0,35 (0,19-0,65) p=0,0004	0,18 (0,07-0,45) p=0,0005	
<b>AGPI totaux</b>		<b>2,88 (1,20-6,92) p=0,02</b>	<b>Aucune association significative dans le groupe supplémenté en antioxydants</b>
<b>AGS totaux</b>		0,35 (0,16-0,78) p=0,01	
<b>Acide palmitique (16:0)</b>		0,28 (0,11-0,69) p=0,004	
<b>Acide palmitoléique (16:1 n-7)</b>	0,55 (0,30-1,01) p=0,02	0,27 (0,11-0,67) p=0,0004	
<b>20:4 n-6/20:3 n-6</b>	1,90 (1,09-3,30) p=0,02		
<b>20:3 n-6/18:2 n-6</b>	0,46 (0,25-0,85) p=0,001	0,29(0,11-0,77) p=0,003	

**Résultats similaires pour le cancer du sein:** notamment, les AGPI totaux étaient également associés à une augmentation du risque de cancer du sein dans le groupe placebo (p=0,02), mais pas dans le groupe supplémenté (hypothèse de protection des AGPI par les antioxydants vis-à-vis de la peroxydation)

**Conclusion** Cette étude prospective a mis en évidence plusieurs associations entre les acides gras plasmatiques et le risque de cancer au global et de cancer du sein. Elle suggère également que les antioxydants pourraient moduler ces associations en contrecarrant les effets potentiels des acides gras plasmatiques sur la carcinogénèse.



## Étude prospective des liens entre concentrations plasmatiques en caroténoïdes et rétinol et risque de cancer (au global et du sein)

C. Pouchieu<sup>1</sup>, P. Galan<sup>1</sup>, V. Ducros<sup>2</sup>, P. Latino-Martel<sup>1</sup>, S. Hercberg<sup>1,3</sup> et M. Touvier<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unité de recherche en épidémiologie nutritionnelle, UREN (Inserm/Inra/Cnam/Paris13), Bobigny / [c.pouchieu@uren.smbh.univ-paris13.fr](mailto:c.pouchieu@uren.smbh.univ-paris13.fr)

<sup>2</sup>Département de Biochimie, Toxicologie & Pharmacologie - Institut de Biologie et Pathologie - CHU, Grenoble

<sup>3</sup>Département de Santé Publique, Hôpital Avicenne, Bobigny

**Introduction** Les études expérimentales suggèrent que les **caroténoïdes et le rétinol** joueraient un rôle **anti-carcinogène** via différents mécanismes. Au niveau épidémiologique (*Aune 2012, Eliassen 2012, Karppi 2012, Hey 2007, Goodman 2003, Karppi 2009, Schenk 2009, Kabat 2012, Jenab 2006*), des études suggèrent que le  $\beta$ -carotène, l' $\alpha$ -carotène, la lutéine et les caroténoïdes totaux circulants pourraient être associés à une diminution du risque de cancer du sein mais les résultats restent contrastés et les données concernant d'autres localisations de cancer sont limitées. Ainsi de nouvelles études prospectives sont nécessaires.

**Objectif** Etudier de façon prospective les relations entre les concentrations plasmatiques en caroténoïdes et rétinol et le risque de cancer (au global et du sein)

### Méthodes

- **Etude cas témoin nichée** dans la cohorte **SU.VI.MAX**.
- Premiers cancers incidents diagnostiqués entre 1994 et 2002 (**n=159**, dont 100 cancers du sein)
- Appariement: **1 témoin/cas** (âge, sexe, nb d'enregistrement 24h, groupe d'intervention SU.VI.MAX)
- Concentrations en caroténoïdes et rétinol plasmatique mesurées à l'inclusion par chromatographie liquide à haute performance
- Risque de cancer: OR (IC 95%) calculé par **régression logistique conditionnelle multivariée**
- Ajustement: IMC, taille, activité physique, niveau d'étude, statut tabagique, conso d'alcool, antécédents familiaux de cancer, apports en énergie, lipides et fruits et légumes (+ *antécédents familiaux de cancer du sein, nb d'enfants, statut ménopausique et utilisation de traitement hormonal de la ménopause pour les modèles cancer du sein*)

### Résultats

- Association inverse entre la concentration plasmatique en  $\beta$ -carotène à l'inclusion et le risque de cancer au global, renforcée dans le groupe placebo de l'essai d'intervention SU.VI.MAX, c'est-à-dire chez les sujets n'ayant pas reçu de supplémentation en bêta-carotène (6mg), vit C (120mg), vit E (30mg), Zn (20mg), Se (100 $\mu$ g) après l'inclusion
- Association inverse entre la concentration en  $\beta$ -cryptoxanthine et le risque de cancer (au global et du sein)
- Association directe suggérée entre la concentration en lycopène et le risque de cancer au global

Associations entre les concentrations en caroténoïdes et rétinol plasmatiques et le risque de cancer au global



	Total (ncas=159 et ntémoins=159)		Groupe placebo (ncas=81 et ntémoins=81)		Groupe supplémenté (ncas=78 et ntémoins=78)	
	OR (95%IC)*	Ptrend	OR (95%IC)*	Ptrend	OR (95%IC)*	Ptrend
$\beta$ -carotène	0,95 (0,90-0,99)	0,04	0,89 (0,80-0,99)	0,03	0,95 (0,89-1,02)	0,2
$\alpha$ -carotène	0,93 (0,79-1,09)	0,4	0,92 (0,72-1,17)	0,5	0,83 (0,64-1,07)	0,1
$\beta$ -cryptoxanthine	0,89 (0,81-0,99)	0,03	0,85 (0,73-1,00)	0,05	0,85 (0,72-1,01)	0,06
Lycopène	1,07 (0,99-1,15)	0,06	1,04 (0,95-1,13)	0,4	1,19 (1,01-1,39)	0,04
Lutéine	1,06 (0,85-1,31)	0,6	1,07 (0,77-1,50)	0,7	1,10 (0,76-1,60)	0,6
Rétinol	1,00 (0,95-1,06)	0,9	1,05 (0,97-1,15)	0,2	0,94 (0,85-1,04)	0,2

\*OR pour l'augmentation de 0,1 $\mu$ mol/L de caroténoïde plasmatique

Associations entre les concentrations en caroténoïdes et rétinol plasmatiques et le risque de cancer du sein

	Total (ncas=100 et ntémoins=100)		Groupe placebo (ncas=50 et ntémoins=50)		Groupe supplémenté (ncas=50 et ntémoins=50)	
	OR (95%IC)*	Ptrend	OR (95%IC)*	Ptrend	OR (95%IC)*	Ptrend
$\beta$ -carotène	0,96 (0,89-1,03)	0,2	0,95 (0,81-1,12)	0,6	0,89 (0,78-1,03)	0,1
$\alpha$ -carotène	0,94 (0,77-1,15)	0,5	0,89 (0,62-1,30)	0,6	0,61 (0,35-1,06)	0,1
$\beta$ -cryptoxanthine	0,83 (0,71-0,96)	0,02	0,75 (0,54-1,04)	0,1	0,76 (0,56-1,01)	0,06
Lycopène	1,04 (0,95-1,13)	0,4	1,00 (0,89-1,13)	0,9	1,16 (0,90-1,50)	0,3
Lutéine	1,06 (0,72-1,56)	0,8	1,35 (0,50-3,63)	0,6	0,82 (0,41-1,68)	0,6
Rétinol	0,99 (0,91-1,09)	1,0	1,16 (0,91-1,48)	0,2	0,91 (0,79-1,06)	0,2

\*OR pour l'augmentation de 0,1 $\mu$ mol/L de caroténoïde plasmatique



**Conclusion** Cette étude prospective suggère une association inverse entre les concentrations plasmatiques en  $\beta$ -cryptoxanthine et le risque de cancer au global et de cancer du sein, et une association inverse entre la concentration plasmatique en  $\beta$ -carotène et le risque de cancer au global. L'association directe entre la concentration de lycopène et le risque de cancer nécessite confirmation par d'autres études prospectives.



## Annexe 2. Questionnaire NutriNet-Santé Compléments alimentaires en population générale (cohorte globale)

<p><b>1 - Introduction</b> 2 - Votre consommation actuelle 3 - Votre consommation au cours des 12 derniers mois 4 - Informations complémentaires 5 - Commentaires</p>	<p>Les compléments alimentaires peuvent représenter une part importante des apports en vitamines, minéraux et oligoéléments chez les personnes qui en consomment. Il est donc important pour les chercheurs de savoir, de façon précise, si vous consommez (ou avez consommé) ce type de produits, et si oui, lesquels. Comme tous les questionnaires NutriNet-Santé, ce questionnaire n'a aucune visée commerciale. Si les noms et les marques des produits consommés sont demandés, c'est parce que la composition nutritionnelle est très variable d'un complément alimentaire à l'autre.</p> <p><b>DÉFINITION D'UN COMPLÉMENT ALIMENTAIRE</b></p> <p><b>Les compléments alimentaires sont des vitamines, des minéraux, des oligo-éléments, des extraits ou concentrés de plantes, des acides aminés, des protéines, des acides gras essentiels (oméga 3 par exemple), des phyto-œstrogènes, ou tout autre type de compléments à l'alimentation sous forme de pilules, comprimés, gélules, sachet de poudre, sirop, etc.</b></p> <p><i>Par exemple, lorsque vous consommez des comprimés de vitamine C ou que vous faites des cures de magnésium ou de levure de bière (en comprimé ou en paillettes), il s'agit de compléments alimentaires.</i></p> <p><b>Il peut parfois s'agir de médicaments</b>, prescrits ou pas par un médecin et pouvant être éventuellement remboursés. Notamment, ceux riches en vitamines, minéraux, etc. doivent être déclarés dans ce questionnaire (comme par exemple les médicaments anti-ostéoporose riches en vitamines D ou en calcium).</p> <p>Les aliments enrichis ou diététiques (exemple : céréales, substituts de repas sous forme de crèmes dessert, jus de fruits, le sel iodé et/ou fluoré, etc.), ne sont pas des compléments alimentaires.</p> <p><b>ATTENTION : SI VOUS N'AVEZ JAMAIS CONSOMMÉ DE COMPLÉMENTS ALIMENTAIRES, IL EST IMPORTANT QUE VOUS RÉPONDIEZ TOUT DE MÊME À CE QUESTIONNAIRE (IL VOUS SUFFIRA ALORS DE RÉPONDRE « NON » AUX DEUX PREMIÈRES QUESTIONS).</b></p> <p>Suite ▶</p>
---	--

1 - Introduction  
2 - Votre consommation actuelle  
3 - Votre consommation au cours des 12 derniers mois  
4 - Informations complémentaires  
5 - Commentaires

## Votre consommation actuelle

### Prenez-vous actuellement au moins 3 jours par semaine, des compléments alimentaires en :

- Cochez tous les nutriments que vous prenez sous forme de compléments au moins 3 jours par semaine (qu'ils soient présents en association dans le même produit, ou bien dans des produits différents).
- Pour répondre à cette question AIDEZ-VOUS DES EMBALLAGES ET NOTICES DES PRODUITS.

- Calcium
- Sélénium
- Zinc
- Fer
- Magnésium
- Fluor
- Phosphore
- Autres minéraux / oligoéléments (potassium, cuivre, lithium, chrome, manganèse...)
- Iode
- Vitamine B1 (thiamine)
- Vitamine B2 (riboflavine)
- Vitamine B3 (vitamine PP, niacine)
- Vitamine B5 (acide pantothénique)
- Vitamine B6
- Vitamine B8 (biotine)
- Folates (acide folique, vitamine B9)
- Vitamine B12 (cobalamines)
- Vitamine C (acide ascorbique)
- Vitamine E
- Vitamine A
- Bêta-carotène
- Rétinol
- Lutéine
- Zéaxanthine
- Vitamine K
- Acides gras Oméga 3
- Huile d'onagre, huile de bourrage, huile de foie de morue (sous forme de compléments alimentaires)
- Phytoestrogènes (soja)
- Fibres (Attention: sous forme de compléments et pas de céréales du petit déjeuner...)
- Acides aminés / protéines (Attention : sous forme de compléments et pas d'aliments diététiques riches en protéines)
- Compléments alimentaires à base d'acérola, de guarana ou de canneberge (cranberry)
- Compléments alimentaires à base de ginseng
- Autres compléments alimentaires à base de plantes
- Vitamine D (vitamine D3, cholécalciférol, vitamine D2, ergocalciférol, calcifédiol, calcitriol)
- Non, pas de complément alimentaire au moins 3 jours par semaine actuellement

- 1 - Introduction
- 2 - Votre consommation actuelle
- 3 - Votre consommation au cours des 12 derniers mois**
- 4 - Informations complémentaires
- 5 - Commentaires

### Votre consommation au cours des 12 derniers mois

**Au cours des 12 DERNIERS MOIS Y COMPRIS CES DERNIERS JOURS, avez-vous consommé des compléments alimentaires ?**

**ATTENTION, n'oubliez pas d'indiquer :**

- les compléments que vous prenez **actuellement**
- les compléments que vous ne prenez pas actuellement mais que vous avez pris **dans les 12 derniers mois**, que votre consommation ait été quotidienne, sous forme de cure ou irrégulière

Oui  Non

Indiquez le nom de chaque complément alimentaire que vous avez consommé au cours des 12 derniers mois :

**NOM DU PRODUIT 1 :**

N'oubliez pas d'indiquer le dosage lorsque celui-ci fait partie du nom (Exemple : Vitamine C 500 mg).

Si vous ne vous souvenez plus du nom du produit, essayez de décrire brièvement son contenu (Exemple : « vitamine B6 et magnésium »).

**Marque du produit 1 :**

(Exemple : Juvamine)

**Forme de présentation du produit 1 :**

- Comprimé (sec ou effervescent)
- Gélule
- Ampoule
- Capsule
- Sachet de poudre
- Cuillère à café de poudre
- Cuillère à soupe de poudre
- Cuillère à café de sirop ou liquide
- Cuillère à soupe de sirop ou liquide
- Verre de liquide
- Autre présentation (dosette, bouchon, « 15 ml », pulvérisation, etc.)

**Au total, au cours des 12 derniers mois, combien de jours environ avez-vous consommé ce produit ?**

(même si vous n'êtes pas sûr du chiffre précis, mettez l'approximation qui vous semble la plus réaliste)

jours

**En général les jours où vous avez consommé ce produit, combien d'unités (gélule, comprimé, ampoule, cuillère, etc.) prenez-vous ?**



unités

**Vous consommez ce complément alimentaire (même de manière occasionnelle ou sous forme de cures) :**

- Depuis moins d'un an
- Depuis 1-2 ans
- Depuis 3-5 ans
- Depuis 5-10ans
- Depuis plus de 10 ans
- Je ne sais pas

[◀ Précédent](#) | [Suite ▶](#)

1 - Introduction  
2 - Votre consommation actuelle  
3 - Votre consommation au cours des 12 derniers mois  
4 - Informations complémentaires  
5 - Commentaires

#### Informations complémentaires

##### Dans quel(s) but(s) consommez-vous (ou avez-vous consommé) ces compléments alimentaires ? (Plusieurs réponses possibles)

- Lutter contre la fatigue
- Rester en bonne santé, prévenir les maladies en général
- Résoudre ou lutter contre un (des) problème(s) de santé particulier(s)
- Combler des besoins particuliers liés à une grossesse ou à l'allaitement
- Combattre le stress
- Combler des besoins particuliers liés à votre activité sportive, améliorer vos performances sportives
- Améliorer vos performances intellectuelles (exemple : concentration, mémoire, etc.) ou sexuelles
- Compléter des apports alimentaires insuffisants liés à un régime alimentaire particulier
- Compléter des apports alimentaires que vous pensez inadaptés (hors régime particulier)
- Perdre du poids, agir sur votre silhouette
- Entretenir votre beauté (ongles, peau, cheveux, etc.)
- Rester jeune et/ou mieux vieillir
- Autre
- Ne sait pas

##### En général, vous achetez vos compléments alimentaires ... (Plusieurs réponses possibles)

- Sur prescription médicale (c'est-à-dire sur ordonnance)
- Sur conseil d'un médecin (sans ordonnance)
- Sur conseil d'un pharmacien
- Sur conseil d'un diététicien
- Sur conseil d'un autre professionnel de santé
- Sur un conseil reçu en magasin (hors pharmacie)
- Sur conseil d'un parent, ami ou proche
- Parce que vous avez vu une publicité
- Parce que vous en avez entendu parler dans un livre
- Parce que vous en avez entendu parler dans les médias (reportage à la télé, article dans un magazine, etc.)
- Parce que vous avez découvert ce produit en rayon et que ses caractéristiques (prix, composition, présentation, allégation santé, etc...) vous ont incité à l'acheter
- Autre
- Ne sait pas

##### Y a-t-il une ou des saison(s) où vous consommez plus particulièrement des compléments alimentaires ?

Oui  Non

Laquelle ou lesquelles ?

- Printemps
- Été
- Automne
- Hiver

[◀ Précédent](#) | [Suite ▶](#)

- 1 - Introduction
- 2 - Votre consommation actuelle
- 3 - Votre consommation au cours des 12 derniers mois
- 4 - Informations complémentaires
- 5 - Commentaires**

### Commentaires

Si vous n'avez pas de commentaire, merci de valider définitivement votre questionnaire.

En revanche, si vous pensez que votre situation n'est prise en compte que partiellement dans ce questionnaire, nous vous proposons de nous préciser ci-dessous les informations supplémentaires qui nous permettront de mieux traiter vos réponses :

500

Caractères restants

Si vous avez besoin d'une aide pour remplir ce questionnaire, merci de cliquer sur la rubrique **NOUS CONTACTER** et de nous préciser vos difficultés : nous vous enverrons une réponse dans les plus brefs délais vous permettant de terminer et de valider votre questionnaire.

MERCI.

◀ Précédent | 🗑 Enregistrer en brouillon | 🏠 Valider définitivement

Les compléments alimentaires peuvent représenter des apports importants en vitamines, minéraux et oligoéléments chez les personnes qui en consomment. Les effets de ces apports supplémentaires sur le risque d'apparition ou sur l'évolution des cancers sont encore mal connus. Il est donc important pour les chercheurs de savoir si vous consommez (ou avez consommé) ce type de produits, et si oui, lesquels. Comme tous les questionnaires NutriNet-Santé, ce questionnaire n'a aucune visée commerciale. Si les noms et les marques des produits consommés sont demandés, c'est parce que la composition nutritionnelle est très variable d'un complément alimentaire à l'autre.

**ATTENTION : SI VOUS N'AVEZ JAMAIS CONSOMMÉ DE COMPLÉMENTS ALIMENTAIRES, IL EST IMPORTANT QUE VOUS RÉPONDIEZ TOUT DE MÊME À CE QUESTIONNAIRE (le remplissage sera alors très rapide).**

#### DEFINITION D'UN COMPLEMENT ALIMENTAIRE

Les compléments alimentaires sont des substances naturelles ou de synthèse ingérées pour compléter l'alimentation. Ce sont des produits commercialisés à base de composés divers : des vitamines, des minéraux, des oligo-éléments, des extraits ou concentrés de plantes, des acides aminés, des protéines, des acides gras essentiels (oméga 3 par exemple), des phyto-estrogènes, des probiotiques, ou tout autre type de compléments à l'alimentation sous forme de pilules, comprimés, gélules, sachets de poudre, sirops, etc .

*Par exemple, lorsque vous consommez des comprimés de vitamine C ou que vous faites des cures de magnésium ou de levure de bière (en comprimé ou en paillettes), il s'agit de compléments alimentaires.*

**En plus des compléments alimentaires « classiques » qui correspondent à cette définition, certains produits sont également considérés comme « compléments alimentaires », et sont donc à déclarer dans ce questionnaire.** Le tableau suivant liste les cas litigieux :

Types de produits	Considérés comme compléments alimentaires dans cette étude
Médicaments riches en vitamines, minéraux, etc., prescrits ou pas par un médecin et pouvant être éventuellement remboursés <i>(exemple : les médicaments anti-ostéoporose riches en vitamines D ou en calcium)</i>	OUI
Médicaments homéopathiques	NON
Aliments enrichis ou diététiques <i>(exemples : céréales, substituts de repas sous forme de crèmes dessert, jus de fruits, le sel iodé et/ou fluoré, etc.)</i>	NON
Thés et infusions	NON

<u>Poudres ou liquides</u> (acides aminés, vitamines, minéraux, extraits de plantes...) à <u>diluer</u> dans de l'eau (produits pour sportifs, produits minceur, etc.)	OUI
Boissons <u>toutes prêtes</u> (boissons énergétiques type 'Gatorade' ou énergisantes type 'Red Bull', boissons aux extraits de thé, etc.)	NON
Comprimés (ou gélules...) à base de phyto-estrogènes (extraits de soja, de sauge) ou phytoprogestagènes (extraits de Yam, de Gattilier)	OUI
Injections intraveineuses ou intramusculaires, pulvérisations nasales, patchs ou crèmes...(les compléments alimentaires doivent être consommés par voie orale)	NON

## *Annexe 4. Questionnaire Compléments alimentaires NutriNet-Santé dans le cadre du programme Nutrition-Cancer (adressé aux cancer survivors)*

---

### **Introduction**

Les compléments alimentaires peuvent représenter des apports importants en vitamines, minéraux et oligoéléments chez les personnes qui en consomment. Les effets de ces apports supplémentaires sur le risque d'apparition ou sur l'évolution des cancers sont encore mal connus. Il est donc important pour les chercheurs de savoir si vous consommez (ou avez consommé) ce type de produits, et si oui, lesquels. Comme tous les questionnaires NutriNet-Santé, ce questionnaire n'a aucune visée commerciale. Si les noms et les marques des produits consommés sont demandés, c'est parce que la composition nutritionnelle est très variable d'un complément alimentaire à l'autre.

### **DEFINITION D'UN COMPLEMENT ALIMENTAIRE**

**Les compléments alimentaires sont des substances naturelles ou de synthèse ingérées pour compléter l'alimentation. Ce sont des produits commercialisés à base de composés divers : des vitamines, des minéraux, des oligo-éléments, des extraits ou concentrés de plantes, des acides aminés, des protéines, des acides gras essentiels (oméga 3 par exemple), des phyto-estrogènes, des probiotiques, ou tout autre type de compléments à l'alimentation sous forme de pilules, comprimés, gélules, sachets de poudre, sirops, etc.**

*Par exemple, lorsque vous consommez des comprimés de vitamine C ou que vous faites des cures de magnésium ou de levure de bière (en comprimé ou en paillettes), il s'agit de compléments alimentaires.*

**Il peut parfois s'agir de médicaments**, prescrits ou pas par un médecin et pouvant éventuellement être remboursés. Ceux riches en vitamines, minéraux, etc. doivent notamment être déclarés dans ce questionnaire (par exemple les médicaments anti-ostéoporose riches en vitamine D ou en calcium).

Les aliments enrichis ou diététiques (exemples : céréales, substituts de repas sous forme de crèmes dessert, jus de fruits, le sel iodé et/ou fluoré, etc.) ne sont pas des compléments alimentaires.

**ATTENTION : SI VOUS N'AVEZ JAMAIS CONSOMME DE COMPLEMENTS ALIMENTAIRES, IL EST IMPORTANT QUE VOUS REPONDIEZ TOUT DE MEME A CE QUESTIONNAIRE (CELA NE VOUS PRENDRA ALORS QUE QUELQUES SECONDES).**



## Votre consommation actuelle de compléments alimentaires

Prenez-vous actuellement des compléments alimentaires en :

- Cochez tous les nutriments ou substances que vous prenez sous forme de compléments alimentaires (qu'ils soient présents en association dans le même produit, ou bien dans des produits différents).
- Pour répondre à cette question AIDEZ-VOUS DES EMBALLAGES ET NOTICES DES PRODUITS.

- Calcium
  - Sélénium
  - Zinc
  - Fer
  - Magnésium
  - Fluor
  - Phosphore
  - Iode
  - Autres minéraux / oligoéléments (potassium, cuivre, lithium, chrome, manganèse...)
  - Vitamine B1 (thiamine)
  - Vitamine B2 (riboflavine)
  - Vitamine B3 (vitamine PP, niacine)
  - Vitamine B5 (acide pantothénique)
  - Vitamine B6 (pyridoxine)
  - Vitamine B8 (biotine)
  - Folates (acide folique, vitamine B9)
  - Vitamine B12 (cobalamines)
  - Vitamine C (acide ascorbique)
  - Vitamine D (vitamine D3, calciférol, cholécalciférol, vitamine D2, ergocalciférol, calciférol, calcitriol)
  - Vitamine E (tocophérols, tocotriénols)
  - Vitamine A (Rétinol)
  - Bêta-carotène
  - Lutéine
  - Zéaxanthine
  - Lycopène
  - Vitamine K
  - Polyphénols (catéchine, resvératrol)
  - Acides gras Oméga 3
  - Huile d'onagre, huile de bourrage, huile de foie de morue (sous forme de compléments alimentaires)
  - Phytoestrogènes (extraits de soja, de sauge)
  - Phytoprogestagènes (extraits de Yam, de Gattilier)
  - Fibres (Attention : sous forme de compléments et pas de céréales du petit déjeuner...)
  - Acides aminés (taurine, arginine, etc) / protéines (Attention : sous forme de compléments et pas d'aliments diététiques riches en protéines)
  - Compléments alimentaires à base de gui
  - Compléments alimentaires à base d'acérola, de guarana ou de canneberge (cranberry)
  - Compléments alimentaires à base de ginseng
  - Compléments alimentaires à base de DHEA
  - Compléments alimentaires à base de trèfle rouge
  - Compléments alimentaires à base de luzerne
  - Compléments alimentaires à base d'igname sauvage
  - Compléments alimentaires à base de cohosh noir
  - Compléments alimentaires à base d'huile de lin
  - Compléments alimentaires à base d'échinacées
  - Desmodium
  - Autres compléments alimentaires à base de plantes ou substances naturelles
- Précisez :** \_\_\_\_\_
- Non, pas de complément alimentaire actuellement

Indiquez le nom de chaque complément alimentaire que vous consommez actuellement :

**NOM du produit 1 :** \_\_\_\_\_

*N'oubliez pas d'indiquer le dosage lorsque celui-ci fait partie du nom (Exemple : Vitamine C 500 mg).  
Si vous ne vous souvenez plus du nom du produit, essayez de décrire brièvement son contenu  
(Exemple : « vitamine B6 et magnésium »).*

**MARQUE du produit 1 :** \_\_\_\_\_

*(Exemple : Juvamine)*

**FORME de présentation du produit 1 :**

- Comprimé
- Gélule
- Ampoule
- Capsule
- Sachet de poudre
- Cuillère à café de poudre
- Cuillère à soupe de poudre
- Cuillère à café de sirop ou liquide
- Cuillère à soupe de sirop ou liquide
- Autre présentation (dosette, bouchon, « 15 ml », pulvérisation, etc.)

**Précisez :** \_\_\_\_\_

**SUR 1 ANNEE, COMBIEN DE JOURS ENVIRON consommez-vous ce produit ?**

*(même si vous n'êtes pas sûr(e) du chiffre précis, mettez l'approximation qui vous semble la plus réaliste)*

|\_|\_|\_| jours

**En général, les jours où vous consommez ce produit, COMBIEN D'UNITES (gélule, comprimé, ampoule, cuillère, etc.) prenez-vous ?**

|\_|\_| unités par jour de consommation

*(Vous avez déclaré précédemment une forme de présentation pour ce produit (comprimé ou cuillère à café de poudre ou ampoule, etc.). Indiquez ici le nombre d'unités correspondant à cette forme de présentation. Par exemple, si vous avez déclaré que le produit se présentait sous forme de cuillère à café de liquide, combien de cuillères à café en prenez-vous en général, les jours où vous avez consommé ce produit.*

*Si les quantités sont variables d'un jour à l'autre, merci d'indiquer une valeur moyenne.*

**Vous consommez ce complément alimentaire (même de manière occasionnelle ou sous forme de cures) :**

- Depuis moins d'un an
- Depuis 1-2 ans
- Depuis 3-5 ans
- Depuis 5-10 ans
- Depuis plus de 10 ans

**Prenez-vous déjà ce produit avant le diagnostic de votre cancer ?**

- Oui
- Non

**Un des médecins qui vous suit (généraliste, oncologue, autre) est-il au courant que vous consommez ce produit ?**

- Oui
- Non

**Pour quelle(s) raison(s) :**

le médecin n'a pas besoin d'être au courant

(plusieurs réponses possibles)

- le médecin ne l'a jamais demandé
- le médecin ne pourrait pas comprendre
- le médecin désapprouverait

**Avez-vous acheté ce produit ...**

(plusieurs réponses possibles)

- Sur prescription médicale (c'est-à-dire sur ordonnance)
- Sur conseil d'un médecin (sans ordonnance)
- Sur conseil d'un pharmacien
- Sur conseil d'un diététicien
- Sur conseil d'un autre professionnel de santé
- Sur conseil d'un professionnel de l'activité physique ou sportive
- Sur un conseil reçu en magasin (hors pharmacie)
  
- Sur conseil d'un parent, ami ou proche
- Sur conseil d'un autre patient
- Parce que vous avez vu une publicité
- Parce que vous en avez entendu parler dans un livre
- Parce que vous en avez entendu parler dans les médias
- Parce que vous avez découvert le produit par vous-même en magasin ou sur Internet et que ses caractéristiques vous ont incité à l'acheter (prix, composition, présentation, allégation santé, etc.)
  
- Autre

**Si vous l'avez acheté sur prescription médicale, précisez quel type de médecin** (généraliste, oncologue, médecin homéopathe, etc.) : \_\_\_\_\_

**Si vous l'avez acheté sur conseil d'un médecin, précisez quel type de médecin** (généraliste, oncologue, médecin homéopathe, etc.) : \_\_\_\_\_

**Si vous l'avez acheté sur conseil d'un autre professionnel de santé, précisez quel type de professionnel** : \_\_\_\_\_

**Si vous l'avez acheté sur un conseil reçu en magasin, précisez quel magasin** : \_\_\_\_\_

**Si vous en avez entendu parler dans un livre, précisez quel livre**: \_\_\_\_\_

**Si vous en avez entendu parler dans les médias, précisez quels médias** (reportage à la TV, article dans un magazine, etc) : \_\_\_\_\_

**Si Autre, précisez** \_\_\_\_\_

**Dans quel(s) but(s) consommez-vous ce produit ?**

(plusieurs réponses possibles)

Lutter contre le cancer :

- Contrôler ma maladie
- Lutter contre les récives
- Atténuer les symptômes
- Atténuer les effets secondaires des traitements
- Autre

**Si vous le consommez pour atténuer les effets secondaires des traitements, précisez** (nausées, troubles digestifs, etc.): \_\_\_\_\_

**Si Autre, précisez** \_\_\_\_\_

Autres raisons de santé (non directement liées au cancer et à son traitement) :

- Résoudre ou lutter contre un autre problème de santé particulier (hors cancer)
- Prévenir les maladies en général
- Renforcer les défenses de l'organisme
- Autre

**Si c'est pour résoudre ou lutter contre un autre problème de santé particulier (hors cancer), précisez lequel :** \_\_\_\_\_  
**Si Autre, précisez** \_\_\_\_\_

Améliorer mon bien-être au quotidien :

- Lutter contre la fatigue
- Combattre le stress
- Faciliter la digestion, le confort intestinal
- Améliorer le sommeil
- Améliorer la circulation
- Soulager les troubles féminins liés au syndrome prémenstruel
- Soulager les troubles féminins liés à la ménopause
- Autre

**Si Autre, précisez :** \_\_\_\_\_

Comblar des besoins particuliers :

- Liés à votre activité physique or sportive
- Liés à une grossesse ou allaitement
- Compléter des apports alimentaires insuffisants liés à un régime alimentaire particulier
- Compléter des apports alimentaires que je pense inadaptes (hors régime particulier)
- Autre

**Si Autre, précisez :** \_\_\_\_\_

Améliorer mon apparence ou mes performances :

- Perdre du poids
- Agir sur ma silhouette
- Grossir
- Entretenir ma beauté/mon apparence (ongles, peau, cheveux, bronzage...)
- Améliorer mes performances intellectuelles (concentration, mémoire, etc.)
- Améliorer mes performances sexuelles
- Rester jeune
- Mieux vieillir
- Autre

**Si Autre, précisez :** \_\_\_\_\_

**NOM DU PRODUIT 2 :** \_\_\_\_\_  
*Etc...*

**NOM DU PRODUIT 3 :** \_\_\_\_\_  
*Etc...*

**NOM DU PRODUIT 4 :** \_\_\_\_\_  
*Etc...*

**NOM DU PRODUIT 5 :** \_\_\_\_\_  
*Etc...*

**NOM DU PRODUIT 6 :** \_\_\_\_\_  
*Etc...*

**NOM DU PRODUIT 7 :** \_\_\_\_\_  
*Etc...*

<b>Votre consommation actuelle de médicaments</b>
---

**Quels sont les médicaments (hors compléments alimentaires) que vous prenez en ce moment ? :**

*(Indiquez tous les traitements que vous prenez en ce moment : anti-cancer, anti-cholestérol, antihypertenseur, pilule, etc.)*

**MEDICAMENT 1 :** \_\_\_\_\_

*N'oubliez pas d'indiquer le dosage lorsque celui-ci fait partie du nom (Exemple : Tamoxifène 20mg).*

**MEDICAMENT 2 :** \_\_\_\_\_

*N'oubliez pas d'indiquer le dosage lorsque celui-ci fait partie du nom (Exemple : Tamoxifène 20mg).*

**MEDICAMENT 3 :** \_\_\_\_\_

*N'oubliez pas d'indiquer le dosage lorsque celui-ci fait partie du nom (Exemple : Tamoxifène 20mg).*

**MEDICAMENT 4 :** \_\_\_\_\_

*N'oubliez pas d'indiquer le dosage lorsque celui-ci fait partie du nom (Exemple : Tamoxifène 20mg).*

**MEDICAMENT 5 :** \_\_\_\_\_

*N'oubliez pas d'indiquer le dosage lorsque celui-ci fait partie du nom (Exemple : Tamoxifène 20mg).*

**MEDICAMENT 6 :** \_\_\_\_\_

*N'oubliez pas d'indiquer le dosage lorsque celui-ci fait partie du nom (Exemple : Tamoxifène 20mg).*

**MEDICAMENT 7 :** \_\_\_\_\_

*N'oubliez pas d'indiquer le dosage lorsque celui-ci fait partie du nom (Exemple : Tamoxifène 20mg).*

**MEDICAMENT 8 :** \_\_\_\_\_

*N'oubliez pas d'indiquer le dosage lorsque celui-ci fait partie du nom (Exemple : Tamoxifène 20mg).*

**MEDICAMENT 9 :** \_\_\_\_\_

*N'oubliez pas d'indiquer le dosage lorsque celui-ci fait partie du nom (Exemple : Tamoxifène 20mg).*

**MEDICAMENT 10 :** \_\_\_\_\_

*N'oubliez pas d'indiquer le dosage lorsque celui-ci fait partie du nom (Exemple : Tamoxifène 20mg).*

## Autres compléments alimentaires consommés après le diagnostic de votre cancer

Indiquez le nom des autres compléments alimentaires qu'il vous est arrivé de consommer **DEPUIS LE DIAGNOSTIC DE VOTRE CANCER** (mais que vous ne consommez pas en ce moment)

**NOM du produit 1 :** \_\_\_\_\_

*N'oubliez pas d'indiquer le dosage lorsque celui-ci fait partie du nom (Exemple : Vitamine C 500 mg). Si vous ne vous souvenez plus du nom du produit, essayez de décrire brièvement son contenu (Exemple : « vitamine B6 et magnésium »).*

**MARQUE du produit 1 :** \_\_\_\_\_

*(Exemple : Juvamine)*

**FORME de présentation du produit 1 :**

- Comprimé
- Gélule
- Ampoule
- Capsule
- Sachet de poudre
- Cuillère à café de poudre
- Cuillère à soupe de poudre
- Cuillère à café de sirop ou liquide
- Cuillère à soupe de sirop ou liquide
- Autre présentation (dosette, bouchon, « 15 ml », pulvérisation, etc.)

**Précisez :** \_\_\_\_\_

**SUR 1 ANNEE, COMBIEN DE JOURS ENVIRON avez-vous consommé ce produit ?**

*(même si vous n'êtes pas sûr(e) du chiffre précis, mettez l'approximation qui vous semble la plus réaliste)*

|\_|\_|\_| jours

**En général, les jours où vous avez consommé ce produit, COMBIEN D'UNITES (gélule, comprimé, ampoule, cuillère, etc.) en prenez-vous ?**

|\_|\_| unités par jour de consommation

*(Vous avez déclaré précédemment une forme de présentation pour ce produit (comprimé ou cuillère à café de poudre ou ampoule, etc.). Indiquez ici le nombre d'unités correspondant à cette forme de présentation. Par exemple, si vous avez déclaré que le produit se présentait sous forme de cuillère à café de liquide, combien de cuillères à café en prenez-vous en général, les jours où vous avez consommé ce produit.*

*Si les quantités sont variables d'un jour à l'autre, merci d'indiquer une valeur moyenne.*

**Pendant combien de temps avez-vous consommé ce complément alimentaire (même de manière occasionnelle ou sous forme de cures) :**

- Moins d'un an
- 1-2 ans
- 3-5 ans
- 5-10 ans
- Plus de 10 ans

**Prenez-vous déjà ce produit avant le diagnostic de votre cancer ?**

- Oui
- Non

**Un des médecins qui vous suit (généraliste, oncologue, autre) était-il au courant que vous consommiez ce produit ?**

- Oui
- Non

**Pour quelle(s) raison(s) :**  
(plusieurs réponses possibles)

- le médecin n'a pas besoin d'être au courant
- le médecin ne l'a jamais demandé
- le médecin ne pourrait pas comprendre
- le médecin désapprouverait

**Avez-vous acheté ce produit ...**  
(plusieurs réponses possibles)

- Sur prescription médicale (c'est-à-dire sur ordonnance)
- Sur conseil d'un médecin (sans ordonnance)
- Sur conseil d'un pharmacien
- Sur conseil d'un diététicien
- Sur conseil d'un autre professionnel de santé
- Sur conseil d'un professionnel de l'activité physique ou sportive
- Sur un conseil reçu en magasin (hors pharmacie)
- Sur conseil d'un parent, ami ou proche
- Sur conseil d'un autre patient
- Parce que vous avez vu une publicité
- Parce que vous en avez entendu parler dans un livre
- Parce que vous en avez entendu parler dans les médias
- Parce que vous avez découvert le produit par vous-même en magasin ou sur Internet et que ses caractéristiques vous ont incité à l'acheter (prix, composition, présentation, allégation santé, etc.)
- Autre

**Si vous l'avez acheté sur prescription médicale, précisez quel type de médecin** (généraliste, oncologue, médecin homéopathe, etc.) : \_\_\_\_\_

**Si vous l'avez acheté sur conseil d'un médecin, précisez quel type de médecin** (généraliste, oncologue, médecin homéopathe, etc.) : \_\_\_\_\_

**Si vous l'avez acheté sur conseil d'un autre professionnel de santé, précisez quel type de professionnel :** \_\_\_\_\_

**Si vous l'avez acheté sur un conseil reçu en magasin, précisez quel magasin :** \_\_\_\_\_

**Si vous en avez entendu parler dans un livre, précisez quel livre:** \_\_\_\_\_

**Si vous en avez entendu parler dans les médias, précisez quels médias** (reportage à la TV, article dans un magazine, etc) : \_\_\_\_\_

**Si Autre, précisez** \_\_\_\_\_

**Dans quel(s) but(s) consommez-vous ce produit ?**  
(plusieurs réponses possibles)

Lutter contre le cancer :

- Contrôler ma maladie
- Lutter contre les récives
- Atténuer les symptômes
- Atténuer les effets secondaires des traitements
- Autre

**Si vous le consommez pour atténuer les effets secondaires des traitements, précisez** (nausées, troubles digestifs, etc.): \_\_\_\_\_

**Si Autre, précisez** \_\_\_\_\_

Autres raisons de santé (non directement liées au cancer et à son traitement) :

- Résoudre ou lutter contre un autre problème de santé particulier (hors cancer)
- Prévenir les maladies en général
- Renforcer les défenses de l'organisme

Autre

**Si c'est pour résoudre ou lutter contre un autre problème de santé particulier (hors cancer), précisez lequel :** \_\_\_\_\_

**Si Autre, précisez** \_\_\_\_\_

Améliorer mon bien-être au quotidien :

- Lutter contre la fatigue
- Combattre le stress
- Faciliter la digestion, le confort intestinal
- Améliorer le sommeil
- Améliorer la circulation
- Soulager les troubles féminins liés au syndrome prémenstruel
- Soulager les troubles féminins liés à la ménopause
- Autre

**Si Autre, précisez :** \_\_\_\_\_

Comblé des besoins particuliers :

- Liés à votre activité physique or sportive
- Liés à une grossesse ou allaitement
- Compléter des apports alimentaires insuffisants liés à un régime alimentaire particulier
- Compléter des apports alimentaires que je pense inadaptés (hors régime particulier)
- Autre

**Si Autre, précisez :** \_\_\_\_\_

Améliorer mon apparence ou mes performances :

- Perdre du poids
- Agir sur ma silhouette
- Grossir
- Entretenir ma beauté/mon apparence (ongles, peau, cheveux, bronzage...)
- Améliorer mes performances intellectuelles (concentration, mémoire, etc.)
- Améliorer mes performances sexuelles
- Rester jeune
- Mieux vieillir
- Autre

**Si Autre, précisez :** \_\_\_\_\_

**NOM DU PRODUIT 2 :** \_\_\_\_\_

*Etc...*

**NOM DU PRODUIT 3 :** \_\_\_\_\_

*Etc...*

**NOM DU PRODUIT 4 :** \_\_\_\_\_

*Etc...*

**NOM DU PRODUIT 5 :** \_\_\_\_\_

*Etc...*

**NOM DU PRODUIT 6 :** \_\_\_\_\_

*Etc...*

**NOM DU PRODUIT 7 :** \_\_\_\_\_

*Etc...*



NOM DU PRODUIT 8 : \_\_\_\_\_

*Etc...*

NOM DU PRODUIT 9 : \_\_\_\_\_

*Etc...*

NOM DU PRODUIT 10 : \_\_\_\_\_

*Etc...*

<b>Modification de la prise de compléments alimentaires avant / après diagnostic du cancer</b>
--

**Le diagnostic de votre cancer a-t-il eu une influence sur votre prise de compléments alimentaires ?**

- Non, je n'en prenais pas avant, et je n'en prends toujours pas
- Non, je prenais des compléments alimentaires avant et je continue à consommer les mêmes depuis le diagnostic
- Oui, je ne consommait pas de compléments alimentaires avant et j'ai commencé à en prendre depuis le diagnostic
- Oui, je consommait des compléments alimentaires avant, et j'en consomme d'autres différents depuis le diagnostic
- Oui, je consommait des compléments alimentaires avant et j'ai arrêté depuis le diagnostic

<b>COMMENTAIRES</b>
---------------------

*Si vous pensez que votre situation n'est prise en compte que partiellement dans ce questionnaire, nous vous proposons de nous préciser ci-dessous les informations supplémentaires qui nous permettront de mieux traiter vos réponses (500 caractères maximum)*

**Merci beaucoup d'avoir pris le temps de répondre à ce questionnaire et merci pour votre participation à l'étude NutriNet-Santé !**

**1. NutriNet-Santé et vous**

**Où consultez-vous le plus souvent le site Internet de l'étude NutriNet-Santé ?**

*(Plusieurs réponses possibles)*

- A votre domicile
- Sur votre lieu de travail
- Au lycée, à l'université
- Chez des membres de votre famille, des amis, des voisins
- Dans un endroit public (cybercafé, bibliothèque, gare, hôtel, dans la rue, etc.)
- Dans les transports
- Autre, Précisez : \_\_\_\_\_

**À quelle fréquence consultez-vous le site de l'étude NutriNet-Santé ?**

- 2-3 fois par semaine ou plus
- 1 fois par semaine
- 2-3 fois par mois
- 1 fois par mois
- 1 fois par trimestre
- 2 fois par an
- 1 fois par an
- Moins d'une fois par an

**À quel moment de la journée consultez-vous le plus souvent le site de l'étude NutriNet-Santé ?**

- Le matin
- Entre midi et 14h
- L'après-midi
- Le soir / la nuit

**Quand consultez-vous le plus souvent le site de l'étude NutriNet-Santé ?**

- En semaine
- Le weekend

**Concernant le site Internet de l'étude NutriNet-Santé, diriez-vous que :**

L'utilisation générale du site est facile ?

- Tout à fait d'accord     Plutôt d'accord     Plutôt pas d'accord     Pas du tout d'accord

L'interface du site est conviviale ?

- Tout à fait d'accord     Plutôt d'accord     Plutôt pas d'accord     Pas du tout d'accord

Les rubriques d'information sont intéressantes ? (Actualités NutriNet-Santé, Les tribus Nutrinautes, ...)

- Tout à fait d'accord     Plutôt d'accord     Plutôt pas d'accord     Pas du tout d'accord
- Je ne consulte pas ces rubriques

**Que pensez-vous de la fréquence d'envoi des questionnaires NutriNet-Santé ?**

- La fréquence actuelle (environ une fois par mois) me convient
- Je reçois trop de questionnaires
- J'aimerais recevoir des questionnaires plus souvent

**Que pensez-vous de la fréquence d'envoi des lettres d'information NutriNet-Santé, hors questionnaires (informations sur les dernières publications scientifiques, les conférences de presse, etc.)?**

- La fréquence actuelle (environ une fois tous les deux mois) me convient
- Je reçois des lettres d'information NutriNet-Santé trop souvent
- J'aimerais recevoir des lettres d'information sur l'étude NutriNet-Santé plus souvent

*Depuis votre inscription à l'étude, vous avez rempli à l'inclusion et aux dates d'anniversaires, cinq questionnaires concernant vos caractéristiques socio-démographiques et votre mode de vie, votre état de santé, vos mesures anthropométriques (poids, taille...), votre activité physique et votre alimentation (journées d'enquête).*

**Parmi les questionnaires anniversaires, lequel préférez-vous ?**

*(Une seule réponse possible)*

- Socio-démographique et mode de vie
- Anthropométrique (poids, taille, etc.)
- Santé
- Activité physique
- Enquêtes alimentaires

**Veillez estimer la durée de remplissage pour chacun des questionnaires ci-dessous :**

*(Si vous ne vous souvenez pas, merci d'indiquer une valeur approximative en minutes)*

Socio-démographique et mode de vie	_ _  minutes
Anthropométrique	_ _  minutes
Santé	_ _  minutes
Activité physique	_ _  minutes
1 journée d'enquête alimentaire	_ _  minutes

**Quelle est la fréquence maximale qui vous semblerait acceptable pour le remplissage des questionnaires NutriNet-Santé ?**

*(Une seule réponse possible)*

- 1 questionnaire par semaine
- 1 questionnaire tous les 15 jours
- 1 questionnaire par mois
- 1 questionnaire tous les 3 mois
- 1 questionnaire tous les 6 mois
- 1 questionnaire par an

**Pour vous, quelle est la durée maximale acceptable pour le remplissage d'un questionnaire NutriNet-Santé ?**

|\_|\_| heures |\_|\_| minutes

**Auriez-vous participé à cette étude, si elle utilisait un autre support qu'Internet (questionnaires papier à renvoyer par la poste, entretiens téléphoniques, rendez-vous directs avec un enquêteur) ?**

- Oui, probablement

- Non, je ne pense pas
- Je ne sais pas

**Préféreriez-vous être contacté autrement que par Internet dans le cadre de votre participation à l'étude NutriNet-Santé ?**

*(Plusieurs réponses possibles)*

- Oui, par courrier postal
- Oui, par téléphone
- Oui, lors d'un rendez-vous privé avec un membre du personnel de l'étude
- Oui, lors d'une réunion de Nutrinautes animée par le personnel de l'étude
- Non, le mode actuel de communication (par Internet) me convient mieux

**Si une application de l'étude NutriNet-Santé était développée pour smartphones, tablettes, etc., seriez-vous intéressé par son utilisation ?**

- Oui
- Non
- Je ne sais pas

<b>2. Vos compétences en informatique</b>
---

**Comment qualifiez-vous votre pratique en informatique ?**

- Faible - Inexpérimenté(e)
- Plutôt faible - Débutant(e)
- Plutôt bonne - Avancé(e)
- Bonne - Expert(e)

**Savez-vous ... ?**

*(Plusieurs réponses possibles)*

- Copier ou déplacer un fichier ou un répertoire
- Utiliser l'outil copier/coller à l'intérieur d'un document
- Utiliser les formules arithmétiques basiques dans un tableur (Excel, Open Office Calc, etc.)
- Utiliser les raccourcis clavier (CTRL+C, CTRL+V, CTRL+X, etc.)
- Compresser/décompresser (ou zipper) des fichiers
- Installer de nouveaux périphériques (modem, imprimante, scanner, webcam, etc.)
- Écrire un programme en langage informatique (C, C++, PHP, HTML, Java, etc.)
- Graver ou copier un CD/DVD
- Transférer des fichiers entre votre ordinateur et des périphériques (appareil photo numérique, clé USB, téléphone portable, lecteur MP3, etc.)
- Modifier ou vérifier les paramètres de configuration d'un logiciel
- Créer un diaporama sur PowerPoint ou sur un autre logiciel équivalent
- Installer ou mettre à jour un système d'exploitation (Windows XP, Windows Vista, Windows 7, Windows 8, Mac Os, Linux)
- Mettre à niveau un ordinateur (fixe ou portable) en changeant le disque dur ou la mémoire vive (RAM)

**Comment avez-vous appris à utiliser un ordinateur?**

*(Plusieurs réponses possibles)*

- Lors de votre cursus scolaire ou universitaire
- En prenant des cours pour adultes (sans que votre employeur ne vous le demande)
- En suivant une formation à la demande de votre employeur

- En vous informant dans des livres, des cd-rom, des cours sur Internet ou des forums
- En pratiquant et en apprenant tout(e) seul(e)
- En demandant à des collègues de travail, à des amis ou à votre famille
- En utilisant un ordinateur régulièrement depuis mon enfance (jeux vidéo, etc.)
- D'une autre façon **Précisez :** \_\_\_\_\_

### **Depuis combien de temps utilisez-vous un ordinateur ?**

*(Si vous ne vous souvenez pas, merci d'indiquer une durée approximative)*

- Depuis moins d'1 an
- Depuis 1-5 ans
- Depuis 6-10 ans
- Depuis 11-20 ans
- Depuis plus de 20 ans

## 3. Vos compétences en utilisation d'Internet

### **Comment qualifiez-vous votre niveau de compétence en utilisation d'Internet ?**

- Faible - Inexpérimenté(e)
- Plutôt faible - Débutant(e)
- Plutôt bonne - Avancé(e)
- Bonne - Expert(e)

### **Savez-vous ... ?**

*(Plusieurs réponses possibles)*

- Utiliser un moteur de recherche (Google, Yahoo, Bing, etc.)
- Envoyer/recevoir des e-mail
- Envoyer des e-mails avec des fichiers en pièces jointes (document, photo, etc.)
- Poster des messages dans un forum de discussion en ligne ou lors d'un « chat »
- Téléphoner en vous connectant à Internet (Skype, Yahoo Messenger, Google Talk, etc.)
- Utiliser un logiciel de messagerie instantanée (Yahoo, Facebook, Skype, Windows Messenger, Google Talk, Trillian, etc.)
- Télécharger des films, de la musique, des jeux, etc.
- Créer et gérer un blog
- Créer et gérer un site web
- Mettre en ligne des textes, des jeux, des photos, des films ou de la musique (sur des réseaux sociaux comme Facebook ou Twitter par exemple)
- Remplir en ligne des formulaires administratifs (caf, déclaration d'impôts, etc.)
- Modifier les règles de sécurité de votre navigateur Internet
- Acheter ou vendre des biens et services sur des sites en ligne

### **En général, où avez-vous accès à Internet?**

*(Plusieurs réponses possibles)*

- A votre domicile
- Sur votre lieu de travail
- Au lycée, à l'université
- Chez des membres de votre famille, des amis, des voisins
- Dans un endroit public (cybercafé, bibliothèque, gare, hôtel, dans la rue, etc.)
- Dans les transports
- Autre , **Précisez :** \_\_\_\_\_

### **En général, utilisez-vous Internet lorsque vous partez en vacances ?**

- Oui, régulièrement
- Oui, épisodiquement
- Non

**Quel(s) appareil(s) utilisez-vous le plus souvent pour vous connecter à Internet ?**

*(Plusieurs réponses possibles)*

- Ordinateur fixe ('de bureau')
- Ordinateur portable
- Tablette tactile (iPad, Samsung Galaxy tab, Playbook, etc.)
- Smartphone
- Ordinateur de poche (type PALM) ou PDA
- Autre, Précisez : \_\_\_\_\_

**Le plus souvent, votre connexion à Internet est-elle ... ?**

- Une connexion à bas débit à l'aide d'un modem (réseau téléphonique classique)
- Une connexion à bas débit sur un téléphone portable (WAP, GPRS)
- Une connexion à haut débit par l'ADSL
- Une connexion à haut débit par le câble, la fibre optique
- Une connexion à haut débit sans fil, de type Wi-fi ou Wimax
- Une connexion à haut débit mobile et sans fil (réseaux 3G/4G, téléphone portable équipé de l'UMTS)
- Autre Précisez : \_\_\_\_\_
- Je ne sais pas

**À quelle fréquence utilisez-vous Internet ?**

- Tous les jours
- 2-6 jours par semaine
- 1 jour par semaine
- 2-3 jours par mois
- 1 jour par mois
- Moins d'1 fois par mois

**En moyenne, combien de temps utilisez-vous Internet par jour (pour des raisons personnelles et professionnelles) ?**

*(Si vous ne vous souvenez pas, merci d'indiquer une valeur approximative)*

Durant une journée de travail |\_\_|\_\_| heures |\_\_|\_\_| minutes  
 Durant votre temps de loisirs, les jours où vous travaillez |\_\_|\_\_| heures |\_\_|\_\_| minutes  
 Durant votre temps de loisirs, les jours où vous ne travaillez pas |\_\_|\_\_| heures |\_\_|\_\_| minutes

**Quel navigateur Internet utilisez-vous le plus souvent ?**

- Mozilla Firefox
- Google Chrome
- Internet Explorer
- Opera
- Safari
- Autre Précisez : \_\_\_\_\_
- Je ne sais pas

**À quelle fréquence utilisez-vous Internet pour participer à des réseaux sociaux (Facebook, Twitter, etc.) ?**

- Jamais     Rarement     Souvent     Très souvent

**Quels réseaux sociaux utilisez-vous ?**

*(Plusieurs réponses possibles)*

- Facebook
- Google+
- Twitter
- LinkedIn
- MySpace
- Instagram
- Viadeo
- Autre, Précisez : \_\_\_\_\_
- Aucun

**Durant les 12 mois précédents, avez-vous utilisé internet pour... ? :**

*(Plusieurs réponses possibles)*

- Rechercher des informations sur la santé et/ou la nutrition
- Acheter des compléments alimentaires en ligne
- Communiquer (par e-mail ou Internet) avec un médecin ou un autre professionnel de santé
- Lire ou poster des messages sur un forum santé et/ou nutrition
- Utiliser un site Internet de type coaching pour votre santé et/ou votre alimentation (nutrition, poids, activité physique, arrêt du tabac, etc.)
- Rechercher un professionnel de santé

**Durant les 12 mois précédents, avez-vous discuté avec un professionnel de santé (médecin, diététicien, etc.) des informations sur la santé et/ou sur la nutrition que vous avez trouvées sur Internet ?**

- Oui
- Non

**Y a-t-il un site Internet en particulier que vous utilisez pour rechercher de l'information dans le domaine de santé et/ ou de la nutrition ?**

- Oui, Précisez : \_\_\_\_\_
- Non

<b>4. Commentaires</b>
------------------------

Si vous pensez que votre situation n'est prise en compte que partiellement dans ce questionnaire, nous vous proposons de nous préciser ci-dessous les informations supplémentaires qui nous permettront de mieux traiter vos réponses (500 caractères maximum)

**Merci beaucoup d'avoir pris le temps de répondre à ce questionnaire et merci pour votre participation à l'étude NutriNet-Santé !**

## **Résumé : Compléments alimentaires : consommation et facteurs associés en population générale et dans des groupes spécifiques – modulation du risque de cancer**

Cette thèse s'articule autour de 3 parties. Dans la première (épidémiologie descriptive), nous avons évalué, sur un large échantillon d'adultes français (cohorte NutriNet-Santé), la prise de compléments alimentaires et les facteurs associés en population générale et dans des groupes spécifiques (fumeurs, femmes enceintes, sujets atteints de cancer). La prise de compléments, souvent en automédication, était très répandue, en particulier chez les femmes enceintes et les sujets atteints de cancer. Nos travaux suggèrent que les pratiques « à risque » de consommation de compléments alimentaires étaient loin d'être négligeables dans certains groupes.

Dans la seconde partie (épidémiologie étiologique), nous avons mis en évidence, pour la première fois, un potentiel effet modulateur d'une supplémentation en antioxydants (essai randomisé SU.VI.MAX) sur les relations prospectives entre consommation de charcuteries et risque de cancer du sein d'une part et taux d'acides gras plasmatiques et risque de cancer (toutes localisations et du sein) d'autre part, en cohérence avec les études mécanistiques. Nos résultats suggèrent que les antioxydants pourraient contrecarrer certains effets potentiellement pro-cancérigènes des charcuteries sur le risque de cancer du sein, et pourraient modifier les associations acides gras – cancer en s'opposant aux effets potentiels des acides gras sur la carcinogénèse.

Enfin, la troisième partie de ma thèse a consisté en des travaux méthodologiques transversaux en e-épidémiologie portant sur les compétences informatiques des participants à la web-cohorte NutriNet-Santé. Ces travaux méthodologiques sont nécessaires à la bonne conduite des études épidémiologiques descriptives ou étiologiques en e-épidémiologie nutritionnelle.

Les résultats de cette thèse soulignent l'importance de la prise en compte des consommations de compléments alimentaires en épidémiologie et contribuent plus généralement à une meilleure connaissance de l'étiologie des cancers. Ils permettront, à terme, d'améliorer les recommandations en matière de prévention nutritionnelle des cancers.

**Mots-clés:** Compléments alimentaires ; fumeurs ; femmes enceintes ; patients atteints de cancer ; risque de cancer ; cancer du sein ; supplémentation en antioxydants ; viandes rouges ; charcuteries ; acides gras plasmatiques ; caroténoïdes plasmatiques ; interaction ; e-épidémiologie ; études prospectives.

**Abstract: Dietary supplement use in the general population and in specific subgroups - modulation of cancer risk.**

This thesis is structured in three parts. In the first part (descriptive epidemiology), we assessed dietary supplement use and associated factors in the general population and in specific subgroups (smokers, pregnant women and cancer survivors) of a large sample of French adults (the NutriNet-Santé cohort). Dietary supplement use was widespread, often in self-medication, particularly in pregnant women and in cancer survivors. Our findings suggest that the frequency of risky practices of dietary supplement use were substantial in several subgroups.

In the second part (etiologic epidemiology), we highlighted, for the first time, a potential modulatory effect of an antioxidant supplementation (SU.VI.MAX. trial) on prospective relationships between processed meat intake and breast cancer risk and between levels of plasma fatty acids and cancer risk (overall and breast), in line with mechanistic studies. Our results suggest that antioxidants may counteract the potential pro-carcinogenic effects of processed meat on breast cancer risk and may modify associations between fatty acids and cancer risk by counteracting the potential effects of these fatty acids on carcinogenesis.

Finally, the third part of my thesis pertained to a methodological work in the field of e-epidemiology, related to computer literacy of participants of the NutriNet-Santé web-cohort. These results will be useful for optimizing descriptive and etiologic epidemiological studies in nutritional e-epidemiology.

Overall, these PhD findings underline the importance of taking into account dietary supplement use in epidemiological studies and contribute to a better understanding of cancer etiology. More generally, they will also contribute to optimize nutritional recommendations for primary cancer prevention.

**Discipline:** Epidémiologie et Santé Publique

### **Laboratoire d'Accueil :**

Equipe de Recherche en Epidémiologie Nutritionnelle (EREN)  
UMR U1153 Inserm/U1125 Inra/Cnam/Universités Paris 5,7 et 13  
Centre de Recherche en Epidémiologie et Biostatistiques - Sorbonne Paris Cité  
UFR SMBH, 74 rue Marcel Cachin, 93017 Bobigny, France