



**HAL**  
open science

# Prise de complément en vitamine D ou C et risque de cancer du sein dans la cohorte E3N

Claire Cadeau

► **To cite this version:**

Claire Cadeau. Prise de complément en vitamine D ou C et risque de cancer du sein dans la cohorte E3N. Santé publique et épidémiologie. Université Paris Saclay (COmUE), 2016. Français. NNT : 2016SACLS260 . tel-01647219

**HAL Id: tel-01647219**

**<https://theses.hal.science/tel-01647219>**

Submitted on 24 Nov 2017

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

NNT : 2016SACLS260

**Thèse de doctorat**  
**de**  
**L'Université Paris-Saclay**  
**préparée à**  
**l'Université Paris-sud**

Ecole Doctorale n° 570  
EDSP Santé publique

Spécialité de doctorat : Santé Publique - Epidémiologie

Par

**Claire CADEAU**

Relations entre prise de complément en vitamine D ou en vitamine C et risque de cancer du sein après la ménopause dans la cohorte E3N

**Thèse présentée et soutenue à Villejuif, le 21 septembre 2016**

**Composition du Jury :**

Dr Pascal GUENEL  
Pr Irène MARGARITIS  
Dr Mathilde TOUVIER  
Dr Isabelle ROMIEU  
Dr Suzette DELALOGUE  
Dr Marie-Christine BOUTRON-RUAULT

Directeur de Recherche, Inserm  
Chef de l'UERN, Anses  
Chargée de Recherche, Inserm  
Scientifique, CIRC  
Oncologue, Gustave Roussy  
Directrice de Recherche, Inserm

Président  
Rapporteuse  
Rapporteuse  
Examinatrice  
Examinatrice  
Directrice de thèse

**Titre :** Relations entre prise de complément en vitamine D ou en vitamine C et risque de cancer du sein après la ménopause dans la cohorte E3N

**Mots clés :** vitamine D, vitamine C, compléments alimentaires, cancer du sein

**Résumé :** Les compléments alimentaires sont de plus en plus consommés depuis le début des années 2000 en France. Cependant, l'effet de la prise de complément alimentaire sur la santé, notamment à long terme, n'est pas clairement établi. Les compléments en vitamine D et en vitamine C font partie des compléments les plus consommés en France, et à des doses généralement beaucoup plus élevées que celles apportées par l'alimentation. Plusieurs études expérimentales suggèrent que la vitamine D et la vitamine C pourraient avoir une influence sur le risque de cancer du sein, le cancer actuellement le plus fréquent chez la femme dans le monde. Cependant, les études épidémiologiques disponibles ne permettent pas de conclure sur cette relation. L'objectif de cette thèse était d'étudier la relation entre la prise de complément en vitamine D ou en vitamine C et le risque de cancer du sein dans la cohorte E3N à partir de données répétées sur la prise de complément alimentaire, et d'étudier si cette relation pourrait être influencée par l'ancienneté de la prise de complément alimentaire et par de potentielles interactions avec certains facteurs spécifiques liés au mode de vie. La prise de complément alimentaire a été estimée à partir de plus de 55 000 femmes ménopausées de la cohorte E3N suivies entre 1995 et 2008.

Nous avons observé que la prise de complément en vitamine D pourrait réduire l'augmentation de risque de cancer du sein associée à la prise de traitement hormonal de la ménopause, mais pourrait être délétère chez les femmes ménopausées n'ayant jamais utilisé de traitement hormonal de la ménopause et n'étant pas en surpoids, et donc étant peu exposées aux hormones. Concernant la prise de complément en vitamine C, nous avons observé une augmentation de risque chez les femmes ayant déjà des apports alimentaires en vitamine C élevés, alors que des apports alimentaires en vitamine C élevés étaient associés à une diminution de risque chez les non-utilisatrices de complément en vitamine C. Nos résultats ont un impact potentiel en termes de santé publique, mais devront d'abord être confirmés par des études ayant des données répétées et quantitatives sur la prise de complément alimentaire. Néanmoins, ces résultats appellent à la prudence quant à l'utilisation de compléments alimentaires tels que la vitamine C en l'absence de déficience nutritionnelle avérée.

**Title:** Relations between vitamin D or vitamin C supplement use and postmenopausal breast cancer risk in the E3N cohort

**Keywords:** vitamin D, vitamin C, dietary supplements, breast cancer

**Abstract:** The use of dietary supplements has been steadily increasing since the early 2000s. However, little is known on the effect, especially the long-term effect, of dietary supplement use on health. Single vitamin D and vitamin C supplements are widely consumed in France, at doses that generally largely exceed dietary intakes. Experimental studies have suggested potential effects of vitamin D and vitamin C on breast cancer risk, the currently most common cancer in women worldwide. However, data from epidemiologic studies are still inconclusive. The objective of this project was to investigate the relationship between vitamin D or vitamin C supplement use and breast cancer risk in the E3N cohort using regularly updated data on dietary supplement use, and to investigate a potential effect modification by recency of dietary supplement use and by other specific lifestyle factors. The use of dietary supplements has been estimated using data collected from 55 000 postmenopausal women of the E3N cohort followed between 1995 and 2008.

We observed that vitamin D supplement use could reduce the increased risk of breast cancer associated with menopausal hormone therapy use, but could be associated with an increased breast cancer risk in women with low hormonal exposure, i.e. postmenopausal women who never used menopausal hormone therapy and are not overweight. Concerning vitamin C supplement use, we observed an increased risk of breast cancer in women who already had high dietary vitamin C intakes, while high dietary vitamin C intake was associated with a decreased risk in vitamin C supplement nonusers. Our results have a potential public health impact, but must be first confirmed by further studies with repeated and quantitative data on dietary supplement use. However, caution can already be advocated towards using dietary supplements such as vitamin C in the absence of clear deficiency in these nutrients.

## REMERCIEMENTS

---

Je remercie chaleureusement Françoise Clavel-Chapelon de m'avoir accueillie dans son laboratoire et Marie-Christine Boutron-Ruault de m'avoir donné la possibilité de travailler sur un sujet passionnant et pour ses précieux conseils. Marie-Christine, j'ai énormément appris à vos côtés ! Je vous adresse toute ma reconnaissance pour votre implication tout au long de ma thèse et pour votre soutien pour mon projet de post-doctorat.

Je remercie vivement les membres de mon jury de thèse. Merci au Professeur Irène Margaritis et au Docteur Mathilde Touvier d'avoir accepté la charge de rapporteure, et au Docteur Isabelle Romieu ainsi qu'au Docteur Suzette Delalogue d'avoir accepté d'être examinatrices. Merci au Docteur Pascal Guénel d'avoir accepté de présider ce jury. C'est un honneur de vous avoir dans mon jury et je suis particulièrement ravie du fait que vous aurez chacun un regard différent, d'épidémiologiste, de cancérologue, ou de responsable de santé publique sur cette thèse.

Merci à Agnès Fournier, Guy Fagherazzi et Sylvie Mesrine qui ont activement participé à ce projet de recherche. Merci pour leur disponibilité et leurs précieux conseils. Je leur en suis extrêmement reconnaissante.

Je remercie Josiane Warszawski et Marie-Cécile Le Deley pour leur écoute et pour m'avoir donné la chance d'enseigner dans de très bonnes conditions.

Merci à l'Ecole Doctorale de Santé Publique et à la Fondation de France d'avoir financé ce projet et de m'avoir permis de réaliser cette thèse dans de bonnes conditions.

Je remercie toute l'équipe E3N pour l'ambiance chaleureuse qui illumine notre sous-sol et pour le travail de chacun, sans qui cette thèse n'aurait pas été possible.

Je remercie en particulier Rafika et Ghislaine pour l'énergie déployée à valider les cas de cancer. Merci aux personnes qui s'occupent de trier et numériser les questionnaires et à toute la formidable équipe de data-managers. Merci à Marie pour son travail auprès des femmes E3N, à Lyan et à Maxime qui assurent le bon fonctionnement du parc informatique.

Je remercie chaleureusement Maryvonne et Audrey Bourgois, pour leur soutien administratif sans faille et toujours avec la sourire, et Fabienne, Laureen, Gaëlle, Marina et Pascale pour leur disponibilité et leurs précieux conseils.

Merci aux doctorants et ex-doctorants que j'ai eu la chance de croiser pour tous les bons moments passés ensemble ! Merci Florence, Laureen, Antoine, Aurélie, Mathilde, Isabelle, Courtney, et Nathalie !

Un GRAND merci aux femmes E3N. Nous n'oublions pas que derrière les chiffres se cachent des femmes qui ont pris de leur temps et de leur énergie pour remplir nos questionnaires pendant toutes ces années, et que certaines ont traversé des moments difficiles liés à la maladie.

Enfin, je remercie de tout cœur Henri et mes proches pour leur soutien tout au long de ce projet.



# TABLE DES MATIERES

---

<b>RESUME</b> .....	<b>ii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	Erreur ! Signet non défini.
<b>REMERCIEMENTS</b> .....	<b>iv</b>
<b>VALORISATION SCIENTIFIQUE</b> .....	<b>4</b>
1. ARTICLES ISSUS DES TRAVAUX DE THESE .....	4
2. COMMUNICATIONS SUR LES TRAVAUX DE THESE.....	4
2.1 <i>Communications affichées</i> .....	4
2.2 <i>Communications orales</i> .....	5
3. ENSEIGNEMENT .....	5
<b>LISTE DES TABLEAUX</b> .....	<b>6</b>
<b>LISTE DES FIGURES</b> .....	<b>8</b>
<b>LISTE DES ANNEXES</b> .....	<b>10</b>
<b>LISTE DES ABREVIATIONS ET ACRONYMES</b> .....	<b>11</b>
<b>INTRODUCTION GENERALE</b> .....	<b>14</b>
1. LE CANCER DU SEIN .....	15
1.1 <i>La cancérogénèse mammaire</i> .....	15
1.2 <i>Classification des tumeurs du sein</i> .....	15
1.3 <i>Epidémiologie descriptive</i> .....	16
1.4 <i>Facteurs de risque avérés de cancer du sein chez la femme</i> .....	21
2. LES COMPLEMENTES ALIMENTAIRES .....	27
2.1 <i>Définitions</i> .....	27
2.2 <i>Législation</i> .....	30
2.3 <i>Consommation de compléments alimentaires</i> .....	31
2.4 <i>Effets de la prise de complément alimentaire sur la santé</i> .....	44
3. OBJECTIFS DE CETTE THESE .....	46
<b>PRISE DE COMPLEMENT EN VITAMINE D ET RISQUE DE CANCER DU SEIN APRES LA MENOPAUSE</b> .....	<b>47</b>

1. CONTEXTE.....	48
1.1 Sources d'apport en vitamine D .....	48
1.2 Métabolisme de la vitamine D .....	50
1.3 Facteurs influençant le métabolisme de la vitamine D.....	53
1.4 Recommandations d'apport en vitamine D.....	60
1.5 Recommandations en 25-hydroxyvitamine D .....	63
1.6 Apports en vitamine D dans la population française.....	65
1.7 Vitamine D et risque de cancer du sein .....	67
1.8 Précédents travaux sur la vitamine D dans E3N.....	71
1.9 Objectifs de la thèse .....	71
2. METHODES .....	72
2.1 Présentation de la cohorte E3N.....	72
2.2 Population d'étude.....	76
2.3 Données utilisées .....	77
2.4 Analyses statistiques .....	91
3. RESULTATS .....	99
3.1 Analyses descriptives .....	99
3.2 Prise de complément en vitamine D et risque de cancer du sein après la ménopause.....	107
4. DISCUSSION .....	122
4.1 Comparaison avec les résultats des autres études épidémiologiques.....	123
4.2 Hypothèses biologiques .....	126
4.3 Forces et limites de l'étude .....	128
5. CONCLUSION .....	132

**PRISE DE COMPLEMENT EN VITAMINE C ET RISQUE DE CANCER DU SEIN  
APRES LA MENOPAUSE..... 134**

1. CONTEXTE.....	135
1.1 Sources d'apport en vitamine C.....	135
1.2 Métabolisme de la vitamine C.....	137
1.3 Facteurs influençant le métabolisme de la vitamine C.....	140
1.4 Recommandations d'apport en vitamine C.....	142
1.5 Apports en vitamine C dans la population française.....	145
1.6 Vitamine C et risque de cancer du sein .....	146
1.7 Objectifs de la thèse .....	147
2. METHODES .....	148

2.1	<i>Données utilisées</i> .....	148
2.2	<i>Analyses statistiques</i> .....	150
3.	<b>RESULTATS</b> .....	156
3.1	<i>Analyses descriptives</i> .....	156
3.2	<i>Prise de complément en vitamine C et risque de cancer du sein après la ménopause</i> .....	160
4.	<b>DISCUSSION</b> .....	169
4.1	<i>Comparaison avec les résultats des autres études épidémiologiques</i> .....	169
4.2	<i>Hypothèses biologiques</i> .....	170
4.3	<i>Forces et limites de l'étude</i> .....	176
5.	<b>CONCLUSION</b> .....	180
	<b>DISCUSSION GENERALE</b> .....	<b>181</b>
1.	<b>PRINCIPAUX RESULTATS</b> .....	182
1.1	<i>Prise de complément en vitamine D et risque de cancer du sein</i> .....	182
1.2	<i>Prise de complément en vitamine C et risque de cancer du sein</i> .....	182
2.	<b>PERSPECTIVES DE RECHERCHE</b> .....	183
2.1	<i>Confirmer et clarifier nos résultats</i> .....	183
2.2	<i>Reconsidérer les hypothèses traditionnellement testées en épidémiologie nutritionnelle</i> .....	184
2.3	<i>Défis à relever pour les études épidémiologiques sur les compléments alimentaires</i> .....	184
3.	<b>IMPACT EN TERMES DE SANTE PUBLIQUE</b> .....	187
	<b>CONCLUSION GENERALE</b> .....	<b>189</b>
	<b>BIBLIOGRAPHIE</b> .....	<b>193</b>
	<b>ANNEXES</b> .....	<b>212</b>

# VALORISATION SCIENTIFIQUE

---

## 1. ARTICLES ISSUS DES TRAVAUX DE THESE

Cadeau C, Fournier A, Mesrine S, Clavel-Chapelon F, Fagherazzi G, Boutron-Ruault MC. Interaction between current vitamin D supplementation and menopausal hormone therapy use on breast cancer risk: evidence from the E3N cohort. *Am J Clin Nutr* 2015 Oct;102:966-73.

Cadeau C, Fournier A, Mesrine S, Clavel-Chapelon F, Fagherazzi G, Boutron-Ruault MC. Vitamin C supplement intake and postmenopausal breast cancer risk: interaction with dietary vitamin C. *Am J Clin Nutr* 2016 Jul;104(1):228-34.

Cadeau C, Fournier A, Mesrine S, Clavel-Chapelon F, Fagherazzi G, Boutron-Ruault MC. Postmenopausal breast cancer risk and interactions between body mass index, menopausal hormone therapy use, and vitamin D supplementation: evidence from the E3N cohort. *Int J Cancer*. 2016 Jul 23. [Epub ahead of print].

## 2. COMMUNICATIONS SUR LES TRAVAUX DE THESE

### 2.1 *Communications affichées*

C.Cadeau, A.Fournier, I.Savoie, MC.Boutron-Ruault. Vitamin C supplement intake and postmenopausal breast cancer risk in French women: interaction with dietary vitamin C. Epidemiology Congress of the Americas, June 23, 2016. Miami, USA.

C.Cadeau, A.Fournier, I.Savoie, MC.Boutron-Ruault. Vitamin D supplementation, menopausal hormone therapy, and breast cancer risk in French women: effect modification by BMI. Epidemiology Congress of the Americas, June 22, 2016. Miami, USA.

C.Cadeau, A.Fournier, S.Mesrine, F.Clavel-Chapelon, G.Fagherazzi, MC.Boutron-Ruault. Vitamin D supplements may reduce MHT-associated breast cancer risk: evidence from the E3N cohort. IARC 50<sup>th</sup> Anniversary Conference, June 7-10, 2016. Lyon, France.

## 2.2 Communications orales

C.Cadeau, A.Fournier, S.Mesrine, F.Clavel-Chapelon, MC.Boutron-Ruault. Vitamin D G.Fagherazzi, supplementation and breast cancer risk in postmenopausal women: the E3N prospective study. VLAG course Diet and cancer: from prevention of survival, October 2, 2014, Wageningen, The Netherlands.

C.Cadeau, A.Fournier, S.Mesrine, F.Clavel-Chapelon, G.Fagherazzi, MC.Boutron-Ruault. Vitamin D, supplementation and breast cancer risk in postmenopausal women: the E3N prospective study. ADELFF-EPITER Congress, September 11, 2014. Nice, France.

C.Cadeau, S.Revois, A.Vilier, MC.Boutron-Ruault. Vitamin D supplementation and breast cancer risk in postmenopausal women: the E3N prospective study. JFN, December 13, 2013. Bordeaux, France.

## 3. ENSEIGNEMENT

Contrat de moniteur-enseignant pour le Master en Santé Publique de l'université Paris-Sud entre septembre 2012 et juin 2015.

Présentation de la cohorte E3N pour la dominante Nutrition à Agroparistech (2013-2015).

## LISTE DES TABLEAUX

---

<b>Tableau 1 :</b> Prévalences moyennes d'inadéquation d'apports en micronutriments dans l'étude INCA2. A partir des données Anses 2015 (49).....	38
<b>Tableau 2 :</b> Adultes à risque de déficience (apports en micronutriments inférieurs à l'EAR) chez les utilisateurs et les non-utilisateurs de compléments alimentaire à partir des données de l'étude NHANES 2003-2006. Source : Dickinson et al 2014 (54). .....	43
<b>Tableau 3 :</b> Valeurs indicatives de la teneur en vitamine D de plusieurs aliments d'après les données du CIQUAL. Source : CIQUAL 2013 (66).....	49
<b>Tableau 4 :</b> Recommandations actuelles en vitamine D pour les adultes (hors femmes enceintes ou allaitantes) dans différents pays. ....	62
<b>Tableau 5 :</b> Recommandations en 25-hydroxyvitamine D de plusieurs organismes. Source : HAS 2013 (135). .....	64
<b>Tableau 6 :</b> Informations utilisées pour estimer la prise de complément en vitamine D ou calcium à chaque questionnaire entre 1995 et 2008.....	83
<b>Tableau 7 :</b> Questionnaires et codage utilisés pour construire les variables d'ajustement des analyses prise de complément en vitamine D et risque de cancer du sein après la ménopause. ....	89
<b>Tableau 8 :</b> Effectifs des utilisatrices de complément ou médicament contenant de la vitamine D selon la source d'information utilisée pour les identifier à chaque questionnaire (N = 57 403). .....	90
<b>Tableau 9 :</b> Caractéristiques des participantes à la fin du suivi selon leur exposition aux compléments en vitamine D (Cohorte E3N, N = 57 403).....	105
<b>Tableau 10 :</b> Hazard Ratios de l'association entre prise de complément en vitamine D et risque de cancer du sein invasif après la ménopause, globalement (Cohorte E3N, 1995 - 2008, N = 57 403) et selon le statut hormonal de la tumeur ER+/ER- (Cohorte E3N, 1995 - 2008, N = 56 959). .....	108
<b>Tableau 11 :</b> Hazard Ratios de l'association entre prise de complément en vitamine D et risque de cancer du sein invasif après la ménopause, stratifiée sur la prise de THM (Cohorte E3N, 1995 - 2008, N = 57 403).....	111
<b>Tableau 12 :</b> Hazard Ratios de l'association entre prise de complément en vitamine D et risque de cancer du sein invasif après la ménopause, stratifiée sur l'IMC à l'inclusion (Cohorte E3N, 1995 - 2008 N = 57 403).....	115

<b>Tableau 13 :</b> Hazard Ratios de l'association entre prise de complément en vitamine D et risque de cancer du sein invasif après la ménopause, stratifiée sur l'IMC à l'inclusion (Cohorte E3N, 1995 - 2008 N = 57 403).....	117
<b>Tableau 14 :</b> Hazard Ratios de l'association entre prise de complément en vitamine D, apports alimentaires en vitamine D, et exposition aux UV selon le département de résidence, et risque de cancer du sein invasif après la ménopause (Cohorte E3N, 1995 - 2008 N = 57 403).....	120
<b>Tableau 15 :</b> Valeurs indicatives de la teneur en vitamine C de plusieurs aliments d'après les données du CIQUAL. Source : CIQUAL 2013 (66).....	136
<b>Tableau 16 :</b> Recommandations actuelles en vitamine C pour les adultes (hors femmes enceintes ou allaitantes) dans différents pays. ....	144
<b>Tableau 17 :</b> Questionnaires et codage utilisés pour construire les variables d'ajustement des analyses prise de complément en vitamine C et risque de cancer du sein après la ménopause. ....	152
<b>Tableau 18 :</b> Caractéristiques des participantes à la fin du suivi selon leur exposition aux compléments en vitamine C (Cohorte E3N, N = 57 403). ....	158
<b>Tableau 19 :</b> Hazard Ratios de l'association entre prise de complément en vitamine C et risque de cancer du sein invasif après la ménopause, globalement (Cohorte E3N, 1995 - 2008, N = 57 403) et selon le statut hormonal de la tumeur ER+/ER- (Cohorte E3N, 1995 - 2008, N = 56 959). ....	161
<b>Tableau 20 :</b> Hazard Ratios de l'association entre prise de complément en vitamine C et risque de cancer du sein invasif après la ménopause, stratifiée sur les quartiles des apports alimentaires en vitamine C, $P_{interaction} = 0,03$ (Cohorte E3N, 1995 - 2008, N = 57 403).....	163
<b>Tableau 21 :</b> Hazard Ratios de l'association entre apports alimentaires en vitamine C et risque de cancer du sein invasif après la ménopause, stratifiée sur la prise de complément en vitamine C, $P_{interaction} = 0,03$ (Cohorte E3N, 1995 - 2008, N = 57 403). ....	164
<b>Tableau 22 :</b> Hazard Ratios de l'association entre apports alimentaires en vitamine C et risque de cancer du sein invasif après la ménopause, stratifiée sur la prise de complément en vitamine C après exclusion des cas survenus dans les cinq années suivant la date d'inclusion, $P_{interaction} = 0,17$ (Cohorte E3N, 1995 - 2008, N = 56 343). ....	167

## LISTE DES FIGURES

---

- Figure 1 :** Estimation des taux d'incidence de cancer du sein dans le monde. Taux standardisés sur l'âge (Monde) pour 100 000. Source : OMS, Globocan 2012 (6). ..... 17
- Figure 2 :** Incidence et mortalité par cancer du sein chez la femme dans le monde. Taux standardisés sur l'âge (Monde) pour 100 000. Source : OMS, Globocan 2012 (6). ..... 18
- Figure 3 :** Registres de cancer en France au 1<sup>er</sup> janvier 2010. Source : Francim 2010. .... 19
- Figure 4 :** Evolution de l'incidence et de la mortalité du cancer du sein chez la femme entre 1980 et 2012. Taux standardisés sur l'âge (Monde) pour 100 000. Source : InVS 2013 (10). 20
- Figure 5 :** Evolution du taux d'incidence du cancer du sein (standardisé sur l'âge) dans différentes régions du monde. Taux standardisés sur l'âge (Monde) pour 100 000. Source : OMS, Globocan 2012 (6). ..... 20
- Figure 6 :** Incidence et mortalité de cancer du sein par âge en France en 2012. Source : Rapport InVS (10). ..... 21
- Figure 7 :** Evolution du marché des compléments alimentaires entre 2009 et 2015 en France. A partir des données Synadiet (44). Données en M€. ..... 32
- Figure 8 :** Affirmations correspondant « oui tout à fait » ou « oui plutôt » à l'image que se font les français des compléments alimentaires selon les enquêtes « La santé et l'alimentation » du Crédoc, en 2006 et 2009. Source : Crédoc 2010 (37). ..... 39
- Figure 9 :** Métabolisme de la vitamine D et effets sur la santé. Source : Deeb et al 2007 (69). ..... 50
- Figure 10 :** Facteurs influençant le métabolisme et le catabolisme du calcitriol. Source : Pasquali et al 2015 (84). ..... 53
- Figure 11 :** Variation de la photosynthèse de provitamine D3 au cours de la journée à Boston (42°N) en octobre et en Juillet. Source : Holick 1994 (89). ..... 54
- Figure 12 :** Variation des taux de 25-hydroxyvitamine Chez deux individus après la prise de 100 000 UI de vitamine D. Source : Heaney et al 2014 (96) à partir des données d'Ilhai et al 2008 (97). ..... 56
- Figure 13 :** Variation des taux circulants de 25-hydroxyvitamine D chez 39 femmes âgées de 18 à 40 ans après administration d'une dose unique de 150 000 UI de vitamine D ou d'une dose quotidienne de 5000 UI de vitamine D pendant 28 jours. A partir des données de Meekins et al 2014 (98). ..... 57

<b>Figure 14</b> : Résultats d'une méta-analyse parue en 2014 sur les relations entre concentrations en 25-hydroxyvitamine D ou apports nutritionnels en vitamine D et risque de cancer du sein. Source : Kim et al 2014 (70). .....	70
<b>Figure 15</b> : Informations recueillies par auto-questionnaires dans la cohorte E3N entre 1990 et 2014. ....	73
<b>Figure 16</b> : Extrait du questionnaire alimentaire envoyé en 1993-1995. ....	74
<b>Figure 17</b> : Extrait du livret photo accompagnant le questionnaire alimentaire envoyé en 1993-1995.....	75
<b>Figure 18</b> : Question spécifique sur la prise de complément alimentaire dans le questionnaire envoyé en 1995.....	78
<b>Figure 19</b> : Question spécifique sur la prise de complément alimentaire dans le questionnaire envoyé en 2005.....	79
<b>Figure 20</b> : Fréquence des remboursements MGEN pour de la vitamine D entre le 1 <sup>er</sup> janvier 2004 et le 31 décembre 2011 par type de dosage (Cohorte E3N, N = 57 403).....	102
<b>Figure 21</b> : Répartition des différents types de dosages en vitamine D parmi les femmes ayant été remboursées pour de la vitamine D entre le 1 <sup>er</sup> janvier 2004 et le 31 décembre 2011 (Cohorte E3N, N = 57 403). ....	103
<b>Figure 22</b> : Evolution des remboursements par type de dosage en vitamine D entre 2004 et 2011 (Cohorte E3N, N = 57 403). ....	103
<b>Figure 23</b> : Augmentation des concentrations plasmatiques de vitamine C en fonction des doses administrées, par voie orale ou par voie intraveineuse. Source: Padayatty et al 2004 (194). ....	138
<b>Figure 24</b> : Evolution des concentrations de vitamine C pendant les 24h suivant la prise orale de vitamine C en fonction des doses administrées. Source: Padayatty et al 2004 (194). .....	139

## LISTE DES ANNEXES

---

<b>Annexe 1</b> : Estimation des taux d'incidence de cancer du sein par pays en Europe à partir des données GLOBOCAN 2012. Source : Ferlay et al 2013 (9).....	212
<b>Annexe 2</b> : Critères pris en compte pour estimer les recommandations en 25-hydroxyvitamine D reportées dans le Tableau 5. Source : HAS 2013 (135). .....	213
<b>Annexe 3</b> : Liste des médicaments considérés comme des compléments en vitamine D commercialisés entre 2004 et 2011. A partir des données de la base Thériaque. ....	214
<b>Annexe 4</b> : Caractéristiques de preneuses de compléments en vitamine D selon la prise de THM et l'IMC à l'inclusion. ....	227
<b>Annexe 5</b> : Caractéristiques de preneuses de compléments en vitamine C selon le niveau d'apports alimentaires en vitamine C.....	231

## **LISTE DES ABREVIATIONS ET ACRONYMES**

---

**ADDFMS** : Aliments diététiques destinés à des fins médicales spéciales

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**AFSSA** : Agence française de sécurité sanitaire des aliments

**AI** : Adequate intake

**ANC** : Apports nutritionnels conseillés

**ANOVA** : Analyse de la variance

**Anses** : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement, et du travail

**BAC** : Baccalauréat

**BEPC** : Brevet d'études du premier cycle du second degré

**BNM** : Besoin nutritionnel moyen

**CAP** : Certificat d'aptitude professionnelle

**CCAF** : Etude Comportements et Consommations Alimentaires en France

**CépiDC** : Centre d'épidémiologie sur les causes médicales de décès

**CIM 10** : Classification Internationale des Maladies 10<sup>ème</sup> édition

**CIMO** : Classification Internationale des Maladies Oncologiques

**CIP** : Code Identifiant de Présentation

**CIQUAL** : Table de composition nutritionnelle des aliments

**CIRC** : Centre international de recherche contre le cancer

**CNIL** : Commission nationale de l'informatique et des libertés

**CNR** : Comité national des registres

**DGCCRF** : Direction générale de la concurrence, de la consommation, et de la répression des fraudes

**DGE** : German nutrition society

**E3N** : Etude Epidémiologique auprès des femmes de la Mutuelle Générale de l'Education Nationale

**EAR** : Estimated adequate range

**ENNS** : Etude nationale nutrition santé

**ET** : Ecart-type

**FRANCIM** : France Cancer Incidence et Mortalité

**GRIO** : Groupe de Recherche et d'Information sur les Ostéoporoses

**HAS** : Haute autorité de santé

**HER2** : Human epidermal growth factor receptor 2

**HR** : Hazard Ratio

**IC** : Intervalle de confiance

**IFO** : Fondation internationale de lutte contre l'ostéoporose

**IMC** : Indice de Masse Corporelle

**INCA** : Etude individuelle nationale des consommations alimentaires

**IC** : Intervalle de confiance

**IoM** : Institute of Medicine

**LS** : Limite de sécurité

**MET** : Metabolic Equivalent of Task (Equivalent métabolique)

**MGEN** : Mutuelle Générale de l'Education Nationale

**NHANES** : National Health and Nutrition Examination Survey

**NHRMC** : National Health and Medical Research Council

**NHS** : Nurses' Health Study

**NNR** : Nordic nutrition recommendations

**OMS** : Organisation mondiale de la santé

**PTH** : Parathormone

**PRI** : Population reference intake

**Q** : Questionnaire

**RE-** : Récepteurs aux œstrogènes négatifs

**RE+** : Récepteurs aux œstrogènes positifs

**RP** : Récepteurs à progestérone

**SFN** : Société Française de Nutrition

**THM** : Traitement hormonal de la ménopause

**UI** : Unité internationale

**UICC** : Union for international cancer control

**UL** : Tolerable upper level intake

**Ref** : Référence

**UV** : Ultraviolets

**VNR** : Valeur Nutritionnelle de Référence

**WCRF** : World Cancer Research Fund

**WHI** : Women's Health Initiative

**25(OH)D** : 25-hydroxyvitamine D

# **INTRODUCTION GENERALE**

---

## 1. LE CANCER DU SEIN

### 3.1 La cancérogénèse mammaire

En l'absence de traitement, les tumeurs cancéreuses évoluent généralement en suivant les mêmes étapes, mais à des vitesses très variables et selon des modalités propres à chaque type de cancer. On distingue généralement quatre étapes : l'hyperplasie, la dysplasie, le cancer in situ, et enfin, le cancer invasif. L'hyperplasie désigne le stade où une lésion stable du génome a été transmise de façon irréversible à des cellules d'un tissu ou d'un organe lors de la division cellulaire. Les cellules initiées peuvent rester à l'état latent pendant des années. La prolifération de ces cellules, causée par d'autres altérations, entraîne la formation de lésions précancéreuses (stade dysplasique). Ensuite, la tumeur s'installe et progresse, mais reste localisée, on parle alors de cancer in situ. Lorsque les cellules cancéreuses ont infiltré les tissus voisins, on parle de cancer invasif. La période de latence entre le stade hyperplasique et le cancer invasif est plus ou moins longue selon l'organe, et peut durer plusieurs décennies. Le cancer devient métastatique lorsque les cellules cancéreuses ont atteint d'autres organes grâce aux vaisseaux.

Les cellules cancéreuses se caractérisent par une prolifération cellulaire incontrôlée, une augmentation de l'angiogenèse (vascularisation), et une perte de la différenciation cellulaire et du contrôle apoptotique (mort cellulaire programmée). Les facteurs de risque, délétères ou protecteurs, de développer un cancer peuvent jouer un rôle tout au long de la carcinogénèse, depuis l'initiation (mutation stable du génome) jusqu'à la prolifération, la perte de différenciation cellulaire et la perte du contrôle apoptotique des cellules cancéreuses.

Les tumeurs du sein peuvent être décrites suivant plusieurs caractéristiques décrites dans la partie suivante. Le pronostic, les traitements et les facteurs de risque peuvent différer selon ces caractéristiques.

### 3.2 Classification des tumeurs du sein

Les tumeurs du sein peuvent être classées en fonction des caractéristiques suivantes :

- Le type histologique : les adénocarcinomes représentent 95% des tumeurs malignes du sein (1). Parmi les carcinomes invasifs, on distingue notamment les carcinomes canaux, les plus fréquents, et les carcinomes lobulaires.
- Le stade de la tumeur en fonction notamment de sa taille, du niveau de différenciation cellulaire, de la présence de métastases.
- La présence de récepteurs aux œstrogènes (RE) et/ou à la progestérone (RP).
- La présence du récepteur HER2 (*Human epidermal growth factor receptor 2*).

Plusieurs classifications internationales des tumeurs ont été établies, en particulier, les classifications CIM-10 (Classification Internationale des Maladies 10<sup>ème</sup> édition) (2) et CIM-0 (Classification Internationale des Maladies Oncologiques) (3) de l'OMS et la classification TNM de l'UICC (4). La CIM-10 classe les tumeurs en fonction de leur localisation. La CIM-0 classe les tumeurs en fonction de leur type histologique et de son degré de malignité (tumeur bénigne, in situ, invasive, métastatique). La classification TNM permet d'estimer le stade de leur tumeur en fonction de sa taille, l'atteinte ou non des ganglions lymphatiques régionaux, et la présence ou non de métastases.

Pour les tumeurs du sein, une autre classification des est maintenant très utilisée pour son aspect prédictif du pronostic et orienter le traitement : luminal A (30-70% des tumeurs), luminal B (10-20% des tumeurs), triple négatif (ER-, PR-, HER2-, 15-20% des tumeurs), et type HER2 (ER-, PR-, HER2+, 5-15% des tumeurs) (5). Les tumeurs luminal A sont caractérisées par un niveau d'expression des RE et des gènes associés élevé et un niveau d'expression des gènes liés à la prolifération bas. Les tumeurs luminal B sont caractérisées par un niveau plus bas d'expression des RE et des gènes associés et un niveau plus élevé d'expression des gènes liés à la prolifération et d'HER2.

### 3.3 Epidémiologie descriptive

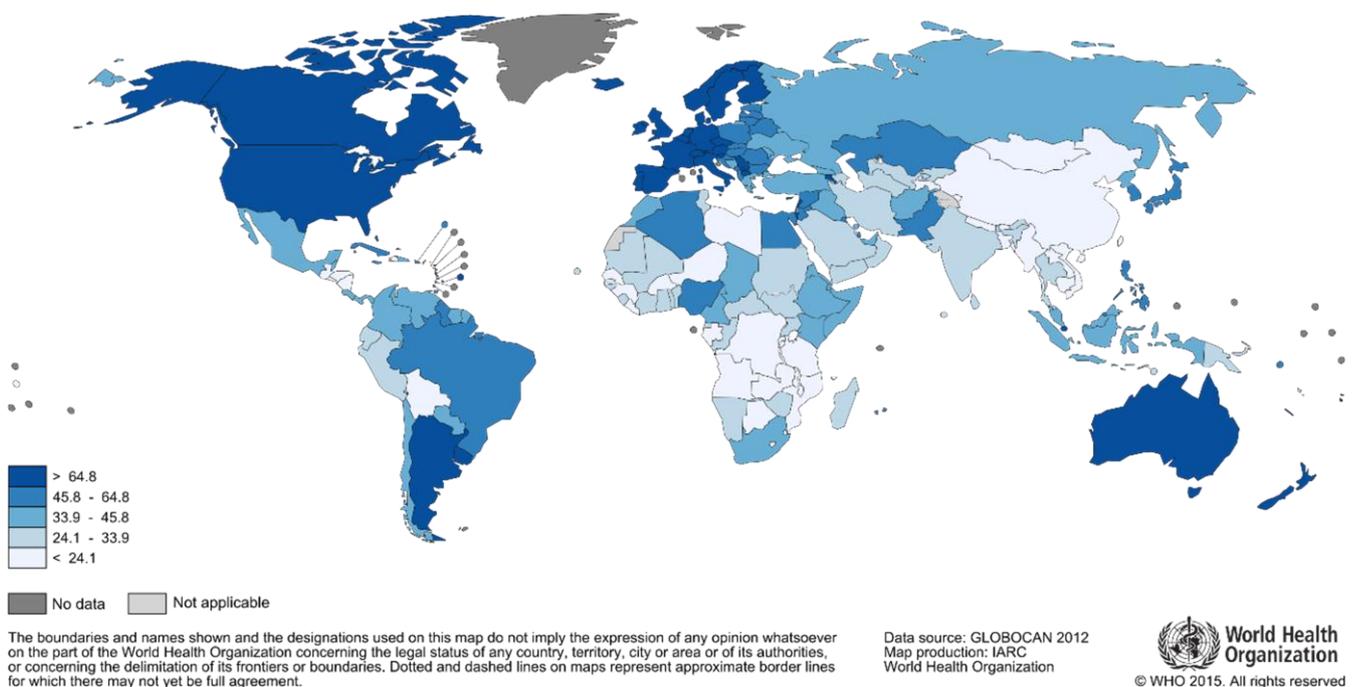
Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent en France et dans le monde chez la femme (6). Les taux d'incidence standardisés sur l'âge du cancer du sein varient beaucoup d'une région du monde à une autre. Il est par exemple quatre fois plus élevé en Amérique du Nord qu'en Afrique centrale et en Asie orientale (Figure 1). Ces différences pourraient être expliquées par plusieurs facteurs : principalement des facteurs environnementaux, mais aussi des facteurs génétiques et des différences au niveau des pratiques de dépistage du cancer du sein. En effet, les programmes de dépistage par mammographie pourraient entraîner une part de

surdiagnostic, notamment de cancers in situ, bien que cela reste actuellement très discuté et que l'on ne sache pas précisément à quel point cet éventuel surdiagnostic puisse influencer l'estimation de l'incidence du cancer du sein (7).

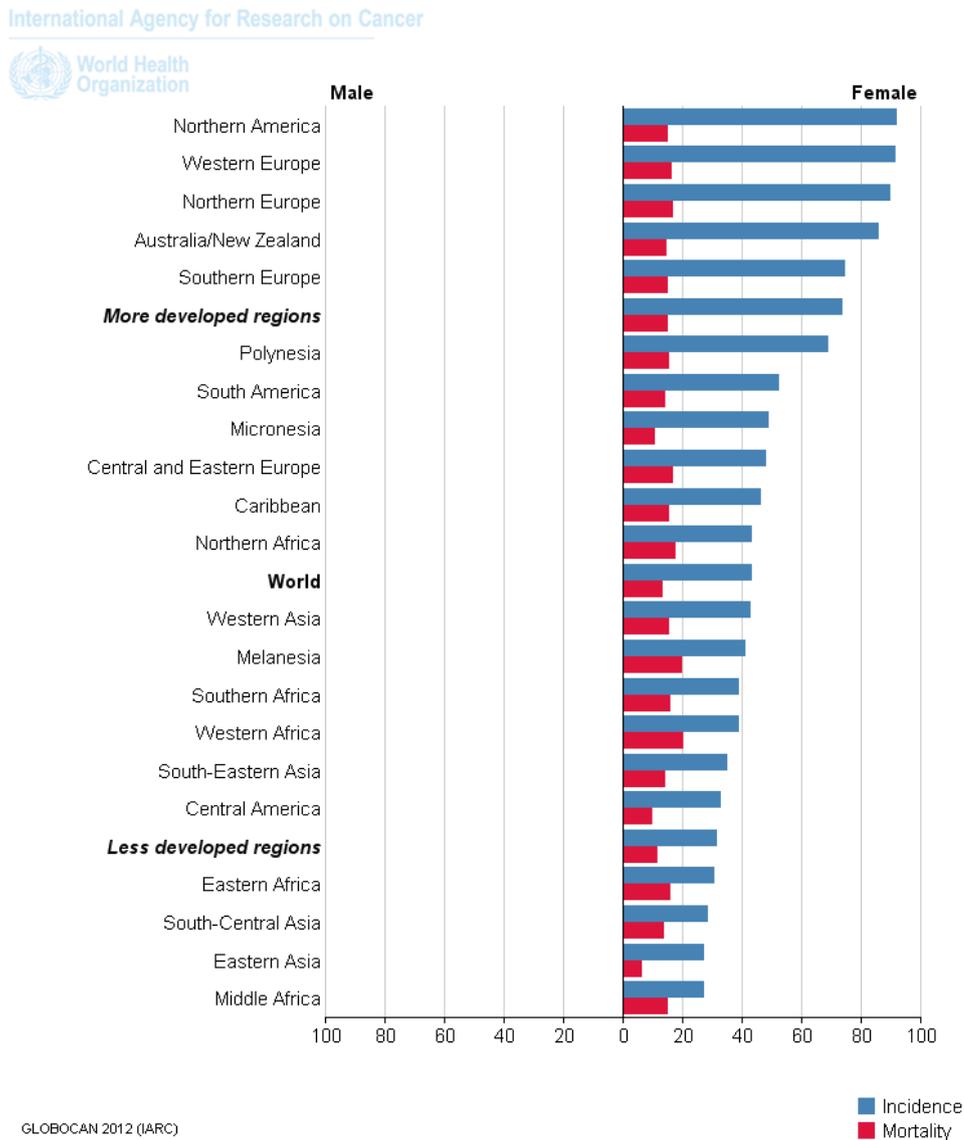
Le cancer du sein est la deuxième cause de mortalité par cancer chez la femme dans les pays développés, après le cancer du poumon, et la première cause de mortalité par cancer dans les pays moins développés. Cette différence s'explique par une incidence beaucoup plus élevée de cancer du poumon dans les pays développés, et par la moins bonne survie après un cancer du sein dans la plupart des pays moins développés comme on peut le voir sur la Figure 2. En France, le cancer du sein est actuellement la première cause de mortalité par cancer chez la femme.

La moins bonne survie après un cancer du sein dans les pays moins développés est principalement due à l'absence de programmes de dépistage, avec un risque accru de diagnostic à un stade avancé de la maladie, et à un moins bon accès aux moyens de diagnostic et de traitement du cancer (8).

**Figure 1 :** Estimation des taux d'incidence de cancer du sein dans le monde. Taux standardisés sur l'âge (Monde) pour 100 000. Source : OMS, Globocan 2012 (6).



**Figure 2 :** Incidence et mortalité par cancer du sein chez la femme dans le monde. Taux standardisés sur l'âge (Monde) pour 100 000. Source : OMS, Globocan 2012 (6).



Au sein d'une même région du monde, les taux d'incidence sont très disparates. En Europe, par exemple, d'après les estimations du CIRC, en 2012, le taux d'incidence standardisé sur l'âge (Europe) moyen était de 94/100 000 (9). Les pays avec les taux les plus élevés étaient la Belgique et le Danemark (148 et 143/100 000 respectivement) et les pays avec les taux les plus bas étaient la Moldavie, l'Ukraine et la Grèce (53, 54 et 59/100 000 respectivement). La France fait partie des pays avec un taux d'incidence élevé (137/100 000) (9). L'ensemble des taux d'incidence standardisés européens par pays est présenté dans l'Annexe 1.

En France, il n'existe pas de registre national de cancer du sein. Le taux d'incidence de cancer du sein métropolitain est estimé à partir de 15 registres métropolitains qui couvrent 19 départements, ce qui représente 24% de la population. Ces registres sont complétés par 2 registres outre marins. Les premiers registres français ont été créés à partir des années 1975. Les registres se sont regroupés en 1986 au sein d'un Comité National des Registres (CNR), qui est devenu le réseau FRANCIM (France Cancer Incidence et Mortalité) en 1991. La carte des registres de cancer en France est représentée en Figure 3.

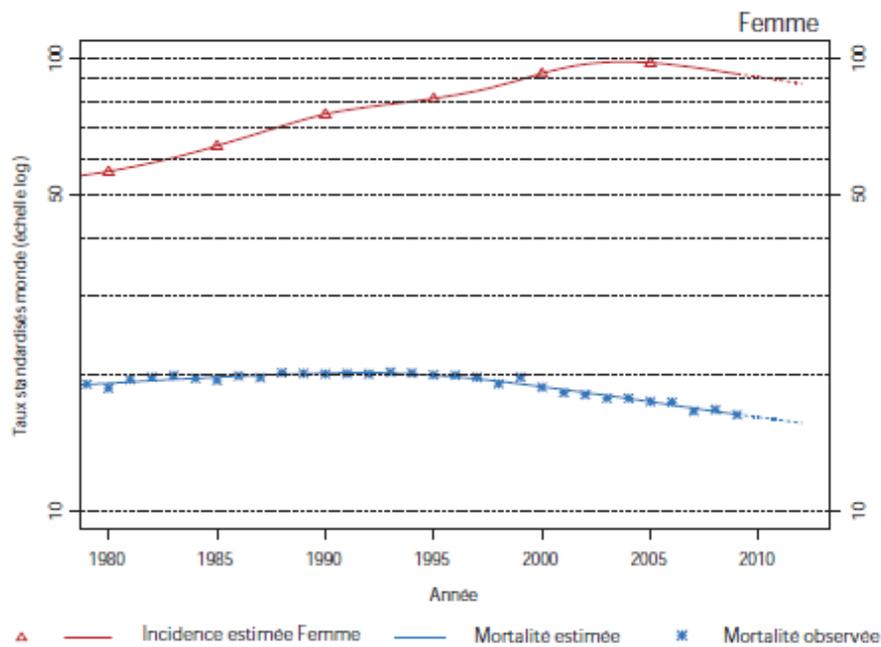
**Figure 3** : Registres de cancer en France au 1<sup>er</sup> janvier 2010. Source : Francim 2010.



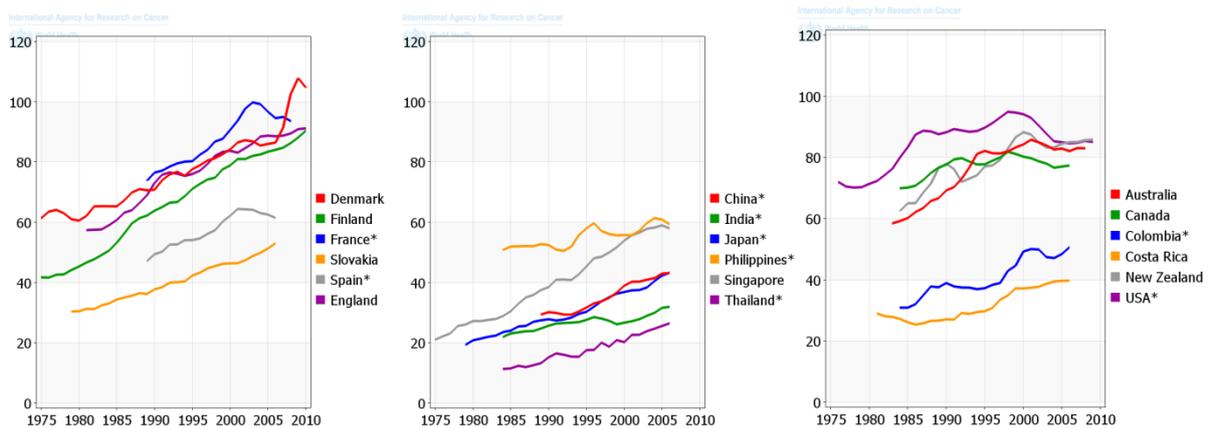
Note : ne figurent pas sur la carte le registre multicentrique à vocation nationale des mésothéliomes pleuraux - Mesonat et les deux registres nationaux de l'enfant (Registre national des hémopathies malignes de l'enfant et Registre national des tumeurs solides de l'enfant) ainsi que les registres généraux outre-marins.

L'incidence du cancer du sein a beaucoup augmenté en France entre 1980 et 2000 et tend à diminuer depuis 2005 (Figure 4). Le risque d'être atteint de cancer du sein entre 0 et 74 ans pour une femme varie selon la génération. Il passe de 5,8% pour les femmes nées en 1920 à 9,7% pour celles nées en 1945 et à 9,1% pour celles nées en 1950. La mortalité par cancer du sein est restée stable entre 1980 et 1997, puis a diminué depuis 1997 (Figure 4). L'augmentation de l'incidence par cancer du sein depuis les années 1980 a aussi été observée dans d'autres régions du monde (Figure 5).

**Figure 4 :** Evolution de l'incidence et de la mortalité du cancer du sein chez la femme entre 1980 et 2012. Taux standardisés sur l'âge (Monde) pour 100 000. Source : InVS 2013 (10).



**Figure 5 :** Evolution du taux d'incidence du cancer du sein (standardisé sur l'âge) dans différentes régions du monde. Taux standardisés sur l'âge (Monde) pour 100 000. Source : OMS, Globocan 2012 (6).



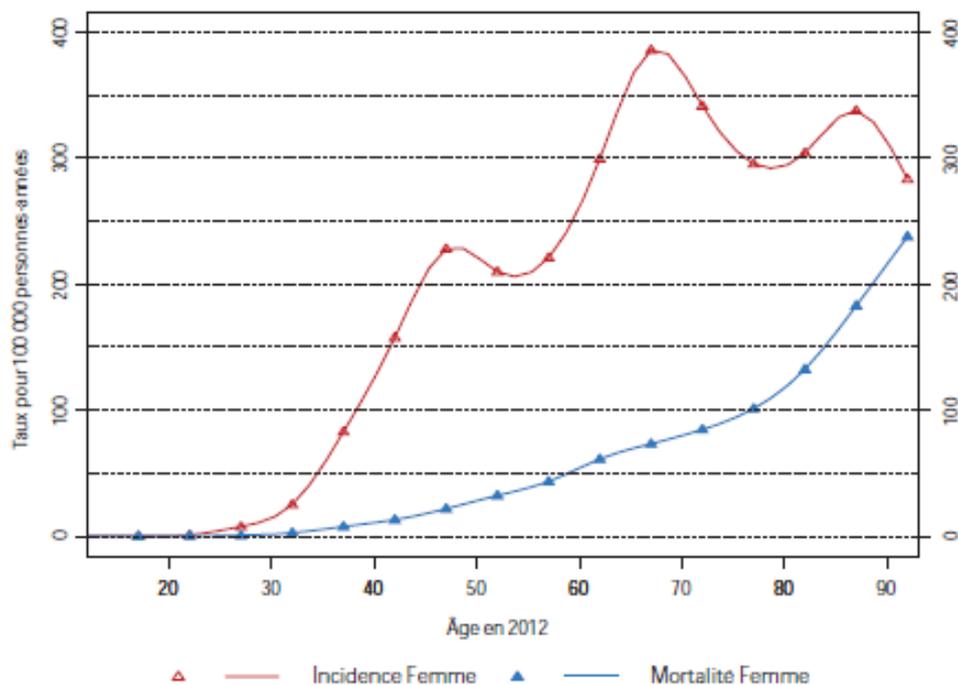
\* : incidence nationale estimée à partir de données régionales

### 3.4 *Facteurs de risque avérés de cancer du sein chez la femme*

#### 3.4.1 Age

L'incidence du cancer du sein augmente fortement avec l'âge entre 30 et 65 ans, puis diminue légèrement (Figure 6).

**Figure 6** : Incidence et mortalité de cancer du sein par âge en France en 2012. Source : InVS 2013 (10).



#### 3.4.2 Antécédents familiaux de cancer du sein

Environ 20 à 30% des cancers du sein surviennent chez des femmes ayant des antécédents familiaux de cancer du sein (11). L'augmentation de risque de cancer du sein associée à la présence d'antécédents familiaux est liée à la fois à des formes familiales de cancer du sein et à l'exposition des membres d'une famille aux mêmes facteurs de risque, et à une combinaison de ces deux facteurs.

Les formes familiales sont essentiellement dues à une mutation héréditaire de certains gènes. La présence de formes familiales augmente considérablement le risque de cancer du sein chez

un individu, et notamment le risque de cancer précoce (avant 40 ans). Les deux gènes les plus importants impliqués dans les formes familiales de cancer du sein sont BRCA1 et BRCA2. Les femmes portant une mutation de l'un de ces gènes ont un risque de développer un cancer du sein de 60 à 80% (12). D'autres gènes mutés prédisposant au cancer du sein ont été identifiés comme TP53 (13), ATM (14), PTEN (13) ou STK11 (13). Cependant, les formes familiales seraient à l'origine de 5 à 10% seulement des cancers du sein (15).

Le risque de développer un cancer du sein augmente avec le nombre de cancers du sein rapportés dans la famille au premier degré (mère, sœur, fille), avec des risques relatifs allant de 1,80 pour les femmes ayant un antécédent à 3,90 pour les femmes ayant trois antécédents familiaux de cancer du sein (16).

### **3.4.3 Antécédents personnels de maladie bénigne du sein**

Les maladies bénignes du sein peuvent être classées en trois catégories : les lésions non prolifératives, les lésions prolifératives sans atypie, et les lésions prolifératives avec atypie. Les lésions prolifératives avec atypie sont associées à une augmentation de risque beaucoup plus marquée que les autres types de maladies. On estime ainsi que le risque de cancer du sein serait multiplié par quatre en cas de lésion proliférative avec atypie, contre un risque multiplié par près de deux pour les antécédents de lésions prolifératives sans atypie et un risque augmenté d'environ 30% pour les antécédents de lésions non prolifératives (17).

### **3.4.4 Densité mammaire**

La densité mammaire est une mesure radiographique de la quantité radio-opaque ou dense (tissu fibro-glandulaire) du sein par rapport au tissu radio-transparent (tissu graisseux). Une densité mammaire élevée est considérée comme un facteur de risque majeur de cancer du sein, avec un risque de cancer du sein multiplié par quatre (18).

### **3.4.5 Facteurs hormonaux**

Environ 80% des tumeurs du sein sont hormonosensibles, c'est-à-dire que les cellules tumorales possèdent des récepteurs aux œstrogènes (RE) et/ou la progestérone (RP) (19). Ces récepteurs sont situés à la surface des cellules tumorales. L'exposition hormonale stimule alors la croissance des cellules tumorales. En outre, plusieurs travaux récents ont suggéré que les œstrogènes pourraient avoir un effet indirect sur la croissance tumorale des tumeurs du

sein même lorsque les cellules tumorales ne possèdent pas de récepteurs hormonaux en stimulant notamment le système vasculaire qui les alimente (20).

La durée d'exposition d'une femme aux hormones, endogènes ou exogènes, est donc susceptible d'influencer le risque de développer un cancer du sein. Plusieurs facteurs ayant une influence sur l'imprégnation hormonale d'une femme au cours de sa vie ont ainsi été associés au risque de cancer du sein.

#### *Âge à la ménarche et à la ménopause*

L'âge à la ménarche (ou âge aux premières règles) correspond au moment où les ovaires commencent à fabriquer les hormones stéroïdiennes (œstrogènes et progestérone). Il est inversement associé au risque de cancer du sein : plus la ménarche a lieu jeune et plus le risque de cancer du sein augmente, avec une augmentation de risque de l'ordre de 5% par année de moins (21).

La ménopause correspond au moment où les ovaires ne produisent plus d'hormones stéroïdiennes. Au même âge, une femme ménopausée a moins de risque d'avoir un cancer du sein qu'une femme non ménopausée. L'âge à la ménopause est positivement associé au risque de cancer du sein : plus la ménopause est tardive, plus le risque de cancer du sein augmente, avec une augmentation de risque de l'ordre de 3% par année (21).

#### *Facteurs reproductifs*

Les grossesses menées à terme, l'âge à la première grossesse et l'allaitement influencent le risque de cancer du sein. Dans les 5 à 10 années après le terme d'une grossesse, le risque de cancer du sein augmente légèrement, puis diminue à plus long terme (22). Le risque de cancer du sein diminue avec le nombre de grossesses menées à terme, avec une diminution de risque estimée à 8% par enfant (23). En revanche, il augmente avec l'âge à la première grossesse menée à terme. Une femme ayant eu sa première grossesse menée à terme à 30 ans a un risque de cancer du sein 1,5 fois plus élevé qu'une femme l'ayant eue à 20 ans (24). Ainsi, une femme ayant eu une première grossesse après 30 ans a un risque de cancer du sein plus élevé qu'une femme n'ayant jamais eu d'enfant. Enfin, l'allaitement est associé à une diminution de risque modérée de cancer du sein. On estime que la diminution de risque est de 4% par année d'allaitement (25).

### *Contraceptifs oraux*

Les contraceptifs oraux contiennent généralement une combinaison d'œstrogènes et de progestatifs. On estime que la prise de contraceptif oral entraîne une augmentation de risque de cancer du sein de l'ordre de 20% et que l'augmentation de risque perdure jusqu'à 10 ans après le traitement. Le type d'hormones utilisé et la durée d'utilisation ne semblent pas avoir d'influence sur le risque de cancer du sein (26).

### *Traitements hormonaux de la ménopause*

A la ménopause, l'arrêt de la production d'hormones ovariennes entraîne des symptômes appelés troubles du climatère pouvant altérer la qualité de vie des femmes : bouffées de chaleur, sudation nocturne, sécheresse vaginale et problèmes urinaires. L'arrêt de la production d'hormones ovariennes entraîne également une accélération de la perte osseuse.

Les traitements hormonaux de la ménopause (THM) visaient à traiter les symptômes associés à la ménopause, appelés troubles du climatère, et le risque accru d'ostéoporose, en apportant des hormones par voie orale ou transdermique. Les premiers THM ont été mis sur le marché dans les années 1940 à partir d'œstrogènes dérivés de l'urine de jument (œstrogènes conjugués équins). Au milieu des années 1970, l'utilisation de ce type de THM a été associée à une forte augmentation du risque de cancer de l'endomètre (27;28). Afin d'éviter ce sur-risque, les œstrogènes ont été combinés à un progestatif (29). L'utilisation des THM a fortement augmenté jusqu'au début des années 2000, où plusieurs études ont suggéré que l'utilisation des THM oestro-progestatifs était associée à une forte augmentation du risque de cancer du sein (30;31). La mise en évidence du risque accru de cancer du sein associé aux THM oestro-progestatifs a entraîné une forte diminution de l'utilisation des THM dans plusieurs pays depuis le début des années 2000 (30;32).

Plusieurs études ont suggéré que l'effet des THM sur le risque de cancer du sein diffère selon les caractéristiques liées à l'utilisation de THM : molécules utilisées, doses, voie d'administration, durée d'utilisation. Il a notamment été montré que le risque de cancer du sein augmente rapidement après la prise de THM, et est d'autant plus élevé que le THM a été pris longtemps. Dans l'étude E3N par exemple, l'utilisation de THM était associée à une augmentation de risque de 0 à 70% selon la combinaison de molécules utilisée, avec un sur-risque qui augmentait avec la durée d'utilisation (33). Le sur-risque était présent surtout à court terme, mais pouvait perdurer plus longtemps pour certains types de THM (32). Il a aussi

été suggéré que les THM à base de progestérone micronisée seraient associés à un faible sur-risque (34), mais augmenteraient le risque de cancer de l'endomètre, probablement en raison d'un effet moindre de la progestérone naturelle par rapport aux progestatifs de synthèse en opposition aux œstrogènes. Ce type de THM était très utilisé en France mais pas en Amérique du Nord avant le début des années 2000 (34).

L'efficacité des THM sur le traitement des troubles du climatère et l'ostéoporose est prouvée, mais l'effet protecteur ne perdure pas après l'arrêt. La Haute Autorité de Santé (HAS) a proposé en 2014 que le remboursement des THM soit maintenu en préconisant des doses minimales et une durée limitée (35). La seule indication est celle de troubles sévères du climatère ayant un impact sur la qualité de vie. Leur prescription doit être réévaluée tous les ans en faisant une fenêtre thérapeutique.

#### **3.4.6 Consommation d'alcool**

La consommation d'alcool, même à petite dose, augmente le risque de cancer du sein avant et après la ménopause, quel que soit le type d'alcool consommé. L'augmentation de risque estimée est de l'ordre de 10% pour chaque augmentation de 10 g par jour d'éthanol ingéré (36).

#### **3.4.7 Facteurs anthropométriques**

Une taille élevée à l'âge adulte est associée à une augmentation modérée du risque de cancer du sein avant ou après la ménopause, avec une augmentation de risque de l'ordre de 9% pour chaque augmentation de 5 cm de la taille (36).

Le poids de naissance est positivement associé au risque de cancer du sein avant la ménopause, avec une augmentation de risque estimée à 9% par kg (36).

L'IMC est inversement associé au risque de cancer du sein avant la ménopause, avec une diminution de risque estimée à 14% pour chaque augmentation de 5 kg/m<sup>2</sup> de l'IMC. En revanche, l'IMC est positivement associé au risque de cancer du sein après la ménopause, avec une augmentation de risque de l'ordre de 10% pour chaque augmentation de 5 kg/m<sup>2</sup> de l'IMC (36). Le mécanisme sous-jacent serait lié aux œstrogènes : l'IMC est inversement corrélé au taux d'œstrogènes avant la ménopause, et positivement après la ménopause à cause de la production d'œstrogènes par le tissu adipeux après la ménopause (36).

Indépendamment de l'IMC, le gain de poids et la graisse abdominale ont été associés à une augmentation de risque de cancer du sein après la ménopause (36).

### **3.4.8 Activité physique**

D'après une expertise récente de l'Anses, un niveau d'activité physique élevé serait associé à une diminution du risque de cancer du sein de 10 à 27% selon les populations et les types d'activité considérés. Cet effet a été jugé « probable » pour le cancer du sein et similaire pour les cancers du sein avant et après la ménopause. Le niveau d'activité physique requis pour obtenir cet effet protecteur a été évalué à 30 à 60 minutes par jour d'activité physique d'intensité modérée à élevée (37).

### **3.4.9 Exposition aux rayonnements ionisants**

L'exposition aux radiations ionisantes est linéairement associée au risque de cancer du sein. Cependant, le risque dépend beaucoup de l'âge au moment de l'exposition, avec un sur-risque plus marqué lorsque l'exposition a eu lieu dans l'enfance ou l'adolescence et une absence de sur-risque après 50 ans (38;39).

D'autres facteurs de risque sont suspectés d'influencer le risque de cancer du sein, sans qu'une relation causale n'ait encore été clairement établie, en particulier l'alimentation (36), les contaminants chimiques (40), le tabagisme (41), et le travail de nuit (42).

## 4. LES COMPLEMENTS ALIMENTAIRES

### 4.1 Définitions

#### 4.1.1 Compléments alimentaires

La notion de complément alimentaire est assez floue et sa définition peut varier d'un pays à un autre. En France, elle a été définie dans le décret du 20 mars 2006 (Décret n°2006-352) :

*Aux fins du présent décret, on entend par :*

*1° " Compléments alimentaires ", les 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-gouttes et les autres formes analogues de préparations liquides ou en poudre destinées à être prises en unités mesurées de faible quantité ;*

*2° " Nutriments ", les substances suivantes :*

*a) Vitamines ;*

*b) Minéraux ;*

*3° " Substances à but nutritionnel ou physiologique ", les substances chimiquement définies possédant des propriétés nutritionnelles ou physiologiques, à l'exception des nutriments définis au 2° et des substances possédant des propriétés exclusivement pharmacologiques ;*

*4° " Plantes et préparations de plantes ", les ingrédients composés de végétaux ou isolés à partir de ceux-ci, à l'exception des substances mentionnées au 2° et au 3°, possédant des propriétés nutritionnelles ou physiologiques, à l'exclusion des plantes ou des préparations de plantes possédant des propriétés pharmacologiques et destinées à un usage exclusivement thérapeutique.*

D'après cette définition, certains produits contenant des vitamines et minéraux commercialisés sous forme de médicaments peuvent aussi être considérés comme des

compléments alimentaires. Cependant, ils ne seront pas soumis à la même législation concernant leur composition, hors vitamines et minéraux, les doses maximales autorisées et leur commercialisation (en pharmacie uniquement). La législation concernant les compléments alimentaires vendus en libre-service est détaillée dans la Partie 2.2.

#### **4.1.2 Produits alimentaires pouvant facilement être confondus avec des compléments alimentaires**

*Les aliments enrichis.* Ils désignent des aliments, bruts ou transformés, auxquels ont été ajoutés des nutriments. En France, on trouve par exemple des céréales pour petits déjeuners enrichies en vitamines du groupe B et en fer, du lait en poudre destiné aux nourrissons enrichi en vitamine D, du sel enrichi en iode, ou des jus enrichis en vitamine C pour compenser la perte de vitamine C au cours de la fabrication. En France, l'enrichissement est facultatif et n'est plus limité à certains aliments et certains micronutriments depuis 2006 seulement (décret du 17 octobre 2006). Une liste de substances pouvant être ajoutées aux aliments et des doses maximales ont été fixées. Dans certains pays, en Europe (comme le Danemark, l'Irlande, et la Pologne) et en Amérique du Nord par exemple, l'enrichissement en certains micronutriments est obligatoire dans certains produits.

*Les substituts de repas.* Les substituts de repas sont destinés à des personnes souhaitant perdre du poids. Ils se présentent généralement sous forme de boissons ou d'aliments hyper-protéinés auxquels ont été ajoutés des micronutriments aux doses correspondant aux recommandations d'apports journaliers. Ils sont destinés à être pris à la place d'aliments, et non en complément de l'alimentation.

*Les aliments diététiques destinés à des fins médicales spéciales (ADDFMS).* Ces produits sont destinés à des personnes malades qui ne peuvent pas s'alimenter avec des aliments conventionnels, soit à cause d'une situation exceptionnelle (dénutrition, hospitalisation, nutrition entérale) soit à cause de maladies (maladies métaboliques héréditaires).

*Les « super-aliments » (baies de goji, levure de bière, germe de blé, son, spiruline, gelée royale, huile de foie de morue, pollen...).* Ces produits naturellement riches en nutriments se placent entre les aliments et les compléments. Ils se présentent soit sous leur forme non transformée soit sous forme de gélules, poudre, ou comprimés. Certains, comme l'huile de foie de morue, peuvent être considérés à part entière comme des compléments alimentaires en raison des quantités de nutriments (vitamine D pour l'huile de foie de morue) apportées.

#### **4.1.3 Autres définitions en relation avec la prise de complément alimentaire**

*Carence.* La carence en un micronutriment donné définit un niveau d'apport insuffisant associé à un dysfonctionnement de l'organisme se manifestant par des symptômes variables selon le micronutriment considéré. La carence peut être définie par le niveau d'apport ou le niveau biologique du métabolite correspondant.

*Déficiences.* La déficience en un micronutriment donné définit un niveau d'apport qui est inférieur au niveau d'apport jugé optimal mais supérieur au niveau d'apport associé à une carence. Ce niveau d'apport ne fait souvent pas consensus puisqu'il varie en fonction des critères utilisés pour établir le niveau d'apport optimal.

*Besoin nutritionnel moyen (BNM) ou Estimated Adequate Range (EAR).* Il correspond au niveau d'apport jugé adéquat pour 50% des individus d'une population. Il est généralement considéré séparément chez les hommes et chez les femmes et par tranche d'âge.

*Apports nutritionnels conseillés (ANC) ou Population Reference Intake (PRI).* Il correspond au niveau d'apport quotidien jugé adéquat pour 97,5% des individus d'une population. Il est généralement considéré séparément chez les hommes et chez les femmes et par tranche d'âge.

*Limite de sécurité (LS) ou Tolerable Upper level intake (UL).* Il correspond au niveau d'apport au-dessous duquel il est peu probable qu'un effet délétère sur la santé directement lié à un apport trop élevé se produise dans une population donnée.

*Recommended dietary allowance (RDA).* Comme les ANC ou les PRI utilisés en Europe, les RDA utilisés en Amérique du Nord correspondent au niveau d'apport quotidien jugé adéquat pour 97,5% des individus d'une population (généralement par âge et par sexe). Cependant, leur utilisation n'est pas la même puisque les RDA sont destinés à évaluer la probabilité d'inadéquation d'apport d'un individu alors que les ANC ou PRI sont destinés à l'origine à évaluer la situation nutritionnelle de la population, et non d'un individu.

*Valeur nutritionnelle de référence (VNR, anciennement Apports journaliers recommandés ou AJR).* Les VNR sont utilisés sur les étiquetages des produits alimentaires ou des compléments alimentaires pour fournir un repère individuel sur les recommandations d'apport pour un adulte type. La valeur de la VNR est inférieure au BNM ou est comprise entre le BNM et l'ANC selon le micronutriment considéré. Par exemple, pour la vitamine D, la VNR est la

même que l'ANC (200 UI par jour), et pour la vitamine C, la VNR est de 80 mg par jour, ce qui est inférieur au BNM (85 mg par jour) et à l'ANC (110 mg par jour).

*Adequate intake* (AI). Ce terme est utilisé dans les recommandations américaines ou de l'EFSA lorsqu'un BNM ne peut pas être déterminé à partir des études disponibles. L'AI correspond alors au niveau d'apport moyen qui semble être optimal dans une population donnée.

## 4.2 Législation

La directive européenne 2002/46 a fixé plusieurs mesures pour encadrer la commercialisation de compléments en vitamines et minéraux dans l'Union Européenne. La directive fixe une liste positive de vitamines et minéraux et des formes d'apport autorisées. Elle fixe aussi des règles d'étiquetage (en particulier interdiction d'attribuer aux compléments alimentaires des propriétés de prévention des maladies et avertissement quant au caractère non substituable à une alimentation diversifiée).

En France le décret n°2006/352 du 20 mars 2006, complète la directive européenne en étendant le principe de liste positive aux « plantes et préparations de plantes » ainsi qu'aux autres nutriments (acides aminés par exemple) et « substances ayant un effet nutritionnel ou physiologique ». Ce décret rend obligatoire la notification à la DGCCRF de tout complément alimentaire commercialisé en France.

L'arrêté du 9 mai 2006 traduit en droit français la liste positive de vitamines et minéraux autorisés par la directive européenne et fixe des doses journalières maximales autorisées. Une harmonisation européenne devrait avoir lieu concernant ces seuils. En 2010, un système de nutrivigilance a été créé par la loi HPST (« Hôpital, patients, santé et territoire »). Ce dispositif impose la déclaration de tout effet indésirable grave susceptible d'être lié à la consommation de compléments alimentaires à l'Anses.

Avant le décret de 2006 qui fait suite à la directive européenne de 2002, la réglementation française concernant les compléments alimentaires était la plus stricte en Europe et des produits autorisés dans d'autres pays de l'Union Européenne étaient fréquemment interdits de commercialisation en France. Cela concernait notamment les compléments alimentaires à base de plantes, avec une liste positive de seulement 34 plantes médicinales autorisées pour

les compléments alimentaires hors médicaments, alors que la Belgique par exemple avait une liste positive de 320 plantes (43).

Au niveau mondial, la réglementation concernant les compléments alimentaires n'est pas harmonisée. Dans certains pays, comme au Japon et aux Etats-Unis, il n'y a pas de réglementation spécifique pour les compléments alimentaires. En 2005, le Codex Alimentarius a défini des indications concernant les compléments alimentaires en vitamines et minéraux.

### 4.3 Consommation de compléments alimentaires

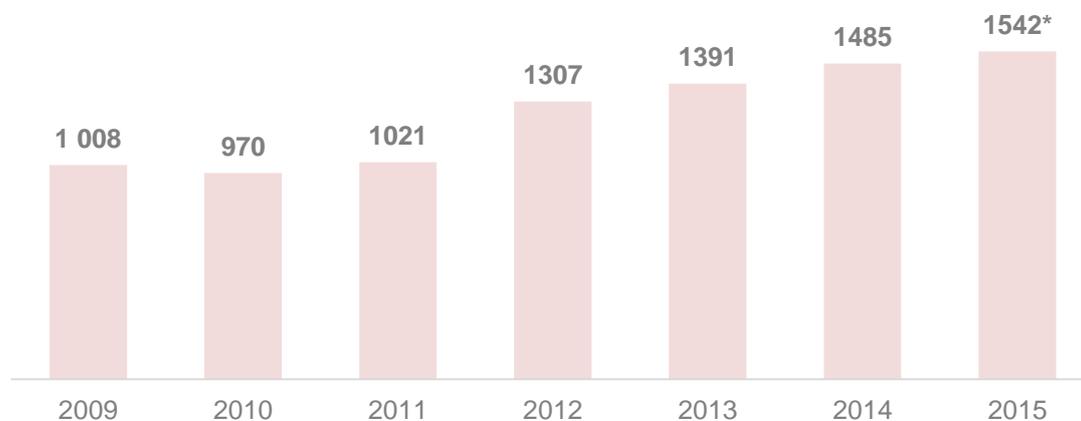
#### **4.3.1 Le marché des compléments alimentaires**

Depuis le début des années 2000, le marché des compléments alimentaires est en pleine croissance en France (Figure 7). En Amérique du Nord, l'utilisation de compléments alimentaires a commencé à se généraliser bien plus tôt.

L'Amérique du Nord et l'Est de l'Asie se partagent actuellement 75% du marché des compléments alimentaires. En comparaison, la part de marché attribuée à l'Europe varie entre 15 et 30%. En Europe, l'Allemagne et l'Italie représentent les plus grosses parts de marché (21% chacun), suivis de l'Angleterre (13%), et de la France (12%) (43).

En France, le marché des compléments alimentaires (hors compléments vendus sous forme de médicament, pour lesquels les chiffres ne sont pas disponibles) a fortement progressé au début des années 2000. Entre 2002 et 2009, la croissance annuelle moyenne était de 9% (43). Entre 2007 et 2010, le marché a légèrement reculé avant de progresser nouveau avec une croissance annuelle moyenne de 4% entre 2010 et 2015 (44). Le circuit le plus utilisé mais aussi le plus dynamique était la pharmacie (43;44).

**Figure 7** : Evolution du marché des compléments alimentaires entre 2009 et 2015 en France. A partir des données Synadiet 2016 (44). Données en M€.



\*chiffre susceptible d'être revus à la hausse en 2016.

### 4.3.2 Caractéristiques de la prise de compléments alimentaires en France

#### *Résultats de l'étude nationale INCA2*

En 2005/2007, l'étude INCA2 a estimé la prise de compléments alimentaires dans la population française à partir d'un carnet de consommation de 7 jours consécutifs et d'un questionnaire sur la consommation de compléments alimentaires au cours des 12 derniers mois (45). Près d'un adulte français âgé de 18 à 79 ans sur cinq a déclaré en avoir consommé au moins une fois au cours de l'année précédant l'étude. La prise était plus fréquente parmi les femmes (26,5% contre 12,6% chez les hommes) et chez les personnes ayant un niveau d'étude élevé. Dans cette étude, étaient considérés comme compléments alimentaires les produits vendus en tant que compléments alimentaires (selon la définition réglementaire) et les produits vendus sous forme de médicaments mais dont la composition correspondait à un complément alimentaire. Plus d'un tiers des consommateurs adultes avaient déclaré uniquement des noms de médicaments (43).

En France, la prise de complément alimentaire se fait principalement sous forme de cure. Dans l'étude INCA2, la prise de complément durait en moyenne quatre mois et demi chez les adultes, mais était très disparate d'une personne à l'autre puisque 23% des personnes interrogées déclaraient en prendre toute l'année ou presque (45). La durée (prolongée ou sous forme de cure) et la période d'utilisation (saisonnière ou non) des compléments alimentaires

varie probablement selon le type de complément consommé. Le mode de consommation des compléments alimentaires était aussi influencé par l'âge : les plus âgés avaient plus souvent tendance à être des utilisateurs réguliers, alors que les plus jeunes avaient plus souvent tendance à être des utilisateurs occasionnels de compléments (45). Environ 23% des adultes déclaraient prendre un complément à la suite d'une prescription médicale et 23% sur les conseils d'un professionnel de santé. Un peu plus de la moitié des utilisateurs de compléments (54%) déclarait acheter ses compléments en pharmacie. Parmi les femmes interrogées dans l'étude INCA2, un peu plus de la moitié déclarait avoir consommé plus d'un produit au cours des douze derniers mois. Parmi l'ensemble des compléments consommés au cours des douze derniers mois déclarés, la plupart étaient des combinaisons de vitamines/minéraux avec d'autres substances (63,1%), un tiers était composé uniquement de vitamines/minéraux (36,4), 20,6% contenaient uniquement des plantes et 13,9% étaient des produits naturels hors plantes (levure de bière, gelée royale, huiles...). La saison la plus citée pour la consommation des compléments était l'hiver (53,7%).

#### *Résultats de l'étude CCAF 2004*

Dans l'étude CCAF menée en 2002-2003 à partir d'un échantillon de ménages représentatifs des foyers français, 1 361 adultes de plus de 15 ans ont été interrogés sur leur consommation de compléments alimentaires et d'aliments santé (46). Environ 11% des adultes interrogés ont déclaré consommer des compléments alimentaires ou des vitamines ou minéraux sous forme de médicaments. La consommation de compléments alimentaires était beaucoup plus fréquente chez les femmes (16%) que chez les hommes (6%).

Les utilisateurs de compléments alimentaires évoquaient d'abord prendre un complément alimentaire pour rester en bonne santé (56%) ou pour combattre une fatigue (53%). Les autres raisons évoquées étaient : le soin du corps (29%), les maladies (24%), le stress (22%), les problèmes de santé (22%), et les changements de saison (22%). Les utilisateurs déclaraient consommer leurs compléments majoritairement sous forme de cures de courte durée. Ainsi, la plupart déclarait avoir pris un complément alimentaire sur une courte période (15,7% pendant trois semaines, 29,4% pendant une à deux semaines) ou de façon irrégulière (23,5%). Cependant, 19% en prenaient de façon permanente et 12,4% en avaient pris sous forme de cures de plus de trois semaines.

Les compléments les plus utilisés dans cette étude étaient les compléments en magnésium (51,0%), vitamine C (45,1%), les « multivitamines » (associations variables de

vitamines et minéraux) (30,7%), les compléments en calcium (28,1%), oligo-éléments (20,9%), et les compléments pour la beauté (17,6%), ou pour le sommeil (9,2%). Les deux nutriments les plus souvent prescrits par les médecins étaient la vitamine C et le magnésium.

### **4.3.3 Caractéristiques liées à l'utilisation de compléments alimentaires en France**

#### *Résultats de l'étude CCAF 2004*

D'après l'étude CCAF 2004 (décrite ci-dessus) (46), les personnes ayant déclaré avoir utilisé un complément alimentaire dans les sept jours précédents l'étude étaient plus diplômées que les non-consommateurs et avaient un budget consacré à l'alimentation plus élevé. La consommation de complément alimentaire était plus répandue chez les sujets résidant dans l'agglomération parisienne. En revanche, l'âge avait peu d'influence sur la proportion de consommateurs de complément alimentaire. Les consommateurs de compléments alimentaires étaient plus minces et plus actifs que les non-consommateurs.

Concernant leurs apports alimentaires, les consommateurs de complément alimentaire avaient des apports énergétiques et des apports alimentaires en calcium inférieurs à ceux des non consommateurs (46). Ils étaient plus nombreux à suivre un régime. Les apports protéiques représentaient une proportion moins importante de leurs apports caloriques que chez les non-consommateurs. Ils consommaient davantage de boissons chaudes, mais moins de charcuterie, fromages, produits de panification, viandes et plats composés.

#### *Résultats dans E3N*

Une précédente étude dans E3N s'était intéressée aux caractéristiques individuelles associées à la prise de complément alimentaire à partir d'un échantillon de 67 229 femmes de la cohorte ayant répondu au questionnaire envoyé en 2002 (47). Dans ce questionnaire, il avait été demandé aux femmes d'indiquer si elles prenaient au moins trois fois par semaines un complément en calcium, fluor, vitamine du groupe B, vitamine C, vitamine D, vitamine E,  $\beta$ -carotène, rétinol, acide folique, autres vitamines, ou minéraux. Comme pour l'étude CCAF, les utilisatrices de complément alimentaire avaient un niveau d'études plus élevé, elles étaient plus minces, et avaient un niveau d'activité physique plus élevé. Elles étaient aussi moins souvent fumeuses mais étaient plus âgées, avaient plus fréquemment des antécédents familiaux de cancer et avait plus souvent passé des examens de dépistage de cancer. Comme pour l'étude CCAF, leur alimentation semblait plus saine, avec une consommation plus faible d'alcool mais une consommation plus élevée de fruits et légumes, de produits laitiers et de

poissons. Elles avaient des apports en lipides plus bas et des apports en fibres, oméga-3 et vitamines et minéraux issus de l'alimentation généralement plus élevés. En revanche, elles avaient des apports en magnésium plus faibles.

#### *Résultats dans Nutrinet-Santé*

Plus récemment, les caractéristiques associées à la prise de complément alimentaire ont été étudiées sur un échantillon de 79 786 participants de la cohorte Nutrinet-Santé (48). En 2012, il avait été demandé aux participants d'indiquer s'ils prenaient un complément alimentaire au moins trois fois par semaine au moment de remplir le questionnaire et s'ils avaient pris au moins un complément au cours des douze derniers mois. La proportion d'hommes parmi les utilisateurs de complément alimentaire était moins élevée que chez les non utilisateurs. De façon similaire à ce qui avait été observé dans la cohorte E3N, les utilisateurs étaient plus âgés, ils avaient un niveau d'étude et un niveau d'activité physique plus élevés, étaient plus minces et étaient moins souvent fumeurs. La proportion d'utilisateurs diminuait avec le nombre d'enfants. Parmi les femmes, les utilisatrices de complément alimentaire étaient plus souvent enceintes ou ménopausées que les non-utilisatrices. En revanche, les utilisateurs de complément alimentaire avaient plus souvent déclaré l'existence de problèmes émotionnels et de douleurs physiques. Comme dans les études CCAF et E3N, ils semblaient porter plus d'attention à leur alimentation. Ils déclaraient plus souvent avoir une bonne connaissance des recommandations du Programme national nutrition santé (PNNS) et consommer des produits issus de l'agriculture biologique. Ils avaient une consommation plus importante de fruits et légumes, céréales complètes, lentilles, produits de la mer, boissons non sucrées, et substituts de repas, et une consommation moins importante d'alcool, de produits laitiers, de viande, de pommes de terre, et de produits transformés. Ils avaient des apports alimentaires plus élevés en fibres, acides gras insaturés et en micronutriments pour la plupart des vitamines et minéraux. En revanche, ils avaient des apports caloriques plus élevés et une prévalence d'inadéquation en vitamine B12 plus élevée.

#### **4.3.4 La prise de complément alimentaire permet-elle d'améliorer le statut nutritionnel de la population française ?**

Dans un avis publié le 15 mars 2015 (49), l'Anses a évalué les apports journaliers moyens en vitamines et minéraux issus de la prise de complément alimentaire dans la population française à partir des données de l'étude INCA2. Il avait été demandé aux participants

d'indiquer les noms des compléments utilisés au cours des douze mois précédant l'étude. Les compléments vendus sous forme de médicaments ont également été pris en compte.

Les apports par aliment enrichi ou par complément alimentaire représentaient une augmentation des apports de l'ensemble des participants de moins de 10% sauf pour la vitamine D (+17%). Chez les utilisateurs de complément alimentaire, les apports totaux étaient statistiquement significativement plus élevés après prise en compte des apports par aliment enrichi et par complément. L'augmentation des apports liée à la prise de complément alimentaire était élevée pour la vitamine D (+63%), la vitamine C (+40%), la vitamine B6 (+53%), la vitamine B1 (+33%), la vitamine E (+31%), la vitamine B9 (+25%), et le fer (+26%).

#### *Prévalences d'inadéquation en vitamines et minéraux*

En considérant uniquement les apports alimentaires (hors aliments enrichis), la prévalence d'inadéquation en vitamine D, magnésium, vitamine C et iode était élevée chez les hommes et chez les femmes quel que soit le groupe d'âge considéré (proche de 100% pour la vitamine D en considérant un BNM de 400 UI/jour, entre 67 et 77% pour le magnésium, entre 29 et 56% pour la vitamine C et entre 23 et 36% pour l'iode) (Tableau 1). La prévalence d'inadéquation pour les autres micronutriments était surtout élevée dans certains sous-groupes. Les personnes âgées (plus de 75 ans) étaient particulièrement touchées avec une prévalence d'inadéquation élevée pour le sélénium (84%), la vitamine B6 (82%), le calcium (75%), le potassium (51%), le zinc (44%), le cuivre (42%), la vitamine B9 (39%), et la vitamine B1 (29%) (Tableau 1). Chez les femmes de moins de 75 ans, la prévalence d'inadéquation était élevée pour le calcium (30 et 59% chez les femmes de 18-54 ans et de 55-75 ans respectivement), le sélénium (22 et 36%), le cuivre (48 et 40%), le potassium (59 et 40%), et le zinc (24 et 35%), et pour la vitamine B9 et le fer chez les femmes de 18-54 ans (29 et 22% respectivement) (Tableau 1). Les hommes de moins de 75 ans étaient moins touchés. La prévalence d'inadéquation était élevée pour le cuivre (55%) et le potassium (22%) chez les hommes de 18-64 ans et pour la vitamine B1 (21%), le calcium (55%), et le sélénium (43%) chez les hommes de 65-75 ans (Tableau 1).

Après prise en compte des apports par aliment enrichi et par complément alimentaire, les prévalences d'inadéquation avaient peu diminué, sauf pour le calcium chez les personnes âgées, avec une prévalence passant de 65 à 57% (Tableau 1). Les prévalences d'inadéquation en micronutriments ont également été calculées spécifiquement chez les utilisateurs de

complément alimentaire. Chez les hommes de 18-64 ans et les femmes de 18-54 ans, les prévalences d'inadéquation calculées à partir des apports alimentaires seuls (hors aliments enrichis) étaient proches voire légèrement inférieures aux prévalences calculées pour l'ensemble des participants pour certains micronutriments (vitamine C, cuivre, vitamine B9 chez les hommes et les femmes, vitamines E et sélénium chez les hommes, vitamine B6 et calcium chez les femmes), sauf pour la vitamine A totale, avec une prévalence d'inadéquation légèrement plus élevée chez les hommes de 18-64 ans (24% contre 17% pour l'ensemble des participants) (Tableau 1). Chez les femmes de 55-75 ans, la prévalence d'inadéquation était moins élevée pour la vitamine C (23% contre 29% pour l'ensemble des participantes), le cuivre (34% contre 40%), et l'iode (30% contre 37%), mais plus élevée pour le zinc (46% contre 35%) et pour d'autres micronutriments mais avec des différences minimales (Tableau 1). Les effectifs étaient trop limités chez les hommes de 65-75 ans (n = 10) et chez les personnes âgées (n = 11) pour permettre des comparaisons. Après prise en compte des apports par complément, les prévalences d'inadéquation en micronutriments chez les utilisateurs de complément alimentaire étaient similaires ou avaient modestement diminué pour la vitamine C (36% contre 45% chez les hommes de 18-64 ans, 23% contre 33% chez les femmes de 18-54 ans, et 19% contre 23% chez les femmes de 55-75 ans) et pour le calcium, le magnésium et le zinc chez les femmes de 55-75 ans (53% contre 62%, 62% contre 71%, et 38% contre 46% respectivement) (Tableau 1).

#### *Risque de dépassement des limites de sécurité*

En considérant uniquement les apports alimentaires (y compris par aliment enrichi), les risques de dépassement des limites de sécurité étaient nuls pour toutes les vitamines et la plupart des minéraux, ou faibles (< 1% des participants). Chez les utilisatrices de complément alimentaire, le risque de dépassement des limites de sécurité était élevé pour le fer (9,1%) et était supérieur à 1% pour le zinc (2,9%) et la vitamine B9 (1,4%). Chez les utilisateurs de complément alimentaire, le risque de dépassement des limites de sécurité était supérieur à 1% pour la vitamine D (1,6%) et la vitamine C (1,2%). Même si le risque de dépassement des limites de sécurité semble limité pour la plupart des micronutriments, ce chiffre est à prendre avec précaution : 1) le risque de dépassement est calculé en calculant une moyenne de l'apport quotidien par complément, il ne reflète pas le risque de dépassement des limites de sécurité sur de courtes périodes et 2) les limites de sécurité sont définies à partir d'effet aigus et ne prennent pas en compte un potentiel effet délétère à long terme sur la santé.

**Tableau 1** : Prévalences moyennes d'inadéquation d'apports en micronutriments dans l'étude INCA2. A partir des données Anses 2015 (49).

	<b>Hommes de 18-64 ans</b>			<b>Femmes de 18-54 ans</b>			<b>Femmes de 55-75 ans</b>		
	Tous (n = 627)	Utilisateurs de complément alimentaire (n = 86)		Toutes (n = 770)	Utilisatrices de complément alimentaire (n = 252)		Toutes (n = 316)	Utilisatrices de compléments alimentaires (n = 97)	
	Apports alimentaires <sup>1</sup>	Apports alimentaires <sup>1</sup>	Apports totaux <sup>2</sup>	Apports alimentaires <sup>1</sup>	Apports alimentaires <sup>1</sup>	Apports totaux <sup>2</sup>	Apports alimentaires <sup>1</sup>	Apports alimentaires <sup>1</sup>	Apports totaux <sup>2</sup>
Vitamine A totale	17	24	24	6	5	4	3	3	2
Vitamine B1	11	13	8	12	9	7	10	8	6
Vitamine B2	4	5	4	14	13	10	13	15	14
Vitamine B3	2	1	0	2	1	0	1	1	1
Vitamine B5	4	4	4	18	18	15	15	16	15
Vitamine B6	18	18	13	20	15	9	14	17	14
Vitamine B9	19	9	8	29	21	17	14	15	11
Vitamine B12	0	0	0	1	1	1	1	2	1
Vitamine C	53	45	36	41	33	23	29	23	19
Vitamine E	17	13	13	11	10	7	6	4	4
Calcium	15	14	14	29	21	20	59	62	53
Cuivre	55	38	38	48	39	38	40	34	33
Fer	0	0	0	22	18	15	1	1	1
Iode	23	26	25	42	42	39	37	30	30
Magnésium	67	63	62	77	71	64	71	71	62
Phosphore	0	0	0	2	1	1	1	2	2
Sélénium	16	9	7	22	20	16	36	40	38
Zinc	9	11	7	24	20	18	35	46	38
Potassium	21	18	18	59	53	52	40	41	41

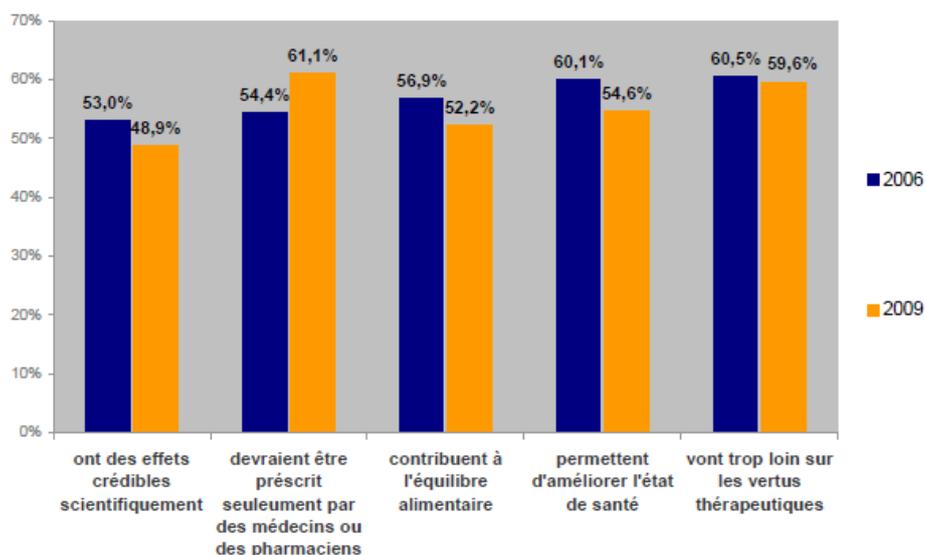
<sup>1</sup> y compris par aliments enrichis.<sup>2</sup> apports alimentaires par aliment enrichi ou non et par complément.

### 4.3.5 Perception des compléments alimentaires par les français

D'après une enquête du Crédoc, en 2009, 55% des personnes interrogées jugeaient que les compléments alimentaires permettaient d'améliorer l'état de santé et 52% qu'ils contribuaient à l'équilibre alimentaire (43). Cependant, environ 60% jugeaient que les compléments allaient « trop loin sur leurs vertus thérapeutiques » ou qu'ils « devraient être prescrit seulement par des médecins ou des pharmaciens » et seulement 49% estimaient qu'ils avaient « des effets crédibles scientifiques » (Figure 8). Par rapport aux personnes interrogées en 2006, les personnes interrogées en 2009 semblaient être plus réservées quant au bénéfice potentiel des compléments alimentaires (Figure 8).

D'après le Crédoc, la plus faible consommation de compléments alimentaires en France par rapport aux Etats-Unis ou au Royaume-Uni s'expliquait en partie par des différences culturelles concernant la représentation de l'alimentation. En France, l'alimentation est traditionnellement liée au plaisir et au partage, alors que dans les pays anglo-saxons, l'alimentation est plus individualisée et liée à la santé.

**Figure 8** : Affirmations correspondant « oui tout à fait » ou « oui plutôt » à l'image que se font les français des compléments alimentaires selon les enquêtes « La santé et l'alimentation » du Crédoc menée en 2006 et 2009. Source : Crédoc 2010 (37).



#### 4.3.6 Prise de compléments alimentaires dans d'autres pays

##### *En Europe*

En 2009, une étude a comparé les prises de compléments alimentaires dans plusieurs pays européens (Danemark, Allemagne, Finlande, Irlande, Italie, Pays-Bas, Pologne, Espagne, Royaume-Uni) à partir d'études menées sur des échantillons représentatifs de la population (50). De façon similaire à ce qui a été observé en France, les aliments enrichis et les compléments alimentaires ne contribuaient que modestement aux apports totaux en micronutriments. La prévalence d'utilisation des compléments alimentaires chez les adultes était très variable d'un pays à l'autre. En Espagne, en 2002-2003, 8% des hommes et 10% des femmes âgés de 18 à 64 ans ont déclaré avoir pris au moins un complément alimentaire au cours des douze derniers mois, alors que les chiffres correspondant étaient de 54% des hommes et 60% des femmes âgés de 4 à 75 ans au Danemark en 2000-2002 (50). La comparaison entre les pays est cependant limitée par des différences au niveau du recueil d'informations et des tranches d'âge considérées.

D'après les données disponibles, le Danemark, la Finlande et l'Allemagne font partie des pays ayant les prévalences d'utilisation de compléments alimentaires les plus élevées (50). En Finlande, la prévalence était estimée à 33% chez les hommes et 50% chez les femmes de 24 à 64 ans en 2007 (51). Les compléments les plus consommés étaient les « multivitamines » et les compléments à base d'acides gras. En Allemagne, la prévalence était estimée à 38% chez les hommes et à 48% chez les femmes de 18 à 79 ans en 1997-1999 (50). D'après une étude menée en 2012-2013 sur un échantillon représentatif d'utilisateurs de compléments alimentaires âgés de 18 à 93 ans, les micronutriments les plus consommés sous forme de complément (qu'il s'agisse ou non de « multivitamines ») étaient le magnésium (59% des utilisateurs), le calcium (37% des utilisateurs), et le zinc (34% des utilisateurs) (52). Près de 70% des utilisateurs prenaient un seul complément et la plupart d'entre eux prenait leur complément quotidiennement (61%) toute au long de l'année (71%) et depuis au moins un an (56%). Au Danemark, une enquête non représentative de la population générale, menée en 1995-1998 auprès d'adultes âgés de 18 à 65 ans, a observé que les compléments les plus consommés étaient les « multivitamines » (81% des consommateurs), puis dans une proportion plus faible la vitamine C (16% des utilisateurs) et les huiles de poisson (13% des utilisateurs) (53). La prévalence d'utilisation des compléments alimentaires était similaire à

celle observée dans une étude représentative de la population danoise en 2000-2002 (environ 60%) (53).

#### *Aux Etats-Unis*

Aux Etats-Unis, la prise de complément alimentaire est plus répandue et plus ancienne qu'en France. D'après les estimations des études NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey), menées sur des échantillons représentatifs de la population des Etats-Unis, la prévalence de la prise de complément alimentaire était de 23% au début des années 1970, 35% à la fin des années 1970, 42% à la fin des années 1980-début des années 1990, et de 50% depuis la fin des années 1990 jusqu'aux dernières estimations en 2010 (54). Cependant ces études ont très probablement sous-estimé l'utilisation saisonnière ou occasionnelle de complément alimentaire en interrogeant les participants sur leur consommation de complément le mois précédent l'étude seulement (54). Une autre étude menée entre 2007 et 2011 à partir d'un échantillon représentatif de la population américaine a estimé que la prévalence de la prise de complément alimentaire était de 66% et que la prévalence de la prise régulière de compléments alimentaires était de 50% (54). Alors qu'en Europe, les aliments restent les principaux contributeurs des apports en micronutriments (50), aux Etats-Unis, les apports par complément dépassent les apports alimentaires pour de nombreux micronutriments (55).

Dans l'étude NHANES 1999-2000, 47% des utilisateurs de complément alimentaire déclaraient prendre un seul complément, 23% déclaraient en prendre deux, 13% déclaraient en prendre trois et 17% déclaraient en prendre quatre ou plus (56). Les estimations de l'étude NHANES 2003-2006 étaient similaires (57). Les compléments en nutriments les plus fréquemment pris au cours du mois précédent l'étude NHANES 1999-2000 étaient les « multivitamines » (67% des utilisateurs), les compléments en vitamine E (24% des utilisateurs) et les compléments en vitamine C (24% des utilisateurs) (56). Dans les études NHANES, le terme « multivitamines » désignait un complément contenant au moins trois micronutriments. Dans l'étude NHANES 2007-2010, les compléments en nutriments ou plantes les plus fréquemment pris au cours du mois précédent l'étude étaient les « multivitamines » (65% des utilisateurs), les compléments en calcium (24% des utilisateurs) et les compléments contenant des oméga-3 ou de l'huile de poisson (20% des utilisateurs) (58). Les compléments en vitamine C et en vitamine E n'étaient plus utilisés que

par 15% et 8% des utilisateurs respectivement. Les compléments en vitamine D étaient utilisés par 10% des utilisateurs (58).

Dans l'étude NHANES 2003-2006, 79% des participants qui ont déclaré prendre au moins un complément au cours du mois précédent ont déclaré en avoir pris tous les jours pendant cette période (57). L'étude NHANES 1999-2000 avait estimé plus précisément la fréquence d'utilisation pour certains types de complément. Environ 90% des participants ayant déclaré prendre des multivitamines ou un complément en vitamine C au cours du mois précédent ont déclaré en avoir pris tous les jours (56). L'utilisation prolongée de certains compléments alimentaires a été estimée dans l'étude NHANES 1999-2000. Environ 25% des utilisateurs de « multivitamines » et 38% des utilisateurs de complément en vitamine C déclaraient en prendre depuis au moins cinq ans, et 14% des utilisateurs de « multivitamines » et 29% des utilisateurs de complément en vitamine C déclaraient en prendre depuis au moins 10 ans (54).

Les caractéristiques associées à la prise de complément alimentaire observées dans les études NHANES et dans plusieurs autres études américaines menées entre 1999 et 2011 étaient similaires à celles observées en France : la fréquence d'utilisation était plus grande chez les femmes et augmentait avec l'âge et le niveau d'études (54). Elle était plus faible chez les personnes en surpoids ou obèses et chez les fumeurs (54). Les raisons principales évoquées par les utilisateurs américains pour expliquer la prise de complément alimentaire étaient d'abord la santé (« être en meilleure santé », « rester en bonne santé », « prévenir les maladies », « pour la santé osseuse », « pour la santé du cœur »...), puis la volonté de compléter les apports alimentaires (54). Contrairement aux Français, la lutte contre la fatigue ne faisait pas partie des raisons évoquées par la majorité des consommateurs. Plusieurs études américaines ont également observé une plus grande utilisation des compléments alimentaires chez les personnes souffrant de maladies chroniques ou ayant eu un cancer (54). Les différences observées au niveau de l'alimentation étaient similaires à celles observées en France, avec une alimentation globalement plus saine chez les utilisateurs de compléments, caractérisée notamment par une consommation plus importante de fruits et légumes et moins importante d'aliments gras (54).

Alors qu'en France, la proportion d'adultes à risque de déficience pour plusieurs micronutriments semble être encore relativement élevée chez les utilisateurs de compléments alimentaires (Tableau 1), les données américaines suggèrent une nette diminution de la proportion de personnes à risque grâce à l'utilisation de compléments alimentaires

(Tableau 2) (54;55). En revanche, le dépassement des limites de sécurité serait aussi plus fréquent et pourrait concerner 10% des utilisateurs pour certains micronutriments dans certaines tranches d'âge (54).

**Tableau 2 :** Adultes à risque de déficience (apports en micronutriments inférieurs à l'EAR) chez les utilisateurs et les non-utilisateurs de compléments alimentaires dans l'étude NHANES 2003-2006. Source : Dickinson et al 2014 (54).

Nutrient	% Below EAR, nonusers	% Below EAR, DS users
Vitamin A	58	2
Vitamin C	48	3
Vitamin D	96	25
Vitamin E	96	5
Folate	14	1
Calcium	51	20
Iron	8	0.6
Zinc	13	0.3

#### 4.3.7 Positionnement des organismes de santé publique concernant la prise de complément alimentaire

En France, le positionnement des organismes publics concernant la prise de complément alimentaire est prudent. Ces produits sont soumis à une réglementation plus stricte que dans d'autres pays européens ou en Amérique du Nord. L'Anses estime actuellement que « pour une grande majorité de la population, une alimentation équilibrée permet d'apporter l'essentiel des nutriments nécessaires pour couvrir les besoins » et recommande « d'éviter des prises prolongées, répétées ou multiples au cours de l'année de compléments alimentaires sans s'entourer des conseils d'un professionnel de santé » (59). En 2009, la SFN concluait à la suite d'une journée de réflexion sur les compléments alimentaires : « Il existe en effet actuellement des erreurs flagrantes, telle la supplémentation systématique en fer des femmes enceintes. Il est également important de protéger le consommateur en définissant clairement la limite de toxicité » (43).

La vision des professionnels de la santé est sans doute moins méfiante vis-à-vis des compléments alimentaires, et la prise de certains compléments alimentaires comme le magnésium, la vitamine C et les « multivitamines », qui font partie des compléments alimentaires les plus consommés en France, est généralement considérée comme sans danger.

#### *4.4 Effets de la prise de complément alimentaire sur la santé*

L'Anses estime actuellement que la prise de complément alimentaire peut s'avérer intéressante dans des groupes de populations spécifiques dont les apports ne suffisent pas à couvrir les besoins nutritionnels mais que « pour une grande majorité de la population, une alimentation équilibrée permet d'apporter l'essentiel des nutriments nécessaires pour couvrir les besoins » et recommande « d'éviter des prises prolongées, répétées ou multiples au cours de l'année de compléments alimentaires sans s'entourer des conseils d'un professionnel de santé » (59).

Les compléments alimentaires représentent une catégorie extrêmement vaste de produits, qui peuvent contenir des vitamines, des minéraux, des plantes et/ou d'autres substances. Les effets à court terme de fortes doses de nutriments sont plutôt bien connus, ce qui n'est pas le cas de tous les compléments à base de plantes ou d'autres substances. C'est dans ce contexte qu'a été créé le dispositif de Nutrigilance à l'Anses en 2010. On ne connaît pas bien non plus les effets à long terme de la prise de complément alimentaire, y compris des compléments à base de vitamines et minéraux.

Bien qu'un très grand nombre d'études se soit intéressé à l'effet des vitamines et minéraux sur l'état de santé, les organismes ayant évalué les bénéfices et risques de la consommation de compléments alimentaires ont souligné le manque d'études sur leur effet à long terme et sur les interactions entre micronutriments ou avec d'autres facteurs liés au mode de vie (60-63).

Les effets à long terme des compléments alimentaires sont difficiles à étudier pour plusieurs raisons. En France et dans plusieurs autres pays européens, un grand nombre de compléments a commencé à être vraiment consommé à partir des années 2000 seulement et les études de cohorte n'ont pas toujours la puissance nécessaire pour pouvoir étudier leur effet sur le risque de maladies avec un temps de latence généralement long, comme le cancer. En France, les compléments alimentaires sont généralement des produits consommés sur de courtes périodes, et qui peuvent contenir des doses très variables de micronutriments. De plus, le marché des

compléments alimentaires a beaucoup évolué ces vingt dernières années. Il est donc nécessaire, pour avoir des données de qualité sur la prise de complément alimentaire, de recueillir des informations répétées et suffisamment précises sur les doses consommées. Le recueil de ces informations est compliqué du fait qu'il s'agit d'une catégorie de produits assez difficile à définir auprès du consommateur, vaste et en constante évolution. Enfin, il peut être difficile d'isoler l'effet d'un constituant ou d'un complément alors que les compléments peuvent contenir plusieurs constituants ou être consommés en même temps.

Concernant spécifiquement le risque de cancer, le WCRF estime que la prise de calcium sous forme de compléments serait associée de manière probable à une diminution du risque de cancer colorectal à partir d'une dose de 1 200 mg/jour (64) et que la prise de complément en  $\beta$ -carotène sous forme de compléments serait associée de manière convaincante à une augmentation du risque de cancer du poumon chez les fumeurs à partir d'une dose de 20 mg/jour (60). Ces données suggèrent que la prise de complément alimentaire peut être bénéfique au sein d'un sous-groupe de population et délétère pour un autre.

## **5. OBJECTIFS DE CETTE THESE**

L'objectif principal de cette thèse était d'étudier les relations entre la prise de complément en vitamine D, complément particulièrement fréquemment consommé par les femmes après la ménopause, ou en vitamine C, un des compléments les plus consommés dans l'ensemble de la population, et le risque de cancer du sein dans la cohorte E3N.

On entend par complément en vitamine D ou en vitamine C tout produit correspondant à la définition réglementaire de complément alimentaire (cf. Partie 2.2), vendu en tant que tel ou sous forme de médicament. Les compléments en vitamine C ou en vitamine D font partie des compléments les plus consommés en France, en Europe et en Amérique du Nord.

Les objectifs secondaires de cette thèse étaient d'étudier si la relation étudiée différait selon le caractère passé ou récent de la prise de complément alimentaire et d'étudier de potentielles interactions avec d'autres facteurs liés au mode de vie.

**PRISE DE COMPLEMENT EN  
VITAMINE D ET RISQUE DE CANCER  
DU SEIN APRES LA MENOPAUSE**

---

## 1. CONTEXTE

### 1.1 Sources d'apport en vitamine D

La vitamine D est naturellement apportée en faible proportion par l'alimentation, elle est majoritairement synthétisée par l'exposition solaire cutanée. La vitamine D est présente sous la forme de vitamine D2 (ergocalciférol) dans les produits végétaux ou D3 (cholécalfiérol) dans les produits animaux.

La majorité de la vitamine D3 est synthétisée par une série de réactions déclenchées par l'exposition de la peau aux UV-B : de la provitamine D3 est synthétisée à partir du 7-déhydrocholestérol présent dans la peau, puis la provitamine D3 va spontanément s'isomériser pour donner la vitamine D3. Cependant, en automne et en hiver, l'exposition solaire ne permet pas la synthèse de vitamine D au-dessus de la latitude de 35° Nord à cause du manque d'UV-B (65).

Les aliments qui contiennent naturellement de la vitamine D sont rares, ce sont essentiellement les poissons gras, et en particulier le foie de ces poissons, mais aussi en quantités beaucoup plus faibles le foie d'animal, le jaune d'œuf, les fromages, et les champignons (Tableau 3). Les poissons gras sont les aliments qui contiennent la plus grande quantité de vitamine D. On la trouve également en quantités beaucoup plus faibles dans certains abats (foie), les jaunes d'œufs, les fromages, et les champignons (Tableau 3). A titre de comparaison, 100g de saumon cuit à la vapeur apportent environ 348 UI d'après les données du CIQUAL (66) alors qu'une exposition solaire du corps entier pendant au moins 20 à 30 minutes équivaut à un apport de 10 000 à 25 000 UI (67). D'après les données du CIQUAL, en 2013 (66), les produits enrichis en vitamine D sont principalement des produits destinés exclusivement aux enfants. Les autres produits enrichis en vitamine D étaient en nombre très limité, et avec des niveaux d'enrichissement plutôt bas. Il s'agit surtout de produits pour le petit-déjeuner (céréales, poudre cacaotée) et de lait et produits laitiers.

**Tableau 3** : Valeurs indicatives de la teneur en vitamine D de plusieurs aliments d'après les données du CIQUAL. Source : CIQUAL 2013 (66).

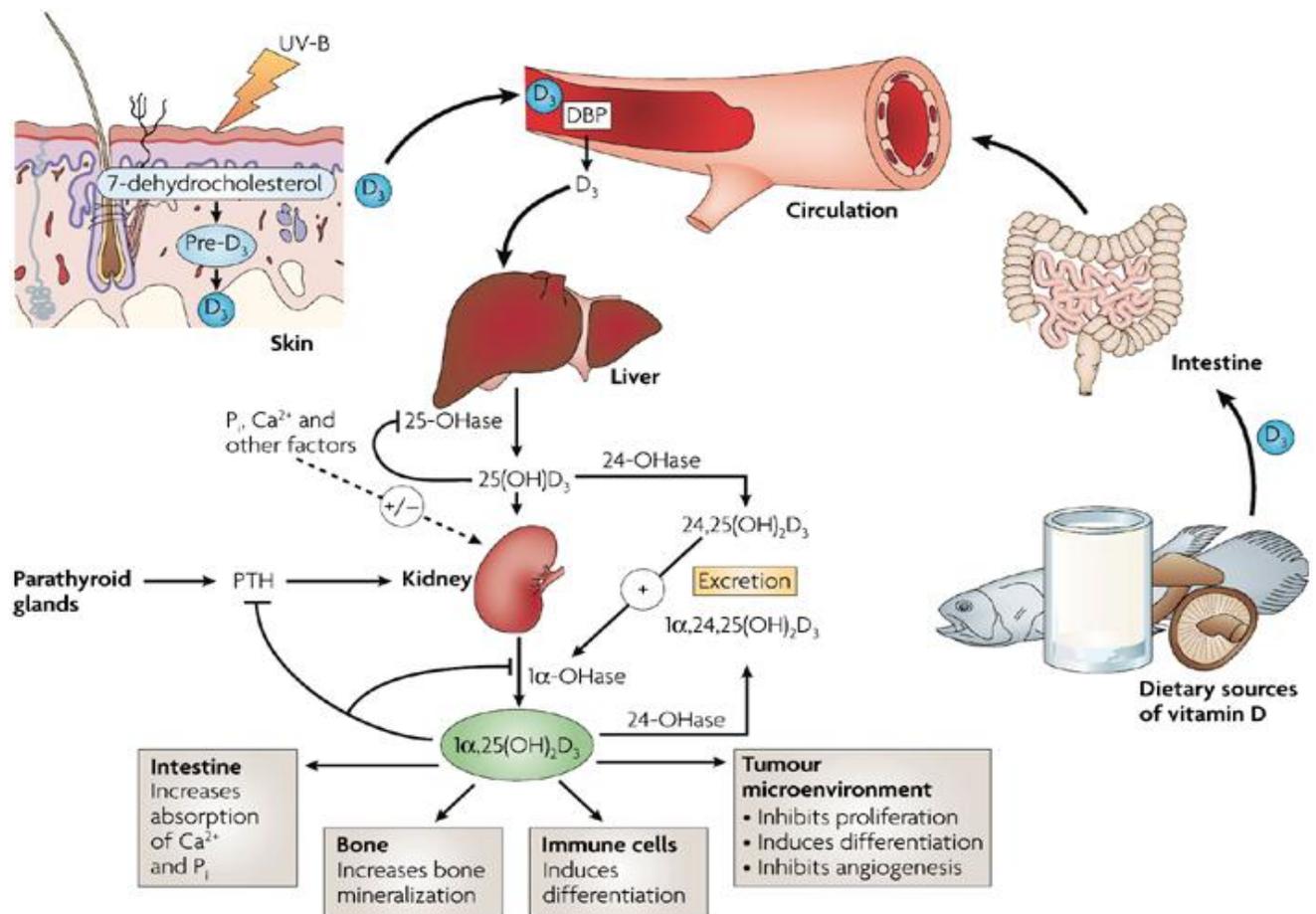
<b>Aliments</b>	<b>Teneur en UI/100g</b>
Huile de foie de morue	10 000
Foie de morue appertisé, égoutté	2 172
Truite cuite au four	440
Saumon cuit à la vapeur	348
Sardine à l'huile appertisée, égouttée	285
Thon au naturel appertisé, égoutté	194
Saumon fumé	119
Foie gras	110
Foie de veau cuit	101
Emmental	72
Œuf cru	60
Champignons de Paris sautés	47
Champignons crus ou appertisés égouttés	8

Note : ces valeurs sont indicatives. Le mode d'élevage des poissons gras pourrait avoir une influence sur la teneur en vitamine D, comme le suggère une étude ayant rapporté que du saumon d'élevage contenait environ quatre fois moins de vitamine D3 que du saumon sauvage pêché en Alaska (68).

## 1.2 Métabolisme de la vitamine D

Les vitamines D2 et D3 issues de l'alimentation ou de l'exposition solaire (cf. Partie 1.1) vont subir deux hydroxylations pour être activées. Ces étapes sont schématisées dans la Figure 9.

**Figure 9** : Métabolisme de la vitamine D et effets sur la santé. Source : Deeb et al 2007 (69).  
Figure reproduite avec l'autorisation de Nature Publishing Group.



Nature Reviews | Cancer

### 1.2.1 Hydroxylation de la vitamine D en 25-hydroxyvitamine D

En premier lieu, la vitamine D est hydroxylée dans le foie par une enzyme (la 25-hydroxylase) en 25-hydroxyvitamine D. L'hydroxylation de la vitamine D en 25-hydroxyvitamine D est peu régulée et dépend directement de la quantité de vitamine D

disponible. La 25-hydroxyvitamine D est la forme circulante de la vitamine D. Elle a une demi-vie d'au moins deux mois (70). C'est cette forme qui est mesurée pour déterminer le statut d'un individu en vitamine D.

Une partie de la vitamine D (D2 ou D3) ingérée ne va pas directement être hydroxylée dans le foie, mais va être stockée dans le tissu adipeux (71;72). Plusieurs études animales ont suggéré qu'une partie de la vitamine D pourrait aussi être stockée dans les muscles (72;73). Des études rapportent une augmentation des taux circulants de 25-hydroxyvitamine D après une perte de poids chez des sujets obèses (74-76). La vitamine D stockée pourrait être utilisée par l'organisme en cas d'apports insuffisants, notamment l'hiver. Des études ont observé des concentrations plus faibles de 25-hydroxyvitamine D chez les personnes en surpoids ou obèses, après la prise d'une même dose de vitamine D (77-80). Ces résultats suggèrent que la proportion de vitamine D stockée serait plus élevée chez les personnes obèses que les personnes non obèses. L'hypothèse avancée est que la vitamine D stockée serait corrélée à la masse grasse et que ce stockage se ferait indépendamment des besoins de l'organisme. Ainsi, les personnes obèses auraient besoin d'un apport plus élevé en vitamine D. En réalité, les mécanismes physiologiques qui régulent le stockage et le relargage de la vitamine D stockée dans la circulation sanguine ne sont pas connus (81). De même, on ne connaît pas les conséquences d'une saturation du stockage de la vitamine D.

Plusieurs facteurs ont été identifiés comme ayant une influence sur l'hydroxylation de la vitamine D en 25-hydroxyvitamine D. Ces facteurs sont décrits dans la Partie 1.3.

### **1.2.2 Hydroxylation de la 25-hydroxyvitamine D en calcitriol**

La 25-hydroxyvitamine D est ensuite hydroxylée dans les reins par une enzyme (la  $1\alpha$ -hydroxylase) en 1,25-dihydroxyvitamine D (ou calcitriol). Le calcitriol est une hormone, c'est la forme active de la vitamine D. Il a une demi-vie courte, environ 4 à 6 heures (82).

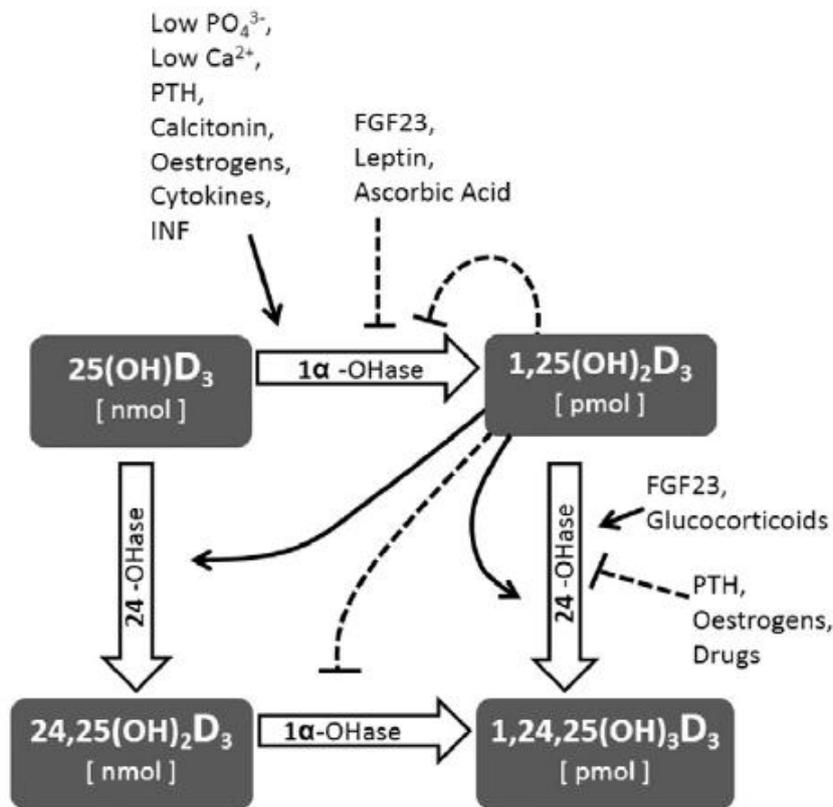
Une partie de la 25-hydroxyvitamine D ne va pas être hydroxylée en calcitriol mais va être dégradée en 24,25 dihydroxyvitamine D par la 24-hydroxylase puis en 1,24,25-trihydroxyvitamine D3 par la  $1\alpha$ -hydroxylase pour être excrétée sous forme d'acide calcitroïque (Figure 10) (83;84). Lorsque la concentration en 25-hydroxyvitamine D augmente, la dégradation du 25-hydroxyvitamine D en 24,25 dihydroxyvitamine D augmente aussi (85). Pour une même concentration de 25-hydroxyvitamine D, des variations interindividuelles du niveau de dégradation de 25-hydroxyvitamine D en 24,25

dihydroxyvitamine D ont été constatées mais les facteurs permettant d'expliquer ces variations sont mal connus (85). La 24,25 dihydroxyvitamine D a longtemps été considérée comme un simple catabolite, mais de plus en plus d'études suggèrent la possibilité d'un rôle physiologique encore inconnu (85;86).

Les niveaux de calcitriol synthétisés dans les reins sont étroitement régulés afin de maintenir l'homéostasie phosphocalcique. Une surproduction de calcitriol conduirait en effet à une hypercalcémie. La corrélation entre les concentrations en calcitriol et les concentrations en 25-hydroxyvitamine D est faible ( $r = 0.02-0.31$ ) (87). La régulation de la quantité de calcitriol produite se fait par l'intermédiaire de deux enzymes : la  $1\alpha$ -hydroxylase, qui contrôle la synthèse du calcitriol à partir de la 25-hydroxyvitamine D, et la 24-hydroxylase, qui contrôle le catabolisme de la 25-hydroxyvitamine D et du calcitriol (84). La 24-hydroxylase hydroxyle le calcitriol en 1,24,25-trihydroxyvitamine D qui sera ensuite excrété sous forme d'acide calcitroïque. Le rôle de la 24-hydroxylase dans le catabolisme de la 25-hydroxyvitamine D a été décrit au paragraphe précédent. L'activité de ces deux enzymes dépend de plusieurs hormones, en particulier la PTH mais aussi par exemple les œstrogènes et la leptine, et de d'autres substances (Figure 10). Elle est aussi régulée par un rétrocontrôle exercé par le calcitriol (86) : plus la quantité de calcitriol synthétisé augmente et plus l'activité de la 24-hydroxylase augmente et l'expression et l'activité de la  $1\alpha$ -hydroxylase diminuent.

Bien que la synthèse de calcitriol s'effectue majoritairement dans les reins, la présence de la  $1\alpha$ -hydroxylase et de la 24-hydroxylase dans d'autres tissus tels que le côlon, la prostate, ou le sein (83), suggère qu'une partie du calcitriol produit est utilisée localement dans certains tissus et n'est pas relarguée dans la circulation générale (87). Plusieurs éléments suggèrent que les mécanismes régulant le métabolisme et le catabolisme du calcitriol ne sont pas les mêmes selon le tissu considéré (83;86). Ces mécanismes ne sont pas connus en ce qui concerne le sein (83). On ne sait pas non plus comment la 25-hydroxyvitamine D est transportée jusqu'au tissu cible (83).

**Figure 10 :** Facteurs influençant le métabolisme et le catabolisme du calcitriol. Source : Pasquali et al 2015 (84).



### 1.2.3 Rôle du calcitriol

Le calcitriol est surtout connu pour son effet protecteur sur l'os : il influence l'homéostasie phosphocalcique en augmentant l'absorption du calcium et du phosphore et en favorisant la fixation du calcium sur l'os. D'autres effets sur la santé ont été suggérés. En particulier, plusieurs études ont décrit son action sur des mécanismes impliqués dans l'immunité et le cancer (Figure 9) (69).

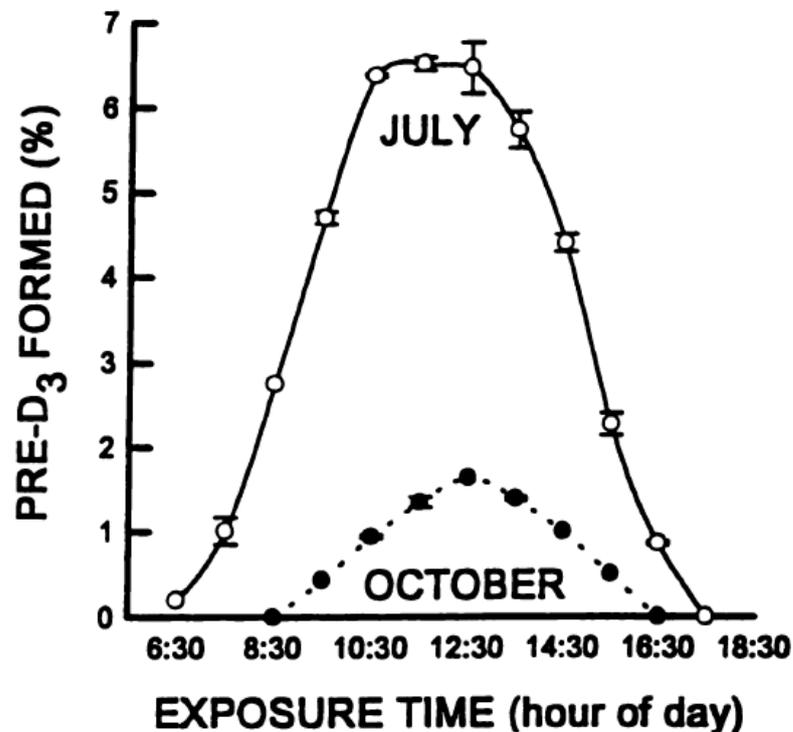
## 1.3 Facteurs influençant le métabolisme de la vitamine D

### 1.3.1 Facteurs influençant la photosynthèse cutanée de vitamine D

- *Le port de vêtements.* La plupart des vêtements absorbe les rayons UV-B, ce qui empêche la biosynthèse cutanée de vitamine D au niveau des zones couvertes (88).

- *Le port de crème solaire.* La crème solaire empêche la biosynthèse cutanée de vitamine D au niveau des zones découvertes (88).
- *La saison, la latitude et le moment de la journée.* La quantité d'UV-B reçue à la surface de la terre dépend de ces trois facteurs. Au-dessus de la latitude de 35° Nord, en automne et en hiver, une quantité très faible d'UV-B atteint la surface de la terre. A Edmonton au Canada (52°N), aucune synthèse de provitamine D3 n'a été observée entre mi-octobre et mi-avril. A Boston (42°N), aucune synthèse de provitamine D3 n'a été observé entre novembre et février. Alors qu'à Los Angeles (34°N) ou Puerto Rico (18°N), la provitamine D3 est produite toute l'année (88). La quantité d'UV-B reçue varie aussi au cours de la journée, pour atteindre son maximum en milieu de journée. La production de provitamine D3 varie de la même façon au cours de la journée (Figure 11) (89).

**Figure 11** : Variation de la photosynthèse de provitamine D3 au cours de la journée à Boston (42°N) en octobre et en Juillet. Source : Holick 1994 (89). Figure reproduite avec l'autorisation de l'American Society for Nutrition.



- *L'âge.* La biosynthèse cutanée de vitamine D serait deux fois moins efficace chez des personnes âgées (> 70 ans) que chez des sujet jeunes ( $\leq$  18 ans), l'explication avancée est une baisse de la concentration en 7-déhydrocholestérol dans l'épiderme (90).
- *La couleur de la peau.* La mélanine, présente en plus grande quantité dans les peaux foncées, peut absorber les rayons UV-B, ce qui pourrait diminuer la synthèse de provitamine D3 (91). Une étude a estimé que la synthèse de provitamine D3 dans la peau de personnes à la peau foncées (type IV) était 5 à 10 fois plus faible que chez des personnes à la peau claire (type II) (68). Une autre étude a observé, après une même dose d'exposition aux UV, des concentrations en 25-hydroxyvitamine D3 plus faibles chez des personnes à peau noires que chez des personnes de type caucasien (92).
- *Une exposition prolongée au soleil.* La quantité de vitamine D3 photosynthétisée augmente avec la quantité d'UV-B reçue jusqu'à atteindre un seuil qui dépend de la sensibilité de l'individu aux UV-B (âge, couleur de la peau...). On estime que ce seuil se situe environ entre 10 000 et 25 000 UI et est atteint au bout de 20 à 30 minutes d'exposition du corps entier au soleil (65). On sait que la biosynthèse cutanée de vitamine D est limitée (81). Cela serait dû d'une part au fait que 10 à 15% au plus de la concentration en 7-déhydrocholestérol de la peau peut être converti en provitamine D3 (88), et d'autre part au fait qu'une partie de la vitamine D produite va être dégradée sous l'action des UV-A et des UV-B avant d'avoir pu rejoindre la circulation sanguine (88;93)

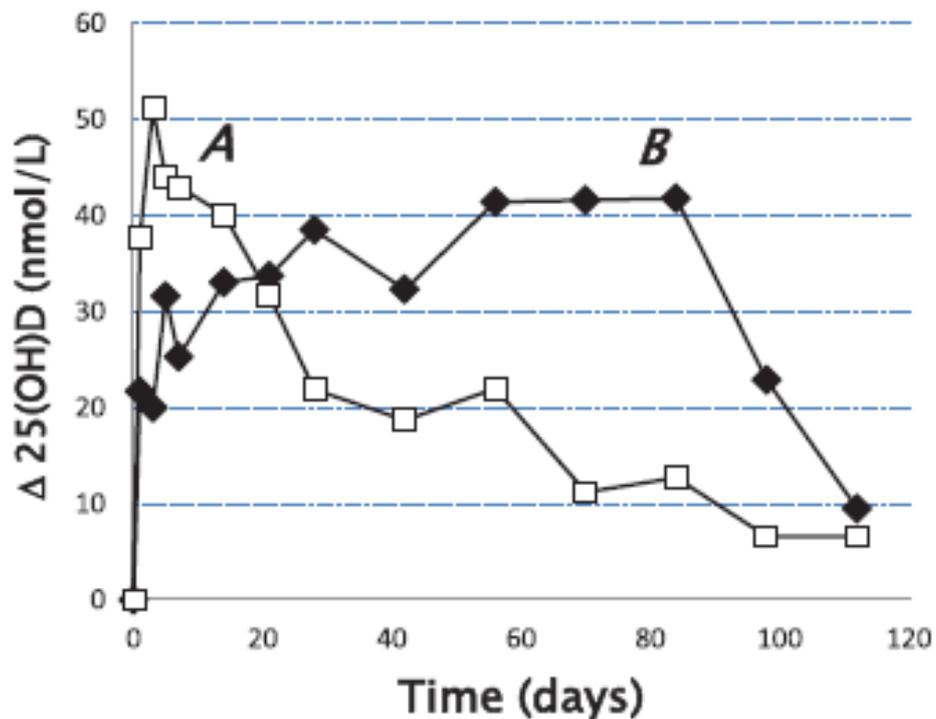
### **1.3.2 Facteurs influençant l'effet de la prise de complément en vitamine D sur les concentrations en 25-hydroxyvitamine D**

L'hydroxylation de la vitamine D en 25-hydroxyvitamine D dépend directement de la quantité de vitamine D disponible.

Cependant, lors de l'administration d'une même dose de vitamine D par voie orale, la hausse de la concentration en 25-hydroxyvitamine D induite est très hétérogène d'un individu à l'autre (94;95). La Figure 12 illustre la réponse de deux individus après la prise d'une même dose de 100 000 UI de vitamine D. Chez l'individu A, la concentration en 25-hydroxyvitamine D augmente très rapidement puis diminue progressivement alors que chez l'individu B, la concentration en 25-hydroxyvitamine D augmente progressivement pour ne diminuer qu'au bout de 80 jours. Ainsi la concentration en 25-hydroxyvitamine D est plus

élevée chez l'individu A les 20 premiers jours, puis elle est plus élevée chez l'individu B jusqu'à la fin de l'étude (120 jours).

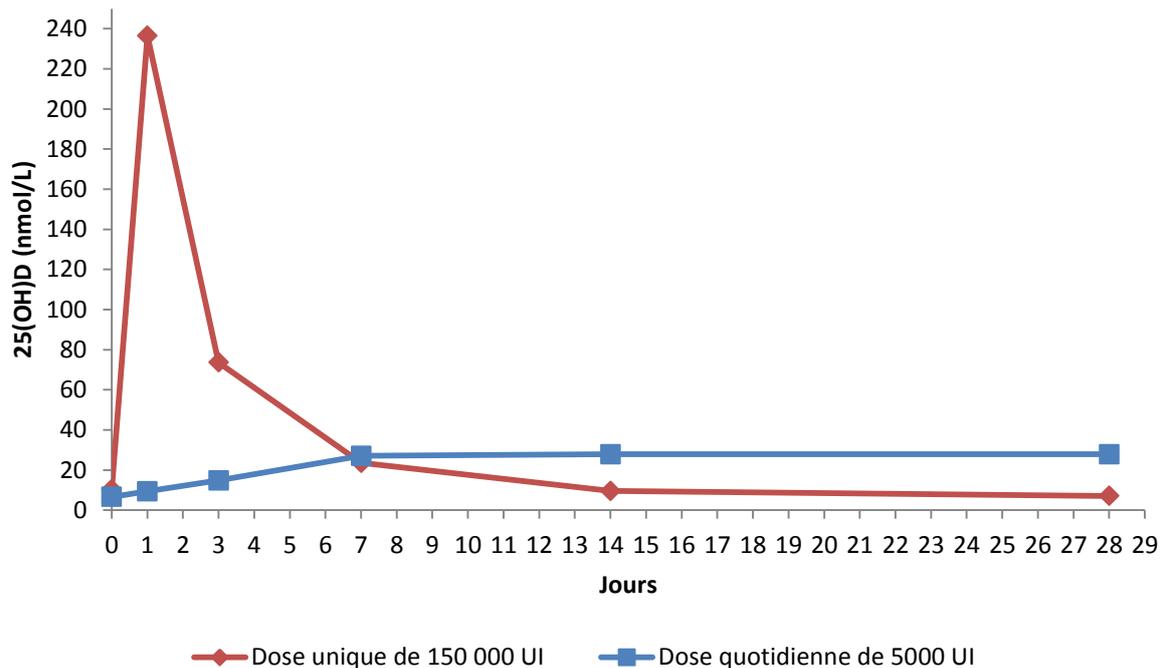
**Figure 12 :** Variation des taux de 25-hydroxyvitamine chez deux individus après la prise de 100 000 UI de vitamine D. Source : Heaney et al 2014 (96) à partir des données d'Ilhai et al 2008 (97). Figure reproduite avec l'autorisation d'Oxford University Press.



Par ailleurs, la hausse des concentrations en 25-hydroxyvitamine D après la prise de vitamine D ne sera pas la même pour une prise quotidienne de vitamine D ou si la dose est administrée en une dose de charge. Meekins et al (98) ont comparé la hausse des concentrations en 25-hydroxyvitamine D après l'administration de 5 000 UI par jour de vitamine D et l'administration d'une dose de 150 000 UI au début du suivi (ce qui équivaut à peu près à la dose totale administrée aux participantes qui ont reçu 5 000 UI par jour pendant les 28 jours de l'étude). Leurs résultats sont représentés dans la Figure 13. L'aire sous la courbe des deux groupes était similaire, mais on observe que les variations de concentrations en 25-hydroxyvitamine D au cours du temps sont très différentes. Ainsi, la dose unique a entraîné une hausse très importante à court terme des concentrations en 25-hydroxyvitamine D, mais au bout d'une semaine, la concentration moyenne de 25-hydroxyvitamine D dans ce groupe était plus faible que chez les femmes à qui on a administré

une dose quotidienne de vitamine D. Ces résultats très intéressants sont cependant à nuancer du fait du petit nombre de participantes (39 femmes).

**Figure 13** : Variation des taux circulants de 25-hydroxyvitamine D chez 39 femmes âgées de 18 à 40 ans après administration d'une dose unique de 150 000 UI de vitamine D ou d'une dose quotidienne de 5000 UI de vitamine D pendant 28 jours. A partir des données de Meekins et al 2014 (98).



Plusieurs facteurs pourraient en partie expliquer la variation des concentrations en 25-hydroxyvitamine D d'un individu à l'autre pour une même dose de vitamine D :

- *La concentration basale en 25-hydroxyvitamine D.* La variation de la concentration en 25-hydroxyvitamine D après la prise d'un complément en vitamine D est inversement corrélée à la concentration basale en 25-hydroxyvitamine D (27;99-103). Plusieurs auteurs ont avancé qu'une quantité limitée de vitamine D pourrait être hydroxylée en 25-hydroxyvitamine D, mais les mécanismes sous-jacents ne sont pas connus (96;100;104).
- *Le rapport 25-hydroxyvitamine D / 24,25-dihydroxyvitamine D.* Dans une étude, ce rapport (qui reflète le niveau de catabolisme de la 25-hydroxyvitamine D) était inversement corrélé à l'augmentation de la concentration en 25-hydroxyvitamine D

après la prise d'un complément en vitamine D, indépendamment de la concentration basale en 25-hydroxyvitamine D (85).

- *L'IMC.* La plupart des études ayant étudié l'influence de l'IMC sur la hausse des concentrations en 25-hydroxyvitamine D après l'administration d'une même dose de vitamine D a observé une hausse plus faible chez les personnes en surpoids ou obèses indépendamment de la concentration basale en 25-hydroxyvitamine D (77;79;99;100;104-107). L'explication qui a été avancée pour expliquer ces résultats est qu'une plus grande part de la vitamine D ingérée va être prélevée par le tissu adipeux et les muscles avant de pouvoir être hydroxylée en 25-hydroxyvitamine D dans le foie (79).

Plusieurs autres facteurs qui pourraient influencer la hausse des concentrations en 25-hydroxyvitamine D en réponse à la prise de vitamine D ont été avancés:

- *Le type de vitamine D (D2 ou D3).* Les résultats d'une méta-analyse suggèrent que la vitamine D3 serait associée à une hausse des concentrations en 25-hydroxyvitamine D plus élevée que la vitamine D2 lorsque les doses administrées sont des doses de charge mais pas pour des doses quotidiennes (108). Une étude a suggéré que pour des doses quotidiennes, la vitamine D3 serait associée à long terme à une hausse plus élevée des concentrations en 25-hydroxyvitamine D (109). L'influence du type de vitamine D pourrait être expliquée par une plus grande affinité de la 25-hydroxylase pour la vitamine D3 et une plus grande affinité de la vitamine D3 pour le récepteur de la vitamine D (VDR) et la protéine responsable du transport de la vitamine D dans le sang (VDBP) (108).
- *Des facteurs génétiques.* Plusieurs gènes impliqués dans le métabolisme de la vitamine D ont été associés aux niveaux de concentrations basales en 25-hydroxyvitamine D et aux variations de l'augmentation des concentrations en 25-hydroxyvitamine D après l'administration d'une même dose de vitamine D (100;103;110-114).
- *La prise d'œstrogènes.* Les œstrogènes augmentent l'hydroxylation de la vitamine D dans le foie et augmentent la concentration sanguine de la protéine de transport de la vitamine D (VDBP) (115). Plusieurs études ont observé que la concentration basale en 25-hydroxyvitamine D était plus élevée chez les utilisatrices de contraceptif oral par rapport aux non-utilisatrices (102;116-118). Un seul essai a évalué si la prise d'un

contraceptif oral pouvait influencer la hausse des concentrations en 25-hydroxyvitamine D après administration d'une même dose de vitamine D, indépendamment des concentrations basales de 25-hydroxyvitamine D. La dose d'œstrogènes apportée par la prise d'un contraceptif oral était positivement associée à la hausse des concentrations en 25-hydroxyvitamine D (102).

- *Les apports en calcium.* Deux études ont rapporté une association positive entre les apports en calcium et la hausse des concentrations en 25-hydroxyvitamine D après administration d'une dose de vitamine D (119;120). La plus forte augmentation des concentrations en 25-hydroxyvitamine D observée pourrait être due au fait que le calcium entraîne une diminution de la concentration en PTH et une augmentation de la concentration en calcium ionisé, ce qui a pour effet de diminuer la production de calcitriol à partir de la 25-hydroxyvitamine D. Cependant, l'augmentation des concentrations en 25-hydroxyvitamine D observée était faible, et n'a pas été retrouvée dans une autre étude (121). *Les apports en lipides :* La vitamine D étant liposoluble, plusieurs études ont étudié l'influence des apports en lipides sur la hausse des concentrations en 25-hydroxyvitamine D après administration d'une dose de vitamine D. Alors que les apports totaux en lipides ne semblaient pas avoir d'influence dans deux essais randomisés (122;123), un des essais suggère une influence du type de lipides apporté (123). Dans cet essai, l'augmentation des concentrations en 25-hydroxyvitamine D était associée négativement aux apports en acides gras polyinsaturés et positivement aux apports en acides gras monoinsaturés, indépendamment des concentrations basales de 25-hydroxyvitamine D, de l'IMC et des apports totaux en énergie (123).
- *Certaines maladies et médicaments.* Il a été avancé que la hausse des concentrations en 25-hydroxyvitamine D après la prise de vitamine D pourrait être plus faible chez les personnes atteintes de maladies associées à une mauvaise absorption des nutriments dans l'intestin, comme la mucoviscidose, la maladie cœliaque, ou la maladie de Crohn (124). Plusieurs études suggèrent que la prise de médicament pourrait avoir une influence sur les concentrations en 25-hydroxyvitamine D, mais le nombre d'études bien conduites est insuffisant pour pouvoir conclure sur ces associations (125).

#### *1.4 Recommandations d'apport en vitamine D*

Les apports alimentaires en vitamine D ne sont indispensables que lorsque l'exposition aux UV-B est insuffisante, ce qui varie fortement d'un individu à l'autre et selon la saison. Le principal signe clinique d'une carence en vitamine D est l'ostéomalacie (signe que l'accumulation des éléments minéraux au niveau du squelette ne se fait pas correctement). Les autres signes cliniques sont : la baisse de tonus musculaire, les crises de tétanie et les convulsions (en lien avec une hypercalcémie), et parfois l'anémie.

Les recommandations françaises d'apport en vitamine D ont été établies en 2001. Elles sont de 200 UI par jour pour les adultes, et de 400 à 600 UI par jour pour les personnes âgées (126). Elles s'appuient sur les recommandations du comité scientifique d'évaluation des recommandations nutritionnelles américaines de 1997 (127).

Ces recommandations ne correspondent pas à la définition habituelle des recommandations en micronutriments, c'est-à-dire aux apports permettant de couvrir les besoins de 97,5% d'une population (par âge et par sexe). En effet, les données disponibles pour l'établissement des recommandations en vitamine D étaient extrêmement limitées à la fin des années 90, notamment pour les personnes de moins de 70 ans. Une des principales limites des études sur la détermination des apports en vitamine D permettant d'atteindre des concentrations adéquates de 25-hydroxyvitamine D est que l'exposition solaire n'avait pas été quantifiée. Pour les individus de 70 ans ou plus, pour lesquels l'exposition solaire contribue moins aux apports en vitamine D, les recommandations ont été établies à partir d'études sur l'effet de la prise de vitamine D sur les concentrations en parathormone (PTH) ou en 25-hydroxyvitamine D, la résorption osseuse ou le risque de fracture.

En 2010, les recommandations américaines ont été actualisées et sont passées à 600 UI par jour pour les adultes jusqu'à 70 ans et à 800 UI par jour à partir de 71 ans (81). Plusieurs pays comme les pays nordiques (128) ou l'Allemagne (129) ont suivi en réévaluant leurs recommandations d'apport en vitamine D à la hausse. Les recommandations actuelles en vitamine D pour les adultes dans plusieurs pays d'Amérique du Nord et d'Europe sont présentées dans le Tableau 4.

Les recommandations en vitamine D sont établies à partir des données sur l'effet de la vitamine D sur la santé des os. D'autres effets potentiels ont été évalués (cancer, maladies cardiovasculaires, hypertension, diabète, syndrome métabolique, chutes, système immunitaire,

infections, pré-éclampsie, fonctionnement psychologiques...) mais ont été jugés trop faibles ou incertains pour être considérés dans l'établissement des recommandations.

Des apports excessifs en vitamine D peuvent entraîner les symptômes suivants : maux de tête, nausées, vomissements, perte de poids, asthénie. En France, la limite de sécurité pour les apports alimentaires en vitamine D chez les adultes est actuellement de 1 000 UI par jour (126). Dans les autres pays considérés, la limite de sécurité fixée était plus élevée (Tableau 4).

**Tableau 4** : Recommandations actuelles en vitamine D pour les adultes (hors femmes enceintes ou allaitantes) dans différents pays.

	<b>Danemark, Finlande, Norvège, Suède, Islande (128)</b>	<b>Etats-Unis, Canada (81)</b>	<b>Allemagne (129)</b>	<b>Australie, Nouvelle-Zélande (130)</b>	<b>France (126)</b>	<b>Grande-Bretagne (131)</b>
<b>Organisme</b>	Nordic Nutrition Recommendations (NNR)	Institute of Medicine (IoM)	German Nutrition Society (DGE)	National Health and Medical Research council (NHRMC)	Agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA)	Department of Health
<b>Année de publication</b>	2013	2010	2012	2005	2001	1998
<b>Recommandations (UI/jour)</b>						
Adultes	400	600	800	200	200	-
Personnes âgées*	800	800	800	400-600	400-600	400
<b>Limite de sécurité (UI/jour)</b>	4 000	4 000	4 000	3 200	1 000	2 000

\* la tranche d'âge correspondant à cette population diffère selon les pays

### *1.5 Recommandations en 25-hydroxyvitamine D*

En France, les recommandations de l'Académie de Médecine établies en 2012 pour les taux sériques de 25-hydroxyvitamine D sont de 50 ou 75 nmol/L selon les apports en calcium (132) et celles du GRIO (Groupe de Recherche et d'Information sur les Ostéoporoses), établies en 2011, sont de 75 à 175 nmol/L (133). Selon l'étude ENNS menée en 2006-2007 sur un échantillon représentatif de la population française, 80,1% des adultes avaient une concentration en 25-hydroxyvitamine D inférieure à 75 nmol/L et 42,5% avaient une concentration inférieure à 50 nmol/L (134). Etant donnée la forte prévalence de l'insuffisance en vitamine D (définie par une concentration en 25-hydroxyvitamine D inférieure à 75 nmol/L), le GRIO a recommandé en 2011 la prescription systématique de compléments en vitamine D chez les plus de 65 ans (133).

Si l'on compare les recommandations en 25-hydroxyvitamine D de plusieurs organismes, on s'aperçoit que les seuils choisis pour définir la carence, l'insuffisance, les recommandations d'apport et la toxicité ne font pas consensus (Tableau 5). Ces recommandations ont été fixées à partir d'études sur l'effet des concentrations en 25-hydroxyvitamine D sur la santé. Le seul effet actuellement reconnu de manière consensuelle est celui sur les os, c'est donc sur ce critère qu'ont été établies les recommandations en 25-hydroxyvitamine D. Cependant, les indicateurs utilisés pour mesurer l'effet des concentrations en 25-hydroxyvitamine D sur les os peuvent être très différents (effet sur la production de parathormone (PTH), l'absorption du calcium, la densité minérale osseuse, le risque de chute, de fracture, de rachitisme ou d'ostéomalacie) (Annexe 2) (135).

Pourtant, ce sont à partir des recommandations en 25-hydroxyvitamine D que les recommandations d'apport en vitamine D ont été estimées. Elles sont également utilisées en routine par les professionnels de la santé pour évaluer l'insuffisance d'apport en vitamine D à l'échelle individuelle et décider d'une éventuelle prescription de compléments en vitamine D.

**Tableau 5** : Recommandations en 25-hydroxyvitamine D de plusieurs organismes. Source : HAS 2013 (135).

<b>Organisme</b>	Fondation internationale de lutte contre l'ostéoporose (IFO)	Rapport d'experts de l'association canadienne « Ostéoporose Canada »	Institut de médecine américain (IoM)	Groupe de Recherche et d'Information sur les Ostéoporoses (GRIO)	Société américaine d'endocrinologie	Académie nationale de médecine
<b>Année de publication</b>	2010	2010	2011	2011	2011	2012
<b>Seuils définis (nmol/L)</b>						
Carence	-	< 25	-	< 25	< 50	< 30
Insuffisance	-	25-75	-	25-75	52,5-72,5	-
Recommandations	> 75	> 75	> 50	75-175	75-250	50 à 75-80*
Toxicité	-	> 250	125	> 375	> 250	> 250

\* Selon les apports calciques : 50 nmol/L pour des apports calciques moyens de 1200-1500 mg/jour et 75-80 nmol/L pour des apports calciques moyens de 700-1000 mg/jour

## *1.6 Apports en vitamine D dans la population française*

### **1.6.1 Apports alimentaires en vitamine D**

En France, l'Etude individuelle nationale sur les consommations alimentaires 2006-2007 (INCA2) a estimé les apports nutritionnels moyens en France à partir d'un carnet de consommation de 7 jours consécutifs (45). Les produits enrichis ont été pris en compte. Chez les adultes âgées de 18 à 79 ans, l'alimentation apportait en moyenne 100 UI par jour de vitamine D, soit la moitié des apports alimentaires recommandés. Les poissons étaient la principale source alimentaire de vitamine D, ils contribuaient à 38% des apports. Les œufs et les fromages contribuent respectivement à 10 et 8% des apports.

D'après un rapport de l'Anses s'appuyant sur les données collectées par l'étude INCA2, l'estimation de la prévalence d'inadéquation en vitamine D des adultes français, en considérant un BNM de 400 UI/jour et en prenant en compte uniquement les apports alimentaires (enrichis ou non), était proche de 100% quelle que soit la classe d'âge considérée (49). La prévalence d'inadéquation en vitamine D chez les utilisateurs de complément alimentaire n'était pas précisée (49). L'apport moyen en vitamine D avait augmenté de 63% après prise en compte des apports par complément chez les utilisateurs de complément alimentaire, en passant de 100 à 188 UI/jour, ce qui reste néanmoins inférieur au BNM de 400 UI/jour considéré dans ce rapport (49). En considérant une limite de sécurité de 4 000 UI/jour de vitamine D, la prévalence de dépassement de la limite de sécurité était nulle avec les apports alimentaires (enrichis ou non) et faible en prenant aussi en compte les apports par complément (0,1% dans l'ensemble de la population et 0,7% chez les utilisateurs de compléments alimentaires) (49). Cependant, cette estimation a été calculée en considérant la moyenne d'apport en vitamine D par jour sur l'année écoulée, certains utilisateurs ont donc pu avoir des apports supérieurs à la limite de sécurité sur une courte durée.

L'étude INCA2 a pris en compte les aliments enrichis (notion définie dans l'Introduction Générale). En France, l'enrichissement d'aliments destinés à l'ensemble de la population a été beaucoup plus tardif que dans d'autres pays européens ou en Amérique du Nord et y est beaucoup moins répandu (136;137).

L'enrichissement des aliments en vitamine D est autorisé en France depuis 1993 pour les laits infantiles, depuis 2001 pour le lait et les produits laitiers (arrêté du 11 octobre 2001), depuis

2004 pour les huiles végétales alimentaires vendues directement au consommateur (arrêté du 8 octobre 2004) et depuis 2006 pour les autres aliments à l'exception des denrées alimentaires non transformées (fruits, légumes, viande, volaille, poisson) et des boissons titrant plus d'1,2% en volume d'alcool (règlement européen n°1925/2006). Avant 2006, la limite d'enrichissement fixée était de 40UI/100 ml de lait (hors laits infantiles), 50 UI/100g de produit laitier, et 200 UI/100g d'huile. Le règlement européen n°1925/2006 évoque des limites maximales d'enrichissement tenant compte des limites supérieures de sécurité des nutriments et des apports provenant d'autres sources alimentaires fixées après une évaluation scientifique des risques. Ces limites n'ont pas été fixées pour le moment au niveau français ou européen. Dans ce règlement, il est aussi précisé que la vitamine D peut être ajoutée sous la forme de vitamine D2 ou D3 aux aliments.

Aux Etats-Unis et au Canada, l'enrichissement d'aliments en nutriments est pratiqué depuis les années 1920-1930 et a été réglementé à partir des années 1940 pour préciser notamment le type d'aliments et de nutriments pour lesquels l'enrichissement était autorisé, fixer des seuils minimaux et maximaux d'enrichissement, et rendre obligatoire l'enrichissement de certains produits en certains nutriments (136).

L'enrichissement des laits infantiles en vitamine D est courant en France, mais pas obligatoire, contrairement à d'autres pays européens ou en Amérique du Nord. L'enrichissement en vitamine D des aliments destinés aux adultes n'est pas obligatoire en Amérique du Nord mais est largement plus répandu qu'en France. Selon des estimations récentes, les aliments enrichis contribuent à environ 60% des apports nutritionnels totaux en vitamine D (138).

### **1.6.2 Apports en vitamine D par complément alimentaire**

En 2002-2003, dans une étude menée par le Crédoc sur un échantillon de 1 042 ménages représentatifs des foyers français (46), moins de 10% des 1 631 personnes de plus de 15 ans interrogées ont déclaré prendre un complément en vitamine D dans les sept jours ayant précédé l'étude. Cependant il est très probable que la prévalence de la prise de complément en vitamine D, consommée surtout en hiver, ait été sous-estimée par cette étude conduite en été et en automne. De plus, il est également très probable que la consommation de complément en vitamine D ait fortement augmenté depuis chez les adultes français. A cette époque et dans les années 1990, les compléments en vitamine D chez les adultes était surtout pris par les femmes ménopausées en prévention du risque d'ostéoporose. La prévalence de la prise de complément

en vitamine D dans l'étude INCA2 n'est actuellement pas connue, La prise de complément alimentaire augmentait de 63% les apports moyens en vitamine D chez les utilisateurs de complément (49).

Dans la cohorte NutiNet-Santé, en 2012, 79 786 participants, majoritairement des femmes, âgés en moyenne de 45 ans ont été interrogés sur leur consommation de complément alimentaire au cours des douze derniers mois (48). Environ 22% des femmes ont déclaré avoir pris de la vitamine D, ce qui est similaire à ce que nous avons observé au cours de la période 1995-2005 dans notre population d'étude constituée de femmes ménopausées. La prise de complément en vitamine D semble avoir fortement augmenté au cours de cette période. Des informations plus précises sur leur utilisation dans la cohorte sont données dans la Partie 3.1.

Chez l'adulte, en France, on peut considérer deux grands types de compléments en vitamine D :

- *Les médicaments*, disponibles en pharmacie uniquement, avec ou sans ordonnance. Ils sont délivrés soit sous forme de doses quotidiennes, généralement de 400 à 800 UI par jour combinées avec du calcium, soit sous forme de très hautes doses saisonnières (doses de charge), généralement 200 000 UI en une ou deux prises par an. Alors que la première forme était prescrite depuis de nombreuses années surtout en prévention de l'ostéoporose chez les femmes ménopausées, la deuxième est plutôt récente et est de plus en plus prescrite chez les adultes quel que soit leur âge.
- *Les compléments alimentaires disponibles en libre-service* en pharmacie, parapharmacie, supermarché, magasin spécialisé ou internet. Ces compléments peuvent soit contenir uniquement de la vitamine D (parfois associée à du calcium), à des doses qui peuvent varier énormément d'un produit à l'autre, soit de la vitamine D associée à d'autres vitamines, généralement sous la forme d'un complément destiné à couvrir les besoins journaliers pour tous les vitamines et minéraux, et donc contenant généralement 200 UI de vitamine D. Dans tous les cas, ces compléments peuvent contenir au maximum 200 UI par jour depuis l'arrêté du 9 mai 2006.

### 1.7 Vitamine D et risque de cancer du sein

Un grand nombre d'études in vitro et animales ont rapporté les effets du calcitriol sur la régulation de la prolifération cellulaire, la différenciation, l'apoptose et la signalisation des

facteurs de croissance dans les cellules du sein (139;140). Plus récemment, des études *in vitro* suggèrent que la vitamine D pourrait inhiber la croissance des cellules des tumeurs ER+ en atténuant la synthèse et la signalisation des œstrogènes (141-143).

Une méta-analyse publiée en 2014 a conclu que ni les concentrations en 25-hydroxyvitamine D ni les apports nutritionnels en vitamine D n'étaient associés significativement au risque de cancer du sein (Figure 14) (70). Cependant, cette conclusion repose sur une moyenne des rapports de risque entre le quartile le plus élevé et le quartile le plus bas de 25-hydroxyvitamine D ou d'apports nutritionnels en vitamine D estimés dans les études incluses, alors que les seuils utilisés pour définir les quartiles pouvaient varier d'une étude à l'autre. Une association potentielle entre un niveau d'exposition fort et le risque de cancer du sein pourrait avoir été dilué par l'absence d'association observée dans les études ayant considéré un niveau d'exposition plus faible. Une autre limite est que parmi les études sur les apports nutritionnels en vitamine D incluses dans cette méta-analyse, toutes n'ont pas pris en compte les apports par compléments alimentaires.

Cependant, la plupart des études épidémiologiques prospectives sur les apports nutritionnels en vitamine D (alimentaire et/ou par complément) ou les taux sériques de vitamine D et le risque de cancer du sein n'ont pas rapporté d'association.

Plusieurs études cas-témoins sur le lien entre concentrations sériques en 25-hydroxyvitamine D et risque de cancer du sein sont en faveur d'une association inverse (144). Cependant, dans ce type d'études, on ne peut pas être certain que cette association reflète le fait que des concentrations en 25-hydroxyvitamine D basses ont entraîné des cancers du sein, et non l'inverse. Les études issues de cohortes prospectives de grande taille ont donné des résultats contradictoires. Plusieurs études ont rapporté une association inverse, globalement ou dans certaines sous-populations comme les américaines de type caucasien (145) ou les femmes pré-ménopausées (146). D'autres ont rapporté une augmentation de risque chez des femmes en surpoids ou obèses majoritairement pré-ménopausées (147;148). Mais la plupart n'a pas mis en évidence d'association.

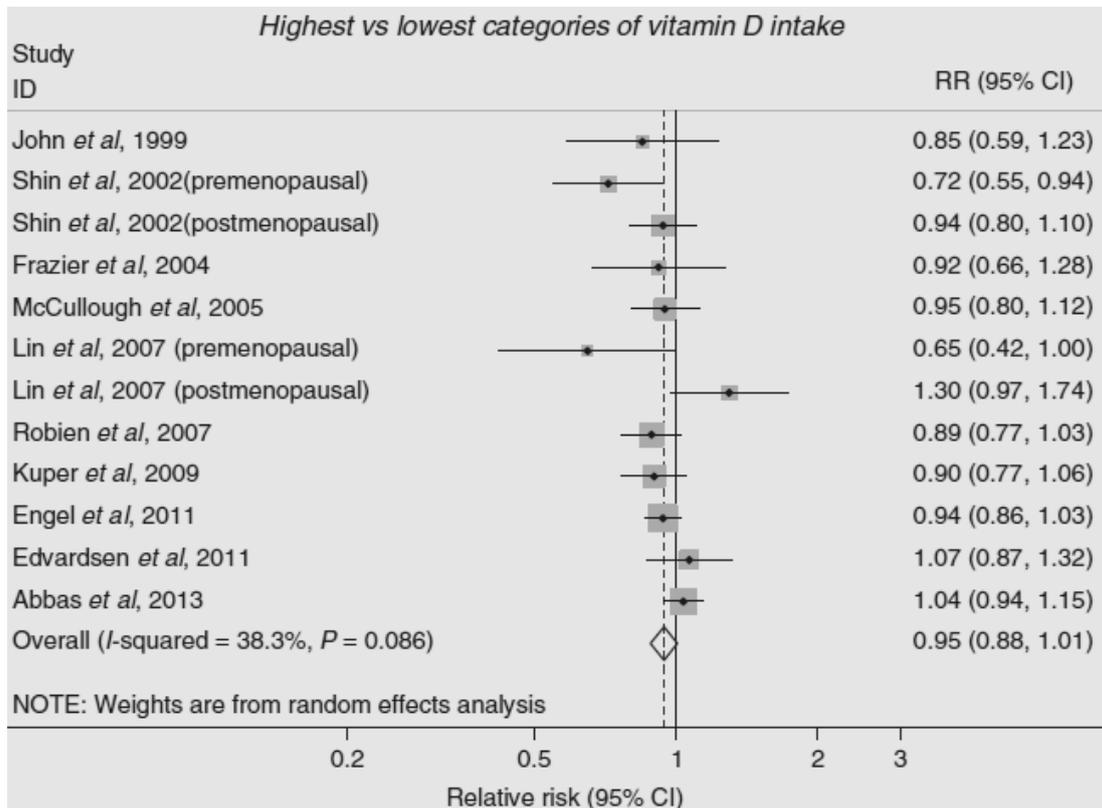
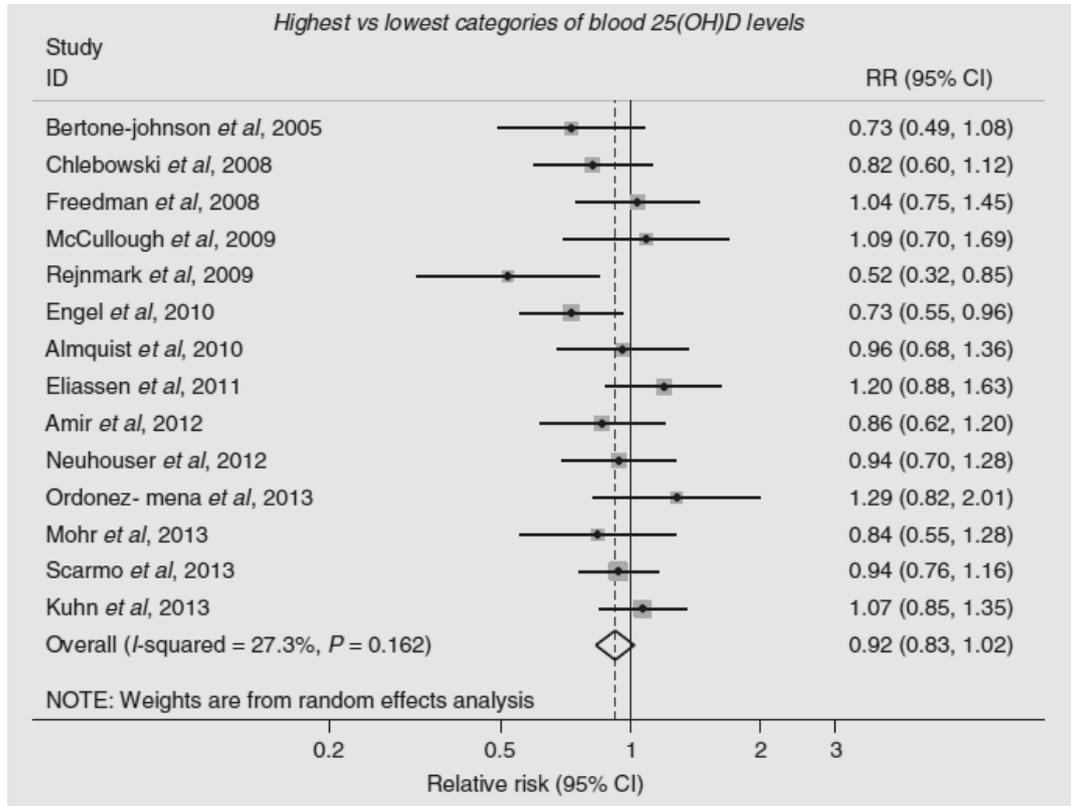
Les études disponibles ne permettent pas de conclure de manière certaine sur l'effet de la prise de complément en vitamine D sur le risque de cancer du sein. L'interprétation des résultats de ces études est en effet limitée par les différences d'exposition et de caractéristiques de la population étudiée.

Un essai randomisé conduit parmi 36 383 femmes consistant à donner 400 UI de vitamine D combinée à 1 000 mg de calcium par jour pendant sept ans n'a pas observé d'association globale (149). Des analyses complémentaires ont permis de mettre en évidence une modification de l'association selon l'apport personnel en vitamine D à l'inclusion. Chez les femmes ayant des apports faibles (< 200 UI par jour), la supplémentation était associée à une diminution de risque par rapport aux femmes ayant reçu le placebo, alors que chez les femmes ayant des apports personnels élevés (> 600 UI par jour), la supplémentation était associée à une augmentation de risque de cancer du sein.

Les études de cohorte sur le lien entre apports en vitamine D et risque de cancer du sein n'ont pas étudié une interaction potentielle avec les œstrogènes, en particulier avec la prise de THM. L'essai randomisé de la WHI n'a pas observé d'interaction avec la prise en cours de THM (149). Parmi les trois études prospectives sur le lien entre taux circulant de 25-hydroxyvitamine D et risque de cancer du sein (150-152), une étude a décrit une interaction dans le sens d'une association inverse limitée aux femmes sous THM au moment de la prise de sang (151).

Concernant les autres sites de cancer, aucune relation probable ou convaincante n'a été mise en évidence à ce jour d'après le WCRF (60).

**Figure 14** : Résultats d’une méta-analyse parue en 2014 sur les relations entre concentrations en 25-hydroxyvitamine D ou apports nutritionnels en vitamine D et risque de cancer du sein.  
Source : Kim et al 2014 (70).



### 1.8 Précédents travaux sur la vitamine D dans E3N

Les relations entre vitamine D et cancer du sein dans la cohorte E3N ont fait l'objet de précédents travaux qui ont abouti à deux publications. La première étude (153), publiée en 2010, s'était intéressée aux relations entre concentrations en 25-hydroxyvitamine D et risque de cancer du sein dans une étude cas-témoins nichée incluant 636 cas et 1 272 témoins de la cohorte pour lesquels des échantillons biologiques avaient été collectés entre 1995 et 1998. Les femmes ayant une concentration en 25-hydroxyvitamine D supérieures à 67,5 nmol/L avaient un risque de cancer du sein plus faible que celles ayant une concentration inférieure à 49,5 nmol/L. La seconde étude, publiée en 2011 (154), a étudié les relations entre apports en vitamine D, exposition aux UV-B et risque de cancer du sein parmi 67 721 femmes majoritairement ménopausées suivies entre 1993 et 2005. Il n'y avait pas d'association entre apports en vitamine D et risque de cancer du sein. L'exposition aux UV-B selon le département de résidence était modestement inversement associée au risque de cancer du sein ( $HR_{Q4 \text{ vs } Q1} = 0.91$ ,  $IC_{95\%} : [0.82-0.99]$ ,  $P_{\text{tendance}}=0.06$ ). En revanche, parmi les femmes étant dans le quartile le plus élevé d'apports en vitamine D par l'alimentation ( $> 113$  UI par jour) et celles ayant déclaré avoir déjà pris un complément en vitamine D, l'association entre exposition aux UV-B selon le département de résidence et risque de cancer du sein était plus marquée (respectivement  $HR_{Q4 \text{ vs } Q1} = 0.73$ ,  $IC_{95\%} : [0.60-0.90]$  et  $HR_{Q4 \text{ vs } Q1} = 0.63$ ,  $IC_{95\%} : [0.41-0.96]$ ).

Dans ce travail, nous avons cherché à estimer de manière plus fine la prise de complément en vitamine D afin d'étudier plus précisément les relations entre prise de complément en vitamine D et risque de cancer du sein.

### 1.9 Objectifs de la thèse

Notre objectif était d'étudier la relation entre prise de complément en vitamine D et risque de cancer du sein, en nous intéressant plus particulièrement à de potentielles interactions avec la prise de THM et l'IMC, et à l'influence du caractère plus ou moins récent de la prise de complément en vitamine D. Cet aspect était d'autant plus intéressant que dans le cas des THM, l'augmentation de risque est forte à court terme puis décroît au cours du temps après l'arrêt de la prise.

## 2. METHODES

### 2.1 *Présentation de la cohorte E3N*

#### 2.1.1 **Participant**

La cohorte E3N ou **Etude Epidémiologique** auprès des femmes de la MGEN (Mutuelle Générale de l'Education Nationale) a été lancée en 1990 auprès de 499 668 femmes. Environ 100 000 femmes adhérentes de la MGEN et résidant en France métropolitaine (à l'exception de la Corse), nées entre 1925 et 1950, ont accepté de participer à l'étude. L'étude a été approuvée par la Commission nationale de l'informatique et des libertés (CNIL).

#### 2.1.2 **Objectifs de l'étude**

Le principal objectif de l'étude E3N est d'identifier et d'analyser le rôle de certains facteurs, notamment hormonaux et alimentaires, dans la survenue de cancers chez la femme. Les données collectées ont permis d'élargir cette problématique à d'autres maladies chroniques, telles que le diabète ou les maladies cardiovasculaires.

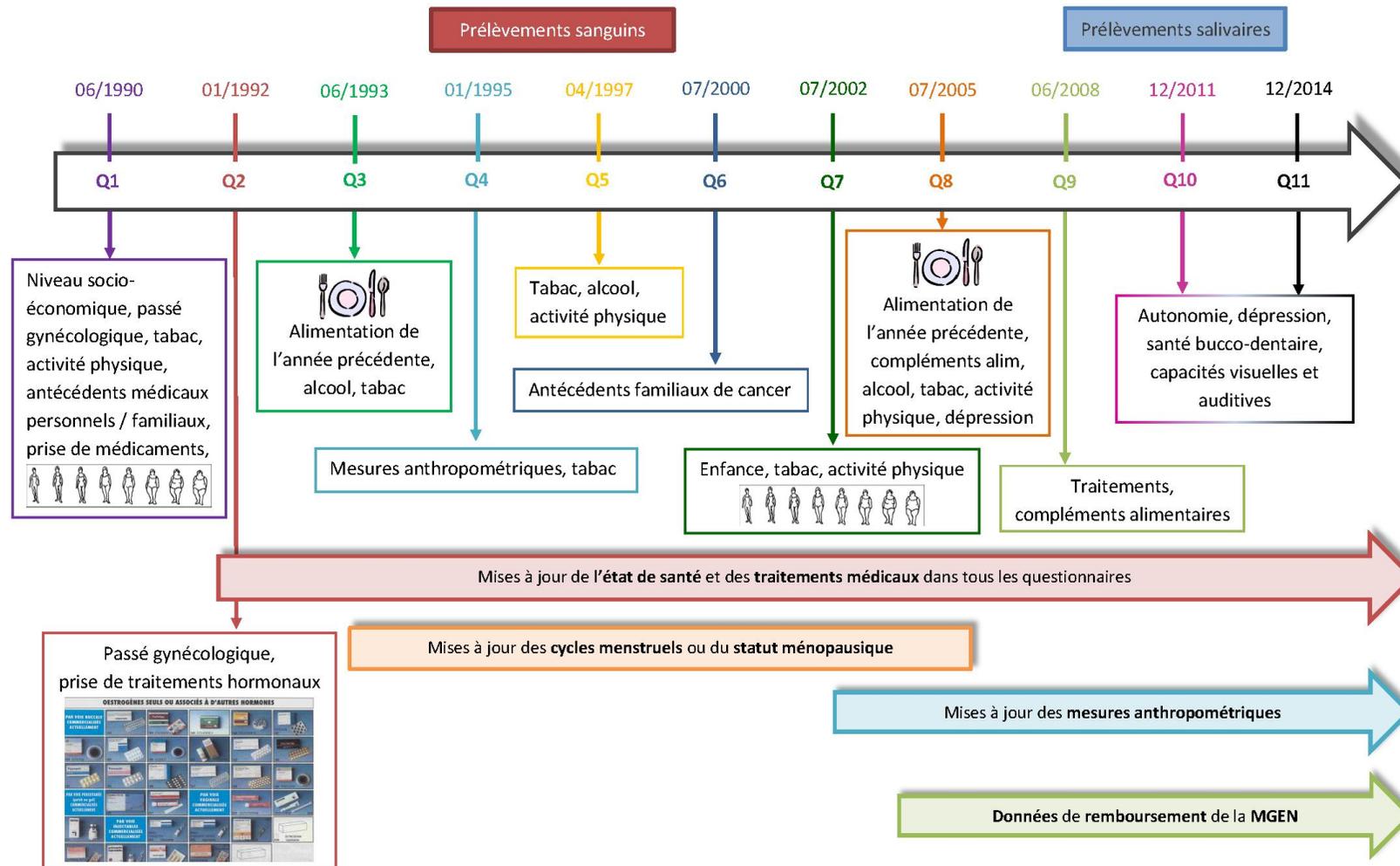
#### 2.1.3 **Données collectées**

##### *Questionnaires de suivi*

Depuis 1990, des auto-questionnaires sont envoyés aux participantes par voie postale tous les 2-3 ans environ. Ces questionnaires visent à collecter des données sur l'état de santé des participantes et leur mode de vie. Parmi l'ensemble des nombreuses informations collectées, on peut par exemple citer : les caractéristiques sociodémographiques, les antécédents familiaux de cancer, le tabagisme, l'activité physique, les caractéristiques anthropométriques, l'alimentation, et les facteurs reproductifs et hormonaux (Figure 15).

En plus des questionnaires destinés à l'ensemble des participantes, plusieurs questionnaires ponctuels destinés à collecter des données plus précises sur une pathologie, comme le diabète, ou une exposition, comme l'exposition au soleil, ont été envoyés.

Figure 15 : Informations recueillies par auto-questionnaires dans la cohorte E3N entre 1990 et 2014.



### Questionnaires alimentaires

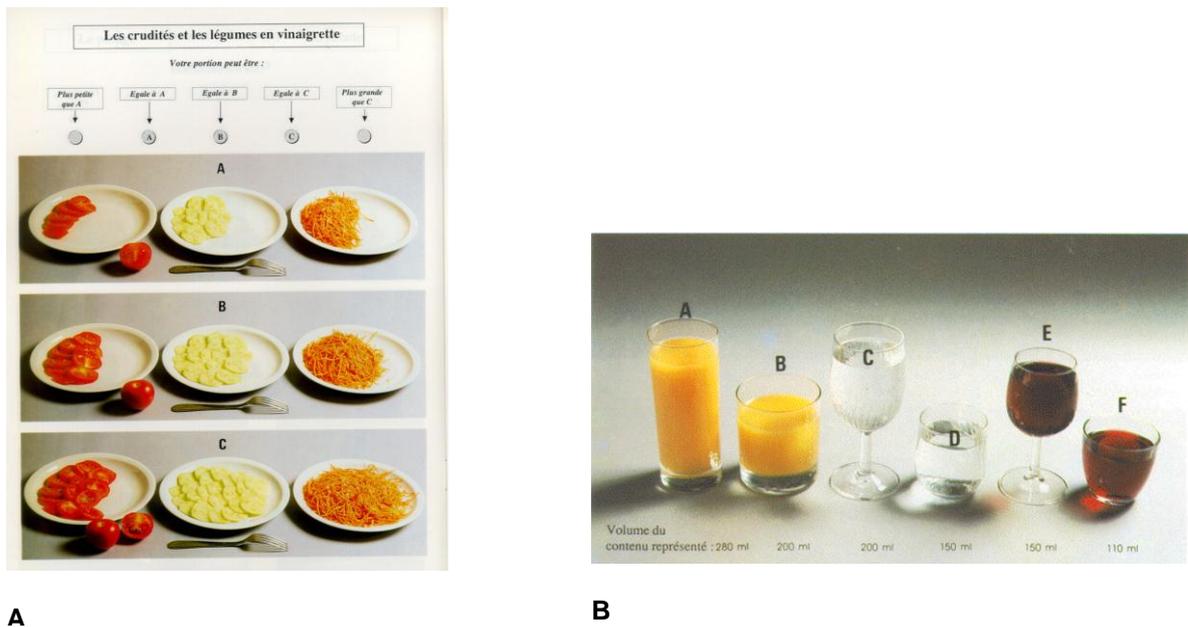
Deux questionnaires alimentaires ont été envoyés entre 1990 et 2014. Un premier questionnaire de fréquence semi-quantitatif a été envoyé entre 1993 et 1995. Le but du questionnaire était d'estimer les apports alimentaires moyens des femmes au cours de l'année précédant la date de réponse au questionnaire. Le questionnaire était constitué de deux parties. Dans la première partie, il était demandé aux femmes d'indiquer, pour chaque repas de la journée (y compris les collations), à quelle fréquence en moyenne elles consommaient les principaux groupes d'aliments (ex : poisson, crudités, salade verte...) et en quelle quantité (Figure 16) à partir de portions présentées dans un livret photo (Figure 17). Ce questionnaire a été validé sur une centaine de sujets par douze rappels de 24h au rythme d'un rappel par mois pendant une année (155).

Figure 16 : Extrait du questionnaire alimentaire envoyé en 1993-1995.

Repas de midi	combien de fois ?			en quelle quantité ?					
	<b>jamais</b> ou moins d'1 fois par mois  Cochez	ou <b>nombre</b> de fois par mois  1 à 3 fois / mois	ou <b>nombre</b> de fois par semaine  1 à 7 fois / sem.	<b>Voir livret photos</b>  Cochez ou inscrivez un chiffre ou une lettre					
<b>Salade verte</b>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Photo page 8	<input type="radio"/>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<input type="radio"/>
<b>Hors d'œuvre</b>									
<b>Saucisson, andouille, ...</b>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Photo page 12	<input type="radio"/>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<input type="radio"/>
<b>Pâtés, rillettes, ...</b>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Photo page 13	<input type="radio"/>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<input type="radio"/>
<b>Poisson en conserve</b> (sardines, thon, ...)	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Photo page 14	<input type="radio"/>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<input type="radio"/>
<b>Fruits de mer</b> (moules, coquillages, crustacés, ...)	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Photo page 15	<input type="radio"/>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<input type="radio"/>
<b>Œuf(s) dur(s), froid(s)</b>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Nombre d'œufs durs <input type="text"/>					
<b>Crudités, légumes en vinaigrette...</b>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Photo page 10	<input type="radio"/>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<input type="radio"/>
<b>Attention : si la somme des chiffres de cette colonne dépasse 7, pour le hors d'œuvre, reportez-vous au mode d'emploi de ce questionnaire</b>									

La deuxième partie du questionnaire a permis de recueillir des informations plus précises sur les aliments spécifiques consommés au sein d'un groupe d'aliments.

**Figure 17 :** Extrait du livret photo accompagnant le questionnaire alimentaire envoyé en 1993-1995.



Un deuxième questionnaire alimentaire, assez similaire au premier questionnaire, a été envoyé aux participantes en 2005.

### *Informations biologiques*

Les comptes-rendus histologiques des femmes diagnostiquées d'un cancer et des données cliniques relatives à certaines pathologies ont été recueillis régulièrement auprès des participantes ou de leur médecin traitant. Une banque de matériel biologique a été créée à partir de prélèvements sanguins réalisés entre 1994 et 1998 sur 25 000 femmes de la cohorte et d'échantillons de salive collectés entre 2008 et 2014 auprès de 47 000 femmes.

### *Base de remboursements de la MGEN*

Les données de remboursements de la MGEN à partir du 1<sup>er</sup> janvier 2004 sont disponibles pour l'ensemble des participantes. Ces données comprennent : tous les traitements remboursés, le nombre de passages aux urgences, le nombre de consultations en ville de généralistes et de spécialistes, le nombre d'actes médicaux par type de prescripteur, et le nombre d'actes paramédicaux.

### 2.1.4 Suivi

En cas de non-réponse à un questionnaire, deux rappels ont été envoyés. Le taux de participation moyen est d'environ 80% à chaque questionnaire. Les décès peuvent être annoncés par un proche ou le médecin traitant ou identifiés à l'aide des données du CépiDC (centre d'épidémiologie sur les causes médicales de décès rattaché à l'Inserm).

## 2.2 Population d'étude

Notre étude sur la relation entre la prise de complément en vitamine D et le risque de cancer du sein commençait en 1995, qui est la date d'envoi du premier questionnaire comportant une question spécifique sur la prise de complément alimentaire (quatrième questionnaire envoyé, noté Q4). La date de point était le 25 juin 2008 (date d'envoi du neuvième questionnaire, noté Q9).

Les facteurs de risque de cancer du sein diffèrent selon que le cancer survient avant ou après la ménopause. Lors de l'étude de facteurs de risque de cancer du sein, les analyses sont donc généralement stratifiées sur le statut ménopausique. Au moment de notre étude (1995-2008), la plupart des femmes de la cohorte étaient ménopausées. La puissance était insuffisante pour s'intéresser aux femmes pré-ménopausées. Les femmes qui n'étaient pas encore ménopausées au dernier questionnaire de suivi (envoyé en 2005) ont été exclues ( $n = 6\,237$ ). Les femmes qui n'étaient pas encore ménopausées au questionnaire d'inclusion (1995) mais ont été ménopausées avant la fin du suivi ont été incluses dans l'étude à partir du premier questionnaire suivant la ménopause.

Parmi les 92 758 femmes ménopausées avant 2005, nous avons exclu les femmes ayant eu un diagnostic de cancer (autre que carcinome basocellulaire) avant le début du suivi ( $n = 9\,190$ ), celles n'ayant pas répondu au questionnaire alimentaire envoyé entre 1993 et 1995 ( $n = 17\,676$ ), ou au premier questionnaire comportant une question spécifique sur la prise de compléments alimentaires envoyé en 1995 ( $n = 6\,740$ ), ou à aucun des questionnaires suivants ( $n = 669$ ), ou celles ayant déclaré des apports énergétiques extrêmes ( $n = 1\,080$ ). Les apports énergétiques extrêmes correspondaient aux 1% de valeurs les plus élevées et 1% de valeurs les plus faibles du ratio des apports énergétiques (estimés à partir des déclarations) sur les besoins énergétiques (estimés en fonction de l'âge, du poids et de la taille). Au total, la population d'étude était constituée de 57 403 femmes.

La fin du suivi était le 25 juin 2008, date d'envoi du 10<sup>ème</sup> questionnaire, sauf pour les femmes décédées, diagnostiquées d'un cancer (hors carcinome basocellulaire) ou ne répondant plus aux questionnaires. En cas de cancer, la fin du suivi correspondait à la date de diagnostic. En cas de décès ou de non-réponse, la fin de suivi correspondait au dernier questionnaire répondu.

Les cas de cancer du sein non confirmés par compte-rendu histologique ont été exclus des analyses prenant en compte le statut hormonal de la tumeur (n = 444). Pour ces analyses, la population d'étude était constituée de 56 959 femmes.

## 2.3 Données utilisées

### 2.3.1 Cas de cancer du sein

A chaque questionnaire, il était demandé aux femmes si elles avaient été diagnostiquées d'un cancer et le cas échéant, de préciser le type de cancer ainsi que le nom et l'adresse de leur médecin traitant avec la permission de les contacter. Un petit nombre de cancers du sein (68 cas, soit 1% du nombre total de cancer du sein) ont été identifiés à partir des fichiers de la MGEN ou des certificats de décès. Au final, les rapports anatomopathologiques ont été obtenus pour 93% des cas incidents de cancer du sein. Dans cette étude, nous avons considéré comme évènement d'intérêt les cas invasifs de cancer du sein, comme la plupart des études épidémiologiques s'intéressant aux facteurs de risque de cancer du sein. En effet, les cas in situ de cancer du sein correspondent à un stade précoce de cancer qui n'évoluera pas forcément vers un cancer invasif. Les informations sur le statut hormonal de la tumeur ont été tirées des rapports anatomopathologiques.

### 2.3.2 Prise de vitamine D et/ou calcium sous forme de complément

La prise de complément en vitamine D et/ou calcium a été estimée à partir des réponses aux questions spécifiques sur la prise de complément alimentaire, mais aussi des informations recueillies sur la prise de médicament. En effet, à cette période, la vitamine D était surtout prescrite pour prévenir ou traiter l'ostéoporose. Les informations utilisées dans chaque questionnaire pour estimer la prise de complément en vitamine D ou calcium sont détaillées dans le Tableau 6.

*Questions spécifiques sur la prise de complément alimentaire*

Les questionnaires envoyés en 1995, 2000, et 2002 comportaient la question suivante : « Prenez-vous actuellement, au moins trois fois par semaine » suivie de cases à cocher, dont une case pour la vitamine D et une autre pour le calcium (Figure 18).

**Figure 18** : Question spécifique sur la prise de complément alimentaire dans le questionnaire envoyé en 1995.

- Médicaments : Prenez-vous actuellement, au moins 3 fois par semaine :

<input type="checkbox"/> Antihypertenseurs	<input type="checkbox"/> Vasodilatateurs (pour la circulation du sang)
<input type="checkbox"/> Somnifères	<input type="checkbox"/> Hypolipémiants (contre un cholestérol trop élevé)
<input type="checkbox"/> Psychotropes (tranquillisants, antidépresseurs...)	<input type="checkbox"/> Protecteurs gastriques (contre ulcères et douleurs d'estomac)
<input type="checkbox"/> Supplémentation en calcium	<input type="checkbox"/> Diurétiques
<input type="checkbox"/> Supplémentation en Vitamines/Minéraux/Oligo-éléments	<input type="checkbox"/> Anti-inflammatoires
<input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> C <input type="checkbox"/> D <input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> groupe B <input type="checkbox"/> Bétacarotène <small>dans des associations</small> <input type="checkbox"/> Autres vitamines	<input type="checkbox"/> Antidiabétiques
<input type="checkbox"/> Minéraux / Oligo-éléments	<input type="checkbox"/> Laxatifs

Dans le questionnaire envoyé en 2005, des informations plus précises sur l'utilisation de complément alimentaire ont été demandées aux participantes. Elles ont été invitées à déclarer quels compléments alimentaires elles avaient consommés au cours des dix dernières années en précisant la date de début de prise, le nombre d'années de prise, la fréquence de prise, si le complément était pris au moment du questionnaire et la composition de chaque complément déclaré en cochant des constituants parmi une liste proposée (Figure 19). Nous avons considéré uniquement les compléments alimentaires pris au moment du questionnaire pour éviter les biais de mémoire. Un complément alimentaire a été considéré comme étant pris au moment du remplissage du questionnaire si l'année de début de prise déclarée correspondait à l'année de remplissage du questionnaire, ou si la somme de l'année de début de prise et du nombre d'années avec prise était proche de l'année de remplissage du questionnaire (c'est-à-dire était comprise entre l'années de remplissage et l'année de remplissage + 2 ans), ou si la femme avait renseigné la case « si vous prenez ce produit actuellement, indiquez le nombre de jours par semaine ».

Figure 19 : Question spécifique sur la prise de complément alimentaire dans le questionnaire envoyé en 2005.

- F1. Compléments alimentaires (tous, y compris les médicaments apportant des vitamines ou minéraux)**
- Les compléments alimentaires (encore appelés suppléments) sont des vitamines, des minéraux, des extraits ou concentrés de plantes, des acides aminés, des protéines, des acides gras essentiels (oméga 3 par exemple), ou tout autre type de complément à l'alimentation, consommé sous forme de pilule, comprimé, gélule, sachet de poudre, sirop, etc.
  - Il peut s'agir ou non de médicaments; prescrits ou non par un médecin; remboursés ou non.
  - Attention : les aliments enrichis (exemples : céréales, substituts de repas sous forme de crèmes dessert, jus de fruits, etc.), ne sont pas des compléments alimentaires.
  - Ne déclarez pas vos consommations de compléments alimentaires en phyto-estrogènes et phytoprogestatifs dans ce tableau, car la question suivante concerne spécifiquement ces produits.
  - Merci de nous aider en consultant le plus possible les notices et les emballages des produits pour répondre au questionnaire.

**Pour chacun des compléments QUE VOUS CONSOMMEZ ACTUELLEMENT OU QUE VOUS AVEZ CONSOMMÉS À UNE OU PLUSIEURS PÉRIODES AU COURS DES 10 DERNIÈRES ANNÉES, indiquez :**

	Complément 1	Complément 2	Complément 3	Complément 4	Complément 5	Complément 6	Complément 7
Nom (le plus précis possible*)	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Marque	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Nombre d'années avec au moins 1 prise (années civiles, dont année en cours le cas échéant)	_ _	_ _	_ _	_ _	_ _	_ _	_ _
Nombre de jours par année de prise (en moyenne)	_ _ _	_ _ _	_ _ _	_ _ _	_ _ _	_ _ _	_ _ _
Nombre d'unités par jour de prise (comprimé, sachet, cuillère à café, ampoule)	_ _ , _	_ _ , _	_ _ , _	_ _ , _	_ _ , _	_ _ , _	_ _ , _
Forme des unités**	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Si vous prenez ce produit actuellement, indiquez le nombre de jours par semaine	_	_	_	_	_	_	_
Année de 1 <sup>ère</sup> utilisation	_ _ _	_ _ _	_ _ _	_ _ _	_ _ _	_ _ _	_ _ _
<b>Merci de cocher le mieux possible les constituants présents dans chaque complément :</b> (Il existe une grande diversité de produits et leur composition n'est pas toujours répertoriée)							
Calcium	<input type="checkbox"/>						
Sélénium	<input type="checkbox"/>						
Zinc	<input type="checkbox"/>						
Fer	<input type="checkbox"/>						
Magnésium	<input type="checkbox"/>						
Fluor	<input type="checkbox"/>						
Autres minéraux-oligoéléments (Potassium, cuivre, iode, phosphore, manganèse...)	<input type="checkbox"/>						
Vitamine B1 (thiamine)	<input type="checkbox"/>						
Vitamine B2 (riboflavine)	<input type="checkbox"/>						
Vitamine B3 (vitamine PP, niacine)	<input type="checkbox"/>						
Vitamine B5 (acide pantothénique)	<input type="checkbox"/>						
Vitamine B6	<input type="checkbox"/>						
Vitamine B8 (biotine)	<input type="checkbox"/>						
Folates (acide folique, vitamine B9)	<input type="checkbox"/>						
Vitamine B12 (cobalamines)	<input type="checkbox"/>						
Vitamine C (acide ascorbique)	<input type="checkbox"/>						
Vitamine D	<input type="checkbox"/>						
Vitamine E	<input type="checkbox"/>						
Vitamine A	<input type="checkbox"/>						
Béta-carotène	<input type="checkbox"/>						
Rétinol	<input type="checkbox"/>						
Autres vitamines	<input type="checkbox"/>						
Acides gras Oméga 3	<input type="checkbox"/>						
Autres : plantes, acides aminés, etc.	<input type="checkbox"/>						

\* Indiquez notamment les vitamines ou minéraux présents et les dosages, lorsque ceux-ci font partie du nom du complément :  
Exemple 1. Nom : Vitamine C 500mg ; Marque : UPSA. / Exemple 2. Nom : Complexe Fer à la spiruline 120; Marque : SuperDiet.  
\*\* Forme des unités = comprimés, gélules, sachets, cuillères à café, cuillères à soupe, pulvérisations, ampoules...  
➢ N'oubliez pas les médicaments antiacides type Rennie ou anti-ostéoporose, qui sont riches en calcium, ni les médicaments antiacides type Maalox, qui sont riches en magnésium.

Pour identifier les preneuses de complément en vitamine D à partir des informations collectées, nous avons dans un premier temps recherché la composition des compléments déclarés. Les compléments déclarés ont été considérés comme compléments en vitamine D s'ils contenaient une dose de vitamine D d'au moins 160 UI par jour (80% de la VNR). Cette première étape a permis d'identifier 4 359 femmes ayant pris un complément en vitamine D.

Dans un deuxième temps, nous avons considéré les femmes qui n'avaient pas été identifiées comme utilisatrices de complément en vitamine D à partir des noms de compléments déclarés, mais qui avaient coché la case vitamine D dans la liste de constituants proposés. Dans la plupart des cas, les compléments déclarés n'avaient pas pu être précisément identifiés à cause de noms incomplets ou mal scannés. La visualisation des questionnaires nous a permis d'obtenir le nom exact d'une grande partie de ces compléments. Au total, 5 132 femmes ayant répondu à ce questionnaire ont été identifiées comme preneuses de compléments en vitamine D à partir de noms de compléments déclarés. Pour 74% des femmes qui avaient coché la case vitamine D parmi les constituants proposés, la prise de vitamine D a pu être validée à partir des noms de compléments déclarés. Pour 21% d'entre elles, les noms de compléments déclarés ne contenaient pas de vitamine D. Pour les 5% restants, le nom déclaré était imprécis.

Trois raisons pourraient expliquer les discordances entre le cochage de la case vitamine D et le nom de complément déclaré : principalement des erreurs de scannage (rature ou annotation ayant conduit à considérer la case comme cochée lors de la lecture automatique du questionnaire), ou de remplissage (plusieurs femmes ont coché la mauvaise ligne ou la mauvaise colonne : les constituants déclarés ne correspondaient pas au complément pris), mais aussi des erreurs liées probablement aux difficultés des femmes à interpréter la liste des constituants de leurs compléments (par exemple : plusieurs femmes ont coché les cases calcium et vitamine D lorsque le complément ou médicament contenait du calcium D-pantothénate ou du D-alpha tocophérol, c'est à dire de la vitamine B5 ou de la vitamine E respectivement).

Parmi les 5% de femmes avec des noms déclarés imprécis (n = 258), il s'agissait pour la plupart d'entre elles de déclarations de type « Vitamine D » (n = 169) ; que l'on peut raisonnablement considérer comme des compléments en vitamine D. Pour les autres femmes (n = 89), la composition du complément correspondant n'a pas pu être vérifiée, mais comme

il n'a pas été observé d'erreur de cochage ou de scannage, elles ont été considérées comme utilisatrices de vitamine D.

Concernant la prise de complément en calcium, nous avons considéré que les femmes étaient utilisatrices de complément en calcium si elles avaient donné un nom précis de complément en calcium qui contenait une dose de calcium d'au moins 160 mg par jour (20% de la VNR) ou avaient coché la case calcium parmi la liste des constituants proposés.

#### *Données sur la prise de médicament*

Dans les questionnaires envoyés en 1993, 1995, 1997, 2000, 2002, et 2005, les participantes étaient invitées à fournir les noms des médicaments qu'elles prenaient au moment du questionnaire ou qu'elles avaient pris depuis le questionnaire précédent (Tableau 6). Nous avons identifié les compléments en vitamine D et/ou calcium parmi la liste de médicaments déclarés par les participantes.

Nous avons également utilisé les données de remboursement de la MGEN disponibles à partir du 1<sup>er</sup> janvier 2004 pour chaque participante. Pour cela, nous avons d'abord identifié les médicaments contenant de la vitamine D et/ou du calcium dans la base de données de médicaments Thériaque ([www.theriaque.org](http://www.theriaque.org)). Thériaque permet d'obtenir des informations détaillées sur tous les médicaments commercialisés ou ayant été commercialisés en France depuis 1982 (156). Nous avons considéré qu'un médicament était un complément en vitamine D s'il était destiné à être administrés à des adultes à la dose d'au moins 160 UI par jour. Nous avons considéré qu'un médicament était un complément en calcium s'il était destiné à être administrés à des adultes à la dose d'au moins 160 mg par jour et si l'indication était une carence nutritionnelle ou l'ostéoporose. Les médicaments administrés par voie cutanée ou uniquement par voie parentérale n'ont pas été pris en compte. Nous avons ensuite utilisé les codes CIP (identifiants uniques des médicaments) pour identifier les remboursements de la MGEN pour des compléments en vitamine D ou calcium. Les médicaments considérés comme des compléments en vitamine D qui étaient commercialisés entre 2004 et 2011 sont listés dans l'Annexe 3.

#### *Comparaison entre les sources d'information utilisées pour estimer la prise de complément en vitamine D à chaque questionnaire*

Le Tableau 8 présente le nombre de preneuses de complément en vitamine D identifiées à chaque questionnaire pour chaque source d'information utilisée.

En ne prenant en compte que les informations tirées des auto-questionnaires, à chaque questionnaire, la question spécifique sur la prise de complément alimentaire a permis d'identifier le plus grand nombre de preneuses de complément en vitamine D. Néanmoins, en 1995, la question sur la prise de médicament contre l'ostéoporose a permis d'identifier presque autant d'utilisatrices de complément en vitamine D que cette question.

La recherche de remboursement dans les trois mois précédents la réponse au questionnaire envoyé en 2005 a permis d'identifier environ 1/3 des preneuses de complément en vitamine D au moment du questionnaire.

### **2.3.3 Données sur les apports alimentaires en vitamine D**

Les apports alimentaires en vitamine D ont été estimés à partir des réponses au questionnaire alimentaire envoyé entre 1993 et 1995 (décrit dans la Partie 1.6.1). Les apports quotidiens moyens en vitamine D ont été déduits de la table de composition des aliments CIQUAL de 1995 (157).

**Tableau 6** : Informations utilisées pour estimer la prise de complément en vitamine D ou calcium à chaque questionnaire entre 1995 et 2008.

	Case à cocher en cas de prise de complément alimentaire au moins 3 fois/semaine	Questionnaire détaillé sur la prise de complément alimentaire	Recueil de noms de médicaments non hormonaux pris contre l'ostéoporose	Recueil de noms de traitements hormonaux de la ménopause	Recueil de noms de médicaments autres pris au moins 3 fois/semaine	Remboursement MGEN dans les 3 mois précédant la réponse à un questionnaire
Q3 (1993)			X <sup>1</sup>	X <sup>2</sup>		
Q4 (1995)	X		X <sup>2</sup>	X <sup>2</sup>		
Q5 (1997)				X <sup>3</sup>	X	
Q6 (2000)	X			X <sup>3</sup>		
Q7 (2002)	X			X <sup>3</sup>		
Q8 (2005)		X <sup>4</sup>		X <sup>3</sup>	X	X

Abréviations : Q : questionnaire.

<sup>1</sup> prise actuelle ou passée.

<sup>2</sup> depuis l'envoi du questionnaire précédent.

<sup>3</sup> depuis la dernière réponse à un questionnaire.

<sup>4</sup> actuelle ou au cours des dix dernières années. Seules les prises actuelles ont été considérées.

### 2.3.4 Données sur les facteurs de confusion potentiels

#### *Facteurs de risque connus de cancer du sein après la ménopause*

- Age à la ménopause

Des informations sur le statut ménopausique, l'âge à la ménopause et la prise de THM ont été recueillies à chaque questionnaire depuis 1990 pour le statut ménopausique et l'âge à la ménopause et depuis 1992 pour la prise de THM. Les participantes ont été considérées ménopausées si elles avaient déclaré être ménopausées, avoir eu 12 mois consécutifs sans menstruations (hors cas d'hystérectomie), avoir subi une ovariectomie bilatérale, ou avoir déjà utilisé un THM. L'âge à la ménopause correspondait soit à l'âge aux dernières règles (hors cas d'hystérectomie), soit, si les dernières menstruations avaient eu lieu avant la première utilisation de THM, à l'âge au début de l'utilisation de THM, soit à l'âge de l'ovariectomie bilatérale. Si l'âge aux dernières règles était manquant, l'âge à la ménopause a été défini à partir de l'âge à la ménopause déclaré par les femmes, l'âge au début de l'utilisation de THM, l'âge au début des symptômes associés à la ménopause, ou si aucune de ces informations n'était disponible, a été fixé à 47 ans si la ménopause était artificielle et à 51 ans sinon (ces âges correspondaient aux médianes des âges en cas de ménopause artificielle ou naturelle, respectivement).

- Traitements hormonaux de la ménopause

Le questionnaire envoyé en 1992 a recueilli des informations sur la prise de THM au cours de la vie. Les questionnaires suivants ont recueilli des informations sur la prise de THM depuis le dernier questionnaire. Les produits pris en compte pour estimer la prise de THM étaient tous les THM à base d'œstrogènes (sauf l'estriol) ou de tibolone utilisés pour un usage hors vaginal.

- Antécédents familiaux de cancer du sein au premier degré

Les antécédents familiaux de cancer du sein au premier degré (mère, sœur, fille) ont été recueillis dans les questionnaires envoyés en 1990 et en 2000.

- Antécédents personnels de maladie bénigne du sein

Dans le questionnaire envoyé en 1990, il était demandé aux femmes d'indiquer si elles avaient déjà eu un kyste du sein, une maladie fibro-kystique, un abcès du sein ou une mastose ainsi que la tranche d'âge correspondant à la survenue de la maladie. A chaque questionnaire suivant, les femmes pouvaient déclarer des

antécédents d'adénome, fibroadénome, mastose, maladie fibro-kystique et Maladie de Reclus ainsi que la date de survenue de la maladie.

- **Activité physique**

Dans les questionnaires envoyés en 1993, 1995 et 1997, il était demandé aux femmes d'indiquer, par saison (hiver et été), le nombre d'heures qu'elles consacraient par semaine à de la marche (y compris en tant que moyen de transport), de la bicyclette (y compris en tant que moyen de transport), du jardinage, du bricolage, du sport ou des tâches ménagères (sauf dans le questionnaire envoyé en 1993). Dans cette étude, les données sur le sport, le vélo et la marche uniquement ont été considérées pour estimer l'activité physique en équivalent métabolique (MET, en kcal/kg/h)/semaine.

- **Age à la ménarche**

L'âge aux premières règles a été demandé aux questionnaires envoyés en 1990 et 1992.

- **Utilisation d'un contraceptif oral**

Dans le questionnaire envoyé en 1990, il était demandé aux femmes de cocher une case si elles avaient déjà utilisé une pilule contraceptive au cours de leur vie. A chaque questionnaire suivant, les femmes étaient invitées à déclarer si elles avaient utilisé un contraceptif oral depuis le questionnaire précédent, en précisant le nom du contraceptif à partir du questionnaire envoyé en 1993.

- **IMC**

L'IMC (poids/taille<sup>2</sup>) a été calculé à partir de la taille et du poids, qui ont été demandés à chaque questionnaire.

- **Parité**

Le nombre de grossesses a été recueilli en 1990 et 1992. Seules les grossesses menées à terme ont été prises en compte.

- **Âge à la première grossesse menée à terme**

L'âge des participantes à la naissance de leur premier enfant a été demandé dans les questionnaires envoyés en 1990 et 1992.

- **Consommation d'alcool**

La consommation d'alcool a été estimée à partir du questionnaire alimentaire envoyé en 1993-1995.

*Facteurs ayant une influence sur le statut en vitamine D*

- Exposition aux rayons ultraviolets (UV)  
Les doses quotidiennes moyennes d'UV reçues à la surface de la terre dans chaque département français entre 1984 et 2003 ont été fournies par le Centre commun de recherche de la Commission européenne (158). Ces données ont été croisées avec le département de résidence de chaque participante pour estimer l'exposition aux UV moyenne des participantes au moment de leur réponse au questionnaire envoyé en 1995.
- Couleur de la peau  
Dans le questionnaire envoyé en 1990, il était demandé aux femmes de cocher la case correspondant à la teinte se rapprochant le plus de leur couleur de peau parmi les teintes suivantes : albinos, laiteuse, claire, mate, brune, noire.
- Apports alimentaires en vitamine D  
Les apports alimentaires ont été estimés à partir du questionnaire alimentaire envoyé en 1993-1995.

*Autres facteurs de confusion potentiels*

Plusieurs variables étaient susceptibles d'être associées à la prise de complément en vitamine D et au risque de cancer du sein invasif après la ménopause bien que n'étant pas des facteurs de risque reconnus. Comme mentionné dans l'introduction générale, le tabagisme est suspecté d'augmenter le risque de cancer du sein et les utilisatrices de complément ont été décrites comme étant généralement moins fréquemment fumeuses. Elles étaient également décrites comme ayant un niveau d'études plus élevé, ce qui est généralement associé à un risque de cancer du sein plus élevé, probablement en raison des facteurs liés au mode de vie. Plusieurs études ont observé que l'association entre le niveau d'étude et le risque de cancer du sein invasif disparaissait après ajustement sur les facteurs reproductifs, l'utilisation de contraceptifs oraux ou de THM, la taille, la consommation d'alcool et l'IMC, ce qui pose la question de l'utilité d'ajuster sur le niveau d'études (159;160). Etant donné que cet ajustement est toujours pratiqué dans les études sur le cancer du sein invasif et de la puissance suffisante de notre étude, nous avons néanmoins ajusté sur ce facteur. Les utilisatrices de complément en vitamine D avaient probablement été plus fréquemment utilisatrices d'autres types de complément, notamment en calcium, alors que l'on ne connaît actuellement pas précisément leur effet sur le risque de cancer du sein. Elles étaient également probablement plus

soucieuses de leur santé, et donc avaient probablement davantage passé une mammographie récente, ce qui augmentait leur chance d'avoir été diagnostiqués plus tôt d'un cancer invasif, qui était l'évènement considéré. Enfin, afin de pouvoir estimer le risque associé à l'apport alimentaire en vitamine D indépendamment des apports énergétiques, nous avons également ajusté sur les apports énergétiques.

- Statut tabagique

A chaque questionnaire, il était demandé aux femmes si elles fumaient au moment du questionnaire ou si elles avaient fumé dans le passé, et de préciser dans ce cas depuis combien d'années elles avaient arrêté.

- Niveau d'études

Dans le questionnaire envoyé en 1990, il était demandé aux femmes de cocher la case correspondant à leur niveau d'études parmi les propositions suivantes : pas d'études, certificat d'études, BEPC ou CAP, BAC à BAC+2, BAC+3 à +4, au moins BAC+5.

- Apports en calcium

Les apports alimentaires en calcium ont été estimés à partir des réponses au questionnaire alimentaire envoyé en 1993-1995. La prise de complément en calcium a été estimée de la même façon que pour la vitamine D. A l'inverse de la vitamine D, les doses alimentaires de calcium (1 066 mg par jour en moyenne) sont très proches des doses apportées par les compléments (généralement 500 à 1 000 mg par jour) et peuvent même les dépasser. Nous avons donc choisi de considérer deux classes seulement (Tableau 7) : apports alimentaires en calcium bas, contre apports alimentaires en calcium élevés ou prise de complément en calcium.

- Prise de complément autre

Les prises de d'autres substances que la vitamine D ou le calcium sous forme de complément alimentaire ont été estimées à partir des questions spécifiques sur la prise de complément alimentaire posées dans les questionnaires envoyés en 1995, 2000, 2002, et 2005. En 2005, seuls les compléments alimentaires pris au moment du remplissage du questionnaire ont été considérés.

- Mammographie récente

A chaque questionnaire, il était demandé aux femmes de déclarer si elles avaient fait une mammographie depuis la date d'envoi du questionnaire précédent.

- Apports caloriques

Les apports caloriques totaux (hors alcool) ont été estimés à partir du questionnaire alimentaire envoyé en 1993-1995.

**Tableau 7** : Questionnaires et codage utilisés pour construire les variables d'ajustement des analyses prise de complément en vitamine D et risque de cancer du sein après la ménopause.

Variable	Questionnaires utilisés	Codage
<i>Variables fixes</i>		
Age à la ménopause	1990, 1992, 1993, 1995, 1997, 2000, 2002, 2005	En continu
Antécédents familiaux au premier degré de cancer du sein	1990, 2000	Oui, Non
Age à la ménarche	1990, 1992	En continu
Utilisation d'un contraceptif oral avant la ménopause	1990, 1992, 1993, 1995, 1997, 2000, 2002, 2005	Oui, Non
Parité et âge à la première grossesse menée à terme	1990, 1992	Nullipare, Âge à la 1ère grossesse < 30 ans et 1 ou 2 enfants, Âge à la 1ère grossesse < 30 ans et 3 enfants ou plus, Âge à la 1ère grossesse ≥ 30 ans
Apports caloriques (hors alcool)	Questionnaire alimentaire de 1993-1995	En continu (kcal/kjour)
Consommation d'alcool	Questionnaire alimentaire de 1993-1995	0.14, 3.80, 10.7, 26.0 mg d'éthanol/jour (médianes des quartiles)
Apports alimentaires en vitamine D	Questionnaire alimentaire de 1993-1995	< 1.95, 1.95-2.85, ≥ 2.85 µg/jour (tertiles)
Niveau d'études	1990	Inférieur au baccalauréat, Baccalauréat ou plus
Exposition aux UV selon le département de résidence	1995	< 1.40, 1.40-1.49, 1.50-1.68, ≥ 1.69 kJ/m <sup>2</sup> /jour (quartiles)
Couleur de la peau	1990	Très pâle à mate, Foncée à très foncée
<i>Variables dépendantes du temps</i>		
Prise actuelle ou passée de THM	1992, 1993, 1995, 1997, 2000, 2002, 2005	Oui, Non
Antécédents personnels de maladie bénigne du sein	1990, 1992, 1993, 1995, 1997, 2000, 2002, 2005	Oui, Non
Activité physique	1993*, 1995, 1997	< 12, ≥ 12 équivalents métaboliques en heures/jour
IMC	1993*, 1995, 1997, 2000, 2002, 2005	< 18.5, 18.5-24.9, ≥ 25 kg/m <sup>2</sup>
Apports en calcium	Questionnaire alimentaire de 1993-1995 Question sur la prise de complément en calcium : 1995, 2000, 2002, 2005	Apports alimentaires < 1 014 mg/jour (médiane), Apports alimentaires ≥ 1 014 mg/jour ou prise de complément en calcium
Prise passée ou actuelle de compléments autres	1995, 2000, 2002, 2005	Oui, Non
Mammographie récente	1995, 1997, 2000, 2002, 2005	Oui, Non
Statut tabagique	1990, 1992, 1993, 1995, 1997, 2000, 2005	Fumeuse, Ex-fumeuse ou Non-fumeuse

**Tableau 8 :** Effectifs des utilisatrices de complément ou médicament contenant de la vitamine D selon la source d'information utilisée pour les identifier à chaque questionnaire (N = 57 403).

	Case à cocher si prise de complément alimentaire au moins 3 fois/semaine	Questionnaire détaillé sur la prise de complément alimentaire <sup>1</sup>	Recueil de noms de médicaments non hormonaux pris contre l'ostéoporose	Recueil de noms de traitements hormonaux de la ménopause	Recueil de noms de médicaments autres pris au moins 3 fois/semaine	Remboursement MGEN dans les 3 mois précédant la réponse à un questionnaire	Total preneuses de complément en vitamine D <sup>2</sup>	Total répondantes
Q3 (1993)			Médicament : 696 Complément <sup>3</sup> : 3 Autre <sup>3</sup> : 38	Médicament : 5 Complément : 0 Autre <sup>3</sup> : 1			741	57 403
Q4 (1995)	1 822		Médicament : 1 097 Complément : 1 Autre <sup>3</sup> : 51	Médicament : 9 Complément : 0 Autre <sup>3</sup> : 1			2 631	57 403
Q5 (1997)				Médicament : 0 Complément : 0 Autre <sup>3</sup> : 0	Médicament : 631 Complément : 0 Autre <sup>3</sup> : 232		863	56 640
Q6 (2000)	2 378			Médicament : 116 Complément : 0 Autre <sup>3</sup> : 1			2 470	55 243
Q7 (2002)	3 205			Médicament : 58 Complément : 5 Autre <sup>3</sup> : 0			3 257	54 740
Q8 (2005)		Médicament : 4 184 Complément : 1 140 Autre <sup>3</sup> : 930 <b>Total : 6148</b>		Médicament : 0 Complément : 0 Autre <sup>3</sup> : 0	Médicament : 764 Complément : 0 Autre <sup>3</sup> : 38	6 650	9 650	50 454

<sup>1</sup> Seuls les compléments déclarés comme étant pris au moment du questionnaire ont été considérés.

<sup>2</sup> L'effectif total ne correspond pas à la somme des déclarations de prise de complément vitamine D dans chaque rubrique (une même participante a pu déclarer une prise de vitamine D à plusieurs endroits du questionnaire ou a pu déclarer plusieurs noms de complément ou médicament contenant de la vitamine D).

<sup>3</sup> Femmes ayant déclaré prendre de la vitamine D sans préciser aucun nom.

## 2.4 Analyses statistiques

Le seuil de significativité fixé était de 0,05 pour tous les tests statistiques effectués. Tous les tests étaient bilatéraux.

### 2.4.1 **Gestion des données manquantes**

Une donnée était considérée manquante à un questionnaire si une femme avait répondu à ce questionnaire mais n'avait pas répondu à la question permettant de collecter des informations sur cette donnée (si la réponse attendue était de type oui/non ou si la question concernait toutes les femmes comme pour le poids et la taille), et/ou si elle n'avait pas répondu à ce questionnaire.

Pour la prise de complément en vitamine D, nous avons considéré que les femmes ayant répondu à un questionnaire mais n'ayant pas coché la case permettant de déclarer qu'elle prenait un complément en vitamine D ou n'ayant pas déclaré de nom de complément en vitamine D étaient non-utilisatrices à ce questionnaire. En cas de non-réponse à un questionnaire, la prise de complément en vitamine D a été considérée manquante au moment du remplissage de ce questionnaire. En cas de non-réponse au premier questionnaire avec une question spécifique sur la prise de complément alimentaire envoyé en 1995 ou à tous les questionnaires suivant l'inclusion (questionnaire de 1995 ou premier questionnaire après la ménopause) les femmes étaient exclues. Lors de la modélisation de la prise de complément en vitamine D, une classe de donnée manquante a été créée pour la modélisation prise actuelle versus prise passée versus non-prise. Les données manquantes ont été imputées à la valeur du questionnaire précédent pour la modélisation prise actuelle ou passée versus non-prise.

Pour les apports alimentaires en vitamine D, les femmes n'ayant pas répondu au questionnaire alimentaire ont été exclues.

Pour les variables d'ajustement, il y'avait toujours moins de 5% de données manquantes à chaque questionnaire. Les données manquantes ont été imputées par la médiane pour les variables quantitatives ou la classe modale pour les variables qualitatives. En effet, des travaux préliminaires dans la cohorte ont permis de montrer que, en raison de la taille de la cohorte, cette approximation donnait les mêmes résultats que soit l'exclusion des sujets avec données manquantes, soit le calcul des valeurs manquantes par méthode d'imputation

multiple lorsqu'il y avait moins de 5% de données manquantes (161). Pour certaines variables (exposition aux UV selon le lieu de résidence en 1995 ; IMC, tabac), pour lesquelles l'information était disponible au questionnaire précédent, nous avons imputé par la valeur du questionnaire précédent.

### 2.4.2 Analyses descriptives

La prise de vitamine D ayant été étudiée en variable dépendante du temps, nous avons décrit les caractéristiques des participantes en fonction de leur prise de complément en vitamine D à la fin de leur suivi. Les variables quantitatives ont été décrites par leurs moyennes et écarts-types. La comparaison des valeurs d'une variable quantitative selon la prise de complément en vitamine D a été effectuée par un test de Student (lorsque la variable Pris de complément en vitamine D était considérée en deux classes : jamais versus actuelle ou passée) ou par une ANOVA (lorsque la variable Prise de complément en vitamine D était considérée en trois classes : jamais versus actuelle versus passée). Les variables qualitatives ont été décrites par les fréquences de chaque modalité. La comparaison d'une variable qualitative selon la prise de complément en vitamine D a été effectuée par un test du  $\chi^2$ .

### 2.4.3 Analyses de risque

#### *Le modèle de Cox*

Le risque de cancer du sein associé à la prise de complément en vitamine D a été estimé à partir du modèle de Cox.

Le modèle de Cox permet de modéliser la probabilité de survenue de cancer pour un individu à un instant  $t$  sachant qu'il n'a pas eu de cancer jusque-là (ou fonction de risque instantané), en fonction de variables explicatives et de l'instant  $t$ . Le modèle de Cox permet donc de prendre en compte des temps de suivi différents selon les individus. Pour un individu défini par les variables explicatives  $X_i$  telles que  $X = (X_1, X_2, \dots, X_p)$ , le modèle s'écrit :

$$h(t, X) = h_0(t) \cdot \exp(\beta' \cdot X)$$

$$h(t, X) = h_0(t) \cdot \exp\left(\sum_{i=1}^p \beta_i \cdot X_i\right)$$

$h(t, X)$  est la probabilité de survenue de cancer pour un individu ayant le profil  $X$  à un instant  $t$  sachant qu'il n'a pas eu de cancer jusque-là (ou fonction de risque instantané).  $h_0(t)$  est le risque instantané de base.

En calculant la transformée logarithmique du modèle on trouve que  $h(t, X)$  s'exprime en fonction des deux termes suivants :

$$\ln(h(t, X)) = \alpha_0(t) + \beta' \cdot X$$

$$\ln(h(t, X)) = \alpha_0(t) + \sum_{i=1}^p \beta_i \cdot X_i$$

Le terme  $\alpha_0(t)$ , avec  $\alpha_0(t) = \ln(h_0(t))$ , est un terme non-paramétrique. Il est fonction du temps et est indépendant des variables explicatives. Le terme  $\sum_{i=1}^p \beta_i \cdot X_i$  est fonction linéaire des caractéristiques individuelles. Le modèle de Cox est donc défini par un terme paramétrique et un terme non-paramétrique, c'est pourquoi il est dit semi-paramétrique.

Les paramètres  $\beta_i$  du modèle sont estimés à partir d'une méthode dérivée de celle du maximum de vraisemblance, appelée vraisemblance partielle (162). Chaque paramètre permet de calculer un Hazard Ratio (HR), qui correspond au rapport de risque entre les individus exposés à une variable  $X_i$  et les personnes non exposées à  $X_i$ , ce qui correspond donc à un risque relatif. Lorsque plusieurs variables sont incluses dans le modèle, les  $\beta_i$  ont été calculés conditionnellement aux autres variables. L'HR est dit ajusté sur les autres variables du modèle, c'est-à-dire qu'il exprime le rapport de risque entre les personnes exposées à  $X_i$  et non exposées à  $X_i$  indépendamment des autres variables incluses dans le modèle.

Le modèle de Cox repose sur deux hypothèses : la proportionnalité des risques et la log-linéarité des variables quantitatives incluses dans le modèle.

Le rapport de risque entre deux individus estimé à partir du modèle de Cox n'est pas fonction du temps. Lorsqu'on utilise le modèle de Cox, on fait donc l'hypothèse que l'association entre les variables explicatives et le risque de cancer du sein sera le même quel que soit l'instant  $t$ . L'hypothèse de proportionnalité des risques doit être vérifiée pour chaque variable explicative fixe incluse dans le modèle.

Si une variable quantitative est incluse en tant que variable continue dans le modèle, il faut vérifier que la probabilité d'être malade varie de façon log-linéaire avec la valeur de cette

variable. La variation de probabilité d'être malade pour la variation d'une unité de la variable continue doit être la même quel que soit le niveau de la variable continue.

#### *Modèle de Cox avec l'âge en échelle du temps*

Dans le modèle de Cox,  $t$  correspond au délai entre le moment où un individu commence à être à risque de déclarer la maladie (origine) et le moment où l'individu n'est plus à risque de déclarer la maladie (sortie). Généralement, dans le cadre d'une étude de cohorte, le moment où l'individu n'est plus à risque de déclarer la maladie correspond à la fin de la période d'étude. Pour un certain nombre de maladies, le moment à partir duquel l'individu commence à être à risque de développer la maladie ne correspond pas au début de la période d'étude mais à la naissance. En prenant en compte l'âge en échelle de temps, on considère que chaque individu ne commence pas à être à risque de déclarer la maladie à l'inclusion mais à la naissance : comme les individus ne sont pas suivis entre la naissance et la date d'inclusion dans l'étude, on parle de données tronquées à gauche. On considère donc que les individus commencent à être à risque de déclarer la maladie à la date d'inclusion étant donné qu'ils n'ont pas déclaré la maladie avant (les cas prévalents de cancer du sein ont été exclus). Le fait de considérer l'âge comme échelle de temps a plusieurs avantages. En prenant en compte l'âge comme échelle de temps, le modèle estime le risque de cancer du sein à chaque âge (quel que soit le temps de suivi) alors qu'en prenant le temps de suivi comme échelle de temps, le modèle estime le risque de cancer du sein à chaque instant quel que soit l'âge. Pour cette raison, plusieurs études ont recommandé de prendre l'âge comme échelle de temps lorsque l'âge est un facteur de risque de la maladie, comme pour le cancer du sein (163). Un autre avantage est que cela permet de considérer l'effet de l'âge comme non paramétrique, ce qui permet en particulier de ne pas imposer le respect de l'hypothèse des risques proportionnels et de log-linéarité pour cette variable. En revanche, cette méthode présente au moins un inconvénient : le risque de cancer du sein est estimé à chaque âge quel que soit le temps de suivi, ainsi si le temps de suivi est long, le risque de cancer du sein au même âge n'est très probablement pas le même à dix ans d'écart en raison par exemple de changements liés au mode de vie et aux pratiques médicales. Une façon de prendre en compte cet effet, appelé « effet cohorte » est de stratifier sur l'année de naissance, comme expliqué ci-dessous.

#### *Prise en compte de l'« effet cohorte »*

L'effet cohorte désigne le fait que le risque de survenue d'une maladie à un certain âge évolue avec les générations en raison par exemple de changements liés au mode de vie ou aux

pratiques médicales. Cela est particulièrement vrai pour le cancer du sein avec les modifications de pratiques liées à la contraception orale, à la prise de traitements hormonaux et de dépistage. La méthode utilisée pour prendre en compte cet effet cohorte est de stratifier sur l'année de naissance. Nous avons stratifié sur des périodes de 5 ans comme cela est généralement fait.

#### *Modèles utilisés*

Le modèle de Cox permet de prendre en compte plusieurs variables d'ajustement. On cherche ainsi à estimer le risque de cancer du sein associé à la prise de complément en vitamine D indépendamment des autres facteurs pouvant influencer le risque de cancer du sein.

Nous avons considéré trois types d'ajustement :

- Un modèle non-ajusté ;
- Un modèle ajusté sur les principaux facteurs de risque de cancer du sein (âge à la ménarche, âge à la ménopause, parité et âge à la première grossesse menée à terme, utilisation de contraceptif oral, utilisation de THM, antécédents personnels de maladie bénigne du sein, antécédents familiaux de cancer du sein, consommation d'alcool, activité physique, IMC) et les facteurs pouvant jouer un rôle de confusion dans notre étude (associés au risque de cancer du sein avec  $p < 0.20$ ) : apports caloriques totaux hors alcool, passage récent d'une mammographie, niveau d'études, exposition aux UV selon le lieu de résidence, couleur de la peau;
- Un modèle ajusté sur l'ensemble des facteurs cités ci-dessus plus d'autres facteurs de confusion potentiels (mais qui n'étaient pas associés au risque de cancer du sein avec  $p < 0.20$  dans notre étude) : apports alimentaires en vitamine D, statut tabagique, apports en calcium, prise de d'autres micronutriments que la vitamine D ou le calcium sous forme de complément alimentaire.

Chaque modèle était stratifié sur l'année de naissance par périodes de 5 ans pour prendre en compte l'« effet cohorte ».

Le codage et la modélisation (fixe ou dépendante du temps) des variables d'ajustement sont récapitulés dans le Tableau 7.

*Codage des variables*

Un des avantages du modèle de Cox est qu'il permet de prendre en compte l'actualisation de l'exposition d'un individu au cours du suivi, on parle alors de variable dépendante du temps. Le modèle s'écrit alors :

$$h(t, X(t)) = h_0(t) \cdot \exp(\beta \cdot X(t))$$

$$h(t, X(t)) = h_0(t) \cdot \exp \sum_{i=1}^p \beta_i \cdot X_i(t)$$

Un individu peut donc être considéré exposé entre deux questionnaires puis être considéré comme non-exposé jusqu'à la fin de son suivi. Il contribue aux personnes-années de la classe exposée pour la durée s'étant écoulée entre les deux questionnaires et aux personnes-années de la classe non-exposée pour la durée s'étant écoulée entre le deuxième questionnaire et la fin de son suivi. Lorsque les variables d'exposition sont considérées comme variables fixes, les individus restent dans la classe d'exposition qui leur a été attribuée à l'inclusion et contribuent aux personnes-années pour une seule classe.

La prise de complément en vitamine D a été considérée en variable dépendante du temps : l'information à un questionnaire  $n$  était utilisée pour estimer l'exposition entre les dates de réponse aux questionnaires  $n$  et  $n+1$ . La prise de complément en vitamine D a été considérée en variable en quatre classes : prise actuelle, prise passée, non-prise ou donnée manquante, ou en variable en deux classes : prise actuelle ou passée et non-prise.

Si une femme déclarait la prise de complément en vitamine D à un questionnaire  $n$ , elle était considérée comme preneuse actuelle entre les dates de réponse aux questionnaires  $n$  et  $n+1$ , puis comme preneuse passée jusqu'à la fin de son suivi, sauf si elle déclarait prendre un complément en vitamine D dans un questionnaire suivant (elle était alors de nouveau considérée comme preneuse actuelle jusqu'au questionnaire suivant) ou en cas de non-réponse à un questionnaire.

Toutes les participantes ne répondant pas à un questionnaire  $n$  étaient considérées comme donnée manquante entre la date d'envoi du questionnaire  $n$  et la date de réponse au prochain questionnaire répondu. Cependant, en cas de non-réponse au premier questionnaire avec une question spécifique sur la prise de complément alimentaire envoyé en 1995 ou à tous les

questionnaires suivant l'inclusion (questionnaire de 1995 ou premier questionnaire après la ménopause), les participantes étaient exclues.

Les participantes contribuaient au nombre de personnes-années de chaque classe à partir de leur inclusion. La prise passée de vitamine D pouvait avoir eu lieu avant la ménopause.

Le codage de chaque variable d'ajustement est récapitulé dans le Tableau 7.

#### *Tests d'interaction*

Les interactions potentielles entre prise de complément en vitamine D et IMC ou prise de THM sur le risque de cancer du sein ont été investiguées en stratifiant les analyses vitamine D-cancer du sein selon l'IMC ( $< 25$ ,  $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup>) et la prise de THM (passée ou actuelle, jamais) et en effectuant des tests d'hétérogénéité.

#### *Tests d'hétérogénéité*

Nous avons étudié si la relation entre prise de complément en vitamine D et risque de cancer du sein après la ménopause différait selon :

- le statut hormonal de la tumeur (présence de récepteurs à œstrogènes ou non) ;
- la prise actuelle versus passée de complément en vitamine D ;
- des facteurs spécifiques liés au mode de vie (IMC :  $< 25$  versus  $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup> et prise de THM : prise passée ou actuelle versus jamais).

L'hétérogénéité de l'association entre les différents sous-groupes considérés a été testée à partir de tests de  $\chi^2$  d'homogénéité. L'hypothèse nulle est l'absence d'hétérogénéité de l'association entre les sous-groupes considérés. Le test s'écrit :

$$Q_s = \sum_{j=1}^s \frac{(\hat{\beta}_j)^2}{\text{var}(\hat{\beta}_j)} - \left( \sum_{j=1}^s \frac{\hat{\beta}_j}{\text{var}(\hat{\beta}_j)} \right)^2 / \sum_{j=1}^s \frac{1}{\text{var}(\hat{\beta}_j)}$$

$Q_s$  suit une loi du  $\chi^2$  à  $s - 1$  ddl où  $s$  est le nombre de sous-groupes considérés (dans notre cas  $s=2$  pour tous les tests réalisés) et  $\hat{\beta}_j$  est le paramètre du modèle de Cox utilisé associé à la prise de complément en vitamine D dans chaque sous-groupe  $j$ .

*Risques compétitifs*

On parle de risques compétitifs lorsqu'un individu peut expérimenter plusieurs types d'évènement dont la survenue de l'un empêche la survenue des autres.

Lorsqu'on étudie le risque de premier cancer du sein selon le statut hormonal de la tumeur (ER+, ER-), on est dans une situation de risques compétitifs. Dans un modèle de Cox sans risques compétitifs, la survenue de l'évènement est binaire (dans le modèle visant à estimer le risque de tumeur ER+ par exemple : pas de tumeur ER+, tumeur ER+), alors que dans un modèle à risques compétitifs, la survenue de l'évènement aura plus de deux modalités (dans le modèle visant à estimer le risque de tumeur ER+ par exemple : pas de tumeur, tumeur ER+, tumeur ER-). Deux modèles de Cox avec risques compétitifs ont été utilisés : un premier modèle pour estimer le risque de tumeur ER+ en tenant compte de la censure pour tumeur ER- et un deuxième modèle pour estimer le risque de tumeur ER- en tenant compte de la censure pour tumeur ER+.

*Risques absolus*

Les risques absolus de cancer du sein selon la prise de complément en vitamine D, la prise de THM, et l'IMC ont été estimés à partir du modèle de Cox le plus complet. Le calcul des risques absolus permet de comparer les niveaux de risque entre les différentes strates considérées.

**2.4.4 Logiciel utilisé**

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SAS version 9.3 (SAS Institute, Cary, NC). Nous avons utilisé la procédure PHREG, qui permet de prendre en compte les données tronquées à gauche. En prenant l'âge en échelle de temps, nous sommes en effet dans le cas d'une troncature à gauche car seuls les sujets ayant survécu jusqu'à la date d'inclusion sont observables.

### 3. RESULTATS

#### 3.1 *Analyses descriptives*

La population d'étude était constituée de 57 403 femmes ménopausées suivies en moyenne 10 ans, parmi lesquelles 2 482 cas incidents de cancer du sein invasif ont été diagnostiqués parmi 581 085 personnes-années. Parmi les 2 038 cas pour lesquels le statut hormonal de la tumeur était connu 1 679 étaient ER+ (soit 82%) et 359 étaient ER- (soit 18%).

##### 3.1.1 Apports alimentaires en vitamine D

L'apport moyen en vitamine D de source alimentaire a été estimé à 104 UI par jour, soit moitié moins que les recommandations françaises pour les adultes (200 UI par jour) mais ce qui est similaire aux apports estimés dans la population française en 2006-2007 (cf. Partie 1.6.1). Seulement 4% des participantes avaient des apports supérieurs ou égaux à 200 UI par jour. Les principaux aliments contributeurs des apports alimentaires en vitamine D étaient le poisson (38%), les œufs (17%), les produits laitiers incluant le lait et le fromage (12%) et la margarine (7%).

##### 3.1.2 Prise de complément en vitamine D

###### *Augmentation de la prise de complément en vitamine D au cours du suivi*

Environ 22% des femmes de la population d'étude ont déclaré au moins une fois avoir pris un complément en vitamine D au cours de leur suivi. La proportion de femmes ayant déclaré prendre un complément en vitamine D a augmenté entre 1995 et 2005, passant de 4,6% à 4,5%, 6,0%, et 13,5% en 1995, 2000, 2002 et 2005 respectivement. Cette augmentation est cohérente avec la forte progression du marché des compléments alimentaires en France à cette période (+25% entre 2000 et 2002 et +52% entre 2002 et 2005, Figure 7). Cependant, une partie de l'augmentation constatée entre 2002 et 2005 peut être due à une modification de la question sur la prise de complément alimentaire en 2005. Avant 2005, il était demandé aux femmes de cocher une case si elles prenaient de la vitamine D. En 2005, il était demandé aux femmes de donner le nom des compléments qu'elles prenaient et de donner leur composition en cochant des cases correspondant à des constituants (ex : calcium, vitamine C, plantes...). Il est donc probable que les femmes aient plus facilement déclaré leur prise de vitamine D sous forme de complément multivitaminique dans ce questionnaire, alors que ce type de

complément a pu être sous-déclaré dans les questionnaires précédents. De plus, dans le questionnaire de 2005, la question n'était pas limitée aux compléments pris au moins trois fois par semaine, des compléments pris de façon moins régulière ont donc pu également être rapportés (cf. Partie 2.3.2).

#### *Types de complément en vitamine D utilisés*

Les compléments en vitamine D peuvent être vendus sous forme de « médicament » ou sous forme de « complément alimentaire » tels que définis par la législation. Les « médicaments » sont vendus en pharmacie uniquement mais ne nécessitent pas toujours de prescription médicale (Annexe 3). Certains sont en partie remboursables. Ils ne sont pas soumis aux limites maximales fixées par l'Arrêté du 9 mai 2006. Leur posologie est généralement de 400 ou 800 UI par jour (Annexe 3) mais ils peuvent aussi se présenter sous forme de dose de charge. Ils sont destinés à être pris en traitement préventif ou curatif d'une ostéoporose ou d'une carence en vitamine D. Un petit nombre de médicaments multivitaminiques contiennent des doses de vitamine D de 200 à 500 UI par jour. Les « compléments alimentaires » peuvent être vendus en pharmacie ou hors pharmacie. Ils ne nécessitent jamais de prescription médicale, ne sont jamais remboursables, et ne doivent pas dépasser un dosage de 200 UI par jour (Arrêté du 9 mai 2006).

Dans les années 1990, chez l'adulte, la vitamine D était surtout prescrite sous forme de « médicament » aux femmes ménopausées en traitement préventif ou curatif du risque d'ostéoporose, indépendamment du statut sérique en vitamine D. Dans le questionnaire envoyé en 1995, environ un tiers des femmes a déclaré prendre de la vitamine D sous forme de complément dans la rubrique « médicament pris contre l'ostéoporose » plutôt que dans la rubrique « compléments alimentaires » (Tableau 8). Au début des années 2000, de plus en plus de médicaments ayant d'autres indications que l'ostéoporose (principalement compléter un régime carencé) et de « compléments alimentaires » ont été mis sur le marché. Néanmoins, dans le questionnaire envoyé en 2005, les noms de complément en vitamine D déclarés étaient surtout des noms de médicament (71,8%). A chaque questionnaire, entre 61% et 90% des femmes ayant déclaré prendre un complément en vitamine D prenaient aussi du calcium sous forme de complément.

*Informations données par les remboursements MGEN*

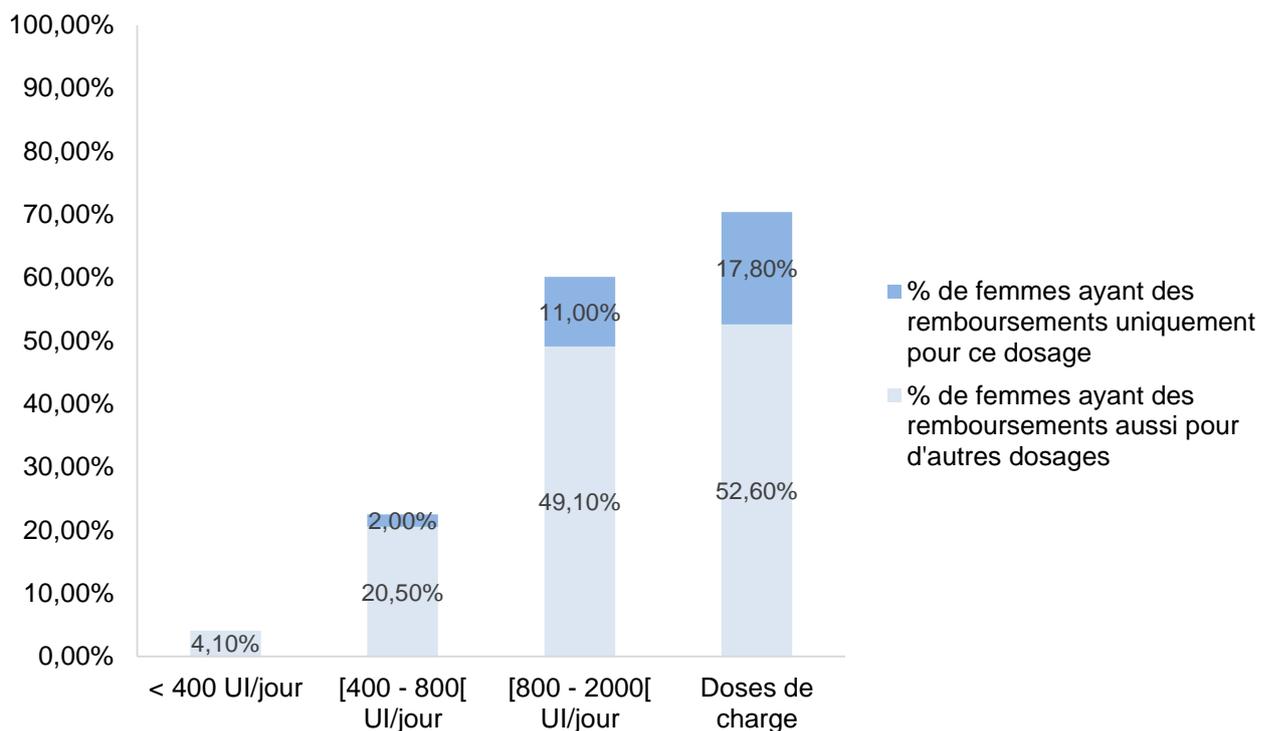
La base de remboursements de la MGEN permet de connaître précisément le type de complément en vitamine D remboursé (composition, posologie, conditionnement, indications), ainsi que la date et le nombre de remboursements. Cependant elle ne rend pas compte de l'ensemble des compléments en vitamine D pris par les participantes. D'une part, la base de remboursement n'est disponible qu'à partir de 2004, la période 1995-2004 n'est donc pas couverte alors que les pratiques concernant la prise de complément en vitamine D ont évolué. D'autre part, seuls les médicaments en partie ou totalement remboursables sont dans la base, alors que tous les compléments alimentaires et une partie des médicaments contenant de la vitamine D ne sont pas remboursables (Annexe 3). Parmi les médicaments contenant de la vitamine D présents sur le marché entre 2004 et 2011, une grande partie des médicaments remboursés sont des médicaments dont l'indication est la prévention ou le traitement de l'ostéoporose et certains médicaments destinés à compléter un régime carencé en vitamine D. Les médicaments multivitaminiques, contenant de la vitamine D à des doses comprises entre 200 et 500 UI par jour n'étaient pas remboursés. Il semblerait toutefois que les médicaments remboursés représentent la plus grande partie des compléments en vitamine D consommés dans la population d'étude, puisque 65% des femmes ayant déclaré prendre un complément en vitamine D dans le questionnaire envoyé en 2005 avaient eu au moins un remboursement pour de la vitamine D dans les trois mois précédant ou suivant leur date de réponse au questionnaire.

La base de remboursement de la MGEN fournit des informations intéressantes sur l'utilisation des médicaments remboursables contenant de la vitamine D. La majorité des femmes de la population d'étude ayant été remboursées pour de la vitamine D entre 2004 et 2011 ont eu des remboursements pour plusieurs types de dosage (Figure 21). Les compléments les plus fréquemment pris étaient les doses de charge (70,4% des femmes ayant eu au moins un remboursement pour de la vitamine D) et les compléments avec une posologie quotidienne de 800 UI par jour ou plus (60,1% des femmes ayant eu au moins un remboursement pour de la vitamine D) (Figure 20). Seules 25,2% des femmes ayant été remboursées pour un complément contenant une dose de charge et 18,3% des femmes ayant été remboursées pour un complément dont la posologie était de 800 UI par jour ou plus n'ont pas eu de remboursement pour d'autres types de dosages (Figure 20). Cela semble être lié à une évolution du type de médicament pris au cours de cette période (Figure 22). Entre 2004 et 2009, le type de dosage le plus consommé était 800 UI par jour ou plus alors qu'à partir

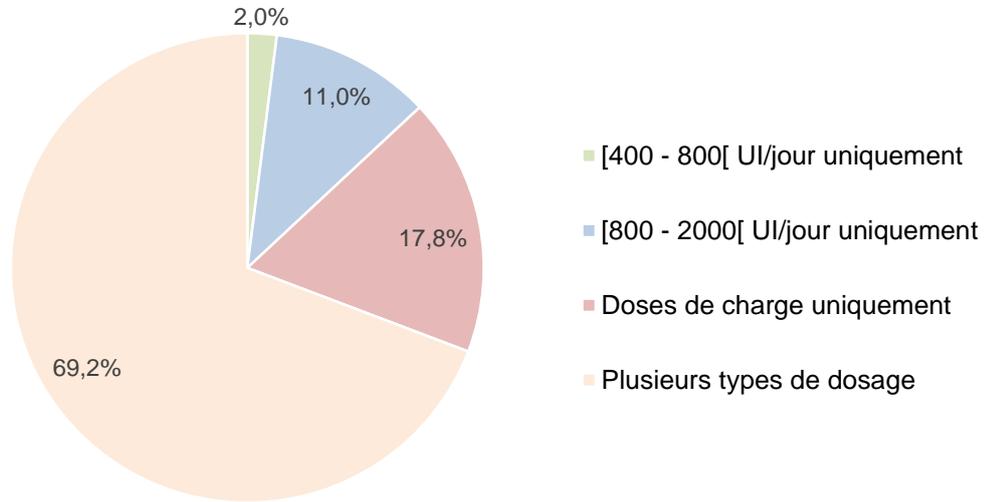
de 2010, ce sont les doses de charge qui étaient le type de dosage le plus fréquent parmi les femmes ayant été remboursées pour de la vitamine D. Tous types de dosage confondus, les remboursements pour de la vitamine D ont fortement augmenté entre 2004 et 2011. En 2004, 18,9% des femmes de la population d'étude avaient été remboursées pour de la vitamine D, contre 43,8% en 2011.

La durée d'utilisation des médicaments remboursés contenant de la vitamine D est plutôt longue. Les participantes ayant été remboursées pour de la vitamine D entre le 25 mai 2008 et le 25 juin 2008 ont été remboursées en moyenne 5,5 années sans interruption de plus d'un an pour de la vitamine D (en moyenne 2,6 années avant et 2,9 années après juin 2008).

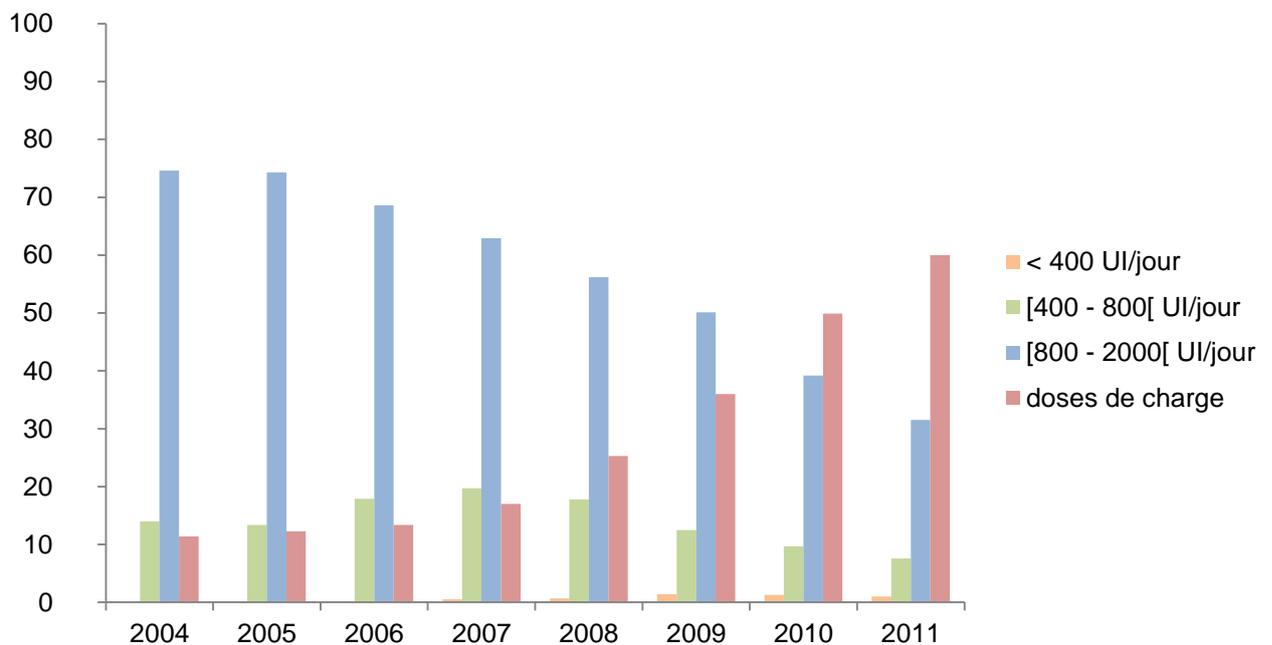
**Figure 20** : Fréquence des remboursements MGEN pour de la vitamine D entre le 1<sup>er</sup> janvier 2004 et le 31 décembre 2011 par type de dosage (Cohorte E3N, N = 57 403).



**Figure 21** : Répartition des différents types de dosages en vitamine D parmi les femmes ayant été remboursées pour de la vitamine D entre le 1<sup>er</sup> janvier 2004 et le 31 décembre 2011 (Cohorte E3N, N = 57 403).



**Figure 22** : Evolution des remboursements par type de dosage en vitamine D entre 2004 et 2011 (Cohorte E3N, N = 57 403).



### **3.1.3 Description des utilisatrices de complément en vitamine D**

A la fin du suivi, les femmes prenant ou ayant pris un complément en vitamine D étaient plus âgées que les non preneuses. Elles avaient plus fréquemment utilisé d'autres types de compléments et avaient plus fréquemment des antécédents personnels de maladie bénigne du sein.

Les utilisatrices actuelles de complément en vitamine D étaient plus minces que les non-utilisatrices et les utilisatrices passées. Elles avaient eu plus fréquemment recours à la prise de THM, mais étaient moins souvent utilisatrices actuelles de THM, surtout par rapport aux non-utilisatrices de complément en vitamine D. Elles avaient eu plus fréquemment recours aux contraceptifs oraux que les utilisatrices passées de complément en vitamine D mais moins que les non-utilisatrices. Les utilisatrices passées de complément en vitamine D avaient moins souvent fait des études supérieures que les preneuses actuelles et les non-utilisatrices. Elles avaient aussi moins souvent passé une mammographie récente.

L'ensemble des caractéristiques des participantes selon leur exposition à la prise de complément en vitamine D sont présentées dans le Tableau 9.

**Tableau 9 :** Caractéristiques des participantes à la fin du suivi selon leur exposition aux compléments en vitamine D (Cohorte E3N, N = 57 403)<sup>1</sup>.

	Aucune prise de complément en vitamine D (n = 42 012)	Prise actuelle de complément en vitamine D (n = 9 002)	Prise passée de complément en vitamine D (n = 3 171)	P <sup>2</sup>
<b>Age à la fin du suivi, années</b>	65,9 ± 6,5 <sup>3</sup>	68,4 ± 6,5	68,9 ± 6,8	< 0,001
<b>Age à la ménarche, années</b>	12,8 ± 1,4	12,9 ± 1,4	12,8 ± 1,4	< 0,001
<b>Age à la ménopause, années</b>	50,6 ± 3,7	50,4 ± 3,9	50,0 ± 4,2	< 0,001
<b>Niveau d'études, %</b>				< 0,001
Inférieur au baccalauréat	11,4	8,5	12,7	
Baccalauréat ou plus	88,6	91,5	87,3	
<b>IMC, kg/m<sup>2</sup></b>	23,9 ± 3,8	22,9 ± 3,3	23,5 ± 3,8	< 0,001
<b>Consommation d'alcool, g d'éthanol/jour</b>	11,6 ± 13,8	10,7 ± 12,9	10,9 ± 13,5	< 0,001
<b>Apports caloriques totaux (hors alcool), kcal/jour</b>	2 135,2 ± 539,8	2 100,9 ± 524,7	2 124,5 ± 544,2	< 0,001
<b>Apports alimentaires en calcium, mg/jour</b>	1 066,5 ± 363,3	1 051,9 ± 363,4	1 101,1 ± 382,9	< 0,001
<b>Prise de complément en calcium, %</b>				< 0,001
Jamais	86,4	8,4	31,9	
Actuellement	5,5	89,0	19,3	
Dans le passé	8,1	2,6	48,8	
<b>Prise actuelle ou passée de vitamines ou minéraux autres que le calcium ou la vitamine D sous forme de complément, %</b>	40,4	77,0	72,4	< 0,001
<b>Activité physique, METs en heures/semaine</b>	25,0 ± 18,2	25,6 ± 18,0	25,6 ± 19,0	0,003
<b>Fumeuses actuelles, %</b>	7,6	5,4	6,3	< 0,001
<b>Couleur de la peau, %</b>				0,02
Très pâle à mate	58,8	60,3	59,9	
Brune à noire	41,2	39,7	40,1	

<b>Exposition aux UV selon le département de résidence, kj/m<sup>2</sup>/jour</b>	1,54 ± 0,19	1,55 ± 0,19	1,55 ± 0,19	< 0,001
<b>Antécédents familiaux au premier degré de cancer du sein, %</b>	10,8	11,4	10,8	0,27
<b>Antécédents personnels de maladie bénigne du sein, %</b>	35,3	40,1	40,1	< 0,001
<b>Mammographie depuis le questionnaire précédent, %</b>	88,9	92,2	87,3	< 0,001
<b>Parité, %</b>				< 0,001
Nullipare	11,3	12,7	13,6	
Premier enfant avant 30 ans, 1 ou 2 enfants	50,1	50,6	49,8	
Premier enfant avant 30 ans, 3 enfants ou plus	28,4	26,4	26,9	
Premier enfant après 30 ans	10,2	10,4	9,8	
<b>Utilisation d'un contraceptif oral avant la ménopause, %</b>	61,2	57,0	52,3	< 0,001
<b>Utilisation de THM, %</b>				< 0,001
Jamais	29,9	26,0	31,5	
Actuellement	30,5	21,2	24,1	
Dans le passé	39,6	52,8	44,4	
<b>Apports alimentaires en vitamine D, µg/jour</b>	2,59 ± 1,22	2,53 ± 1,21	2,65 ± 1,28	< 0,001

<sup>1</sup> La prise de vitamine D au dernier questionnaire avant la fin du suivi était inconnue pour 3 218 femmes.

<sup>2</sup> Les trois groupes (non-utilisatrices, utilisatrices actuelles, actuelles passées de complément en vitamine D) ont été comparés par des tests du Chi<sup>2</sup> pour les variables qualitatives et ANOVA pour les variables quantitatives.

<sup>3</sup> Pour les variables quantitatives, les valeurs indiquées sont les moyennes ± l'écart-type.

Abréviations: ET: Ecart-Type, HR: Hazard Ratio, IMC, Indice de Masse Corporelle, MET, équivalent métabolique; THM, Traitement Hormonal de la Ménopause.

### 3.2 Prise de complément en vitamine D et risque de cancer du sein après la ménopause

#### 3.2.1 Analyses globales

La prise de complément en vitamine D (actuelle ou passée) n'était pas associée au risque de cancer du sein après la ménopause (HR = 0,95, IC<sub>95%</sub> = [0,83 - 1,08]). L'association entre risque de cancer du sein et prise de complément en vitamine D différait selon le caractère récent ou passée de la prise : la prise actuelle était associée à une diminution de risque à la limite de la significativité statistique (HR = 0,84, IC<sub>95%</sub> = [0,71 - 1,00]) et la prise passée n'était pas associée au risque de cancer du sein après la ménopause (HR = 1,09, IC<sub>95%</sub> = [0,91 - 1,30]),  $P_{\text{homogénéité}} = 0,04$  (Tableau 10).

#### 3.2.2 Analyses par statut hormonal de la tumeur

La prise actuelle de complément en vitamine D était associée à une diminution de risque de tumeur ER+ (HR = 0,77, IC<sub>95%</sub> = [0,62 - 0,96]) mais n'était pas associée au risque de tumeur ER- (HR = 0,90, IC<sub>95%</sub> = [0,58 - 1,40]) (Tableau 10). Cependant, l'association ne différait pas statistiquement selon le statut hormonal de la tumeur n'était pas statistiquement hétérogène ( $P_{\text{homogénéité}} = 0,53$ ).

La prise passée de complément en vitamine D était associée à une augmentation de risque de tumeur ER+ à la limite de la significativité statistique (HR = 1,22, IC<sub>95%</sub> = [0,99 - 1,50]) mais n'était pas associée au risque de tumeur ER- (HR = 0,93, IC<sub>95%</sub> = [0,55 - 1,55]) (Tableau 10). Le test d'homogénéité n'était pas statistiquement significatif ( $P_{\text{homogénéité}} = 0,33$ ).

**Tableau 10** : Hazard Ratios de l'association entre prise de complément en vitamine D et risque de cancer du sein invasif après la ménopause, globalement (Cohorte E3N, 1995 - 2008, N = 57 403) et selon le statut hormonal de la tumeur ER+/ER- (Cohorte E3N, 1995 - 2008, N = 56 959).

	Tous les cancers du sein invasifs				ER+		ER-		$P_{\text{homogénéité}}$ entre les cas ER+ et ER-
	Nb. de personnes- années	Nb. de cas	HR (IC <sub>95%</sub> ) <sup>1</sup>	HR (IC <sub>95%</sub> ) <sup>2</sup>	Nb. de cas	HR (IC <sub>95%</sub> ) <sup>1</sup>	Nb. de cas	HR (IC <sub>95%</sub> ) <sup>2</sup>	
Prise de complément en vitamine D									
Jamais	410 472	2 119	1 (ref)	1 (ref)	1 439	1 (ref)	316	1 (ref)	
Actuelle	101 575	163	0,86 (0,73-1,01)	0,84 (0,71-1,00)	96	0,77 (0,62-0,96)	24	0,90 (0,58-1,40)	0,53
Passée	34 704	136	1,11 (0,93-1,32)	1,09 (0,91-1,30)	101	1,22 (0,99-1,50)	16	0,93 (0,55-1,55)	0,33
$P_{\text{homogénéité}}$ entre les prises actuelle et passée			0,04	0,04		< 0,001		0,94	

64 cas, dont 43 cas ER+ et 3 cas ER- ont été diagnostiqués parmi les femmes dont la prise de vitamine D au dernier questionnaire n'était pas renseignée. La prise de vitamine D non renseignée représentait 34 333 personnes-années à la fin du suivi.

<sup>1</sup> Ajusté sur l'âge (échelle de temps) et stratifié sur l'année de naissance (1925-1930, 1930-1935, 1935-1940, 1940-1945, 1945-1950).

<sup>2</sup> Ajusté sur l'âge (échelle de temps), l'IMC (< 18.5, 18.5-24.9,  $\geq$  25 kg/m<sup>2</sup>, dépendant du temps), l'utilisation d'un contraceptif oral avant la ménopause (au moins une fois, jamais), l'utilisation de traitement hormonal de la ménopause (au moins une fois, jamais, dépendant du temps), la parité et l'âge à la première grossesse menée à terme (nullipare, âge à la première grossesse < 30 ans et 1 ou 2 enfants, âge à la première grossesse < 30 ans et 3 enfants ou plus, âge à la première grossesse  $\geq$  30 ans), l'âge à la ménarche (années, continu), l'âge à la ménopause (années, continu), apports totaux en énergie sans l'alcool (kcal/jour, continu, estimés à partir du questionnaire envoyé en 1993-1995), les apports

alimentaires en vitamine D (tertiles :  $< 1.95$ ,  $1.95-2.85$ ,  $\geq 2.85$   $\mu\text{g}/\text{jour}$ , estimés à partir du questionnaire envoyé en 1993-1995), les apports en calcium (apports alimentaires estimés à partir du questionnaire de 1993-1995  $< 1\ 014$ , apports alimentaires estimés à partir du questionnaire de 1993-1995  $\geq 1\ 014$   $\text{mg}/\text{jour}$  ou prise de complément en calcium, dépendant du temps), la prise de complément en vitamines/minéraux autre que calcium ou vitamine D (au moins une fois, jamais), la couleur de la peau (très pâle à mate, foncée à très foncée), l'exposition aux UV selon le lieu de résidence (quartiles :  $< 1.40$ ,  $1.40-1.49$ ,  $1.50-1.68$ ,  $\geq 1.69$   $\text{kJ}/\text{m}^2/\text{jour}$ , estimé dans le questionnaire de 1995), la consommation d'alcool (médianes des quartiles, estimée à partir du questionnaire de 1993-1995), le statut tabagique (fumeur, ex-fumeur ou non-fumeur, dépendant du temps), l'activité physique ( $< 12$ ,  $\geq 12$  équivalents métaboliques en heures/jour, dépendent du temps), la présence d'antécédents personnels de maladie bénigne du sein (oui, non, dépendant du temps), le passage d'une mammographie depuis le dernier questionnaire (oui, non, dépendant du temps), la présence d'antécédents familiaux au premier degré de cancer du sein (oui, non), le niveau d'études (inférieur au baccalauréat, baccalauréat ou plus). Les analyses ont été stratifiées sur l'année de naissance (1925-1930, 1930-1935, 1935-1940, 1940-1945, 1945-1950).

### 3.2.3 Analyses stratifiées

#### *Analyses stratifiées sur la prise de THM*

L'association entre prise actuelle de complément en vitamine D et risque de cancer du sein était modifiée par l'utilisation de THM ( $P_{\text{homogénéité}} < 0,001$ ). La prise actuelle de complément en vitamine D était associée à une diminution du risque de cancer du sein chez les femmes étant ou ayant été utilisatrices de THM (HR = 0,72, IC<sub>95%</sub> = [0,59 – 0,88]), mais était associée à une augmentation de risque à la limite de la significativité chez celles n'ayant jamais été utilisatrices de THM (HR = 1,27, CI<sub>95%</sub> = [0,94 – 1,73]) (Tableau 11). L'association n'était pas statistiquement hétérogène selon le caractère récent ou passé de la prise de THM (HR = 0,75, CI<sub>95%</sub> = [0,57 – 0,99] et 0,82, CI<sub>95%</sub> = [0,60 – 1,12] respectivement,  $P_{\text{homogénéité}} = 0,66$ ).

L'association entre prise passée de complément en vitamine D et risque de cancer du sein n'était pas statistiquement hétérogène selon l'utilisation de THM ( $P_{\text{homogénéité}} = 0,15$ ). La prise passée de complément en vitamine D était associée à une augmentation de risque à la limite de la significativité statistique chez les femmes n'ayant jamais été utilisatrices de THM (HR = 1,36, IC<sub>95%</sub> = [0,96 – 1,91]) et n'était pas associée au risque de cancer du sein chez les femmes étant ou ayant été utilisatrice de THM (HR = 1,01, IC<sub>95%</sub> = [0,82 – 1,25]) (Tableau 11).

**Tableau 11** : Hazard Ratios de l'association entre prise de complément en vitamine D et risque de cancer du sein invasif après la ménopause, stratifiée sur la prise de THM (Cohorte E3N, 1995 - 2008, N = 57 403).

	Non-utilisatrices de THM				Utilisatrices passées ou actuelles de THM				$P_{\text{homogénéité entre les utilisatrices et les non-utilisatrices de THM}}$
	Nb. de personnes-années	Nb. de cas	HR (IC <sub>95%</sub> ) <sup>1</sup>	HR (IC <sub>95%</sub> ) <sup>2</sup>	Nb. de personnes-années	Nb. de cas	HR (IC <sub>95%</sub> ) <sup>1</sup>	HR (IC <sub>95%</sub> ) <sup>2</sup>	
Prise de complément en vitamine D									
Jamais	111 230	449	1 (ref)	1 (ref)	299 242	1 670	1 (ref)	1 (ref)	-
Actuelle	24 795	53	1,32 (0,99-1,76)	1,27 (0,94-1,73)	76 780	110	0,72 (0,59-0,88)	0,73 (0,59-0,89)	< 0,001
Passée	10 443	38	1,39 (0,99-1,94)	1,36 (0,96-1,91)	24 261	98	1,01 (0,82-1,24)	1,01 (0,82-1,25)	0,15
$P_{\text{homogénéité entre les prises actuelle et passé de complément en vitamine D}}$				0,78				0,03	

64 cas, dont 43 cas ER+ et 3 cas ER- ont été diagnostiqués parmi les femmes dont la prise de vitamine D au dernier questionnaire n'était pas renseignée. La prise de vitamine D non renseignée représentait 34 333 personnes-années à la fin du suivi.

<sup>1</sup> Ajusté sur l'âge (échelle de temps) et stratifié sur l'année de naissance (1925-1930, 1930-1935, 1935-1940, 1940-1945, 1945-1950).

<sup>2</sup> Ajusté pour l'âge (échelle de temps), l'IMC (< 18,5, 18,5-24,9, ≥ 25 kg/m<sup>2</sup>, dépendant du temps), l'utilisation d'un contraceptif oral avant la ménopause (au moins une fois, jamais), la parité et l'âge à la première grossesse menée à terme (nullipare, âge à la première grossesse < 30 ans et 1 ou 2 enfants, âge à la première grossesse < 30 ans et 3 enfants ou plus, âge à la première grossesse ≥ 30 ans), l'âge à la ménarche (années, continu), l'âge à la ménopause (années, continu), les apports totaux en énergie sans l'alcool (kcal/jour, continu, estimés à partir du questionnaire envoyé en 1993-1995), les apports alimentaires en vitamine D (tertiles : < 1,95, 1,95-2,85, ≥ 2,85 µg/jour, estimés à partir du questionnaire

envoyé en 1993-1995), les apports en calcium (apports alimentaires estimés à partir du questionnaire de 1993-1995  $< 1\ 014$ , apports alimentaires estimés à partir du questionnaire de 1993-1995  $\geq 1\ 014$  mg/jour ou prise de complément en calcium, dépendant du temps), la prise de complément en vitamines/minéraux autre que calcium ou vitamine D (au moins une fois, jamais), la couleur de la peau (très pâle à mate, foncée à très foncée), l'exposition aux UV selon le lieu de résidence (quartiles :  $< 1,40$ ,  $1,40-1,49$ ,  $1,50-1,68$ ,  $\geq 1,69$  kJ/m<sup>2</sup>/jour, estimé dans le questionnaire de 1995), la consommation d'alcool (médianes des quartiles, estimée à partir du questionnaire de 1993-1995), le statut tabagique (fumeur, ex-fumeur ou non-fumeur, dépendant du temps), l'activité physique ( $< 12$ ,  $\geq 12$  équivalents métaboliques en heures/jour, dépendent du temps), la présence d'antécédents personnels de maladie bénigne du sein (oui, non, dépendant du temps), le passage d'une mammographie depuis le dernier questionnaire (oui, non, dépendant du temps), la présence d'antécédents familiaux au premier degré de cancer du sein (oui, non), le niveau d'études (inférieur au baccalauréat, baccalauréat ou plus). Les analyses ont été stratifiées sur l'année de naissance (1925-1930, 1930-1935, 1935-1940, 1940-1945, 1945-1950).

*Analyses stratifiées sur l'IMC à l'inclusion*

Les résultats stratifiés sur l'IMC étaient fortement influencés par l'interaction entre la prise de complément en vitamine D et l'utilisation de THM (Tableau 12).

Sans tenir compte de cette interaction, l'IMC n'avait pas d'influence sur la relation entre prise de complément en vitamine D (actuelle ou passée) et risque de cancer du sein (HR = 0,96, IC<sub>95%</sub> = [0,83 – 1,11] chez les femmes ayant un IMC < 25 kg/m<sup>2</sup> ; HR = 0,91, IC<sub>95%</sub> = [0,69 - 1,20] chez les femmes ayant un IMC ≥ 25 kg/m<sup>2</sup>),  $P_{\text{homogénéité}} = 0,73$  (Tableau 12). Après ajustement sur le terme d'interaction, la prise de complément en vitamine D (actuelle ou passée) était associée à une augmentation de risque chez les femmes ayant un IMC < 25 kg/m<sup>2</sup> (HR = 1,55, IC<sub>95%</sub> = [1,18 – 2,02]) mais pas chez les femmes ayant un IMC plus élevé (HR = 1,07, IC<sub>95%</sub> = [0,68 – 1,67]), cependant l'hétérogénéité de l'association n'était pas statistiquement significative ( $P_{\text{homogénéité}} = 0,17$ ) (Tableau 12).

Chez les femmes étant ou ayant été utilisatrices de THM, l'IMC n'avait pas d'influence sur la relation entre prise de complément en vitamine D (actuelle ou passée) et risque de cancer du sein (HR = 0,84, IC<sub>95%</sub> = [0,70 – 0,99] chez les femmes ayant un IMC < 25 kg/m<sup>2</sup> ; HR = 0,87, IC<sub>95%</sub> = [0,62 – 1,23] chez les femmes ayant un IMC ≥ 25 kg/m<sup>2</sup>),  $P_{\text{homogénéité}} = 0,83$  (Tableau 13). La diminution de risque associée à la prise actuelle de complément en vitamine D chez les utilisatrices de THM était un peu plus marquée chez les femmes à IMC < 25 kg/m<sup>2</sup> que chez les femmes ayant un IMC plus élevé (HR = 0,70, IC<sub>95%</sub> = [0,55 – 0,87] et 0,89, IC<sub>95%</sub> = [0,57 – 1,40] respectivement) mais l'hétérogénéité de l'association selon l'IMC n'était pas significative ( $P_{\text{homogénéité}} = 0,57$ ). L'association entre prise passée de complément en vitamine D et risque de cancer du sein chez les utilisatrices de THM n'était pas statistiquement hétérogène selon l'IMC (HR = 1,05, IC<sub>95%</sub> = [0,84 – 1,32] chez les femmes ayant un IMC < 25 kg/m<sup>2</sup>, HR = 0,84, IC<sub>95%</sub> = [0,50 – 1,40] chez les femmes ayant un IMC ≥ 25 kg/m<sup>2</sup>,  $P_{\text{homogénéité}} = 0,70$ ).

Chez les femmes n'ayant jamais été utilisatrices de THM, la prise de complément en vitamine D (actuelle ou passée) était associée à une augmentation de risque chez les femmes ayant un IMC < 25 kg/m<sup>2</sup> uniquement (HR = 1,51, IC<sub>95%</sub> = [1,13 – 2,02] chez les femmes ayant un IMC < 25 kg/m<sup>2</sup> ; HR = 0,98, IC<sub>95%</sub> = [0,62 – 1,56] chez les femmes ayant un IMC ≥ 25 kg/m<sup>2</sup>),  $P_{\text{homogénéité}} = 0,12$  (Tableau 13). L'augmentation de risque était plus élevée chez les femmes ayant un IMC < 22,0 kg/m<sup>2</sup> (médiane de la strate) (HR = 1,62, IC<sub>95%</sub> = [1,11 – 2,35]) que chez les femmes ayant un IMC de 22,0-24,9 kg/m<sup>2</sup> (HR = 1,35, IC<sub>95%</sub> = [0,84 – 2,17]).

Afin d'explorer l'hypothèse d'un biais de causalité inverse, nous avons exclu les cas de cancer du sein invasif survenus dans les cinq premières années du suivi ( $n = 1\ 060$ ). Cela n'a pas eu d'impact majeur sur nos résultats ( $HR = 1,51$ ,  $IC_{95\%} = [1,04 - 2,18]$ ).

**Tableau 12** : Hazard Ratios de l'association entre prise de complément en vitamine D et risque de cancer du sein invasif après la ménopause, stratifiée sur l'IMC à l'inclusion (Cohorte E3N, 1995 - 2008 N = 57 403).

	IMC < 25 kg/m <sup>2</sup>			IMC ≥ 25 kg/m <sup>2</sup>				
	Nb de cas	HR (IC <sub>95%</sub> ) <sup>1</sup>	HR (IC <sub>95%</sub> ) <sup>2</sup>	HR (IC <sub>95%</sub> ) <sup>3</sup>	Nb de cas	HR (IC <sub>95%</sub> ) <sup>1</sup>	HR (IC <sub>95%</sub> ) <sup>2</sup>	HR (IC <sub>95%</sub> ) <sup>3</sup>
Prise de complément en vitamine D								
Jamais	1 609	1 (ref)	1 (ref)	1 (ref)	574	1 (ref)	1 (ref)	1 (ref)
Passée ou actuelle	238	0,98 (0,86-1,13)	0,96 (0,83-1,11)	1,55 (1,18-2,02)	61	0,97 (0,75-1,27)	0,91 (0,69-1,20)	1,07 (0,68-1,67)

<sup>1</sup> Ajusté pour l'âge (échelle de temps) et stratifié sur l'année de naissance (1925-1930, 1930-1935, 1935-1940, 1940-1945, 1945-1950).

<sup>2</sup> Ajusté sur l'âge (échelle de temps), l'utilisation d'un contraceptif oral avant la ménopause (au moins une fois, jamais), l'utilisation de THM (au moins une fois, jamais, dépendant du temps), la parité et l'âge à la première grossesse menée à terme (nullipare, âge à la première grossesse < 30 ans et 1 ou 2 enfants, âge à la première grossesse < 30 ans et 3 enfants ou plus, âge à la première grossesse ≥ 30 ans), l'âge à la ménarche (années, continu), l'âge à la ménopause (années, continu), les apports totaux en énergie sans l'alcool (kcal/jour, continu, estimés à partir du questionnaire envoyé en 1993-1995), les apports alimentaires en vitamine D (tertiles : < 1,95, 1,95-2,85, ≥ 2,85 µg/jour, estimés à partir du questionnaire envoyé en 1993-1995), les apports en calcium (apports alimentaires estimés à partir du questionnaire de 1993-1995 < 1 014, apports alimentaires estimés à partir du questionnaire de 1993-1995 ≥ 1 014 mg/jour ou prise de complément en calcium, dépendant du temps), la prise de complément en vitamines/minéraux autre que calcium ou vitamine D (au moins une fois, jamais), la couleur de la peau (très pâle à mate, foncée à très foncée), l'exposition aux UV selon le lieu de résidence (quartiles : < 1,40, 1,40-1,49, 1,50-1,68, ≥ 1,69 kJ/m<sup>2</sup>/jour, estimé dans le questionnaire de 1995), la consommation d'alcool (médianes des quartiles, estimée à partir du questionnaire de 1993-1995), le statut tabagique

(fumeur, ex-fumeur ou non-fumeur, dépendant du temps), l'activité physique ( $< 12$ ,  $\geq 12$  équivalents métaboliques en heures/jour, dépendent du temps), la présence d'antécédents personnels de maladie bénigne du sein (oui, non, dépendant du temps), le passage d'une mammographie depuis le dernier questionnaire (oui, non, dépendant du temps), la présence d'antécédents familiaux au premier degré de cancer du sein (oui, non), le niveau d'études (inférieur au baccalauréat, baccalauréat ou plus). Les analyses ont été stratifiées sur l'année de naissance (1925-1930, 1930-1935, 1935-1940, 1940-1945, 1945-1950).

<sup>3</sup> Modèle 3 : ajusté sur les covariables du modèle 2 et sur le terme d'interaction entre prise de complément en vitamine D (passée ou actuelle, jamais) et l'utilisation de THM (passée ou actuelle, jamais).

**Tableau 13** : Hazard Ratios de l'association entre prise de complément en vitamine D et risque de cancer du sein invasif après la ménopause, stratifiée sur l'IMC à l'inclusion (Cohorte E3N, 1995 - 2008 N = 57 403).

	IMC < 25 kg/m <sup>2</sup>				IMC ≥ 25 kg/m <sup>2</sup>			
	Non-utilisatrices de THM		Utilisatrices passées ou actuelles de THM		Non-utilisatrices de THM		Utilisatrices passées ou actuelles de THM	
	Nb de cas	HR (IC <sub>95%</sub> ) <sup>1</sup>	Nb de cas	HR (IC <sub>95%</sub> ) <sup>1</sup>	Nb de cas	HR (IC <sub>95%</sub> ) <sup>1</sup>	Nb de cas	HR (IC <sub>95%</sub> ) <sup>1</sup>
Prise de complément en vitamine D								
Never	280	1 (ref)	1,329	1 (ref)	191	1 (ref)	383	1 (ref)
Ever	69	1,51 (1,13-2,02)	169	0,84 (0,70-0,99)	22	0,98 (0,62-1,56)	39	0,87 (0,62-1,23)

<sup>1</sup> Ajusté sur l'âge (échelle de temps), l'utilisation d'un contraceptif oral avant la ménopause (au moins une fois, jamais), la parité et l'âge à la première grossesse menée à terme (nullipare, âge à la première grossesse < 30 ans et 1 ou 2 enfants, âge à la première grossesse < 30 ans et 3 enfants ou plus, âge à la première grossesse ≥ 30 ans), l'âge à la ménarche (années, continu), l'âge à la ménopause (années, continu), les apports totaux en énergie sans l'alcool (kcal/jour, continu, estimés à partir du questionnaire envoyé en 1993-1995), les apports alimentaires en vitamine D (tertiles : < 1,95, 1,95-2,85, ≥ 2,85 µg/jour, estimés à partir du questionnaire envoyé en 1993-1995), les apports en calcium (apports alimentaires estimés à partir du questionnaire de 1993-1995 < 1 014, apports alimentaires estimés à partir du questionnaire de 1993-1995 ≥ 1 014 mg/jour ou prise de complément en calcium, dépendant du temps), la prise de complément en vitamines/minéraux autre que calcium ou vitamine D (au moins une fois, jamais), la couleur de la peau (très pâle à mate, foncée à très foncée), l'exposition aux UV selon le lieu de résidence (quartiles : < 1,40, 1,40-1,49, 1,50-1,68, ≥ 1,69 kj/m<sup>2</sup>/jour, estimé dans le questionnaire de 1995), la consommation d'alcool (médianes des quartiles, estimée à partir du questionnaire de 1993-1995), le statut tabagique (fumeur, ex-fumeur ou non-fumeur, dépendant du temps),

l'activité physique ( $< 12$ ,  $\geq 12$  équivalents métaboliques en heures/jour, dépendent du temps), la présence d'antécédents personnels de maladie bénigne du sein (oui, non, dépendant du temps), le passage d'une mammographie depuis le dernier questionnaire (oui, non, dépendant du temps), la présence d'antécédents familiaux au premier degré de cancer du sein (oui, non), le niveau d'études (inférieur au baccalauréat, baccalauréat ou plus). Les analyses ont été stratifiées sur l'année de naissance (1925-1930, 1930-1935, 1935-1940, 1940-1945, 1945-1950).

### 3.2.4 Risques absolus de cancer du sein

Le risque absolu le plus faible de cancer du sein après la ménopause était observé chez les femmes n'ayant jamais pris de complément en vitamine D ni de THM et ayant un IMC à l'inclusion  $< 25 \text{ kg/m}^2$  (363/100 000 personnes-années). Les femmes avec le risque absolu le plus élevé étaient les utilisatrices de THM qui n'avaient jamais pris de complément en vitamine D (671/100 000 personnes-années chez les femmes ayant un IMC  $< 25 \text{ kg/m}^2$  et 653/100 000 personnes-années chez les femmes ayant un IMC  $\geq 25 \text{ kg/m}^2$ ).

Les autres femmes avaient un risque intermédiaire, avec dans l'ordre croissant: les femmes ayant un IMC  $\geq 25 \text{ kg/m}^2$  n'ayant jamais pris de complément en vitamine D ni de THM (500/100 000 personnes-années), les femmes ayant pris un complément en vitamine D et ayant un IMC  $< 25 \text{ kg/m}^2$ , qu'elles aient utilisé ou non un THM (540 et 551/100 000 personnes années respectivement), et les femmes ayant pris un complément en vitamine D et ayant un IMC  $\geq 25 \text{ kg/m}^2$ , qu'elles aient utilisé ou non un THM (602 et 566/100 000 personnes-années respectivement).

### 3.2.5 Analyses complémentaires

Nous avons créé une variable d'exposition prenant en compte à la fois la prise de complément en vitamine D, les apports alimentaires en vitamine D et l'exposition aux UV selon le département de résidence. Par rapport aux femmes ayant le niveau d'exposition le plus bas (non-utilisatrices de complément en vitamine D, apports alimentaires en vitamine D et exposition aux UV inférieurs à la médiane de la population), la classe correspondant à des apports alimentaires en vitamine D et une exposition aux UV supérieurs à la médiane était associée à une diminution de risque à la limite de la significativité statistique, que les femmes aient utilisé ou non un complément en vitamine D (HR = 0,87, IC<sub>95%</sub> = [0,67 – 1,13] et 0,88, IC<sub>95%</sub> = [0,78 – 1,01] respectivement) (Tableau 14). La classe correspondant aux femmes ayant des apports alimentaires en vitamine D et une exposition aux UV inférieurs à la médiane mais ayant utilisé un complément en vitamine D était également associée à une diminution de risque à la limite de la significativité (HR = 0,80, IC<sub>95%</sub> = [0,60 – 1,05]).

**Tableau 14** : Hazard Ratios de l'association entre prise de complément en vitamine D, apports alimentaires en vitamine D, et exposition aux UV selon le département de résidence, et risque de cancer du sein invasif après la ménopause (Cohorte E3N, 1995 - 2008 N = 57 403).

Exposition aux UV selon le département de résidence (kj/m <sup>2</sup> /jour)	Non-utilisatrices de complément en vitamine D				Utilisatrices actuelles ou passées de complément en vitamine D			
	Apports alimentaires en vitamine D (µg/jour)				Apports alimentaires en vitamine D (µg/jour)			
	< 2,36		≥ 2,36		< 2,36		≥ 2,36	
	Nb de cas	HR (IC <sub>95%</sub> )	Nb de cas	HR (IC <sub>95%</sub> )	Nb de cas	HR (IC <sub>95%</sub> )	Nb de cas	HR (IC <sub>95%</sub> )
< 1,49	502	1 (ref)	609	1,02 (0,90-1,15)	57	0,80 (0,60-1,05)	89	1,05 (0,83-1,32)
≥ 1,49	576	0,96 (0,85-1,08)	496	0,88 (0,78-1,01)	85	0,92 (0,73-1,17)	68	0,87 (0,67-1,13)

<sup>1</sup> Ajusté sur l'âge (échelle de temps), l'IMC (< 18,5, 18,5-24,9, ≥ 25 kg/m<sup>2</sup>, dépendant du temps), l'utilisation d'un contraceptif oral avant la ménopause (au moins une fois, jamais), l'utilisation de THM (au moins une fois, jamais, dépendant du temps), la parité et l'âge à la première grossesse menée à terme (nullipare, âge à la première grossesse < 30 ans et 1 ou 2 enfants, âge à la première grossesse < 30 ans et 3 enfants ou plus, âge à la première grossesse ≥ 30 ans), l'âge à la ménarche (années, continu), l'âge à la ménopause (années, continu), les apports totaux en énergie sans l'alcool (kcal/jour, continu, estimés à partir du questionnaire envoyé en 1993-1995), les apports en calcium (apports alimentaires estimés à partir du questionnaire de 1993-1995 < 1 014, apports alimentaires estimés à partir du questionnaire de 1993-1995 ≥ 1 014 mg/jour ou prise de complément en calcium, dépendant du temps), la prise de complément en vitamines/minéraux autre que calcium ou vitamine D (au moins une fois, jamais), la couleur de la peau (très pâle à mate, foncée à très foncée), la consommation d'alcool (médianes des quartiles, estimée à partir du questionnaire de 1993-1995), le statut tabagique (fumeur, ex-fumeur ou non-fumeur, dépendant du temps), l'activité physique (< 12, ≥ 12 équivalents métaboliques en heures/jour, dépendant du temps), la présence d'antécédents personnels de maladie bénigne du sein (oui, non, dépendant du temps), le passage d'une mammographie depuis le dernier questionnaire (oui, non, dépendant du temps), la présence d'antécédents

familiaux au premier degré de cancer du sein (oui, non), le niveau d'études (inférieur au baccalauréat, baccalauréat ou plus). Les analyses ont été stratifiées sur l'année de naissance (1925-1930, 1930-1935, 1935-1940, 1940-1945, 1945-1950).

#### 4. DISCUSSION

En France, comme dans de nombreux pays occidentaux, on estime qu'une grande partie de la population aurait des taux sériques de 25-hydroxyvitamine D insuffisants. D'après l'étude ENNS, environ 80% des adultes français auraient des taux inférieurs à 75 nmol/L (134), qui est le seuil inférieur des niveaux de 25-hydroxyvitamine D considérés comme optimaux (133). Cependant, ce seuil est discuté. Certains organismes comme l'Institute of Medicine aux Etats-Unis ont fixé la valeur cible de 50 nmol/L dans la population générale (164). Dans l'étude ENNS, 43% des adultes français avaient des taux inférieurs à 50 nmol/L (134). En France peu d'aliments sont enrichis, et l'alimentation contribue donc peu aux taux circulants de vitamine D. En 2006-2007, l'apport alimentaire moyen en vitamine D dans la population française adulte était d'environ 100 UI par jour (45), soit moitié moins que les recommandations françaises actuelles.

Dans ce contexte, la prise de complément en vitamine D, le plus souvent à des doses très supérieures aux recommandations nutritionnelles (165), a fortement augmenté ces dernières années. Ces compléments ont tout d'abord été largement prescrits aux femmes ménopausées dans le but de réduire le risque d'ostéoporose, sous forme de doses quotidiennes de 400 à 800 UI par jour associées à 500 mg ou 1000 mg de calcium, indépendamment du statut sérique en vitamine D. Ce n'est que plus récemment, après l'apparition des dosages sériques de vitamine D et leur remboursement que la proportion de sujets à qui ont été prescrits des compléments a augmenté de façon considérable. Devant l'importante augmentation des dosages sériques de vitamine D, la HAS a réévalué en 2013 l'utilité de ce dosage (135), conduisant la sécurité sociale à restreindre le remboursement des dosages de vitamine D aux sujets greffés rénaux. C'est dans ce contexte complexe de discussion des bénéfices attendus de la prise de complément de vitamine D que se situe la problématique de notre étude.

Nous avons observé que chez les femmes ménopausées de la cohorte E3N, la prise de complément en vitamine D, majoritairement sous forme de doses quotidiennes combinées à du calcium, était associée à court terme à une diminution de l'excès de risque de cancer du sein après la ménopause lié à l'utilisation de THM. En revanche, parmi les non-utilisatrices de THM, la prise de complément en vitamine D était associée à une augmentation de risque chez les femmes qui n'étaient pas en surpoids ni obèses ( $IMC < 25 \text{ kg/m}^2$ ).

#### 4.1 Comparaison avec les résultats des autres études épidémiologiques

En dépit de nombreuses hypothèses biologiques en faveur d'un effet protecteur de la vitamine D sur le risque de cancer, en particulier du sein, la plupart des études épidémiologiques n'ont pas observé globalement d'association entre les taux circulants de 25-hydroxyvitamine D (146-152;166-170), les apports alimentaires en vitamine D (171-176) ou la prise de complément en vitamine D à des doses  $\geq 400$  UI par jour (173;176) et le risque de cancer du sein après la ménopause. Deux études ont suggéré une augmentation de risque associée à des taux circulants bas de 25-hydroxyvitamine D (145;153). Dans l'essai randomisé de la WHI, des participantes qui recevaient ou non un THM dans le cadre de l'étude ont été randomisées pour recevoir une dose de 400 UI de vitamine D et de 500 mg de calcium par jour ou un placebo pendant en moyenne 7 ans (149). Aucun effet n'a été constaté dans le bras vitamine D + calcium sur le risque de cancer du sein par rapport au bras placebo. Plusieurs facteurs pourraient expliquer l'absence d'association observée dans la plupart des études.

##### *Une estimation des taux circulants de 25-hydroxyvitamine D et des apports en vitamine D à l'inclusion seulement*

Dans presque toutes les études de cohorte, les taux circulants de 25-hydroxyvitamine D et les apports en vitamine D ont été estimés à l'inclusion seulement. Il est probable que les apports en vitamine D des participantes, surtout par complément alimentaire, aient varié au cours du suivi, entraînant un biais de classement non-différentiel et donc une dilution des résultats. D'autre part, si la vitamine D est associée à court terme seulement au risque de cancer du sein, l'association a pu être manquée. Deux précédentes études observationnelles ont suggéré un effet à court terme de la vitamine D sur le risque de cancer du sein. Dans l'Iowa Women's Study, un apport total (par aliment ou complément) en vitamine D  $> 800$  UI par jour était associé à une diminution de risque de cancer du sein après la ménopause de 34% en considérant seulement les cinq premières années suivant l'inclusion (175). Dans une étude cas-témoins, la prise de vitamine D sous forme de complément à une dose  $\geq 400$  UI par jour dans les deux années précédant l'étude était associée à une diminution de risque de cancer du sein (avant ou après la ménopause) de 24% (177).

*Un potentiel effet seuil*

Les résultats d'une précédente étude dans E3N suggèrent qu'un certain seuil d'apports totaux en vitamine D (par l'exposition solaire et l'alimentation ou les compléments) doit être atteint pour qu'une diminution de risque de cancer du sein soit observée (154). Certains auteurs ont émis l'hypothèse qu'une dose de vitamine D de 400 UI par jour pourrait être trop faible pour avoir un effet sur le risque de cancer (178). Dans notre étude, la plupart des femmes prenaient de la vitamine D sous forme de médicament, dont la posologie était le plus souvent de 800 UI par jour. On peut donc supposer que le niveau généralement bas des apports alimentaires en vitamine D et le seuil de 400 UI par jour considéré dans la plupart des études sur les apports en vitamine D par complément soient insuffisants pour détecter un potentiel effet sur le risque de cancer du sein.

*Un potentiel bénéfice de la prise de complément en vitamine D limité aux femmes ayant un statut en vitamine D bas*

Dans l'essai randomisé de la WHI, l'effet de l'administration de vitamine D + calcium versus un placebo était influencé par les apports personnels en vitamine D (par aliment ou complément) à l'inclusion : l'intervention était associée à une diminution de risque de 21% chez les femmes qui avaient des apports personnels < 200 UI par jour et à une augmentation de risque de 34% chez les femmes qui avaient des apports personnels  $\geq$  600 UI par jour (149). L'interprétation de ces résultats est encore débattue (149). Par rapport à d'autres populations, notamment en Amérique du Nord, les apports en vitamine D sont particulièrement bas en France (dans notre population la quasi-totalité de la population, i.e. 96% avait des apports alimentaires < 200 UI par jour), l'enrichissement des aliments étant beaucoup moins répandu. On peut donc supposer que nos résultats, en faveur d'un effet protecteur de la prise de complément en vitamine D sur le risque de cancer du sein après la ménopause, pourraient s'appliquer uniquement aux femmes ayant un statut en vitamine D bas. Les résultats de nos analyses complémentaires semblent appuyer cette hypothèse, avec une diminution de risque à la limite de la significativité associée à la prise de complément en vitamine D chez les femmes ayant des apports alimentaires en vitamine D et une exposition aux UV inférieurs à la médiane de la population d'étude uniquement.

*Un potentiel bénéfique de la vitamine D limité à certains sous-groupes de population*

Des interactions potentielles entre les apports en vitamine D et d'autres facteurs liés au mode de vie sur le risque de cancer du sein ont été peu étudiées.

Deux études sur la prise de complément en vitamine D ont étudié une interaction potentielle avec la prise de THM. Dans l'essai randomisé de la WHI, il n'y avait pas d'interaction entre la vitamine D administrée pendant l'étude et le fait de recevoir un THM dans le cadre d'une autre étude de la WHI, mais la prise personnelle de THM déclarée à l'inclusion n'a pas été prise en compte (149). Dans l'étude de cohorte de la NHS, il n'y avait pas d'interaction entre la prise actuelle ou passée de complément en vitamine D et la prise actuelle de THM (176). Parmi les trois études sur les taux circulants de 25-hydroxyvitamine D ayant testé une potentielle interaction avec la prise de THM (150-152), une seule a rapporté une interaction, avec une diminution de risque de cancer du sein limitée aux femmes ayant utilisé un THM au moment du prélèvement de sang (151).

Deux études sur les apports en vitamine D ont étudié une interaction potentielle avec l'IMC. Dans l'étude de cohorte de l'Iowa Women's Health Study, l'IMC à l'inclusion ( $< 25$ ,  $25-29,9$ ,  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>) n'avait pas d'influence sur la relation entre apports en vitamine D (totaux ou par complément) et risque de cancer du sein après la ménopause, mais l'influence de la prise de THM n'a pas été étudiée (175). Dans l'essai de la WHI, l'IMC n'avait pas d'influence sur l'effet de l'administration de 400 UI par jour de vitamine D avec 1 000 mg de calcium (149). Les études sur les taux circulants de 25-hydroxyvitamine D incluant majoritairement des femmes ménopausées n'ont pas observé d'interaction avec l'IMC (146;150;152;153;168;170). Parmi les études incluant des femmes pré- et post-ménopausées au moment du prélèvement de sang, quatre études sur cinq (147;148;151;166;179) ont observé une interaction avec l'IMC au moment du prélèvement de sang : le niveau le plus élevé de concentrations en 25-hydroxyvitamine D était associé à une augmentation de risque de cancer du sein chez les femmes ayant un IMC  $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup> par rapport au niveau le plus bas alors qu'aucune association (148;179), une association inverse (147), ou une association inverse à la limite de la significativité statistique (151) étaient observées chez les femmes ayant un IMC  $< 25$  kg/m<sup>2</sup>. A première vue, ces résultats semblent contredire les nôtres. Cependant, ils ont pu être influencés par le statut ménopausique des femmes et la prise de THM. D'autre part, des concentrations en 25-hydroxyvitamine D élevées ne sont pas directement liées à des apports en vitamine D élevés, surtout chez les femmes en surpoids ou obèses. Les résultats sur les

concentrations en 25-hydroxyvitamine D sont donc difficilement extrapolables aux apports en vitamine D.

## 4.2 *Hypothèses biologiques*

Le calcitriol, la forme active de la vitamine D, peut être synthétisé dans le sein pour être utilisé localement (180). De nombreuses études expérimentales *in vitro* et chez l'animal ont rapporté un effet du calcitriol sur la régulation de la prolifération cellulaire, la différenciation, l'apoptose et la signalisation des facteurs de croissance suggérant un effet protecteur de la vitamine D sur le risque de cancer du sein (139;140).

### 4.2.1 **Influence de la vitamine D sur le métabolisme des œstrogènes**

Plus récemment, plusieurs études ont suggéré des interactions entre le calcitriol et les œstrogènes. Plusieurs études *in vitro* ont rapporté que le calcitriol diminuait la prolifération de tumeurs ER+ induite par les œstrogènes en diminuant l'expression des récepteurs ER $\alpha$  dans les cellules du sein (141-143). Le calcitriol réduisait aussi la synthèse d'œstrogènes dans le tissu adipeux entourant les cellules du sein en diminuant l'expression de l'aromatase (141). D'autres mécanismes ont été suggérés : une compétition pour les récepteurs à mégaline des membranes cellulaires impliqués dans l'endocytose des hormones sexuelles et de la vitamine D (181;182) ; et l'augmentation des concentrations sanguines de calbindine avec les œstrogènes, conduisant à une baisse de l'apoptose induite par la vitamine D, et donc plutôt en faveur d'une atténuation du potentiel effet protecteur de la vitamine D (181;182).

Nous avons observé que la prise de complément en vitamine D était associée à une diminution de risque de tumeur ER+ pour les prises actuelles de vitamine D, et à une augmentation de risque à la limite de la significativité statistique pour les prises passées. Cela suggère que le calcitriol pourrait avoir un effet sur la progression de tumeurs ER+ préexistantes à court terme seulement. L'hétérogénéité de l'association selon le statut hormonal de la tumeur n'était pas statistiquement significative, mais la puissance était limitée par le petit nombre de tumeurs ER- . Cependant, nous ne pouvons pas exclure un potentiel effet de la prise de complément en vitamine D sur le risque de tumeurs ER- à plus long terme. Un effet à court terme du calcitriol sur les tumeurs ER+ pourrait particulièrement bénéficier aux utilisatrices de THM. En effet, la prolifération des tumeurs ER+ induite par les œstrogènes suggère que la prise de THM augmente directement et rapidement la progression de tumeurs ER+ préexistantes (33). La

diminution de risque associée à la prise actuelle de complément en vitamine D chez les utilisatrices de THM n'était pas significativement différente selon que la prise de THM était passée ou actuelle (cf. Partie 3.2.3). La relation entre prise passée de THM et risque de cancer du sein est complexe et dépend du type de THM utilisé et de la durée d'utilisation (32). Nous n'avons pas la puissance suffisante pour prendre en compte le type de THM utilisé et la durée d'utilisation dans nos analyses.

#### **4.2.2 Interactions entre vitamine D, IMC et THM**

Chez les femmes ménopausées, la production d'œstrogènes dans le tissu adipeux est la principale source d'œstrogènes endogènes (183). L'IMC a été positivement associé au risque de cancer du sein chez les femmes ménopausées n'utilisant pas de THM, mais pas chez les utilisatrices de THM (184). On suppose que l'impact d'une augmentation de la production d'œstrogènes par le tissu adipeux est minime par rapport aux niveaux d'œstrogènes apportés par la prise de THM (184). Nos résultats suggèrent que les utilisatrices de THM pourraient bénéficier de la prise de complément en vitamine D, quel que soit leur IMC.

Etant donné que la vitamine D diminue l'expression de l'aromatase, et donc la production d'œstrogènes à partir du tissu adipeux, on pourrait supposer que les non-utilisatrices de THM en surpoids ou obèses pourraient particulièrement bénéficier de la prise de complément en vitamine D. Cependant, chez les personnes en surpoids ou obèses, le métabolisme de la vitamine D est altéré, avec une plus faible augmentation des concentrations de 25-hydroxyvitamine D après un apport en vitamine D et une plus faible conversion de 25-hydroxyvitamine D en calcitriol (185). Nous n'avons pas observé de diminution de risque associée à la prise de complément en vitamine D chez les femmes en surpoids ou obèses n'ayant jamais utilisé de THM. Cependant, on ne peut pas exclure que cela puisse être dû à un manque de puissance ou au fait que la proportion de femmes en surpoids ou obèses dans la cohorte soit faible et que le bénéfice associé à l'effet de la vitamine D sur l'expression de l'aromatase soit limité.

Chez les femmes ménopausées à IMC normal ou bas n'ayant jamais utilisé de THM, et donc caractérisées par des niveaux d'œstrogènes bas, aucune hypothèse ne permet pour le moment d'expliquer l'augmentation de risque observée. Un potentiel effet délétère d'apports en vitamine D élevés sur le risque de cancer du sein après la ménopause a été suggéré par l'essai randomisé de la WHI. La dose administrée (400 UI par jour de vitamine D plus 1 000 mg par jour de calcium) était associée à une augmentation de risque par rapport au groupe ayant reçu

le placebo chez les femmes qui avaient déjà des apports élevés à l'inclusion. Il est intéressant de préciser que dans le bras intervention, l'IMC moyen était 1.1 kg/m<sup>2</sup> plus bas chez les femmes ayant des apports en vitamine D élevés à l'inclusion par rapport à celles ayant des apports bas. Dans la NHS II, chez des femmes pré-ménopausées, les concentrations les plus élevées de 25-hydroxyvitamine D étaient associées à une augmentation de risque de cancer du sein par rapport aux concentrations les plus basses chez les femmes ayant un IMC  $\geq$  25 kg/m<sup>2</sup>. Chez les femmes pré-ménopausées, les femmes ayant un IMC  $\geq$  25 kg/m<sup>2</sup> ont des concentrations d'hormones circulantes plus basses que les femmes plus minces (184). Ces résultats vont dans le même sens que les nôtres et suggèrent une potentielle interaction entre la vitamine D et le statut hormonal sur le risque de cancer du sein.

### 4.3 *Forces et limites de l'étude*

#### 4.3.1 **Forces**

##### *Caractère prospectif*

Le caractère prospectif de notre étude permet d'être certain que la prise de complément en vitamine D a bien eu lieu avant le diagnostic de cancer, ce qui permet d'écartier un biais de déclaration différentiel.

##### *Validation des cas de cancer du sein*

Les cas de cancer du sein invasif ont été validés par compte-rendu anatomo-pathologique.

##### *Utilisation d'un questionnaire alimentaire validé*

Le questionnaire alimentaire a été validé par plusieurs rappels de 24h et a été conçu pour estimer les apports alimentaires usuels des participantes.

##### *Puissance élevée*

La taille, la durée et le bon suivi de la cohorte E3N nous ont permis d'avoir la puissance nécessaire pour investiguer de potentielles interactions entre la prise de complément alimentaire et d'autres facteurs liés au mode de vie sur le risque de cancer du sein.

*Prise en compte de nombreux facteurs de confusion potentiels*

Des informations sur de nombreux facteurs de confusion potentiels, y compris sur des facteurs susceptibles d'influencer le statut en vitamine D, ont été collectés, parfois plusieurs fois au cours du suivi.

*Données répétées sur la prise de complément en vitamine D*

Très peu d'études de cohorte disposent de données répétées sur la prise de complément alimentaire. Dans notre cohorte, la mise à jour de ces données a permis de diminuer le risque d'erreurs de classement et d'étudier si la prise de complément en vitamine D était associée au risque de cancer à court terme ou à long terme. Le fait d'avoir recherché parmi les médicaments déclarés par les femmes si certains étaient des compléments en vitamine D nous a aussi permis de réduire les erreurs de classement pour l'exposition.

*Une population de femmes différente*

Par rapport aux autres études européennes ou aux études américaines disponibles, les femmes de la cohorte E3N ont davantage utilisé un THM et sont plus minces (151). Ces particularités nous ont donné l'opportunité d'étudier l'association entre prise de complément en vitamine D et risque de cancer du sein dans des sous-groupes particuliers, qu'il est difficile d'étudier dans d'autres populations d'étude.

### **4.3.2 Limites**

*Absence d'information précise sur les doses de compléments en vitamine D*

Nous n'avons pas d'information précise sur les doses de complément alimentaire prises par les femmes avant 2005. Cependant, nous avons pu estimer que la plupart des compléments en vitamine D consommés au cours de notre période d'étude étaient des médicaments, dont la posologie était le plus souvent de 800 UI par jour.

*Limites des données alimentaires*

Nous n'avons pas d'information sur la consommation de produits enrichis en vitamine D. Cependant, peu d'aliments enrichis en vitamine D étaient présents sur le marché français au moment de notre étude, et cela reste encore le cas maintenant (sauf pour les produits consommés par les enfants). L'auto-déclaration des apports alimentaires en vitamine D a

probablement entraîné des erreurs de classement non différentielles, mais leur impact potentiel sur nos résultats est vraisemblablement limité du fait du faible niveau d'apport alimentaire général en vitamine D.

#### *Erreurs de classement potentielles pour la prise de complément en vitamine D*

Par rapport aux précédentes études de cohorte, le fait d'avoir estimé la prise de complément en vitamine D à plusieurs reprises après l'inclusion a permis de diminuer les erreurs de classement en augmentant les chances de capter les utilisatrices et en prenant en compte le fait qu'une femme ait pu arrêter ou commencer à être utilisatrice après l'inclusion. Plusieurs autres facteurs ont permis de limiter les erreurs de classement. Les femmes prenant un complément sur une longue période, ce qui était généralement le cas pour la prise de complément en vitamine D à cette période, ont plus de chance de déclarer leur prise à un questionnaire donné que les femmes prenant un complément sur une courte période. En outre, la création d'une classe de données manquantes en cas de non-réponse à un questionnaire a permis de réduire le risque d'erreurs de classement pour les prises actuelles de complément en vitamine D.

Cependant, il est probable que des erreurs de classement subsistent. Dans le questionnaire envoyé en 1997, aucune question spécifique sur la prise de complément en vitamine D n'a été posée, ce qui a vraisemblablement entraîné une sous-déclaration de la prise de complément en vitamine D (Tableau 8). De manière plus générale, certaines femmes ont pu être considérées à tort comme non-utilisatrices si elles avaient pris un complément en vitamine D à un autre moment qu'au remplissage d'un questionnaire. Ces erreurs de classement ont probablement entraîné une sous-estimation des prises de complément en vitamine D, surtout des prises passées, se traduisant par un risque de biais de classement non-différentiel, et donc, à une dilution des résultats.

#### *Impossibilité d'investiguer l'influence du calcium*

A chaque questionnaire, 61 à 90% des femmes qui ont déclaré prendre un complément en vitamine D ont aussi déclaré prendre un complément en calcium, nous ne pouvions donc pas étudier l'influence potentielle de la prise concomitante de calcium sur la relation entre prise de complément en vitamine D et risque de cancer du sein.

*Limites d'une étude observationnelle*

L'utilisation de données auto-déclarées a probablement entraîné des biais de classement non-différentiels, et donc une dilution des résultats. Un effet de confusion majeur est peu probable car nous avons pris en compte de nombreux facteurs de confusion potentiels, et chaque facteur avait une influence limitée sur les estimations de risque associées à la prise de complément en vitamine D. Dans les strates où une association a été observée (strate « utilisatrices actuelles ou passées de THM » et « non-utilisatrices de THM ayant un IMC < 25 kg/m<sup>2</sup> »), la comparaison des caractéristiques individuelles dans les strates considérées n'a pas permis d'identifier un potentiel effet de confusion pouvant expliquer nos résultats (Annexe 4).

Cependant, comme dans toute étude observationnelle, nous ne pouvons pas exclure la possibilité d'un biais de confusion résiduel, un biais de prescription ou que nos résultats soient dus au hasard.

Un biais de prescription possible aurait pu être qu'à cette période, les compléments en vitamine D étaient surtout pris en prévention ou en traitement de l'ostéoporose. Or, l'ostéoporose est associée à une diminution du risque de cancer du sein, essentiellement car elle est le reflet d'une moindre exposition hormonale (186). On pourrait donc supposer que la diminution de risque associée à la prise de complément en vitamine D serait le reflet de cette association. Cependant, si c'était le cas, la diminution de risque observée n'aurait pas été limitée à la prise actuelle de complément en vitamine D.

*Validité externe*

La population des femmes de l'étude ne sont pas représentatives de l'ensemble des femmes françaises. Il s'agit de femmes ménopausées, ayant un niveau d'études plus élevé et étant globalement plus soucieuses de leur santé.

De plus, du fait de l'évolution majeure des prescriptions et prises de complément en vitamine D et THM au cours des dernières années, nos résultats peuvent être difficilement extrapolables aux nouvelles situations de prise.

## 5. CONCLUSION

Nos résultats suggèrent que la prise de complément en vitamine D, majoritairement sous forme de doses quotidiennes associées à du calcium, pourrait réduire à court terme l'excès de risque de cancer du sein associé à la prise de THM dans une population de femmes aux apports alimentaires en vitamine D bas. Bien que la prise de THM ait fortement diminué ces dernières années en raison de cet excès de risque, la HAS a récemment déclaré maintenir « le service médical rendu important des traitements hormonaux de la ménopause lorsque [les symptômes climatiques] sont gênants au point d'altérer la qualité de vie des femmes » (35). Nos résultats sont appuyés par des mécanismes biologiques mais devront être confirmés dans d'autres études. Etant donné que les consommations de THM et de complément en vitamine D ont beaucoup évolué depuis notre période de suivi, ces études devront préciser l'influence du type et de la durée d'utilisation de THM et si l'association diffère pour la vitamine D prise sous forme de doses de charge.

Par ailleurs, nos résultats et ceux d'autres études suggèrent qu'un effet délétère de la prise de complément en vitamine D à partir d'une certaine dose ou dans certains sous-groupes de population ne peut être écarté. D'autres études doivent investiguer de potentiels mécanismes biologiques à l'origine d'un effet délétère de la vitamine D sur le risque de cancer du sein chez les femmes caractérisées par des concentrations en œstrogènes circulants basses. De manière générale, les pistes de recherche sont nombreuses pour mieux comprendre l'effet de la vitamine D sur le risque de cancer du sein : par exemple, pour les études expérimentales, mieux comprendre le rôle du tissu adipeux dans le stockage, le métabolisme et le catabolisme de la vitamine D, comprendre comment la 25-hydroxyvitamine D est mobilisée par le sein et les mécanismes qui régulent la synthèse locale de calcitriol, et pour les études observationnelles, étudier l'influence des apports en calcium sur la relation entre prise de complément en vitamine D et risque de cancer du sein.

Avant de pouvoir envisager un éventuel impact de santé publique, nos résultats doivent donc être confirmés et précisés par d'autres études épidémiologiques, et l'effet de la prise de complément en vitamine D sur d'autres paramètres de santé doit être pris en compte. Dans l'essai de la WHI par exemple, le bras intervention, qui consistait en une prise de 400 UI de vitamine D et de 1 000 mg de calcium par jour, était à plus haut risque de cancer colorectal que le bras placebo chez les femmes utilisant un THM (187). En outre, plusieurs études ont

suggéré une augmentation du risque de cancer du pancréas avec des concentrations de 25-hydroxyvitamine D élevées ( $\geq 100$  nmol/L versus 50-74,9 nmol/L) (188).

**PRISE DE COMPLEMENT EN  
VITAMINE C ET RISQUE DE CANCER  
DU SEIN APRES LA MENOPAUSE**

---

## 1. CONTEXTE

### 1.1 Sources d'apport en vitamine C

Les aliments les plus naturellement riches en vitamine C sont les fruits rouges, certaines herbes aromatiques, le poivron, le kiwi, les agrumes et les choux (Tableau 15). D'après les données du CIQUAL, en France et en 2013, les principaux aliments enrichis en vitamine C étaient les produits pour petit-déjeuner (céréales et poudres cacaotées) et les jus et nectars dits « multivitaminés » (66).

Pour un même aliment contenant naturellement de la vitamine C, la quantité de vitamine C peut-être très variable d'un échantillon à un autre. Plusieurs facteurs pourraient influencer ces variations : la variété, les conditions climatiques de culture (exposition à la lumière, température), le mode de culture (utilisation d'engrais ou de pesticides, irrigation, taille, éclaircissage), le degré de maturité à la récolte, le transport, les dommages lors de la récolte, et enfin la durée et les conditions de stockage (température, humidité, traitements post-récolte, atmosphère contrôlée) (189).

La préparation (le fait de couper ou râper), la congélation, et la cuisson des fruits ou légumes entraînent une perte de vitamine C même si cette perte dépend beaucoup du mode de cuisson et peut-être limitée par certains procédés (par exemple le blanchiment et la pasteurisation avant la congélation). Enfin, les teneurs en vitamine C varient au sein d'un même fruit ou légume : elles sont par exemple plus élevées dans les feuilles extérieures de la salade que dans les feuilles intérieures (189).

**Tableau 15** : Valeurs indicatives de la teneur en vitamine C de plusieurs aliments d'après les données du CIQUAL. Source : CIQUAL 2013 (66).

<b>Aliments</b>	<b>Teneur en mg/100 g</b>
Cassis frais	200
Persil frais	190
Herbes aromatiques fraîches	143
Poivron cru	120
Raifort cru	97
Kiwi frais (pulpe)	93
Poivron cuit	74
Litchi frais (pulpe)	72
Fraise fraîche	67
Papaye fraîche (pulpe)	60
Choux de Bruxelles cuits	58
Chou-fleur cru	58
Chou rouge cru	55
Céréales pour petit-déjeuner	43
Orange fraîche (pulpe)	40
Brocoli cuit	37

Jus de fruit	32
Tomate cerise crue	28
Tomate crue	14

---

## 1.2 Métabolisme de la vitamine C

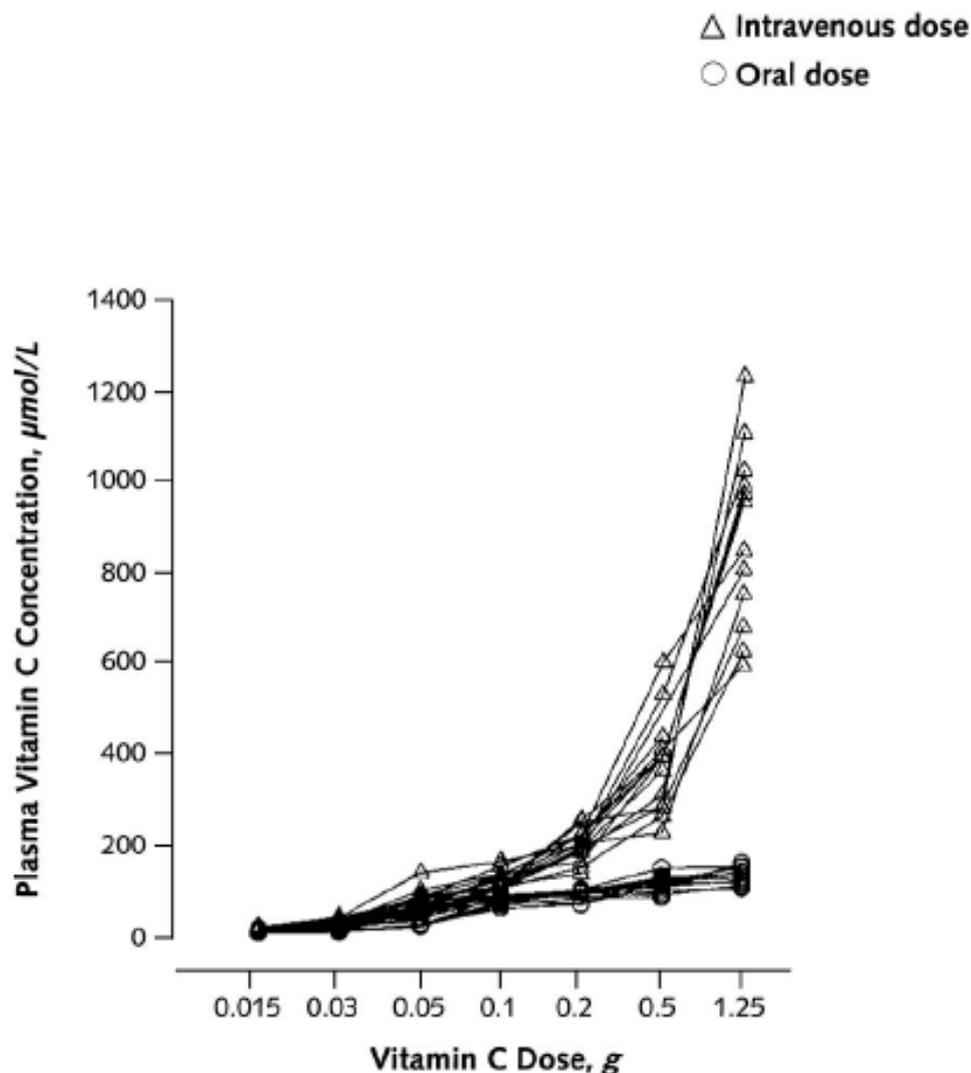
La vitamine C ne peut pas être synthétisée par l'homme, elle doit donc être nécessairement apportée par l'alimentation. Elle est majoritairement présente sous forme d'acide ascorbique dans l'alimentation, mais peut aussi se trouver en petites quantités sous sa forme oxydée, appelée acide déhydroascorbique.

L'absorption de l'acide ascorbique dans l'intestin est majoritairement régulée par une protéine de transport, la SVCT1, qui régule aussi sa réabsorption dans les reins (190). L'absorption de l'acide déhydroascorbique, apporté par l'alimentation ou formé dans l'intestin suite à l'oxydation de l'acide ascorbique, est régulée par des protéines GLUT (principalement GLUT1), responsables du transport du glucose (190). Après avoir été absorbé, l'acide déhydroascorbique est très vite réduit en acide ascorbique par une enzyme. Ainsi, chez un individu sain, les concentrations plasmatiques d'acide déhydroascorbique sont très basses (191). On ne connaît pas précisément la proportion d'acide ascorbique plasmatique qui résulte de cette conversion.

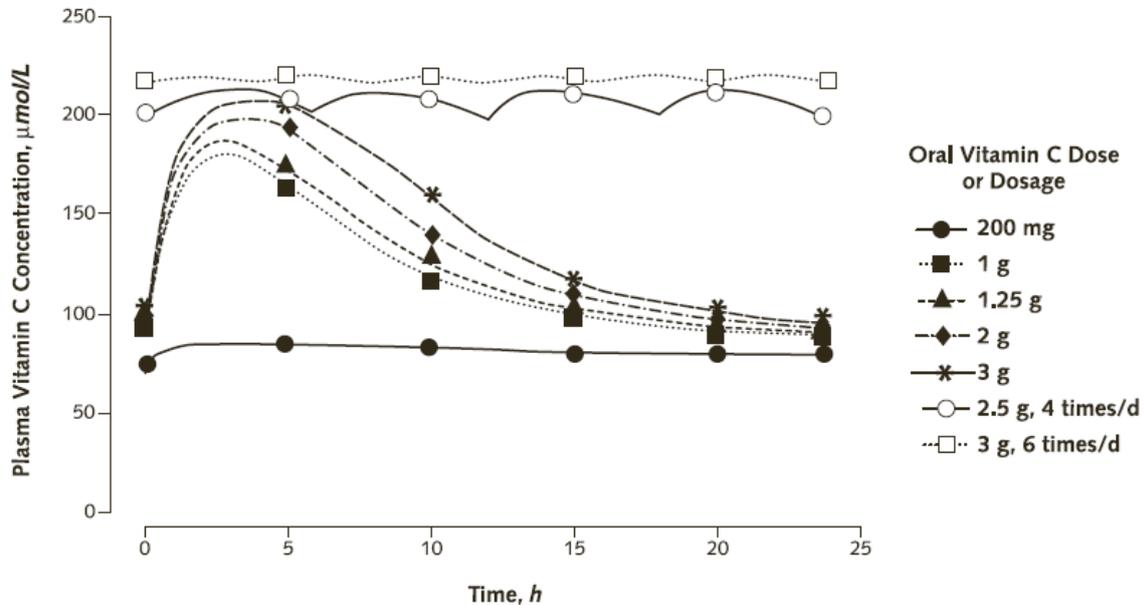
L'acide ascorbique peut être absorbé au-delà du seuil de saturation des cellules de l'organisme mais exerce un rétrocontrôle sur la SVCT1, ce qui permet de limiter la quantité d'acide ascorbique absorbée en excès (192). Il a été avancé que la quantité maximale d'acide déhydroascorbique ou d'acide ascorbique absorbée serait similaire (191). Ainsi, la proportion de vitamine C absorbée dans l'intestin décroît lorsque les doses ingérées augmentent. Pour des doses de 30 à 180 mg par jour administrées par voie orale, environ 70 à 90% de la vitamine C est absorbée, alors que moins de 50% de la vitamine C est absorbée à des doses supérieures à 1 000 mg par jour (193). La vitamine C est hydrosoluble, la part non absorbée est donc excrétée dans les selles. Une étude pharmacocinétique a observé que cinq heures après l'administration de vitamine C par voie orale, la concentration plasmatique de vitamine C était en moyenne deux fois plus élevées pour une dose de 1 000 mg que pour une

dose de 200 mg (194) (Figure 23). La vitamine C administrée par voie intraveineuse permettait d'atteindre des niveaux de vitamine C beaucoup plus élevés (Figure 23). La concentration en vitamine C restait quasi constante pendant les 24h suivant l'administration de 200 mg de vitamine C par voie orale, alors que les concentrations obtenues pour des doses de 1 000 mg ou plus par voie orale diminuaient progressivement pour revenir à des concentrations similaires à celles obtenues pour une dose de 200 mg au bout de 24h (Figure 24). L'administration répétée d'une même dose de vitamine C pendant 24h permettait de maintenir la concentration plasmatique de vitamine C au niveau du pic constaté dans les quelques heures suivant l'administration de la première dose.

**Figure 23 :** Augmentation des concentrations plasmatiques de vitamine C en fonction des doses administrées, par voie orale ou par voie intraveineuse. Source: Padayatty S et al 2004 (194). Figure reproduite avec l'autorisation de The American College of Physicians.



**Figure 24** : Evolution des concentrations de vitamine C pendant les 24h suivant la prise orale de vitamine C en fonction des doses administrées. Source: Padayatty et al 2004 (194). Figure reproduite avec l'autorisation de The American College of Physicians.



Après avoir été absorbé dans l'intestin, l'acide ascorbique est transporté vers l'ensemble des cellules de l'organisme. Son transport est majoritairement régulé par les protéines SVCT1 (vers le foie et les reins) et surtout SVCT2, qui contrôlent la prise d'acide ascorbique par les autres organes (190). Le transport de l'acide déhydroascorbique est contrôlé par les transporteurs de glucose (GLUT). Il est ensuite reconverti en acide ascorbique dans les cellules. Certains tissus présentent des concentrations de vitamine C particulièrement élevées : leucocytes, yeux, glandes surrénales, hypophyse, et cerveau (195). La concentration de vitamine C dans les tissus est beaucoup plus élevée que dans le plasma (195).

Les cellules des tissus vont continuer à absorber la vitamine C jusqu'à un certain seuil, défini par une concentration plasmatique de vitamine C en moyenne de 1,3 mg/dl chez les femmes et de 1,5 mg/dl chez les hommes. Il est possible de dépasser ce seuil après la prise d'une forte dose de vitamine C. La vitamine C circulante en excès est alors rapidement excrétée dans les urines sous forme d'acide ascorbique, d'acide déhydroascorbique, d'acide oxalique et de divers autres métabolites. La demi-vie de l'acide ascorbique circulant serait de 8 à 40 jours lorsque la réabsorption de l'acide ascorbique dans les reins est encore active, et de seulement 30 minutes lorsque les apports sont plus élevés et que la vitamine C est excrétée (196;197).

L'acide ascorbique a plusieurs rôles physiologiques. Il est impliqué dans plusieurs réactions en tant que cofacteur de certains hydroxylases et est donc essentiel pour la synthèse du collagène et de la L-carnitine ; il est également impliqué dans le métabolisme des acides gras et de certains neurotransmetteurs (195). L'acide ascorbique a aussi un effet antioxydant, il a donc été suggéré que la vitamine C puisse avoir un effet protecteur vis-à-vis du risque de certaines maladies comme le cancer ou les maladies cardiovasculaires (195). Lors de la destruction de radicaux libre, il est oxydé en acide déhydroascorbique, qui est rapidement réduit à nouveau en acide ascorbique par des enzymes ou par le glutathion (191). L'acide ascorbique est capable de réduire la vitamine E oxydée, une autre vitamine antioxydante, en vitamine E active. Il permet également le maintien des concentrations plasmatique de glutathion sous sa forme réduite, ce qui augmente la capacité antioxydante totale (198). L'acide ascorbique augmente l'absorption du fer non-héminique présent dans les aliments végétaux. Enfin, la vitamine C joue un rôle dans le système immunitaire. Les membranes des cellules immunitaires sont dotées de transporteurs qui permettent le transport actif de la vitamine C dans les cellules. Cependant, il n'est actuellement pas prouvé que la prise de vitamine C sous forme de complément alimentaire permettrait d'augmenter la réponse immunitaire (126).

La carence sévère en vitamine C cause le scorbut, qui se manifeste par une asthénie, un déchaussement des dents, et des hémorragies (126). Des apports très élevés en vitamine C peuvent entraîner les symptômes suivants : maux d'estomac, diarrhées, calculs rénaux (126).

### 1.3 Facteurs influençant le métabolisme de la vitamine C

A dose égale, l'origine naturelle ou synthétique de la vitamine C semble avoir peu d'effet sur sa biodisponibilité chez l'homme (199). Le type d'aliment semble également avoir peu d'influence (195). Une méta-analyse a estimé que le coefficient de corrélation entre les apports en vitamine C et les concentrations plasmatiques de vitamine C serait seulement de 0,35 (200). Plusieurs facteurs ont été identifiés comme pouvant avoir une influence sur le métabolisme de la vitamine C.

- *Le genre.* Les femmes ont généralement des concentrations plasmatiques de vitamine C plus élevées que les hommes pour un même apport en vitamine C (195). Plusieurs auteurs ont suggéré que cela puisse être dû à la différence de masse maigre (195;201).

- *L'âge.* L'influence de l'âge sur le métabolisme de la vitamine C est encore débattue. Chez les personnes âgées, le stress oxydant est plus élevé que chez des personnes plus jeunes, ce qui pourrait entraîner une utilisation accrue de la vitamine C pour contrer ce stress, et donc des besoins en vitamine C plus importants (126;195). Plusieurs études n'ont pas observé de différence au niveau de l'absorption, de l'excrétion et de la réabsorption de la vitamine C (195). Une étude chez le rat a suggéré que le vieillissement était associé à une altération du transport de l'acide ascorbique vers les cellules de l'organisme (190). En revanche, la masse maigre est nettement diminuée chez les personnes âgées, ce qui pourrait entraîner des besoins plus bas en vitamine C (195). Cependant, dans les études ayant ajusté sur les apports en vitamine C, l'IMC et le statut tabagique, l'âge n'était pas associé aux concentrations plasmatiques de vitamine C chez des personnes âgés (193;202) ou d'âge moyen (203).
- *Le tabagisme.* Plusieurs études ont rapporté que les fumeurs avaient des apports en vitamine C plus bas que les non-fumeurs (204). A niveau d'apport en vitamine C égal et après prise en compte d'autres facteurs de confusion potentiels, le tabagisme actif et le tabagisme passif ont été associés à des concentrations plasmatiques plus basses de vitamine C (195;203;204). Plusieurs hypothèses ont été avancées : le tabagisme pourrait entraîner une plus grande dépense de vitamine C pour lutter contre le stress oxydant causé par le tabac, et altérer la vitamine C circulante. Chez les fumeurs, les concentrations d'acide déhydroascorbique seraient plus de 1000 fois plus élevées que chez les non-fumeurs (204).
- *La consommation d'alcool.* Comme pour le tabac, une consommation élevée d'alcool a été associée à des apports en vitamine C plus bas, mais aussi à des concentrations plasmatiques de vitamine C plus basses, indépendamment des apports en vitamine C et de plusieurs autres facteurs de confusion potentiels (205). L'alcool pourrait entraîner une augmentation de l'excrétion de la vitamine C (206).
- *Les facteurs anthropométriques.* Plusieurs études ont observé une association inverse entre les concentrations plasmatiques de vitamine C et l'IMC (198;203;207;208). Cependant le nombre de facteurs de confusion pris en compte était souvent restreint (201) et d'autres études n'ont pas retrouvé cette association (202;209). D'autres études ont rapporté une association inverse entre les concentrations plasmatiques de vitamine C et le ratio taille-hanche (210) ou la masse maigre (201), indépendamment de l'IMC.

- *L'activité physique.* La synthèse d'hormones stéroïdiennes et de neurotransmetteurs requiert de la vitamine C, on peut donc supposer qu'en cas d'activité physique intense les besoins en vitamine C soient augmentés. Cette hypothèse n'a pour le moment pas été confirmée (195). En effet, les concentrations plasmatiques de vitamine C ne différaient pas selon l'activité physique dans les études disponibles. Par ailleurs, l'activité physique régulière ou intense et prolongée entraîne un stress oxydant, mais les données disponibles ne permettent actuellement pas de conclure à un effet protecteur de la vitamine C sur plusieurs marqueurs du stress oxydant causé par l'exercice physique (211). Certaines études ont récemment suggéré un effet délétère de la prise de complément en vitamine C à haute dose (1 000 mg par jour) sur certains mécanismes d'adaptation des muscles squelettiques lors d'une activité physique régulière (212).
- *Certaines maladies.* Certaines maladies, par exemple la maladie de Crohn, peuvent diminuer l'absorption de la vitamine C (213). Des études suggèrent que la vitamine C pourrait jouer un rôle physiologique bénéfique dans certaines maladies comme par exemple le diabète de type 1 (214) ou de type 2 (215).
- *Des facteurs génétiques.* Certains facteurs génétiques pourraient influencer le métabolisme de la vitamine C (216).

#### 1.4 Recommandations d'apport en vitamine C

En France, les apports nutritionnels conseillés en vitamine C sont de 110 mg par jour pour les adultes entre 20 et 60 ans et de 120 mg par jour après 60 ans (126). Les besoins en vitamine C sont accrus dans certaines situations physiologiques (infections, traitement anticancéreux) et modes de vie (activité physique intense, consommation excessive d'alcool, tabagisme). Chez les fumeurs de plus de 10 cigarettes par jour, l'Anses recommande un supplément d'apport de 20%. Actuellement, l'Anses n'a pas fixé de limite de sécurité pour la vitamine C. Cependant, le Comité Supérieur d'Hygiène Publique de France recommande de ne pas dépasser 1 000 mg par jour (126).

Les recommandations d'apport en vitamine C pour les adultes sont assez différentes d'un organisme à un autre et peuvent varier du simple au double (Tableau 16). En outre, certains organismes ont choisi d'établir des recommandations par sexe ou dans certains sous-groupes (fumeurs, personnes âgées). Les différents organismes chargés d'établir les recommandations

d'apport en vitamine C s'accordent à dire que les données disponibles sont insuffisantes pour définir une limite de sécurité, mais certains ont choisi de fixer une limite par précaution. L'EFSA a publié ses recommandations en 2013 : elles étaient de 95 mg par jour pour les femmes et de 110 mg par jour pour les hommes, une limite de sécurité n'a pas été fixée (217). A ce jour aucune limite de sécurité n'a été fixée par l'Anses et par l'EFSA bien que les effets indésirables provoqués par un apport excessif en vitamine C soient bien connus.

Le scorbut se manifeste généralement à des concentrations plasmatiques de vitamine C inférieures à 10  $\mu\text{mol/L}$  (217). Les ANC pour la population générale adulte ont été calculés à partir de la concentration plasmatique de vitamine C de 60  $\mu\text{mol/L}$ , considérée comme optimale car elle correspondait au niveau d'apport en vitamine C totalement absorbé et n'entraînant pas d'excrétion de vitamine C, et qui permettait d'assurer une concentration leucocytaire maximale et se rapprochait de la concentration permettant un pouvoir antioxydant maximal (126). Les autres organismes cités dans le Tableau 16 se sont généralement aussi basés sur la saturation des tissus (130;195;217;218) et/ou l'effet antioxydant optimal (195;218) pour établir leurs recommandations. Les pays nordiques se distinguent en ayant choisi, en 2013, de baser majoritairement leurs recommandations en vitamine C sur les études épidémiologiques afin de définir l'apport en vitamine C associé avec le plus bas risque de mortalité et de maladies chroniques comme le cancer et les maladies cardiovasculaires (128).

Alors que la carence en vitamine C est définie de manière consensuelle par une concentration plasmatique de vitamine C inférieure à 10 ou 11  $\mu\text{mol/L}$  (128;217), il n'existe pas de recommandation bien établie concernant le dosage de vitamine C plasmatique. Le dosage de vitamine C plasmatique reflète surtout les apports récents en vitamine C, et doit donc être interprété avec précaution. L'EFSA considère qu'une concentration supérieure ou égale à 50  $\mu\text{mol/L}$  est optimale et qu'entre 10 et 50  $\mu\text{mol/L}$ , l'individu est à risque de déficience (217).

**Tableau 16** : Recommandations actuelles en vitamine C pour les adultes (hors femmes enceintes ou allaitantes) dans différents pays.

	<b>Danemark, Finlande, Norvège, Suède, Islande (128)</b>	<b>Etats-Unis, Canada (195)</b>	<b>Allemagne (218)</b>	<b>Australie, Nouvelle-Zélande (130)</b>	<b>France (126)</b>	<b>Grande-Bretagne (131)</b>
<b>Organisme</b>	Nordic Nutrition Recommendations (NNR)	Institute of Medicine (IoM)	German Nutrition Society (DGE)	National Health and Medical Research council (NHRMC)	Agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA)	Department of Health
<b>Année de publication</b>	2013	2000	2015	2005	2001	1991
<b>Recommandations (mg/jour)</b>						
Femmes	75	75	95	45	110	40
Hommes	75	90	110	45	110	40
Personnes âgées (> 60 ans)	-	-	-	-	120	-
Fumeurs	-	110 (femmes) 125 (hommes)	135 (femmes) 155 (hommes)	-	-	-
<b>Limite de sécurité (mg/jour)*</b>	1 000	2 000	-	1 000*	-	2 000

\* Les organismes ayant fixé une limite ont précisé que les données disponibles ne permettaient pas de définir une limite de sécurité telle qu'habituellement définie. Il s'agit plutôt de l'application du principe de précaution.

## 1.5 Apports en vitamine C dans la population française

### **1.5.1 Apports alimentaires en vitamine C**

D'après l'étude INCA2, en France, les adultes âgées de 18 à 79 ans ont des apports alimentaires en vitamine C moyens de 93 mg par jour (45). Les aliments enrichis étaient pris en compte dans l'étude. Les fruits étaient la principale source alimentaire de vitamine C (27% des apports). Les légumes hors pommes de terre et les boissons fraîches sans alcool étaient les autres contributeurs importants (22% respectivement). Les autres groupes alimentaires contribuaient à moins de 5% des apports, excepté les pommes de terre et dérivés (7,8%).

D'après un rapport de l'Anses s'appuyant sur les données collectées par l'étude INCA2, l'estimation de la prévalence d'inadéquation en vitamine C des adultes français, en considérant uniquement les apports alimentaires (aliments enrichis ou non), était de 29 à 56% selon la classe d'âge considérée (49). Chez les utilisateurs de compléments alimentaires la prévalence d'inadéquation en considérant uniquement les apports alimentaires était 2 à 8% plus basse, sauf pour les hommes de 65-75 ans, avec une prévalence plus élevée de 9% mais l'effectif était très limité (n = 10). Après prise en compte des apports par complément alimentaire, la prévalence d'inadéquation en vitamine C avait diminué de 3 à 16% selon la tranche d'âge considérée chez les utilisateurs de compléments alimentaires (49). En considérant une limite de sécurité de 1 000 mg/jour de vitamine C, la prévalence de dépassement de la limite de sécurité était nulle avec les apports alimentaires (enrichis ou non) et faible en prenant aussi en compte les apports par complément (0,2% dans l'ensemble de la population et 0,9% chez les utilisateurs de compléments alimentaires) (49). Cependant, cette estimation a été calculée en considérant la moyenne d'apport en vitamine C par jour sur l'année écoulée, des utilisateurs ont donc pu avoir des apports supérieurs à la limite de sécurité sur une courte durée.

### **1.5.2 Apports en vitamine C par complément alimentaire**

Les compléments en vitamine C se présentent la plupart du temps sous la forme de comprimés à croquer, à avaler, ou effervescents. Les compléments contenant de la vitamine C peuvent contenir de la vitamine C seule ou combinée à d'autres micronutriments (on parle alors de « multivitamines ») et peuvent parfois contenir d'autres substances comme de la gelée royale ou du guarana. La vitamine C des compléments alimentaires peut être d'origine naturelle ou

synthétique. La molécule est la même et les études disponibles n'ont pas mis en évidence de différence de métabolisme selon l'origine de la vitamine C (199).

En France, c'est certainement le micronutriment dont la consommation dans la population générale sous forme de complément est la plus ancienne. Dans une étude menée en 2002-2003 sur un échantillon de 1 631 français, la vitamine C (hors « multivitamines ») faisait partie des compléments alimentaires les plus cités : 45% parmi les personnes ayant déclaré consommer des compléments alimentaires, derrière le magnésium (51%) et devant les « multivitamines » (30,7%) (46).

En France, comme pour la vitamine D, les compléments en vitamine C peuvent être vendus sous forme de complément ou de médicament. Les médicaments vendus en pharmacie et contenant uniquement de la vitamine C contiennent généralement des doses de 500 ou 1000 mg par jour. Les compléments alimentaires ne contenant que de la vitamine C ne peuvent pas dépasser 180 mg par jour depuis 2006 (Annexe 3 de l'arrêté du 9 mai 2006) mais c'était le cas auparavant, et ces produits contenaient alors généralement des doses de 500 mg par jour également. Plusieurs marques n'ont pas changé la formulation de leur produit mais seulement les conditions d'utilisation (prendre ¼ de comprimé de 500 mg de vitamine C par jour au lieu d'un comprimé par jour). La dose maximale fixée par l'arrêté du 9 mai 2006 est la même pour les « multivitamines » lorsqu'ils sont vendus sous forme de complément alimentaire. Les produits actuellement sur le marché contiennent des doses généralement comprises entre 60 et 180 mg de vitamine C par jour. Ce type de produits est devenu vraiment répandu en France à partir du début des années 2000 seulement. Les « multivitamines » vendus sous forme de médicaments, présent sur le marché depuis le début des années 1990 contiennent des doses de vitamine C comprises entre 15 et 500 mg par jour. Les médicaments contenant de l'aspirine ou du paracétamol et de la vitamine C ne peuvent pas être considérés comme étant des compléments alimentaires.

### 1.6 Vitamine C et risque de cancer du sein

La vitamine C est un antioxydant, ce qui laisse penser qu'elle pourrait diminuer le risque de certaines maladies favorisées par le stress oxydant (état de déséquilibre de la balance antioxydants/pro-oxydants) comme le cancer (219). Paradoxalement, plusieurs études in vitro ont observé que la vitamine C pouvait être impliquée dans des mécanismes pro-

oxydants (219). Un nombre très limité d'études *in vitro* s'est intéressé spécifiquement au cancer du sein.

Une méta-analyse publiée en 2011 à partir des résultats de 11 études a suggéré que des apports élevés en vitamine C par complément pourraient être associés à une augmentation de risque de cancer du sein de 9% (OR = 1,09, IC<sub>95%</sub> = [1,01 – 1,18] (220). Cette méta-analyse comporte plusieurs limites : elle incluait à la fois des études cas-témoins (rétrospectives) et des études de cohorte (prospectives), et comparait les niveaux d'apport les plus élevés par rapport aux niveaux les plus bas sans considérer le fait que ces niveaux peuvent être extrêmement variables d'une étude à l'autre. Parmi les six études de cohorte ayant étudié la relation entre apports en vitamine C par complément et risque de cancer du sein après la ménopause, deux ont observé une augmentation de risque associée aux apports les plus élevés par rapport aux apports les plus bas (221;222). Dans un essai randomisé sur l'effet de la prise de vitamine C sur le risque de cancer du sein, la prise de 500 mg par jour de vitamine C sous forme de complément pendant en moyenne neuf ans n'était pas associée au risque de cancer du sein chez des femmes majoritairement ménopausées (223). Les études prospectives ayant étudié la relation entre apports alimentaires en vitamine C et risque de cancer du sein après la ménopause n'ont pas observé d'association (221;224-228).

### *1.7 Objectifs de la thèse*

La plupart des études de cohorte ont des données sur la prise de complément alimentaire à l'inclusion seulement, ce qui est susceptible de réduire la puissance pour mettre en évidence une potentielle association avec le risque de cancer du sein. De plus, aucune étude prospective n'a étudié si cette relation pouvait être différente selon le niveau d'apports alimentaires en vitamine C.

L'objectif de cette thèse était d'étudier la relation entre le fait d'avoir pris un complément en vitamine C et le risque de cancer du sein après la ménopause en utilisant des données répétées sur la prise de complément alimentaire, et d'étudier si cette relation pouvait être différente selon le niveau d'apports alimentaires en vitamine C, avec l'hypothèse d'une potentielle augmentation de risque chez les femmes ayant des apports alimentaires en vitamine C élevés et une potentielle diminution de risque chez celles ayant des apports bas.

## 2. METHODES

La cohorte E3N et la population d'étude ont déjà été présentées dans la section Méthodes de la Partie Vitamine D.

### 2.1 Données utilisées

#### 2.1.1 Cas de cancer du sein

Les données sur les cas de cancer du sein ont été décrites dans la section Méthodes de la Partie Vitamine D.

#### 2.1.2 Prise de vitamine C sous forme de complément

La prise de complément en vitamine C a été estimée à partir des réponses aux questions spécifiques sur la prise de complément alimentaire dans les questionnaires envoyés en 1995, 2000, 2002, et 2005.

Dans les questionnaires envoyés en 1995, 2000, et 2002, les femmes étaient considérées comme utilisatrices si elles avaient coché la case «vitamine C » en réponse à la question : « Prenez-vous actuellement, au moins trois fois par semaine... » (Figure 18).

Dans le questionnaire envoyé en 2005 (Figure 19), les femmes étaient considérées comme utilisatrices si elles avaient coché la case « vitamine C » parmi les constituants d'un des compléments déclarés et si la prise était considérée comme actuelle au moment de remplir le questionnaire. Une prise de complément alimentaire a été considérée comme étant actuelle au moment du remplissage du questionnaire selon les mêmes critères utilisés que ceux utilisés pour la prise de complément en vitamine D : si l'année de début de prise déclarée correspondait à l'année de remplissage du questionnaire, ou si la somme de l'année de début de prise et du nombre d'années avec prise était proche de l'année de remplissage du questionnaire (c'est-à-dire était comprise entre l'années de remplissage et l'année de remplissage + 2 ans), ou si la femme avait renseigné la case « si vous prenez ce produit actuellement, indiquez le nombre de jours par semaine ».

### 2.1.3 Données sur les apports alimentaires en vitamine C

Les apports alimentaires en vitamine C ont été estimés à partir des réponses au questionnaire alimentaire envoyé entre 1993 et 1995 (décrit dans la Partie 2.1.3 de la section Vitamine D). Les apports quotidiens moyens en vitamine C ont été déduits de la table CIQUAL de composition des aliments (157).

### 2.1.4 Données sur les facteurs de confusion potentiels

#### *Facteurs de risque connus de cancer du sein après la ménopause*

Les données sur ces facteurs ont déjà été décrites dans la section Méthodes de la Partie Vitamine D.

#### *Autres facteurs de confusion potentiels*

Plusieurs variables étaient susceptibles d'être associées à la prise de complément en vitamine C et au risque de cancer du sein invasif après la ménopause bien que n'étant pas des facteurs de risque reconnus. Pour les mêmes raisons que celles mentionnées dans la partie vitamine D, nous avons ajusté sur le statut tabagique, le niveau d'études, la prise d'autres types de complément, le passage récent d'une mammographie, et les apports caloriques. De plus, suite à nos résultats sur la vitamine D, nous avons également ajusté sur la prise actuelle de complément en vitamine D.

- Statut tabagique  
A chaque questionnaire, il était demandé aux femmes si elles fumaient au moment du questionnaire ou si elles avaient fumé dans le passé, et de préciser dans ce cas depuis combien d'années elles avaient arrêté.
- Niveau d'études  
Dans le questionnaire envoyé en 1990, il était demandé aux femmes de cocher la case correspondant à leur niveau d'études parmi les propositions suivantes : pas d'études, certificat d'études, BEPC ou CAP, BAC à BAC+2, BAC+3 à +4, au moins BAC+5.
- Prise d'autres compléments alimentaires  
Les prises d'autres constituants que la vitamine C ou la vitamine D sous forme de complément ont été estimées à partir des questions spécifiques sur la prise de complément alimentaire posées dans les questionnaires envoyés en 1995,

2000, 2002, et 2005. En 2005, seuls les compléments alimentaires pris au moment du remplissage du questionnaire ont été considérés.

- Mammographie récente

A chaque questionnaire, il était demandé aux femmes de déclarer si elles avaient passé une mammographie depuis la date d'envoi du questionnaire précédent.

- Apports caloriques

Les apports caloriques totaux (hors alcool) ont été estimés à partir du questionnaire alimentaire envoyé en 1993-1995.

- Prise actuelle de complément en vitamine D

La prise actuelle de complément en vitamine D a été estimée à partir des questionnaires envoyés en 1995, 2000, 2002, et 2005 et des remboursements de la MGEN comme expliqué dans la section Méthodes de la Partie Vitamine D.

## 2.2 *Analyses statistiques*

Le seuil de significativité fixé était de 0,05 pour tous les tests statistiques effectués. Tous les tests étaient bilatéraux.

### 2.2.1 **Gestion des données manquantes**

Pour la prise de complément en vitamine C, nous avons considéré que les femmes ayant répondu à un questionnaire mais n'ayant pas coché la case permettant de déclarer qu'elles prenaient un complément en vitamine C étaient non-utilisatrices à ce questionnaire. En cas de non-réponse à un questionnaire, les femmes étaient considérées comme non-utilisatrices si elles n'avaient pas déclaré prendre un complément en vitamine C dans les questionnaires précédents ; elles étaient considérées comme utilisatrices actuelles ou passées si elles avaient déclaré prendre un complément en vitamine C dans au moins un questionnaire précédent. En cas de non-réponse au premier questionnaire avec une question spécifique sur la prise de complément alimentaire envoyé en 1995 ou à tous les questionnaires suivant l'inclusion (questionnaire de 1995 ou premier questionnaire après la ménopause) les femmes étaient exclues.

Concernant les apports alimentaires en vitamine C, les femmes n'ayant pas répondu au questionnaire alimentaire ont été exclues.

La gestion des données manquantes pour les variables d'ajustement a été décrite dans la section Méthodes de la Partie Vitamine D.

**Tableau 17** : Questionnaires et codage utilisés pour construire les variables d'ajustement des analyses prise de complément en vitamine C et risque de cancer du sein après la ménopause.

Variable	Questionnaires utilisés	Codage
<i>Variables fixes</i>		
Age à la ménopause	1990, 1992, 1993, 1995, 1997, 2000, 2002, 2005	En continu
Antécédents familiaux au premier degré de cancer du sein	1990, 2000	Oui, Non
Age à la ménarche	1990, 1992	En continu
Utilisation d'un contraceptif oral avant la ménopause	1990, 1992, 1993, 1995, 1997, 2000, 2002, 2005	Oui, Non
Parité et âge à la première grossesse menée à terme	1990, 1992	Nullipare, Âge à la 1ère grossesse < 30 ans et 1 ou 2 enfants, Âge à la 1ère grossesse < 30 ans et 3 enfants ou plus, Âge à la 1ère grossesse ≥ 30 ans
Apports caloriques (hors alcool)	Questionnaire alimentaire de 1993-1995	En continu (kcal/kjour)
Consommation d'alcool	Questionnaire alimentaire de 1993-1995	0.14, 3.80, 10.7, 26.0 mg d'éthanol/jour (médianes des quartiles)
Apports alimentaires en vitamine C	Questionnaire alimentaire de 1993-1995	< 101,9, 101,9-135,4, 135,4-177,6, ≥ 177.6 mg/jour (quartiles)
Niveau d'études	1990	Inférieur au baccalauréat, Baccalauréat ou plus
<i>Variables dépendantes du temps</i>		
Prise actuelle ou passée de THM	1992, 1993, 1995, 1997, 2000, 2002, 2005	Oui, Non
Antécédents personnels de maladie bénigne du sein	1990, 1992, 1993, 1995, 1997, 2000, 2002, 2005	Oui, Non
Activité physique	1993*, 1995, 1997	< 12, ≥ 12 équivalents métaboliques en heures/jour
IMC	1993*, 1995, 1997, 2000, 2002, 2005	< 18.5, 18.5-24.9, ≥ 25 kg/m <sup>2</sup>
Prise passée ou actuelle de compléments autres	1995, 2000, 2002, 2005	Oui, Non
Prise actuelle de complément en vitamine D	1995, 2000, 2002, 2005	Oui, Non
Mammographie récente	1995, 1997, 2000, 2002, 2005	Oui, Non
Statut tabagique	1990, 1992, 1993, 1995, 1997, 2000, 2005	Fumeuse, Ex-fumeuse ou Non-fumeuse

### 2.2.2 Analyses descriptives

Les caractéristiques des femmes ont été étudiées à la fin du suivi étant donné que la prise de complément en vitamine C était considérée en variable dépendante du temps. Les variables quantitatives ont été décrites par leurs moyennes et écarts-types. La comparaison d'une variable quantitative selon la prise de complément en vitamine C (prise actuelle ou passée versus non-prise) a été effectuée par un test de Student. La comparaison des valeurs d'une variable quantitative selon les apports alimentaires en vitamine C (en quartiles) a été effectuée par une ANOVA. Les variables qualitatives ont été décrites par les fréquences de chaque modalité. L'étude des variables qualitatives en fonction de la prise de complément en vitamine C ou des apports alimentaires en vitamine C a été effectuée par des tests du  $\chi^2$ .

### 2.2.3 Analyses de risque

#### *Le modèle de Cox*

Le modèle de Cox a déjà été décrit dans la section Méthodes de la Partie Vitamine D.

#### *Modèles utilisés*

Nous avons considéré cinq types d'ajustement :

- Un modèle non-ajusté ;
- Un modèle ajusté sur les principaux facteurs de risque de cancer du sein (âge à la ménarche, âge à la ménopause, parité et âge à la première grossesse menée à terme, utilisation de contraceptifs oraux, utilisation de traitements hormonaux de la ménopause, antécédents personnels de maladie bénigne du sein, antécédents familiaux de cancer du sein, consommation d'alcool, activité physique, IMC) et les facteurs pouvant jouer un rôle de confusion dans notre étude (associés au risque de cancer du sein avec  $p < 0.20$ ) : apports caloriques totaux hors alcool, passage récent d'une mammographie, niveau d'études, prise actuelle d'un complément en vitamine D;
- Un modèle ajusté sur l'ensemble des facteurs cités ci-dessus et sur le statut tabagique (qui n'était pas associé au risque de cancer du sein avec  $p < 0.20$ );
- Un modèle ajusté sur l'ensemble des facteurs cités ci-dessus et sur la prise d'autres micronutriments que la vitamine C sous forme de complément alimentaire (qui n'était pas associée au risque de cancer du sein avec  $p < 0.20$ ) ;

- Un modèle ajusté sur l'ensemble des facteurs cités ci-dessus et sur les apports alimentaires en vitamine C (qui n'était pas associée au risque de cancer du sein avec  $p < 0.20$ ).

Chaque modèle était stratifié sur l'année de naissance par périodes de 5 ans pour prendre en compte l' « effet cohorte ». La notion d' « effet cohorte » a été explicitée dans la section Méthodes de la Partie Vitamine D.

Le codage et la modélisation (fixe ou dépendante du temps) des variables d'ajustement sont récapitulés dans le Tableau 17.

#### *Codage des variables*

La prise de complément en vitamine C a été considérée en variable dépendante du temps. La notion de variable dépendante du temps a été expliquée dans la section Méthodes de la Partie Vitamine D. L'information à un questionnaire  $n$  a été utilisée pour estimer l'exposition entre les dates de réponse aux questionnaires  $n$  et  $n+1$ . La prise de complément en vitamine C a été considérée en variable en deux classes : prise actuelle ou passée et non-prise.

Les femmes contribuaient au nombre de personnes-années de chaque classe à partir de leur inclusion. La prise de vitamine C pouvait avoir eu lieu avant la ménopause.

Le codage de chaque variable d'ajustement est récapitulé dans le Tableau 17.

#### *Tests d'interaction*

La potentielle interaction entre prise de complément en vitamine C (actuelle ou passée, jamais) et apports alimentaires en vitamine C (quartiles) a été testée en ajoutant un terme d'interaction entre les modalités de chaque variable dans le modèle de Cox complet.

#### *Tests d'hétérogénéité*

Nous avons étudié si la relation entre prise de complément en vitamine C et risque de cancer du sein après la ménopause différait selon :

- le statut hormonal de la tumeur (présence de récepteurs à œstrogènes ou non) ;
- la prise actuelle versus passée de complément en vitamine C.

L'hétérogénéité de l'association entre les différents sous-groupes considérés a été testée à partir de tests de  $\chi^2$  d'homogénéité. Ce test a été décrit dans la section Méthodes de la Partie Vitamine D.

#### *Test de tendance*

La linéarité de la relation entre apports alimentaires en vitamine C et risque de cancer du sein après la ménopause a été testée en incluant dans les modèles une variable semi-continue prenant pour valeur la médiane des quartiles.

#### *Risques compétitifs*

Des modèles de Cox à risques compétitifs ont été utilisés pour estimer le risque de tumeur ER+ et de tumeur ER-. La notion de risques compétitifs a été explicitée dans la section Méthodes de la Partie Vitamine D.

#### *Risques absolus*

Les risques absolus de cancer du sein selon la prise de complément en vitamine C et les apports alimentaires en vitamine C ont été estimés à partir du modèle de Cox le plus complet. Le calcul des risques absolus permet de comparer les niveaux de risques entre les différentes strates.

### **2.2.4 Logiciel utilisé**

Le logiciel étudié a déjà été décrit dans la section Méthodes de la Partie Vitamine D.

### 3. RESULTATS

La population d'étude était la même que pour les analyses sur la prise de complément en vitamine D. Au cours des 581 085 personnes-années de suivi, 2 482 cas invasifs de cancer du sein ont été diagnostiqués.

#### 3.1 *Analyses descriptives*

##### 3.1.1 Apports alimentaires en vitamine C

L'estimation de l'apport alimentaire moyen en vitamine C était de 145 mg par jour, ce qui est supérieur aux recommandations françaises pour les adultes (110 mg par jour) et aux apports estimés dans la population française en 2006-2007 (93 mg par jour) (cf. Partie 1.5.1). Les principaux aliments contributeurs des apports alimentaires en vitamine C étaient les légumes (37,0%), les fruits frais entiers (36,4%), et les jus de fruits (12,5%).

##### 3.1.2 Prise de complément en vitamine C

Environ 18% des femmes de la population d'étude ont déclaré au moins une fois avoir pris un complément en vitamine C au cours de leur suivi. Plus de la moitié de ces femmes (59,4%) ont déclaré prendre un complément en vitamine C à plus d'un questionnaire (2 à 3 questionnaires en moyenne). La proportion de femmes ayant déclaré prendre un complément en vitamine C a augmenté entre 1995 et 2005, passant de 6-7% en 1995, 2000 et 2002, à 12% en 2005. Comme précisé dans la Partie Vitamine D, l'augmentation des déclarations de prise de complément en vitamine D et en vitamine C sont cohérentes avec la forte progression du marché des compléments alimentaires en France à cette période (+25% entre 2000 et 2002 et +52% entre 2002 et 2005, Figure 7), mais une partie de l'augmentation constatée entre 2002 et 2005 peut être due à une modification de la question sur la prise de complément alimentaire en 2005. Avant 2005, il était demandé aux femmes de cocher une case si elles prenaient de la vitamine C. En 2005, il était demandé aux femmes de donner le nom des compléments qu'elles prenaient et de donner leur composition en cochant des cases correspondant à des constituants (ex : calcium, vitamine C, plantes...). Il est donc probable que les femmes aient plus facilement déclaré leur prise de vitamine C sous forme de complément multivitaminique dans ce questionnaire, alors que ce type de complément a pu être sous-rapporté dans les questionnaires précédents. De plus, dans le questionnaire de 2005,

la question n'était pas limitée aux compléments pris au moins trois fois par semaine, des compléments pris de façon moins régulière ont donc pu également être rapportés (cf. Partie 2.3.2).

### **3.1.3 Description des utilisatrices de complément en vitamine C**

Les femmes ayant déclaré avoir pris un complément en vitamine C au cours du suivi avaient des apports alimentaires en vitamine C plus élevés que les non-utilisatrices. Elles avaient plus fréquemment déclaré avoir pris d'autres vitamines ou minéraux sous forme de complément. Elles avaient un niveau d'études plus élevé et à la fin du suivi, elles cumulaient à la fois des caractéristiques associés à un plus bas risque de cancer du sein (elles étaient moins fréquemment en surpoids, avaient un niveau d'activité physique plus élevé) et à un plus haut risque (elles avaient plus fréquemment utilisé un THM ou un contraceptif oral et avaient plus fréquemment eu des antécédents de maladie bénigne du sein).

L'ensemble des caractéristiques des participantes selon leur exposition à la prise de complément en vitamine C est présenté dans le Tableau 18.

**Tableau 18** : Caractéristiques des participantes à la fin du suivi selon leur exposition aux compléments en vitamine C (Cohorte E3N, N = 57 403).

	Aucune prise de complément en vitamine C  (n = 47 232)	Prise actuelle ou passée de complément en vitamine C  (n = 10 171)	<i>P</i> -différence <sup>1</sup>
<b>Age à la fin du suivi, années</b>	66,5 <sup>2</sup> ± 6,7	66,5 ± 6,4	0,21
<b>Age à la ménarche, années</b>	12,8 ± 1,4	12,8 ± 1,4	0,01
<b>Age à la ménopause, années</b>	50,5 ± 3,8	50,6 ± 3,7	0,17
<b>Niveau d'études, %</b>			< 0,001
Inférieur au baccalauréat	12,0	7,8	
Baccalauréat ou plus	88,0	92,2	
<b>IMC, kg/m<sup>2</sup></b>	23,8 ± 3,8	23,1 ± 3,5	< 0,001
<b>Consommation d'alcool, g d'éthanol/jour</b>	11,5 ± 13,8	11,1 ± 13,4	0,005
<b>Apports caloriques totaux (hors alcool), kcal/jour</b>	2,129 ± 538	2,133 ± 547	0,48
<b>Prise actuelle de complément en vitamine D, %</b>	13,3	28,3	< 0,001
<b>Prise actuelle ou passée de vitamines ou minéraux autres que la vitamine C ou D sous forme de complément, %</b>	36,5	92,4	< 0,001
<b>Activité physique, METs en heures/semaine</b>	24,7 ± 18,1	26,9 ± 18,8	< 0,001
<b>Fumeuses actuelles, %</b>	7,4	7,7	0,30
<b>Antécédents familiaux au premier degré de cancer du sein, %</b>	10,8	10,7	0,77
<b>Antécédents personnels de maladie bénigne du sein, %</b>	34,9	42,9	< 0,001
<b>Mammographie depuis le questionnaire précédent, %</b>	88,3	91,2	< 0,001
<b>Parité, %</b>			< 0,001
Nullipare	11,4	13,1	
Premier enfant avant 30 ans, 1 ou 2 enfants	49,9	51,2	

Premier enfant avant 30 ans, 3 enfants ou plus	28,6	24,9	
Premier enfant après 30 ans	10,1	10,8	
<b>Utilisation d'un contraceptif oral avant la ménopause, %</b>	58,7	65,2	< 0,001
<b>Utilisation actuelle ou passée de THM, %</b>	69,8	73,7	< 0,001
<b>Apports alimentaires en vitamine C, mg/jour</b>	143,3 ± 61,1	151,8 ± 66,3	< 0,001

<sup>1</sup> Les deux groupes (non-utilisatrices et utilisatrices actuelles ou passées de complément en vitamine C) ont été comparés par tests du Chi<sup>2</sup> pour les variables qualitatives et de Student pour les variables quantitatives.

<sup>2</sup> Pour les variables quantitatives, les valeurs indiquées sont les moyennes ± l'écart-type.

Abréviations: ET: Ecart-Type, HR: Hazard Ratio, IMC, Indice de Masse Corporelle, MET, équivalent métabolique; THM, Traitement Hormonal de la Ménopause.

## 3.2 Prise de complément en vitamine C et risque de cancer du sein après la ménopause

### 3.2.1 Analyses globales

La prise actuelle ou passée de complément en vitamine C n'était pas associée au risque de cancer du sein après la ménopause (HR = 1,07, IC<sub>95%</sub> = [0,94 – 1,23]) (Tableau 19).

### 3.2.2 Analyses par statut hormonal de la tumeur

L'association ne différait pas selon le statut hormonal de la tumeur (tumeurs ER+ : HR = 1,07, IC<sub>95%</sub> = [0,94 – 1,23], tumeurs ER- : HR = 1,07, IC<sub>95%</sub> = [0,94 – 1,23],  $P_{\text{homogénéité}} = 0,95$ ) (Tableau 19).

### 3.2.3 Analyses stratifiées

L'interaction entre la prise de complément en vitamine C et les apports alimentaires en vitamine C était statistiquement significative ( $P_{\text{interaction}} = 0,03$ ).

La prise actuelle ou passée de complément en vitamine C était associée à une augmentation de risque de cancer du sein après la ménopause chez les femmes étant dans le quartile d'apports alimentaires en vitamine C le plus élevé (HR = 1,31, IC<sub>95%</sub> = [1,03 – 1,66]). La prise de complément en vitamine C n'était pas associée au risque de cancer du sein dans les autres quartiles (HR = 0,98, IC<sub>95%</sub> = [0,74 – 1,30], 1,12, IC<sub>95%</sub> = [0,85 – 1,47] et 0,83, IC<sub>95%</sub> = [0,62 – 1,11] dans les premier, deuxième et troisième quartiles respectivement) (Tableau 20). L'augmentation de risque associée à la prise de complément en vitamine C dans le quartile le plus élevé d'apports en vitamine C était plus forte lorsque les femmes avaient déclaré prendre un complément en vitamine C à plus d'un questionnaire (HR = 1.53, IC<sub>95%</sub> = [1,11 – 2,11], contre 1.18, IC<sub>95%</sub> = [0,88 – 1,58] pour les femmes ayant déclaré prendre un complément en vitamine C à un questionnaire seulement).

Chez les femmes ne prenant pas de complément alimentaire en vitamine C, le quartile d'apports en vitamine C le plus élevé était associé à une diminution de risque de cancer du sein par rapport au quartile le plus bas (HR = 0,87, IC<sub>95%</sub> = [0,77 – 0,99]). L'association n'était pas linéaire ( $P_{\text{tendance}} = 0,07$ ) (Tableau 21).

**Tableau 19** : Hazard Ratios de l'association entre prise de complément en vitamine C et risque de cancer du sein invasif après la ménopause, globalement (Cohorte E3N, 1995 - 2008, N = 57 403) et selon le statut hormonal de la tumeur ER+/ER- (Cohorte E3N, 1995 - 2008, N = 56 959).

	Tous les cancers du sein invasifs					ER+		ER-		<i>P</i> <sub>homogénéité</sub> entre les cas ER+ et ER-
	Nb. de personnes- années	Nb. de cas	HR (IC <sub>95%</sub> ) <sup>1</sup>	HR (IC <sub>95%</sub> ) <sup>2</sup>	HR (IC <sub>95%</sub> ) <sup>3</sup>	Nb. de cas	HR (IC <sub>95%</sub> ) <sup>3</sup>	Nb. de cas	HR (IC <sub>95%</sub> ) <sup>3</sup>	
Prise de complément en vitamine C										
Jamais	474 520	2 175	1 (ref)	1 (ref)	1 (ref)	1 479	1 (ref)	317	1 (ref)	
Actuelle ou Passée	106 565	307	1,09 (0,97-1,23)	1,07 (0,94-1,23)	1,07 (0,94-1,23)	200	1,07 (0,91-1,26)	42	1,08 (0,76-1,55)	0,95

<sup>1</sup> Ajusté sur l'âge (échelle de temps) et stratifié sur l'année de naissance (1925-1930, 1930-1935, 1935-1940, 1940-1945, 1945-1950).

<sup>2</sup> Ajusté sur l'âge (échelle de temps), l'IMC (< 18,5, 18,5-24,9, ≥ 25 kg/m<sup>2</sup>, dépendant du temps), utilisation d'un contraceptif oral avant la ménopause (au moins une fois, jamais), utilisation de THM (au moins une fois, jamais, dépendant du temps), parité et âge à la première grossesse menée à terme (nullipare, âge à la première grossesse < 30 ans et 1 ou 2 enfants, âge à la première grossesse < 30 ans et 3 enfants ou plus, âge à la première grossesse ≥ 30 ans), âge à la ménarche (années, continu), âge à la ménopause (années, continu), apports totaux en énergie sans l'alcool (kcal/jour, continu, estimés à partir du questionnaire envoyé en 1993-1995), prise actuelle de complément en vitamine D (oui, non, dépendant du temps), prise de complément en vitamines/minéraux autre que vitamine D ou C (au moins une fois, jamais), consommation d'alcool (médianes des quartiles, estimée à partir du questionnaire de 1993-1995), statut tabagique (fumeur, ex-fumeur ou non-fumeur, dépendant du temps), activité physique (< 12, ≥ 12 équivalents métaboliques en heures/jour, dépendent du temps), la présence d'antécédents personnels de

maladie bénigne du sein (oui, non, dépendant du temps), mammographie depuis le dernier questionnaire (oui, non, dépendant du temps), la présence d'antécédents familiaux au premier degré de cancer du sein (oui, non), niveau d'éducation (inférieur au baccalauréat, baccalauréat ou plus). Les analyses ont été stratifiées sur l'année de naissance (1925-1930, 1930-1935, 1935-1940, 1940-1945, 1945-1950).

<sup>3</sup> Ajustement supplémentaire sur les apports alimentaires en vitamine C (quartiles, estimés à partir du questionnaire de 1993-1995).

**Tableau 20** : Hazard Ratios de l'association entre prise de complément en vitamine C et risque de cancer du sein invasif après la ménopause, stratifiée sur les quartiles des apports alimentaires en vitamine C,  $P_{interaction} = 0,03$  (Cohorte E3N, 1995 - 2008, N = 57 403).

	Apports alimentaires en vitamine C < 102 mg/jour		Apports alimentaires en vitamine C de 102-135 mg/jour		Apports alimentaires en vitamine C de 136-177 mg/jour		Apports alimentaires en vitamine C ≥ 178 mg/jour	
	Nb. de cas	HR (IC <sub>95%</sub> ) <sup>1</sup>	Nb. de cas	HR (IC <sub>95%</sub> ) <sup>1</sup>	Nb. de cas	HR (IC <sub>95%</sub> ) <sup>1</sup>	Nb. de cas	HR (IC <sub>95%</sub> ) <sup>1</sup>
Prise de complément en vitamine C								
Jamais	556	1 (ref)	529	1 (ref)	574	1 (ref)	516	1 (ref)
Actuelle ou Passée	66	0,98 (0,74-1,29)	72	1,12 (0,85-1,47)	57	0,83 (0,62-1,11)	112	1,31 (1,03-1,66)

<sup>1</sup> Ajusté sur l'âge (échelle de temps), l'IMC (< 18,5, 18,5-24,9, ≥ 25 kg/m<sup>2</sup>, dépendant du temps), utilisation d'un contraceptif oral avant la ménopause (au moins une fois, jamais), utilisation de THM (au moins une fois, jamais, dépendant du temps), parité et âge à la première grossesse menée à terme (nullipare, âge à la première grossesse < 30 ans et 1 ou 2 enfants, âge à la première grossesse < 30 ans et 3 enfants ou plus, âge à la première grossesse ≥ 30 ans), âge à la ménarche (années, continu), âge à la ménopause (années, continu), apports totaux en énergie sans l'alcool (kcal/jour, continu, estimés à partir du questionnaire envoyé en 1993-1995), prise actuelle de complément en vitamine D (oui, non, dépendant du temps), prise de complément en vitamines/minéraux autre que vitamine D ou C (au moins une fois, jamais), consommation d'alcool (médianes des quartiles, estimée à partir du questionnaire de 1993-1995), statut tabagique (fumeur, ex-fumeur ou non-fumeur, dépendant du temps), activité physique (< 12, ≥ 12 équivalents métaboliques en heures/jour, dépendent du temps), la présence d'antécédents personnels de maladie bénigne du sein (oui, non, dépendant du temps), mammographie depuis le dernier questionnaire (oui, non, dépendant du temps), la présence d'antécédents familiaux au premier degré de cancer du sein (oui, non), niveau d'éducation (inférieur au baccalauréat, baccalauréat ou plus). Les analyses ont été stratifiées sur l'année de naissance (1925-1930, 1930-1935, 1935-1940, 1940-1945, 1945-1950).

**Tableau 21** : Hazard Ratios de l'association entre apports alimentaires en vitamine C et risque de cancer du sein invasif après la ménopause, stratifiée sur la prise de complément en vitamine C,  $P_{interaction} = 0,03$  (Cohorte E3N, 1995 - 2008, N = 57 403).

	Non-utilisatrices de complément en vitamine C		Utilisatrices passées ou actuelles de complément en vitamine C	
	Nb. de cas	HR (IC <sub>95%</sub> ) <sup>1</sup>	Nb. de cas	HR (IC <sub>95%</sub> ) <sup>1</sup>
Apports alimentaires en vitamine C (mg/jour)				
< 102	556	1 (ref)	66	1 (ref)
102-135	529	0,91 (0,81-1,03)	72	0,99 (0,70-1,38)
136-177	574	0,96 (0,85-1,09)	57	0,78 (0,54-1,11)
≥ 178	516	0,87 (0,77-0,99)	112	1,17 (0,85-1,62)
$P_{tendance}$		0,07		0,29

<sup>1</sup> Ajusté sur l'âge (échelle de temps), l'IMC (< 18,5, 18,5-24,9, ≥ 25 kg/m<sup>2</sup>, dépendant du temps), utilisation d'un contraceptif oral avant la ménopause (au moins une fois, jamais), utilisation de THM (au moins une fois, jamais, dépendant du temps), parité et âge à la première grossesse menée à terme (nullipare, âge à la première grossesse < 30 ans et 1 ou 2 enfants, âge à la première grossesse < 30 ans et 3 enfants ou plus, âge à la première grossesse ≥ 30 ans), âge à la ménarche (années, continu), âge à la ménopause (années, continu), apports totaux en énergie sans l'alcool (kcal/jour, continu, estimés à partir du questionnaire envoyé en 1993-1995), prise actuelle de complément en vitamine D (oui, non, dépendant du temps), prise de complément en vitamines/minéraux autre que vitamine D ou C (au moins une fois, jamais), consommation d'alcool (médianes des quartiles, estimée à partir du questionnaire de 1993-1995), statut tabagique (fumeur, ex-fumeur ou non-fumeur, dépendant du temps), activité physique (< 12, ≥ 12 équivalents métaboliques en heures/jour, dépendent du temps), la présence d'antécédents personnels de maladie bénigne du sein (oui, non, dépendant du temps), mammographie depuis le dernier questionnaire (oui, non, dépendant du temps), la

présence d'antécédents familiaux au premier degré de cancer du sein (oui, non), niveau d'éducation (inférieur au baccalauréat, baccalauréat ou plus). Les analyses ont été stratifiées sur l'année de naissance (1925-1930, 1930-1935, 1935-1940, 1940-1945, 1945-1950).

### 3.2.4 Risques absolus de cancer du sein

Le risque absolu de cancer du sein après la ménopause dans le quatrième quartile d'apports alimentaires en vitamine étaient de 391/100 000 personnes-années chez les non-utilisatrices de complément en vitamine C et de 531/100 000 personnes-années chez les utilisatrices passées ou actuelles de complément en vitamine C. Dans les premier, deuxième et troisième quartiles d'apports alimentaires en vitamine C, les risques absolus étaient respectivement de 450, 409 et 432/100 000 personnes-années chez les non-utilisatrices de complément en vitamine C et de 432, 463 et 364/100 000 personnes-années chez les utilisatrices actuelles ou passées.

### 3.2.5 Analyses complémentaires

Afin de tester si l'augmentation de risque associée à la prise actuelle ou passée de complément en vitamine C dans le quartile d'apports alimentaires en vitamine C le plus élevé pouvait être dû à un biais de causalité inverse, nous avons exclu les cas diagnostiqués dans les cinq années suivant la date d'inclusion ( $n = 1\ 060$ ). L'augmentation de risque n'était pas atténuée ( $HR = 1,30$ ,  $IC_{95\%} = [1,01 - 1,69]$ ) (Tableau 22). Les résultats étaient similaires pour les autres quartiles (Tableau 22). L'interaction n'était plus statistiquement significative ( $P_{interaction} = 0,17$ ).

**Tableau 22** : Hazard Ratios de l'association entre apports alimentaires en vitamine C et risque de cancer du sein invasif après la ménopause, stratifiée sur la prise de complément en vitamine C après exclusion des cas survenus dans les cinq années suivant la date d'inclusion,  $P_{interaction} = 0,17$  (Cohorte E3N, 1995 - 2008, N = 56 343).

	Apports alimentaires en vitamine C < 102 mg/jour		Apports alimentaires en vitamine C de 102-135 mg/jour		Apports alimentaires en vitamine C de 136-177 mg/jour		Apports alimentaires en vitamine C ≥ 178 mg/jour	
	Nb. de cas	HR (IC <sub>95%</sub> ) <sup>1</sup>	Nb. de cas	HR (IC <sub>95%</sub> ) <sup>1</sup>	Nb. de cas	HR (IC <sub>95%</sub> ) <sup>1</sup>	Nb. de cas	HR (IC <sub>95%</sub> ) <sup>1</sup>
Prise de complément en vitamine C								
Jamais	315	1 (ref)	302	1 (ref)	301	1 (ref)	299	1 (ref)
Actuelle ou Passée	47	1,07 (0,78-1,46)	42	0,97 (0,70-1,35)	39	0,89 (0,64-1,26)	77	1,30 (1,01-1,69)

<sup>1</sup> Ajusté sur l'âge (échelle de temps), l'IMC (< 18,5, 18,5-24,9, ≥ 25 kg/m<sup>2</sup>, dépendant du temps), utilisation d'un contraceptif oral avant la ménopause (au moins une fois, jamais), utilisation de THM (au moins une fois, jamais, dépendant du temps), parité et âge à la première grossesse menée à terme (nullipare, âge à la première grossesse < 30 ans et 1 ou 2 enfants, âge à la première grossesse < 30 ans et 3 enfants ou plus, âge à la première grossesse ≥ 30 ans), âge à la ménarche (années, continu), âge à la ménopause (années, continu), apports totaux en énergie sans l'alcool (kcal/jour, continu, estimés à partir du questionnaire envoyé en 1993-1995), prise actuelle de complément en vitamine D (oui, non, dépendant du temps), prise de complément en vitamines/minéraux autre que vitamine D ou C (au moins une fois, jamais), consommation d'alcool (médianes des quartiles, estimée à partir du questionnaire de 1993-1995), statut tabagique (fumeur, ex-fumeur ou non-fumeur, dépendant du temps), activité physique (< 12, ≥ 12 équivalents métaboliques en heures/jour, dépendant du temps), la présence d'antécédents personnels de maladie bénigne du sein (oui, non, dépendant du temps), mammographie depuis le dernier questionnaire (oui, non, dépendant du temps), la

présence d'antécédents familiaux au premier degré de cancer du sein (oui, non), niveau d'éducation (inférieur au baccalauréat, baccalauréat ou plus). Les analyses ont été stratifiées sur l'année de naissance (1925-1930, 1930-1935, 1935-1940, 1940-1945, 1945-1950).

## 4. DISCUSSION

Alors que la prise de vitamine C sous forme de complément est largement répandue en France (46) et à l'étranger comme au Danemark (53), en Allemagne (52), aux Etats-Unis (56) et au Canada (229), nos résultats suggèrent un potentiel effet délétère de la prise de complément en vitamine C sur le risque de cancer du sein chez les femmes ayant déjà des apports alimentaires en vitamine C élevés. Nous avons aussi observé que la relation entre apports alimentaires en vitamine C et risque de cancer du sein était modifiée par la prise de complément en vitamine C : des apports alimentaires élevés était associés à une diminution de risque chez les non-utilisatrices de complément en vitamine C, mais pas chez les utilisatrices de complément en vitamine C.

### 4.1 Comparaison avec les résultats des autres études épidémiologiques

Les précédentes études sur la relation entre prise de complément en vitamine C et risque de cancer du sein ont généralement estimé la prise de complément à l'inclusion seulement. Peu d'études ont considéré simultanément les apports par complément et par l'alimentation en relation avec le risque de cancer du sein, et aucune, à notre connaissance, n'a étudié une potentielle interaction entre ces deux sources d'apports.

Une étude de cohorte a rapporté une augmentation de risque de cancer du sein après la ménopause associée à des apports en vitamine C par complément élevés ( $\geq 711$  mg par jour) par rapport aux non-utilisatrices (HR = 1,16, IC<sub>95%</sub> = [1,04 – 1,30]) et à des apports en vitamine C totaux élevés ( $\geq 686$  mg par jour) par rapport à des apports bas ( $< 97$  mg par jour) (HR = 1,18, IC<sub>95%</sub> = [1,04 – 1,34]) (221). Une autre étude de cohorte a rapporté une augmentation de risque de cancer du sein après la ménopause associée à des apports en vitamine C par complément  $\geq 250$  mg par jour par rapport aux non-utilisatrices (HR = 1,46, IC<sub>95%</sub> = [1,05 – 2,01]) (222).

Deux autres études de cohorte ont étudié la relation entre apports totaux en vitamine C et risque de cancer du sein après la ménopause. Ces études, qui ont considéré des niveaux d'apports similaires (228) ou des niveaux d'apports beaucoup plus bas ( $> 203$  mg par jour versus  $\leq 98$  mg par jour) (226) n'ont pas observé d'association. Concernant la relation entre apports en vitamine C par complément et risque de cancer du sein après la ménopause, deux

autres études ayant considéré un niveau d'apport plus faible (> 50 mg par jour versus non-utilisatrices) (225) ou n'ayant pas pris en compte le niveau d'apport par complément (227), n'ont pas rapporté d'association.

Un essai randomisé comprenant majoritairement des femmes ménopausées a étudié la relation entre prise de complément en vitamine C et risque de cancer du sein (223). L'intervention, une dose de 500 mg de vitamine C par jour pendant en moyenne 9 ans, n'a eu aucun effet sur le risque de cancer du sein par rapport au placebo. Une potentielle interaction avec les apports alimentaires en vitamine C à l'inclusion n'a pas été recherchée. Concernant la relation entre apports alimentaires en vitamine C et risque de cancer du sein, les études prospectives disponibles n'ont pas observé d'association (221;224-228).

## 4.2 *Hypothèses biologiques*

L'interprétation des études expérimentales sur la vitamine C et son effet sur la carcinogénèse est particulièrement complexe. L'interprétation des études expérimentales est limitée par des considérations techniques pour les études *in vitro* (instabilité de la vitamine C dans les conditions typiques d'incubation, différences de niveau de saturation selon les modèles cellulaires utilisés...) (216;219) et pour les études animales, par le fait que les animaux comme le rat sont capables de synthétiser de la vitamine C, contrairement à l'homme (230). Les mécanismes potentiels par lesquels la vitamine C pourrait avoir un effet sur le risque de cancer du sein sont nombreux. Ces mécanismes, décrits ci-dessous, suggèrent un rôle protecteur ou délétère de la vitamine C qui pourrait dépendre des concentrations de vitamine C et de l'équilibre entre les phénomènes d'oxydation et de réduction. Nos différences de résultats pour les apports alimentaires en vitamine C et la prise de vitamine C sous forme de complément pourraient être liées aux différences de doses apportées et aux effets complémentaires ou synergétiques des autres substances apportées par les aliments contenant de la vitamine C (231).

### 4.2.1 **Effets protecteurs potentiels de la vitamine C vis-à-vis du risque de cancer du sein**

*Protection potentielle de la vitamine C contre les lésions de l'ADN induites par le stress oxydatif*

Du fait de ses propriétés antioxydantes, la vitamine C est suspectée depuis longtemps d'avoir un effet protecteur vis-à-vis du risque de cancer. Les défenses antioxydantes de l'organisme permettent de contrer l'effet de dérivés réactifs de l'oxygène (DRO ou ROS pour reactive oxygen species) comme les radicaux libres ou les peroxydes, formés à la suite de réactions d'oxydo-réduction. Des concentrations basses ou modérées de DRO sont nécessaires à l'organisme, mais produits en excès, les DRO peuvent avoir des effets délétères. Un excès de DRO est appelé stress oxydant et correspond à la situation où les défenses antioxydantes de l'organisme sont insuffisantes par rapport à la quantité de DRO produit. Plusieurs facteurs liés au mode de vie augmentent la production de DRO (alcool, tabac, activité physique intense, pollution,...). Le stress oxydant entraîne notamment des lésions de l'ADN, ce qui pourrait augmenter le risque de cancer (232). Les DRO peuvent aussi entraîner une peroxydation des lipides, mais l'effet délétère de la peroxydation des lipides sur le risque de cancer, notamment du cancer du sein, est plus controversé (233).

Les vitamines antioxydantes (vitamines A, C, et E) agissent en réduisant les radicaux oxydants pour les rendre relativement stables (234). D'autres composés ont des propriétés antioxydantes, comme le  $\beta$ -carotène, les polyphénols, le sélénium, ou plusieurs enzymes, qui elles éliminent les composés initiant les réactions d'oxydation (219;234). Plusieurs études in vitro ont montré que la vitamine C, à des concentrations physiologiques (60–100  $\mu\text{mol/L}$ ), diminue les lésions de l'ADN provoquées par un stress oxydant et protège les lipides de la peroxydation (235). Cependant, chez l'homme, la plupart des études disponibles n'ont rapporté aucun effet de la prise de complément en vitamine C sur différents biomarqueurs des lésions de l'ADN liées à un stress oxydant (219;236). Certaines études, réalisées auprès de sous-groupes caractérisés par une exposition élevée au stress oxydant et des concentrations plasmatiques de vitamine C basses, comme les fumeurs et certains malades, ont rapporté que la prise de complément en vitamine C diminuait les lésions de l'ADN liées à un stress oxydant (216;219). A l'inverse, une étude a rapporté que la prise de 500 mg/jour de vitamine C sous forme de complément en plus des apports alimentaires a entraîné une augmentation des lésions de l'ADN dans les lymphocytes de 30 sujets sains. Les potentiels effets pro-oxydants à haute dose de la vitamine C sont décrits dans la partie suivante (237).

Plusieurs études expérimentales ont suggéré que la vitamine C pourrait avoir un effet protecteur vis à vis du risque de cancer du sein en diminuant les lésions de l'ADN induites par les œstrogènes. Dans deux études chez le rat, l'incidence de tumeur du sein induite par les

œstrogènes était réduite chez les rates ayant aussi reçu de la vitamine C par voie orale (238;239). Ces études ont observé que la vitamine C diminuait le stress oxydatif induit par les œstrogènes (238) et augmentait l'activité d'une enzyme antioxydante (SOD3) capable d'inhiber les lésions de l'ADN provoquées par le stress oxydatif induit par les œstrogènes dans les cellules mammaires (239). Une étude in vitro sur des cellules issues d'une lignée de cellules mammaires humaines a observé que l'ajout de vitamine C dans le milieu de culture augmentait l'expression de SOD3 et d'une autre enzyme ayant des propriétés antioxydantes (NQO1), qui était diminuée par l'ajout d'œstrogènes (240). La vitamine C avait un effet contraire à celui des œstrogènes sur l'expression de plusieurs protéines ayant un effet régulateur sur le gène codant pour la NQO1 (240).

#### *Potentiel effet pro-oxydant de la vitamine C sur certaines lignées cancéreuses*

Plusieurs études in vitro ont rapporté que la vitamine C, à des concentrations très élevées, qui pourraient sans doute être difficilement atteintes par voie orale chez l'homme, pourrait avoir des effets pro-oxydants sur certaines lignées cancéreuses, mais pas sur les cellules normales (219;241). Cela pourrait être dû à la contamination du milieu de culture par des métaux de transition (219). Cependant, les résultats d'une étude in vitro suggèrent que cet effet serait indépendant de la présence d'ions métalliques et serait lié à l'auto-oxydation de la vitamine C (242). L'effet de la vitamine C sur la viabilité de cellules tumorales in vitro pourrait donc dépendre de la forme de la vitamine C utilisée, car les formes dérivées stables ne peuvent pas s'auto-oxyder (219).

Une première étude in vitro a observé que de très fortes doses de vitamine C entraînaient la mort de cellules cancéreuses issues de lignées humaines en entraînant la formation de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) dans le milieu extracellulaire suite à l'oxydation de la vitamine C (242). Il est intéressant de noter que dans cette étude, la viabilité des cellules tumorales était affectée par les concentrations extracellulaires et non par les concentrations intracellulaires de vitamine C (242). Ces résultats ont été confirmés dans une étude in vitro, qui a comparé la sensibilité de plusieurs types de cellules. La vitamine C n'avait pas d'effet sur la viabilité des cellules normales et de certaines cellules tumorales, alors que d'autres étaient plus ou moins sensibles à la vitamine C selon le tissu, la lignée, et l'origine (rat, souris, ou humain) des cellules tumorales (243). Les cellules issues de la lignée humaine de cellules tumorales du sein MCF-7 étaient par exemple très sensibles, alors que les cellules issues de la lignée humaine de cellules tumorales du sein Hs587t ne l'étaient pas (243). Des tests ont

ensuite été réalisés chez la souris, à partir de cellules tumorales issues de lignées humaines, pour confirmer ces résultats sur les tumeurs qui semblaient les plus sensibles à la vitamine C (ovaire, pancréas, et glioblastome). La vitamine C, injectée par voie péritonéale, semblait diminuer la croissance des tumeurs (243). Le niveau de concentration en vitamine C considéré pourrait être atteint chez l'homme par des injections répétées par voie intraveineuse mais pas par voie orale. Une autre étude *in vitro* a observé que la viabilité de cellules tumorales issues de la lignée MCF-7 diminuait après une exposition des cellules à de très fortes concentrations de vitamine C (244). La vitamine C semblait avoir affecté le métabolisme énergétique des cellules tumorales, et cela pourrait être dû à la production de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Une autre étude a comparé la sensibilité de plusieurs lignées humaines de cellules tumorales du sein et de cellules mammaires normales (245). Les chercheurs ont comparé la viabilité des cellules *in vitro* après l'ajout de vitamine C au milieu de culture, et la croissance de tumeurs obtenues par xénogreffe chez des souris après des injections intra-péritonéales de vitamine C. La viabilité des cellules mammaires normales n'était pas affectée par la vitamine C. Certaines lignées tumorales semblaient plus sensibles que d'autres à la vitamine C, et cette différence de sensibilité était corrélée au niveau d'expression de la SVCT2 dans ces cellules (transporteur de la vitamine C qui régule l'accumulation de vitamine C dans les cellules) : plus l'expression de la SVCT2 était élevée et plus les cellules tumorales étaient sensibles à la vitamine C (245).

On ne sait pas encore précisément pourquoi la vitamine C semble avoir un effet toxique seulement sur les cellules cancéreuses. Les cellules cancéreuses sont caractérisées par une plus grande disponibilité intracellulaire de certains métaux et une plus forte accumulation de vitamine C sous sa forme oxydée en raison de la surexpression du transporteur GLUT, ce qui pourrait être associée à des concentrations intracellulaires plus élevées de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) formé suite à l'oxydation de vitamine C (235). De plus, plusieurs études ont observé des concentrations plus basses de catalase (235), l'enzyme capable de réduire le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), dans des cellules tumorales, ce qui pourraient les rendre plus sensibles au peroxyde d'hydrogène (219;246;247). Cependant, une étude a montré que dans une lignée humaine de cellules tumorales du sein (MCF-7), certaines cellules étaient caractérisées par une surexpression de la catalase. Ces cellules avaient une capacité de prolifération réduite mais étaient plus résistantes aux traitements pro-oxydants (247).

*Potentiel effet protecteur de la vitamine C sur la différenciation et la prolifération des cellules*

Les réactions d'oxydation et de réduction intracellulaires causées par les oxydants et les antioxydants influencent l'expression de plusieurs gènes, dont certains sont impliqués dans la prolifération et la différenciation cellulaire (219;235;248). Plusieurs études *in vitro* ont observé un effet régulateur de la vitamine C sur la différenciation et la prolifération de plusieurs types de cellules normales (219;248).

#### **4.2.2 Effets délétères potentiels de la vitamine C vis-à-vis du risque de cancer du sein**

*Les antioxydants pourraient-ils favoriser le développement de tumeurs ?*

Plusieurs essais randomisés ont rapporté une augmentation de risque de cancer après la prise de certains antioxydants, suggérant que les antioxydants auraient d'autres effets sur la carcinogénèse qu'un effet protecteur vis-à-vis des lésions de l'ADN induites par le stress oxydatif. Dans un essai, la prise de complément en  $\beta$ -carotène et en rétinol augmentait le risque de cancer du poumon chez les fumeurs (249). Dans un autre essai, la prise de complément en vitamine E augmentait le risque de cancer de la prostate (250).

Bien que les DRO favorisent l'initiation et la progression du cancer, les cellules cancéreuses produisent un niveau élevé de protéines antioxydantes, ce qui laisse penser qu'un niveau optimal de DRO est requis pour maintenir le fonctionnement de la cellule cancéreuse, et qu'une concentration trop importante de DRO pourrait aussi être délétère pour les cellules cancéreuses (251). Une étude sur des souris a rapporté que la supplémentation en vitamine E ou en N-acétylcystéine (un acide aminé antioxydant) chez des souris avait entraîné la prolifération et la croissance de cellules tumorales du poumon issues d'une lignée humaine (252). La supplémentation en vitamine E ou en N-acétylcystéine avait entraîné une diminution de la production de DRO et des mutations de l'ADN des cellules cancéreuses, suggérant que les cellules cancéreuses avaient potentiellement bénéficié des propriétés antioxydantes de la vitamine E. L'expression du gène p53 (activé par les mutations de l'ADN et ayant une action anti-tumorale) avait également diminué. Dans une autre étude sur l'effet d'une supplémentation en N-acétylcystéine sur la progression du mélanome malin induit chez des souris, la supplémentation avait peu d'impact sur la croissance d'une tumeur primitive mais augmentait le nombre de métastases (253).

Aucune étude expérimentale n'a actuellement mis en évidence que la vitamine C pourrait favoriser la prolifération et la croissance de tumeurs préexistantes. En revanche, plusieurs études ont suggéré que la vitamine C pouvait entraîner des lésions de l'ADN pouvant potentiellement initier une tumeur, comme rapporté ci-dessous.

*Le potentiel effet pro-oxydant de la vitamine C en présence d'ions métalliques*

Plusieurs études in vitro ont suggéré que la vitamine C pourrait être pro-oxydante en présence de certains métaux, comme le fer ou le cuivre (219). En effet, certains ions métalliques sont réduits par l'ascorbate (forme réduite de la vitamine C), et peuvent ensuite réagir avec le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) pour former des radicaux hydroxyles très réactifs et potentiellement mutagènes (235). Cependant, cette hypothèse pourrait ne pas être valable in vivo étant donné que les métaux sont la plupart du temps liés à des protéines et non à l'état d'ions libres dans l'organisme (235). Dans une étude in vitro, l'ajout de vitamine C à du plasma sanguin humain dans lequel il avait été ajouté du fer, du cuivre et de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> n'a pas augmenté l'oxydation des lipides et des protéines (254).

*Potentiel effet mutagène de la vitamine C lié à la dégradation d'hydroperoxydes lipidiques*

Une étude in vitro a rapporté que la vitamine C entraînait la dégradation d'hydroperoxydes lipidiques issus de la peroxydation lipidique pour former des composés qui auraient un fort pouvoir mutagène (255). La réaction était indépendante de la présence d'ions métalliques. La dégradation des hydroperoxydes augmentait avec les concentrations de vitamine C utilisées et cette augmentation était visible à des concentrations similaires aux concentrations plasmatiques qui pourraient être atteintes après un apport en vitamine C par voie orale chez l'homme (255). Deux autres études in vitro sur une lignée humaine de cellules capables de synthétiser des hydroperoxydes lipidiques ont observé que la vitamine C entraînait la dégradation des hydroperoxydes lipidiques, ce qui entraînait la formation de composés très mutagènes (256;257).

### 4.3 *Forces et limites de l'étude*

#### 4.3.1 Forces

Plusieurs forces de notre étude ont déjà été évoquées dans la Partie Vitamine D : le caractère prospectif, la validation des cas de cancer du sein et du questionnaire alimentaire, une puissance élevée, la prise en compte de nombreux facteurs de confusion potentiels, et des données répétées sur la prise de complément alimentaire.

Dans l'étude de validation du questionnaire alimentaire, les coefficients de corrélation pour la vitamine C étaient de 0,73 pour la reproductibilité et de 0,55 pour la validité (155). Bien que ces chiffres soient relativement bas, ils sont du même ordre de grandeur que ceux rapportés par d'autres études (258;259). Cela soulève aussi la question de savoir si, pour certains micronutriments dont les apports sont susceptibles de varier fortement selon les saisons, comme la vitamine C, un questionnaire de fréquence semi-quantitatif conçu pour estimer les apports usuels pourrait être plus pertinent que des rappels de 24h.

Par rapport aux études de cohorte précédentes sur la relation entre apports en vitamine C par complément alimentaire et risque de cancer du sein, les deux forces majeures de notre étude sont le fait d'avoir des données répétées sur la prise de complément alimentaire et le fait d'avoir considéré une interaction potentielle avec les apports alimentaires en vitamine C.

#### 4.3.2 Limites

##### *Absence d'information précise sur les doses de complément en vitamine C*

Nous avons considéré la prise de complément en vitamine C comme une variable qualitative dans nos analyses. Avant 2005, aucune information sur les doses et les durées d'utilisation des compléments n'a été recueillie. Cependant, avant le début des années 2000, les compléments disponibles sur le marché français contenaient généralement des doses de 500 ou de 1000 mg par jour de vitamine C. De plus, dans les questionnaires envoyés entre 1995 et 2002, la question posée était « prenez-vous actuellement au moins 3 fois par semaine une supplémentation en vitamine C », on peut donc supposer que les femmes prenant un complément multivitaminique, qui est susceptible de contenir des doses beaucoup plus faibles de vitamine C, n'aient pas coché cette case.

*Limites des données alimentaires*

Il n'existe pas de méthode consensuelle pour le recueil des consommations alimentaires, chaque méthode ayant ses limites. La plupart des études de cohorte disponibles ont opté pour un questionnaire alimentaire de fréquence semi-quantitatif similaire au nôtre. Ce type de questionnaire vise à estimer les consommations alimentaires usuelles des participantes. Les quantités estimées ne sont pas exactes, mais le fait de catégoriser les femmes en quartiles permet de limiter les biais de classement.

La consommation de produits enrichis n'a pas été évaluée par le questionnaire alimentaire envoyé en 1993-1995. Les deux principaux aliments enrichis en vitamine C sont les céréales pour petit-déjeuner et les jus multivitaminés. Les céréales pour petit-déjeuner sont très peu consommées par les adultes (45) et les jus multivitaminés représentent un faible pourcentage des ventes de jus en France (260). L'impact de la non-prise en compte de la consommation de produits enrichis sur nos résultats est donc probablement très limité.

Certaines femmes ont pu avoir tendance à sous-déclarer ou sur-déclarer leurs consommations alimentaires. Le premier et le dernier percentile d'apports caloriques ont été exclus pour limiter les erreurs de classement liées à un biais de déclaration. Enfin, les consommations alimentaires ont été estimées à l'inclusion seulement, et ont pu varier au cours du suivi.

Ces sources d'erreurs ont pu entraîner un biais de classement non-différentiel, et donc une dilution des résultats.

*Erreurs de classement potentielles pour la prise de complément en vitamine C*

Par rapport aux autres études de cohorte disponibles, le fait d'avoir estimé la prise de complément en vitamine C à plusieurs reprises après l'inclusion a permis de diminuer les erreurs de classement en augmentant les chances de capter les utilisatrices.

Cependant, certaines femmes ont pu être considérées à tort comme non-utilisatrices si leur prise de complément en vitamine C a eu lieu à un autre moment qu'au remplissage d'un questionnaire. Ces erreurs de classement ont dû entraîner une sous-estimation de l'utilisation de complément en vitamine C, et donc un biais de classement non-différentiel et une dilution des résultats.

L'absence d'information précise sur les doses des compléments utilisés a très probablement entraîné des biais de classement non-différentiels, surtout pour la période 2002-2008, avec la mise sur le marché de produits contenant des doses de vitamine C beaucoup plus variables qu'auparavant. Avant 2005, la variable d'exposition reflète majoritairement la prise de complément contenant uniquement de la vitamine C à des doses généralement de 500 mg par jour. Entre 2005 et 2008, l'exposition reflète à la fois la prise de complément en vitamine C vendus sous forme de médicament (contenant généralement des doses de 500 mg ou 1000 mg par jour), la prise de complément en vitamine C vendus sous forme de complément alimentaire contenant des doses plus faibles suite au changement de réglementation, et la prise de « multivitamines » contenant des doses faibles de vitamine C. Un potentiel biais de classement non-différentiel dû à la prise de complément faiblement dosés en vitamine C a pu entraîner une dilution des résultats mais a été probablement limité à la période 2005-2008, c'est-à-dire à la fin de notre période d'étude.

Contrairement à la vitamine D, il est probable que les compléments en vitamine C aient été davantage pris sous forme de cures de courtes durées mais répétées (par exemple pendant les périodes hivernales). Nous avons donc considéré que les femmes ayant été utilisatrices à un moment donné ont probablement été utilisatrices à d'autres reprises, c'est pourquoi nous avons préféré considérer la prise de complément en vitamine C en variable de type jamais/au moins une fois au cours du suivi plutôt que oui/non entre deux questionnaires. La modélisation prise actuelle, prise passée, et non-prise était moins appropriée que pour la vitamine D pour cette raison, et parce que nous avons aucune donnée sur la prise de complément en vitamine C en 1993 et en 1997.

#### *Prise de complément en vitamine C et prise d'autres compléments*

La quasi-totalité des femmes ayant déclaré prendre de la vitamine C ont aussi déclaré prendre d'autres micronutriments sous forme de complément au même moment ou à un autre moment du suivi. Il est donc difficile d'être complètement certain que ce que l'on observe soit lié à l'effet propre de la vitamine C.

#### *Les limites d'une étude observationnelle*

L'utilisation de données auto-déclarées a probablement entraîné des biais de classement non-différentiels, et donc une dilution des résultats. Un effet de confusion majeur est peu probable car nous avons pris en compte de nombreux facteurs de confusion potentiels, et chaque

facteur avait une influence limitée sur l'estimation du risque associé à la prise de complément en vitamine C. La comparaison des caractéristiques individuelles des utilisatrices et des non-utilisatrices de complément en vitamine C selon le niveau d'apports en vitamine C n'a pas permis d'identifier un effet de confusion pouvant potentiellement expliquer nos résultats (Annexe 5).

Cependant, comme toute étude observationnelle, nous ne pouvons pas exclure la possibilité d'un biais de confusion résiduel ou que nos résultats soient dus au hasard.

#### *Validité externe*

Les femmes de l'étude ne sont pas représentatives de l'ensemble des femmes françaises. Il s'agit de femmes ménopausées, ayant un niveau d'études relativement élevé et plus soucieuses de leur santé que la moyenne de la population générale. Il semblerait qu'elles soient plus fréquemment utilisatrices de compléments alimentaires et qu'elles aient des apports alimentaires en vitamine C plus élevés que la moyenne de la population générale française adulte (45). Cela n'invalide pas nos données, car il n'y a pas de raison de penser que la physiologie de ces femmes soit différentes des autres femmes ménopausées de la population française. En revanche, cela ne permet pas d'étudier certaines populations, en particulier des femmes avec des niveaux d'apport alimentaire en vitamine C extrêmement bas, et donc d'écarter un bénéfice éventuel de la prise de complément dans certaines populations.

## 5. CONCLUSION

Nous avons observé une interaction entre la prise de complément en vitamine C et les apports alimentaires en vitamine C sur le risque de cancer du sein après la ménopause. La prise de complément en vitamine C était associée à une augmentation de risque chez les femmes ayant déjà des apports alimentaires en vitamine C élevés. Des apports alimentaires en vitamine C élevés étaient associés à une diminution de risque par rapport à des apports bas, mais uniquement chez les femmes ne prenant pas de complément en vitamine C.

Nos résultats soulèvent une question méthodologique pour les études s'intéressant aux relations entre apports nutritionnels et risque de cancer. Dans notre étude, la prise de complément en vitamine C modifiait la relation entre apports alimentaires en vitamine C et risque de cancer du sein après la ménopause. Cela suggère que pour étudier les relations entre l'alimentation et le risque de cancer, les preneuses de compléments alimentaires devraient être exclues des analyses.

La prise de vitamine C sous forme de complément est courante et souvent considérée comme sans danger. Deux autres études ont suggéré une augmentation de risque de cancer du sein associée à la prise de complément en vitamine C. Une potentielle relation en U ou en J entre les apports totaux en vitamine C et le risque de cancer du sein devra être étudiée par d'autres études épidémiologiques ayant des données plus précises sur les doses de complément en vitamine C. Les mécanismes biologiques sous-jacents à un effet protecteur ou délétère de la vitamine C vis-à-vis du risque de cancer du sein sont encore mal connus et doivent être clarifiés et confirmés chez l'humain.

# **DISCUSSION GENERALE**

---

## 1. PRINCIPAUX RESULTATS

### 1.1 Prise de complément en vitamine D et risque de cancer du sein

La prise actuelle de complément en vitamine D, principalement sous forme de doses quotidiennes d'au moins 400 UI combinées à du calcium, était associée à une diminution de risque de cancer du sein après la ménopause chez les utilisatrices actuelles ou passées de THM, exposées à un risque plus élevé de cancer du sein à court terme. En revanche, la prise actuelle ou passée de complément en vitamine D était associée à une augmentation de risque de cancer du sein après la ménopause chez les femmes qui n'étaient pas en surpoids et qui n'avaient jamais utilisé de THM, caractérisées par une exposition aux hormones particulièrement basse, et donc moins exposées au risque de cancer du sein.

### 1.2 Prise de complément en vitamine C et risque de cancer du sein

Nous avons observé une interaction entre la prise de complément en vitamine C et les apports alimentaires en vitamine C sur le risque de cancer du sein après la ménopause. La prise de complément en vitamine C était associée à une augmentation de risque chez les femmes ayant les apports alimentaires en vitamine C les plus élevés. Des apports alimentaires en vitamine C élevés étaient associés à une diminution de risque de cancer du sein après la ménopause chez les non-utilisatrices de complément en vitamine C, mais pas chez les utilisatrices de complément en vitamine C.

## 2. PERSPECTIVES DE RECHERCHE

### 2.1 Confirmer et clarifier nos résultats

L'interaction que nous avons observée entre prise de complément en vitamine D, prise de THM, et IMC suggère une potentielle interaction entre la prise de complément en vitamine D et le niveau d'exposition global aux hormones exogènes ou endogènes vis-à-vis du risque de cancer du sein. Plusieurs mécanismes biologiques étayent l'hypothèse d'un potentiel effet protecteur de la prise de vitamine D chez les femmes ayant un niveau d'exposition aux hormones élevé, en revanche aucun mécanisme ne permet à ce jour d'expliquer un potentiel effet délétère chez les femmes ayant un niveau d'exposition aux hormones bas. Nos résultats suggérant un potentiel bénéfice de la prise de complément vitamine D chez les utilisatrices de THM ont un potentiel impact en santé publique mais doivent être confirmés et précisés en fonction du type de THM et du caractère plus ou moins récent de la prise de THM. Il serait également important de répliquer cette étude chez des femmes pré-ménopausées, ce que nos données ne permettaient pas de faire en raison du nombre insuffisant de cas survenus en pré-ménopause. En effet, l'exposition hormonale est maximale en pré-ménopause et si nos hypothèses se confirment, le bénéfice de la prise de complément en vitamine D vis-à-vis du risque de cancer du sein devrait être maximal dans cette population.

Nos résultats suggérant un potentiel effet délétère de la prise de complément en vitamine C sur le risque de cancer du sein vont dans le même sens que ceux émanant de deux autres études prospectives précédemment publiées. Les mécanismes biologiques sous-jacents doivent être clarifiés et confirmés in vivo. Etant donné que nous ne disposions pas de données quantitatives sur la prise de complément en vitamine C, nous n'avons pas pu tester l'hypothèse selon laquelle des petites doses de complément en vitamine C, similaires au niveau d'apports alimentaires associé à une diminution de risque de cancer du sein, pourrait être aussi associée à une diminution de risque chez les femmes ayant les apports alimentaires en vitamine C les plus faibles. Ainsi, compléter des apports insuffisants en vitamine C par de petites doses de compléments alimentaires pourrait être bénéfique, mais les doses très élevées fournies par la majorité des compléments contenant uniquement de la vitamine C, soit 500 à 1000 mg, sont très au-dessus des doses nutritionnelles. Cet aspect n'a pas pu être étudié dans notre étude. Les relations entre apports en vitamine C par aliment ou par complément et risque de cancer du sein devront donc être précisées dans des études disposant de données

quantitatives sur la prise de complément en vitamine C. Si ces données étaient confirmées, elles feraient perdre à la vitamine C son statut de produit considéré comme sans danger et nécessiteraient une information claire à la population.

## 2.2 Reconsidérer les hypothèses traditionnellement testées en épidémiologie nutritionnelle

Les résultats de cette thèse suggèrent également que les hypothèses testées pour l'étude des relations entre alimentation et risque de cancer (notamment les hypothèses d'effets à long terme et de linéarité et d'une alimentation relativement stable dans le temps) ne sont pas forcément appropriées pour l'étude des compléments alimentaires. Nos résultats suggèrent en effet que certains compléments pourraient jouer à court terme sur le risque de certains cancers ou que les apports totaux en micronutriment pourraient ne pas être associés au risque de cancer de façon linéaire. En outre, l'utilisation de compléments alimentaires est plus susceptible de varier au cours du temps que les apports alimentaires, et disposer d'une seule mesure à l'inclusion sur la prise de complément alimentaire pourrait entraîner un manque de puissance pour l'étude des relations avec le risque de maladie.

Nos résultats suggèrent également d'exclure les utilisateurs de compléments en vitamine C lors de l'étude des relations entre apports alimentaires en vitamine C et risque de cancer. On peut également imaginer que la prise de complément alimentaire puisse influencer de manière plus large, les résultats liés entre l'alimentation, et notamment les fruits et légumes, et le risque de cancer.

## 2.3 Défis à relever pour les études épidémiologiques sur les compléments alimentaires

### **2.3.1 Nécessité de recueillir des données à plusieurs reprises au cours du suivi**

Le risque de biais de classement de la prise de complément alimentaire dans les études ayant une estimation de la prise de complément alimentaire à l'inclusion seulement est grand. En effet, la prise de complément alimentaire a beaucoup augmenté depuis le début des années 1990, certains utilisateurs de compléments alimentaires risquent donc d'être classés à tort

comme non utilisateurs. De plus, les utilisateurs de compléments alimentaires sont susceptibles d'avoir modifié leur utilisation pour se tourner vers d'autres types de compléments au cours du temps. En outre, comme la prise de complément alimentaire se fait généralement de façon périodique en France, recueillir des informations de manière répétée permettra d'augmenter les chances de capter les utilisateurs de complément alimentaire.

Enfin, un des grands avantages de disposer de données répétées, est de pouvoir détecter un potentiel effet à court terme de la prise de complément.

### **2.3.2 Difficulté de recueillir des informations de qualité sur la prise de complément alimentaire dans les études de cohorte**

La notion de complément alimentaire peut être difficile à définir auprès des participants, du fait de la grande diversité de produits présents sur le marché (les compléments peuvent être par exemple vendus en grande surface ou sous forme de médicaments), et de l'existence de produits qui peuvent être facilement confondus avec les compléments alimentaires (par exemple : produits enrichis, substituts de repas, aliments naturellement riches en nutriment...) (cf. Partie 2.1.2). Il est nécessaire de recueillir les doses consommées, notamment en raison de l'existence depuis le début des années 2000 de produits pouvant contenir des doses de micronutriments très différentes. Pour cela, l'approche souvent utilisée est de demander aux participants de déclarer les noms des produits consommés pour ensuite rechercher la composition des produits. La recherche systématique de la composition des noms de compléments déclarés se heurte à plusieurs difficultés : évolution des compositions du même produit au cours du temps, composition pas ou plus disponible sur internet, noms déclarés incomplets, produits de la même gamme et avec le même nom mais composition différente, et fautes d'orthographe et produits parfois peu évocateurs (par exemple : elevit vitamine b9 contient de la vitamine C) qui rendent difficiles l'automatisation de cette étape. Dans certaines études, il a été demandé aux participants de cocher eux-mêmes les constituants ou les doses des compléments consommés, mais là aussi des erreurs sont possibles.

### **2.3.3 Evolution de la consommation de compléments alimentaires**

L'évolution de la consommation de complément peut compliquer le traitement des déclarations des noms de complément (voir ci-dessus). D'autre part, l'évolution de la consommation de compléments alimentaires doit être prise en compte dans le recueil d'informations et l'interprétation des études. Par exemple, la vitamine D est maintenant très

prise sous forme d'ampoules à haute dose, ce qui n'était pas le cas au moment de notre étude. Il est donc important de préciser que nos résultats sont liés à la prise de complément en vitamine D majoritairement sous forme de doses quotidiennes supérieures ou égales à 400 UI combinées à du calcium.

Depuis le début des années 2000, la consommation de compléments contenant plusieurs micronutriments ou substances et l'utilisation multiple de compléments alimentaires se sont multipliées. Cela peut limiter l'interprétation des études sur la prise d'un micronutriment sous forme de complément en particulier et le risque de cancer.

### **3. IMPACT EN TERMES DE SANTE PUBLIQUE**

Des interactions potentielles entre la prise de complément alimentaires et le risque de cancer ont été peu étudiées. Nos résultats suggèrent que les compléments pourraient être bénéfiques vis-à-vis du risque de cancer dans certaines populations et délétères dans d'autres, et d'autre part que certains compléments pourraient jouer à court terme sur le risque de cancer.

Bien que la prise de THM ait été reconnue comme un facteur de risque important de risque de cancer du sein, la HAS considère qu'il y a toujours un bénéfice potentiel des THM chez certaines femmes ayant des troubles climactériques sévères et que la balance bénéfice/risque doit donc être évaluée au niveau individuel : elle recommande en outre que les THM soient pris sur de courtes périodes, avec réévaluation régulière de leur intérêt, et sous des formes faiblement dosées. Nos résultats suggèrent que la vitamine D pourrait réduire une partie de l'excès de risque de cancer du sein chez les femmes prenant un THM, avec cependant un risque absolu de cancer du sein associé à la prise de THM et de complément en vitamine D plus élevé que celui associé à l'absence d'utilisation de THM et de complément en vitamine D. L'interprétation de nos résultats pourrait donc être que l'évaluation bénéfice/risque de l'utilisation d'un THM doit rester inchangée, mais que dans le cas où un THM est jugé utile, la prise d'un complément en vitamine D pourrait avoir un bénéfice potentiel. Nos résultats doivent cependant être confirmés.

Le potentiel effet délétère associé à la prise de complément en vitamine D chez les non-utilisatrices de THM qui ne sont pas en surpoids incite à la prudence vis-à-vis d'une prise de complément en vitamine D chez ces femmes. D'autres données devront confirmer ces résultats qui ont potentiel impact de santé publique en raison de la forte augmentation de la prise de complément en vitamine D et de la forte diminution de l'utilisation de THM ces dernières années, et d'investiguer cette relation avec la prise de complément en vitamine D sous forme de doses de charge.

De même, nos résultats sur un potentiel effet délétère de la prise de complément en vitamine C sur le risque de cancer du sein chez les femmes ayant déjà des apports alimentaires élevés, ont, sous réserve d'être confirmés, un potentiel impact en santé publique puisqu'il s'agit de l'un des compléments les plus couramment prescrits et consommés en France et dans d'autres pays, et qu'ils ont généralement considérées comme sans danger même à haute dose.

Nos résultats suggèrent donc de conserver une position prudente vis-à-vis de la prise de complément alimentaire. De potentiels bénéfices dans des sous-groupes spécifiques sont possibles mais doivent être confirmés et la balance bénéfice risque globale doit être considéré avant d'envisager d'éventuelles recommandations de santé publiques concernant ces bénéfices potentiels. De potentiels effets délétères doivent être précisés avant d'informer les consommateurs, mais aussi les professionnels de la santé, qui prescrivent et restent les premières personnes vers lesquelles les consommateurs se tournent en France pour trouver un conseil concernant la prise de complément alimentaire.

# **CONCLUSION GENERALE**

---

## CONCLUSION GENERALE

---

Les compléments alimentaires sont de plus en plus consommés en France depuis le début des années 2000. En Amérique du Nord et dans certains pays européens, les compléments alimentaires sont pris par plus de la moitié de la population adulte. Cependant, l'effet de la prise de complément alimentaire sur la santé n'est pas clairement établi. L'Anses estime actuellement qu'il n'existe pas de bénéfice démontré de la prise de complément dans la population générale et que les études disponibles ne permettent pas d'écarter un potentiel risque à long terme de prises prolongées ou multiples de compléments alimentaires.

Les résultats de plusieurs études épidémiologiques suggèrent que la prise de certains compléments alimentaires pourrait influencer le risque de cancer. Cependant, pour un grand nombre de compléments alimentaires, les études épidémiologiques ne permettent pas de conclure quant à leur relation avec le risque de cancer. L'interprétation de ces études est souvent limitée par plusieurs aspects méthodologiques, et notamment, dans les études de cohorte, par le fait que la prise de complément alimentaire ait généralement été estimée à l'inclusion seulement. En outre, de potentielles interactions entre la prise de complément alimentaire et d'autres facteurs de risque de cancer pourraient être à l'origine de résultats nuls ou discordants. Plusieurs organismes de santé publique ont souligné le manque d'études ayant étudié de potentielles interactions avec d'autres facteurs liés au mode de vie.

Concernant la prise de complément en vitamine C ou en vitamine D, plusieurs études expérimentales suggèrent un potentiel effet sur le risque de cancer, mais les études épidémiologiques ne permettent pas de conclure sur cette relation. Nos résultats suggèrent que la prise de complément en vitamine D, principalement sous forme de doses quotidiennes supérieures ou égales à 400 UI combinées à du calcium, pourrait réduire à court terme l'excès de risque de cancer du sein associé à l'utilisation de THM. En revanche, la prise de complément en vitamine D pourrait être associée à une augmentation de risque de cancer du sein après la ménopause chez les femmes n'ayant jamais utilisé de THM et n'étant pas en surpoids. Ces résultats suggèrent une interaction plus globale entre le niveau d'exposition aux hormones exogènes et endogènes et la prise de complément en vitamine D vis-à-vis du risque de cancer du sein. Plusieurs mécanismes biologiques étayent l'hypothèse d'un effet protecteur de la prise de complément en vitamine D chez les femmes ayant un niveau d'exposition élevé aux œstrogènes. A l'inverse, une augmentation de risque associée à des concentrations de

vitamine D élevées chez des femmes préménopausées en surpoids, des femmes caractérisées par un niveau d'exposition aux œstrogènes endogènes bas, a été observée dans plusieurs études. Cependant, on ne connaît pour le moment aucun mécanisme pouvant expliquer un potentiel effet délétère de la prise de complément en vitamine D sur le risque de cancer du sein.

Nous résultats suggèrent également une interaction entre la prise de complément en vitamine C et les apports alimentaires en vitamine C. Des apports alimentaires élevés en vitamine C étaient associés à une diminution de risque de cancer du sein après la ménopause chez les non-utilisatrices de complément en vitamine C. En revanche, la prise de complément en vitamine C, principalement sous forme de complément contenant uniquement de la vitamine C à des doses supérieures ou égales à 500 mg par jour, était associée à une augmentation de risque chez les femmes ayant déjà des apports alimentaires en vitamine C élevés. Les mécanismes biologiques sous-jacents doivent être clarifiés *in vivo*.

Ces résultats ont un impact potentiellement important en termes de santé publiques, mais devront d'abord être confirmés et précisés, notamment en considérant les caractéristiques liées à la prise de vitamine D (doses, association avec du calcium ou non...) et à la prise de THM (ancienneté de la prise, type de THM...). En attendant des données suffisantes permettant l'établissement de recommandations de santé publique, il semble prudent de continuer à ne pas recommander à la population générale de prendre des compléments alimentaires sans avis médical et d'informer les professionnels de santé des risques potentiels pour la santé.

D'après nos résultats, il semble intéressant de considérer de potentielles interactions entre la prise de complément alimentaire et d'autres facteurs de risque de cancer en se basant sur des hypothèses physiopathologiques, et de considérer un potentiel effet à court terme de la prise de complément alimentaire sur le risque de cancer. Les pistes de recherche sur l'effet de la prise de complément alimentaire sur la santé, et en particulier sur le risque de cancer et la survie après cancer, sont extrêmement nombreuses mais se heurtent à des difficultés méthodologiques liées à une exposition qui peut sembler assez difficile à évaluer et à étudier dans les études de cohorte. Cependant, le recueil d'information sur la prise de complément alimentaire pourrait être facilité avec le développement des questionnaires sur internet. A l'inverse, les essais randomisés, généralement considérés comme la preuve parfaite de l'effet ou non de compléments alimentaires spécifiques, n'ont pas toujours la taille suffisante pour

étudier de potentielles interactions avec d'autres facteurs de risque et ont une durée souvent limitée. De plus, elles ne permettent pas d'étudier l'effet de la prise de complément alimentaire telle qu'elle est vraiment consommée dans la population et l'influence des caractéristiques d'utilisation des compléments. Enfin, ces études tiennent rarement compte des apports personnels des participants pour le micronutriment considéré.

En conclusion, les études de cohorte sont à développer pour apporter des éléments de réponse sur l'effet de la prise de complément alimentaire sur la santé en conditions réelles, alors que la prise de ces produits est croissante et que l'on connaît mal leurs effets à long terme.

## BIBLIOGRAPHIE

---

1. Institut National du Cancer. <http://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-sein/Les-maladies-du-sein/Cancers-du-sein> . 2016.
2. Organisation Mondiale de la santé (OMS). CIM-10 Version: 2008. <http://apps.who.int/classifications/icd10/browse/2008/fr#/F53> . 2016.
3. Organisation Mondiale de la santé (OMS). Classification Internationale des Maladies pour l'Oncologie. Troisième édition. 2008.
4. Union for International Cancer Control (UICC). The TNM classification of malignant tumours 7th edition. 2009.
5. Feeley, L. P., Mulligan, A. M., Pinnaduwage, D., Bull, S. B., and Andrulis, I. L. Distinguishing luminal breast cancer subtypes by Ki67, progesterone receptor or TP53 status provides prognostic information. *Mod. Pathol.*, 2014, 27: 554-561.
6. International Agency for Research on Cancer. GLOBOCAN 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012. [http://globocan.iarc.fr/Pages/fact\\_sheets\\_cancer.asp](http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.asp) . 2016.
7. Myers, E. R., Moorman, P., Gierisch, J. M. *et al.* Benefits and Harms of Breast Cancer Screening: A Systematic Review. *JAMA*, 2015, 314: 1615-1634.
8. Shulman, L. N., Willett, W., Sievers, A., and Knaul, F. M. Breast cancer in developing countries: opportunities for improved survival. *J Oncol.*, 2010, 2010: 595167.
9. Ferlay, J., Steliarova-Foucher, E., Lortet-Tieulent, J. *et al.* Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *Eur. J Cancer*, 2013, 49: 1374-1403.
10. Institut de veille sanitaire, Binder-Foucard F, Belot A *et al.* Estimation nationale de l'incidence et de la mortalité par cancer en France entre 1980 et 2012. Etude à partir du réseau Francim - Partie 1: tumeurs solides. 2013.
11. Key, T., Appleby, P., Barnes, I., and Reeves, G. Endogenous sex hormones and breast cancer in postmenopausal women: reanalysis of nine prospective studies. *J. Natl. Cancer Inst.*, 2002, 94: 606-616.
12. Keen, J. C. and Davidson, N. E. The biology of breast carcinoma. *Cancer*, 2003, 97: 825-833.
13. Ripperger, T., Gadzicki, D., Meindl, A., and Schlegelberger, B. Breast cancer susceptibility: current knowledge and implications for genetic counselling. *Eur. J Hum Genet.*, 2009, 17: 722-731.
14. Thompson, D. and Easton, D. The genetic epidemiology of breast cancer genes. *J Mammary. Gland. Biol. Neoplasia.*, 2004, 9: 221-236.

15. Marchina, E., Fontana, M. G., Speziani, M. *et al.* BRCA1 and BRCA2 genetic test in high risk patients and families: counselling and management. *Oncol. Rep.*, 2010, 24: 1661-1667.
16. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Familial breast cancer: collaborative reanalysis of individual data from 52 epidemiological studies including 58,209 women with breast cancer and 101,986 women without the disease. *Lancet*, 2001, 358: 1389-1399.
17. Hartmann, L. C., Sellers, T. A., Frost, M. H. *et al.* Benign breast disease and the risk of breast cancer. *N. Engl. J Med.*, 2005, 353: 229-237.
18. Tardivon, A. [Screening ultrasound of breast cancer in a high-risk population]. *J Radiol.*, 2008, 89: 748.
19. Lumachi, F., Santeufemia, D. A., and Basso, S. M. Current medical treatment of estrogen receptor-positive breast cancer. *World J Biol. Chem.*, 2015, 6: 231-239.
20. Pequeux, C., Raymond-Letron, I., Blacher, S. *et al.* Stromal estrogen receptor-alpha promotes tumor growth by normalizing an increased angiogenesis. *Cancer Res.*, 2012, 72: 3010-3019.
21. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Menarche, menopause, and breast cancer risk: individual participant meta-analysis, including 118 964 women with breast cancer from 117 epidemiological studies. *Lancet Oncol.*, 2012, 13: 1141-1151.
22. Chie, W. C., Hsieh, C., Newcomb, P. A. *et al.* Age at any full-term pregnancy and breast cancer risk. *Am. J Epidemiol.*, 2000, 151: 715-722.
23. Clavel-Chapelon, F. Differential effects of reproductive factors on the risk of pre- and postmenopausal breast cancer. Results from a large cohort of French women. *Br. J Cancer*, 2002, 86: 723-727.
24. Kelsey, J. L., Gammon, M. D., and John, E. M. Reproductive factors and breast cancer. *Epidemiol. Rev.*, 1993, 15: 36-47.
25. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast cancer and breastfeeding: collaborative reanalysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries, including 50302 women with breast cancer and 96973 women without the disease. *Lancet*, 2002, 360: 187-195.
26. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data on 53 297 women with breast cancer and 100 239 women without breast cancer from 54 epidemiological studies. *Lancet*, 1996, 347: 1713-1727.
27. Ziel, H. K. and Finkle, W. D. Increased risk of endometrial carcinoma among users of conjugated estrogens. *N. Engl. J Med.*, 1975, 293: 1167-1170.

28. Smith, D. C., Prentice, R., Thompson, D. J., and Herrmann, W. L. Association of exogenous estrogen and endometrial carcinoma. *N. Engl. J Med.*, 1975, 293: 1164-1167.
29. Beresford, S. A., Weiss, N. S., Voigt, L. F., and McKnight, B. Risk of endometrial cancer in relation to use of oestrogen combined with cyclic progestagen therapy in postmenopausal women. *Lancet*, 1997, 349: 458-461.
30. Beral, V. Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet*, 2003, 362: 419-427.
31. Rossouw, J. E., Anderson, G. L., Prentice, R. L. *et al.* Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA*, 2002, 288: 321-333.
32. Fournier, A., Mesrine, S., Dossus, L. *et al.* Risk of breast cancer after stopping menopausal hormone therapy in the E3N cohort. *Breast Cancer Res. Treat.*, 2014, 145: 535-543.
33. Fournier, A., Fabre, A., Mesrine, S. *et al.* Use of different postmenopausal hormone therapies and risk of histology- and hormone receptor-defined invasive breast cancer. *J. Clin. Oncol.*, 2008, 26: 1260-1268.
34. Fournier, A., Berrino, F., Riboli, E., Avenel, V., and Clavel-Chapelon, F. Breast cancer risk in relation to different types of hormone replacement therapy in the E3N-EPIC cohort. *Int. J Cancer*, 2005, 114: 448-454.
35. Haute Autorité de Santé (HAS). Les traitements hormonaux substitutifs (THS) de la ménopause. Rapport d'orientation. 2004.
36. WCRF/AICR. Continuous Update Project. Breast Cancer 2010 Report. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Breast Cancer. 2010.
37. Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail Anses. Actualisation des repères du PNNS - Révision des repères relatifs à l'activité physique et à la sédentarité. 2016.
38. Tokunaga, M., Land, C. E., Tokuoka, S. *et al.* Incidence of female breast cancer among atomic bomb survivors, 1950-1985. *Radiat. Res.*, 1994, 138: 209-223.
39. Ronckers, C. M., Erdmann, C. A., and Land, C. E. Radiation and breast cancer: a review of current evidence. *Breast Cancer Res.*, 2005, 7: 21-32.
40. Afsset. Cancers et environnement. 2009.
41. Gaudet, M. M., Gapstur, S. M., Sun, J. *et al.* Active smoking and breast cancer risk: original cohort data and meta-analysis. *J Natl. Cancer Inst.*, 2013, 105: 515-525.
42. Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. Evaluation des risques sanitaires liés au travail de nuit. 2016.

43. Centre de Recherche pour l'Etude et l'Observation des Conditions de vie (CREDOC). Consommation de compléments alimentaires en France. Exploitation de l'enquête INCA2 par le CREDOC. 2010.
44. Synadiet. Les compléments alimentaires. Les chiffres. <http://www.synadiet.org/les-complements-alimentaires/le-marche/les-chiffres-du-marche-en-2015> . 2016.
45. Anses. Etude Individuelle Nationale des Consommations Alimentaires 2 (INCA2) (2006-2007). 2009.
46. Centre de Recherche pour l'Etude et l'Observation des Conditions de vie (CREDOC), Gaignier C, and Hébel P. Qui sont les consommateurs de compléments alimentaires et les consommateurs d'aliments santé ? Paris, 2005.
47. Touvier, M., Kesse, E., Volatier, J. L., Clavel-Chapelon, F., and Boutron-Ruault, M. C. Dietary and cancer-related behaviors of vitamin/mineral dietary supplement users in a large cohort of French women. *Eur. J Nutr*, 2006, 45: 205-214.
48. Pouchieu, C., Andreeva, V. A., Peneau, S. *et al.* Sociodemographic, lifestyle and dietary correlates of dietary supplement use in a large sample of French adults: results from the NutriNet-Sante cohort study. *Br. J Nutr*, 2013, 110: 1480-1491.
49. Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail Anses. Avis relatif à l'évaluation des apports en vitamines et minéraux issue de l'alimentation non enrichie, de l'alimentation enrichie et des compléments alimentaires dans la population française: estimation des apports usuels, des prévalences d'inadéquation et des risques de dépassement des limites de sécurité. 2015.
50. Flynn, A., Hirvonen, T., Mensink, G. B. *et al.* Intake of selected nutrients from foods, from fortification and from supplements in various European countries. *Food Nutr Res.*, 2009, 53.
51. Pietinen, P., Paturi, M., Reinivuo, H., Tapanainen, H., and Valsta, L. M. FINDIET 2007 Survey: energy and nutrient intakes. *Public Health Nutr*, 2010, 13: 920-924.
52. Willers, J., Heinemann, M., Bitterlich, N., and Hahn, A. Vitamin Intake from Food Supplements in a German Cohort - Is there a Risk of Excessive Intake? *Int. J Vitam. Nutr Res.*, 2014, 84: 152-162.
53. Knudsen, V. K., Rasmussen, L. B., Haraldsdottir, J. *et al.* Use of dietary supplements in Denmark is associated with health and former smoking. *Public Health Nutr*, 2002, 5: 463-468.
54. Dickinson, A., Blatman, J., El-Dash, N., and Franco, J. C. Consumer usage and reasons for using dietary supplements: report of a series of surveys. *J Am. Coll. Nutr*, 2014, 33: 176-182.
55. Fulgoni, V. L., III, Keast, D. R., Bailey, R. L., and Dwyer, J. Foods, fortificants, and supplements: Where do Americans get their nutrients? *J Nutr*, 2011, 141: 1847-1854.

56. Radimer, K., Bindewald, B., Hughes, J. *et al.* Dietary supplement use by US adults: data from the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2000. *Am. J Epidemiol.*, 2004, 160: 339-349.
57. Bailey, R. L., Gahche, J. J., Lentino, C. V. *et al.* Dietary supplement use in the United States, 2003-2006. *J Nutr*, 2011, 141: 261-266.
58. Bailey, R. L., Gahche, J. J., Miller, P. E., Thomas, P. R., and Dwyer, J. T. Why US adults use dietary supplements. *JAMA Intern. Med.*, 2013, 173: 355-361.
59. Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail Anses. Que sont les compléments alimentaires ? <https://www.anses.fr/fr/content/que-sont-les-compl%C3%A9ments-alimentaires> . 2016.
60. WCRF/AICR. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective. 2007.
61. Huang, H. Y., Caballero, B., Chang, S. *et al.* Multivitamin/mineral supplements and prevention of chronic disease. *Evid. Rep. Technol. Assess. (Full. Rep. )*, 2006, 1-117.
62. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes: The Essential Guide to Nutrient Requirements. 2006.
63. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. Use of dietary supplements by military personnel. 2008.
64. WCRF/AICR. Continuous Update Project. Colorectal Cancer 2011 Report. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Colorectal Cancer. 2011.
65. Holick, M. F. Sunlight and vitamin D: both good for cardiovascular health. *J Gen. Intern. Med.*, 2002, 17: 733-735.
66. Anses. Composition nutritionnelle des aliments TABLE CIQUAL version 2013. <https://pro.anses.fr/TableCIQUAL/index.htm> . 2016.
67. Vieth, R. Vitamin D supplementation, 25-hydroxyvitamin D concentrations, and safety. *Am. J Clin. Nutr*, 1999, 69: 842-856.
68. Chen, T. C., Chimeh, F., Lu, Z. *et al.* Factors that influence the cutaneous synthesis and dietary sources of vitamin D. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2007, 460: 213-217.
69. Deeb, K. K., Trump, D. L., and Johnson, C. S. Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics. *Nat. Rev. Cancer*, 2007, 7: 684-700.
70. Kim, Y. and Je, Y. Vitamin D intake, blood 25(OH)D levels, and breast cancer risk or mortality: a meta-analysis. *Br. J. Cancer*, 2014, 110: 2772-2784.
71. Rosenstreich, S. J., Rich, C., and Volwiler, W. Deposition in and release of vitamin D<sub>3</sub> from body fat: evidence for a storage site in the rat. *J Clin. Invest*, 1971, 50: 679-687.

72. Mawer, E. B., Backhouse, J., Holman, C. A., Lumb, G. A., and Stanbury, S. W. The distribution and storage of vitamin D and its metabolites in human tissues. *Clin. Sci.*, 1972, 43: 413-431.
73. Cipriani, C., Pepe, J., Piemonte, S. *et al.* Vitamin d and its relationship with obesity and muscle. *Int. J Endocrinol.*, 2014, 2014: 841248.
74. Zittermann, A., Frisch, S., Berthold, H. K. *et al.* Vitamin D supplementation enhances the beneficial effects of weight loss on cardiovascular disease risk markers. *Am. J Clin. Nutr.*, 2009, 89: 1321-1327.
75. Tzotzas, T., Papadopoulou, F. G., Tziomalos, K. *et al.* Rising serum 25-hydroxy-vitamin D levels after weight loss in obese women correlate with improvement in insulin resistance. *J Clin. Endocrinol. Metab.*, 2010, 95: 4251-4257.
76. Riedt, C. S., Cifuentes, M., Stahl, T. *et al.* Overweight postmenopausal women lose bone with moderate weight reduction and 1 g/day calcium intake. *J Bone Miner. Res.*, 2005, 20: 455-463.
77. Blum, M., Dallal, G. E., and Dawson-Hughes, B. Body size and serum 25 hydroxy vitamin D response to oral supplements in healthy older adults. *J. Am. Coll. Nutr.*, 2008, 27: 274-279.
78. Ekwaru, J. P., Zwicker, J. D., Holick, M. F., Giovannucci, E., and Veugelers, P. J. The importance of body weight for the dose response relationship of oral vitamin D supplementation and serum 25-hydroxyvitamin D in healthy volunteers. *PLoS. One.*, 2014, 9: e111265.
79. Gallagher, J. C., Yalamanchili, V., and Smith, L. M. The effect of vitamin D supplementation on serum 25(OH)D in thin and obese women. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2013, 136: 195-200.
80. Wortsman, J., Matsuoka, L. Y., Chen, T. C., Lu, Z., and Holick, M. F. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2000, 72: 690-693.
81. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. 2010.
82. Holick, M. F. Vitamin D deficiency. *N. Engl. J Med.*, 2007, 357: 266-281.
83. Welsh, J. Vitamin D metabolism in mammary gland and breast cancer. *Mol. Cell Endocrinol.*, 2011, 347: 55-60.
84. Pasquali, M., Tartaglione, L., Rotondi, S. *et al.* Calcitriol/calcifediol ratio: An indicator of vitamin D hydroxylation efficiency? *BBA. Clin.*, 2015, 3: 251-256.
85. Wagner, D., Hanwell, H. E., Schnabl, K. *et al.* The ratio of serum 24,25-dihydroxyvitamin D(3) to 25-hydroxyvitamin D(3) is predictive of 25-hydroxyvitamin D(3) response to vitamin D(3) supplementation. *J Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2011, 126: 72-77.

86. St-Arnaud, R. and Naja, R. P. Vitamin D metabolism, cartilage and bone fracture repair. *Mol. Cell Endocrinol.*, 2011, 347: 48-54.
87. Bertone-Johnson, E. R. Vitamin D and breast cancer. *Ann. Epidemiol.*, 2009, 19: 462-467.
88. Holick, M. F. Environmental factors that influence the cutaneous production of vitamin D. *Am. J Clin. Nutr.*, 1995, 61: 638S-645S.
89. Holick, M. F. McCollum Award Lecture, 1994: vitamin D--new horizons for the 21st century. *Am. J Clin. Nutr.*, 1994, 60: 619-630.
90. MacLaughlin, J. and Holick, M. F. Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D3. *J Clin. Invest.*, 1985, 76: 1536-1538.
91. Holick, M. F. The cutaneous photosynthesis of previtamin D3: a unique photoendocrine system. *J Invest Dermatol.*, 1981, 77: 51-58.
92. Clemens, T. L., Adams, J. S., Henderson, S. L., and Holick, M. F. Increased skin pigment reduces the capacity of skin to synthesise vitamin D3. *Lancet*, 1982, 1: 74-76.
93. Webb, A. R., DeCosta, B. R., and Holick, M. F. Sunlight regulates the cutaneous production of vitamin D3 by causing its photodegradation. *J Clin. Endocrinol. Metab.*, 1989, 68: 882-887.
94. Cranney, A., Horsley, T., O'Donnell, S. *et al.* Effectiveness and safety of vitamin D in relation to bone health. *Evid. Rep. Technol. Assess. (Full. Rep. )*, 2007, 1-235.
95. Jetter, A., Egli, A., Dawson-Hughes, B. *et al.* Pharmacokinetics of oral vitamin D(3) and calcifediol. *Bone*, 2014, 59: 14-19.
96. Heaney, R. P. and Armas, L. A. Quantifying the vitamin D economy. *Nutr Rev.*, 2015, 73: 51-67.
97. Ilahi, M., Armas, L. A., and Heaney, R. P. Pharmacokinetics of a single, large dose of cholecalciferol. *Am. J Clin. Nutr.*, 2008, 87: 688-691.
98. Meekins, M. E., Oberhelman, S. S., Lee, B. R. *et al.* Pharmacokinetics of daily versus monthly vitamin D3 supplementation in non-lactating women. *Eur. J Clin. Nutr.*, 2014, 68: 632-634.
99. Zhao, L. J., Zhou, Y., Bu, F. *et al.* Factors predicting vitamin D response variation in non-Hispanic white postmenopausal women. *J Clin. Endocrinol. Metab.*, 2012, 97: 2699-2705.
100. Waterhouse, M., Tran, B., Armstrong, B. K. *et al.* Environmental, personal, and genetic determinants of response to vitamin D supplementation in older adults. *J Clin. Endocrinol. Metab.*, 2014, 99: E1332-E1340.
101. Talwar, S. A., Aloia, J. F., Pollack, S., and Yeh, J. K. Dose response to vitamin D supplementation among postmenopausal African American women. *Am. J Clin. Nutr.*, 2007, 86: 1657-1662.

102. Nelson, M. L., Blum, J. M., Hollis, B. W., Rosen, C., and Sullivan, S. S. Supplements of 20 microg/d cholecalciferol optimized serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in 80% of premenopausal women in winter. *J Nutr*, 2009, 139: 540-546.
103. Didriksen, A., Grimnes, G., Hutchinson, M. S. *et al.* The serum 25-hydroxyvitamin D response to vitamin D supplementation is related to genetic factors, BMI, and baseline levels. *Eur. J Endocrinol.*, 2013, 169: 559-567.
104. Gallagher, J. C., Sai, A., Templin, T., and Smith, L. Dose response to vitamin D supplementation in postmenopausal women: a randomized trial. *Ann. Intern. Med.*, 2012, 156: 425-437.
105. Giusti, A., Barone, A., Pioli, G. *et al.* Heterogeneity in serum 25-hydroxy-vitamin D response to cholecalciferol in elderly women with secondary hyperparathyroidism and vitamin D deficiency. *J Am. Geriatr. Soc.*, 2010, 58: 1489-1495.
106. Saliba, W., Barnett-Griness, O., and Rennert, G. The relationship between obesity and the increase in serum 25(OH)D levels in response to vitamin D supplementation. *Osteoporos. Int.*, 2013, 24: 1447-1454.
107. Zwart, S. R., Mehta, S. K., Ploutz-Snyder, R. *et al.* Response to vitamin D supplementation during Antarctic winter is related to BMI, and supplementation can mitigate Epstein-Barr Virus Reactivation. *J Nutr*, 2011, 141: 692-697.
108. Tripkovic, L., Lambert, H., Hart, K. *et al.* Comparison of vitamin D2 and vitamin D3 supplementation in raising serum 25-hydroxyvitamin D status: a systematic review and meta-analysis. *Am. J Clin. Nutr*, 2012, 95: 1357-1364.
109. Logan, V. F., Gray, A. R., Peddie, M. C., Harper, M. J., and Houghton, L. A. Long-term vitamin D3 supplementation is more effective than vitamin D2 in maintaining serum 25-hydroxyvitamin D status over the winter months. *Br. J Nutr*, 2013, 109: 1082-1088.
110. Wang, T. J., Zhang, F., Richards, J. B. *et al.* Common genetic determinants of vitamin D insufficiency: a genome-wide association study. *Lancet*, 2010, 376: 180-188.
111. Nimitphong, H., Saetung, S., Chanprasertyotin, S., Chailurkit, L. O., and Ongphiphadhanakul, B. Changes in circulating 25-hydroxyvitamin D according to vitamin D binding protein genotypes after vitamin D(3) or D(2) supplementation. *Nutr J*, 2013, 12: 39.
112. Fu, L., Yun, F., Oczak, M. *et al.* Common genetic variants of the vitamin D binding protein (DBP) predict differences in response of serum 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] to vitamin D supplementation. *Clin. Biochem.*, 2009, 42: 1174-1177.
113. Cheng, J. B., Levine, M. A., Bell, N. H., Mangelsdorf, D. J., and Russell, D. W. Genetic evidence that the human CYP2R1 enzyme is a key vitamin D 25-hydroxylase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A*, 2004, 101: 7711-7715.
114. Ahn, J., Yu, K., Stolzenberg-Solomon, R. *et al.* Genome-wide association study of circulating vitamin D levels. *Hum Mol. Genet.*, 2010, 19: 2739-2745.

115. Mazahery, H. and von Hurst, P. R. Factors Affecting 25-Hydroxyvitamin D Concentration in Response to Vitamin D Supplementation. *Nutrients.*, 2015, 7: 5111-5142.
116. Sowers, M. R., Wallace, R. B., Hollis, B. W., and Lemke, J. H. Parameters related to 25-OH-D levels in a population-based study of women. *Am. J Clin. Nutr*, 1986, 43: 621-628.
117. Nesby-O'Dell, S., Scanlon, K. S., Cogswell, M. E. *et al.* Hypovitaminosis D prevalence and determinants among African American and white women of reproductive age: third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Am. J Clin. Nutr*, 2002, 76: 187-192.
118. Harris, S. S. and Dawson-Hughes, B. The association of oral contraceptive use with plasma 25-hydroxyvitamin D levels. *J Am. Coll. Nutr*, 1998, 17: 282-284.
119. Gallagher, J. C., Peacock, M., Yalamanchili, V., and Smith, L. M. Effects of vitamin D supplementation in older African American women. *J Clin. Endocrinol. Metab*, 2013, 98: 1137-1146.
120. Thomas, S. D., Need, A. G., and Nordin, B. E. Suppression of C-terminal telopeptide in hypovitaminosis D requires calcium as well as vitamin D. *Calcif. Tissue Int.*, 2010, 86: 367-374.
121. Goussous, R., Song, L., Dallal, G. E., and Dawson-Hughes, B. Lack of effect of calcium intake on the 25-hydroxyvitamin d response to oral vitamin D3. *J Clin. Endocrinol. Metab*, 2005, 90: 707-711.
122. Tangpricha, V., Koutkia, P., Rieke, S. M. *et al.* Fortification of orange juice with vitamin D: a novel approach for enhancing vitamin D nutritional health. *Am. J Clin. Nutr*, 2003, 77: 1478-1483.
123. Niramitmahapanya, S., Harris, S. S., and Dawson-Hughes, B. Type of dietary fat is associated with the 25-hydroxyvitamin D3 increment in response to vitamin D supplementation. *J Clin. Endocrinol. Metab*, 2011, 96: 3170-3174.
124. Yang, L., Weaver, V., Smith, J. P. *et al.* Therapeutic effect of vitamin d supplementation in a pilot study of Crohn's patients. *Clin. Transl. Gastroenterol.*, 2013, 4: e33.
125. Robien, K., Oppeneer, S. J., Kelly, J. A., and Hamilton-Reeves, J. M. Drug-vitamin D interactions: a systematic review of the literature. *Nutr Clin. Pract.*, 2013, 28: 194-208.
126. AFSSA. Apports nutritionnels conseillés pour la population française. 2001.
127. Holick, M. F. Vitamin D requirements for humans of all ages: new increased requirements for women and men 50 years and older. *Osteoporos. Int.*, 1998, 8 Suppl 2: S24-S29.
128. Nordic Council of Ministers. Nordic Nutrition Recommendations. 2012.

129. German Nutrition Society (DGE). New reference values for vitamin D. *Ann. Nutr Metab*, 2012, 60: 241-246.
130. National Health and Medical Research Council. Nutrient Reference Values for Australia and New Zealand. 2005.
131. Buttriss, J. Nutrient requirements and optimisation of intakes. *Br. Med. Bull.*, 2000, 56: 18-33.
132. Académie nationale de médecine, Salle B, Duhamel JF, and Souberbielle JC. Statut vitaminique, rôle extra osseux et besoins quotidiens en vitamine D. Rapport, conclusions et recommandations. Paris, 2012.
133. Benhamou CL, Souberbielle JC, Cortet B *et al.* La vitamine D chez l'adulte : recommandations du GRIIO. *la Presse Médicale*, 2011, 40: 673-682.
134. Vernay M, Sponga M, Salavane B *et al.* Statut en vitamine D de la population adulte en France: l'Etude nationale nutrition sante (ENNS, 2006–2007). *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire*, 2012, 189-201.
135. Haute Autorité de Santé (HAS). Utilité clinique du dosage de la vitamine D. 2013.
136. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes: Guiding Principles for Nutrition Labelling and Fortification. 2003.
137. Holick, M. F. The vitamin D deficiency pandemic and consequences for nonskeletal health: mechanisms of action. *Mol. Aspects Med.*, 2008, 29: 361-368.
138. Calvo, M. S. and Whiting, S. J. Survey of current vitamin D food fortification practices in the United States and Canada. *J Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2013, 136: 211-213.
139. Ameri, P., Giusti, A., Boschetti, M. *et al.* Interactions between vitamin D and IGF-I: from physiology to clinical practice. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*, 2013, 79: 457-463.
140. Shao, T., Klein, P., and Grossbard, M. L. Vitamin D and breast cancer. *Oncologist.*, 2012, 17: 36-45.
141. Krishnan, A. V., Swami, S., and Feldman, D. Vitamin D and breast cancer: inhibition of estrogen synthesis and signaling. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2010, 121: 343-348.
142. Simboli-Campbell, M., Narvaez, C. J., van, W. K., Tenniswood, M., and Welsh, J. Comparative effects of 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> and EB1089 on cell cycle kinetics and apoptosis in MCF-7 breast cancer cells. *Breast Cancer Res. Treat.*, 1997, 42: 31-41.
143. Stoica, A., Saceda, M., Fakhro, A. *et al.* Regulation of estrogen receptor-alpha gene expression by 1, 25-dihydroxyvitamin D in MCF-7 cells. *J. Cell Biochem.*, 1999, 75: 640-651.

144. Grant, W. B. 25-hydroxyvitamin D and breast cancer, colorectal cancer, and colorectal adenomas: case-control versus nested case-control studies. *Anticancer Res.*, 2015, 35: 1153-1160.
145. Kim, Y., Franke, A. A., Shvetsov, Y. B. *et al.* Plasma 25-hydroxyvitamin D3 is associated with decreased risk of postmenopausal breast cancer in whites: a nested case-control study in the multiethnic cohort study. *BMC. Cancer*, 2014, 14: 29.
146. Scarmo, S., Afanasyeva, Y., Lenner, P. *et al.* Circulating levels of 25-hydroxyvitamin D and risk of breast cancer: a nested case-control study. *Breast Cancer Res.*, 2013, 15: R15.
147. Deschasaux, M., Souberbielle, J. C., Latino-Martel, P. *et al.* Weight Status and Alcohol Intake Modify the Association between Vitamin D and Breast Cancer Risk. *J Nutr*, 2016, 146: 576-585.
148. Eliassen, A. H., Spiegelman, D., Hollis, B. W. *et al.* Plasma 25-hydroxyvitamin D and risk of breast cancer in the Nurses' Health Study II. *Breast Cancer Res.*, 2011, 13: R50.
149. Chlebowski, R. T., Johnson, K. C., Kooperberg, C. *et al.* Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of breast cancer. *J. Natl. Cancer Inst.*, 2008, 100: 1581-1591.
150. Freedman, D. M., Chang, S. C., Falk, R. T. *et al.* Serum levels of vitamin D metabolites and breast cancer risk in the prostate, lung, colorectal, and ovarian cancer screening trial. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2008, 17: 889-894.
151. Kuhn, T., Kaaks, R., Becker, S. *et al.* Plasma 25-hydroxyvitamin D and the risk of breast cancer in the European prospective investigation into cancer and nutrition: a nested case-control study. *Int. J. Cancer*, 2013, 133: 1689-1700.
152. Neuhauser, M. L., Manson, J. E., Millen, A. *et al.* The influence of health and lifestyle characteristics on the relation of serum 25-hydroxyvitamin D with risk of colorectal and breast cancer in postmenopausal women. *Am. J. Epidemiol.*, 2012, 175: 673-684.
153. Engel, P., Fagherazzi, G., Boutten, A. *et al.* Serum 25(OH) vitamin D and risk of breast cancer: a nested case-control study from the French E3N cohort. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2010, 19: 2341-2350.
154. Engel, P., Fagherazzi, G., Mesrine, S., Boutron-Ruault, M. C., and Clavel-Chapelon, F. Joint effects of dietary vitamin D and sun exposure on breast cancer risk: results from the French E3N cohort. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2011, 20: 187-198.
155. van Liere, M. J., Lucas, F., Clavel, F., Slimani, N., and Villemainot, S. Relative validity and reproducibility of a French dietary history questionnaire. *Int. J. Epidemiol.*, 1997, 26 Suppl 1: S128-S136.
156. Husson, M. C. [Theriaque: independent-drug database for good use of drugs by health practitioners]. *Ann. Pharm. Fr.*, 2008, 66: 268-277.
157. Favier JC, Ireland-Ripert J, and Toque C, Feinberg M. Répertoire Général des Aliments. Table de composition (Composition tables). 1995.

158. Verdebout, J. A European satellite-derived UV climatology available for impact studies. *Radiat. Prot. Dosimetry.*, 2004, 111: 407-411.
159. Braaten, T., Weiderpass, E., Kumle, M., Adami, H. O., and Lund, E. Education and risk of breast cancer in the Norwegian-Swedish women's lifestyle and health cohort study. *Int J Cancer*, 2004, 110: 579-583.
160. Menvielle, G., Kunst, A. E., van Gils, C. H. *et al.* The contribution of risk factors to the higher incidence of invasive and in situ breast cancers in women with higher levels of education in the European prospective investigation into cancer and nutrition. *Am. J Epidemiol.*, 2011, 173: 26-37.
161. Garcia-Acosta, S. and Clavel-Chapelon, F. [Dealing with missing, abnormal and incoherent data in E3N cohort study]. *Rev. Epidemiol. Sante Publique*, 1999, 47: 515-523.
162. Cox D. Partial likelihood. *Biometrika*, 1975, 62: 269-276.
163. Korn, E. L., Graubard, B. I., and Midthune, D. Time-to-event analysis of longitudinal follow-up of a survey: choice of the time-scale. *Am. J Epidemiol.*, 1997, 145: 72-80.
164. Ross, A. C., Manson, J. E., Abrams, S. A. *et al.* The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *J Clin. Endocrinol. Metab*, 2011, 96: 53-58.
165. Caillet, P., Souberbielle, J. C., Jaglal, S. B. *et al.* Vitamin D supplementation in a healthy, middle-aged population: actual practices based on data from a French comprehensive regional health-care database. *Eur. J Clin. Nutr*, 2013, 67: 1133-1137.
166. Almquist, M., Bondeson, A. G., Bondeson, L., Malm, J., and Manjer, J. Serum levels of vitamin D, PTH and calcium and breast cancer risk-a prospective nested case-control study. *Int. J. Cancer*, 2010, 127: 2159-2168.
167. Amir, E., Cecchini, R. S., Ganz, P. A. *et al.* 25-Hydroxy vitamin-D, obesity, and associated variables as predictors of breast cancer risk and tamoxifen benefit in NSABP-P1. *Breast Cancer Res. Treat.*, 2012, 133: 1077-1088.
168. Bertone-Johnson, E. R., Chen, W. Y., Holick, M. F. *et al.* Plasma 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2005, 14: 1991-1997.
169. Kawase, T., Matsuo, K., Suzuki, T. *et al.* Association between vitamin D and calcium intake and breast cancer risk according to menopausal status and receptor status in Japan. *Cancer Sci.*, 2010, 101: 1234-1240.
170. McCullough, M. L., Stevens, V. L., Patel, R. *et al.* Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations and postmenopausal breast cancer risk: a nested case control study in the Cancer Prevention Study-II Nutrition Cohort. *Breast Cancer Res.*, 2009, 11: R64.
171. Abbas, S., Linseisen, J., Rohrmann, S. *et al.* Dietary intake of vitamin D and calcium and breast cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Nutr. Cancer*, 2013, 65: 178-187.

172. Edvardsen, K., Veierod, M. B., Brustad, M. *et al.* Vitamin D-effective solar UV radiation, dietary vitamin D and breast cancer risk. *Int. J. Cancer*, 2011, 128: 1425-1433.
173. Lin, J., Manson, J. E., Lee, I. M. *et al.* Intakes of calcium and vitamin D and breast cancer risk in women. *Arch. Intern. Med.*, 2007, 167: 1050-1059.
174. McCullough, M. L., Rodriguez, C., Diver, W. R. *et al.* Dairy, calcium, and vitamin D intake and postmenopausal breast cancer risk in the Cancer Prevention Study II Nutrition Cohort. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2005, 14: 2898-2904.
175. Robien, K., Cutler, G. J., and Lazovich, D. Vitamin D intake and breast cancer risk in postmenopausal women: the Iowa Women's Health Study. *Cancer Causes Control*, 2007, 18: 775-782.
176. Shin, M. H., Holmes, M. D., Hankinson, S. E. *et al.* Intake of dairy products, calcium, and vitamin d and risk of breast cancer. *J. Natl. Cancer Inst.*, 2002, 94: 1301-1311.
177. Anderson, L. N., Cotterchio, M., Vieth, R., and Knight, J. A. Vitamin D and calcium intakes and breast cancer risk in pre- and postmenopausal women. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2010, 91: 1699-1707.
178. Holick, M. F. Calcium plus vitamin D and the risk of colorectal cancer. *N. Engl. J. Med.*, 2006, 354: 2287-2288.
179. Wang, J., Eliassen, A. H., Spiegelman, D., Willett, W. C., and Hankinson, S. E. Plasma free 25-hydroxyvitamin D, vitamin D binding protein, and risk of breast cancer in the Nurses' Health Study II. *Cancer Causes Control*, 2014, 25: 819-827.
180. Krishnan, A. V., Swami, S., and Feldman, D. The potential therapeutic benefits of vitamin D in the treatment of estrogen receptor positive breast cancer. *Steroids*, 2012, 77: 1107-1112.
181. Bertone-Johnson, E. R., McTiernan, A., Thomson, C. A. *et al.* Vitamin D and calcium supplementation and one-year change in mammographic density in the women's health initiative calcium and vitamin D trial. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2012, 21: 462-473.
182. Rowling, M. J., Kemmis, C. M., Taffany, D. A., and Welsh, J. Megalin-mediated endocytosis of vitamin D binding protein correlates with 25-hydroxycholecalciferol actions in human mammary cells. *J. Nutr.*, 2006, 136: 2754-2759.
183. Cleary, M. P. and Grossmann, M. E. Minireview: Obesity and breast cancer: the estrogen connection. *Endocrinology*, 2009, 150: 2537-2542.
184. Green, L. E., Dinh, T. A., and Smith, R. A. An estrogen model: the relationship between body mass index, menopausal status, estrogen replacement therapy, and breast cancer risk. *Comput. Math. Methods Med.*, 2012, 2012: 792375.
185. Wamberg, L., Kampmann, U., Stodkilde-Jorgensen, H. *et al.* Effects of vitamin D supplementation on body fat accumulation, inflammation, and metabolic risk factors

- in obese adults with low vitamin D levels - results from a randomized trial. *Eur. J Intern. Med.*, 2013, 24: 644-649.
186. Toniolo, P. G. Endogenous estrogens and breast cancer risk: the case for prospective cohort studies. *Environ. Health Perspect.*, 1997, 105 Suppl 3: 587-592.
  187. Ding, E. L., Mehta, S., Fawzi, W. W., and Giovannucci, E. L. Interaction of estrogen therapy with calcium and vitamin D supplementation on colorectal cancer risk: reanalysis of Women's Health Initiative randomized trial. *Int. J Cancer*, 2008, 122: 1690-1694.
  188. Stolzenberg-Solomon, R. Z., Jacobs, E. J., Arslan, A. A. *et al.* Circulating 25-hydroxyvitamin D and risk of pancreatic cancer: Cohort Consortium Vitamin D Pooling Project of Rarer Cancers. *Am. J Epidemiol.*, 2010, 172: 81-93.
  189. Lee S.K and Kader A.A. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology*, 2000, 20: 207-220.
  190. Savini, I., Rossi, A., Pierro, C., Avigliano, L., and Catani, M. V. SVCT1 and SVCT2: key proteins for vitamin C uptake. *Amino. Acids*, 2008, 34: 347-355.
  191. Wilson, J. X. The physiological role of dehydroascorbic acid. *FEBS Lett.*, 2002, 527: 5-9.
  192. MacDonald, L., Thumser, A. E., and Sharp, P. Decreased expression of the vitamin C transporter SVCT1 by ascorbic acid in a human intestinal epithelial cell line. *Br. J Nutr*, 2002, 87: 97-100.
  193. Jacob, R. A., Otradovec, C. L., Russell, R. M. *et al.* Vitamin C status and nutrient interactions in a healthy elderly population. *Am. J Clin. Nutr.*, 1988, 48: 1436-1442.
  194. Padayatty, S. J., Sun, H., Wang, Y. *et al.* Vitamin C pharmacokinetics: implications for oral and intravenous use. *Ann. Intern. Med.*, 2004, 140: 533-537.
  195. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. *Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids*. 2000.
  196. Duconge, J., Miranda-Massari, J. R., Gonzalez, M. J. *et al.* Pharmacokinetics of vitamin C: insights into the oral and intravenous administration of ascorbate. *P. R. Health Sci. J*, 2008, 27: 7-19.
  197. Naidu, K. A. Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. *Nutr J*, 2003, 2: 7.
  198. Johnston, C. S., Meyer, C. G., and Srilakshmi, J. C. Vitamin C elevates red blood cell glutathione in healthy adults. *Am. J Clin. Nutr.*, 1993, 58: 103-105.
  199. Carr, A. C. and Vissers, M. C. Synthetic or food-derived vitamin C--are they equally bioavailable? *Nutrients.*, 2013, 5: 4284-4304.

200. Dehghan, M., Akhtar-Danesh, N., McMillan, C. R., and Thabane, L. Is plasma vitamin C an appropriate biomarker of vitamin C intake? A systematic review and meta-analysis. *Nutr J*, 2007, 6: 41.
201. Jungert, A. and Neuhauser-Berthold, M. The lower vitamin C plasma concentrations in elderly men compared with elderly women can partly be attributed to a volumetric dilution effect due to differences in fat-free mass. *Br. J Nutr*, 2015, 113: 859-864.
202. Vioque, J., Weinbrenner, T., Asensio, L. *et al.* Plasma concentrations of carotenoids and vitamin C are better correlated with dietary intake in normal weight than overweight and obese elderly subjects. *Br. J Nutr*, 2007, 97: 977-986.
203. Galan, P., Viteri, F. E., Bertrais, S. *et al.* Serum concentrations of beta-carotene, vitamins C and E, zinc and selenium are influenced by sex, age, diet, smoking status, alcohol consumption and corpulence in a general French adult population. *Eur. J Clin. Nutr*, 2005, 59: 1181-1190.
204. Alberg, A. The influence of cigarette smoking on circulating concentrations of antioxidant micronutrients. *Toxicology*, 2002, 180: 121-137.
205. Lecomte, E., Herbeth, B., Pirolet, P. *et al.* Effect of alcohol consumption on blood antioxidant nutrients and oxidative stress indicators. *Am. J Clin. Nutr*, 1994, 60: 255-261.
206. Faizallah, R., Morris, A. I., Krasner, N., and Walker, R. J. Alcohol enhances vitamin C excretion in the urine. *Alcohol Alcohol*, 1986, 21: 81-84.
207. Schectman, G., Byrd, J. C., and Gruchow, H. W. The influence of smoking on vitamin C status in adults. *Am. J Public Health*, 1989, 79: 158-162.
208. Garcia, O. P., Ronquillo, D., Caamano, M. C. *et al.* Zinc, vitamin A, and vitamin C status are associated with leptin concentrations and obesity in Mexican women: results from a cross-sectional study. *Nutr Metab (Lond)*, 2012, 9: 59.
209. Cahill, L., Corey, P. N., and El-Sohemy, A. Vitamin C deficiency in a population of young Canadian adults. *Am. J Epidemiol.*, 2009, 170: 464-471.
210. Canoy, D., Wareham, N., Welch, A. *et al.* Plasma ascorbic acid concentrations and fat distribution in 19,068 British men and women in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition Norfolk cohort study. *Am. J Clin. Nutr*, 2005, 82: 1203-1209.
211. Yavari, A., Javadi, M., Mirmiran, P., and Bahadoran, Z. Exercise-induced oxidative stress and dietary antioxidants. *Asian J Sports Med.*, 2015, 6: e24898.
212. Mason, S. A., Morrison, D., McConell, G. K., and Wadley, G. D. Muscle redox signalling pathways in exercise. Role of antioxidants. *Free Radic. Biol. Med.*, 2016.
213. Linaker, B. D. Scurvy and vitamin C deficiency in Crohn's disease. *Postgrad. Med. J*, 1979, 55: 26-29.

214. de Vriese, A. S., Verbeuren, T. J., Van, d., V, Lameire, N. H., and Vanhoutte, P. M. Endothelial dysfunction in diabetes. *Br. J Pharmacol.*, 2000, 130: 963-974.
215. Mason, S. A., Della Gatta, P. A., Snow, R. J., Russell, A. P., and Wadley, G. D. Ascorbic acid supplementation improves skeletal muscle oxidative stress and insulin sensitivity in people with type 2 diabetes: Findings of a randomized controlled study. *Free Radic. Biol. Med.*, 2016, 93: 227-238.
216. Michels, A. J. and Frei, B. Myths, artifacts, and fatal flaws: identifying limitations and opportunities in vitamin C research. *Nutrients.*, 2013, 5: 5161-5192.
217. EFSA. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for Vitamin C. *EFSA Journal*, 2013.
218. German Nutrition Society (DGE). New Reference Values for Vitamin C Intake. *Ann. Nutr Metab*, 2015, 67: 13-20.
219. Duarte, T. L. and Lunec, J. Review: When is an antioxidant not an antioxidant? A review of novel actions and reactions of vitamin C. *Free Radic. Res.*, 2005, 39: 671-686.
220. Fulan, H., Changxing, J., Baina, W. Y. *et al.* Retinol, vitamins A, C, and E and breast cancer risk: a meta-analysis and meta-regression. *Cancer Causes Control*, 2011, 22: 1383-1396.
221. Cui, Y., Shikany, J. M., Liu, S., Shagufta, Y., and Rohan, T. E. Selected antioxidants and risk of hormone receptor-defined invasive breast cancers among postmenopausal women in the Women's Health Initiative Observational Study. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2008, 87: 1009-1018.
222. Rohan, T. E., Howe, G. R., Friedenreich, C. M., Jain, M., and Miller, A. B. Dietary fiber, vitamins A, C, and E, and risk of breast cancer: a cohort study. *Cancer Causes Control*, 1993, 4: 29-37.
223. Lin, J., Cook, N. R., Albert, C. *et al.* Vitamins C and E and beta carotene supplementation and cancer risk: a randomized controlled trial. *J. Natl. Cancer Inst.*, 2009, 101: 14-23.
224. Hutchinson, J., Lentjes, M. A., Greenwood, D. C. *et al.* Vitamin C intake from diary recordings and risk of breast cancer in the UK Dietary Cohort Consortium. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2012, 66: 561-568.
225. Kushi, L. H., Fee, R. M., Sellers, T. A., Zheng, W., and Folsom, A. R. Intake of vitamins A, C, and E and postmenopausal breast cancer. The Iowa Women's Health Study. *Am. J. Epidemiol.*, 1996, 144: 165-174.
226. Roswall, N., Olsen, A., Christensen, J. *et al.* Micronutrient intake and breast cancer characteristics among postmenopausal women. *Eur. J. Cancer Prev.*, 2010, 19: 360-365.

227. Verhoeven, D. T., Assen, N., Goldbohm, R. A. *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: 149-155.
228. Zhang, S., Hunter, D. J., Forman, M. R. *et al.* Dietary carotenoids and vitamins A, C, and E and risk of breast cancer. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1999, 91: 547-556.
229. Shakur, Y. A., Tarasuk, V., Corey, P., and O'Connor, D. L. 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: 534-540.
230. Campbell, E. J. and Dachs, G. U. Current limitations of murine models in oncology for ascorbate research. *Front Oncol.*, 2014, 4: 282.
231. Bouayed, J. and Bohn, T. Exogenous antioxidants--Double-edged swords in cellular redox state: Health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. *Oxid. Med. Cell Longev.*, 2010, 3: 228-237.
232. Pham-Huy, L. A., He, H., and Pham-Huy, C. Free radicals, antioxidants in disease and health. *Int J Biomed. Sci.*, 2008, 4: 89-96.
233. Gago-Dominguez, M., Castelao, J. E., Pike, M. C., Sevanian, A., and Haile, R. W. Role of lipid peroxidation in the epidemiology and prevention of breast cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2005, 14: 2829-2839.
234. Buettner, G. R., Wagner, B. A., and Rodgers, V. G. Quantitative redox biology: an approach to understand the role of reactive species in defining the cellular redox environment. *Cell Biochem. Biophys.*, 2013, 67: 477-483.
235. Li, Y. and Schellhorn, H. E. New developments and novel therapeutic perspectives for vitamin C. *J Nutr*, 2007, 137: 2171-2184.
236. Herbert, K. E., Fletcher, S., Chauhan, D. *et al.* Dietary supplementation with different vitamin C doses: no effect on oxidative DNA damage in healthy people. *Eur. J. Nutr.*, 2006, 45: 97-104.
237. Podmore, I. D., Griffiths, H. R., Herbert, K. E. *et al.* Vitamin C exhibits pro-oxidant properties. *Nature*, 1998, 392: 559.
238. Mense, S. M., Singh, B., Remotti, F., Liu, X., and Bhat, H. K. Vitamin C and alpha-naphthoflavone prevent estrogen-induced mammary tumors and decrease oxidative stress in female ACI rats. *Carcinogenesis*, 2009, 30: 1202-1208.
239. Singh, B. and Bhat, H. K. Superoxide dismutase 3 is induced by antioxidants, inhibits oxidative DNA damage and is associated with inhibition of estrogen-induced breast cancer. *Carcinogenesis*, 2012, 33: 2601-2610.
240. Chatterjee, A., Ronghe, A., Singh, B. *et al.* Natural antioxidants exhibit chemopreventive characteristics through the regulation of CNC b-Zip transcription factors in estrogen-induced breast carcinogenesis. *J Biochem. Mol. Toxicol.*, 2014, 28: 529-538.

241. Park, S. The effects of high concentrations of vitamin C on cancer cells. *Nutrients.*, 2013, 5: 3496-3505.
242. Chen, Q., Espey, M. G., Krishna, M. C. *et al.* Pharmacologic ascorbic acid concentrations selectively kill cancer cells: action as a pro-drug to deliver hydrogen peroxide to tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2005, 102: 13604-13609.
243. Chen, Q., Espey, M. G., Sun, A. Y. *et al.* Pharmacologic doses of ascorbate act as a prooxidant and decrease growth of aggressive tumor xenografts in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2008, 105: 11105-11109.
244. Uetaki, M., Tabata, S., Nakasuka, F., Soga, T., and Tomita, M. Metabolomic alterations in human cancer cells by vitamin C-induced oxidative stress. *Sci. Rep.*, 2015, 5: 13896.
245. Hong, S. W., Lee, S. H., Moon, J. H. *et al.* SVCT-2 in breast cancer acts as an indicator for L-ascorbate treatment. *Oncogene*, 2013, 32: 1508-1517.
246. Alcain, F. J. and Buron, M. I. Ascorbate on cell growth and differentiation. *J Bioenerg. Biomembr.*, 1994, 26: 393-398.
247. Glorieux, C., Dejeans, N., Sid, B. *et al.* Catalase overexpression in mammary cancer cells leads to a less aggressive phenotype and an altered response to chemotherapy. *Biochem. Pharmacol.*, 2011, 82: 1384-1390.
248. Allen, R. G. and Tresini, M. Oxidative stress and gene regulation. *Free Radic. Biol. Med.*, 2000, 28: 463-499.
249. The effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. The Alpha-Tocopherol, Beta Carotene Cancer Prevention Study Group. *N. Engl. J Med.*, 1994, 330: 1029-1035.
250. Klein, E. A., Thompson, I. M., Jr., Tangen, C. M. *et al.* Vitamin E and the risk of prostate cancer: the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). *JAMA*, 2011, 306: 1549-1556.
251. Liou, G. Y. and Storz, P. Reactive oxygen species in cancer. *Free Radic. Res.*, 2010, 44: 479-496.
252. Sayin, V. I., Ibrahim, M. X., Larsson, E. *et al.* Antioxidants accelerate lung cancer progression in mice. *Sci. Transl. Med.*, 2014, 6: 221ra15.
253. Le, G. K., Ibrahim, M. X., Wiel, C. *et al.* Antioxidants can increase melanoma metastasis in mice. *Sci. Transl. Med.*, 2015, 7: 308re8.
254. Suh, J., Zhu, B. Z., and Frei, B. Ascorbate does not act as a pro-oxidant towards lipids and proteins in human plasma exposed to redox-active transition metal ions and hydrogen peroxide. *Free Radic. Biol. Med.*, 2003, 34: 1306-1314.
255. Lee, S. H., Oe, T., and Blair, I. A. Vitamin C-induced decomposition of lipid hydroperoxides to endogenous genotoxins. *Science*, 2001, 292: 2083-2086.

256. Jian, W., Lee, S. H., Williams, M. V., and Blair, I. A. 5-Lipoxygenase-mediated endogenous DNA damage. *J. Biol. Chem.*, 2009, 284: 16799-16807.
257. Speed, N. and Blair, I. A. Cyclooxygenase- and lipoxygenase-mediated DNA damage. *Cancer Metastasis Rev.*, 2011, 30: 437-447.
258. Cade, J. E., Burley, V. J., Warm, D. L., Thompson, R. L., and Margetts, B. M. Food-frequency questionnaires: a review of their design, validation and utilisation. *Nutr. Res. Rev.*, 2004, 17: 5-22.
259. Willett, W. C., Sampson, L., Stampfer, M. J. *et al.* Reproducibility and validity of a semiquantitative food frequency questionnaire. *Am. J Epidemiol.*, 1985, 122: 51-65.
260. UNIJUS: les chiffres clés de la filière. <http://www.jusdefruit.org/Default.aspx?lid=1&rid=514&rvid=532> . 2016.

## ANNEXES

**Annexe 1 :** Estimation des taux d'incidence de cancer du sein par pays en Europe à partir des données GLOBOCAN 2012. Source : Ferlay et al 2013 (9).

Table 6a  
Estimated age-standardised rates (ASRs) (European standard) of cancer incidence by sex, cancer site and country, 2012.

	Oral cavity and pharynx		Oesophagus		Stomach		Colon and rectum		Liver		Gallbladder		Pancreas		Larynx		Lung		Melanoma		Breast		Cervix	
	C00-14		C15		C16		C18-21		C22		C23-24		C25		C32		C33-34		C43		C50		C53	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	F	F	F	F
Europe	18.2	4.9	8.3	1.8	19.5	9.3	55.7	34.6	10.0	3.3	2.7	2.8	12.1	8.3	8.8	0.8	68.3	21.6	11.4	11.0	94.2	13.4		
EU-27	18.3	5.5	8.4	2.0	15.2	7.1	59.0	36.1	11.1	3.6	2.9	3.1	12.2	9.0	8.3	0.9	66.3	26.1	13.2	13.1	108.8	11.3		
Central and Eastern Europe	20.6	3.8	7.9	1.1	29.7	12.9	51.1	31.5	6.9	2.9	2.4	2.8	12.8	7.4	10.9	0.6	77.3	14.8	6.1	6.0	63.4	19.2		
Belarus	24.9	2.3	9.6	0.6	42.1	17.2	45.6	29.9	4.8	1.8	1.9	1.9	10.4	5.1	12.3	0.3	81.7	8.7	4.8	5.9	60.5	15.8		
Bulgaria	15.1	3.7	4.1	0.6	21.4	10.4	58.7	36.4	9.2	3.5	2.7	2.8	15.1	8.8	14.0	0.7	73.1	12.4	5.2	4.0	76.3	28.5		
Czech Republic	18.0	6.1	8.0	1.4	15.5	7.8	81.1	40.5	9.5	3.9	5.3	7.3	17.8	12.0	7.9	0.7	75.0	25.9	19.1	15.3	95.5	16.3		
Hungary	39.8	9.5	9.6	1.3	20.3	9.7	86.7	44.6	8.0	2.2	4.2	4.5	16.7	11.1	16.6	1.9	109.3	46.5	10.6	8.1	72.3	20.5		
Moldova	22.8	3.0	4.9	0.3	26.4	9.2	52.0	32.9	17.7	7.8	0.7	1.2	14.0	9.7	15.5	0.6	61.3	11.9	3.4	3.0	52.9	24.1		
Poland	19.0	4.6	5.7	1.2	19.7	7.4	55.5	28.9	5.4	3.0	3.1	5.6	12.7	8.2	11.7	1.3	89.6	31.1	6.0	5.3	69.9	15.3		
Romania	29.6	3.3	5.9	0.7	23.7	8.5	50.3	29.2	13.1	4.5	2.2	2.3	14.9	8.7	14.1	0.5	83.3	15.8	4.7	4.4	66.2	34.9		
Russian Federation	17.9	3.5	9.2	1.4	35.8	15.6	44.6	31.5	6.3	2.8	2.0	2.0	11.7	6.8	9.5	0.4	74.3	9.8	5.0	5.7	60.7	17.7		
Slovakia	30.3	4.8	9.0	1.2	21.0	9.8	92.2	43.6	10.0	3.7	5.3	6.8	17.1	11.7	9.6	0.7	70.0	20.5	14.9	12.1	78.1	19.4		
Ukraine	22.0	3.0	7.6	0.7	32.1	12.9	43.6	28.1	4.3	1.9	1.7	1.8	12.0	5.9	11.5	0.4	66.9	8.7	5.0	5.6	54.0	19.2		
Northern Europe	13.4	5.8	12.1	4.2	11.2	5.5	55.1	37.8	6.7	2.8	1.2	1.7	10.9	8.9	4.8	0.8	52.3	34.9	19.1	19.4	120.8	9.9		
Denmark	18.0	8.3	8.3	3.5	12.3	4.5	69.2	53.4	6.4	2.0	3.1	3.2	14.0	11.7	6.1	1.3	62.5	54.9	22.0	26.6	142.8	12.0		
Estonia	15.1	4.2	6.5	0.9	28.7	14.9	53.1	33.8	4.9	2.4	2.5	1.9	14.7	7.2	7.9	0.4	70.7	13.5	8.9	10.7	69.0	23.3		
Finland	9.9	5.6	5.4	1.8	10.2	5.9	42.5	29.2	11.1	4.2	2.8	2.9	15.1	11.8	2.9	0.3	45.4	17.9	19.9	14.5	121.0	4.9		
Iceland	8.9	5.9	10.1	2.4	9.6	5.6	44.5	41.7	3.4	2.0	1.8	2.0	7.7	7.7	2.2	0.0	47.6	43.0	12.3	17.8	130.7	8.8		
Ireland	11.9	4.9	12.5	5.1	13.4	6.7	65.1	41.3	6.7	3.3	2.5	3.5	11.3	9.2	6.7	1.3	54.9	40.4	17.7	18.6	122.4	15.1		
Latvia	14.8	2.6	10.1	1.5	33.7	12.6	45.5	30.0	8.4	2.7	1.6	1.8	15.4	9.3	11.9	0.6	83.9	11.7	7.6	7.9	69.8	20.7		
Lithuania	19.1	3.3	10.7	1.2	33.5	11.8	47.4	28.1	6.9	2.1	2.7	2.0	15.4	7.9	11.2	0.4	80.8	10.4	7.4	6.8	65.2	31.6		
Norway	10.8	6.8	5.8	1.7	8.7	5.7	65.0	53.8	4.1	2.0	2.5	2.4	12.1	10.0	3.4	0.6	52.3	38.1	26.6	24.8	98.4	11.3		
Sweden	9.5	5.7	5.2	1.6	7.4	4.1	48.9	39.4	5.0	2.3	2.0	3.0	7.4	6.5	2.4	0.5	28.8	27.5	24.1	24.1	108.2	8.6		
United Kingdom	13.9	6.0	15.0	5.4	10.0	4.8	55.6	36.7	6.8	2.9	0.5	1.1	10.4	8.8	4.8	0.9	53.3	38.5	18.6	19.6	129.2	7.9		
Southern Europe	13.6	4.0	4.6	0.8	17.6	8.8	58.7	35.2	13.9	4.4	3.3	3.1	11.3	8.1	10.2	0.8	69.0	18.3	10.1	10.0	96.8	10.0		
Albania	9.3	5.3	2.6	1.1	36.2	22.2	12.7	11.2	7.7	4.4	0.5	0.5	9.3	4.7	6.5	2.7	54.0	24.5	1.5	1.1	69.4	6.2		
Bosnia Herzegovina	9.4	3.7	2.5	0.9	14.9	8.5	30.0	19.0	8.3	5.4	3.1	3.5	7.0	4.1	11.2	1.5	65.1	15.5	2.7	2.3	49.1	16.2		
Croatia	20.2	5.1	7.7	1.0	21.8	9.5	66.7	36.7	12.2	3.2	4.5	5.2	13.2	8.0	13.3	1.1	85.4	22.3	12.0	11.9	83.0	12.1		
Cyprus	4.2	1.3	2.2	0.8	11.4	4.8	41.6	33.2	6.4	2.8	2.1	2.4	7.4	5.4	4.1	0.5	38.1	10.7	4.4	4.6	104.3	5.2		
Greece	5.5	1.8	2.3	0.3	11.1	5.4	24.9	17.2	8.3	2.9	2.6	1.8	10.6	6.9	6.5	0.4	74.7	13.2	3.8	2.6	58.6	6.2		
Italy	9.8	4.0	3.1	0.8	16.5	8.8	61.2	39.9	16.3	5.6	3.5	3.5	11.2	9.1	9.0	0.7	58.8	19.2	13.5	13.6	118.0	7.7		
FYR Macedonia	7.0	2.4	1.7	0.3	34.8	15.4	41.1	29.9	8.5	3.9	1.5	2.0	17.0	6.5	12.9	0.9	101.6	19.2	7.2	6.0	101.4	15.6		
Malta	14.9	5.3	5.5	1.5	17.0	8.1	60.1	37.6	5.1	1.7	3.4	1.7	15.6	10.2	7.9	1.4	58.0	11.0	6.6	8.4	116.2	4.6		
Montenegro	14.4	5.3	4.1	1.1	17.0	9.5	49.8	28.9	9.9	5.2	3.1	3.9	10.3	7.4	12.7	1.4	85.5	25.9	7.3	4.7	75.9	23.0		
Portugal	27.5	4.6	8.5	0.7	26.7	12.8	61.4	33.9	11.9	2.5	4.4	1.9	9.7	5.5	13.0	0.4	49.1	11.7	7.5	8.8	85.6	10.8		
Serbia	18.8	5.2	5.7	1.2	17.1	8.1	62.1	33.2	9.6	4.0	2.8	3.8	12.3	8.6	14.1	1.4	99.2	32.9	11.2	7.4	92.3	28.3		
Slovenia	20.6	5.2	5.4	1.0	23.3	9.6	74.5	40.1	12.5	3.1	5.6	6.7	14.2	11.7	7.2	0.7	78.9	24.8	21.2	20.5	88.4	11.8		
Spain	16.8	4.2	6.4	1.0	16.4	7.5	65.6	35.3	14.2	3.7	3.0	2.5	11.5	7.6	11.0	0.9	76.8	15.7	8.3	9.0	84.9	9.1		
Western Europe	21.5	6.8	9.8	2.3	13.4	6.3	58.6	36.9	11.8	3.3	3.1	3.0	12.3	9.5	6.8	1.0	64.2	28.1	15.4	15.8	126.8	8.7		
Austria	16.5	5.5	7.2	1.1	13.9	7.4	51.3	29.3	12.1	4.2	2.6	2.8	14.5	10.6	5.0	0.8	54.2	27.8	13.1	12.4	90.7	7.0		
Belgium	21.9	7.0	10.8	2.9	12.2	5.7	67.5	43.4	6.7	2.4	2.3	2.1	9.6	7.2	9.4	1.5	83.2	27.6	11.9	18.2	147.5	10.2		
France	23.1	7.6	8.7	2.5	10.5	4.2	53.8	36.9	16.6	3.6	2.7	2.3	11.7	8.7	7.8	1.3	74.5	27.9	13.1	13.1	136.6	8.0		
Germany	23.1	6.4	9.9	2.0	16.2	8.0	59.7	34.8	10.6	3.5	3.4	3.7	13.2	10.5	6.5	0.7	57.3	25.4	15.3	14.8	122.0	9.7		
Luxembourg	16.4	6.5	9.0	2.5	14.7	7.2	62.5	33.6	15.9	5.5	0.8	0.9	11.2	8.5	5.2	0.9	59.7	26.9	15.0	13.9	118.2	7.1		
The Netherlands	12.6	7.0	14.9	4.2	11.6	5.8	71.6	50.5	3.3	1.2	3.2	2.3	10.8	8.0	5.8	1.1	66.1	44.5	22.5	26.5	131.3	8.0		
Switzerland	18.0	6.6	9.0	2.8	7.5	5.1	54.2	35.0	12.7	3.0	2.8	2.9	10.7	9.3	4.5	0.6	52.0	29.7	26.8	25.4	111.3	4.2		

**Annexe 2 :** Critères pris en compte pour estimer les recommandations en 25-hydroxyvitamine D reportées dans le Tableau 5. Source : HAS 2013 (135).

<b>Organisme</b>	Fondation internationale de lutte contre l'ostéoporose (IFO)	Rapport d'experts de l'association canadienne « Ostéoporose Canada »	Institut de médecine américain (IoM)	Groupe de Recherche et d'Information sur les Ostéoporoses (GRIO)	Société américaine d'endocrinologie	Académie nationale de médecine
Parathormone	✓	✓		✓	✓	✓
Absorption de calcium		✓		✓	✓	
Chutes		✓	✓	✓		✓
Fractures	✓	✓		✓	✓	
Densité minérale osseuse		✓				
Rachitisme et ostéomalacie		✓				
Risques de maladies cardiovasculaires, cancer et mortalité			✓			

**Annexe 3 :** Liste des médicaments considérés comme des compléments en vitamine D commercialisés entre 2004 et 2011. A partir des données de la base Thériaque.

Nom du médicament	Composition (dose par unité)	Posologie recommandée	Durée d'utilisation préconisée	Dose de vitamine D théorique par jour	Conditionnement	Indications	Première année de commercialisation	Année de retrait du marché en tant que médicament	Remboursement	Sur ordonnance uniquement
<b>ACTONELCOMBI CPR + GLE SACHET</b>	Vitamine D : 880 UI Calcium : 1000 MG Risédronate : 35 mg/semaine	1 sachet/jour	-	880 UI	24 ou 72 sachets	- Ostéoporose post-ménopausique	2008	-	65% depuis 2007 si risque de fracture et 0% sinon	oui
<b>ADRIGYL 10000UI/ML SOL BUV FL 10ML</b>	Vitamine D : 333 UI/goutte	2 à 60 gouttes/jour		666 à 19 980 UI	300 gouttes	- carence en vitamine D (traitement préventif ou curatif)	2011	-	65% depuis 2011	oui
<b>ADRIGYL 300UI/0,03ML SOL BUV NSFP</b>	Vitamine D : 300 UI/goutte	3 à 100 gouttes/jour	-	900 à 30 000 UI	666 gouttes	- carence en vitamine D (traitement préventif ou curatif)	AMM en 1990	2007	0%	oui
<b>ADROVANCE 70MG/140MCG CPR</b>	Vitamine D : 5600 UI Acide alendronique anhydre : 70 mg	1 comprimé/semaine	Traitement au long cours	800 UI	4 comprimés	- Ostéoporose post-ménopausique	2008	-	65% si fracture ou diminution importante de la densité osseuse et 0% sinon depuis 2008	oui
<b>ADROVANCE</b>	Vitamine D :	1	Traitement	400 UI	4 ou 12	Ostéoporose	2007	-	65% si fracture	oui

<b>70MG/70MCG CPR</b>	2800 UI Acide alendronique anhydre : 70 mg Vitamine D: 150 UI	comprimé/semaine	au long cours		comprimés	post- ménopausique			ou diminution importante de la densité osseuse et 0% sinon depuis 2007	
<b>ALVITYL CPR NSFP</b>	Autres vitamines. Vitamine D: 150 UI	1 à 3 comprimés/jour	-	150 à 450 UI/jour	50 comprimés	- trouble lié à un régime alimentaire carencé	AMM en 1992	2006	0%	non
<b>ALVITYL SIROP NSFP</b>	Autres vitamines. Vitamine D : 440 UI	1 à 3 cuillères à café/jour	-	150 à 450 UI/jour	150 mL	- trouble lié à un régime alimentaire carencé	AMM en 1992	2006	0%	non
<b>CACIT VIT D3 500MG/440UI CPR</b>	Calcium : 500 MG Vitamine D : 880 UI	2 comprimés/jour	-	880 UI	60 comprimés	- carence en vitamine D et calcium - ostéoporose	2004	-	65% depuis 2004	non
<b>CACIT VITAMINE D3 1000 MG/880 UI</b>	Calcium : 1000 MG Vitamine D : 400 UI	1 sachet/jour	-	880 UI	30 ou 90 sachets	- carence en vitamine D et calcium - ostéoporose	1995	-	65% depuis 1995	non
<b>CALCIDOSE VIT D3 500MG/400UI PDR</b>	Calcium : 500 MG Vitamine D : 400 UI	2 sachets/jour	-	800 UI	60 sachets	- carence en vitamine D et calcium - ostéoporose	1995	-	65% depuis 1995	non
<b>CALCIFORTE VIT D3 500MG/400UI CPR</b>	Calcium : 500 MG Levure de bière : 50 mg	2 comprimés/jour	-	800 UI	60 ou 180 comprimés	- carence en vitamine D et calcium - ostéoporose	2002	-	65% depuis 2002	non
<b>CALCIPRAT VIT</b>	Vitamine D :	1 comprimé/jour	-	800 UI	30 comprimés	- carence en	2003	-	65% depuis 2003	non



<b>CPR</b>	MG					- ostéoporose				
<b>CALCIUM D3</b>	Vitamine D :					- carence en				
<b>RTP</b>	400 UI	2 comprimés/jour	-	800 UI	60 comprimés	vitamine D et	AMM en 2002	2014	65% depuis 2004	non
<b>500MG/400UI</b>	Calcium : 500					calcium				
<b>CPR NSFP</b>	MG					- ostéoporose				
<b>CALCIUM VIT D3</b>	Vitamine D :					- carence en				
<b>SDZ</b>	400 UI	2 comprimés/jour	-	800 UI	60 comprimés	vitamine D et	2001	-	65% depuis 2001	non
<b>500MG/400UI</b>	Calcium : 500					calcium				
<b>CPR</b>	MG					- ostéoporose				
<b>CALCIUM VIT D3</b>	Vitamine D :					- carence en				
<b>TVC</b>	400 UI	2 comprimés/jour	-	800 UI	60 comprimés	vitamine D et	2003	-	65% depuis 2003	non
<b>500MG/400UI</b>	Calcium : 500					calcium				
<b>CPR</b>	MG					- ostéoporose				
						- carence en				
						vitamine D et				
<b>CALCOS VIT D3</b>	Vitamine D :					calcium				
<b>500MG/400UI</b>	400 UI	2 comprimés/jour		800 UI	60 comprimés	(traitement	2002	-	65% depuis 2002	non
<b>CPR</b>	Calcium : 500					préventif ou				
	MG					curatif)				
						- ostéoporose				
						- carence en				
						vitamine D et				
<b>CALCOS VIT D3</b>	Vitamine D :					calcium				
<b>500MG/400UI</b>	400 UI	2 comprimés/jour	-	800 UI	180 comprimés	(traitement	AMM en 2001	2008	65% depuis 2001	non
<b>CPR</b>	Calcium : 500					préventif ou				
	MG					curatif)				
						- ostéoporose				
						- carence en				
						vitamine D et				
<b>CALTRATE VIT</b>	Vitamine D :					calcium				
<b>D3 500MG/400UI</b>	400 UI	2 comprimés/jour	-	800 UI	60 ou 180	(traitement	AMM en 1999	2011	0% depuis 2013	non
<b>CPR NSFP</b>	Calcium : 500				comprimés	préventif ou				
	MG									

<b>CALTRATE VITAMINE D3 600MG/400UI CPR</b>	Vitamine D : 400 UI Calcium : 600 MG	2 comprimés/jour	-	800 UI	60 comprimés	curatif) - ostéoporose - carence en vitamine D et calcium (traitement préventif ou curatif)	1997	-	65% depuis 1997	non
<b>CALTRATE VITAMINE D3 600MG/400UI CPR</b>	Vitamine D : 400 UI Calcium : 600 MG	2 comprimés/jour	-	800 UI	180 comprimés	- ostéoporose - carence en vitamine D et calcium (traitement préventif ou curatif)	2007	-	65% depuis 2007	non
<b>CALPEROS D3 500MG/400UI CPR</b>	Vitamine D : 400 UI Calcium : 500 MG	2 comprimés/jour	-	800 UI	60 comprimés	- ostéoporose - carence en vitamine D et calcium - ostéoporose	1997	-	65% depuis 1997	non
<b>CARENCYL CAPSULE NSFP</b>	Vitamine D: 100 UI Autres vitamines et minéraux.	1 à 3 capsules/jour	-	100 à 300 UI	30 capsules	- Asthénie fonctionnelle	AMM en 1994	2009	0%	non
<b>DEDROGYL 0,15MG/ML SOL BUV FL 10ML</b>	Vitamine D: 200 UI/goutte	2 à 6 gouttes/jour pour une carence en vitamine D (préventif)	-	400 à 1200 UI	300 gouttes	- carence en vitamine D (traitement préventif ou curatif) - ostéomalacie - trouble calcique	1976	-	30% à partir de 2011	oui

de la  
corticothérapie ou  
du aux  
anticonvulsivants

<b>DENSICAL VIT D3 500MG/400UI CPR</b>	Vitamine D : 400 UI Calcium : 500 MG	2 comprimés/jour	-	800 UI	60 ou 180 comprimés	- carence en vitamine D et calcium - ostéoporose	1999	2009	65% depuis 1999	non
<b>DENSICAL VIT D3 500MG/400UI GRL NSFP</b>	Vitamine D : 400 UI Calcium : 500 MG	2 sachets/jour	-	800 UI	60 sachets	- carence en vitamine D et calcium - ostéoporose	AMM en 1998	2008	65% depuis 1997	non
<b>ELEVIT VITAMINE B9 CPR</b>	Vitamine D : 500 UI Calcium : 125 MG. Autres vitamines et minéraux.	1 comprimé/jour	-	500 UI	30 comprimés	- Trouble lié à un régime alimentaire carencé	2001	-	0%	non
<b>ELEVIT VITAMINE B9 CPR</b>	Vitamine D : 500 UI Calcium : 125 MG. Autres vitamines et minéraux.	1 comprimé/jour	-	500 UI	100 comprimés	- Trouble lié à un régime alimentaire carencé	2002	-	0%	non
<b>EPTAVIT 1000MG/880UI CPR EFF</b>	Vitamine D : 880 UI Calcium : 1000 MG	1 comprimé/jour	-	880 UI	30 comprimés	- carence en vitamine D et calcium - ostéoporose	2004	-	65% depuis 2004	non
<b>EPTAVIT 1000MG/880UI CPR EFF</b>	Vitamine D : 880 UI Calcium : 1000	1 comprimé/jour	-	880 UI	90 comprimés	- carence en vitamine D et calcium	2007	-	65% depuis 2007	non

<b>FIXICAL</b> <b>VITAMINE D3</b> <b>1000MG/800UI</b> <b>CPR</b>	MG Vitamine D : 880 UI Calcium : 1000	1 comprimé/jour	880 UI	30 à 90 comprimés	- ostéoporose - carence en vitamine D et calcium	2005	-	65% depuis 2005	non
<b>FIXICAL</b> <b>VITAMINE D3</b> <b>500MG/400UI</b> <b>CPR</b>	MG Vitamine D : 400 UI Calcium : 500	2 comprimés/jour	880 UI	60 à 180 comprimés	- ostéoporose - carence en vitamine D et calcium	1999	-	65% depuis 1999	non
<b>FORCICAL VIT</b> <b>D3 500MG/400UI</b> <b>CPR NSFP</b>	MG Vitamine D : 400 UI Calcium : 500	2 comprimés/jour	800 UI	60 comprimés	- carence en vitamine D et calcium - ostéoporose	AMM en 2006	2009	0%	non
<b>FOSAVANCE</b> <b>70MG/140MCG</b> <b>CPR</b>	MG Vitamine D : 5600 UI Acide alendronique : 70 MG	1 comprimé/semaine	800 UI	4 ou 12 comprimés	- ostéoporose post ménopausique	2008	-	65% depuis 2008 su fracture ou DMO basse et risque de fracture, 0% sinon	oui (liste I)
<b>FOSAVANCE</b> <b>70MG/140MCG</b> <b>CPR ADP MWI</b>	MG Vitamine D : 5600 UI Acide alendronique : 70 MG	1 comprimé/semaine	800 UI	4 ou 12 comprimés	- ostéoporose post ménopausique	2009	-	65% depuis 2009 su fracture ou DMO basse et risque de fracture, 0% sinon	oui (liste I)
<b>FOSAVANCE</b> <b>70MG/140MCG</b> <b>CPR ADP PLA</b>	MG Vitamine D : 5600 UI Acide alendronique :	1 comprimé/semaine	800 UI	4 comprimés	- ostéoporose post ménopausique	2009	-	65% depuis 2010 su fracture ou DMO basse et risque de	oui (liste I)

	70 MG							fracture, 0% sinon 65% depuis 2006 su fracture ou DMO basse et risque de fracture, 0% sinon	
<b>FOSAVANCE 70MG/70MCG CPR</b>	Vitamine D : 2800 UI Acide alendronique : 70 MG	1 comprimé/semaine	400 UI	4 ou 12 comprimés	- ostéoporose post ménopausique	2005	-	65% depuis 2006 si fracture ou DMO basse et risque de fracture, 0% sinon	oui (liste I)
<b>FOSAVANCE 70MG/70MCG CPR ADP MWI</b>	Vitamine D : 2800 UI Acide alendronique : 70 MG	1 comprimé/semaine	400 UI	4 comprimés	- ostéoporose post ménopausique	2008	-	65% depuis 2008 si fracture ou DMO basse et risque de fracture, 0% sinon	oui (liste I)
<b>FOSAVANCE 70MG/70MCG CPR ADP MWI</b>	Vitamine D : 2800 UI Acide alendronique : 70 MG	1 comprimé/semaine	400 UI	12 comprimés	- ostéoporose post ménopausique	2008	-	65% depuis 2009 si fracture ou DMO basse et risque de fracture, 0% sinon	oui (liste I)
<b>FOSAVANCE 70MG/70MCG CPR ADP PLA</b>	Vitamine D : 2800 UI Acide alendronique : 70 MG	1 comprimé/semaine	400 UI	4 comprimés	- ostéoporose post ménopausique	2009	-	65% depuis 2009 si fracture ou DMO basse et risque de fracture, 0% sinon	oui (liste I)
<b>FOSAVANCE 70MG/70MCG CPR ADP PLA</b>	Vitamine D : 2800 UI Acide alendronique : 70 MG	1 comprimé/semaine	400 UI	12 comprimés	- ostéoporose post ménopausique	2009	-	65% depuis 2010 si fracture ou DMO basse et risque de fracture, 0% sinon	oui (liste I)

<b>FRUBIOSE VITAMINE D 1000UI BUV NSFP</b>	Vitamine D : 1000 UI	½ ampoule à 4 ampoules/jour	500 à 4000 UI	20 ampoules	- carence en vitamine D (prévention ou traitement)	AMM en 1997	2010	0%	non
<b>FRUBIOSE VITAMINE D 5000UI BUV NSFP</b>	Vitamine D : 5000 UI	½ ampoule/semaine à 1 ampoule/jour	357 UI à 5000 UI	20 ampoules	- carence en vitamine D (prévention ou traitement)	AMM en 1997	2007	0%	non
<b>HYDROSOL POLYVIT BAY SOL BUV NSFP</b>	Vitamine D : 500 UI/25 gouttes. Autres vitamines.	25 gouttes/jour	500 UI	20 mL	- Trouble lié à un régime alimentaire carencé	AMM en 1997	2007	0%	non
<b>HYDROSOL POLYVIT RCH SOL BUV NSFP</b>	Vitamine D : 500 UI/25 gouttes. Autres vitamines.	25 gouttes/jour	500 UI	1 flacon de 20 ml ou 10 flacons de 20 ml	- Trouble lié à un régime alimentaire carencé	AMM en 1997	2006		non
<b>HYDROSOL VIT PDV BUV GTT 20ML</b>	Vitamine D : 500 UI/25 gouttes. Autres vitamines.	25 gouttes/jour	500 UI	1 flacon de 20 ml	- Trouble lié à un régime alimentaire carencé	2007	-	0%	non
<b>IDEOS 500MG/400UI CPR</b>	Vitamine D : 400 UI Calcium : 500 MG	2 comprimés/jour	800 UI	60 comprimés	- carence en vitamine D et calcium - ostéoporose	1995	-	65% depuis 1995	non
<b>METOCALCIUM 600MG/400UI CPR</b>	Vitamine D : 400 UI Calcium : 600 MG	2 comprimés/jour	800 UI	60 comprimés	- carence en vitamine D et calcium - ostéoporose	2002	-	65% depuis 2002	non
<b>NATECAL D3</b>	Vitamine D :	2 comprimés/jour	800 UI	60 comprimés	- carence en	AMM en 2007	2013	0%	non

<b>600MG/400UI CPR MACH NSFP</b>	400 UI Calcium : 1500 MG				vitamine D et calcium - ostéoporose				
<b>NATECAL D3 600MG/400UI CPR ORODISP</b>	Vitamine D : 400 UI Calcium : 1500 MG Vitamine D: 200 UI	2 comprimés/jour	800 UI	60 comprimés	- carence en vitamine D et calcium - ostéoporose	2010	-	65% depuis 2010	non
<b>PHARMATON CAPSULE NSFP</b>	Autres vitamines et minéraux. Vitamine D: 200 UI	1 à 2 comprimés/jour	200 UI	60 comprimés	- asthénie fonctionnelle	AMM en 1994	2005	0%	non
<b>PHARMATON CAPSULE NSFP</b>	Autres vitamines et minéraux. Vitamine D: 200 UI	1 à 2 comprimés/jour	200 UI	30 comprimés	- asthénie fonctionnelle	AMM en 1994	2006	0%	non
<b>PHARMATON CAPSULE NSFP</b>	Autres vitamines et minéraux. Vitamine D: 200 UI	1 à 2 comprimés/jour	200 UI	75 comprimés	- asthénie fonctionnelle	AMM en 1994	2005	0%	non
<b>QUOTIVIT O E CPR NSFP</b>	Autres vitamines et minéraux. UI	1 comprimé/jour	200 UI	30 à 90 comprimés	- trouble lié à un régime alimentaire carencé	AMM en 1992	2007	0%	non
<b>STEROXYL 15A 600000UI/1,5ML SOL BUV</b>	Vitamine D : 600 000 UI	1 ampoule/an	1845 UI	1 ampoule	- carence en vitamine D	1943	-	65% depuis 2007	oui (liste II)
<b>STEROXYL 15H 600000UI/1,5ML</b>	Vitamine D : 600 000 UI	0,5 à 1 ampoule/an	923 à 1845 UI	1 ampoule	- carence en vitamine D	1940	-	65% depuis 2007	oui (liste II)

<b>SOL INJ</b>										
<b>STEROXYL</b>										
<b>2MUI/100ML SOL</b>	Vitamine D : 400 000 UI	1 à 10 gouttes/jour	400 à 4000 UI	20 mL	- carence en vitamine D	1928	-	65% depuis 2007	non	
<b>BUV</b>										
<b>OROCAL D3</b>	Vitamine D : 200 UI	1 à 3	200 à 600 UI	60 ou 180	- carence en vitamine D et	2006	-	65% depuis 2006	non	
<b>500MG/200UI</b>	Calcium : 500 MG	comprimés/jour		comprimés	calcium					
<b>CPR</b>					- ostéoporose					
<b>OROCAL D3</b>	Vitamine D : 400 UI	2 comprimés/jour	800 UI	60 comprimés	- carence en vitamine D et	1998	-	65% depuis 1998	non	
<b>500MG/400UI</b>	Calcium : 500 MG				calcium					
<b>CPR</b>					- ostéoporose					
<b>OROCAL D3</b>	Vitamine D : 400 UI	2 comprimés/jour	800 UI	180 comprimés	- carence en vitamine D et	2006	-	65% depuis 2006	non	
<b>500MG/400UI</b>	Calcium : 500 MG				calcium					
<b>CPR</b>					- ostéoporose					
<b>OROCAL</b>	Vitamine D : 400 UI	2 comprimés/jour	800 UI	60 comprimés	- carence en vitamine D et	1995	-	65% depuis 1995	non	
<b>VITAMINE D3</b>	Calcium : 1250 MG				calcium					
<b>CPR NSFP</b>					- ostéoporose					
<b>OSSEANS VIT</b>	Vitamine D : 400 UI	2 comprimés par jour	800 UI	60 comprimés	- carence en vitamine D et	2001	-	65% depuis 2001	non	
<b>D3 500MG/400UI</b>	Calcium : 1500 MG				calcium					
<b>CPR</b>					- ostéoporose					
<b>OSSEANS VIT</b>	Vitamine D : 400 UI	2 comprimés par jour	800 UI	180 comprimés	- carence en vitamine D et	2009	-	65% depuis 2009	non	
<b>D3 500MG/400UI</b>	Calcium : 1500 MG				calcium					
<b>CPR</b>					- ostéoporose					
<b>OSTEOCAL D3</b>	Vitamine D : 400 UI	2 comprimés par jour	800 UI	60 comprimés	- carence en vitamine D et	AMM en 2001	2012	65% depuis 2001	non	
<b>500MG/400UI</b>	Calcium : 500 MG				calcium					
<b>CPR NSFP</b>					- ostéoporose					

<b>OSTRAM D3 1200MG/800UI PDR ORAL NSFP</b>	Vitamine D : 800 UI Calcium : 1200 MG	1 sachet/jour	800 UI	30 ou 90 sachets	- carence en vitamine D et calcium - ostéoporose	AMM en 1998	2015	65% depuis 2009	non
<b>POLYVITAMINES OLIGOEL LED NSFP</b>	Vitamine D : 400 UI. Autres vitamines.	1 comprimé/jour	400 UI	30, 60 ou 100 comprimés	- trouble lié à un régime carencé	AMM en 1985	AMM abrogée en 2009	0%	non
<b>SUPRADYNE CPR PELLICULE NSFP</b>	Vitamine D : 200 UI. Autres vitamines et minéraux.	1 comprimé par jour	200 UI	20 comprimés	- trouble lié à un régime alimentaire carencé	AMM en 1999	-	0%	non
<b>UVEDOSE 100000UI/2ML SOL BUV AMP 2ML</b>	Vitamine D : 100 000 UI	1 à 2 ampoules pour 3 mois	1095 à 2190 UI	1 ampoule	- carence en vitamine D	1990	-	65% depuis 2007	oui (liste II)
<b>UVESTEROL D 1500UI/ML BUV 20ML NSFP</b>	Vitamine D : 1500 UI/ml	0,53-1,34 mL/jour	800 à 2000 UI	20 ml	- carence en vitamine D (prévention et traitement)	AMM en 1990	2014	65% depuis 1990	non
<b>VITAMINE D3 BON 200000UI/1ML SOL INJ</b>	Vitamine D : 200 000 UI/ml	½ ampoule pour 3 mois ou 1 ampoule pour 6 mois	1095 UI	1 ampoule	- carence en vitamine D (prévention et traitement)	1956	-	65% depuis 2007	oui (liste II)
<b>VITAMINE D3 BON 5MG/1ML SOL NSFP</b>	Vitamine D : 200 000 UI/ml	1 ampoule pour 6 mois ou 1-2 ampoules par mois pendant 3 mois ou 2 ampoules pour 2 semaines	- 1100 UI	1 ampoule	- carence en vitamine D (prévention et traitement)	1996	-	0%	oui (liste II)
<b>VIVAMYNE CPR A CROQUER</b>	Vitamine D : 250 UI	1 comprimé/jour	250 UI	20 comprimés	- trouble lié à un régime	AMM en 1994	2005	0%	non

<b>NSFP</b>	Autres vitamines et minéraux.					alimentaire carencé				
<b>VIVAMYNE MULTI CPR NSFP</b>	Vitamine D : 250 UI Autres vitamines et minéraux.	1 comprimé/jour	250 UI	15 comprimés	- trouble lié à un régime alimentaire carencé	AMM en 1997	2006	0%	non	
<b>ZYMAD 10000UI/ML SOL BUV FL 10ML</b>	Vitamine D : 10 000 UI/ML	2 à 66 gouttes/jour	600 à 19 800 UI	10 ML	- carence en vitamine D (traitement préventif, traitement curatif)	2003	-	65% depuis 2007	non	
<b>ZYMAD 200000UI SOL BUV AMP 2ML</b>	Vitamine D : 200 000 UI/ML	1 à 3 ampoules pour 6 mois	1095 à 3285 UI	1 ampoule de 2 ML	- carence en vitamine D (traitement préventif, traitement curatif)	2003	-	65% depuis 2007	Oui (liste II)	
<b>ZYMAD 80000UI SOL BUV AMP 2ML</b>	Vitamine D : 80 000 UI/ML	1 ampoule pour 2 ou 3 mois	889 à 1333 UI	1 ampoule de 2 ML	- carence en vitamine D (traitement préventif, traitement curatif)	2003	-	65% depuis 2007	Oui (liste II)	

**Annexe 4 :** Caractéristiques de preneuses de compléments en vitamine D selon la prise de THM et l'IMC à l'inclusion.

	Femmes n'ayant jamais pris de THM				Femmes prenant ou ayant pris un THM			
	Femmes avec un IMC < 25 kg/m <sup>2</sup>		Femmes avec un IMC ≥ 25 kg/m <sup>2</sup>		Femmes avec un IMC < 25 kg/m <sup>2</sup>		Femmes avec un IMC ≥ 25 kg/m <sup>2</sup>	
	(n = 11 291)		(n = 5 642)		(n = 31 347)		(n = 9 123)	
	Prise de complément en vitamine D		Prise de complément en vitamine D		Prise de complément en vitamine D		Prise de complément en vitamine D	
	Jamais (n = 8 632)	Actuelle ou Passée (n = 2 609)	Jamais (n = 4 831)	Actuelle ou Passée (n = 811)	Jamais (n = 23 845)	Actuelle ou Passée (n = 7 502)	Jamais (n = 7 589)	Actuelle ou Passée (n = 1 534)
Age à la fin du suivi, années	67,0 ± 7,80 <sup>a</sup>	69,9 ± 7,63	68,1 ± 7,66	70,6 ± 7,40	65,2 ± 5,80	67,8 ± 6,09	65,7 ± 5,92	68,6 ± 6,33
Age à la ménarche, années	12,9 ± 1,40	13,0 ± 1,43	12,6 ± 1,41	12,7 ± 1,41	12,9 ± 1,38	12,9 ± 1,38	12,5 ± 1,37	12,6 ± 1,39
Age à la ménopause, années	51,3 ± 3,70	51,0 ± 3,84	51,2 ± 4,07	50,8 ± 4,34	50,3 ± 3,54	50,0 ± 3,77	50,3 ± 3,82	49,9 ± 4,38
Niveau d'études, %								
<i>Inférieur au baccalauréat</i>	12,8	10,9	18,5	16,0	9,3	8,0	13,7	12,3
<i>Baccalauréat ou plus</i>	87,3	89,2	81,5	84,0	90,7	92,0	86,3	87,7
Statut tabagique, %								

<i>Non-fumeurs ou ex-fumeuses</i>	92,1	95,3	93,9	95,8	91,3	93,4	93,4	95,2
<i>Fumeuses</i>	7,9	4,7	6,1	4,2	8,7	6,6	6,6	4,8
IMC à l'inclusion, kg/m <sup>2</sup>	21,9 ± 1,89	21,6 ± 1,98	28,6 ± 3,48	27,9 ± 2,97	21,9 ± 1,78	21,5 ± 1,87	27,7 ± 2,73	27,4 ± 2,41
Consommation d'alcool, g d'éthanol/jour	10,3 ± 13,1	9,6 ± 12,13	11,3 ± 14,9	11,2 ± 14,1	12,0 ± 13,6	10,8 ± 13,0	12,3 ± 15,0	12,0 ± 14,2
Apports caloriques totaux (hors alcool), kcal/jour	2093 ± 530,5	2083 ± 533,0	2166 ± 577,4	2156 ± 593,2	2133 ± 525,3	2099 ± 517,1	2171 ± 579,2	2161 ± 558,6
Apports alimentaires en calcium, mg/jour	1037 ± 361,4	1053 ± 373,1	1106 ± 383,7	1104 ± 391,5	1056 ± 353,5	1054 ± 364,2	1111 ± 382,0	1121 ± 377,7
Prise actuelle ou passée de complément en calcium, %	15,6	86,6	12,1	81,5	14,2	85,9	11,4	81,3
Prise actuelle ou passée de vitamines ou minéraux autres que le calcium ou la vitamine D sous forme de complément, %	40,5	75,2	32,0	70,3	42,5	73,4	36,4	71,8
Activité physique, METs en heures/semaine	25,4 ± 18,5	25,3 ± 18,2	20,3 ± 16,5	20,2 ± 16,4	26,6 ± 18,6	26,8 ± 18,5	21,9 ± 17,1	22,9 ± 17,7
Couleur de la peau, %								
<i>Très pâle à mate</i>	57,7	58,0	61,0	58,2	58,0	60,4	61,6	63,8
<i>Brune à noire</i>	42,3	42,1	39,0	41,8	42,0	39,6	38,4	36,1

Exposition aux UV selon le département de résidence, kJ/m <sup>2</sup> /jour	1,57 ± 0,19	1,57 ± 0,19	1,54 ± 0,19	1,54 ± 0,19	1,54 ± 0,19	1,55 ± 0,19	1,52 ± 0,18	1,52 ± 0,18
Antécédents personnels de maladie bénigne du sein, %	34,3	38,1	25,5	30,5	38,6	42,9	31,6	36,1
Antécédents familiaux au premier degré de cancer du sein, %	11,9	13,2	10,3	12,0	10,3	10,4	10,7	11,2
Mammographie depuis le questionnaire précédent, %	78,0	82,1	75,5	79,2	93,5	94,7	91,9	92,2
Parité, %								
<i>Nullipare</i>	14,3	16,6	12,7	13,4	10,4	12,1	9,9	10,6
<i>Pare, premier enfant avant 30 ans, 1 ou 2 enfants</i>	47,0	47,3	42,4	42,7	53,4	52,5	48,1	49,6
<i>Pare, premier enfant avant 30 ans, 3 enfants ou plus</i>	27,6	25,5	34,2	32,1	26,1	25,1	32,7	31,4
<i>Pare, premier enfant après 30 ans</i>	11,1	10,7	10,7	11,8	10,1	10,3	9,3	8,4
Utilisation d'un contraceptif oral avant la ménopause, %	49,6	44,4	44,6	42,2	68,2	61,8	61,7	53,7

Apports alimentaires en vitamine D, µg/jour	2,38 ± 1,16	2,39 ± 1,18	2,76 ± 1,34	2,78 ± 1,31	2,56 ± 1,19	2,54 ± 1,20	2,83 ± 1,30	2,86 ± 1,36
--	-------------	-------------	-------------	-------------	-------------	-------------	-------------	-------------

---

**Annexe 5** : Caractéristiques de preneuses de compléments en vitamine C selon le niveau d'apports alimentaires en vitamine C.

	Apports alimentaires en vitamine C < 102 mg/jour  (n = 14 351)		Apports alimentaires en vitamine C de 102-135 mg/jour  (n = 14 351)		Apports alimentaires en vitamine C de 136-177 mg/jour  (n = 14 351)		Apports alimentaires en vitamine C ≥ 178 mg/jour  (n = 14 350)	
	Prise de complément en vitamine C		Prise de complément en vitamine C		Prise de complément en vitamine C		Prise de complément en vitamine C	
	Jamais (n = 12 085)	Actuelle ou Passée (n = 2 266)	Jamais (n = 11 914)	Actuelle ou Passée (n = 2 437)	Jamais (n = 11 865)	Actuelle ou Passée (n = 2 486)	Jamais (n = 11 368)	Actuelle ou Passée (n = 2 982)
Age à la fin du suivi, années	65,8 ± 6,63 <sup>a</sup>	65,7 ± 6,31	66,5 ± 6,68	66,5 ± 6,44	66,8 ± 6,70	66,3 ± 6,33	67,1 ± 6,72	67,1 ± 6,57
Age à la ménarche, années	12,8 ± 1,42	12,8 ± 1,37	12,8 ± 1,38	12,8 ± 1,39	12,8 ± 1,38	12,8 ± 1,39	12,8 ± 1,40	12,8 ± 1,40
Age à la ménopause, années	50,5 ± 3,76	50,5 ± 3,67	50,6 ± 3,72	50,7 ± 3,49	50,5 ± 3,80	50,6 ± 3,64	50,4 ± 3,84	50,5 ± 3,83
Niveau d'études, %								
<i>Inférieur au baccalauréat</i>	13,1	9,1	11,6	7,0	10,9	6,8	12,4	8,2
<i>Baccalauréat ou plus</i>	86,9	90,9	88,5	93,0	89,1	93,2	87,6	91,8
Statut tabagique, %								
<i>Non-fumeurs ou ex- fumeurs</i>	90,3	88,8	92,9	92,7	93,8	93,4	93,5	93,6

<i>Fumeurs</i>	9,7	11,2	7,2	7,3	6,2	6,6	6,5	6,4
IMC à l'inclusion, kg/m <sup>2</sup>	23,3 ± 3,51	22,4 ± 3,13	23,4 ± 3,41	22,6 ± 3,03	23,6 ± 3,50	22,9 ± 3,24	23,9 ± 3,65	23,1 ± 3,25
Consommation d'alcool, g d'éthanol/jour	12,2 ± 15,0	12,6 ± 15,3	11,4 ± 13,5	11,2 ± 13,3	11,3 ± 13,1	10,2 ± 12,5	11,3 ± 13,6	10,7 ± 12,6
Apports caloriques totaux (hors alcool), kcal/jour	1905 ± 490,2	1899 ± 502,8	2062 ± 489,0	2050 ± 493,5	2186 ± 508,2	2155 ± 506,6	2376 ± 553,5	2359 ± 564,0
Prise actuelle de complément en vitamine D, %	12,1	29,2	14,3	29,4	13,7	27,0	13,2	27,9
Prise actuelle ou passée de vitamines ou minéraux autres que la vitamine C ou la vitamine D sous forme de complément, %	33,4	91,3	35,8	92,0	37,3	91,8	39,7	93,9
Activité physique, METs en heures/semaine	22,3 ± 17,2	24,2 ± 17,6	24,4 ± 17,7	25,9 ± 18,3	25,5 ± 18,1	27,3 ± 18,8	26,7 ± 19,1	29,5 ± 19,7
Antécédents personnels de maladie bénigne du sein, %	34,4	43,6	35,1	42,6	35,1	43,5	34,8	42,1
Antécédents familiaux au premier degré de cancer du sein, %	10,8	9,9	10,7	10,8	10,8	10,7	10,9	11,3
Mammographie depuis le questionnaire	87,3	90,6	88,9	91,7	89,1	91,7	88,0	91,0

précédent, %									
Parité, %									
<i>Nullipare</i>	11,9	14,2	11,6	12,8	10,6	12,3	11,4	13,2	
<i>Pare, premier enfant avant 30 ans, 1 ou 2 enfants</i>	49,8	51,2	49,3	50,5	50,6	51,7	50,1	51,3	
<i>Pare, premier enfant avant 30 ans, 3 enfants ou plus</i>	26,9	22,0	28,9	24,7	29,1	27,1	29,6	25,5	
<i>Pare, premier enfant après 30 ans</i>	11,4	12,5	10,3	12,0	9,7	8,9	8,9	10,0	
Utilisation d'un contraceptif oral avant la ménopause, %	60,6	69,0	58,9	64,1	57,8	65,9	57,4	62,5	

---