



HAL
open science

Nutrition maternelle préconceptionnelle, croissance foetale et épigénétique placentaire

Marion Lecorguillé

► **To cite this version:**

Marion Lecorguillé. Nutrition maternelle préconceptionnelle, croissance foetale et épigénétique placentaire. Médecine humaine et pathologie. Université Paris Cité, 2020. Français. NNT : 2020UNIP5040 . tel-03544796

HAL Id: tel-03544796

<https://theses.hal.science/tel-03544796v1>

Submitted on 26 Jan 2022

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.

Université de Paris

École doctorale Pierre Louis de santé publique – ED 393

Centre de Recherche Epidémiologie et bio Statistique de Sorbonne Paris Cité (CRESS)

Équipe de recherche sur les origines précoces de la santé (EAROH)

Nutrition maternelle préconceptionnelle, croissance fœtale et épigénétique placentaire

Par Marion LECORGUILLÉ

Thèse de doctorat en épidémiologie

Dirigée par Marie-Aline Charles et Barbara Heude

Présentée et soutenue publiquement le 13 octobre 2020

Thèse préparée dans le cadre du Réseau doctoral en santé publique animé par l'EHESP

Devant un jury composé de :

Gianluca SEVERI

Dominique DARMAUN

Johanna LEPEULE

Rachel LÉVY

Jean-Louis GUÉANT

Marie-Aline CHARLES

Barbara HEUDE

DR, Université Paris Sud

PU-PH, Université de Nantes

HDR, Université de Grenoble

PU-PH, UPMC

PU-PH, Université de Lorraine

DR, Inserm, Université de Paris

HDR, Inserm, Université de Paris

Rapporteur

Rapporteur

Examinatrice

Examinatrice

Examinateur

Directrice de thèse

Co-directrice de thèse



Except where otherwise noted, this is work licensed under
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>

Université de Paris

École doctorale Pierre Louis de santé publique – ED 393

Centre de Recherche Epidémiologie et bio Statistique de Sorbonne Paris Cité (CRESS)

Équipe de recherche sur les origines précoces de la santé (EAROH)

Nutrition maternelle préconceptionnelle, croissance fœtale et épigénétique placentaire

Par Marion LECORGUILLÉ

Thèse de doctorat en épidémiologie

Dirigée par Marie-Aline Charles et Barbara Heude

Présentée et soutenue publiquement le 13 octobre 2020

Thèse préparée dans le cadre du Réseau doctoral en santé publique animé par l'EHESP

Devant un jury composé de :

Gianluca SEVERI
Dominique DARMAUN
Johanna LEPEULE
Rachel LÉVY
Jean-Louis GUÉANT
Marie-Aline CHARLES
Barbara HEUDE

DR, Université Paris Sud
PU-PH, Université de Nantes
HDR, Université de Grenoble
PU-PH, UPMC
PU-PH, Université de Lorraine
DR, Inserm, Université de Paris
HDR, Inserm, Université de Paris

Rapporteur
Rapporteur
Examinatrice
Examinatrice
Examinateur
Directrice de thèse
Co-directrice de thèse



**"Une nourriture bien équilibrée est comme
un poème au développement de la vie"**

Anthony Burgess, écrivain

L'alimentation maternelle joue un rôle fondamental dès la période préconceptionnelle en permettant de couvrir les besoins nutritionnels essentiels à la croissance harmonieuse du fœtus. Ces dernières années, de nouvelles recherches ont montré l'implication de certains nutriments (les vitamines B2, B6, B9, B12, la méthionine, bêtaïne et choline) dans des processus épigénétiques majeurs qui ont lieu en début de grossesse et plus particulièrement la méthylation de l'ADN. Le premier objectif de cette thèse était d'explorer l'association entre les apports en micronutriments impliqués dans les processus épigénétiques l'année avant la grossesse avec d'une part la croissance fœtale, et d'autre part la méthylation de l'ADN placentaire. Nous avons identifié trois profils alimentaires décrivant la variabilité de l'apport combiné des micronutriments chez les jeunes femmes en âge de procréer dans la cohorte mère-enfant EDEN : « varié et équilibré », « tendance végétarien » et riche en « pain et féculents ». Nous n'avons pas retrouvé d'effet majeur de l'apport préconceptionnel en micronutriments impliqués dans les voies de méthylation sur la croissance fœtale, ni sur la méthylation de l'ADN placentaire. Nos résultats soulignaient cependant une association entre ces profils et des régions différenciellement méthylées localisées sur des gènes impliqués dans diverses fonctions et processus métaboliques essentiels au développement embryonnaire.

L'évolution récente des habitudes alimentaires nous place également dans un contexte où la prévalence du surpoids et de l'obésité a augmenté au cours de ces dernières années. De nombreuses études ont rapporté que le statut pondéral de la mère à la conception était associé au développement de l'enfant, mais peu d'études se sont intéressées aux variations de poids avant la grossesse qui reflètent pourtant l'état nutritionnel et métabolique maternel à la conception. Comme deuxième objectif, nous avons évalué si les variations pondérales maternelles l'année avant la grossesse pouvaient influencer le poids de naissance. Dans la cohorte de naissance nationale Elfe, nous avons observé, chez les femmes en surpoids ou obèses, qu'une perte de poids avant la grossesse était associée à une diminution du poids de naissance, en moyenne dans la population, mais que cet effet était masqué par une reprise de poids gestationnelle plus importante.

Ces travaux de thèse contribuent à mieux comprendre l'impact des expositions nutritionnelles en période préconceptionnelle sur la croissance fœtale. Ils incitent à poursuivre les recherches autour de cette période clé, afin d'aider au développement des messages de prévention du surpoids ou de l'obésité ainsi que de promotion d'une alimentation variée et équilibrée dans un objectif d'amélioration de la santé des femmes qui désirent une grossesse.

Mots-clés : cohorte de naissance, profils alimentaires, micronutriments, méthylation de l'ADN, placenta, variations de poids, période préconceptionnelle, croissance fœtale, poids de naissance.

ABSTRACT

Maternal diet plays a major role for fetal development from the preconception period. In recent years, new research has shown the involvement of some nutrients (vitamins B2, B6, B9, B12, methionine, betaine and choline) in major epigenetic processes that take place in early pregnancy, particularly DNA methylation. The first objective was to explore the association between dietary intake of micronutrients involved in epigenetic mechanisms in the year before pregnancy with fetal development; and placental DNA methylation. We identified three dietary patterns explaining the variability of combined micronutrients intake among young women of childbearing age in the EDEN mother-child cohort: “varied and balanced”, “vegetarian tendency”, and “bread and starchy rich food”. We did not find any major effect of preconception intake of nutrients involved in methylation pathways on fetal growth and nor on placental DNA methylation. However, our results highlighted an association between these patterns and differentially methylated regions located on genes involved in various functions and metabolic processes essential for embryonic development.

Recent changes in eating habits also place us in a context where the prevalence of overweight and obesity has increased in the last years. Many studies have reported that maternal weight status at conception was associated with child development, but few studies have focused on pre-pregnancy weight changes that reflect however the maternal nutritional and metabolic status at conception. In a second step, we evaluated whether maternal weight change in the year before pregnancy may influence birth weight. In the national Elfe birth cohort, we observed that in overweight or obese women, pre-pregnancy weight loss was associated with a decrease in birth weight, but this effect was offset by excessive gestational weight gain.

This work contributes to a better understanding of the impact of nutritional exposures during the preconception period on fetal growth. They encourage further research around this key period, in order to help develop messages to prevent overweight or obesity and to promote a varied and balanced diet with the aim of improving the health of women who want a pregnancy.

Key words: birth cohort, dietary patterns, micronutrients, DNA methylation, placenta, weight changes, preconception period, fetal development, birth weight.

REMERCIEMENTS

Grâce à de nombreux soutiens, j'ai pu mener à bien ma thèse. Aussi, je tenais à témoigner ma gratitude à toutes les personnes qui ont contribué à un environnement favorable pendant ces trois années. Je souhaite les remercier pour leurs conseils, leur confiance et marques d'amitiés.

Je remercie sincèrement les membres du jury pour leur présence, l'intérêt et le temps qu'ils ont accordé à mes travaux de thèse. Merci à l'Université Paris Descartes, ainsi qu'à l'école doctorale Pierre Louis de Santé Publique d'avoir rendu possible la réalisation de ces travaux grâce à l'octroi d'un contrat doctoral. Merci également à l'EHESP et Paris Descartes de m'avoir accordé une bourse pour réaliser un séjour de recherche à l'étranger.

Je souhaite adresser à mes deux encadrantes Marie-Aline Charles et Barbara Heude mes remerciements. J'ai eu cette grande chance de débiter à leurs côtés lors de mon stage de Master 2 en santé publique, cela m'a permis de découvrir un domaine passionnant. Merci encore de m'avoir fait confiance en poursuivant cette collaboration avec l'encadrement de ma thèse. Je vous suis reconnaissante pour votre disponibilité, vos conseils et encouragements. Je sais combien le temps vous est compté et je vous prie de croire en mon plus profond respect. J'ai particulièrement apprécié nos différents échanges en réunion, nos riches discussions, votre encadrement attentif, vos qualités scientifiques et vos enseignements. Pour finir, je tenais à vous remercier pour votre présence sur le plan professionnel mais aussi personnel.

Je voudrais également remercier Caroline Relton de m'avoir accueillie au sein de son équipe à Bristol ainsi que Matthew Suderman dont l'encadrement s'est apparenté à celui d'un troisième encadrant de thèse. L'accueil fut chaleureux, nos échanges agréables. Cette expérience m'aura permis non seulement de développer des compétences en épigénétique mais aura été également enrichissante sur le plan humain.

Je voudrais également remercier Sandrine Lioret et Blandine de Lauzon-Guillain qui ont collaboré à la publication des papiers et dont les remarques pertinentes m'ont permises d'approfondir nos réflexions et d'orienter ces travaux. Merci également à tous les autres co-auteurs pour leur implication et leur intérêt.

Un grand merci également à tous les membres de l'équipe EARoH pour l'ambiance et la bonne humeur qui y régnait. Je souhaite adresser quelques mots à Anne Forhan pour son aide précieuse, sa patience et disponibilité et les savoirs qu'elle m'a transmis. Je remercie également Edith Lesieux, gestionnaire de l'équipe pour son soutien logistique indispensable ainsi que son énergie positive. Merci à ma collègue de bureau Cécilia Gomes, je garderai d'excellents

souvenirs de nos discussions. Je remercie tous les chercheurs de l'équipe, thésards, post-doctorants et stagiaires et autres membres pour nos débats du midi et bons moments partagés.

Je suis extrêmement reconnaissante envers toutes les personnes ayant contribué à la qualité des données des deux cohortes EDEN et Elfe. Merci à l'ensemble des investigateurs et des familles participantes, sans quoi il n'aurait pas été possible de réaliser ces travaux.

Je voudrais terminer par remercier les personnes qui ont renforcé ma détermination à me diriger vers la recherche en épidémiologie. Je pense tout particulièrement au Pr Jacques Sizun, avec qui j'ai fait mon mémoire de fin d'étude sage-femme. Merci d'avoir cru en moi et encouragé à continuer. Un grand merci à mes amis(es), proches et autres doctorants, dont je ne pourrais citer tous les noms : Ludovic, Arnoo, Michel, Pauline, Sophie, Alexandra, Clémence, Alain, Françoise...pour votre soutien et moments partagés qui sont autant indispensables à mon bien-être. Un immense merci aussi à Alexia, qui a été un soutien fort au cours de ces années. Merci d'avoir été là pour moi dans toutes les circonstances. Un grand merci aussi à tous mes amis et personnes géniales rencontrées à Bristol : Ilaria, Amanda, Axel, Vanessa, James, Giulia, Parisa, Nancy...pour votre aide, accueil et échanges qui ont fait de ce séjour un moment inoubliable.

Pour finir, j'exprime mon immense reconnaissance à mes parents, présents à chaque instant, pour leur soutien, confiance et encouragements dans mes projets. Merci à mon frère, pour tous nos moments de joie et de rigolades. Enfin, j'adresse de tendres remerciements à Éric, dont le soutien et l'écoute m'ont permis d'avancer chaque jour et dont la présence a le pouvoir de tout apaiser.

ARTICLES PUBLIÉS

- Mars 2020 **Lecorguillé M**, Lioret S, de Lauzon-Guillain B, de Gavelle E, Forhan A, Mariotti F, et al. Association between Dietary Intake of One-Carbon Metabolism Nutrients in the Year before Pregnancy and Birth Anthropometry. *Nutrients*. 2020 Mar;12(3):838.
- Août 2019 **Lecorguillé M**, Jacota M, de Lauzon-Guillain B, Forhan A, Cheminat M, Charles M-A, et al. An association between maternal weight change in the year before pregnancy and infant birth weight: ELFE, a French national birth cohort study. *PLoS Med*. 2019 Aug;16(8):e1002871.

ARTICLE EN PRÉPARATION

Association between dietary intake of one-carbon metabolism nutrients in the year before pregnancy and placental DNA methylation.

COMMUNICATIONS ORALES EN CONGRÈS

- Mars 2020 **Lecorguillé M**; Lioret S ; de Lauzon-Guillain B ; De Gavelle E ; Forhan A ; Mariotti F ; Charles MA ; Heude B. « Association between one-carbon metabolism nutrients and birth anthropometry ». Congrès Nutrition and Growth (London, United-Kingdom). Reporté Août 2020.
- Mars 2020 **Lecorguillé M**; Lioret S ; de Lauzon-Guillain B ; De Gavelle E ; Forhan A ; Mariotti F ; Charles MA ; Heude B. « Association entre l'apport maternel préconceptionnel en micronutriments impliqués dans les processus de méthylation de l'ADN et les mesures anthropométriques à la naissance ». Rencontres scientifiques de l'EHESP (Marseille, France)
- Jan 2020 **Lecorguillé M**; Lioret S ; de Lauzon-Guillain B ; De Gavelle E ; Forhan A ; Mariotti F ; Charles MA ; Heude B. « Association entre l'apport maternel préconceptionnel en micronutriments impliqués dans les processus de méthylation de l'ADN et les mesures anthropométriques à la naissance » 18èmes Journées du Collège des sages-femmes (Paris, France)
- Fév 2019 Vlog créé, ALPHABET project, participation at the 5th International JPI HDHL conference, Science vlog contest (Brussels, Belgium)

Nov 2018 **Lecorguillé M**, Jacota M, de Lauzon-Guillain B, Forhan A, Cheminat M, Charles M-A, Heude B. « Les variations pondérales l'année avant la grossesse et poids de naissance » Congrès du DOHAD (Grenoble, France)

COMMUNICATIONS AFFICHÉES EN CONGRÈS

Oct 2019 **Lecorguillé M**, Jacota M, de Lauzon-Guillain B, Forhan A, Cheminat M, Charles M-A, Heude B. « Association between weight change in the year before pregnancy and infant birth weight » Congrès international du DOHAD (Melbourne, Australie); présenté par Marie-Aline Charles.

Fév 2019 **Lecorguillé M**, Jacota M, de Lauzon-Guillain B, Forhan A, Cheminat M, Charles M-A, Heude B. « Association entre les variations de poids maternelles l'année avant la grossesse et le poids de naissance » 17èmes Journées du Collège des sages-femmes (Paris, France)

Jan 2019 **Lecorguillé M**, Jacota M, de Lauzon-Guillain B, Forhan A, Cheminat M, Charles M-A, Heude B. « Association entre les variations de poids maternelles l'année avant la grossesse et le poids de naissance » prix du congrès AFERO (Association Française d'Etude et de Recherche sur l'Obésité) (Marseille, France)

Oct 2018 **Lecorguillé M**, Jacota M, de Lauzon-Guillain B, Forhan A, Cheminat M, Charles M-A, Heude B. « Association entre les variations pondérales l'année avant la grossesse et le poids de naissance » Journées de l'école doctorale ED393 (St-Malo, France)

AUTRES IMPLICATIONS EN LIEN AVEC LA THÈSE

Participation à un groupe de travail pour les recommandations du Collège National des Sages-Femmes (CNSF). Valorisation sous forme d'article scientifique portant sur les variations de poids, les apports nutritionnels essentiels et expositions chimiques ainsi que la supplémentation chez les femmes enceintes et les femmes en âge de procréer.

OBTENTION DE FINANCEMENTS

Financements obtenus pour la réalisation d'un séjour de recherche de 4 mois à l'Université de Bristol (MRC Integrative Epidemiology Unit, Population Health Sciences, Bristol Medical School) auprès du :

Réseau doctoral de l'EHESP (Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique)

Bourse doctorale de mobilité internationale, Université Paris Descartes

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ	7
ABSTRACT	9
REMERCIEMENTS	11
VALORISATION SCIENTIFIQUE	13
TABLE DES MATIÈRES	15
GLOSSAIRE	19
LISTE DES TABLEAUX	21
LISTE DES FIGURES	23
INTRODUCTION GÉNÉRALE	25
CHAPITRE 1. État de l’art	29
I. Programmation nutritionnelle	31
1. Les origines développementales de la santé (DOHaD)	31
2. Importance de la période préconceptionnelle	33
3. Mécanismes épigénétiques	36
4. Rôle des micronutriments	38
5. Rôle du placenta	40
II. Apport en micronutriments, développement fœtal et épigénétique	41
1. Apport en micronutriments et développement fœtal en population	44
2. Apport en micronutriments et méthylation de l’ADN.....	48
III. Variations pondérales maternelles avant la grossesse	50
1. Problématique du surpoids et de l’obésité	50
2. Variations pondérales préconceptionnelles	52
3. Gain de poids gestationnel.....	54
IV. Objectifs.....	55
CHAPITRE 2. Populations et méthodes	57
I. La cohorte mère-enfant EDEN	59
1. Objectif général	59
2. Protocole d’étude : recrutement et suivi	60
3. Données utilisées	60
II. La cohorte de naissance Elfe	65
1. Présentation générale	65
2. Recrutement et suivi	66

3.	Données utilisées dans le cadre de la thèse	67
CHAPITRE 3. Apport en micronutriments impliqués dans les voies de méthylation de l'ADN l'année avant la grossesse et croissance fœtale		
I.	Introduction	73
II.	Matériel et Méthodes.....	76
1.	Données alimentaires et variables utilisées	76
2.	Sélection de la population.....	82
3.	Analyses statistiques.....	83
III.	Résultats.....	87
1.	Caractéristiques de la population.....	87
2.	Description des profils alimentaires	89
3.	Association entre les caractéristiques maternelles et profils alimentaires.....	92
4.	Profils alimentaires et croissance fœtale	96
IV.	Discussion.....	100
1.	Synthèse des résultats	100
2.	Forces et limites.....	103
3.	Perspectives	104
V.	Conclusion.....	105
CHAPITRE 4. Apport en micronutriments et méthylation de l'ADN placentaire.....		
I.	Introduction	109
II.	Matériel et Méthodes.....	111
1.	Variables utilisées et prélèvements d'échantillons placentaires.....	111
2.	Traitement préalable des données de méthylation.....	113
3.	Composition cellulaire des échantillons placentaires	116
4.	Analyses statistiques.....	118
5.	Sélection de la population.....	120
III.	Résultats.....	121
1.	Caractéristiques de la population.....	121
2.	Méthylation globale.....	123
3.	Méthode EWAS.....	125
4.	Analyse des régions différentiellement méthylées	128
IV.	Discussion.....	135
1.	Discussion des résultats	135

2. Forces et limites de l'étude	139
3. Perspectives	140
V. Conclusion.....	140
CHAPITRE 5. Variations pondérales avant la grossesse et poids de naissance	143
I. Introduction	145
II. Matériel et Méthodes.....	147
1. Variables utilisées.....	147
2. Sélection de la population.....	149
3. Analyses statistiques.....	151
III. Résultats.....	156
1. Caractéristiques de la population.....	156
2. Analyses statistiques.....	156
3. Analyse de médiation	162
4. Analyses complémentaires	165
IV. Discussion.....	169
1. Synthèse des résultats	169
2. Forces et limites.....	172
3. Perspectives	174
V. Conclusion.....	175
CHAPITRE 6. Discussion générale	177
I. Synthèse des résultats.....	179
II. Forces et limites	181
III. Implications en santé publique	184
1. Nutrition et recommandations	184
2. Épigenétique et programmation de la santé.....	186
IV. Perspectives de recherche	188
CONCLUSION.....	190
BIBLIOGRAPHIE.....	191
ANNEXES.....	205
A - EXTRAITS DE QUESTIONNAIRES DE L'ÉTUDE EDEN.....	207
B – RÉSULTATS COMPLÉMENTAIRES	221
C - PUBLICATIONS	233

Institutions

- ANSES : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
- CCTIRS : Comité Consultatif sur le Traitement de l'Information en matière de la Recherche dans le domaine de la Santé
- CNIS : Conseil National de l'Information Statistique
- CPP : Comité pour la protection des Personnes dans la recherche biomédicale pour les prélèvements biologiques et les examens de santé
- CNIL : Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés
- DGS : Direction Générale de la Santé
- EFS : Etablissement Français du Sang
- INED : Institut National d'Etude Démographique
- INSERM : Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale
- IOM : Institute of Medicine
- OMS : Organisation Mondiale de la Santé

Études épidémiologiques

- EDEN : Étude des Déterminants pré et postnatals précoces de la santé et du développement de l'enfant
- Elfe : Étude Longitudinale Française depuis l'Enfance
- ENP : Enquête Nationale Périnatale
- FLVS II : Fleurbaix-Lavantie Ville Santé II
- INCA : Étude Individuelle Nationale des Consommations Alimentaires 2
- SUVIMAX : Étude de la Supplémentation en Vitamines et Minéraux Anti-oxydants

Termes liés à la santé

- CMU : Couverture Maladie Universelle
- DOHaD : Developmental Origins of Health and Disease (origines développementales de la santé et des maladies)
- DMR : Région Différentiellement Méthylée
- IMC : Indice de Masse Corporelle

GAG : Gros poids pour l'Age Gestationnel
GPG : Gain de Poids Gestationnel
MC1 : Métabolisme C1
PAG : Petit poids pour l'Age Gestationnel
SA : Semaine d'Aménorrhée
QFA : Questionnaire de Fréquence Alimentaire

Termes statistiques

ANOVA : Analyse de variance
 β : Coefficient de régression
IC 95% : Intervalle de Confiance à 95 %
ET : Écart-Type
ES : Erreur-Standard
FCS : Fully Conditional Specification method (Méthode de spécification entièrement conditionnelle)
Moy : Moyenne
OR : Odds Ratio
P-value : Degré de significativité
RR : Risque Relatif

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1 : Principales sources d'apport alimentaire des nutriments.....	43
Tableau 1.2 : Études menées chez l'humain : micronutriments et développement du fœtus	47
Tableau 1.3 : Recommandations de l'IOM sur la prise de poids gestationnelle selon la corpulence à la conception	55
Tableau 3.1 : Caractéristiques des femmes sélectionnées pour l'analyse ($N = 1\ 638$).....	88
Tableau 3.2 : Coefficients (factors loadings) de la méthode RRR pour les profils alimentaires l'année avant la grossesse dans la cohorte EDEN ($N = 1\ 707$) : sélection des trois premiers profils alimentaires	91
Tableau 3.3 : Apport en micronutriments du métabolisme C1 l'année précédant la grossesse et association avec les trois profils alimentaires défini par la méthode de régression à rang réduit dans la cohorte EDEN ($N = 1\ 707$).....	92
Tableau 3.4 : Associations non ajustées entre les caractéristiques maternelles et les profils alimentaires ($N = 1\ 638$)	94
Tableau 3.5 : Association entre les profils alimentaires l'année avant la grossesse ou la supplémentation vitaminique et l'anthropométrie néonatale à la naissance ou l'âge gestationnel ($N=1\ 638$) après imputation multiple.....	98
Tableau 3.6 : Association entre les profils alimentaires l'année avant la grossesse ou la supplémentation vitaminique et le risque d'anomalies de la croissance de l'enfant et de prématurité ($N=1\ 638$) après imputation multiple	99
Tableau 4.1 : Caractéristiques des femmes sélectionnées pour l'analyse ($N = 573$).....	122
Tableau 4.2 : Associations entre la méthylation globale de l'ADN et les apports nutritionnels en micronutriments ou la supplémentation vitaminique dans différents modèles d'ajustement.....	124
Tableau 4.3 : Profils alimentaires l'année avant la grossesse et régions différentiellement méthylées ¹ de l'ADN placentaire.....	130
Tableau 4.4 : Profils alimentaires l'année avant la grossesse et régions différentiellement méthylées ¹ , après ajustement sur la supplémentation vitaminique	133
Tableau 5.1 : Exclusion des femmes avec antécédents médicaux pouvant influencer leurs variations de poids antérieures à la grossesse	150
Tableau 5.2 : Présentation des analyses complémentaires	156
Tableau 5.3 : Description de la population Elfe ($N = 16\ 395$) sur l'ensemble de l'échantillon et stratifiée sur l'IMC à la conception*	158
Tableau 5.4 : Caractéristiques des femmes selon les catégories de variations de poids avant grossesse ($N = 14\ 293$) *	160
Tableau 5.5 : Association entre les variations de poids avant grossesse et le gain de poids gestationnel, selon les catégories d'IMC maternel	161
Tableau 5.6 : Association entre les variations de poids l'année avant la grossesse et le poids de naissance, stratifié selon l'IMC maternel ($N = 16\ 395$).....	163

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 : Expositions environnementales et épigénétique, d'après (Charles et al., 2012).....	35
Figure 1.2 : Méthylation de l'ADN sur les sites dits « CpG » (Colombel et al. 2010).....	37
Figure 1.3 : Implication des micronutriments dans le métabolisme C1. Traduit et adapté de (Anderson et al., 2012).....	40
Figure 1.4 : Résultats d'études animales concernant les conséquences métaboliques sur la descendance d'une perte de poids chez la mère en période préconceptionnelle. Traduit et adapté de (Zhang et al., 2011).....	53
Figure 2.1 : Recueil des données de l'étude EDEN jusqu'à la naissance.....	61
Figure 2.2 : Les premières étapes du suivi Elfe.....	65
Figure 2.3 : Auto-questionnaire maternel sur le suivi d'un régime amaigrissant et les variations pondérales avant grossesse.....	68
Figure 3.1: Sélection des femmes incluses dans l'analyse.....	82
Figure 3.2 : Régression linéaire du Z-score de la taille à la naissance par quintiles des scores du profil « varié et équilibré » (N=1 638).....	97
Figure 4.1: Représentation des composantes principales des bêtas normalisés.....	116
Figure 4.2 : Effectifs sélectionnés pour les analyses épigénétiques.....	121
Figure 4.3 : Diagramme de Manhattan montrant l'association entre le profil varié et équilibré de la mère l'année avant la grossesse et la méthylation de l'ADN placentaire.....	126
Figure 4.4 : QQ plot de l'association entre le profil varié et équilibré l'année avant la grossesse et la méthylation de l'ADN placentaire.....	127
Figure 4.5 : Volcano plot représentant l'association entre le profil « varié et équilibré » et la méthylation de l'ADN placentaire.....	127
Figure 4.6 : QQ plot de l'association entre le profil varié et équilibré l'année avant la grossesse et la méthylation de l'ADN placentaire, ajusté sur la supplémentation vitaminique.....	128
Figure 5.1 : Sélection des femmes pour les analyses.....	150
Figure 5.2 : Modèle de médiation.....	154
Figure 5.3 : Association entre les variations de poids avant grossesse et le poids de naissance médié par le GPG, dans le groupe de femmes avec IMC < 25 kg/m ² à la conception (N = 12 058).....	164
Figure 5.4 : Association entre les variations de poids avant grossesse et le poids de naissance médié par le GPG, dans le groupe de femmes avec IMC ≥ 25 kg/m ² à la conception, (N = 4 337).....	165
Figure 5.5 : Association entre la perte de poids avant grossesse et le poids de naissance médiée par le GPG, pour les femmes avec un IMC ≥ 25 kg/m ² et stratifiée selon le suivi de régime restrictif ou non.....	166
Figure 5.6 : Association entre les variations de poids avant grossesse et le poids de naissance médié par le GPG, dans le groupe de femmes avec IMC ≥ 25 kg/m ² à la conception, analyse de sensibilité retirant le poids de naissance du GPG (N = 4 337).....	168

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Au cours de ces dernières décennies de nombreux travaux de recherche ont montré que des expositions environnementales précoces pouvaient avoir un impact sur le développement de l'enfant et la survenue de maladies à long terme, donnant lieu au concept des origines développementales de la santé et des maladies, dit du « DOHaD » (Charles et al., 2016). La grossesse est un moment particulier de vulnérabilité en raison de la dépendance nutritionnelle du fœtus vis-à-vis de sa mère. Les premiers travaux réalisés pendant l'épisode de famine en Hollande en 1944-1945 ont montré que les femmes en situation de sous-nutrition pendant le dernier trimestre de grossesse avaient un risque augmenté d'avoir des enfants avec un retard de croissance intra-utérin, tandis qu'une exposition à la famine au premier trimestre était associée à un risque cardiovasculaire à long terme chez l'enfant (Painter et al., 2005). D'autres études dans les années 80, ont montré que les enfants nés avec un faible poids de naissance, ou une restriction de croissance in utero, étaient davantage susceptibles de développer des maladies cardiovasculaires, un diabète et un syndrome métabolique à l'âge adulte que leurs homologues de poids de naissance normal (Barker, 1998; Barker et al., 1986, Barker et al., 1989; Gluckman et al., 2008). La croissance de l'enfant ne serait pas uniquement guidée par un bagage génétique acquis à la conception, mais divers éléments au sein de l'environnement intra-utérin pourraient influencer à différentes périodes critiques le développement des tissus et des organes.

Un apport nutritionnel maternel adéquat est un facteur essentiel au bon déroulement de la grossesse et au développement optimal de l'enfant. Il constitue la seule source prénatale de nutriments. D'après l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), la nutrition correspond à « l'ensemble des apports alimentaires répondant aux besoins de l'organisme ». Définie comme science, la nutrition analyse l'ensemble des processus par lesquels un individu transforme les aliments pour trouver un équilibre nutritionnel et assurer un bon état de santé. L'OMS définit la malnutrition comme la résultante des « carences, excès ou déséquilibres dans l'apport

énergétique et/ou nutritionnel d'une personne ». La malnutrition peut donc se traduire par une carence en certains micronutriments (manque de vitamines et de minéraux essentiels) et également par un état de surcharge pondérale comme le surpoids ou l'obésité.

Les premières études qui ont conduit au développement des hypothèses du concept DOHaD, portaient principalement sur l'enjeu des conditions de privation nutritionnelle. Cependant, dans le contexte épidémiologique actuel des pays développés, la problématique du surpoids et de l'obésité est devenue un sujet tout aussi préoccupant (Delpierre et al., 2016). Un apport calorique maternel excessif, lié à une obésité maternelle ou un gain de poids gestationnel trop important, est associé à un risque d'anomalie de la croissance fœtale et de macrosomie à la naissance (Heude et al., 2012; Yu et al., 2013).

Les recherches en épidémiologie et en biologie du développement suggèrent de plus en plus que le développement optimal des enfants, ainsi que la réduction de leur risque de maladies chroniques à long terme, pourraient être atteints en améliorant l'état nutritionnel des femmes avant la conception (Stephenson et al., 2018). La période préconceptionnelle représente une fenêtre critique importante pour la programmation fœtale et la santé de l'enfant à long terme (Chavatte-Palmer et al., 2016). L'apport en micronutriments au cours de la période préconceptionnelle aurait également un rôle dans des processus épigénétiques majeurs, plus particulièrement dans les voies de méthylation de l'ADN qui ont lieu lors du développement et de la différenciation cellulaire (Anderson et al., 2012).

Le concept de la DOHaD a transformé notre compréhension dans la façon dont la santé d'un individu se façonne et plus particulièrement notre compréhension du développement de nombreuses maladies chroniques acquises, comme les maladies cardio-vasculaires ou le diabète de type 2 (Rial-Sebbag et al., 2016). L'hypothèse selon laquelle des maladies chroniques de l'âge adulte auraient une origine précoce, au cours du développement, implique une nouvelle

approche de prévention des politiques de santé publique, s'appuyant sur ce concept (Rial-Sebbag et al., 2016).

Dans ce contexte, l'objectif de cette thèse était d'étudier le rôle de la nutrition maternelle en période préconceptionnelle sur la croissance fœtale et sur les mécanismes épigénétiques. Dans un premier temps, cette thèse présentera un état de l'art de la question permettant de préciser le contexte et d'introduire les différents objectifs de ce travail de recherche. Dans un second temps, seront détaillées les deux cohortes de naissance EDEN et Elfe sur lesquelles elle repose, ainsi que la méthodologie générale. Ce projet abordera la nutrition maternelle sous deux angles : une première partie explorera l'association entre les apports en micronutriments impliqués dans les processus épigénétiques au cours de l'année précédant la grossesse avec d'une part la croissance fœtale et d'autre part la méthylation de l'ADN placentaire. Une deuxième partie s'intéressera à un autre marqueur clinique de l'état nutritionnel, toujours en période préconceptionnelle, défini par les variations pondérales maternelles l'année avant la grossesse et leurs associations avec le poids de naissance. Ces travaux seront synthétisés, discutés et mis en perspective.

CHAPITRE 1. État de l'art

I. Programmation nutritionnelle

1. Les origines développementales de la santé (DOHaD)

La théorie des origines développementales de la santé et des maladies, dit de la DOHaD, a été développée à la suite de plusieurs travaux ayant montré une relation entre des expositions précoces et la survenue de maladies à long terme chez l'enfant. Dans les années 80, une véritable révolution dans la compréhension des maladies chroniques de l'adulte a été initiée avec les travaux d'un épidémiologiste anglais, dénommé David Barker. Un lien a été démontré entre divers aspects de la croissance de l'enfant avant la naissance ou pendant la petite enfance et la mortalité ; le risque de maladies chroniques ou la présence de facteurs de risque à l'âge adulte ; chez les hommes comme chez les femmes (Charles et al., 2012). L'hypothèse avancée était que les conditions dans lesquelles un individu débute sa vie, dès la période intra-utérine, voire au cours de la période préconceptionnelle, influence sa santé à long terme (Gluckman et al., 2008). Initialement très débattue, cette hypothèse a été renforcée par les sciences expérimentales menées à partir de modèles chez l'animal qui ont démontré une relation causale entre des expositions précoces et le développement de maladies à l'âge adulte.

Chez l'animal, des premiers travaux consistant à induire une restriction alimentaire chez la mère ont montré que celle-ci était associée à des conséquences directes sur le développement du fœtus et de l'adulte. En effet, plusieurs études ont rapporté qu'une restriction alimentaire maternelle pendant la grossesse ou la lactation, était associée à un retard de croissance du fœtus, un risque d'hypertension et/ou une intolérance au glucose chez la progéniture (Desai et al., 1996; Ozanne et al., 1999; Woodall et al., 1996). Dans un autre essai mené chez un modèle rongeur, une sous-nutrition maternelle (un régime à faible teneur en protéines) en période préimplantatoire entraînait une réduction du nombre de cellules blastocytes (au stade du développement embryonnaire précoce), ainsi que des modifications de la croissance postnatale

et notamment un risque d'hypertension artérielle dans la descendance (Kwong et al., 2000). Le mécanisme proposé pour expliquer ce phénomène, appelé « phénotype d'épargne », suggère qu'une altération des apports nutritionnels maternels peut résulter en une adaptation du développement du fœtus, favorisant la croissance d'organes nobles (par exemple le cerveau et les reins) au détriment d'autres organes et aboutissant à un risque augmenté de maladies chroniques à l'âge adulte (Hales et al., 1992).

Depuis, les études épidémiologiques ont contribué à mieux connaître le rôle des diverses expositions environnementales pendant la grossesse et l'impact sur le développement de l'enfant, grâce à la mise en place de cohortes mères-enfants. Ces études ont permis d'apporter des données sur la relation entre diverses expositions mesurées de façon longitudinale pendant la grossesse et l'enfance, qu'il s'agisse de l'environnement physique, nutritionnel ou encore psychosocial et l'état de santé à long terme (Delpierre et al., 2016). Une série récente publiée dans le journal *The Lancet* sous le titre « *Advancing Early Childhood Development: from Science to Scale* » a souligné combien il était important de s'engager dans le monde en faveur du développement du jeune enfant et notamment que les trois premières années de vie étaient déterminantes vis-à-vis du développement de l'enfant et de sa santé à long terme (Black et al., 2017). Le concept des « 1000 premiers jours » défini par l'OMS comme la période allant de la conception aux deux premières années de l'enfant, constitue ainsi une fenêtre unique au cours de laquelle l'environnement serait impliqué dans la programmation fœtale, la santé et le risque futur de maladie d'un individu. La théorie de la DOHAD permet d'envisager une approche globale parent-enfant afin de prévenir le risque de maladies ultérieures non contagieuses (comme l'obésité, le diabète...) par la promotion d'un environnement favorable au développement harmonieux du fœtus et du nouveau-né.

2. Importance de la période préconceptionnelle

Les données recueillies à l'issue de l'épisode de famine Hollandaise en 1944-1945, comme décrit en introduction générale, ont permis de comprendre que les effets observés sur le développement de l'enfant différaient selon la période d'exposition à la famine (Schulz, 2010). La nutrition maternelle aurait un impact différent selon les fenêtres d'expositions et les phases du développement correspondantes. Une série d'articles récents publiés en 2018 dans la revue *The Lancet*, soulignait plus particulièrement l'importance de la nutrition en période préconceptionnelle pour la programmation fœtale (Barker et al., 2018; Fleming et al., 2018; Stephenson et al., 2018). D'une part, à travers les résultats de ces revues de la littérature, il apparaît notamment que les interventions mises en place concernant l'alimentation des femmes obèses pendant la grossesse, pourraient réduire la prise de poids gestationnelle, mais avec un impact insuffisant sur les autres issues de la grossesse et la croissance fœtale. D'autre part, la supplémentation multiple en micronutriment pendant la grossesse semblerait en réalité introduite trop tardivement et insuffisamment pour améliorer fondamentalement le développement de l'enfant (Stephenson et al., 2018). Ces interventions menées pendant la grossesse seraient trop tardives, et plus d'attention devrait être portée à la période préconceptionnelle (Stephenson et al., 2018).

Les soins préconceptionnels ont été définis dans la littérature comme « toute intervention fournie aux femmes et aux couples en âge de procréer, quel que soit leur désir de grossesse, avant la grossesse, pour améliorer l'état de santé des femmes, des nouveau-nés et des enfants » (Dean et al., 2014). Cependant, il n'y a pas de consensus exact sur la durée de la période préconceptionnelle. De nombreuses grossesses ne sont pas planifiées et le délai de conception varie considérablement d'un couple à l'autre. Pour cela, certaines études utilisent la période de un an avant la grossesse comme une approximation de la période préconceptionnelle (Dean et al., 2013). Mais la planification de la grossesse est aussi associée à un ensemble de

comportements de santé avant la conception. Les auteurs de la série publiée dans le Lancet proposent ainsi trois caractérisations de la période préconceptionnelle relatives au développement de l'embryon ou indiquant des mesures à prendre au niveau de l'individu ou de la population. (Stephenson et al., 2018) :

- Définition biologique : période critique qui s'étend sur les semaines entourant la conception, lorsque les gamètes arrivent à maturité, que la fécondation a lieu et que l'embryon en développement se forme.
- Définition individuelle : la période de préconception commence lorsqu'une femme ou un couple décide d'avoir un enfant, et peuvent modifier leur comportement alimentaire ou leur mode de vie pour atteindre un objectif de santé.
- Définition à échelle plus large en santé publique : la période préconceptionnelle peut se rapporter à une phase sensible du parcours de vie, comme l'adolescence, lorsque les comportements de santé affectant l'alimentation, l'exercice et le risque d'obésité, ainsi que le tabagisme et la consommation d'alcool, s'installent en amont d'une première grossesse.

Enfin, si les études épidémiologiques se sont beaucoup intéressées à cette théorie de la DOHAD, les mécanismes sous-jacents pouvant conduire à la programmation fœtale restent encore peu connus. Ces dernières années, les preuves de l'implication de mécanismes épigénétiques dans les liens entre expositions environnementales précoces et effets à long terme ont été établies chez l'homme (Charles et al., 2012) (**Figure 1.1**).

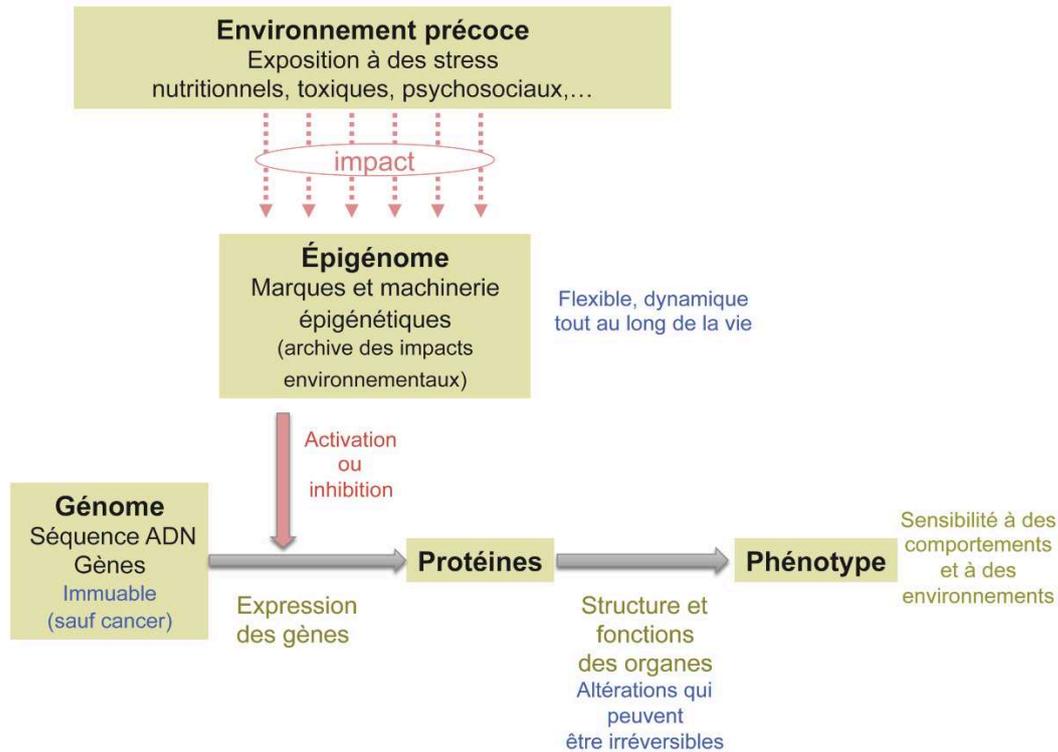


Figure 1.1 : Expositions environnementales et épigénétique, d'après (Charles et al., 2012)

L'épigénétique permet aujourd'hui de mieux comprendre comment des expositions précoces peuvent agir sur la biologie en modifiant le niveau d'expression des gènes. De récentes données scientifiques ont mis en évidence que les marques épigénétiques semblent particulièrement sensibles aux impacts de l'environnement au moment où le développement, la différenciation cellulaire et l'organogenèse se mettent en place (Junien et al., 2016). Cependant, les études en épigénétique ne sont encore qu'à leur début et soulignent la complexité de ces mécanismes. Il y a donc un enjeu aujourd'hui de continuer à explorer comment certains facteurs (notamment nutritionnels associés à la période prénatale) agissent sur les mécanismes épigénétiques.

3. Mécanismes épigénétiques

En 1942, Conrad H Waddington définissait l'épigénétique comme « l'étude des mécanismes du développement par lesquels les gènes provoquent des effets phénotypiques ». Par la suite, la compréhension progressive des fondements moléculaires de ces mécanismes a permis de préciser la définition de l'épigénétique comme l'étude des mécanismes qui régulent l'expression génique sans modification de la séquence de l'ADN. Les mécanismes épigénétiques sont essentiels à de nombreuses fonctions de l'organisme, mais s'ils se produisent de manière inappropriée, ils peuvent avoir des effets négatifs majeurs sur la santé (Weinhold, 2006). Toutes les cellules d'un individu ont le même patrimoine génétique, mais celui-ci sera exprimé différemment selon le type cellulaire.

Trois mécanismes principaux sont décrits : la méthylation de l'ADN qui est la plus étudiée, les modifications des histones et les ARN non-codants (Gibney et al., 2010). Au cours des dernières décennies, plusieurs découvertes ont été faites sur la méthylation de l'ADN et sur son importance pour le développement embryonnaire, la différenciation cellulaire au cours du développement ainsi que le maintien de schémas d'expression génétique spécifiques aux tissus (Junien et al., 2016; Wajed et al., 2001). D'un point de vue moléculaire, la méthylation de l'ADN est un processus biochimique qui fait référence à l'addition d'un groupe méthyle (CH₃) à la cinquième position du carbone d'une base d'ADN, généralement un résidu de cytosine qui est suivi sur le même brin par la guanine, également connu sous le nom de site CpG. Dans le génome humain, les dinucléotides CpGs sont distribués de manière non homogène et souvent concentrés dans des régions denses en sites CpG, appelées "îlots CpGs" qui couvrent environ la moitié du génome (Aguilera et al., 2010) (**Figure 1.2**).

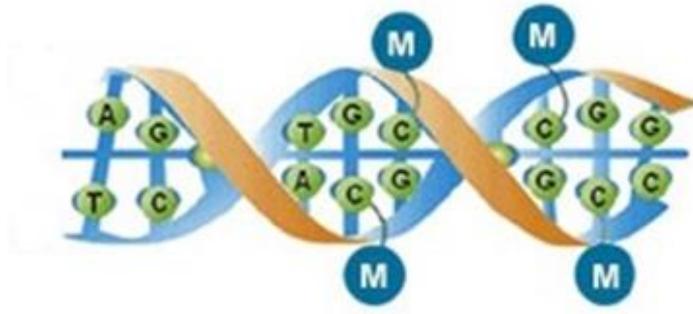


Figure 1.2 : Méthylation de l'ADN sur les sites dits « CpG » (Colombel et al. 2010)

La méthylation de l'ADN consiste en l'ajout d'un groupement méthyle sur les résidus cytosines dans les dinucléotides CpG. Les sites CpG sont répartis de façon hétérogène dans le génome mais se trouvent plus spécifiquement dans les séquences répétées appelées « îlots CpG », situés au niveau de régions promotrices de gènes et associés avec le niveau d'expression de ces derniers. Les îlots sont des régions enrichies à approximativement 60 à 70% de sites CpG et possèdent une taille d'environ 850 à 1800 paires de bases.

Les périodes pré- et/ou péri-conceptionnelles (avant et juste après la fécondation jusqu'au stade embryonnaire blastocyste) constituent des périodes sensibles aux expositions environnementales, en raison de processus épigénétiques majeurs qui se mettent en place (Chavatte-Palmer et al., 2016). Lors de la fécondation, le zygote nouvellement formé subit une déméthylation globale, suivie d'une méthylation de novo à l'échelle du génome après l'implantation. Cet effacement des marques épigénétiques est nécessaire à la pluripotence des cellules, c'est-à-dire la capacité à se différencier en type cellulaire. De nouveaux schémas de méthylation vont être établis à partir de cellules pluripotentes d'une manière spécifique à la lignée et conduisant à la différenciation des organes et des tissus (Dominguez-Salas et al., 2012; Waterland et al., 2007; Weber, 2011). L'épigénétique est donc un processus fondamental de la différenciation cellulaire et du développement. L'épigénétique apparaît comme un mécanisme de mémorisation des expositions précoces et pourrait contribuer à la « plasticité développementale de l'individu ».

Les marques épigénétiques n'entraînent pas de modifications de la séquence de l'ADN et sont par nature flexibles et en principe réversibles. Cependant, certaines marques épigénétiques peuvent être transmises entre les générations. Lorsque des modifications épigénétiques se produisent dans la lignée germinale lors de la détermination du sexe des gonades embryonnaires, elles deviennent programmées de façon permanente. L'épigénome altéré peut alors être transmis aux générations suivantes, d'une manière spécifique au sexe (Dominguez-Salas et al., 2012). Par ailleurs certains marqueurs épigénétiques appelés épiallèles métastables présentent une régulation épigénétique établie au stade d'embryon précoce et indépendamment de la différenciation cellulaire. L'état épigénétique de ces marqueurs sera conservé de façon similaire au sein des différents tissus avec un degré de méthylation identique des gènes et peut entraîner des conséquences phénotypiques permanentes (Dominguez-Salas et al., 2012).

4. Rôle des micronutriments

La nutrition constitue un des facteurs importants dans la modulation de l'expression des gènes. Aujourd'hui, la plupart des évidences scientifiques dans ce domaine reposent sur des études animales. Des modèles développés chez les souris ont montré comment une exposition nutritionnelle précoce était impliquée dans les mécanismes épigénétiques, la programmation de l'individu et de son phénotype. Un exemple classique est celui du gène *agouti*, impliqué dans la détermination de la couleur du pelage chez la souris : chez des souris génétiquement identiques, certaines ont un pelage brun chiné et d'autre un pelage jaune (Dominguez-Salas et al., 2012). Les souris jaunes agouti (A^{vy}) ont été décrites comme à risque d'obésité et d'hyperinsulinémie. L'allèle du gène *agouti*, A^{vy} a la particularité d'avoir une expression différentielle suivant les individus. Il y aurait une corrélation inverse entre la méthylation de l'allèle A^{vy} et l'intensité de son expression. Une hypométhylation entraînerait une surexpression

du gène *agouti* impliqué dans la régulation de la production de pigments jaunes et dans le risque d'obésité. Inversement, lorsque le pourcentage de méthylation augmente, la synthèse du pigment jaune est régulée à la baisse entraînant un pelage brun ou « pseudoagouti » (Waterland et al., 2003). Une étude a testé l'hypothèse selon laquelle les donneurs de méthyle seraient impliqués dans l'expression de ce gène. Elle a montré qu'une supplémentation d'une mère agouti en micronutriments (acide folique, vitamine B12, choline et bétaine) modifiait le phénotype de la progéniture A^{vy} et la couleur du pelage vers le brun, concomitant à une hyperméthylation du gène *agouti* viable (Waterland et al., 2003).

Le terme « micronutriments » est utilisé pour définir l'ensemble des vitamines et oligo-éléments essentiels (Black, 2003). Certains micronutriments, comme les vitamines B2, B6, B9, B12, les folates, la choline, bétaine ou méthionine, ont été décrits comme essentiels dans le fonctionnement du cycle de méthylation de l'ADN (Anderson et al., 2012). Ces derniers méritent une attention particulière car ils soutiennent de multiples processus physiologiques essentiels au développement humain (Anderson et al., 2012). Ils interviennent dans des réactions regroupées sous le nom de métabolisme monocarboné ou « métabolisme C1 ». Ces réactions sont impliquées dans des processus cellulaires clés comme la synthèse des nucléotides et de certains acides aminés ainsi qu'à la synthèse du métabolite S-adénosylméthionine. Ce dernier se révèle être le donneur universel de groupements méthyles et intervient dans l'ensemble des réactions de méthylation nécessaires au métabolisme et au développement de l'organisme. Une déficience en micronutriments peut résulter d'une prise alimentaire de qualité inadéquate ou d'une prise insuffisante (sous-nutrition) et constituer ainsi un état de malnutrition maternelle. Toute altération de l'apport en micronutriments liée au fonctionnement du cycle de méthylation pourrait ainsi affecter le métabolisme cellulaire, la prolifération des cellules et par la suite la croissance du fœtus (Gernand et al., 2016).

Le rôle des différents micronutriments impliqués dans le processus de méthylation de l'ADN sont illustrés sur la **Figure 1.3** : transporteurs, donneurs de méthyle (comme les folates, la choline, bétaine et méthionine), ou cofacteurs d'enzymes impliquées dans les réactions de transferts de ces groupes vers l'ADN (pour les vitamines B2, B6 et B12) (Anderson et al., 2012).

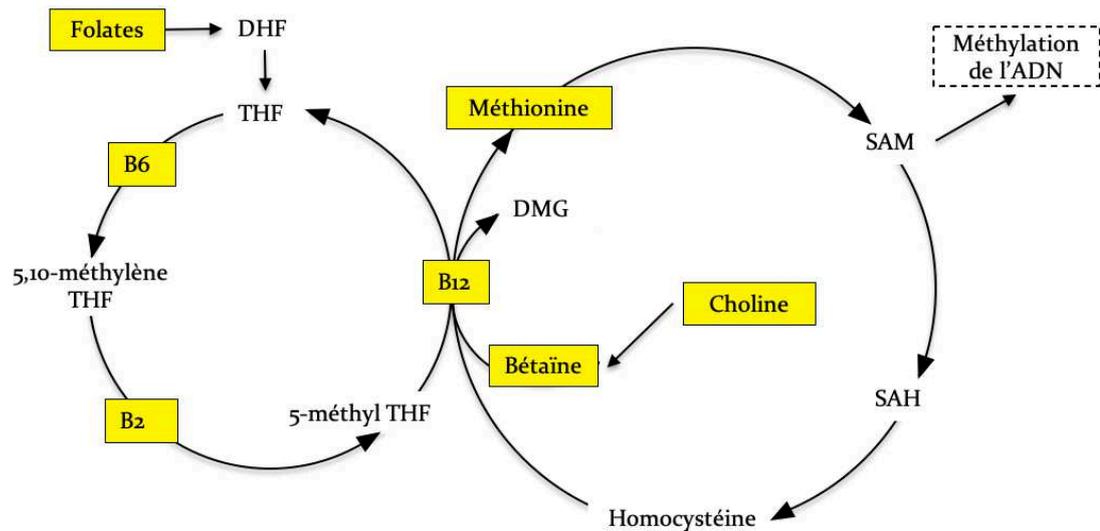


Figure 1.3 : Implication des micronutriments dans le métabolisme C1. Traduit et adapté de (Anderson et al., 2012)

Les micronutriments apportés par l'alimentation sont en jaune. La vitamine B6 est un cofacteur de la sérine hydroxyméthyltransférase dans la conversion du tétrahydrofolate (THF) en 5,10-méthylène THF. La vitamine B2 est un précurseur du FAD, qui est un cofacteur de la méthylènetétrahydrofolate réductase (MTHFR) dans la conversion du 5,10-méthylène THF en 5-méthyl THF. La vitamine B12 est un précurseur de la méthionine synthase, impliquée dans la production de méthionine à partir d'homocystéine et de bétaine. DHF, dihydrofolate ; FAD, flavine-adenine-dinucléotide ; DMG, diméthylglycine ; MTHFR, méthylènetétrahydrofolate réductase ; SAH, S-adenosylhomocystéine ; THF, tétrahydrofolate.

5. Rôle du placenta

Le placenta joue un rôle fondamental dans les différents échanges materno-fœtaux au cours de la grossesse et présente des fonctions endocrines indispensables au bon maintien de la grossesse ainsi qu'au développement du fœtus et à l'adaptation de l'organisme maternel (Jansson et al., 2013). Le placenta par sa fonction nutritive et endocrine va permettre d'assurer le transfert des nutriments vers le fœtus. Il a été montré que la consommation alimentaire des mères et son

statut pondéral pouvaient exercer des effets majeurs sur la balance entre les besoins nutritifs du fœtus et la capacité placentaire à y répondre (Morgan et al., 2003). Une altération de la situation nutritionnelle de la mère (comme la sous-nutrition) peut impacter le poids du placenta, sa fonction de transport des divers nutriments, ainsi que son développement vasculaire (formation de novo des vaisseaux) et le processus d'angiogenèse (la formation de nouvelles branches à partir du réseau vasculaire préexistant) (Belkacemi et al., 2010). Une revue a souligné que la nutrition maternelle pourrait influencer l'expression des gènes impliqués dans le développement du placenta par la régulation de divers facteurs de transcription, tels que le *récepteur activé par les proliférateurs de peroxyosomes* (peroxisome proliferator activated receptor PPAR) (Meher et al., 2015). Plus particulièrement, des études animales ont montré que l'apport en micronutriments (folates et vitamine B) ainsi que les acides gras oméga-3 pourraient potentiellement moduler l'activité de ce récepteur nucléaire pendant la placentation et l'angiogenèse (Meher et al., 2015). Enfin, des modifications pathologiques du placenta ont été décrites comme pouvant induire une anomalie de croissance chez l'enfant. Lorsque la fonction placentaire est insuffisante pour assurer la croissance foetale, un risque de petit poids de naissance ou de retard de croissance intra-utérin a été observé (Wu et al., 2004).

II. Apport en micronutriments, développement fœtal et épigénétique

Nous avons vu que certains micronutriments, pouvant être apportés par l'alimentation maternelle ou comme supplémentation (les folates, les vitamines B, la choline, bêtaïne et méthionine), jouent un rôle essentiel dans le métabolisme C1. Après avoir établi dans la première partie, les fondements biologiques et mécanistiques des origines développementales de la santé, nous allons décrire les effets observés de l'apport en ces micronutriments sur la croissance foetale en population, ainsi que sur les mécanismes épigénétiques.

Les vitamines B2, B6, B9, B12 sont des vitamines hydrosolubles, et certaines comme les vitamines B9 et B12 sont présentes que dans certains groupes d'aliments. Le **tableau 1.1** montre les principales sources alimentaires (Anderson et al., 2012; de Gavelle et al., 2017; Le Grusse et al., 1993; Ueland, 2011; Zeisel et al., 2003).

Tableau 1.1 : Principales sources d'apport alimentaire des nutriments

Nutriments	Principales sources d'apport
Vitamine B9 ou folates (Le Grusse et al., 1993)	Sources importantes : légumes verts (notamment épinards, asperges, salades) Autres sources : céréales, viandes, poissons, œufs, produits laitiers et fruits
Vitamine B2 ou riboflavine (Le Grusse et al., 1993)	Foie, fromages, produits laitiers, viandes, poissons, oeufs
Vitamine B6 ou pyridoxine (Le Grusse et al., 1993)	Viande, poisson, foie, germes de blé, produits laitiers et céréales
Vitamine B12 ou cobalamine (Le Grusse et al., 1993)	Produits animaux : foie, viande, œuf, poissons
Choline (Ueland, 2011; Zeisel et al., 2003)	Viande, foie, soja et germe de blé
Bétaïne (Ueland, 2011; Zeisel et al., 2003)	Blé, céréales, féculents, pain, épinards, betterave
Méthionine (de Gavelle et al., 2017)	Viande, poissons, œufs, fromage

1. Apport en micronutriments et développement foetal en population

a. Folates et supplémentation en acide folique

Parmi les micronutriments décrits ci-dessus, la vitamine B9 (ou folate) est un micronutriment clé pour le développement cellulaire, placentaire et cérébral (Morse, 2012; Williams et al., 2011). L'importance d'un apport périconceptionnel adéquat en folates a été largement reconnue, ainsi que le lien entre le statut maternel en folates et le neurodéveloppement de l'enfant (McGee et al., 2018). Depuis, plusieurs essais randomisés ont prouvé l'efficacité de la supplémentation en acide folique pendant la période périconceptionnelle pour la prévention des anomalies du tube neural (De-Regil et al., 2015). En France la Haute Autorité de Santé (HAS) recommande une supplémentation médicamenteuse en acide folique de 0,4 mg/jour pour toutes les femmes ayant un désir de grossesse (en période préconceptionnelle) et cela jusque 12 semaines d'aménorrhées (HAS (2009), 2009). Les dernières recommandations nutritionnelles chez la femme enceinte publiées par l'ANSES (ANSES, 2020) recommandent également une adaptation de l'alimentation afin d'augmenter les aliments riches en acide folique. Cependant d'après les données de l'enquête nationale périnatale (ENP) de 2016, peu de femmes ont été supplémentées, puisque seulement 23,2% des femmes auraient consommé de l'acide folique avant la grossesse (Blondel et al., 2017). D'autres études ont montré une association entre les folates ou la supplémentation en acide folique et d'autres aspects du développement de l'enfant. Une revue systématique et méta-analyse (menée dans les pays développés ou en voie de développement), a rapporté une association positive entre la prise de folates (folates apportés par l'alimentation et en supplémentation) pendant la grossesse et le poids de naissance (Fekete et al., 2012), mais aucune association n'a été retrouvée avec le poids du placenta ni la durée de gestation. Une autre étude menée aux Pays-Bas a montré qu'un faible apport en folates (quintile le plus bas comparé au quintile le plus élevé) en début de grossesse était associé à un poids

placentaire et poids de naissance diminué, mais aussi à une augmentation du risque de prématurité, de pré-éclampsie et de petit poids pour l'âge gestationnel (Bergen et al., 2012).

b. Cofacteurs : Vitamine B2, B6 et B12

La vitamine B12 ou cobalamine joue un rôle non seulement de cofacteur dans la synthèse de la méthionine mais aussi pour la multiplication cellulaire pendant la grossesse (McGee et al., 2018). Cependant, les données sur le rôle de la vitamine B12 en lien avec la croissance fœtale restent encore peu claires. Une méta-analyse a révélé qu'une concentration insuffisante de vitamine B12 (définie comme <148 pmol/L) dans les échantillons de sérum ou de plasma maternels pendant la grossesse était associée à un risque de poids de naissance $<2,500$ g et à un risque accru de naissance prématurée (Rogne et al. 2017). Tandis que d'autres études menées en Australie et en Asie n'ont pas retrouvé d'association entre la concentration maternelle en vitamine B12 mesurée dans le sérum vers 20 semaines de grossesse (Furness et al., 2013) ou dans le sang de cordon (Lindblad et al., 2005) et le risque de retard de croissance intra-utérin chez l'enfant.

Ces résultats controversés pourraient s'expliquer par des variations liées au moment où la concentration en vitamine B12 a été mesurée ou liées au contexte de l'étude. Dans les populations d'Asie du Sud, une faible concentration en vitamine B12 maternelle pendant la grossesse ou néonatale était associée à un risque de retard de croissance intra-utérin (Muthayya et al. 2006). Cependant, les nouveau-nés en Asie du Sud ont un poids de naissance plus faible que les nourrissons d'autres groupes ethniques, et la prévalence du retard de croissance chez l'enfant pourrait être surestimé (Kierans et al., 2008).

Enfin, certaines études ont montré des associations positives entre l'apport en vitamine B2 pendant la grossesse et le poids et taille à la naissance (Badart-Smook et al., 1997), ainsi

qu'entre la concentration plasmatique en vitamine B6 pendant la grossesse et la croissance fœtale (Chang, 1999) ; tandis que d'autres n'ont pas retrouvé d'associations (Shrim et al., 2006).

c. Choline, bétaine et méthionine

Peu de données sont disponibles concernant le rôle de la choline et de la bétaine sur la croissance fœtale et les résultats semblent également controversés (McGee et al., 2018). La choline a été décrite comme impliquée dans la synthèse des phospholipides des membranes cellulaires et le fonctionnement du système nerveux (Ueland, 2011). La bétaine est également importante en raison de son rôle de donneur de groupes méthyle à l'homocystéine pour former la méthionine (Ueland, 2011). Deux larges études ont rapporté une association positive entre la concentration en choline dans le sérum maternel prélevé au cours de la grossesse et l'adiposité ainsi que l'indice de masse corporel à la naissance (van Lee et al. 2019). Une association inverse a été décrite entre la concentration plasmatique maternelle en bétaine pendant la grossesse, le poids de naissance et la masse grasse abdominale (van Lee et al. 2016). Inversement, des résultats contrastés ont été rapportés entre ces biomarqueurs mesurés dans le sang de cordon et le poids de naissance (Hogeveen et al., 2013; Ivorra et al., 2012). La méthionine est un acide aminé qui va servir de précurseur à la S-adénosylméthionine, le donneur de méthyle cellulaire universel. Deux études observationnelles ont montré une association positive entre les taux de méthionine mesurés pendant la grossesse et le poids de naissance (Du et al., 2019; Monsen et al., 2006). Une synthèse des résultats des études discutées dans cette partie est présentée dans le **tableau 1.2.**

Tableau 1.2 : Études menées chez l'humain : micronutriments et développement du fœtus

	Poids de naissance	AFTN*	Développement cérébral	Adiposité et IMC
Folate (Vitamine B9)	×		×	
Supplémentation en acide folique	×	×	×	
Choline			×	×
Bétaïne	×			×
Méthionine	×			
Vitamine B12	×			
Vitamines B2, B6	×			

*Anomalie de fermeture du tube neural

d. Supplémentation multi-vitaminique

Il a été largement montré que la supplémentation en acide folique dès la période préconceptionnelle était importante pour la prévention des anomalies du tube neural (De-Regil et al., 2015). En dehors de cette supplémentation, l'état actuel de la littérature ne permet pas de recommander des compléments multi-vitaminiques (Koletzko et al., 2019). Les effets positifs et l'innocuité des compléments multi-vitaminiques n'ont pas été suffisamment démontrés pour qu'ils soient prescrits de manière systématique (Koletzko et al., 2019). Cependant, la supplémentation peut être indiquée en cas de carence ou de déficience en ces micronutriments. Une carence vitaminique peut exister au sein de groupes de population à risque, déterminés par des circonstances physiologiques ou pathologiques ou des facteurs spécifiques (Le Grusse et al., 1993) ; tandis que la déficience est caractérisée par des réserves vitaminiques insuffisantes pour maintenir la physiologie de l'organisme mais sans manifestation clinique apparente (Le Grusse et al., 1993). Les carences en micronutriments multiples coexistent souvent chez les femmes en âge de procréer notamment dans les pays à faibles et moyens revenus. Elles sont

exacerbées pendant la grossesse en raison des exigences accrues, ce qui peut avoir des effets néfastes sur la mère et le fœtus (Haider et al., 2017). En 1999, l'UNICEF (Fonds des Nations unies pour l'enfance), l'OMS et l'UNU (l'Université des Nations Unies) ont proposé une supplémentation par comprimé multi-vitaminique (« multiple micronutrient preparation (MMN) ») comprenant un apport en différentes vitamines (B2, B6, B9, B12, C, D...) et minéraux (zinc, iode...) (Mei et al., 2018). Une récente revue Cochrane sur la supplémentation MMN chez les femmes enceintes a évalué 17 essais randomisés, dont les principaux ont été réalisés dans les pays à faible ou moyen revenu. La supplémentation multi-vitaminique et en minéraux était notamment associée à une diminution significative du nombre d'enfants identifiés comme faible poids de naissance (< 2,500 g) ou de petit poids de naissance pour l'âge gestationnel (< 10^{ème} percentile) (Haider et al., 2017). Si l'intérêt d'une supplémentation multiple a été démontré dans les pays à faible et moyen revenu, d'autres études sont nécessaires pour évaluer l'effet de la supplémentation sur le développement de l'enfant, notamment dans une population présentant une alimentation globale de bonne qualité.

2. Apport en micronutriments et méthylation de l'ADN

Nous avons vu dans les paragraphes précédents que les micronutriments impliqués dans les voies de méthylation de l'ADN sont nécessaires, tout au long de la vie, à la méthylation de l'ADN et à son maintien pendant les étapes de prolifération cellulaire (Zeisel, 2009). Une carence ou un excès nutritionnel chez la mère peut donc entraîner des anomalies permanentes de méthylation de l'ADN (hypo- ou hyperméthylation) avec le potentiel d'affecter l'expression des gènes dans la descendance (Waterland 2006).

Chez l'homme, il existe un nombre limité d'études ayant évalué le lien entre l'apport en micronutriments et la méthylation de l'ADN. Une étude transversale a été menée chez les femmes enceintes pour mesurer les profils de méthylation de deux régions promotrices P2 et

P3 du gène *IGF2* (Ba et al. 2011). L'*IGF2* est connu pour être un déterminant de la croissance fœtale. Les profils de méthylation des deux promoteurs P2 et P3 n'étaient pas associés aux taux sériques des folates mesurés dans le sang de cordon et le sang maternel. Tandis que le profil de méthylation du P3 était associé inversement au taux sérique de vitamine B12 mesuré dans le sang maternel. Un essai randomisé contrôlé (EpiFASSTT essai) a montré récemment que la supplémentation en acide folique au cours du 2^{ème} et 3^{ème} trimestre impactait la méthylation de certains gènes dans le sang de cordon et était associée à une hyperméthylation d'une région différenciellement méthylée en amont du régulateur d'empreinte *ZFP57*. *ZFP57* est décrit comme facteur majeur dans le maintien des empreintes embryonnaires préimplantatoires (Irwin et al., 2019).

Peu d'études ont également évalué l'effet combiné de ces micronutriments impliqués dans le cycle de méthylation de l'ADN en population. En Gambie, les nourrissons selon qu'ils étaient conçus pendant la saison sèche ou humide (marquées par des variations nutritionnelles importantes selon les saisons) présentaient des niveaux de méthylation de l'ADN différents pour un certain nombre de sites, qui étaient corrélés au statut en micronutriments donneurs de méthyle mesurés dans le plasma maternel (Dominguez-Salas et al. 2014; Waterland et al. 2010). Dans une autre étude en Belgique, une supplémentation en acide folique et la richesse de l'alimentation en donneurs de méthyle au début et pendant la grossesse étaient associées à des modifications de la méthylation de certains sites localisés sur des gènes de l'ADN buccal du nourrisson, sélectionnés pour leur implication dans la croissance et le métabolisme (Pauwels et al., 2017). Une étude évaluant l'association entre les donneurs de méthyle et la méthylation globale de l'ADN a rapporté une association positive entre l'apport en folates, en choline, bêtaïne et méthionine déclarés dans un questionnaire de fréquence alimentaire et la méthylation globale de l'ADN au 3^{ème} trimestre (Pauwels et al., 2016). D'autres données sur le lien entre la consommation en micronutriments pendant la grossesse (en folates, vitamine B12, bêtaïne et

choline), définie à l'aide d'un questionnaire alimentaire, n'ont pas montré d'association avec la méthylation globale de l'ADN dans le sang de cordon (évalué par la séquence LINE-1, longs éléments nucléaires intercalés) (Boeke et al., 2012).

La littérature souligne également l'importance de tenir compte pour l'interprétation des résultats, du moment de l'exposition et de la spécificité tissulaire des profils de méthylation de l'ADN (Anderson et al., 2012). Enfin, peu de données ont été rapportées à ce jour sur la méthylation de l'ADN placentaire (Jiang et al., 2012; Tserga et al., 2017), le placenta étant pourtant un organe majeur pour les échanges nutritifs au cours de la grossesse. Dans ce contexte, un des premiers objectifs de la thèse était d'étudier l'association entre l'apport en micronutriments impliqués dans les voies de méthylation de l'ADN, la croissance fœtale et l'épigénétique placentaire.

III. Variations pondérales maternelles avant la grossesse

Ces dernières années, la compréhension des mécanismes sous-jacents du concept du DOHAD a souligné le rôle important de l'épigénétique. Au-delà des effets mécanistiques liés à l'épigénétique, d'autres mécanismes liés au métabolisme maternel sont également impliqués dans le développement fœtal.

1. Problématique du surpoids et de l'obésité

Les premières études qui ont conduit au développement des hypothèses du DOHAD, portaient principalement sur l'enjeu des conditions de privation nutritionnelle, mais dans le contexte épidémiologique actuel des pays développés, la problématique du surpoids et de l'obésité est devenue prépondérante (Delpierre et al., 2016). De nombreuses femmes commencent leur grossesse en France en situation de surcharge pondérale, d'après les enquêtes nationales récentes. D'après les données de l'Enquête Nationale Périnatale (ENP) en France en 2016, la

prévalence du surpoids et de l'obésité en début de grossesse était respectivement de 20 et 12 % (Blondel et al., 2017). Cette proportion a augmenté au cours des dernières années, puisque la prévalence de l'obésité à la conception dans les précédentes enquêtes ENP était de 7,5 et 9,8 % en 2003 et 2010 respectivement. Dans la cohorte nationale de naissance Elfe, parmi les femmes ayant accouché en 2011, la prévalence de l'obésité en début de grossesse était de 10,8 % (Kadawathagedara et al., 2017). Or l'obésité maternelle a été décrite comme entraînant des complications de la grossesse susceptibles de retentir sur la croissance fœtale et la santé à long terme de l'enfant. Des études observationnelles ont montré que l'obésité maternelle mais aussi la prise de poids gestationnelle excessive étaient associées à un risque accru de macrosomie à la naissance (Heude et al., 2012; Sharp et al., 2015). L'obésité maternelle serait également associée à une augmentation de l'indice de masse corporelle et du risque de diabète de type 2 à long terme chez l'enfant (Dabelea et al., 2008; McMillen et al., 2008). D'autres complications gestationnelles ont été décrites, associées au surpoids maternel, dont le risque d'hypertension, de diabète gestationnel et de césarienne (Ovesen et al., 2011; Rasmussen et al., 2009).

Des études concernant les femmes ayant subi une intervention chirurgicale pour obésité sévère (chirurgie bariatrique) avant une grossesse, suggèrent que la perte de poids suite à la chirurgie aurait des effets bénéfiques sur le devenir de cette grossesse et la réduction du risque de macrosomie chez l'enfant, bien que ces femmes nécessitent un suivi médical rapproché par rapport au risque de carences vitaminiques (Dalfrà et al., 2012; Hezelgrave et al., 2011). La plupart des études ont démontré des relations entre le statut pondéral maternel à la conception ou la prise de poids gestationnelle et le développement de l'enfant, mais très peu ont évalué l'association entre les variations de poids maternelles préconceptionnelles et la croissance fœtale (Jacota, 2016).

2. Variations pondérales préconceptionnelles

Les différentes dynamiques de poids avant la grossesse pourraient jouer un rôle spécifique comparées aux variations de poids gestationnelles sur le développement de l'enfant (Zhang et al., 2011). Pour un même statut pondéral en début de grossesse, la connaissance de la trajectoire pondérale antérieure apporte une indication supplémentaire sur l'état nutritionnel et métabolique, comme par exemple une insulino-résistance plus importante en cas de dynamique de prise de poids (Zhang et al., 2011) ou de possibles carences nutritionnelles en cas de perte de poids liée à un régime trop restrictif et mal équilibré.

Plusieurs études animales se sont intéressées à l'impact du poids pré ou périconceptionnel de la mère et ses effets sur la descendance (Matusiak et al., 2014; McCurdy et al., 2009; Rattanatrasy et al., 2010). Une étude menée chez des singes, s'est intéressée à l'effet d'un régime alimentaire riche en graisses sur le métabolisme du fœtus. Les fœtus issus de mères maigres ou obèses ayant suivi ce régime avant la grossesse, présentaient un taux de triglycérides hépatiques plus élevé, ainsi que des signes de stress oxydatif hépatique et une augmentation de l'expression des gènes impliqués dans la néoglucogenèse (McCurdy et al., 2009). Il a aussi été montré qu'une surnutrition maternelle pendant la période périconceptionnelle serait associée à une augmentation de la masse grasse de la descendance (Rattanatrasy et al., 2010). Ces dernières études soulignaient également qu'une perte de poids ou un régime alimentaire pauvre en graisse chez les mères obèses étaient associés à une réduction de la masse grasse et une amélioration des fonctions métaboliques et hépatiques chez la progéniture (McCurdy et al., 2009; Rattanatrasy et al., 2010). Cependant, il a été rapporté qu'une perte de poids excessive pendant la période périconceptionnelle était associée à des risques accrus de troubles métaboliques (altération de la sécrétion de l'insuline) (Todd et al., 2009), de perturbations endocriniennes (augmentation du taux de cortisol ou leptine) et des modifications épigénétiques dans la descendance (Matusiak et al., 2014; Zhang et al., 2011) (**Figure 1.4**).

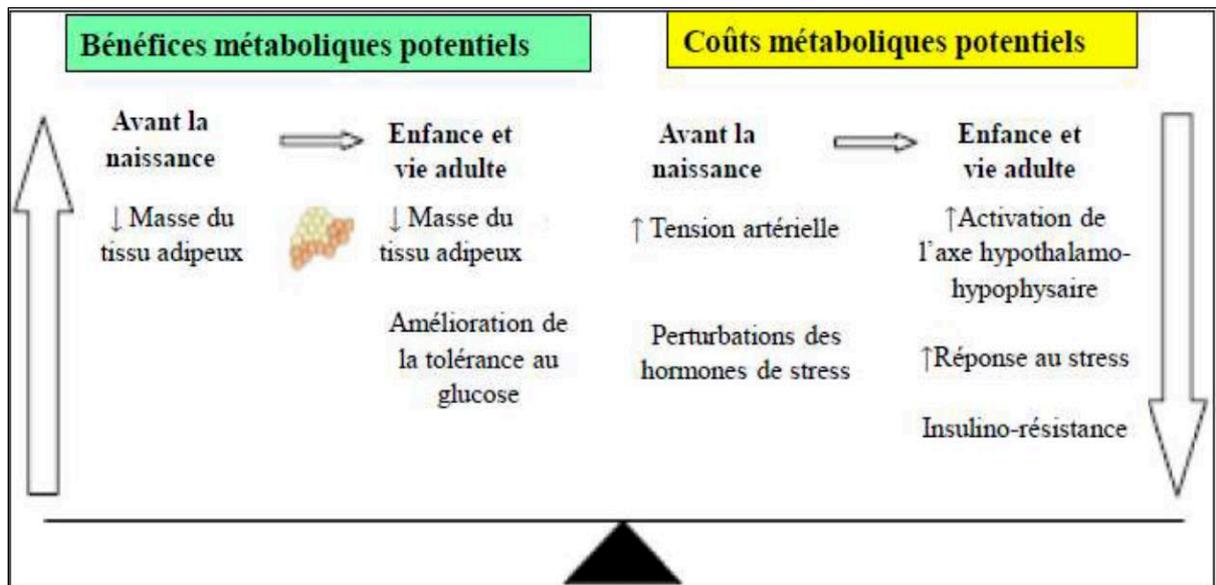


Figure 1.4 : Résultats d'études animales concernant les conséquences métaboliques sur la descendance d'une perte de poids chez la mère en période préconceptionnelle. Traduit et adapté de (Zhang et al., 2011)

Chez l'humain, les principales études sur le sujet ont ciblé les variations de poids entre deux grossesses (Getahun et al., 2007; Jain et al., 2013; Villamor et al., 2006). Chez les femmes obèses, un gain de poids entre deux grossesses a été décrit comme associé à un risque augmenté de complications pendant la grossesse (diabète, hypertension gestationnelle) et un risque de macrosomie à la naissance (Getahun et al., 2007; Knight-Agarwal et al., 2016; Villamor et al., 2006; Wallace et al., 2014). Mais il a aussi été mis en évidence que l'augmentation de l'IMC maternel entre deux grossesses pouvait engendrer un risque accru de macrosomie même si l'IMC maternel était normal aux cours des deux grossesses (Getahun et al., 2007; Jain et al., 2013; Villamor et al., 2006).

Ces dernières études observationnelles récentes et une méta-analyse ont révélé inversement qu'une perte de poids entre deux grossesses chez les femmes obèses diminuait le risque de macrosomie (Getahun et al., 2007; Jain et al., 2013; Timmermans et al., 2020; Villamor et al., 2006). Cependant, le bénéfice de la perte de poids préconceptionnelle n'a pas toujours été démontré. Notre équipe a montré précédemment dans la cohorte EDEN qu'une

perte de poids entre l'âge de 20 ans et le début de la grossesse était associée à un risque plus élevé de retard de croissance intra-utérin, chez les femmes qui n'étaient pas en surpoids en début de grossesse (Diouf et al., 2011). Dans un contexte actuel sociétal où la norme de poids et la pression sociale augmentent en importance, de nombreuses femmes sans surpoids peuvent aussi avoir recours à des régimes restrictifs (Germov et al., 1996; Pol, 2009). La maigreur est aussi décrite dans la littérature comme un facteur de risque de complications gestationnelles, des études ayant montré une association avec le risque de croissance intra-utérin et de prématurité chez l'enfant (Fujiwara et al., 2014; Sebire et al., 2001).

3. Gain de poids gestationnel

La prise de poids gestationnelle est également un élément à prendre en compte dans la prise en charge des patientes pendant la grossesse. De nombreuses études ont montré qu'une prise de poids gestationnelle excessive était associée à un risque augmenté de complications maternelles pendant la grossesse, telles que la césarienne, la rétention du poids post-partum, le diabète et l'hypertension gestationnelle, ainsi qu'un risque plus élevé de macrosomie à la naissance chez l'enfant (Rasmussen et al., 2009). La prise de poids pendant la grossesse est expliquée notamment par les modifications métaboliques maternelles nécessaires au soutien des besoins énergétiques pendant la grossesse, soit une augmentation de la masse grasse mais aussi à la croissance des tissus fœtaux. La composante constituée du fœtus, du placenta et du liquide amniotique représente environ 35 % de la prise de poids gestationnelle totale (Institute of Medicine (US) and National Research Council (US), 2009). En 2009, l'Institut de Médecine a rédigé des recommandations sur la prise de poids gestationnelle adéquate selon l'indice de masse corporelle à la conception (**Tableau 1.3**).

Tableau 1.3 : Recommandations de l'IOM sur la prise de poids gestationnelle selon la corpulence à la conception

IMC début de grossesse (kg/m ²)	Gain pondéral gestationnel total (Kg)
Maigreur (<18,5)	12,5 à 18
IMC normal (entre 18,5 et 25)	11,5 à 16
Surpoids (entre 25 et 30)	7 à 11,5
Obésité (≥ 30)	5 à 9

Traduit et adapté de l'Institute of Medicine (US) et National Research Council (US), 2009.

Des revues de la littérature ont souligné un effet bénéfique des interventions alimentaires et de l'activité physique sur la réduction de la prise de poids gestationnelle (Hanson et al., 2017; Thangaratinam et al., 2012). Un essai mené au Royaume-Uni sur plus de 1550 femmes obèses a mis en place des séances individuelles de soutien et d'accompagnement sur le régime alimentaire et l'activité physique. Une baisse de la prise de poids gestationnelle a été décrite dans le groupe intervention (Poston et al., 2015). Cependant, ces interventions menées chez les femmes en surpoids ou obèses pendant la grossesse, auraient un impact très limité sur d'autres issues de la grossesse, comme le poids de naissance ou le risque de surpoids chez l'enfant (Dodd et al., 2014; Parat et al., 2019; Poston et al., 2015). Ces interventions seraient en réalité trop tardives pour apporter un effet bénéfique sur le développement foetal (Hanson et al., 2017).

IV. Objectifs

Dans ce contexte, ces travaux de thèse auront pour principal objectif de décrire les relations entre la nutrition maternelle en période préconceptionnelle, la croissance fœtale et l'épigénétique placentaire à partir des deux études de cohorte françaises EDEN et Elfe. Après avoir décrit ces outils, la population étudiée, les données utilisées, la présentation de mes travaux originaux se décomposera en trois chapitres énoncés ci-après.

Les objectifs spécifiques de cette thèse étaient d'étudier les associations entre :

- Différents profils alimentaires maternels au cours de l'année avant la grossesse caractérisés par leur apport en micronutriments impliqués dans les voies de la méthylation (les vitamines B2, B6, B9, B12, la choline, méthionine et bêtaïne), et les mesures anthropométriques à la naissance dans la cohorte mère-enfant française EDEN.
- Ces mêmes profils alimentaires et la méthylation de l'ADN placentaire dans la cohorte EDEN.
- Les variations pondérales maternelles l'année avant la grossesse et le poids de naissance de l'enfant, dans la cohorte Elfe.

Après avoir développé l'ensemble des résultats obtenus, ils seront comparés aux travaux de la littérature existante. Les différentes forces et faiblesses de ces travaux épidémiologiques seront discutées. Enfin, nous proposerons différentes pistes de recommandations et perspectives de santé publique.

CHAPITRE 2. Populations et méthodes

I. La cohorte mère-enfant EDEN

1. Objectif général

L'étude EDEN (étude sur les déterminants pré et postnatals de la santé et du développement de l'enfant) est une enquête épidémiologique longitudinale française dont l'objectif général est d'examiner les relations entre les expositions environnementales précoces et le développement et la santé ultérieure de l'enfant, ainsi que les mécanismes sous-jacents (Heude et al., 2016). Trois périodes du développement de l'enfant sont particulièrement étudiées et permettent de comprendre l'enchaînement des événements et les hypothèses de causalité dans les relations :

- La femme enceinte et le fœtus : étude des associations entre des facteurs d'exposition maternels, ou l'état de santé maternel et le développement du fœtus par des méthodes non invasives (données échographiques obstétricales recueillies pendant la grossesse...)
- Le nouveau-né : étude des facteurs d'exposition et de santé maternels ainsi que les marqueurs du développement fœtal mis en lien avec les mesures anthropométriques et l'état de santé de l'enfant à la naissance.
- L'enfant en bas âge : recherche des facteurs les plus prédictifs de l'état de santé de l'enfant en bas âge, de son développement psychomoteur, cognitif et comportemental, mais aussi de phénotypes intermédiaires expliquant possiblement l'association à des maladies adultes.

L'étude a été approuvée par le Comité Consultatif de Protection des Personnes dans la Recherche Biomédicale du Kremlin-bicêtre (CCPPRB) et a reçu également l'autorisation de la Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (CNIL).

2. Protocole d'étude : recrutement et suivi

L'étude EDEN a inclus 2002 femmes enceintes avant la 24^e semaine d'aménorrhée (SA) et consiste à suivre le déroulement de la grossesse et le devenir de l'enfant. Les femmes se sont présentées avant 24 SA pour une visite prénatale dans les services d'obstétrique et de gynécologie dans les deux centres hospitalo-universitaires de Nancy et Poitiers. La période de recrutement dans le centre de Poitiers a duré de février 2003 à juin 2005, et de septembre 2003 à janvier 2006 à Nancy. Les consentements écrits ont été recueillis auprès des mères pour elles-mêmes à l'inclusion dans l'étude, et pour leur enfant après leur naissance.

Les critères d'exclusion de l'étude étaient les grossesses gémellaires, les femmes avec un diagnostic de diabète insulino-dépendant. D'autres critères devaient être remplis comme : parler et écrire le français, bénéficier du régime de sécurité sociale et ne pas avoir prévu de déménager de la région dans les 3 ans à venir. Parmi les 3758 femmes invitées à participer, 53% ont accepté de participer (1034 dans l'hôpital de Nancy, 968 à Poitiers).

3. Données utilisées

Le recrutement, recueil des données, suivi des couples mères-enfants ont été réalisés au sein de chaque centre hospitalier. Les données ont été recueillies par questionnaires auto-administrés, questionnaires administrés par les enquêtrices et des prélèvements biologiques ont également été réalisés. Lors de l'inclusion avant 24 SA, les femmes ont rempli un premier questionnaire de fréquence alimentaire (QFA) portant sur leur alimentation l'année avant la grossesse. Entre la 24^e et 28^e semaines d'aménorrhées, les femmes ont eu des examens cliniques et biologiques dans la maternité et répondu à un questionnaire posé par l'enquêtrice sur leurs données socio-démographiques, mode de vie et antécédents médicaux. Durant la première semaine après l'accouchement, les mères ont répondu à un second questionnaire de fréquence alimentaire sur leur alimentation sur les 3 derniers mois de la grossesse. Des examens cliniques de la mère et

du nouveau-né ont été réalisés et enfin les enquêtrices ont pu recueillir certaines données dans les dossiers médicaux. Des prélèvements biologiques placentaires ont été réalisés à la naissance (Figure 2.1).

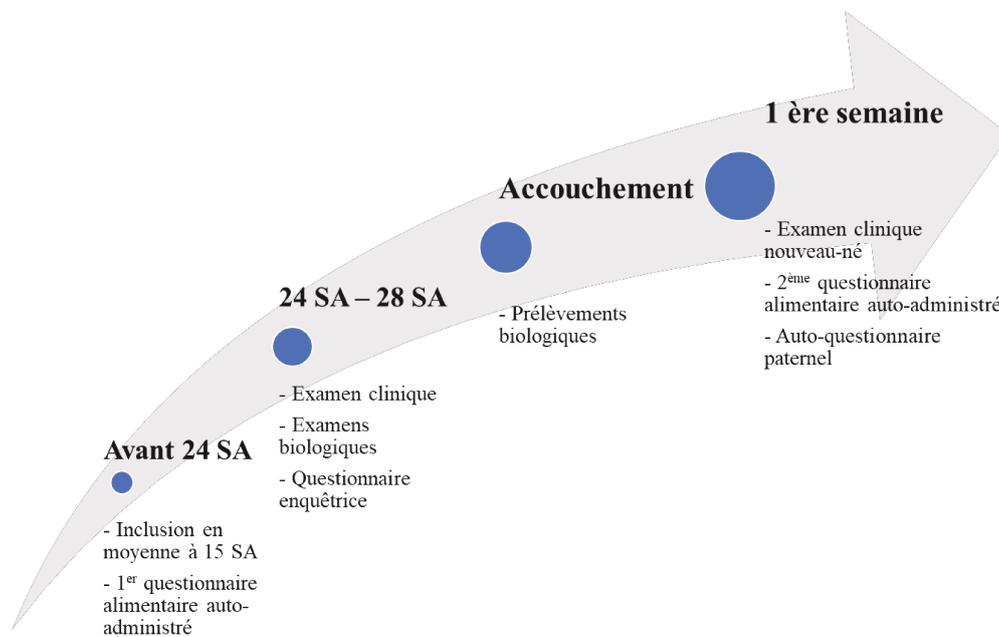


Figure 2.1 : Recueil des données de l'étude EDEN jusqu'à la naissance

a. Données alimentaires

Nous avons utilisé les données alimentaires des femmes recueillies dans un auto-questionnaire alimentaire (QFA) (avant 24 semaines de gestation ; 15 semaines en moyenne), dans lequel elles ont déclaré leur consommation l'année avant la grossesse. Le questionnaire de fréquence alimentaire a été adapté à partir de celui développé dans le cadre de l'étude Fleurbaix-Laventie Ville Santé II (FLVS II) (de Lauzon et al., 2004), et validé grâce à des rappels de 24 heures (Deschamps et al., 2009). Ce QFA comprenait 137 items, dont 9 boissons non alcoolisées et 7 boissons alcoolisées ; les fréquences de consommation par aliment ont été évaluées sur une échelle de 7 items allant de "jamais" à "plusieurs fois par jour" (voir en Annexe

Extraits du questionnaire alimentaire de l'étude EDEN, p 207). Les femmes devaient également déclarer leurs portions habituelles consommées, à l'aide d'images tirées du manuel de photos concernant les portions alimentaires développées dans le cadre de l'étude SUVIMAX (SUplémentation en VItamines et Minéraux Anti-oXydants) pour 12 catégories d'aliments (viande, frites, pâtes, légumes, gâteaux, fromage, etc.) sur une échelle à trois niveaux (Herberg et al., 2002) (voir en **Annexe Extraits de questionnaires de l'étude EDEN**). Lorsque les photos d'un aliment ou d'un groupe n'étaient pas fournies, les portions standards pour la population française ont été considérées.

Aucune base de données française sur la composition nutritionnelle des aliments n'était disponible au moment de cette thèse pour estimer l'apport direct de certains des micronutriments d'intérêt (comme la choline, bétaïne et méthionine) pour l'étude EDEN. Pour cela, nous avons développé une méthode spécifique que je développerai dans le prochain chapitre.

Les femmes ont également déclaré dans le questionnaire portant sur leur alimentation l'année avant la grossesse, si elles ont pris des suppléments en vitamines et/ou minéraux dans les 3 mois précédant la grossesse. La question concernait une supplémentation par préparation multi-vitaminique et/ou minéraux, ou bien la prise de vitamines en unité seule (selon une liste pré-codée qui contenait parmi les micronutriments d'intérêt pour notre étude les vitamines B2, B6, B9) (en **Annexe Extraits de questionnaires de l'étude EDEN**). Nous avons également utilisé les données concernant la supplémentation pendant la grossesse recueillies dans l'auto-questionnaire de fréquence alimentaire après la naissance.

b. Autres données collectées : liées à la mère et à l'enfant

D'autres caractéristiques liées à la mère et à l'enfant ont été sélectionnées pour les analyses : le centre d'accouchement (Nancy/Poitiers) afin de prendre en compte les différences liées aux

participantes de ces deux centres (variations culturelles, environnementales) et les différences potentielles dans la prise en charge des patientes dans les maternités. Nous disposions également de données biologiques (placentaires).

i. Caractéristiques maternelles

Les caractéristiques sociodémographiques liées à la grossesse ont été enregistrées lors des entretiens avec les mères par une sage-femme enquêtrice à 6 mois de grossesse et après l'accouchement. Les caractéristiques maternelles étudiées et catégorisées pour ce travail sont le pays de naissance (en Europe, hors Europe), l'âge de la mère (18-25, 25-29, 30-34, ≥ 35 ans), la parité (primipare vs multipare), le statut d'emploi (employé ; étudiant ; femme au foyer ou en congé parental ou en recherche d'emploi), le fait de vivre en couple et le revenu mensuel déclaré (< 1501, 1501–2300, 2301–3000, > 3000 €/mois).

Au 6^{ème} mois, les femmes ont déclaré leur plus haut diplôme obtenu. Nous avons créé une variable en 4 classes (primaire ou cap/bep ; bac professionnel ou général, études court-cycle ou Bac + 2 ans (DUT, BTS), > Bac + 2 ans ou diplôme de l'enseignement supérieur), d'après la classification Internationale type de l'éducation (*International Standard Classification of Education (ISCED)*, 2017).

Nous avons également utilisé des données anthropométriques maternelles : la taille de la mère a été mesurée par les sages-femmes en milieu de grossesse (en m) lors de l'examen clinique et le poids avant grossesse (en kg) déclaré par les mères dans le questionnaire entre 24 et 28 SA. Ces dernières données ont permis de calculer l'Indice de Masse Corporelle (IMC) maternel en début de grossesse (en kg/m²) selon la formule suivante : $IMC = \frac{poids}{taille^2}$

Nous avons catégorisé l'IMC en 4 classes définies selon la classification de l'OMS : maigre (IMC < 18,5 kg/m²), corpulence normale (18,5 \leq IMC < 25), en surpoids (25 \leq IMC < 30) et obésité (IMC \geq 30).

Les variables liées à la santé comprenaient le tabagisme pendant la grossesse qui a été catégorisé en trois groupes pour identifier les non-fumeurs, les fumeurs modérés et les gros fumeurs (jamais, 1-9 cigarettes/jour, ≥ 10 cigarettes/jour).

ii. Caractéristiques de l'enfant

Les données sur le sexe, l'âge gestationnel d'accouchement et les mesures anthropométriques ont été extraites du dossier médical. Nous avons calculé des z-scores pour le poids, la taille et le périmètre crânien de l'enfant à la naissance selon la référence française Audipog (Mamelle et al., 1996), qui tient compte du sexe et de l'âge gestationnel à la naissance. Les nouveau-nés ayant un z-score $< -1,282$ (correspondant à un poids $< 10^{\text{ème}}$ percentile de la distribution) et avec un z-score $> 1,282$ (soit $> 90^{\text{ème}}$ percentile) ont été classés comme petits pour l'âge gestationnel (PAG) ou gros pour l'âge gestationnel (GAG), respectivement. La naissance prématurée a été définie comme un âge gestationnel < 37 semaines de gestation.

c. Données épigénétiques placentaires

A la naissance, des échantillons placentaires ont été prélevés auprès de 1301 femmes par des sages-femmes ou un technicien de l'étude selon une procédure standardisée. Des prélèvements d'environ 5mm \times 5mm ont été effectués au centre du placenta et en périphérie sur la face fœtale du placenta en prélevant les villosités fœtales, et ont été immédiatement congelés à -80°C . Les étapes d'extraction d'ADN et d'analyse de l'épigénome ont été réalisées par le Centre National de Recherche en Génomique Humaine à Evry (CNRGH, à Evry, France) pour 668 enfants. Plus de détails seront apportés dans le chapitre 4.

II. La cohorte de naissance Elfe

1. Présentation générale

L'étude Elfe (Étude longitudinale française depuis l'enfance) est la première cohorte nationale longitudinale prospective qui a pour objectif général de suivre plus de 18000 enfants et leurs familles pendant 20 ans afin d'étudier comment leur environnement affecte, de la période intra-utérine à l'adolescence, leur développement, leur santé, leur socialisation (Charles et al., 2020). Les facteurs pris en compte sont nombreux et concernent notamment l'environnement familial, social, économique, physico-chimique dans lequel évolue l'enfant (**Figure 2.2**).

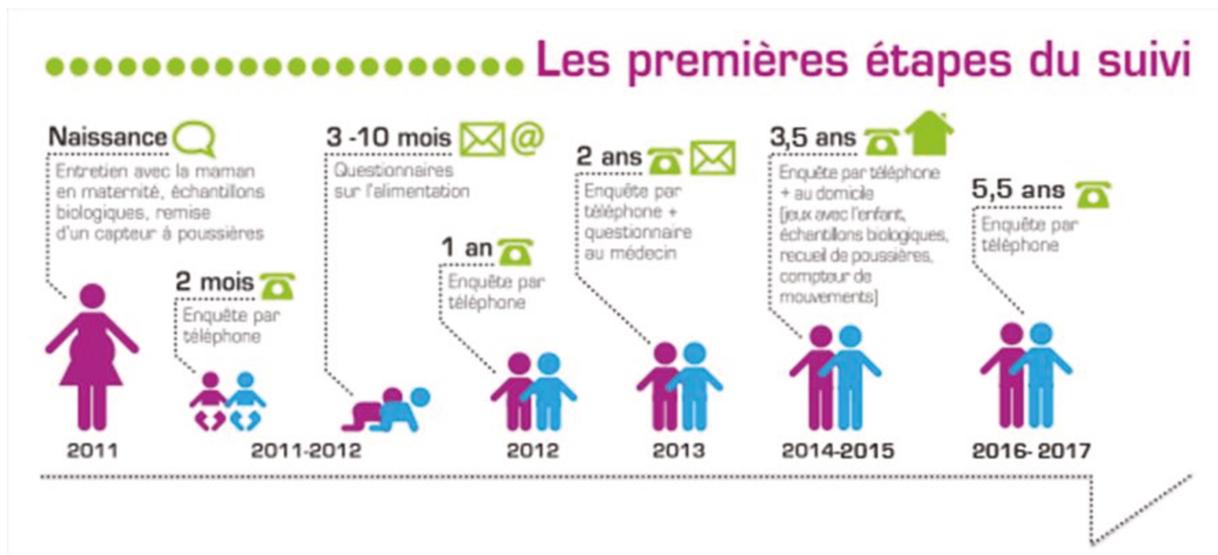


Figure 2.2 : Les premières étapes du suivi Elfe

Cette cohorte permet de mettre en relation ces différents facteurs et événements avec les principaux aspects du devenir des enfants soit : le développement cognitif, moteur ou sensoriel, socio-affectif, la croissance, la puberté ; la santé et tout particulièrement la survenue de pathologies fréquentes : le surpoids et l'obésité, le syndrome métabolique, les maladies respiratoires et l'asthme ainsi que d'autres manifestations allergiques, l'étude de la santé mentale et troubles du comportement ou du sommeil; la présence de handicaps; les acquisitions scolaires (lecture, écriture) ; la socialisation et la qualité de vie.

L'étude Elfe a été approuvée par le Conseil national de l'information statistique (CNIS), le Comité pour la protection des personnes dans la recherche biomédicale pour les examens de santé (CPP), le Comité consultatif sur le traitement de l'information en matière de recherche dans le domaine de la santé (CCTIRS) et la Commission nationale de l'informatique et des libertés (CNIL). Chaque mère a donné son consentement écrit pour la participation à l'étude d'elle-même et de son enfant lors de son séjour en maternité. Les pères ont signé le consentement pour la participation de l'enfant s'il était présent à la maternité ou a été averti de son droit de s'y opposer.

2. Recrutement et suivi

En 2011, plus de 18000 enfants ont été recrutés sur quatre vagues de 4 à 8 jours réparties dans l'année, pour prendre en compte les variations saisonnières éventuelles : du 1er avril au 4 avril, du 27 juin au 4 juillet, du 27 septembre au 4 octobre et enfin du 28 novembre au 5 décembre. L'échantillon est issu d'un plan de sondage par grappes, le premier degré étant celui des maternités et le second, des enfants. Les maternités sélectionnées sont issues d'un plan stratifié avec allocation proportionnelle à la taille de la maternité. La participation à la cohorte a été proposée aux femmes qui accouchaient dans 349 maternités choisies au hasard parmi les 544 maternités publiques et privées de France métropolitaine. 18329 enfants nés pendant ces périodes ont été recrutés dans l'une des 320 maternités métropolitaines ayant accepté de participer à l'étude Elfe. Les critères d'exclusion étaient les naissances avant 33 semaines d'aménorrhées, les naissances multiples de plus de deux enfants, les situations de parents mineurs ou n'étant pas en mesure de donner un consentement éclairé. De même les familles résidentes ou ayant prévu de déménager hors de France métropolitaine n'ont pas été incluses. Parmi les mères éligibles, 51 % ont accepté de participer.

3. Données utilisées dans le cadre de la thèse

Une fois le recrutement des enfants effectué, des enquêteurs, le plus souvent sages-femmes, puéricultrices, ou infirmières ont assuré le recueil des données en maternité (en néonatalogie pour les enfants prématurés ou transférés pour d'autres raisons). Un entretien en face à face a été réalisé avec la mère à la naissance, et des informations ont été extraites des dossiers médicaux, ainsi que des prélèvements biologiques réalisés. Le questionnaire avec les mères et le relevé de dossier chez les participantes ont été réalisés pour respectivement 99,3 % et 99 % des naissances incluses.

Dans le cadre de ce travail, nous avons utilisé les données de la fiche consentement-contact, du questionnaire face à face auprès des mères, du dossier médical, de l'auto-questionnaire alimentaire à la naissance et des questionnaires téléphoniques auprès des parents 2 mois après l'accouchement. Ces informations, détaillées par la suite concerne principalement l'alimentation de la mère et l'anthropométrie maternelle et néonatale. Les informations relatives à l'enquête en maternité incluent la vague d'inclusion, ainsi que le caractère unique ou gémellaire de la grossesse, consolidé à partir de différentes sources. J'ai réalisé un travail de sélection, de nettoyage et de recodage des variables présentes dans la base de données.

a. Données alimentaires

L'auto-questionnaire alimentaire rempli par les mères en maternité a permis d'obtenir des données rétrospectives sur leurs variations pondérales ou le suivi d'un régime restrictif l'année avant la grossesse. A cette question, les femmes pouvaient répondre à une ou plusieurs propositions parmi les suivantes : perte de plus de 5 kg, perte de 2 à 5 kg, poids stable, gain de 2 à 5 kg et gain de plus de 5 kg (**Figure 2.3**).

REGIME 12. Avez-vous déjà suivi un régime amaigrissant ? Non Oui

Si OUI, était-ce :

REGAVTG • dans l'année précédant la grossesse Non Oui

REGPDTG • pendant la grossesse Non Oui

13. Votre poids a-t-il varié dans l'année précédant la grossesse ?
(vous pouvez cocher plusieurs cases si votre poids a varié à plusieurs reprises de façon différente) :

<input type="checkbox"/> VARPOIP5 prise de plus de 5 kg	<input type="checkbox"/> VARPOIP2 prise de 2 à 5 kg	<input type="checkbox"/> POISTABLE poids stable
<input type="checkbox"/> VARPOIM2 perte de 2 à 5 kg	<input type="checkbox"/> VARPOIM5 perte de plus de 5 kg	

Figure 2.3 : Auto-questionnaire maternel sur le suivi d'un régime amaigrissant et les variations pondérales avant grossesse

b. Caractéristiques maternelles

Pendant l'entretien en face-à-face en maternité, les mères ont fourni des données sur leurs caractéristiques socio-économiques qui ont été classées de la façon suivante: leur âge (en continu), le niveau d'études (primaire ou cap/bep ; bac professionnel ou général ; études de court cycle ou Bac + 2 ans (DUT, BTS) : > Bac + 2 ans) d'après la classification Internationale type de l'éducation (*International Standard Classification of Education (ISCED)*, 2017), le statut d'activité en début de grossesse (à domicile [incluant les femmes au foyer, en congé parental, en recherche d'emploi] vs les employés ou étudiantes en activité), la situation de couple (oui/non), pays de naissance (France vs autre), le régime de sécurité sociale (1 : la couverture maladie universelle, l'aide médicale de l'état, aucun régime ou inconnu et 2 : le régime général, agricole, social des indépendants, autre régime ou régime d'un proche assuré dans un pays étranger), la consommation de tabac avant et pendant la grossesse (Oui/Non), le suivi de grossesse traité comme une variable qualitative en 4 groupes (1 : gynécologue, 2 : sage-femme et 3 : suivi par un généraliste ou aucun 4 : par plusieurs de ces professionnels), le nombre d'échographies et de visites prénatales.

Nous avons également utilisé les données anthropométriques maternelles sur la taille, ainsi que sur leur poids déclaré avant et à la fin de la grossesse (juste avant l'accouchement).

Ces dernières données ont permis de calculer l'Indice de Masse Corporelle (IMC) maternel en début de grossesse (en kg/m²) selon la formule suivante : $IMC = \frac{poids}{taille^2}$, ainsi que le gain de poids gestationnel selon la formule suivante :

$$GPG = Poids\ fin\ grossesse - Poids\ avant\ grossesse$$

Nous avons catégorisé l'IMC en 4 classes définies selon la classification de l'OMS : maigre (IMC < 18,5 kg/m²), corpulence normale (18,5 ≤ IMC < 25), en surpoids (25 ≤ IMC < 30) et obésité (IMC ≥ 30).

La variable sur la parité (primipare oui/non) a été construite sur la base du dossier médical et en cas de données manquantes complétée par les réponses des mères au questionnaire en maternité. Nous avons également l'information sur le nombre de grossesses et d'enfants nés avant l'enfant inclus dans la cohorte Elfe.

Lors du relevé du dossier médical, les enquêtrices ont relevé la présence de pathologies antérieures à la grossesse. Des questions spécifiques ont été posées pour les antécédents d'hypertension et de diabète. Les autres pathologies chroniques sévères ou handicap ont été déclarées en texte (N=1530). J'ai réalisé un travail de codage de ces pathologies selon la classification internationale des maladies (CIM-10). L'objectif était de classer les pathologies maternelles en grande classe en fonction des organes ou systèmes impliqués (antécédent de pathologie thyroïdienne, endocrinienne non thyroïdienne et métabolique, de l'appareil digestif, de pathologie psychiatrique, de cancer...), et de créer une variable identifiant les pathologies susceptibles d'interférer avec le déroulement de la grossesse et la croissance fœtale.

c. Données de l'enfant à la naissance

L'âge gestationnel d'accouchement, le sexe de l'enfant et les mesures anthropométriques à la naissance ont été collectés à partir du recueil de données dans les dossiers médicaux. Le Z-score du poids de naissance a été calculé selon la référence française de Audipog (Mamelle et al.,

1996) prenant en compte le sexe et l'âge gestationnel à l'accouchement. Lorsque le poids de naissance était <10^e percentile ou > 90^e percentile selon la référence d'Audipog, les enfants étaient classés respectivement comme petits pour l'âge gestationnel (PAG) ou gros pour l'âge gestationnel (GAG).

CHAPITRE 3. Apport en micronutriments impliqués dans les voies de méthylation de l'ADN l'année avant la grossesse et croissance foetale

Article issu de ce chapitre :

Lecorguillé M, Lioret S, de Lauzon-Guillain B, de Gavelle E, Forhan A, Mariotti F, et al.
Association between Dietary Intake of One-Carbon Metabolism Nutrients in the Year before
Pregnancy and Birth Anthropometry. *Nutrients*. 2020 Mar;12(3):838 (cf Annexe page 235)

I. Introduction

Parmi les multiples facteurs impliqués dans les processus physiologiques permettant de garantir le bon déroulement de la grossesse, un apport adéquat en micronutriments est nécessaire pour soutenir l'homéostasie du placenta et le développement du fœtus (Gernand et al., 2016; Richard et al., 2017). Les micronutriments impliqués dans le métabolisme monocarboné (MC1) méritent une attention particulière car le cycle du métabolisme C1 soutient de multiples processus physiologiques essentiels au développement humain (Anderson et al., 2012). Les carences en micronutriments du MC1 peuvent affecter le métabolisme et la prolifération cellulaire et la croissance fœtale (Gernand et al., 2016). Comme exposé en introduction de cette thèse, les nutriments du MC1 sont décrits soit comme des transporteurs, des donneurs de groupes méthyles (par exemple, folates, choline, bétaine, méthionine) ou comme des cofacteurs des enzymes impliquées dans les réactions de transfert de ces groupes vers l'ADN (à savoir les vitamines B2, B6 et B12) (Anderson et al., 2012). Parmi eux, les folates jouent un rôle clé pour le développement cellulaire, du cerveau et le fonctionnement du placenta (Morse, 2012). La choline a été décrite comme impliquée dans la synthèse des phospholipides dans les membranes cellulaires et le développement du cerveau (Ueland, 2011; Wallace et al., 2018). La méthionine est un acide aminé essentiel dans le cycle MC1 qui sert de précurseur au métabolite S-adénosylméthionine, donneur de méthyle cellulaire universel (McGee et al., 2018). Néanmoins, les données chez l'humain sont à ce jour très peu nombreuses (Anderson et al., 2012; McGee et al., 2018).

Dans la littérature, certaines études ont montré des associations entre ces micronutriments explorés individuellement et le développement du fœtus. Il a été montré que l'apport en folates au cours de la grossesse (folates et supplémentation en acide folique) était associé à un poids de naissance plus élevé chez l'enfant (Fekete et al., 2012). D'autres travaux

ont confirmé qu'un apport adéquat en folates était associé à la prévention du risque de PAG (Bergen et al., 2012) et de prématurité (Fekete et al., 2010). Concernant la vitamine B12, une méta-analyse a montré qu'une faible concentration (< 148 pmol/L) dans les échantillons de sérum ou de plasma maternel pendant la grossesse était associée à un poids de naissance plus faible ($< 2,500$ g) et à un risque accru de naissance prématurée (Rogne et al. 2017). Mais à ce jour, peu d'études ont évalué le rôle des autres micronutriments MC1 en lien avec la croissance du fœtus, et celles existantes rapportent des résultats inconsistants (Du et al. 2019; Hogeveen et al. 2013; Ivorra et al. 2012; McGee et al. 2018; Monsen et al. 2006; van Lee et al. 2016, 2019). Pour la choline, il a été rapporté dans une large étude observationnelle qu'une concentration sérique plus élevée serait associée à une augmentation de la masse grasse et de l'IMC de l'enfant à la naissance (van Lee et al. 2019), tandis que d'autres travaux montraient que le taux de choline mesurée dans le sang du cordon ombilical était associé à un poids de naissance plus faible (Hogeveen et al., 2013). Une association inverse a été trouvée entre le niveau de bêtaïne dans le plasma maternel et le poids à la naissance (van Lee et al. 2016). Enfin, concernant la méthionine, une étude a rapporté une corrélation positive entre l'augmentation de la concentration mesurée dans le liquide amniotique pendant la grossesse et le poids de naissance (Monsen et al., 2006), tandis qu'une autre a montré une association avec un risque plus faible de gros poids pour l'âge gestationnel (GAG) (Du et al., 2019).

La plupart des études ci-dessus se sont intéressées à l'association entre les micronutriments, considérés individuellement, et la croissance fœtale. Pourtant, de récentes études randomisées et observationnelles ont mis en évidence un effet positif d'une supplémentation en multiples micronutriments, notamment en prévention du risque de retard de croissance intra-utérin chez l'enfant dans les pays à revenu faible ou moyen (Gernand et al., 2016; Haider et al., 2017; Roberfroid et al., 2008).

En épidémiologie nutritionnelle, les premières approches évaluant l'effet d'un aliment ou d'un nutriment isolé permettent de comprendre de nombreuses relations physiopathologiques unissant l'alimentation et certains processus pathogènes. Cependant, l'étude isolée d'un nutriment présente certaines limites liées à la complexité de la globalité de l'alimentation, qui contient par essence même de nombreux nutriments qui peuvent interagir entre eux. Le cycle monocarboné comprend différents niveaux d'interaction entre les nutriments qui justifie l'intérêt d'étudier l'effet combiné des micronutriments sur le développement du fœtus. La variabilité de la consommation alimentaire dans une population peut être résumée à l'aide de profils, permettant de mieux refléter les interactions entre les aliments et les nutriments dans le régime alimentaire total comme souligné par Gleason et al. (Gleason et al., 2015). Il existe différentes méthodes de génération de profils alimentaires : l'utilisation de scores ou indices de qualité de l'alimentation basés sur la connaissance à priori des recommandations alimentaires, ou des approches basées sur des données (par exemple, l'analyse en composante principale) (Johnson et al., 2008; Michels et al., 2005). Une autre méthode nommée « Régression à rangs réduits » (RRR) combine une approche basée sur les données et sur des hypothèses a priori. Notre hypothèse est que l'apport en micronutriments du MC1 peut influencer la croissance fœtale. Cette approche a pour objectif de comprendre comment l'alimentation peut expliquer la variabilité de l'apport en nutriments du MC1 (appelées aussi variables intermédiaires) et influencer un paramètre de santé tel que la croissance fœtale (Michels et al., 2005).

Jusqu'à présent, les études portant sur le rôle des micronutriments du MC1 dans la croissance fœtale ont ciblé les apports alimentaires au cours de la grossesse. Cependant, la période précédant la conception mérite également une attention particulière, comme cela a été discuté au préalable en introduction générale de ce travail (Dominguez-Salas et al., 2012).

Objectifs spécifiques

Par conséquent, après avoir identifié les profils alimentaires caractérisant l'apport en micronutriments du MC1 (vitamines B, méthionine, choline, bétaïne) au cours de l'année précédant la grossesse chez les femmes de la cohorte EDEN, notre objectif était 1/ d'étudier les caractéristiques maternelles associées à ces profils, 2/ d'étudier leur association avec l'anthropométrie néonatale.

II. Matériel et Méthodes

Cette étude a été rapportée conformément aux lignes directrices STROBE pour l'écriture et la lecture des études observationnelles en épidémiologie nutritionnelle (STROBE-nut) (Lachat et al., 2016).

1. Données alimentaires et variables utilisées

Le régime alimentaire des femmes pendant l'année précédant la grossesse a été évalué rétrospectivement à l'inclusion (avant 24 semaines de gestation ; 15 semaines en moyenne) en utilisant un questionnaire de fréquence alimentaire (QFA) comprenant 137 items, décrit dans le chapitre précédent. La consommation quotidienne (en g/jour) de chaque item a été calculée en multipliant les fréquences consommées par la taille des portions. L'apport individuel en nutriments et l'apport énergétique total ont été calculés : en multipliant l'apport de chaque item alimentaire par la taille des portions déclarées et leurs teneur en nutriments correspondante, obtenues à partir des bases de données de composition décrites ci-dessous. Les apports en nutriments et en énergie n'ont pas été estimés lorsque plus de trois items du QFA étaient manquants. Inversement, lorsque les mères avaient moins de 4 données manquantes, les fréquences manquantes étaient imputées par la médiane des fréquences observées pour chaque item.

Aucune base de données sur la composition des aliments du QFA de l'étude n'était disponible pour estimer l'apport direct de l'ensemble des nutriments d'intérêt (impliqués dans le métabolisme C1, notamment la choline, bêtaïne et méthionine). Nous avons utilisé différentes sources pour créer la table de composition nutritionnelle des aliments nécessaire. Nous avons également établi une correspondance avec l'étude française INCA2 (étude individuelle Nationale des Consommations Alimentaires 2) (Dubuisson et al., 2010) afin de pouvoir calculer l'apport journalier des nutriments pour chaque item du QFA d'EDEN (voir détail de la méthode dans l'**encadré n°3.1**).

Encadré 3.1 : correspondance entre les items alimentaires INCA2 et le questionnaire de fréquence alimentaire EDEN, et calcul de l'apport en micronutriments du MC1.

Le questionnaire de fréquence alimentaire EDEN comprend 137 items alimentaires contenant des aliments ou groupes d'aliments ainsi que les principales recettes consommées en France. L'enquête française INCA2 a été réalisée en 2006-2007 auprès d'un échantillon national représentatif des Français. La consommation alimentaire a été enregistrée par des enregistrements alimentaires de 7 jours et comprend 1342 items.

Pour évaluer l'apport en micronutriments, y compris les vitamines, à partir du QFA dans EDEN, nous avons conçu une base de données de composition nutritionnelle spécifique, en utilisant les données de consommation basées sur l'enquête française INCA2 (Dubuisson et al., 2010). Comme la base INCA2 contient plus d'items alimentaires que dans l'étude EDEN (1342 contre 137), nous avons suivi les deux étapes décrites ci-dessous :

Correspondance des aliments INCA2 aux 137 aliments EDEN :

(1) Nous avons attribué un item INCA2 à son item EDEN correspondant lorsqu'ils étaient similaires.

(2) Lorsque plusieurs items INCA2 correspondaient à un même item générique EDEN, nous avons affecté tous les items apparentés INCA2 à l'item EDEN (par exemple, différents types de viande d'agneau dans INCA2 attribués à un item générique « agneau » dans EDEN).

Nous avons donc utilisé 885 aliments INCA2 au total pour établir la correspondance avec EDEN.

Calcul des apports nutritifs des 137 aliments ou groupes d'aliments EDEN :

Dans le cas (2), nous avons calculé une moyenne pondérée de la composition en nutriments et en énergie pour chaque item EDEN. Les pondérations ont été basées sur la fréquence de consommation moyenne de chaque aliment INCA2 correspondant, par les femmes françaises de 18 à 50 ans, à partir des enregistrements alimentaires de 7 jours de l'enquête INCA2 (Dubuisson et al., 2010).

Nous avons calculé les pondérations affectées à chaque aliment j du questionnaire INCA2 comme suit (équation (1)) :

$$W_j = \frac{C_j}{\sum_{k=1}^{n_i} C_k} \quad (1)$$

Où i est l'item du QFA dans EDEN ; n_i est le nombre total d'items INCA2 affectés à cet item i, et j un des items INCA2 ; c_j est la fréquence moyenne de consommation de l'item j estimé à partir de l'enquête INCA2.

Les apports moyens pondérés pour l'énergie et les nutriments ont été calculés de la façon suivante (équation (2)) :

$$N_i = \sum_{j=1}^{n_i} (W_j * N_j) \quad (2)$$

N_j est la composition nutritionnelle de l'item j.

La composition en micronutriments est décrite selon les unités suivantes : vitamine B2 en mg/100 g d'aliment, B9 en µg/100g d'aliment, B12 en µg/100g d'aliment, B6 en mg/100 g d'aliment, méthionine en g/100 g d'aliment.

Les apports alimentaires en nutriments dans INCA2 ont été extraits de la base de composition nutritionnelle du CIQUAL de 2016 (*Centre d'Information sur la Qualité des Aliments*) que nous avons utilisée pour estimer l'apport en énergie, en macronutriments et en vitamines B (B2, B6, B9, B12) (CIQUAL, 2016). Pour évaluer l'apport en méthionine, nous avons utilisé les estimations calculées pour les aliments INCA2 à partir d'une étude récente, provenant d'analyses publiées en France et de bases de données internationales (de Gavelle et al., 2017). Enfin, nous avons utilisé une table de composition nutritionnelle spécifique du département de l'Agriculture américain (USDA) (*USDA Department of Agriculture; the Agricultural Research Service. Usda Branded Food Products Database. Nutrient Data Laboratory*) pour évaluer l'apport en choline et en bêtaïne, en suivant une méthodologie similaire à celle utilisée pour la méthionine (voir le détail de la méthode dans l'**encadré n°3.2**).

Enfin, pour évaluer l'apport en micronutriments, à partir du QFA dans EDEN, nous avons conçu une base de données de composition nutritionnelle spécifique, en utilisant les données de consommation basées sur l'enquête française INCA2. Nous avons établi la correspondance entre les items du QFA de EDEN et les items INCA2. Lorsque plusieurs items INCA2 correspondaient à un même item générique EDEN, nous avons utilisé la fréquence de consommation alimentaire des femmes françaises adultes de 18 à 50 ans de chaque aliment de l'étude INCA2 afin de calculer une composition nutritionnelle moyenne pondérée pour l'item EDEN correspondant. Les pondérations ont été appliquées pour estimer l'apport de chaque nutriment ou vitamine par item EDEN du questionnaire de fréquence alimentaire (voir **encadré n°3.1**).

Encadré 3.2 : évaluation de l'apport en choline et en bêtaïne

Nous avons créé une base de données de composition nutritionnelle spécifique pour la choline et la bêtaïne car leur contenu n'était pas disponible dans la table de composition française du CIQUAL. Ce travail a été réalisé à partir des 885 aliments INCA2 pour lesquels il y avait une pondération associée en correspondance avec les 137 items EDEN.

Nous avons appliqué la même méthodologie que celle développée par de Gavelle et al. pour évaluer l'apport en méthionine (de Gavelle et al., 2017). Cette équipe a établi une correspondance entre les items alimentaires INCA2 et plusieurs bases de données internationales, dont la base de données américaine de l'USDA, la seule source disponible pour la teneur des aliments en choline (totale) et en bêtaïne.

Nous avons sélectionné en priorité les données dites *analytiques* de la base de données de l'USDA. Les données analytiques sont des valeurs provenant de la littérature publiée ou de rapports de laboratoire non publiés. Les données *non analytiques* ont été considérées comme second choix.

Lorsque plusieurs aliments de l'USDA correspondaient à un seul item INCA2, nous avons conservé au maximum les différents aliments correspondant possibles et utilisé la valeur moyenne. Pour affecter les aliments USDA aux 885 items INCA2 utilisés pour calculer l'apport en nutriments pour le QFA de EDEN, nous avons suivi les étapes décrites ci-dessous :

Étape 1 : Correspondance entre les items alimentaires USDA et INCA2 :

Cette méthode a été réalisée selon différents niveaux de correspondance :

a) **Correspondance directe** avec la base de données de l'USDA : 44,3% (N=392)

b) **L'affectation d'un item alimentaire similaire** : 44,5% (N=394)

Lorsqu'il n'y avait pas de correspondance exacte entre les aliments de l'USDA et ceux de l'INCA2, nous avons utilisé des "aliments dits similaires ou approximatifs" à partir de la base de données de l'USDA :

- ⇒ Aliment d'une autre marque, ou cru (pour certains types de poissons car il n'y avait pas de poisson cuit dans l'USDA contenant de la choline ou de la bêtaïne)
- ⇒ Viande similaire provenant d'une autre espèce : par exemple, rognon de bœuf pour le rognon d'agneau
- ⇒ Item général (pain, saucisse sèche, pâte feuilletée, fromage, chocolat, gâteaux) pour certains aliments spécifiques français qui n'existent pas dans la base de données de l'USDA
- ⇒ Items généraux de l'USDA pour les boissons alcoolisées (bière française spécifique, différents vins français)

(c) **Estimation pour les recettes** : 1,8% (N=16)

Lorsque les recettes françaises de l'étude INCA2 n'existaient pas dans la base de données de l'USDA, nous avons sélectionné les principaux ingrédients à partir de l'USDA et calculé une valeur moyenne des composants pour estimer la choline et la bêtaïne.

d) **Pas de correspondance établie** (9,3%)

- Aliment non consommé dans INCA2
- Dans le cas de produits français non retrouvés dans l'USDA (légumes ou soupes spécifiques) ne figurant pas dans la base de données de l'USDA

e) **Affectation à 0** pour les aliments ne contenant pas ou très peu de choline (N = 1) et de bêtaïne (N = 76 aliments INCA2) :

En cas d'absence de données sur l'apport en choline et en bêtaïne dans la base de l'USDA ; pour les aliments ne contenant pas ou très peu de ces deux nutriments, nous avons fixé la valeur à 0 (par exemple, poudre de cacao, sucre, eau, sorbet, café, thé).

f) Utilisation d'aliments différents pour la bêtaïne

Pour plusieurs aliments de l'USDA, nous avons des informations pour la choline mais pas pour la bêtaïne. Ainsi, l'aliment USDA attribué peut être différent pour l'apport en choline et en bêtaïne (N=114) et il y a un pourcentage plus élevé d'absence d'affectation pour la bêtaïne (19,6%).

Étape 2 : Calcul de la teneur en choline et en bêtaïne des aliments :

Nous avons utilisé la même approche que celle utilisée précédemment pour calculer les apports en micronutriments dans l'encadré 3.1. Nous avons calculé la moyenne des apports en choline et en bêtaïne pour chacun des 137 groupes d'aliments de EDEN. Lorsque plusieurs aliments INCA2 étaient affectés à un seul aliment EDEN, si l'apport en bêtaïne ou en choline n'était pas disponible pour l'un d'entre eux, nous avons réestimé les pondérations en utilisant uniquement les aliments INCA2 pour lesquels des informations étaient disponibles pour la choline et la bêtaïne.

Unités des nutriments : choline en mg/100 g d'aliments, bêtaïne en mg/100 g d'aliments.

(<https://www.ars.usda.gov/ARUserFiles/80400525/Data/Choline/Choln02.pdf>)

Concernant les autres variables utilisées pour l'étude, les Z-scores du poids, taille et périmètre crânien de l'enfant, définis dans le chapitre précédent, le risque de petit et gros poids pour l'âge gestationnel, ainsi que le risque de prématurité été considérés comme facteur d'intérêt (outcomes) pour ces analyses. D'autres facteurs de confusion potentiels liés aux caractéristiques maternelles et à l'environnement social ont été pris en compte tels que : le statut d'emploi, l'âge en continu, le niveau d'éducation de la mère, le revenu mensuel du ménage. Nous avons aussi considéré d'autres caractéristiques ayant été clairement démontrées comme associées à l'alimentation et au poids de naissance comme la consommation de tabac, ainsi que l'indice de masse corporelle. Nous avons également ajusté de façon additionnelle les analyses

sur la supplémentation vitaminique considérée en 4 catégories (pas de supplémentation, avant grossesse seulement, uniquement pendant la grossesse, avant et pendant la grossesse)

2. Sélection de la population

Les mères qui n'ont pas rempli le QFA ($n = 37$), avec plus de 3 items manquants ($N = 155$), ou avec des valeurs de fréquence de consommation d'aliments peu plausibles ($N = 2$), ainsi qu'un apport énergétique total extrême ≤ 1000 ou ≥ 5000 kcal/jour ($N = 101$) ont été exclues de l'analyse RRR pour la création des profils alimentaires. Celles dont le poids à la naissance chez l'enfant n'était pas disponible (interruption précoce de grossesse, accouchement en dehors des hôpitaux de l'étude ou perte de vue) ont été exclues ($N = 69$) des analyses ultérieures d'association. La **figure 3.1** résume les étapes de la sélection de la population ; 1638 femmes ont été sélectionnées dans l'analyse multivariée finale.

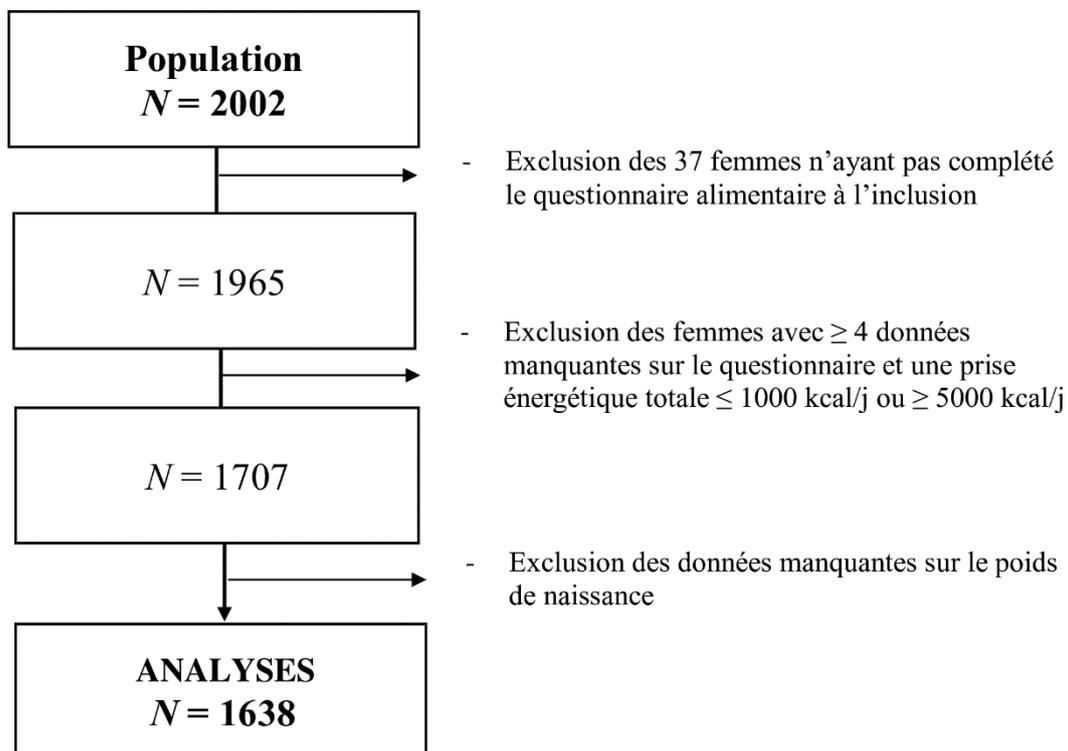


Figure 3.1: Sélection des femmes incluses dans l'analyse

3. Analyses statistiques

a. Traitement des données manquantes

Les sujets sélectionnés pour les analyses n'ont pas répondu complètement à l'ensemble du questionnaire. Nous avons utilisé une méthode d'imputation multiple des données manquantes pour les variables de confusion, la taille et le périmètre crânien à la naissance (voir **Annexes-Tableau Annexe 1**). Nous avons inclus toutes les variables qui pouvaient apporter des informations pour le processus d'imputation multiple (facteurs sociodémographiques, informations médicales et caractéristiques de naissance) après les avoir classées par ordre croissant de taux de données manquantes. Nous sommes partis de l'hypothèse de données manquantes aléatoires et avons généré 5 ensembles de données imputées indépendantes en utilisant la méthode de spécification entièrement conditionnelle (FCS ou Fully conditional specification method). Les résultats issus des différentes bases de données imputées ont été combinés en utilisant la procédure SAS "MI analyze". Dans cette procédure, l'estimation des erreurs standard reposent sur les règles de Rubin, qui tiennent compte de la variabilité entre les régressions multiples dans les ensembles de données imputées (Dong et al., 2013; Sterne et al., 2009). La méthode FCS permet de sélectionner le modèle de régression approprié pour chaque variable : les variables catégorielles ont été imputées en utilisant un modèle multinomial, les variables binaires et ordinales par régression logistique, et les variables continues par régression linéaire (Liu et al., 2015).

b. Création des profils alimentaires

Afin de créer les profils alimentaires caractérisant l'apport en micronutriments impliqués dans le MC1, nous avons utilisé la méthode de Régression à Rang Réduit (RRR). Les statistiques qui sous-tendent la RRR sont très similaires à celles de l'analyse en composante principale.

Chacune de ces méthodes cherche à résumer l'information contenue dans les données sous forme de profil alimentaire et à analyser les relations entre plusieurs aliments ou combinaisons d'aliments ou de nutriments (Gleason et al., 2015). Cependant, alors que l'ACP détermine les facteurs (ou composantes principales) en maximisant la variation expliquée d'un ensemble de variables prédictives (par exemple, les groupes d'aliments), la RRR détermine les combinaisons linéaires des prédicteurs (soit les groupes d'aliments) qui tendent à expliquer autant que possible la variabilité de facteurs ciblés appelés "intermédiaires ou réponses". Dans notre étude, ces variables ciblées étaient les apports en micronutriments MC1.

Avant d'utiliser la méthode RRR, nous avons regroupé les 137 items alimentaires de EDEN en 36 groupes d'aliments ou aliments seuls. Nous avons en effet isolé certains aliments riches en micronutriments impliqués dans le MC1, comme le pain complet, l'avocat ou le brocolis (**Tableau Annexe 2**).

Plus de la moitié de l'échantillon a consommé au moins un aliment des 36 groupes d'aliments. Nous avons réalisé une transformation logarithmique des nutriments suivants : folates, vitamines B2, B6 et B12, bêtaïne, choline et méthionine. La prise énergétique a été décrite dans la littérature comme facteur de confusion, car les femmes qui consomment plus d'énergie peuvent également avoir une consommation plus élevée en certains nutriments spécifiques (Willett et al., 1997). Par conséquent, nous avons préajusté l'apport en nutriments sur l'énergie et en extrayant les résidus des modèles de régression de chaque nutriment sur l'énergie. Ces résidus étaient utilisés dans l'analyse RRR comme variable « réponse ». L'analyse a été réalisée en utilisant les options "proc pls" et "RRR" de SAS (Hoffmann et al., 2004). Les coefficients (ou factor loading en anglais) supérieurs à un seuil de 0,20 ont été utilisés pour caractériser les sept profils d'alimentation obtenus par la méthode RRR (la procédure crée autant de profils que de variables réponses, soit 7 micronutriments dans notre cas). Pour chaque femme, un score par profil alimentaire était défini comme la somme des

produits pour les 36 items, entre les apports quotidiens moyens standardisés et leur poids correspondant (obtenu dans l'analyse RRR).

c. Analyses descriptives

Les caractéristiques des mères et de leurs enfants ont été décrites par la moyenne \pm ET (écart-type) et n (%) avant imputation (N=1638). Les associations bivariées entre les caractéristiques démographiques, socio-économiques des mères, et les scores de chaque profil alimentaire sélectionnés ont été étudiées selon le test d'ANOVA, avec une p-value $< 0,05$ considérée comme statistiquement significative.

d. Associations avec la croissance fœtale

Nous avons analysé l'association entre les profils alimentaires sélectionnés (facteurs indépendants par construction, et considérés simultanément dans les modèles) et les z-scores du poids, taille et périmètre crânien à la naissance (par la suite dénommés "poids de naissance, taille ou périmètre crânien à la naissance") et l'âge gestationnel par régression linéaire multivariée. Un modèle de régression logistique a été utilisé pour étudier le risque de petit poids pour l'âge gestationnel ou PAG (par rapport aux non-PAG) et de gros poids pour l'âge gestationnel ou GAG (par rapport aux non-GAG), ainsi que le risque de prématurité. Nous avons ajusté les modèles étudiant l'âge gestationnel et la prématurité sur le sexe de l'enfant. Les bêtas (β) ou odds ratios (OR) et intervalles de confiance (IC) à 95 % ont été calculés pour l'augmentation d'1 ET du score du profil alimentaire. Nous avons également évalué l'association entre la supplémentation en vitamines et l'anthropométrie du nouveau-né à la naissance.

Étant donné que l'effet des micronutriments apportés par l'alimentation sur la croissance fœtale peut être différent selon qu'il existe également ou non une supplémentation vitaminique,

nous avons testé les interactions entre la prise de suppléments vitaminiques avant grossesse et les scores des profils alimentaires (dans une analyse en cas complets). Nous avons également testé les termes d'interaction entre les scores de chaque profil alimentaire et le sexe de l'enfant à la naissance (dans une analyse en cas complets). En effet, les garçons et les filles n'ont pas la même vitesse de croissance et peuvent avoir des besoins nutritionnels différents. Nous n'avons pas retrouvé d'interactions significatives entre la supplémentation en vitamines avant la grossesse et les scores des profils alimentaires en association avec l'anthropométrie à la naissance (toutes les p-values étaient $> 0,05$). Aucun terme d'interaction n'était également significatif ni pour le poids à la naissance, ni pour la taille ($p > 0,05$), entre les profils alimentaires et le sexe de l'enfant ; nous n'avons donc pas considéré ces interactions par la suite.

Les facteurs de confusion potentiels ont été sélectionnés selon la littérature et leurs associations bivariées avec nos facteurs d'intérêt. Par conséquent, tous les modèles ont été ajustés en fonction du centre, du niveau d'éducation de la mère, de l'âge de la mère, de la situation professionnelle, du revenu mensuel du ménage, de la parité, du tabagisme pendant la grossesse, de l'IMC et de la supplémentation en vitamines avant et pendant la grossesse, le cas échéant. L'IMC maternel a été pris en compte avec un terme cubique pour tenir compte de la non-linéarité de la relation.

Comme analyse complémentaire, nous avons également étudié la relation avec les scores de profil alimentaire considérés comme une variable catégorielle sous forme de quintiles, pour illustrer la forme linéaire des associations avec l'anthropométrie de l'enfant à la naissance. Enfin, dans le cadre d'une analyse de sensibilité, nous avons fait toutes les analyses en se limitant aux sujets en cas complets (c'est-à-dire sans données manquantes pour les variables d'exposition, d'anthropométrie de l'enfant et les covariables).

III. Résultats

1. Caractéristiques de la population

Les caractéristiques des femmes sélectionnées pour l'analyse (N = 1638) sont résumées dans le **Tableau 3.1**. L'âge moyen des mères était de 30 ans ; elles étaient principalement nées en Europe (97 %) et une grande majorité avaient un emploi au moment de l'étude (77 %). Beaucoup avaient un niveau d'études supérieures > Bac + 2 ans (34 %). Environ 26 % des mères fumaient pendant la grossesse et plus de 26 % étaient en surpoids ou obèses au début de la grossesse. Seulement 8,7 % des femmes avaient pris des suppléments de vitamines et/ou de minéraux dans les trois mois précédant leur grossesse et environ 26 % ont eu une supplémentation pendant la grossesse seulement.

Tableau 3.1 : Caractéristiques des femmes sélectionnées pour l'analyse (N = 1 638)

Données sociodémographiques	Données manquantes, n (%)	Population
Centre	0 (0)	-
Poitiers		809 (49,4)
Nancy		829 (50,6)
Age maternel (années)	0 (0)	29,7 ± 4,9
Pays de naissance	108 (6,6)	-
Europe		1 489 (97,3)
Niveau d'éducation maternel	12 (0,7)	-
Au plus niveau collègue		421 (25,9)
Niveau Bac		291 (17,9)
Bac + 2 (DUT, BTS)		367 (22,6)
> Bac + 2 ans		547 (33,6)
Statut d'emploi	13 (0,8)	-
Employé		1 245 (76,6)
Etudiant		43 (2,6)
A domicile		337 (20,7)
Revenu mensuel ménage (euros)	9 (0,5)	-
<1501		246 (15,1)
1501–2300		463 (28,4)
2301–3000		438 (26,9)
> 3000		482 (29,6)
Statut en couple (Oui)	9 (0,5)	880 (54,0)
Tabac avant grossesse (Oui)	20 (1,2)	-
No		1 040 (64,3)
1–9/jour		209 (12,9)
Au moins 10/jour		369 (22,8)
Grossesse		
Age gestationnel (SA)*	0 (0)	39,2 ± 1,7
Primipare (Oui)	2 (0,12)	731 (44,7)
Supplémentation vitaminique		-
Non	12 (0,73)	930 (57,2)
Avant grossesse		142 (8,7)
Pendant grossesse		423 (26)
Avant et pendant grossesse		131 (8,1)
Tabac pendant grossesse (Oui)	41 (2,5)	-
No		1 185 (74,2)
1–9/j		338 (21,2)
Au moins 10/j		74 (4,6)
IMC avant grossesse	33 (2,0)	-
Maigre (< 18,5 kg/m ²)		134 (8,3)
Normal (18,5 to < 25 kg/m ²)		1 060 (66)
Surpoids (25,0 to < 30 kg/m ²)		289 (18)
Obésité (≥ 30 kg/m ²)		122 (7,6)
Sexe de l'enfant	0 (0)	-
Garçon		867 (52,9)
Fille		771 (47,1)
Z-score poids de naissance ¹	0 (0)	-0,02 ± 1,0

Données sociodémographiques	Données manquantes, n (%)	Population
Z-score taille naissance ¹	47 (2,9)	-0,01 ± 1,0
Z-score périmètre crânien ¹	97 (5,8)	0,04 ± 0,8
Petit poids pour l'âge gestationnel ²	0(0)	157 (9,6)
Gros poids pour l'âge gestationnel ²	0(0)	121 (7,4)
Prematurité (< 37 SA) *	0(0)	91 (5,6)

Données descriptives en n (%) ou moy ± ET

* SA, semaines d'aménorrhées.

¹Z-score selon la référence française Audipog (Mamelle et al., 1996). ²Catégories de poids ; petit pour l'âge gestationnel (< 10^{ème} percentile), gros poids pour l'âge gestationnel (> 90^{ème} percentile).

2. Description des profils alimentaires

Trois des sept profils alimentaires résultant de la régression à rang réduit expliquaient 58 % de la variation considérée des apports en micronutriments du MC1 (**Tableau 3.2**). Le premier profil, que nous avons qualifié de « **varié et équilibré** », se caractérisait par une consommation élevée des groupes alimentaires suivants : lait et laitages pauvres en matière grasse (MG), viande, foie, poisson, œufs, céréales, légumes, salade, poireau et choux, brocolis, et par une faible consommation de collations et confiseries et de boissons sucrées. Cette tendance se caractérisait par des coefficients positifs élevés associés aux vitamines B, choline et méthionine (0,37-0,44), mais un coefficient plus faible pour la bétaine (0,16) (**Tableau 3.3**). Le deuxième profil alimentaire, appelé « **tendance végétarien** », expliquait 14,5% de la variation de l'apport en micronutriments. Ce dernier était caractérisé par une consommation élevée en fruits, salade, légumes, céréales et pain, et par des facteurs loadings négatifs pour la consommation de viande et de foie. Ce profil était caractérisé par un score positif et élevé pour les vitamines B6 et B9 et la bétaine (0,38-0,51) et des coefficients négatifs pour la vitamine B12, la choline et la méthionine. Le troisième profil, appelé « **pain et féculents** », expliquait 8,3 % de la variabilité en micronutriments, et était caractérisé par une consommation de pain, sandwich et de riz, pâtes et autres (blés, semoule), et une faible consommation de lait pauvre en MG, de fruits, de jus de fruits et de boissons sucrées. Ce profil avait un coefficient important sur l'apport en bétaine

(0,84) et des coefficients négatifs pour les vitamines B2, B6 et B9. Les autres profils n'ont pas été sélectionnés parce qu'ils ne présentaient pas de profil spécifique et expliquaient moins de 4 % de la variation de l'apport en micronutriments.

En illustration de ces résultats, nous avons décrit l'apport en micronutriments du MC1 (moyenne \pm ET) par tertile de chaque profil alimentaire (voir **Tableau Annexe 3**), et indiqué les recommandations actuelles françaises et internationales (pour la choline) sur l'apport en micronutriments.

Tableau 3.2 : Coefficients (factors loadings) de la méthode RRR pour les profils alimentaires l'année avant la grossesse dans la cohorte EDEN (N = 1 707) : sélection des trois premiers profils alimentaires

Groupes alimentaires	Profil alimentaire 1	Profil alimentaire 2	Profil alimentaire 3
Variation expliquée ^a	35	14	8
Lait et laitages pauvres en MG	0,31 *	-0,04	-0,26 *
Autres légumes	0,31 *	0,33 *	0,00
Poisson	0,29 *	-0,06	0,17
Viande	0,29 *	-0,32 *	0,20
Salade	0,26 *	0,28 *	0,03
Poireau, chou	0,23 *	0,16	-0,01
Oeufs	0,23 *	-0,13	0,05
Céréales	0,22 *	0,36 *	-0,07
Broccoli	0,21 *	0,15	0,01
Foie et abats	0,21 *	-0,28 *	-0,01
Fruits	0,19	0,41 *	-0,27 *
Eau	0,16	0,11	0,02
Soja	0,16	0,11	-0,03
Pain complet	0,10	0,18	0,16
Lait et laitages riches en MG	0,08	0,04	-0,24
Café, thé	0,07	0,00	-0,05
Avocat	0,06	0,11	-0,04
Autres pains	-0,006	0,21 *	0,53 *
Pommes de terre cuites, au four	0,04	0,00	0,00
Fromage	0,03	-0,12	-0,10
Riz, pâtes, et autres	0,03	0,06	0,36 *
Sauces	0,01	0,05	0,02
Noix and graines	-0,003	0,12	-0,12
Charcuterie	-0,004	-0,18	0,02
Jus de fruit	-0,02	0,18	-0,31 *
Plats préparés	-0,02	-0,09	0,13
Confiture, miel	-0,04	0,09	0,04
Glace	-0,05	-0,01	-0,09
Frites ou pommes de terre rissolées	-0,08	-0,14	-0,03
Barre chocolatée	-0,09	-0,05	-0,11
Beurre	-0,10	-0,00	0,04
Alcool	-0,10	-0,03	-0,03
Sandwich	-0,11	-0,04	0,22 *
Gâteau, pâtisserie	-0,19	-0,01	0,04
Collations et confiseries	-0,20 *	-0,003	-0,10
Boissons sucrées et soda	-0,29 *	-0,09	-0,23 *

^a Variation expliquée des micronutriments d'après la méthode RRR, * Coefficient $\geq 0,20$.

Tableau 3.3 : Apport en micronutriments du métabolisme C1 l'année précédant la grossesse et association avec les trois profils alimentaires défini par la méthode de régression à rang réduit dans la cohorte EDEN (N = 1 707)

	Apport pré-conceptionnel en micronutriments *	Association avec les profils alimentaires **		
		Varié et équilibré	Tendance végétarien	Pain et féculents
Vitamin B2 (mg/j)	2,27 ± 0,9	0,41	0,01	-0,33
Vitamin B6 (mg/j)	1,92 ± 0,8	0,44	0,38	-0,13
Vitamin B9 (µg/j)	379,47 ± 165	0,37	0,51	-0,30
Vitamin B12 (µg/j)	6,06 ± 3,7	0,37	-0,46	0,09
Choline (mg/j)	386,89 ± 149	0,43	-0,22	0,11
Bétaïne (mg/j)	198,42 ± 77,3	0,16	0,42	0,84
Méthionine (g/j)	2,09 ± 0,9	0,39	-0,40	0,23

* moy ± ET des valeurs de consommation des micronutriments au cours de l'année précédant la grossesse estimée dans le QFA. ** coefficients des scores de réponse (ou nutriments) pour les trois profils d'alimentation. Par exemple, le profil "varié et équilibré" était caractérisé par des scores élevés pour les variables réponses (soit les nutriments), excepté pour la bétaïne, et reflète donc un régime alimentaire riche en principaux nutriments du métabolisme C1.

3. Association entre les caractéristiques maternelles et profils alimentaires

Les femmes plus jeunes, ayant un niveau d'éducation plus faible ou qui étaient sans emploi avaient des scores plus faibles que leurs paires pour le profil « varié et équilibré », tandis que les femmes dont le revenu mensuel du ménage était élevé avaient des scores plus élevés pour ce profil (**Tableau 3.4**). Nous avons retrouvé des associations similaires pour le profil « tendance végétarien » excepté pour l'âge de la mère, qui n'était pas associé à ce profil. De plus, les étudiants et les femmes primipares avaient une adhérence plus importante à ce profil. Les femmes ayant un faible niveau d'éducation ou âgées de moins de 25 ans avaient de faibles scores sur le profil « pain et féculents ». Le tabagisme était associé à de faibles scores avec les profils « tendance végétarien » et « varié et équilibré ». Les femmes maigres mangeaient moins souvent un régime alimentaire varié et équilibré, ainsi que les femmes en surpoids avaient de faibles scores sur le profil « tendance végétarienne ». Les femmes ayant eu recours à une supplémentation en vitamines avant la grossesse présentaient des scores élevés en lien avec le

profil « varié et équilibré » et des scores relativement élevés sur le profil « tendance végétarien » par rapport aux femmes n'ayant pas pris de suppléments ($p = 0,05$).

Tableau 3.4 : Associations non ajustées entre les caractéristiques maternelles et les profils alimentaires (N = 1 638)

Caractéristiques maternelles		Varié et équilibré β (95% IC)	Tendance végétarien β (95% IC)	Pain et féculents β (95% IC)
Age maternel	<25	-0,34 [-0,51 ; -0,17]	-0,03 [-0,19 ; 0,13]	-0,16 [-0,30 ; -0,02]
	25–29	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>
	30–34	0,10 [-0,03 ; 0,23]	0,01 [-0,11 ; 0,13]	-0,08 [-0,19 ; 0,03]
	35	0,17 [0 ; 0,33]	0,04 [-0,11 ; 0,19]	-0,01 [-0,14 ; 0,13]
Pays de naissance	Hors Europe	0,27 [-0,09 ; 0,63]	-0,05 [-0,47 ; 0,38]	0,18 [-0,09 ; 0,46]
	Europe	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>
Niveau d'éducation maternel	Au plus niveau collègue	-0,29 [-0,43 ; -0,14]	-0,42 [-0,55 ; -0,29]	-0,29 [-0,41 ; -0,17]
	Niveau Bac	-0,15 [-0,31 ; 0,01]	-0,25 [-0,39 ; -0,10]	-0,16 [-0,29 ; -0,02]
	Bac + 2 (DUT, BTS)	-0,13 [-0,28 ; 0,02]	-0,16 [-0,30 ; -0,03]	0 [-0,12 ; 0,12]
	> Bac + 2 ans	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>
Statut d'emploi	Employé	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>
	Étudiant	-0,04 [-0,38 ; 0,31]	0,38 [0,07 ; 0,69]	-0,17 [-0,46 ; 0,11]
	À domicile	-0,22 [-0,36 ; -0,08]	-0,19 [-0,32 ; -0,07]	-0,11 [-0,22 ; 0,01]
Revenu mensuel ménage (euros)	<1501	-0,08 [-0,25 ; 0,10]	-0,31 [-0,47 ; -0,15]	-0,1 [-0,25 ; 0,05]
	1501–2300	-0,04 [-0,19 ; 0,11]	-0,17 [-0,31 ; -0,04]	-0,2 [-0,32 ; -0,08]
	2301–3000	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>
	>3000	0,18 [0,04 ; 0,33]	0,07 [-0,07 ; 0,20]	-0,03 [-0,15 ; 0,1]
Tabac pendant la grossesse	Non	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>
	1–9/j	-0,21 [-0,34 ; -0,07]	-0,2 [-0,32 ; -0,07]	-0,03 [-0,14 ; 0,08]
	At least 10/j	-0,65 [-0,92 ; -0,39]	-0,64 [-0,88 ; -0,40]	-0,11 [-0,34 ; 0,11]
Vivre en couple	Non	-0,11 [-0,22 ; 0]	-0,03 [-0,13 ; 0,07]	-0,04 [-0,13 ; 0,05]
	Oui	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>
Parité	Multipare	0,01 [-0,10 ; 0,12]	-0,26 [-0,36 ; -0,16]	-0,01 [-0,10 ; 0,09]
	Primipare	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>

Caractéristiques maternelles		Varié et équilibré β (95% IC)	Tendance végétarien β (95% IC)	Pain et féculents β (95% IC)
IMC avant grossesse	Maigreur (< 18,5 kg/m ²)	-0,44 [-0,65 ; -0,24]	-0,03 [-0,21 ; 0,16]	0,01 [-0,16 ; 0,18]
	Normal (18,5 to < 25 kg/m ²)	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>
	Surpoids (25,0 to < 30 kg/m ²)	-0,01 [-0,16 ; 0,13]	-0,16 [-0,30 ; -0,03]	-0,1 [-0,22 ; 0,02]
	Obésité (≥ 30 kg/m ²)	-0,01 [-0,22 ; 0,20]	-0,34 [-0,54 ; -0,15]	-0,03 [-0,20 ; 0,15]
Supplémentation vitaminique	Non	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>
	Avant grossesse	0,31 [0,11 ; 0,51]	0,18 [0 ; 0,36]	0,03 [-0,14 ; 0,20]
	Pendant grossesse	0,1 [-0,04 ; 0,23]	0,11 [-0,01 ; 0,23]	0,06 [-0,05 ; 0,17]
	Avant et pendant grossesse	0,11 [-0,10 ; 0,32]	0,13 [-0,06 ; 0,32]	-0,02 [-0,19 ; 0,15]

4. Profils alimentaires et croissance fœtale

Les modèles de régression linéaires non ajustés ont montré qu'une adhérence au profil « varié et équilibré » était positivement associée au poids ($p = 0,02$) et à la taille de naissance ($p < 0,01$), et une tendance similaire était observée bien que non significative pour le périmètre crânien à la naissance ($p = 0,06$) (**Tableau 3.5**). Après ajustement sur les caractéristiques maternelles et les facteurs liés à la grossesse précédemment décrits, les associations pour le profil « varié et équilibré » s'atténuèrent pour le poids ($p = 0,14$), la taille ($p = 0,08$) ainsi que pour le périmètre crânien de l'enfant à la naissance ($p = 0,43$) (**Tableau 3.5**). Lorsque nous avons étudié les associations en catégorisant les scores des profils alimentaires en quintiles (**Figure 3.2**), nous avons constaté que la taille à la naissance augmentait régulièrement avec les quintiles du profil « varié et équilibré » pour les quatre premiers quintiles.

Les résultats du modèle logistique non ajusté, ont montré que le profil « pain et féculents » était associé à un risque diminué de petit poids pour l'âge gestationnel ($p = 0,05$) et des scores élevés sur le profil « varié et équilibré » étaient associés à un risque accru de poids élevé pour l'âge gestationnel ($p < 0,01$). Ces associations persistaient dans le modèle ajusté (**Tableau 3.6**). Aucune association significative n'a été retrouvée entre le profil « tendance végétarien » et l'anthropométrie chez l'enfant à la naissance. Dans les analyses ajustées, des scores élevés pour le profil « tendance végétarien » étaient associés à un risque diminué de prématurité ($p = 0,03$).

Parmi les autres résultats des analyses ajustées, la supplémentation en vitamines au cours des trois mois précédant la grossesse n'était pas associée de manière significative à la croissance fœtale. La durée de la gestation était plus courte en moyenne pour les femmes ayant pris des suppléments avant la grossesse ($p = 0,05$), sans augmentation du risque de prématurité (voir **Tableau 3.6**).

Lors de la réplication de ces analyses en cas complets, les résultats étaient comparables même si les associations entre le profil « varié et équilibré » et à la fois le poids à la naissance ($\beta = 0,02$ [95% IC -0,02 ; 0,06]) et la taille à la naissance ($\beta = 0,03$ [95% IC -0,01 ; 0,07]) s'atténuaient (voir **Tableau Annexe 4**).

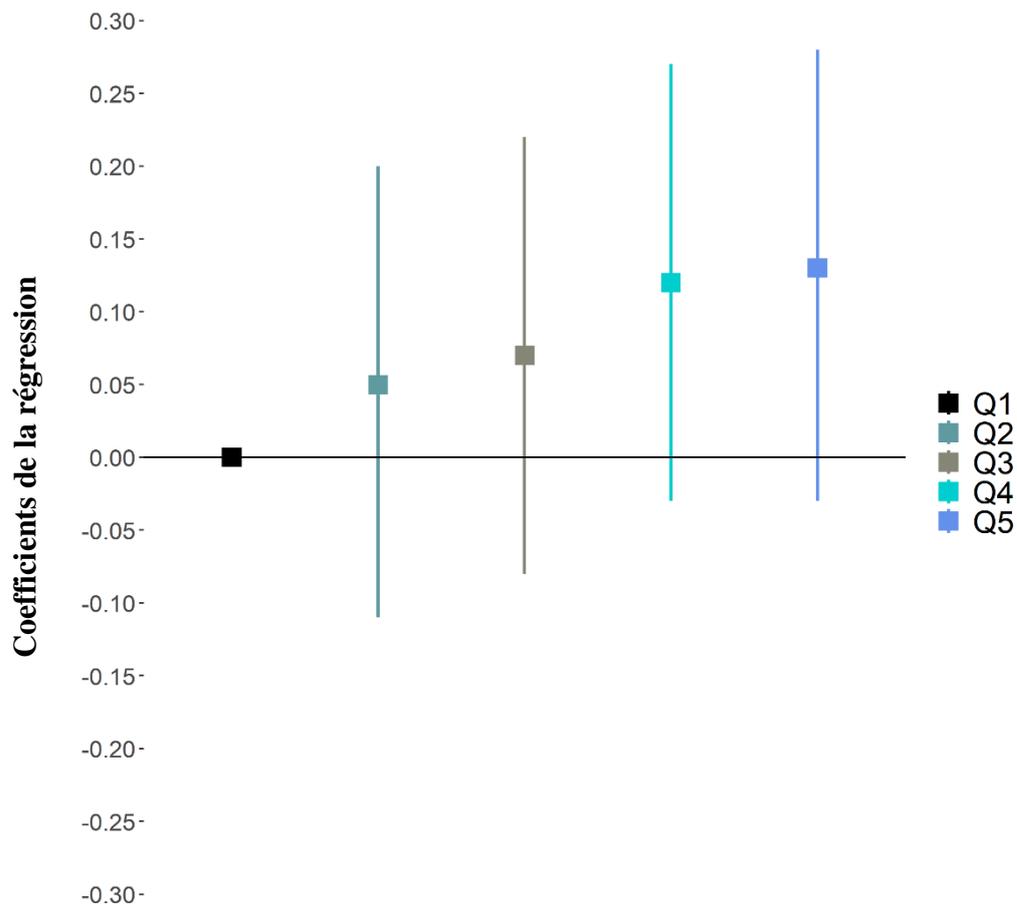


Figure 3.2 : Régression linéaire du Z-score de la taille à la naissance par quintiles des scores du profil « varié et équilibré » (N=1 638)

Q1 à Q5 sont les quintiles 1 à 5. Q1 (premier quintile) est la référence. p-value tendance = 0,06. Modèle ajusté sur le centre, le niveau d'éducation maternel, l'âge maternel, le statut d'emploi, le revenu, la parité, la consommation de tabac pendant la grossesse, l'IMC et la supplémentation vitaminique. Z-score de la taille à la naissance, selon la référence française d'Audipog (Mamelle et al., 1996). β [95% IC].

Tableau 3.5 : Association entre les profils alimentaires l'année avant la grossesse ou la supplémentation vitaminique et l'anthropométrie néonatale à la naissance ou l'âge gestationnel (N=1 638) après imputation multiple

Profils alimentaires	Z-score poids de naissance β (95% IC)*		Z-score taille à la naissance β (95% IC)*		Z-score périmètre crânien β (95% IC) *		Age gestationnel (SA) β (95% IC)	
	Non ajusté	Ajusté ^a	Non ajusté	Ajusté ^a	Non ajusté	Ajusté ^a	Non-ajusté**	Ajusté ^{***a}
Varié et équilibré	0,05 [0,01 ; 0,09]	0,03 [-0,01 ; 0,07]	0,07 [0,03 ; 0,11]	0,04 [-0,01 ; 0,08]	0,03 [-0,002 ; 0,07]	0,01 [-0,02 ; 0,05]	-0,06 [-0,13 ; 0,02]	-0,05 [-0,12 ; 0,02]
Tendance végétarien	0,01 [-0,03 ; 0,06]	0,01 [-0,04 ; 0,05]	0,03 [-0,02 ; 0,08]	0,01 [-0,04 ; 0,06]	0,02 [-0,02 ; 0,06]	0,01 [-0,03 ; 0,05]	0,05 [-0,03 ; 0,13]	0,04 [-0,04 ; 0,12]
Pain et féculents	0,02 [-0,03 ; 0,07]	0,02 [-0,03 ; 0,07]	-0,03 [-0,08 ; 0,02]	-0,02 [-0,07 ; 0,03]	-0,03 [-0,07 ; 0,02]	-0,03 [-0,08 ; 0,01]	0,06 [-0,03 ; 0,15]	0,05 [-0,04 ; 0,14]
Supplémentation vitaminique								
Non	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>
Avant grossesse	-0,09 [-0,26 ; 0,08]	-0,09 [-0,26 ; 0,08]	-0,15 [-0,34 ; 0,03]	-0,12 [-0,30 ; 0,05]	-0,08 [-0,23 ; 0,07]	-0,08 [-0,22 ; 0,07]	-0,30 [-0,60 ; -0,004]	-0,33[-0,63 ; -0,02]
Pendant grossesse	-0,06 [-0,17 ; 0,05]	-0,08[-0,19 ; 0,03]	-0,07 [-0,19 ; 0,05]	-0,07 [-0,19 ; 0,04]	-0,04 [-0,14 ; 0,06]	-0,07 [-0,17 ; 0,03]	-0,08 [-0,27 ; 0,12]	-0,11 [-0,30 ; 0,09]
Avant et pendant grossesse	0,04 [-0,14 ; 0,22]	0,07 [-0,11 ; 0,24]	0,01 [-0,19 ; 0,19]	0,03 [-0,15 ; 0,22]	-0,02 [-0,18 ; 0,13]	-0,04 [-0,20 ; 0,12]	-0,04 [-0,35 ; 0,27]	-0,05 [-0,36 ; 0,27]

^a ajusté sur le centre, le niveau d'éducation maternelle, l'âge maternel, le statut d'emploi, le revenu mensuel, la parité, la consommation de tabac pendant la grossesse, l'IMC et la supplémentation vitaminique, * Z-scores de croissance selon la référence de Audipog (Mamelle et al., 1996) ** Age gestationnel : ajustement additionnel sur le sexe de l'enfant. β coefficients de la régression linéaire et IC à 95% pour une variation de 1 ET du score du profil alimentaire.

Tableau 3.6 : Association entre les profils alimentaires l'année avant la grossesse ou la supplémentation vitaminique et le risque d'anomalies de la croissance de l'enfant et de prématurité (N=1 638) après imputation multiple

	PAG OR (95% IC) *			GAG OR (95% IC) *			Prématurité OR (95% IC)		
	N	Modèle brut	Modèle ajusté ^a	N	Modèle brut	Modèle ajusté ^a	N	Modèle brut	Modèle ajusté ^b
Profils alimentaires									
Varié et équilibré	157	0,96 [0,83 ; 1,11]	1,00 [0,86 ; 1,16]	121	1,22 [1,05 ; 1,41]	1,19 [1,02 ; 1,39]	91	1,15 [0,97 ; 1,36]	1,10 [0,92 ; 1,32]
Tendance végétarien	157	1,01 [0,86 ; 1,18]	1,02 [0,87 ; 1,21]	121	0,96 [0,81 ; 1,14]	0,97 [0,81 ; 1,16]	91	0,86 [0,71 ; 1,05]	0,79 [0,65 ; 0,98]
Pain et féculents	157	0,84 [0,70 ; 1,0]	0,83 [0,70 ; 0,99]	121	0,98 [0,81 ; 1,19]	1,00 [0,82 ; 1,23]	91	1,01 [0,8 ; 1,26]	1,02 [0,81 ; 1,28]
Supplémentation vitaminique									
Non	82	Reference	Reference	[66 ; 68]**	Reference	Reference	46	Reference	Reference
Avant grossesse	16	1,3 [0,74 ; 2,29]	1,25 [0,7 ; 2,23]	[12 ; 13]	1,31 [0,7 ; 2,44]	1,25 [0,64 ; 2,43]	9	1,29 [0,62 ; 2,7]	1,30 [0,61 ; 2,76]
Pendant grossesse	50	1,38 [0,95 ; 2,0]	1,46 [0,99 ; 2,14]	[33 ; 35]	1,14 [0,74 ; 1,75]	1,09 [0,70 ; 1,71]	27	1,29 [0,79 ; 2,11]	1,31 [0,79 ; 2,16]
Avant et pendant grossesse	9	0,77 [0,38 ; 1,57]	0,74 [0,36 ; 1,54]	8	0,86 [0,4 ; 1,83]	0,95 [0,43 ; 2,06]	9	1,44 [0,69 ; 3,02]	1,33 [0,62 ; 2,85]

^a Ajusté sur le centre, le niveau d'éducation maternelle, l'âge maternel, le statut d'emploi, le revenu mensuel, la parité, la consommation de tabac pendant la grossesse, l'IMC, et la supplémentation vitaminique. ^b Ajustement additionnel sur le sexe de l'enfant * Risque de petit poids pour l'âge gestationnel ou PAG (<10^{ème} percentile) et risque de gros poids pour l'âge gestationnel ou GAG (>90^{ème} percentile), catégorisé selon les z-scores construits du modèle d'Audipog (Mamelle et al., 1996).

** Minimum–maximum du nombre de femmes dans chaque catégorie de la variable selon les tables d'imputation générées.

IV. Discussion

1. Synthèse des résultats

Cette étude est la première ayant cherché à évaluer dans quelle mesure les profils contributeurs en micronutriments impliqués dans le métabolisme monocarboné, au cours de l'année précédant la grossesse, sont associés à la croissance du fœtus chez les jeunes femmes en âge de procréer. Nous avons identifié trois principaux profils alimentaires constituant la principale source de variabilité de l'apport en micronutriments. Un score élevé sur le profil « varié et équilibré » correspondait à un apport élevé des principaux micronutriments et à une adéquation probable avec l'apport recommandé. Le profil « tendance végétarien » était associé à un apport élevé en vitamines B6, B9 et de bêtaïne au détriment d'autres nutriments tels que la vitamine B12, la choline et la méthionine. Le profil « pain et féculents » était principalement caractérisé par un apport en bêtaïne et un faible apport en vitamine B9.

L'apport en nutriments selon les profils alimentaires identifiés était cohérent avec d'autres études montrant qu'une consommation élevée d'aliments d'origine végétale pouvait entraîner une concentration sanguine élevée en folates (Sebastiani et al., 2019). L'étude INCA2 a montré que les participants appartenant à des clusters avec un régime « traditionnel » ou « diversifié » avaient un apport en vitamines plus important, alors que les adultes avec une consommation en produits industriels ou sandwiches avaient un faible apport en vitamines (Bertin et al., 2016). Nos profils étaient cohérents avec les différentes sources alimentaires rapportées en choline (œufs, viande, germe de blé) et en bêtaïne (blé, pain, épinards) (Zeisel et al., 2003). Les associations retrouvées entre les profils alimentaires et les caractéristiques maternelles étaient cohérentes avec les résultats d'autres études sur les profils alimentaires chez les femmes enceintes et non enceintes (Koch et al., 2019; Lioret et al., 2012; Stråvik et al., 2019). La consommation de fruits, de légumes, de céréales complètes et de poisson était plus

élevée chez les femmes avec un haut niveau d'éducation (Lioret et al., 2012; Stråvik et al., 2019). L'âge était également associé de manière positive à un régime alimentaire caractérisé par une forte consommation de fruits et de légumes (Lioret et al., 2012). Le tabagisme et un IMC élevé ont été retrouvés dans la littérature comme négativement associés à la consommation de fruits (Stråvik et al., 2019).

Il est important de noter que notre étude s'est intéressée aux profils alimentaires qui expliquent la variabilité de l'apport combiné en micronutriments du MC1 et à l'association avec la croissance fœtale pendant la période préconceptionnelle, qui est une période importante à considérer pour les mécanismes de programmation épigénétique. Comme précédemment décrit dans l'introduction, plusieurs études ont montré des associations entre les micronutriments individuellement apportés, soit par le régime maternel, soit par supplémentation et le développement du cerveau ou du poids de naissance (De-Regil et al. 2015; Fekete et al. 2012; McGee et al. 2018; Rogne et al. 2017). Cependant, les études ciblées sur l'effet d'un nutriment ne tiennent pas compte des associations entre ce nutriment et les autres, bien qu'ils puissent avoir un rôle collectif dans le métabolisme C1.

Nos résultats ont mis en évidence une faible association entre le profil « varié et équilibré » avant la grossesse et le poids, taille et périmètre crânien à la naissance, qui n'était pas significative après ajustement sur les facteurs sociodémographiques et comportementaux. Une adhérence plus importante à ce profil alimentaire était associée à une augmentation du risque de gros poids pour l'âge gestationnel, qui pourrait davantage être lié à une taille plus importante qu'à une adiposité accrue. Aucune association n'a été retrouvée entre le profil « tendance végétarien » et les mesures anthropométriques à la naissance. Un régime varié et équilibré avant grossesse permettrait cependant d'apporter les principaux nutriments essentiels au développement de l'enfant, tandis que le régime végétarien, bien que caractérisé par un apport élevé en vitamines B6 et B9, se caractérisait aussi par un faible apport en vitamine B12.

Dans notre étude, nous avons constaté qu'une forte adhésion au profil "tendance végétarien" associée à un risque diminué de prématurité était conforme aux données rapportées dans des revues de la littérature soulignant l'importance d'un statut adéquat en folate pour éviter le risque de prématurité (Fekete et al., 2010; Tamura et al., 2006). Inversement, une méta-analyse n'a pas trouvé d'effets bénéfiques de la supplémentation en folate pendant la grossesse sur la durée de la gestation (Fekete et al., 2012).

Le troisième profil, « pain et féculents », contribuait à la variabilité de l'apport en bétaine et était associé à un risque diminué de petit poids pour l'âge gestationnel, association qui persistait après ajustement sur les facteurs de confusion. Ce profil présentait moins de caractéristiques maternelles associées. À l'inverse, deux études ont montré que la concentration plasmatique de bétaine au cours du deuxième trimestre était associée à une taille et un poids de naissance plus faibles et à une masse grasseuse abdominale moindre (Du et al. 2019; van Lee et al. 2016). Peu d'études ont évalué le rôle de la bétaine dans la croissance fœtale, et les résultats controversés pourraient s'expliquer par des différences dans les mesures d'apport en bétaine entre les études, si elles ne sont pas dues au hasard. Bien que les profils alimentaires créés avaient pour but d'expliquer la variabilité de la teneur en micronutriments MC1, d'autres aspects du régime alimentaire (comme les macronutriments, fibres...) peuvent également expliquer les associations observées.

Aucune association entre la supplémentation en vitamines et la croissance fœtale n'a été retrouvée. Seules quelques femmes (8%) ont pris des suppléments en vitamines avant la grossesse et ont maintenu cette consommation pendant la grossesse. De plus, aucune information n'était disponible quant à la durée de la supplémentation et le trimestre de grossesse concerné, ce qui constitue une limite de l'étude. Toutefois, nous avons constaté une association positive entre la supplémentation en vitamines avant la grossesse et des scores élevés sur le profil "varié et équilibré". Une étude de la cohorte NutriNet-Santé avait également montré que

les utilisatrices de compléments alimentaires avaient une consommation alimentaire plus riche en vitamines et minéraux (Pouchieu et al., 2013). Il est donc possible que la supplémentation en vitamines n'apporte pas de bénéfice additionnel pour la croissance fœtale à celui de la consommation alimentaire maternelle dans notre étude où les femmes ne sont pas en situation de grande malnutrition.

La supplémentation en vitamines avant la conception était associée de manière significative à une réduction de la durée de la gestation, trois jours en moyenne, sans aucune association avec un risque de prématurité. Cette constatation peut s'expliquer par une causalité inverse : les femmes à risque de complications gestationnelles, seraient plus susceptibles d'être suivies dès la période préconceptionnelle et d'initier une supplémentation vitaminique.

2. Forces et limites

Cette étude apporte de nouvelles informations sur les caractéristiques du régime alimentaire des femmes en âge de procréer avant la grossesse, en lien avec la contribution combinée en micronutriments essentiels au développement du fœtus. Par rapport à d'autres approches de construction des profils alimentaires, la technique RRR s'est avérée particulièrement utile en raison de son approche adaptée à notre problématique de recherche et dont l'objectif était de contribuer à une nouvelle compréhension des voies par lesquelles le régime alimentaire influence la santé. Nous avons également utilisé une technique d'imputation multiple pour limiter les biais de sélection induits par la présence de données manquantes pour nos variables d'intérêt et nos facteurs de confusion.

Une des premières limites est la mise en question de la validité et de la précision des données rapportées par les femmes sur leur alimentation l'année avant la grossesse. Les femmes peuvent avoir sous- ou sur-déclaré leur consommation de groupes d'aliments spécifiques (par exemple, l'attrait social d'un type de régime ou les habitudes alimentaires). Toutefois, la

précision serait similaire si un professionnel de santé avait recueilli les informations. De plus les femmes ayant un statut social défavorisé et présentant davantage de carences nutritionnelles sont peu représentées dans notre étude, ce qui pourrait expliquer en partie pourquoi nous n'avons pas trouvé d'associations importantes avec la croissance fœtale. En outre, il existe une possibilité de confusion résiduelle, qui suggère la nécessité de réplication de ces résultats.

3. Perspectives

Le rôle de la nutrition dans le métabolisme C1 et la méthylation de l'ADN a été plus largement étudié dans les modèles animaux que dans les études épidémiologiques. Cependant, des recherches récentes sur l'homme ont indiqué qu'une modification de la consommation des donneurs de méthyle peut affecter l'épigénome du fœtus (McGee et al., 2018). Dans le chapitre suivant sera abordé l'association entre les profils alimentaires présentés ici et la méthylation de l'ADN placentaire dans un sous-échantillon de la cohorte EDEN. De nouvelles preuves commencent aussi à démontrer que les mécanismes épigénétiques peuvent être impliqués dans le développement précoce mais aussi dans le développement ultérieur de la santé et le risque de maladies (Chango et al., 2015). La réplication des résultats sur d'autres aspects du développement, tels que le développement cérébral à plus long terme chez l'enfant constitue également une perspective importante de ce travail.

V. Conclusion

Cette étude a identifié trois profils alimentaires décrivant la variabilité de l'apport combiné des micronutriments impliqués dans le métabolisme C1, à partir de données sur le régime alimentaire de jeunes femmes françaises en âge de procréer. Le profil varié et équilibré permettrait d'apporter les principaux nutriments essentiels à la méthylation de l'ADN. Cependant, dans cet échantillon de femmes françaises ne présentant pas de carences nutritionnelles importantes, nous n'avons pas retrouvé d'effet majeur de l'apport en micronutriments impliqués dans les voies de méthylation sur la croissance fœtale.

CHAPITRE 4. Apport en micronutriments et méthylation de l'ADN placentaire

Afin de mener les travaux présentés dans ce chapitre, j'ai réalisé un séjour de quatre mois au sein d'une équipe de recherche à Bristol, spécialisée sur les analyses en épigénétique afin de me former aux méthodologies d'analyse des données de méthylome (Epigenetic Epidemiology, MRC Integrative Epidemiology Unit, Population Health Sciences, Bristol Medical School, University of Bristol, encadrements : Dr Matthew Suderman).

I. Introduction

Lors des précédents chapitres, nous avons décrit l'implication de plusieurs micronutriments apportés par l'alimentation maternelle dans le fonctionnement du cycle de méthylation de l'ADN (folates, choline, bétaïne, méthionine et vitamines B). Ces nutriments jouent différents rôles de donneur de méthyle ou de cofacteurs des enzymes impliqués dans le transfert des groupes méthyle vers l'ADN (Anderson et al., 2012). Par une réaction pilotée par l'ATP (molécule clef des réactions chimiques du métabolisme), la méthionine est convertie en S-adénosylméthionine (SAM), le donneur de méthyle cellulaire universel. Les ADN-méthyltransférases (DNMT) fixent par covalence les groupes méthyle de la SAM en position 5 des bases cytosine, générant de la 5-méthylcytosine et méthylant ainsi l'ADN. La méthylation de l'ADN est la forme de modification épigénétique la plus étudiée qui se produit dans la voie du métabolisme monocarboné. Elle est impliquée dans de nombreux processus biologiques comme le développement, la différenciation cellulaire, la régulation de la transcription des gènes, la modulation de la structure de la chromatine, ainsi que le maintien de la stabilité du génome (Robertson, 2002). Ainsi une modification de l'apport en ces micronutriments pourrait impacter le fonctionnement du cycle de méthylation de l'ADN et affecter la prolifération cellulaire et par la suite le développement fœtal.

Chez l'homme, peu d'études ont évalué l'association entre les apports alimentaires en donneurs de méthyle et la méthylation de l'ADN chez l'enfant. Au niveau populationnel, il a

été rapporté dans une étude que l'apport maternel en donneurs de méthyle (folate et bétaine) évalué par un QFA, et la supplémentation en acide folique en période périconceptionnelle étaient associés à des modifications de la méthylation de certains sites localisés sur des gènes de l'ADN buccal du nourrisson, impliqués dans la croissance et le métabolisme (Pauwels et al., 2017). Un essai randomisé contrôlé a montré également que la supplémentation en acide folique (en fin de grossesse) était associée à la méthylation de certains gènes dans le sang de cordon (Irwin et al., 2019). Peu d'études ont rapporté une association entre ces micronutriments et la méthylation de l'ADN du tissu placentaire. Une étude randomisée, évaluant l'influence de l'apport en choline (930 vs 480 mg/jour au cours du troisième trimestre) a montré une association positive entre une consommation plus élevée de choline et l'état épigénétique des gènes régulateurs du cortisol (Jiang et al., 2012). La méthylation de l'ADN est décrite aussi comme un important régulateur de l'empreinte génomique. L'empreinte génomique est un mécanisme épigénétique qui conduit à l'expression monoallélique des gènes, dépendante de l'origine parentale de l'allèle (Monnier et al., 2013). Une étude sur l'effet de l'apport en folates mesuré dans le sang de cordon ou la supplémentation en acide folique n'a pas retrouvé d'association claire avec la régulation de l'empreinte génomique des gènes IGF2 et H19 (associés à la croissance du fœtus) dans le tissu placentaire (Tserga et al., 2017). Mais la puissance de ces études est relative et reposent sur de faibles effectifs (< 100). Le placenta est pourtant un organe majeur des échanges nutritifs au cours de la grossesse et représente une opportunité unique pour évaluer l'impact des expositions survenant en période prénatale. La différenciation entre le tissu embryonnaire et placentaire se déroule très tôt dès la phase d'implantation et les ébauches placentaires se mettent en place au cours des trois premières semaines (Chavatte-Palmer et al., 2016). L'exposition à des conditions environnementales nutritionnelles inappropriées dès la période pré-conceptionnelle pourraient entraîner des

modifications épigénétiques du placenta, y compris des modifications des niveaux de méthylation de l'ADN (Vlahos et al., 2019).

Nous avons émis l'hypothèse que l'apport maternel en micronutriments l'année avant la grossesse pourrait impacter la fonction placentaire à travers des modifications de la méthylation de l'ADN. Nous avons étudié les relations entre les trois profils alimentaires définis dans le chapitre précédent caractérisant la variabilité de l'apport en micronutriments : « varié et équilibré », « tendance végétarien » et « pain et féculents » ; et la méthylation de l'ADN placentaire à la naissance. Deux méthodes ont été utilisées : en évaluant d'une part l'association avec la méthylation globale de l'ADN approchée par deux proxys LINE-1 et Alu et d'autre part en utilisant une approche génome entier sur des sites connus pour leur richesse en méthylation (sites CpG). Cette dernière a été complétée par une analyse des sites localisés dans des régions différemment méthylées en lien avec les différents profils alimentaires.

II. Matériel et Méthodes

1. Variables utilisées et prélèvements d'échantillons placentaires

a. Caractéristiques maternelles et liées à la grossesse

J'ai réalisé ces travaux de thèse à partir des données de la cohorte mère-enfant EDEN (Heude et al., 2015). J'ai utilisé dans le cadre de ce projet différentes informations collectées par des questionnaires et entretiens pendant la grossesse et présentées dans le chapitre 2 décrivant plus en détail la cohorte : le centre, la supplémentation en vitamines avant et pendant la grossesse, les informations sur l'âge gestationnel, le sexe de l'enfant à la naissance. Nos variables d'exposition considérées étaient les trois profils alimentaires, générés dans le chapitre précédent, caractérisant l'apport en micronutriments du MC1 : « varié et équilibré », « tendance

végétarien », « pain et féculents » issus du questionnaire de fréquence alimentaire (QFA) portant sur l'année avant la grossesse.

b. Analyse biologique de la méthylation de l'ADN placentaire

1301 échantillons placentaires ont été prélevés à la naissance selon un protocole standardisé décrit dans le chapitre 2. 668 enfants avaient des analyses de méthylation actuellement disponibles pour l'étude. L'ADN des échantillons placentaires a été extrait à l'aide de l'instrument QIASymphony. Les échantillons d'ADN ont été placés sur des plaques de 96 ou 48 puits. Au total, neuf plaques comprenant 64 puces ont été utilisées. Ces plaques ont été analysées en 4 lots. Les ratios pour le sexe (garçon/fille) et le centre de recrutement (Poitiers/Nancy) étaient équilibrés pour chaque puce. Certains échantillons ont été mesurés en plusieurs exemplaires sur l'ensemble des lots, des plaques et des puces afin de prendre en compte les effets liés aux conditions expérimentales (Abraham et al., 2018). La technique Illumina Infinium HumanMethylation450 BeadChip® a permis d'évaluer le statut de méthylation de 485 512 cytosines sur l'ensemble du génome (Illuminas, San Diego, CA, USA) (Dedeurwaerder et al., 2014). Les signaux bruts de 450 KBeadChips ont été extraits à l'aide du logiciel GenomeStudio® (v2011.1. Illumina) (Abraham et al., 2018). Le niveau de méthylation de l'ADN de chaque CpG a été calculé comme le rapport de l'intensité des signaux fluorescents des allèles méthylés sur la somme des allèles méthylés et non méthylés. Ce rapport permet de calculer la β -value) qui représente le pourcentage de méthylation du site CpG dans les cellules étudiées. Elle est comprise entre 0 pour un site CpG non méthylé et 1 pour un site CpG totalement méthylé.

2. Traitement préalable des données de méthylation

Nous avons effectué les étapes de contrôle qualité et de normalisation des données de méthylation de l'ADN à l'aide du package R nommé *meffil* qui a été développé par l'équipe d'accueil de Bristol (Min et al., 2018) (voir **encadré n°4.1**). Ces étapes permettent de vérifier la présence de potentielles sources de variation liées aux conditions expérimentales, puis de les corriger afin de limiter leur impact lors de l'analyse plus fine des données de méthylation en relation avec notre exposition d'intérêt.

Encadré 4.1 : package *meffil*

Le package *meffil* est décrit comme une nouvelle méthode permettant d'évaluer les aspects du contrôle qualité, la normalisation de grands ensembles de données et les analyses statistiques à l'échelle du génome entier. Le package *meffil* comprend des fonctionnalités permettant d'identifier les mesures de méthylation de faible qualité, de découvrir et de rectifier les discordances entre les échantillons, de supprimer les effets confondants liés à l'hétérogénéité des types cellulaires et d'évaluer la qualité des associations observées (Min et al., 2018).

a. Étape de contrôle qualité à l'aide du package *meffil*

Cette étape a pour but de vérifier la présence de variations attribuables aux conditions expérimentales lors de la mesure de la méthylation de l'ADN.

La puce 450k contient des sondes de contrôles qui permettent d'évaluer la qualité de différentes étapes spécifiques de traitement des échantillons et la performance entre les échantillons (conversion bisulfite, coloration, hybridation de l'ADN, extension et intensité de fluorescence...). La valeur *p* de détection (detection *p*-value en anglais) est utilisée pour mesurer la performance globale de la sonde. Elle associée à chaque β et reflète la force de l'intensité du signal d'hybridation de l'ADN par rapport à l'intensité du bruit de fond, soit

l'intensité des sondes de mesures par rapport à celle des sondes de contrôles négatives (Aïssi, 2015; Dedeurwaerder et al., 2014). Une p-value non significative est généralement la conséquence d'une mauvaise conception de la sonde ou de l'étape d'hybridation.

Nous avons vérifié la présence de valeurs aberrantes ainsi que repéré les sondes ou échantillons de mauvaise qualité à l'aide entre autres des valeurs p de détection (exclusion des sondes avec p-value > 0,01 pour plus de 10 % des échantillons mesurés), du rapport entre le signal méthylé/vs non méthylé (dont l'objectif est d'identifier la présence de valeurs extrêmes ou incompatibles liées à la méthylation de l'ADN), de l'intensité de fluorescence et de l'évaluation des sondes de contrôle. Nous avons exclu les échantillons avec valeurs aberrantes d'intensité (N=2) ainsi que les sites CpG associés à des scores de détection faibles.

b. Normalisation

Nous avons ensuite effectué l'étape de normalisation pour corriger la variabilité expérimentale inhérente aux différentes étapes précédentes de mesure de l'ADN. Les conditions expérimentales (manipulation/manipulateur) lors d'une mesure ne peuvent pas être reproduites à l'identique, il est important de prendre en compte la variabilité inter-puce, qu'on retrouve parfois sous la dénomination "batch effect" ou effet de lot (Aïssi, 2015). Les échantillons ont été normalisés par un algorithme de normalisation fonctionnelle à l'aide du package *meffil* (**voir encadré n°4.2**). Nous avons pris en compte l'effet de lot (batch effect) comme variable aléatoire et défini à 15 le nombre de composantes principales. Nous avons obtenu un ensemble de données normalisé correspondant aux valeurs β de méthylation pour chaque échantillon.

Encadré 4.2 : étape de normalisation

Meffil apporte deux fonctionnalités pour réduire les variations techniques liées à la mesure de la méthylation de l'ADN lors de la normalisation (Min et al., 2018) : (1) une méthode permettant d'identifier le nombre de composantes principales qui minimise la variance résiduelle et qui permet de s'affranchir des premières sources de variabilité (2) de prendre en compte comme effet aléatoire supplémentaire certains artefacts techniques qui persisteraient dans la normalisation fonctionnelle.

Au total 666 échantillons et 485000 sites CpG ont été retenus pour les analyses après les étapes de contrôle qualité et normalisation. La **figure 4.1** représente les variations s'appliquant aux plaques (plate en anglais) et lot (batch) après normalisation. Un effet de variabilité entre les lots persistait. Il a été décrit que la normalisation peut réduire une partie mais pas la totalité des effets de lot (Sun et al., 2011), nous avons pris en compte cet effet dans les analyses ultérieures.

c. Méthylation globale de l'ADN

La méthylation globale de l'ADN a également été évaluée en mesurant la méthylation sur 4 sites CpG des éléments répétitifs Alu et des éléments nucléotidiques longs intercalés 1 (LINE-1), représentatifs des autres séquences répétées sur le génome. Ces séquences répétées sont réparties sur l'ensemble du génome et plus d'un tiers de la méthylation de l'ADN se produirait sur ces éléments répétitifs. Cette méthode permet ainsi d'obtenir une estimation de la méthylation globale sur le génome (Yang et al., 2004). Nous avons ensuite utilisé le pourcentage médian de méthylation des quatre sites CpG pour Alu et LINE-1 dans les analyses.

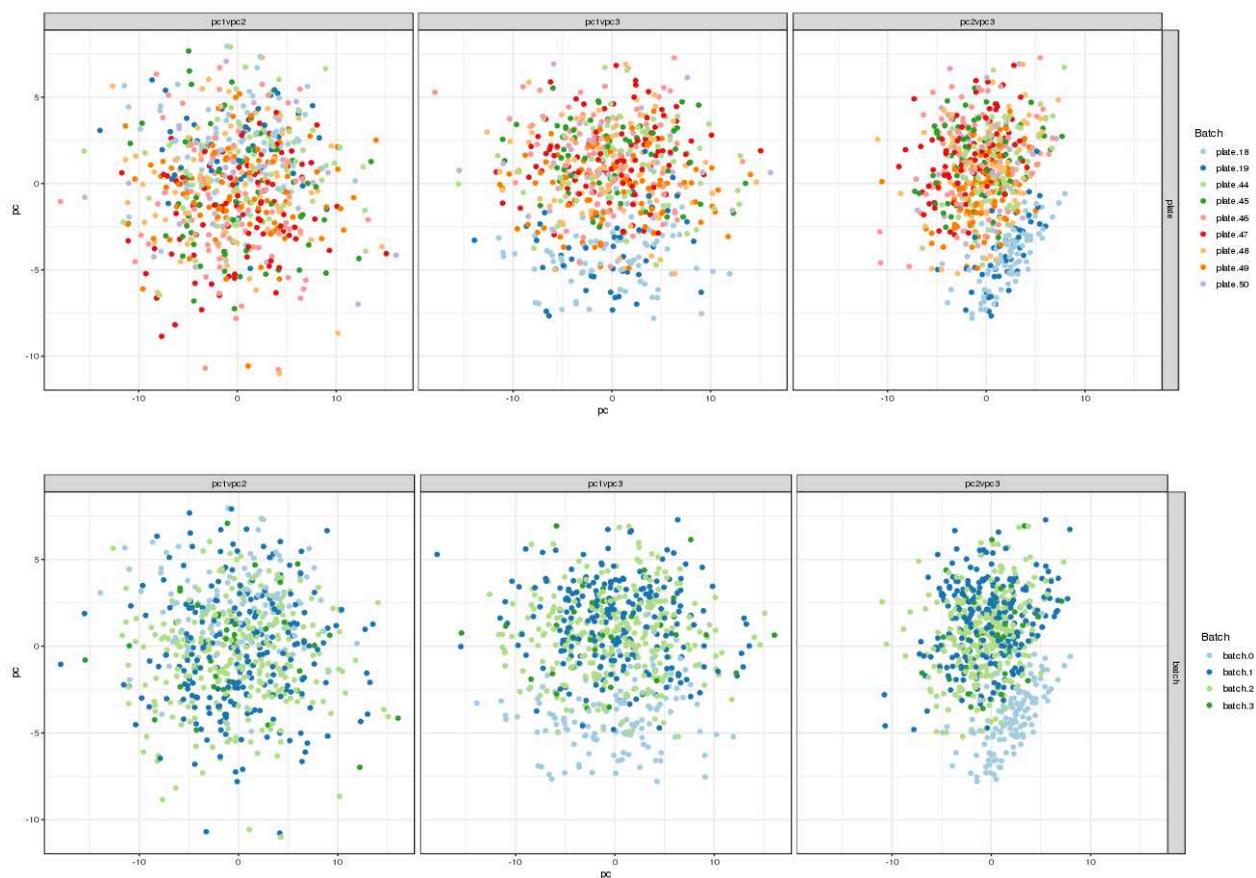


Figure 4.1: Représentation des composantes principales des bêtas normalisés

Représentation des 3 premières composantes principales des sondes les plus variables et coloration selon les variables plaque (en haut) et lot (en bas).

3. Composition cellulaire des échantillons placentaires

La composition cellulaire des tissus étudiés est décrite comme un facteur de confusion majeur dans les études épidémiologiques épigénétiques. Le placenta est un organe complexe composé d'une collection de 60 à 70 villosités qui se développent vers l'extérieur à partir de la plaque chorale (surface fœtale du placenta) jusqu'à la plaque basale (décidue maternelle) (Hogg et al., 2014). Les villosités chorales placentaires sont composées de types cellulaires d'origines développementales différentes, avec des cellules trophoblastiques dérivées des cellules trophoblastes ou périphériques du blastocyste (cellules souches embryonnaires), et divers types de cellules mésenchymateuses dérivées de la masse cellulaire interne du blastocyste (embryoblaste ou bouton embryonnaire) (Hogg et al., 2014). Une étude a montré notamment

que les niveaux de méthylation de l'ADN varient considérablement entre les composantes cellulaires du placenta (Grigoriu et al., 2011) et qu'ils varient probablement entre les différents types de cellules trophoblastes et les composants du mésenchyme, y compris les fibroblastes, les cellules endothéliales, les macrophages et les cellules hématopoïétiques (Hogg et al. 2014; Vento-Tormo et al. 2018). Les profils de méthylation de l'ADN des différents types cellulaires composant le placenta n'ont pas été caractérisés à ce jour. En l'absence de méthylomes de référence pour estimer la composition cellulaire du tissu placentaire, nous avons utilisé une méthode nommée *ReFACTOR* (*Reference-Free Adjustment for Cell-Type composition*), basée sur une analyse en composantes principales (ACP) pour la correction de l'hétérogénéité des types cellulaires (voir **encadré n° 4.3**). Une étude a décrit l'interface foeto-maternelle en début de grossesse et estime 7 types cellulaires sur la face fœtale (Vento-Tormo et al. 2018). Nous avons choisi de définir le nombre de types cellulaires à 10 pour notre étude. Nous avons également ajusté les niveaux de méthylation sur le sexe (garçon/fille) pour l'estimation de la composition cellulaire afin d'améliorer la performance de la méthode ReFACTOR.

Encadré 4.3 : méthode Refactor pour l'estimation de la composition cellulaire

La méthode ReFACTOR présente plusieurs avantages : elle ne nécessite pas d'ensemble de données de référence, ni la connaissance du nombre de cellules et peut être appliqué à n'importe quel tissu. Celle-ci est basée sur une ACP, qui permet d'identifier l'hétérogénéité cellulaire, les premiers composants principaux étant corrélés à la composition des cellules. Un certain nombre de sites CpGs sont significativement différents entre les types de cellules (connus sous le nom de régions différenciellement méthylées), et l'utilisation de tous les sites dans l'ACP pourrait réduire la corrélation. Aussi, la méthode ReFACTOR effectue en fait l'analyse sur un sous-ensemble de sites méthylés de manière différentielle entre les types cellulaires, plutôt qu'une ACP sur l'ensemble des sites CpGs (Rahmani et al., 2016).

4. Analyses statistiques

a. Analyses descriptives

Les caractéristiques sociodémographiques des mères et des enfants de la population d'étude, composée de sujets avec des données disponibles sur les profils alimentaires et la méthylation de l'ADN placentaire (N=573), ont été tout d'abord décrites par la moyenne \pm ET et n (%).

b. Méthylation globale de l'ADN

Nous avons examiné l'association entre les profils alimentaires caractérisant la variabilité de l'apport en micronutriments l'année avant la grossesse et le niveau de méthylation globale avec les éléments répétitifs Alu et LINE-1 prélevés à la naissance. Nous avons utilisé des régressions linéaires multiples ajustées sur différents facteurs de confusion et sources de variabilité potentielles : sexe de l'enfant, l'âge de la mère en continu, le centre d'étude, la consommation de tabac pendant la grossesse, la durée de gestation. Nous avons en outre ajusté sur les facteurs techniques liés aux mesures de méthylation (variable lot) et les proportions estimées des divers types cellulaires. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R (version 3.6.2) et une p-value $< 0,05$ a été considérée comme significative.

c. Méthylation des sites CpGs

Nous avons étudié l'association entre les scores de chaque profil alimentaire et la mesure de la méthylation des 485000 sites CpGs en utilisant une régression linéaire multivariée appelée méthode *EWAS* « Epigenome-wide study association » (*meffil* package, R). Cette méthode permet ainsi de tester l'association avec chaque site CpG et le package *meffil* a modélisé différents modèles (voir **encadré n°4.4**). Nous avons retenu les résultats du modèle 3 ajusté sur les covariables suivantes : sexe de l'enfant, l'âge de la mère en continu, le centre d'étude, la

consommation de tabac pendant la grossesse, l'âge gestationnel d'accouchement, la variable lot, la composition cellulaire ainsi que les variables SVA (appelées « surrogate variables »). La méthode Holm-Bonferroni pour l'ajustement des tests multiples a été appliquée, définissant la significativité des associations au seuil $< 1,0 \times 10^{-7}$ pour chaque modèle (p-value = 0,05/nombre de tests) (Holm, 1979).

Encadré 4.4 : Méthode EWAS

Modèles issus de la méthode EWAS, par le package meffil (Min et al., 2018) :

- **Modèle 1** = modèle non ajusté
- **Modèle 2** = modèle 1 + ajustement sur des facteurs de confusion ou sources de variabilité dont la composition cellulaire
- **Modèle 3** = modèle 2 + ajustement sur les variables SVA (« surrogate variables ») : proxys de facteurs de confusion non mesurés (et non pris en compte dans l'étape de normalisation), tels que des facteurs environnementaux, techniques, génétiques. Ce modèle permettrait d'améliorer les estimations statistiques, la précision biologique et la reproductibilité (Leek et al., 2007).

d. Analyse des régions différenciellement méthylées

Troisièmement, nous avons identifié les régions différemment méthylées (DMR) en utilisant le package dmrff qui identifie les régions différemment méthylées en combinant les statistiques des sites CpGs issues de l'EWAS, en considérant les résultats issus du modèle ajustés sur les facteurs de confusion, l'hétérogénéité cellulaire et les variables SVA. Cette méthode a été décrite comme plus puissante que les approches précédentes développées pour contrôler les faux positifs (Suderman et al., 2018). Les régions significativement méthylées ont été définies sur la base des critères suivants : (1) dans une région méthylée de manière différentielle, la distance entre deux sondes voisines est au maximum de 500 paires de base ; (2) la p-value ajustée de Bonferroni associée aux régions est $< 0,05$ et (3) et les régions ont été considérées comme biologiquement pertinentes si elles comprenaient au moins deux sites CpGs avec des

béta values de même direction et significativement différentes de 0 ($p < 0,05$). Après identification des régions DMR, la base de données intégrative sur les gènes nommée Genecards (<https://www.genecards.org/>) a permis d'identifier les fonctions des gènes impliqués, ainsi que l'encyclopédie ENCODE (<https://www.encodeproject.org/>), qui fournit également une liste des éléments fonctionnels du génome humain.

e. Analyse de sensibilité

Nous avons également étudié l'association entre les profils alimentaires et les régions DMR, à partir du modèle ajusté de façon additionnelle sur la supplémentation vitaminique.

5. Sélection de la population

Parmi les 2002 femmes incluses dans l'étude EDEN, 1301 échantillons placentaires ont été prélevés à la naissance et 668 analyses de méthylome étaient disponibles. Après les étapes décrites précédemment de contrôle qualité, de normalisation et exclusion des données manquantes sur notre variable d'exposition (soit les profils alimentaires) et sur les facteurs d'ajustement potentiels, les effectifs sélectionnés pour les analyses sont présentés dans la **figure 4.2.**

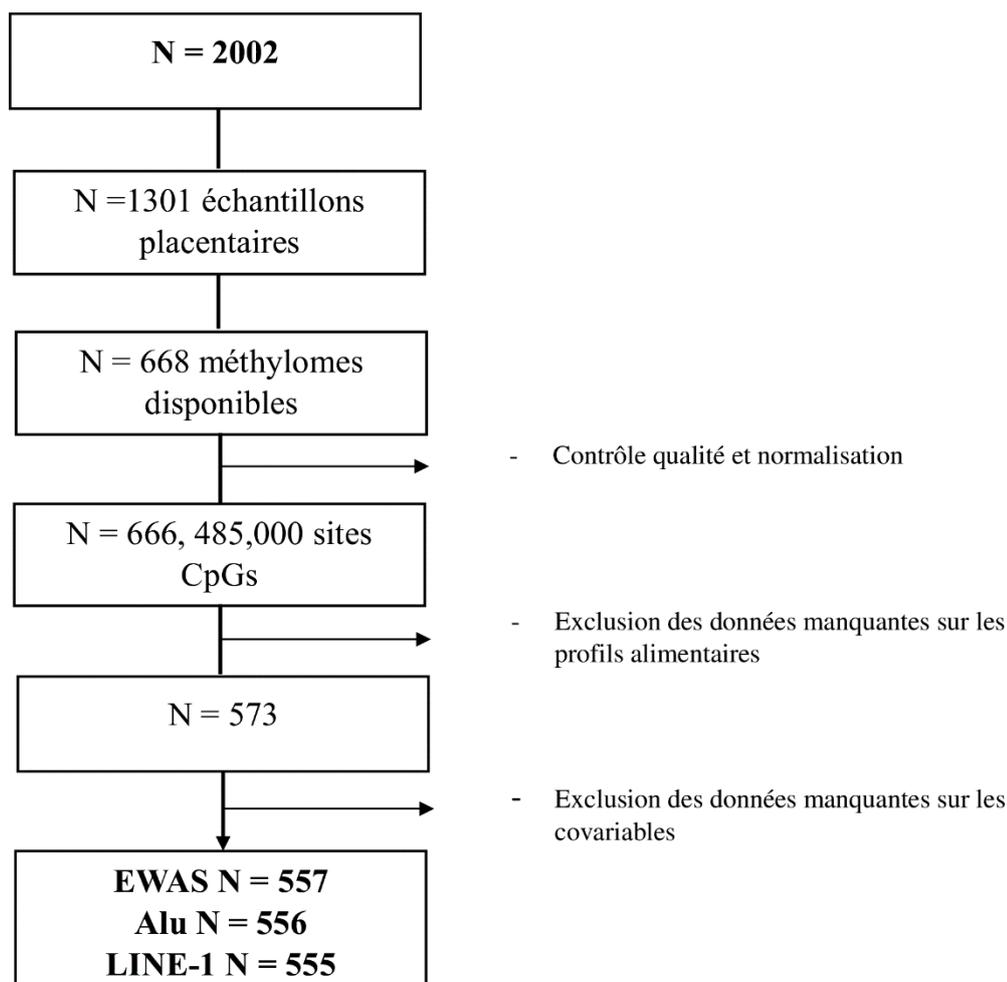


Figure 4.2 : Effectifs sélectionnés pour les analyses épigénétiques

III. Résultats

1. Caractéristiques de la population

Sur les 573 femmes incluses pour notre étude, en moyenne (\pm ET), les mères participantes étaient âgées de 29 (\pm 5) ans, présentaient un IMC avant grossesse en moyenne de 22,9 (\pm 4,2) kg/m² (Tableau 4.1). Environ 30 % des mères étaient fumeuses pendant la grossesse et plus de 34% d'entre elles avaient un niveau > Bac + 2 ans.

Tableau 4.1 : Caractéristiques des femmes sélectionnées pour l'analyse (N = 573)

Données sociodémographiques	Données manquantes n (%)	Population*
Centre	0 (0)	-
Poitiers		251 (44)
Nancy		322 (56)
Age maternel (années)	0 (0)	29,2 ± 5
Niveau d'éducation maternel	3 (0,5)	-
Au plus niveau collège		151 (26,5)
Niveau Bac		100 (17,5)
Bac + 2 (DUT, BTS)		123 (21,6)
> Bac + 2 ans		196 (34,4)
Grossesse		
Age gestationnel (SA)	0 (0)	39,3 ± 1,5
Primipare (Oui)	1 (0,15)	258 (45)
Tabac pendant grossesse (Oui)	16 (2,8)	-
No		390 (70)
1-9/j		138 (24,8)
Au moins 10/j		29 (5,2)
Supplémentation vitaminique	3 (0,5)	
Aucune		339 (59,5)
Avant grossesse		53 (9,3)
Pendant grossesse		129 (22,6)
Avant et pendant grossesse		49 (8,6)
IMC avant grossesse	10 (1,7)	22,9 ± 4,2
Sexe de l'enfant	0 (0)	-
Garçon		302 (52,7)
Fille		271 (47,3)

*Données descriptives n (%) ou moy ± ET

2. Méthylation globale

Le niveau moyen de méthylation globale était de 16,2 (\pm 1,0) pour Alu et de 26,1 (\pm 1,9) pour LINE-1. Les associations entre les apports alimentaires en nutriments (profils alimentaires et supplémentation vitaminique) et la méthylation globale de l'ADN sont présentées dans le **tableau 4.2**. La prise de suppléments les 3 mois précédant la grossesse, poursuivie pendant la grossesse était associée positivement à la méthylation sur l'élément répétitif Alu avec un coefficient de régression positif égal à 0,38 ($p=0,005$), cependant aucune association n'a été retrouvée avec LINE-1. La corrélation estimée entre les séquences Alu et LINE-1 était de 0,08. Nous n'avons pas retrouvé d'association entre les profils alimentaires et la méthylation globale de l'ADN sur les éléments Alu et LINE-1, après ajustement sur les différents facteurs de confusion et la supplémentation vitaminique. Les résultats étaient similaires après ajustement sur la composition cellulaire (**Tableau 4.2**).

Tableau 4.2 : Associations entre la méthylation globale de l'ADN et les apports nutritionnels en micronutriments ou la supplémentation vitaminique dans différents modèles d'ajustement

Expositions	<i>Alu</i> (16,2 ± 1,0)				<i>LINE-1</i> (26,1 ± 1,9)			
	β^1 (ES)	P-value	β^2 (ES)	P-value	β^1 (ES)	P-value	β^2 (ES)	P-value
<i>Profils alimentaires</i>								
Varié et Equilibré*	-0,02 (0,03)	0,60	-0,02(0,03)	0,52	-0,10 (0,07)	0,16	-0,07 (0,07)	0,31
Tendance végétarien	0,02 (0,04)	0,69	0,03 (0,04)	0,50	-0,13 (0,08)	0,11	-0,10 (0,08)	0,18
Pain et féculents	0,03 (0,04)	0,52	0,03 (0,04)	0,41	-0,06 (0,09)	0,52	-0,05 (0,09)	0,58
<i>Supplémentation vitaminique</i>								
Aucune supplémentation	Reference		Reference		Reference		Reference	
Avant la grossesse	-0,12 (0,13)	0,37	-0,10 (0,13)	0,41	-0,09 (0,27)	0,73	-0,14 (0,26)	0,59
Pendant la grossesse	0,11 (0,09)	0,21	0,12 (0,09)	0,17	0,10 (0,19)	0,62	0,14 (0,18)	0,44
Avant et pendant la grossesse	0,38 (0,14)	0,005	0,36 (0,13)	0,007	-0,20 (0,29)	0,48	-0,21 (0,28)	0,44

*Coefficients de régression calculés pour une augmentation de 1 ET du score du profil alimentaire

¹ Modèle ajusté sur le centre, l'âge maternel, le sexe de l'enfant, le tabac pendant la grossesse, l'âge gestationnel d'accouchement, l'effet lot + la supplémentation vitaminique dans le modèle concernant les profils alimentaires

² Modèle ajusté de façon supplémentaire sur la composition cellulaire. $p < 0,05$ considéré comme statistiquement significatif. ES : erreur-standard.

3. Méthode EWAS

Le Diagramme de Manhattan montrant l'association entre le profil varié et équilibré de la mère l'année avant la grossesse et la méthylation de l'ADN placentaire est présenté sur la **Figure 4.3**. Aucune association n'a été retrouvée entre les scores de ce profil et la méthylation des sites CpGs placentaires, ni avant ni après ajustement sur la composition cellulaire et additionnel sur les variables SVA. Nous avons également montré les résultats sous la forme d'un Quantile-Quantile plot (QQ plot) qui représente les quantiles des p-values observées en fonction des quantiles des p-values attendues (**Figure 4.4**). La droite correspond à l'hypothèse nulle d'absence d'association et la valeur lambda (λ) est une mesure de l'inflation de la p-value. Dans le modèle final ajusté sur les variables SVA, aucun site CpG n'a été retrouvé avec une valeur significative $< 10^{-7}$ (voir **Figure 4.4 et 4.5**). Les résultats étaient similaires après ajustement sur la supplémentation vitaminique (**Figure 4.6**).

Aucune association n'a été retrouvée entre le profil « tendance végétarien » et la méthylation de l'ADN placentaire, et aucun site CpG n'était significativement associé au profil « Pain et féculents » ; après ajustement sur les facteurs de confusion et autres sources de variabilité ainsi que sur la supplémentation vitaminique (résultats non montrés).

Enfin, aucune association n'a été retrouvée entre la prise de suppléments vitaminiques et la méthylation de l'ADN placentaire (résultats non montrés).

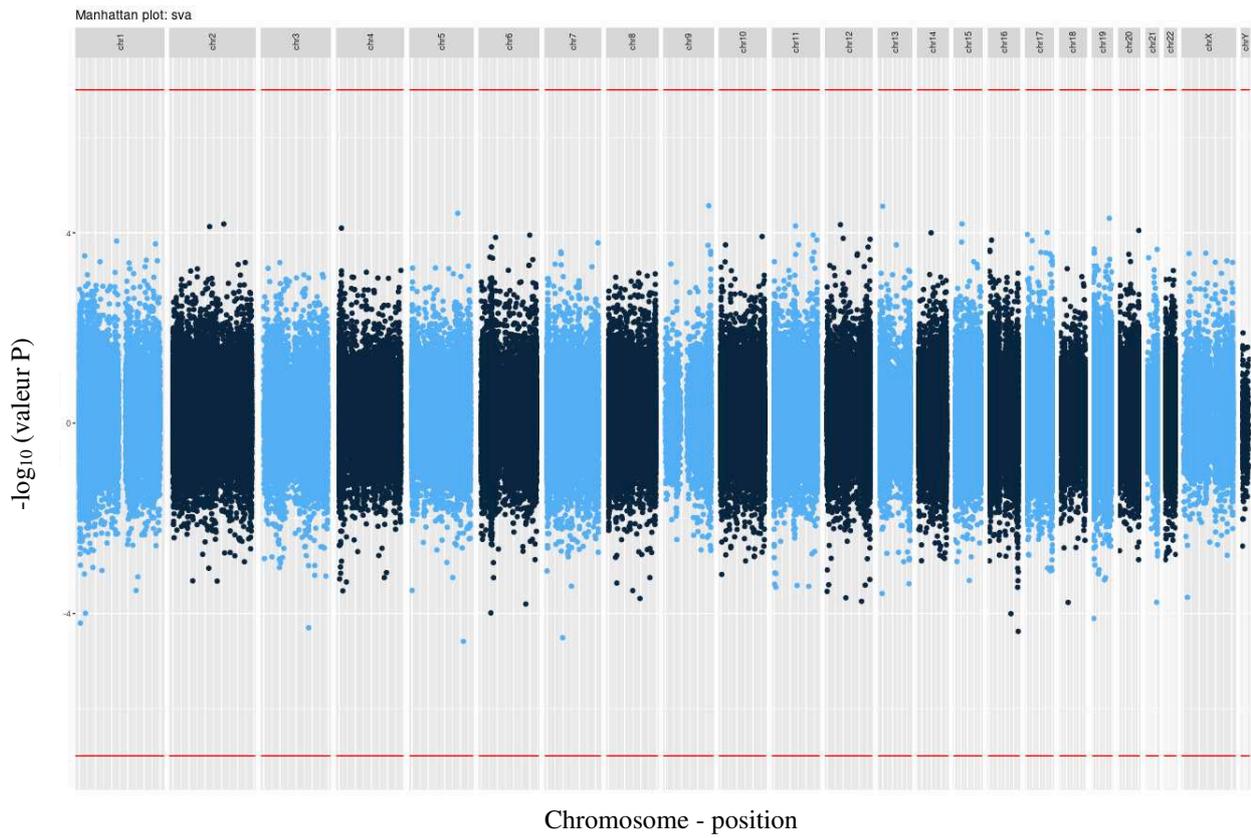


Figure 4.3 : Diagramme de Manhattan montrant l'association entre le profil varié et équilibré de la mère l'année avant la grossesse et la méthylation de l'ADN placentaire.

Modèle ajusté sur le centre, l'âge maternel, l'âge gestationnel, le sexe de l'enfant, la consommation de tabac, l'effet de lot, la composition cellulaire, et les variables SVA. La ligne rouge indique le seuil de Bonferroni pour les tests multiples.

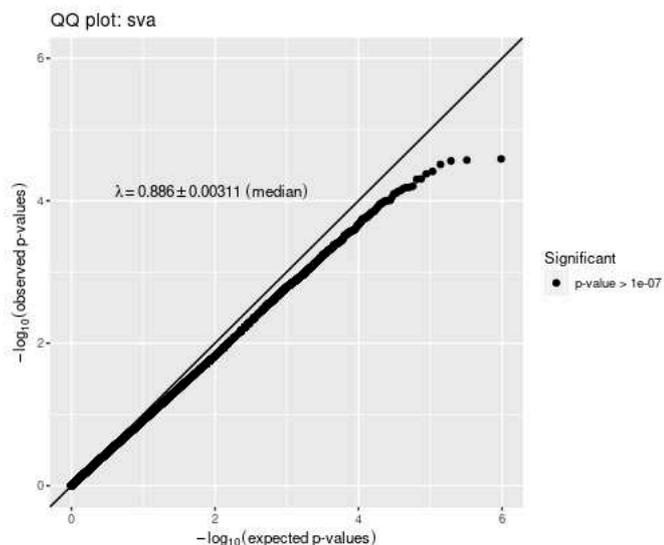


Figure 4.4 : QQ plot de l'association entre le profil varié et équilibré l'année avant la grossesse et la méthylation de l'ADN placentaire

Modèle ajusté sur le centre, l'âge maternel, l'âge gestationnel, le sexe de l'enfant, la consommation de tabac, l'effet de lot, la composition cellulaire, et les variables SVA

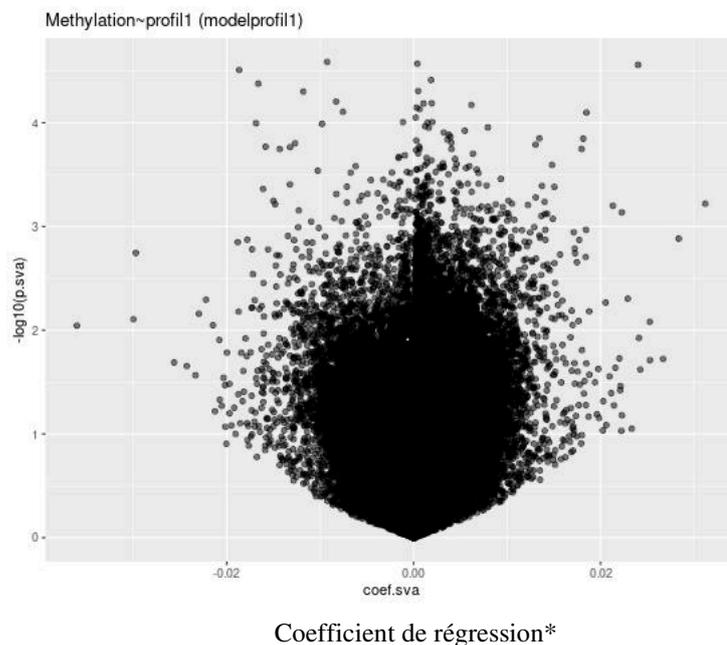


Figure 4.5 : Volcano plot représentant l'association entre le profil « varié et équilibré » et la méthylation de l'ADN placentaire

*En abscisse est représenté la variation de la méthylation de l'ADN placentaire pour un ET du score du profil alimentaire Modèle ajusté sur le centre, l'âge maternel, l'âge gestationnel, le sexe de l'enfant, la consommation de tabac, l'effet de lot, la composition cellulaire, et les variables SVA.

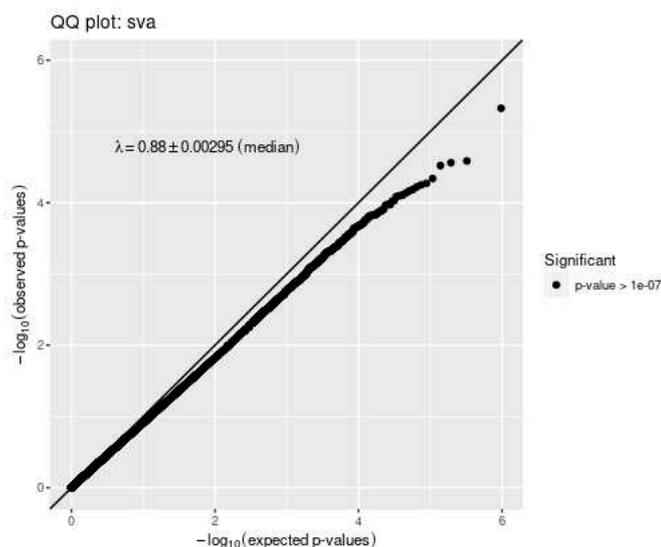


Figure 4.6 : QQ plot de l'association entre le profil varié et équilibré l'année avant la grossesse et la méthylation de l'ADN placentaire, ajusté sur la supplémentation vitaminique

Modèle ajusté sur le centre, l'âge maternel, l'âge gestationnel, le sexe de l'enfant, la consommation de tabac, l'effet de lot, la composition cellulaire, les variables SVA et la supplémentation vitaminique.

4. Analyse des régions différentiellement méthylées

L'approche par analyse des DMR a permis de mettre en évidence des associations entre les profils alimentaires et certaines régions. A partir des critères définis précédemment, seules les régions comprenant au moins 2 sites CpG avec un effet dans la même direction et $< 0,05$ ont été retenues. Le profil « varié et équilibré » était associé à une DMR localisée sur le chromosome 3 comprenant 8 sites CpG (**Tableau 4.3**). Les p-values des sites CpG de cette région étaient comprises entre 0,04-0,68. La région identifiée était associée aux deux gènes EPM2AIP1 et MLH1 qui ont des fonctions distinctes. EPM2AIP1 (EPM2A Interacting Protein 1) est un gène dont la fonction serait impliquée dans la régulation de la synthèse du glycogène et dont la mutation a été décrite dans la maladie de Lafora (épilepsie myoclonique) (Ianzano et al., 2003; Turnbull et al., 2013). MLH1 (MutL Homolog 1) est un gène suppresseur de tumeur impliqué dans la réparation des mésappariements de l'ADN (mismatch repair). Des mutations

du gène MLH1 ont été décrites dans la littérature comme associées au risque de cancer colorectal (Abildgaard et al., 2019).

Les deux DMR identifiées avec le profil « tendance végétarien » étaient situées sur le chromosome 19 et 11 et associées respectivement aux gènes ZNF562 et FAR1. Les p-values des sites CpG étaient comprises entre 0,03-0,53 et 0,04-0,78. Le gène ZNF562 (Zinc Finger Protein 562) serait impliqué dans la régulation transcriptionnelle, mais peu de données ont été publiées à ce jour. La protéine codée par le gène FAR1 (fatty acyl-CoA reductase 1) est impliquée dans le métabolisme lipidique et la réduction des acides gras. Des mutations de ce gène seraient associées à des pathologies neurologiques telles que la déficience intellectuelle grave, l'épilepsie précoce, la microcéphalie, la cataracte congénitale, le retard de croissance et une spasticité (trouble de rétractation musculaire) (Buchert et al., 2014) (**Tableau 4.3**).

Le profil « pain et féculents » était associé à trois DMR localisées sur les chromosomes 10, 8 et 5 (**Tableau 4.3**). Les p-values des sites CpG de ces régions étaient comprises entre <0,01-0,99 ; <0,01-0,64 et <0,01-0,85. Les fonctions des gènes correspondant aux DMR auxquelles ce profil était associé sont très variables. Le gène AS3MT (Arsenite Methyltransferase) jouerait un rôle dans le transfert de groupe méthyle et le métabolisme de l'arsenic (Schlätwicke Engström et al., 2009). La deuxième région était localisée sur le gène GSDMD (Gasdermin D) qui serait impliqué dans la régulation de la prolifération épithéliale notamment de la peau et de l'appareil gastro-intestinal (Saeki et al. 2009; Tamura et al. 2007). Enfin le gène SLC25A46 (Solute Carrier Family 25 Member 46) serait impliqué dans le processus mitochondrial (processus qui fournit l'énergie aux cellules et régule l'apoptose cellulaire). Des mutations de ce gène ont été rapportées dans le cas de maladies neurodégénératives (Charlesworth et al. 2016; Duchesne et al. 2017) (**Tableau 4.3**).

Tableau 4.3 : Profils alimentaires l'année avant la grossesse et régions différentiellement méthylées¹ de l'ADN placentaire

Profils alimentaires	Nombre de sites CpG pour la région	Chromosome	Position	Gène	Sites CpG	Coefficient associé à la région et β -values des sites CpG ²	P-value ³
Varié et équilibré	8	Chr 3	37034730- 37034956	EPM2AIP1; MLH1		Positive	0,004
					cg10769891	0,0002466	0,05
					cg19132762	0,0000365	0,81
					cg23658326	0,0001607	0,04
					cg11600697	-0,0002116	0,49
					cg21490561	-0,0001209	0,45
					cg00893636	-0,0000941	0,68
					cg03192963	0,0000985	0,54
	cg06791151	-0,0000509	0,58				
Tendance végétarien	6	Chr 19	9785647- 9785919	ZNF562		Positive	4.8 10 ⁻¹⁸
					cg10755961	0,0005334	0,04
					cg24874111	-0,0006368	0,09
					cg18587364	-0,0003679	0,46
					cg20631204	-0,0002906	0,40
					cg14073063	0,0001544	0,53
					cg14308647	0,0003846	0,03
	5	Chr 11	13690122- 13690194	FAR1		Négative	1,01.10 ⁻⁹
					cg02831587	0,0003768	0,04
					cg26240185	-0,0000984	0,17
					cg03326059	-0,0000360	0,49
					cg10572969	-0,0000200	0,78
					cg24412501	0,0003739	0,04

Pain et féculents	5	Chr 10	104628959- 104629151	AS3MT	Négative	0,04	
					cg16989281	-0,0040595	0,01
					cg00086670	0,0000005	0,99
					cg25143771	-0,0008883	0,53
					cg08856941	-0,0008247	0,07
					cg24592962	-0,0011958	0,0004
8	Chr8	144635309- 144635547	GSDMD	Négative	0,002		
				cg22012530	-0,0021065	0,03	
				cg22012530	0,0004952	0,44	
				cg01134012	-0,0004702	0,04	
				cg18198896	-0,0011329	0,27	
				cg14721632	-0,0002147	0,64	
				cg23090207	-0,0005133	0,06	
				cg12686110	-0,0004292	0,23	
				cg15541193	-0,0006335	0,003	
				cg09317036			
3	Chr 5	110075158- 110075285	SLC25A46	Positive	0,0008		
				cg13505794	-0,0029363	0,01	
				cg13911629	-0,0000855	0,85	
				cg27366305	-0,0014410	0,003	

¹ Régions DMR déterminées avec le package dmrff (Suderman et al., 2018). Modèle ajusté sur le centre, le sexe de l'enfant, la consommation de tabac pendant la grossesse, l'âge maternel, l'âge gestationnel d'accouchement, l'hétérogénéité cellulaire, et les variables SVA

² Coefficient associé à la région : ou direction de l'effet positive ou négative

Et description des bêtas-values rapportées pour les sites CpG individuels

³ P-value ajustée associée à la région et p-values associées aux sites CpG

Après ajustement additionnel sur la supplémentation vitaminique, les analyses DMR ont montré des résultats similaires pour le profil « pain et féculents ».

Cependant pour le profil « varié et équilibré », les associations retrouvées avec les régions précédentes avaient disparu après ajustement sur la supplémentation vitaminique. Le profil « varié et équilibré » était associé à une DMR localisée sur le chromosome 9 et associée au gène nommé NPDC1 (Neural Proliferation, Differentiation And Control 1) qui jouerait un rôle dans le contrôle de la prolifération et de la différenciation des cellules neurales (Qu et al., 2001) (**Tableau 4.4**).

Pour le profil « tendance végétarien », nous avons retrouvé une association similaire avec les régions localisées sur le gène FAR1. Une tendance à une association avec une région associée au gène DLL1 apparaît également pour le profil « tendance végétarien ». Ce gène est décrit comme jouant un rôle dans la médiation des décisions cellulaires lors de l'hématopoïèse, la communication intercellulaire et est impliqué dans une voie de signalisation nécessaire à la différenciation et la spécificité cellulaire notamment des lymphocytes (Jaleco et al., 2001) (**Tableau 4.4**).

Tableau 4.4 : Profils alimentaires l'année avant la grossesse et régions différentiellement méthylées¹, après ajustement sur la supplémentation vitaminique

Profils alimentaires	Nombre de sites CpG pour la région	Chromosome	Position	Gène	Sites CpG	Coefficient associé à la région et β -values des sites CpG ²	P-value ³
Varié et équilibré	3	Chr 9	139940640- 139941067	NPDC1		Positive	0,02
					cg22952834	0,0002152	0,031
					cg12611723	0,0014960	0,0001
					cg17902858	0,0010973	0,0004
Tendance végétarien	4	Chr 6	170599869- 170600060	DLL1		Négative	5,3.10 ⁻⁷
					cg08273501	-0,0002168	0,31
					cg12024311	-0,0000268	0,79
					cg27139933	-0,0000134	0,97
	cg00474209	0,0012425	0,004				
	3	Chr 6	170599826- 170599840	DLL1		Négative	7,3.10 ⁻³
					cg03394401	0,0038978	0,008
					cg14497851	-0,0000644	0,55
		cg03815571	0,0005043	0,40			
	2	Chr 11	13690122- 13690157	FAR1		Negative	4,4.10 ⁻⁹
cg02831587					0,0003705	0,04	
g10572969					-0,0001112	0,12	
3	Chr 11	13690160- 13690194	FAR1		Négative	8,5.10 ⁻³	
				cg03326059	-0,0000295	0,57	
				cg10572969	-0,0000240	0,73	
	cg24412501	0,0003721	0,05				

Pain et féculents	5	Chr 10	104628959- 104629151	AS3MT	cg16989281	Négative	0,02
					cg0086670	-0,0040765	0,01
					cg25143771	0,0000536	0,94
					cg08856941	-0,0007242	0,61
					cg24592962	-0,0008231	0,07
						-0,0012140	0,0003
	8	Chr8	144635309- 144635547	GSDMD	cg22012530	Négative	0,004
					cg01134012	-0,0020483	0,03
					cg18198896	0,0005035	0,43
					cg14721632	-0,0004714	0,04
					cg23090207	-0,0010857	0,29
					cg12686110	-0,0002096	0,65
					cg15541193	-0,0005028	0,06
					cg09317036	-0,0004105	0,25
						-0,0006211	0,003
	3	Chr 5	110075158- 110075285	SLC25A46	cg13505794	Positive	0,01
					cg13911629	-0,0029720	0,01
					cg27366305	-0,0001567	0,74
						-0,0013743	0,006
	4	Chr 19	52074293- 52074348	ZNF175	cg18379413	Positive	0,006
					cg18708075	0,0127613	0,003
					cg26605406	0,0129549	0,02
					cg01382982	0,0095819	0,21
						0,0075372	0,26

¹ Régions DMR déterminées avec le package dmrff (Suderman et al., 2018). Modèle ajusté sur le centre, le sexe de l'enfant, la consommation de tabac pendant la grossesse, l'âge maternel, l'âge gestationnel d'accouchement, l'hétérogénéité cellulaire, les variables SVA et la supplémentation vitaminique.

² Coefficient associé à la région : ou direction de l'effet positive ou négative

Et description des bêtas-values rapportées pour les sites CpG individuels ³ P-value ajustée associée à la région et p-values associées aux sites CpG

IV. Discussion

1. Discussion des résultats

À notre connaissance, ce travail constitue la première étude cherchant à évaluer la relation entre l'apport en micronutriments du MC1 avant la grossesse et la méthylation de l'ADN placentaire. Nous avons analysé l'association entre les trois profils alimentaires « varié et équilibré », « tendance végétarien » et « pain et féculents », expliquant la variabilité de l'apport en micronutriments du MC1 l'année avant la grossesse, et la méthylation globale sur les séquences Alu et LINE-1, la méthylation des sites CpG pris individuellement et celle des régions différenciellement méthylées.

Aucune association n'a été retrouvée entre les profils alimentaires et la méthylation globale de l'ADN, ni avec les sites CpG analysés individuellement. Les conclusions restaient similaires après ajustement sur l'hétérogénéité cellulaire, les facteurs de confusion et après prise en compte d'autres sources de variabilité comme les conditions expérimentales. L'absence d'association entre les trois profils alimentaires et la méthylation de l'ADN placentaire par la méthode EWAS et la méthylation globale peut s'expliquer par plusieurs facteurs. A l'instar des résultats du chapitre précédent sur l'association avec la croissance fœtale, les femmes présentant une déficience importante en nutriments seraient sous-représentées dans notre étude ; cela pourrait contribuer à l'absence d'association forte entre les profils alimentaires et la méthylation de l'ADN placentaire. Un manque de puissance pourrait également expliquer l'absence d'association avec les sites CpG étudiés individuellement. De plus, nous étudions l'effet de l'alimentation avant grossesse qui peut être pertinent pour les phénomènes précoces notamment l'implantation et le développement placentaire. Mais les données de méthylation ont été prélevées à la naissance, et d'autres phénomènes ont pu masquer des modifications transitoires. En effet, la méthylation de l'ADN est en réalité un processus dynamique et

complexe qui pourrait être évolutif au cours de la grossesse en raison de modifications de la composition cellulaire. Enfin, la méthylation de l'ADN est tissu spécifique, aussi il serait possible que des résultats différents soient retrouvés dans d'autres tissus (sang de cordon, buccal...) (Hogg et al., 2014). Enfin, nous avons ajusté sur différents facteurs de confusion et source de variabilité. Cependant, nous n'avons pas pu prendre en compte d'autres facteurs comme la génétique, ou les facteurs environnementaux (comme le stress maternel, le diabète ou les contaminants liées à l'alimentation) qui peuvent influencer également la méthylation de l'ADN (Vlahos et al., 2019).

Enfin, peu de données sont disponibles concernant la relation entre les donneurs de méthyle et la méthylation globale de l'ADN. Une étude a évalué l'apport alimentaire en nutriments du MC1 (vitamine B12, bétaine, choline et folate) pendant la période périconceptionnelle, ainsi que le deuxième trimestre de grossesse et n'a pas retrouvé d'association avec la méthylation LINE-1 dans le sang de cordon (Boeke et al., 2012).

Nous avons retrouvé que la prise de suppléments vitaminiques avant et pendant la grossesse était associée à une augmentation de la méthylation globale du site Alu. Cette association pourrait s'expliquer par le fait que les femmes qui ont initié une supplémentation dès le début de la grossesse et qui l'ont prolongée pendant la grossesse auraient eu au total un apport plus élevé en donneurs de méthyle que leurs pairs. Cet apport plus élevé pourrait entraîner un niveau de méthylation plus important, mais cette association n'était pas confirmée par l'étude de la méthylation sur LINE-1. A noter que dans notre étude la corrélation entre la méthylation globale évaluée par Alu et par Line 1 était faible (0,08) comparée à la littérature (en général supérieure à 0,20) sans que nous ayons d'explication particulière (Wilhelm-Benartzi et al., 2012). Un essai randomisé a montré que les enfants nés de mères ayant eu une supplémentation en acide folique au cours du deuxième et troisième trimestres de la grossesse, comparé aux femmes ayant reçu un placebo, avaient un niveau plus faible de méthylation

globale sur LINE-1 dans le sang de cordon (Caffrey et al. 2018). Tandis qu'une autre étude menée sur 24 femmes enceintes n'a pas rapporté d'association entre la supplémentation en acide folique durant la grossesse et la méthylation globale LINE-1 dans le sang de cordon (Fryer et al., 2009). Enfin, peu de femmes (8,6%) ont initié une supplémentation avant grossesse et maintenu celle-ci pendant la grossesse. Ce résultat reposant sur un faible effectif et non concordant avec la littérature n'emporte pas la conviction.

L'approche par analyse de DMR a suggéré l'existence de regroupement de sites CpG méthylés de manière différentielle selon les profils alimentaires. Nous avons sélectionné les régions avec au moins 2 sites CpG significatifs, considérées comme biologiquement pertinentes.

La région associée au profil « varié et équilibré » était localisée sur deux gènes EPM2AIP1 et MLH1 qui présentent des fonctions importantes pour le développement. Une anomalie de la régulation de la synthèse du glycogène par le gène EPM2AIP1 peut entraîner la maladie de Lafora, une maladie neurologique (Turnbull et al., 2013), tandis que le gène MLH1 est un élément important du système de réparation des anomalies de l'ADN. Après ajustement sur la supplémentation vitaminique, ce même profil était associé à la méthylation d'une région localisée sur un gène impliqué dans le neurodéveloppement (NPDC1). Nous avons vu dans le chapitre précédent, que ce profil varié et équilibré est caractérisé par un apport des principaux micronutriments du MC1, qui pour certains d'entre eux, comme la choline, vitamine B9 sont connus pour jouer un rôle essentiel dans le développement neurologique. Une étude récente a rapporté une association positive entre la concentration sérique en folate chez des adultes âgés de 65 ans et une augmentation de la méthylation de l'ADN sur le gène MLH1, qui confirme l'implication des folates dans la régulation de l'expression de ce gène (Sanchez et al., 2017).

Le profil « tendance végétarien » était associée négativement à une région localisée sur le gène FAR1, dont les mutations sont impliquées dans l'apparition de maladies neurologiques.

Après prise en compte de la supplémentation vitaminique, il y avait une tendance à une association négative avec une région localisée sur le gène *DLL1* qui joue un rôle majeur dans la communication inter-cellulaire et le développement embryonnaire et dont les maladies associées incluent également les troubles du développement neurologique. Une étude a rapporté une différence de méthylation placentaire chez les enfants ayant un trouble autistique, sur une région proches d'un loci du gène *DLL1* (Schroeder et al., 2016). *DLL1* est aussi un ligand de la voie de signalisation notch, décrite comme associée à de nombreux aspects du développement vasculaire et de l'angiogenèse (Shimanuki et al., 2015). Une altération de la voie de signalisation notch via la méthylation de *DLL1* serait probablement impliquée dans les mécanismes de pré-éclampsie précoce (Shimanuki et al., 2015). Nous avons vu que ce profil se caractérise par un apport élevé notamment en vitamine B9 qui joue un rôle important dans le développement cérébral et placentaire (Morse, 2012). Une étude a rapporté qu'une faible concentration en folate en début de grossesse était associée à un risque augmenté de pré-éclampsie (Bergen et al., 2012).

Enfin, le profil riche en « Pain et féculents » était associé à des régions localisées sur des gènes aux fonctions variées, impliqués dans le métabolisme de l'arsenic, la synthèse cellulaire de la peau et du système gastro-intestinal, ou la dynamique mitochondriale. Ce dernier profil était caractérisé par un apport élevé en bétaine. Des études ont montré que la bétaine joue un rôle important dans plusieurs processus physiologiques qui pourraient être associés aux fonctions de ces gènes. La bétaine est un osmolyte naturel, impliqué dans la régulation du volume cellulaire et de l'intégrité cellulaire (Ueland, 2011). Plusieurs études animales ont indiqué que l'administration de bétaine aurait un effet protecteur sur la fonction hépatique (Day et al., 2016). De plus, la bétaine a été décrite comme efficace dans le traitement de l'hyperhomocystéinémie sévère, qui est un facteur de risque de maladies notamment neurodégénératives (Day et al., 2016).

Les interprétations de ces résultats doivent toutefois être considérées avec une grande prudence, sans information complémentaire quant à l'association entre les différences de méthylation observées et le niveau d'expression des gènes où ils se situent. D'autres études supplémentaires sont nécessaires pour confirmer les résultats et déterminer les relations entre la méthylation de ces gènes et leur fonction au niveau placentaire.

2. Forces et limites de l'étude

La première force de cette étude est son originalité, puisque celle-ci apporte de nouvelles informations sur les caractéristiques du régime alimentaire des femmes en âge de procréer avant la grossesse et leur association avec la méthylation de l'ADN placentaire. Le placenta est un tissu pertinent pour étudier les effets de l'alimentation maternelle, comme organe principal des échanges nutritionnels entre la mère et le fœtus pendant la grossesse. De plus, nous disposons d'informations sur la méthylation globale de l'ADN (éléments Alu et LINE-1), ce que très peu d'autres études possèdent au niveau du placenta. Malgré, un manque de puissance qui pourrait expliquer l'absence d'association dans nos analyses notamment avec les sites CpG, la taille de l'échantillon est l'une des plus importantes de la littérature pour une étude sur la méthylation de l'ADN placentaire (Vlahos et al., 2019).

Cependant, la complexité de l'organe placentaire peut représenter une limite quant à la qualité et la nature homogène des prélèvements. Le placenta est un tissu très hétérogène dans sa formation, et des gènes peuvent être différenciellement exprimés selon la localisation de la région échantillonnée (distance du cordon ombilical, plaque basale etc...) (Hogg et al., 2014), ce qui peut être source de variabilité et donc de bruit pour les analyses biologiques. Une autre limite importante de ces travaux repose sur le fait qu'il n'y a pas de méthode prouvée et spécifique pour l'estimation de la variabilité cellulaire dans le placenta, et bien que nous ayons utilisé la méthode Refactor pour estimer la composition cellulaire, nous ne pouvons pas exclure

la possibilité de confusion résiduelle. Enfin, comme expliqué dans le paragraphe précédent, nous n'avons pas pris en compte d'autres facteurs maternels et environnementaux qui pourraient influencer nos associations.

3. Perspectives

Dans la cohorte EDEN, le méthylome de 200 placentas supplémentaires est en cours d'analyse et pourrait permettre en perspective d'augmenter les effectifs et de renforcer notre étude. Il serait également intéressant de répliquer les analyses entre les profils alimentaires expliquant la variabilité de l'apport en micronutriments du MC1 avant la grossesse mais aussi pendant la grossesse et la méthylation de l'ADN dans le sang de cordon, dont les données sont également disponibles dans EDEN. Il serait aussi intéressant d'étudier l'association entre les profils alimentaires pendant le troisième trimestre et la méthylation placentaire. Les apports alimentaires en micronutriments ont été définis à l'aide de QFA, qui est une estimation de l'apport réel. Ces micronutriments seront mesurés dans le plasma maternel dans la cohorte EDEN et disponibles prochainement. Il serait ainsi pertinent de répliquer les analyses et de vérifier si les conclusions restent similaires en ayant une mesure plus précise de la disponibilité plasmatique de ces nutriments.

Enfin, d'autres études seraient nécessaires afin de déterminer et comprendre l'impact biologique de la méthylation placentaire sur le développement de l'enfant à long terme et notamment le neurodéveloppement.

V. Conclusion

Dans notre échantillon de femmes françaises ne présentant pas de déficiences nutritionnelles importantes, nous n'avons pas retrouvé d'effet majeur de l'apport en micronutriments sur la

méthylation globale de l'ADN ni sur les sites CpG analysés séparément. Nos résultats soulignent cependant une association entre le profil « varié et équilibré » ou le profil « tendance végétarien » et des régions différenciellement méthylées localisées sur des gènes impliqués dans diverses fonctions essentielles au développement embryonnaire, comme le neurodéveloppement. Le profil « Pain et féculents » était associé à des régions localisées sur plusieurs gènes dont les fonctions impliquent divers processus métaboliques et liés à la synthèse cellulaire. La reproduction de ces résultats dans d'autres études est indispensable avant de poursuivre leur interprétation et de proposer des études fonctionnelles sur les gènes potentiellement impliqués.

CHAPITRE 5. Variations pondérales avant la grossesse et poids de naissance

Article issu de ce chapitre :

Lecorguillé M, Jacota M, de Lauzon-Guillain B, Forhan A, Cheminat M, Charles M-A, et al.
An association between maternal weight change in the year before pregnancy and infant birth weight: ELFE, a French national birth cohort study. *PLoS Med.* 2019 Aug;16(8):e1002871.
(cf Annexe page 255).

I. Introduction

Nous avons vu dans le premier chapitre de cette thèse, que l'apport en nutriments était un facteur nutritionnel important pour le développement de l'enfant, mais d'autres mécanismes liés à des effets métaboliques maternels peuvent également être impliqués dans la programmation fœtale. Dans le contexte épidémiologique actuel, la problématique du surpoids et de l'obésité est devenue prépondérante et réduire les conséquences néfastes de ces états nutritionnels est devenue une priorité de santé publique (Delpierre et al., 2016).

L'obésité maternelle est décrite comme un facteur de risque de complications maternelles pendant la grossesse et de macrosomie chez l'enfant à la naissance (Deierlein et al., 2011; Ovesen et al., 2011; Yu et al., 2013). De plus, l'obésité maternelle pendant la grossesse serait associée à des conséquences sur la santé des enfants à long terme, telles qu'une augmentation de l'IMC pendant l'enfance, à l'adolescence et un risque accru de diabète de type 2 à l'âge adulte (Dabelea et al., 2008; McMillen et al., 2008). Une prise de poids excessive pendant la grossesse peut également être un facteur de risque de complications maternelles et néonatales (Deierlein et al., 2011; Kapadia et al., 2015). Suite à ces résultats, en 2009 l'Institute of Medicine a recommandé des seuils de prise de poids gestationnelle associés à de meilleures conditions pour le déroulement de la grossesse, selon la catégorie d'IMC avant la grossesse (Institute of Medicine (US) and National Research Council (US), 2009; Rasmussen et al., 2009).

Des revues de littérature ont souligné que certaines interventions visant à prévenir ou à réduire l'obésité et ses conséquences, mises en œuvre pendant la grossesse, seraient associées à une moindre prise de poids gestationnelle (Agha et al. 2014; Hanson et al. 2017). Cependant, chez les femmes en surpoids ou obèses, ces interventions sur le régime alimentaire ou le mode de vie apparaissent d'effet très limité sur d'autres issues de la grossesse, le poids de naissance

et le risque de surpoids dans la descendance (Dodd et al. 2014; Parat et al. 2019; Poston et al. 2015). D'autres études observationnelles ont montré que l'IMC maternel avant la grossesse était en fait un plus fort prédicteur d'une augmentation du poids de naissance que la prise de poids gestationnelle (Heude et al., 2012). Ces différents résultats suggèrent qu'il serait nécessaire de porter une plus grande attention à la période préconceptionnelle pour éviter de débiter une grossesse en surpoids.

Comme énoncé dans le chapitre état de l'art de la thèse, les différentes trajectoires pondérales antérieures à la grossesse pourraient influencer spécifiquement la croissance fœtale et jouer un rôle distinct de l'effet des réserves nutritionnelles pendant la grossesse (Zhang et al., 2011). Les principales études ayant évalué l'impact des changements de poids sur la croissance de l'enfant se sont intéressées aux variations pondérales entre deux grossesses ou après chirurgie bariatrique (Getahun et al., 2007; Hezelgrave et al., 2011; Jain et al., 2013; Villamor et al., 2006). Les résultats de plusieurs enquêtes épidémiologiques ont suggéré que chez les femmes obèses, un gain de poids avant grossesse serait associé à un risque accru de complications pendant la grossesse et de macrosomie à la naissance (Getahun et al., 2007; Jain et al., 2013; Knight-Agarwal et al., 2016; Villamor et al., 2006; Wallace et al., 2014). Inversement, une perte de poids entre deux grossesses ou après chirurgie bariatrique était associée à une diminution du risque de macrosomie à la naissance (Hezelgrave et al., 2011; Jain et al., 2013; Villamor et al., 2006). Cependant, une perte de poids trop excessive chez les femmes ayant eu recours à une chirurgie bariatrique pourrait aussi être associée à un risque de retard de croissance intra-utérin chez l'enfant (Willis et al., 2015; Yi et al., 2015). Ainsi la perte de poids avant grossesse pourrait contribuer à réduire les complications gestationnelles et périnatales chez les femmes en surpoids ou obèses, mais d'autres études sont nécessaires pour vérifier l'innocuité de telles variations pondérales. Quelques études ont en effet montré que les femmes ayant une maigreur à la conception présentaient un risque augmenté d'avoir un

accouchement prématuré et pour celles qui avaient eu une perte de poids avant grossesse, un risque de retard de croissance chez l'enfant (Diouf et al., 2011; Han et al., 2011).

Objectifs spécifiques

Cette partie de thèse avait pour objectif d'étudier l'association entre les variations de poids l'année avant la grossesse et le poids de naissance à partir des données de la cohorte Elfe. Les variations de poids avant la grossesse pourraient être impliquées dans les mécanismes de programmation de la croissance fœtale. Notre hypothèse était que la perte de poids avant grossesse pouvait être bénéfique chez les femmes en surpoids ou obèses, mais pas chez les femmes de poids normal. Aussi notre objectif était d'étudier séparément l'effet des variations pondérales avant grossesse chez les femmes avec et sans surpoids en début de grossesse.

II. Matériel et Méthodes

Cette étude est présentée conformément aux lignes directrices STROBE pour l'écriture et la lecture des études observationnelles en épidémiologie (STROBE).

1. Variables utilisées

Nous avons utilisé les données de l'étude Elfe (Etude Longitudinale Française depuis l'Enfance), cohorte de naissance nationale qui a inclus plus de 18000 enfants à la naissance (Charles et al., 2020). Les critères d'inclusion étaient la naissance à 33 semaines d'aménorrhée ou plus, unique ou gémellaire, les mères de plus de 18 ans, qui ont donné leur consentement éclairé à la participation et n'ayant pas prévu de déménager hors de France dans un délai de 3 ans.

Les variations pondérales

Le questionnaire alimentaire rempli par la mère a permis de recueillir des informations sur les variations de poids au cours de l'année précédant la grossesse, avec 5 réponses possibles : gain de > 5 kg, gain de 2 à 5 kg, stable, perte de 2 à 5 kg, et perte de > 5 kg. Nous avons classé les variations de poids en 3 groupes : perte de poids > 5 kg ; poids stable ou variation modérée (changement de poids absolu ≤ 5 kg) (nommé "poids stable") ; et le gain de poids > 5 kg ou une perte et gain > 5 kg (nommé "gain de poids"). Nous avons regroupé les catégories poids stables et variation modérée (variation absolue ≤ 5 kg) en une seule, par soucis de simplicité dans les analyses et d'interprétation des résultats, et confortées par le fait que le poids de naissance n'était pas significativement différent entre ceux deux groupes. Plusieurs femmes ont rapporté avoir eu une perte et gain > 5kg dans l'année avant la grossesse (trajectoire yo-yo). Mais ces femmes étant trop peu nombreuses (N=191) pour être considérées dans un seul groupe, nous les avons groupées dans la catégorie « gain de poids ». Les femmes avaient également déclaré dans le même questionnaire si elles avaient suivi un régime restrictif ou non l'année avant la grossesse.

Autres variables

Nous avons utilisé le Z-score du poids de naissance calculé d'après la référence française d'Audipog et décrit dans le chapitre 2 population et méthodes. Nous avons étudié également le risque de petit poids de naissance pour l'âge gestationnel, et de gros poids pour l'âge gestationnel, respectivement caractérisé comme un poids de naissance < 10^{ème} et > 90^{ème} percentile.

Nous avons considéré différentes caractéristiques sociodémographiques maternelles : l'âge maternel, le niveau d'éducation, le statut d'activité, le fait de vivre en couple, le pays de naissance, le suivi de grossesse. Les variables relatives à la santé également étudiées étaient le régime d'assurance maladie, la consommation de tabac avant et pendant la grossesse, le gain

de poids gestationnel (GPG), l'IMC, les antécédents médicaux de diabète et d'hypertension. Enfin, j'ai réalisé un travail de codage des autres antécédents médicaux déclarés par les mères selon la classification internationale des maladies (CIM-10). Notre objectif était d'identifier plusieurs antécédents médicaux qui peuvent influencer les variations de poids, soit par leur mécanisme, soit par le suivi de traitement et qui seront détaillés un peu plus tard.

2. Sélection de la population

Parmi les 18 040 mères qui ont donné naissance à 18 328 enfants inclus dans l'étude, 56 ont demandé la suppression des données. Nous avons exclu 574 jumeaux des analyses, et 175 et 59 femmes pour lesquelles les questionnaires sur le dossier médical et face à face pour les analyses étaient entièrement manquants, respectivement. Ont été également exclues 842 femmes ayant des antécédents médicaux qui pouvant entraîner des modifications de poids (**Tableau 5.1**). Enfin, 227 dossiers comportant des données manquantes sur l'IMC, variable de stratification des analyses, ont été exclus des analyses. La **figure 5.1** résume les étapes de la sélection de la population d'étude qui incluait au total 16395 femmes.

Tableau 5.1 : Exclusion des femmes avec antécédents médicaux pouvant influencer leurs variations de poids antérieures à la grossesse

Types de pathologies exclues		
Antécédents de diabète ou hypertension	Digestives	Infectieuse
Chirurgie bariatrique	Crohn	Cancer
Métaboliques	Dépression	Anomalie congénitale
Thyroïdiennes	Troubles psychologiques (anorexie)	
Auto-immunes	Épilepsie	

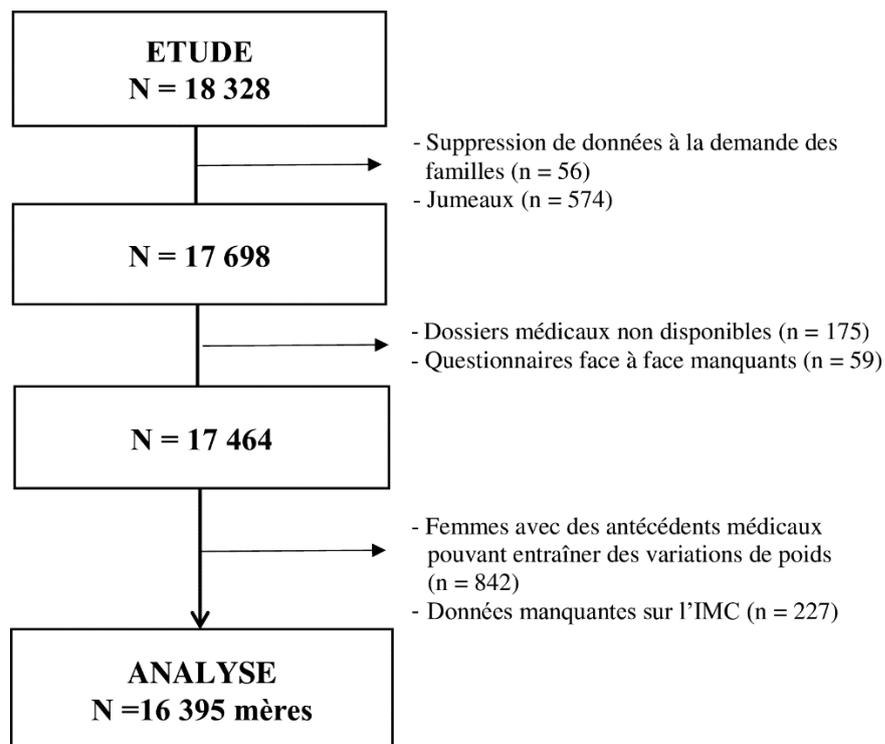


Figure 5.1 : Sélection des femmes pour les analyses

3. Analyses statistiques

a. Imputation multiple

La plupart des variables comportaient moins de 3 % de données manquantes, à l'exception des variations de poids avant la grossesse (données collectées par le questionnaire auto-administré), dont environ 13 % des données manquaient. Les données manquantes sur l'exposition, les facteurs de confusion et le poids de naissance ont été imputées à l'aide de la procédure SAS « MI ». Nous avons comparé les femmes ayant répondu au questionnaire alimentaire avec celles n'ayant pas complété le questionnaire, et inclus toutes les variables présentant une différence significative dans le processus d'imputation (données sociodémographiques, caractéristiques à la naissance et antécédents médicaux de la mère). Nous avons généré 5 ensembles de données imputées en utilisant la méthode de spécification entièrement conditionnelle (FCS) (**voir Tableau Annexe 5**). Les résultats des différentes bases imputées ont été combinés en utilisant la procédure SAS « MIANALYZE ». Dans cette procédure, les erreurs standard sont calculées en utilisant la règle de Rubin, qui tient compte de la variabilité entre les régressions multiples dans les ensembles de données imputées (Dong et al., 2013; Sterne et al., 2009).

b. Analyses descriptives

Les caractéristiques des mères et de leurs enfants sont décrites par la moyenne \pm ET et la fréquence (%) avant imputation. Nous avons comparé les caractéristiques sociodémographiques des femmes selon les différentes variations de poids avant la grossesse par le test du Chi-2 pour les variables catégorielles et ANOVA pour les variables continues.

c. Association avec le poids de naissance

i. Analyse principale

Des analyses de régression linéaire ont été utilisées pour étudier le lien entre les variations pondérales au cours de l'année précédant la grossesse et le Z-score du poids de naissance (qu'on nommera par simplification « poids de naissance » dans la suite du chapitre). Nous avons utilisé un modèle de régression logistique pour étudier les facteurs associés au risque de petit poids pour l'âge gestationnel (catégorisé en deux classes $< 10^{\text{ème}}$ vs $\geq 10^{\text{ème}}$ percentile), ou le risque de gros poids pour l'âge gestationnel ($> 90^{\text{ème}}$ percentile vs $\leq 90^{\text{ème}}$ percentile). Les femmes avec perte ou gain de poids avant grossesse ont été comparées aux femmes avec un poids stable. Les analyses ont été ajustées sur différents facteurs de confusion après une sélection basée sur les graphiques acycliques dirigés (Textor et al., 2011) (voir en **Figure Annexe 1**) : le niveau d'éducation, l'âge maternel, le tabagisme avant et pendant la grossesse, le lieu de naissance, la parité, le régime de sécurité sociale, le statut d'activité. Nous avons fait le choix de forcer l'ajustement sur le tabac pendant la grossesse, car il s'agit d'un déterminant majeur de la croissance fœtale. Nous avons stratifié nos analyses sur l'IMC de la mère à la conception : < 25 contre ≥ 25 kg/m²). L'interaction entre les variations de poids et l'IMC était significative pour le poids de naissance (analyse en cas complet, $p = 0,003$). Nous avons ajusté additionally sur l'IMC maternel en continu au sein des deux strates. Toutes les analyses ont été effectuées avec le logiciel SAS (version 9.3) et une p-value $< 0,05$ était considérée comme statistiquement significative.

ii. Analyse de médiation

Une de nos hypothèses était que le GPG serait associé à l'exposition (variations de poids avant la grossesse) et à la variable dépendante (poids de naissance) et serait sur le chemin de causalité de l'association entre variations pondérales avant grossesse et poids de naissance. Pour

répondre à cette problématique, nous avons réalisé des analyses de médiation décrites dans la méthode de Mac Kinnon (Mackinnon et al. 1995; MacKinnon et al. 2007a). Dans la cohorte Elfe, un travail préalable avait rapporté que la perte de poids avant grossesse était associée à une augmentation de la prise de poids pendant la grossesse, quelle que soit la catégorie d'IMC en début de grossesse (**Figure 5.2 chemin a**) (Jacota, 2016). Les analyses de médiation ont été également stratifiées sur l'IMC maternel à la conception < 25 et ≥ 25 kg/m².

L'effet total (ou **chemin c**) correspond à l'association entre les variations de poids (variable indépendante) et le poids à la naissance (variable dépendante) ajustée sur les facteurs de confusion décrits précédemment : le niveau d'éducation, l'âge maternel, le tabac avant et pendant grossesse, le lieu de naissance, la parité, la couverture d'assurance maladie, le statut d'activité et l'IMC. L'effet direct, ou non médié (**chemin c'**), est l'effet des variations de poids avant grossesse sur le poids de naissance, via un chemin causal autre que celui du GPG, tandis que l'effet indirect est celui passant par le GPG. Le coefficient b représente la relation entre le médiateur et la variable dépendante, ajustée sur la variable indépendante. Pour le calcul des intervalles de confiance de l'effet indirect, une valeur seuil de 1,96 a été utilisée pour l'erreur standard (MacKinnon et al. 2007b).

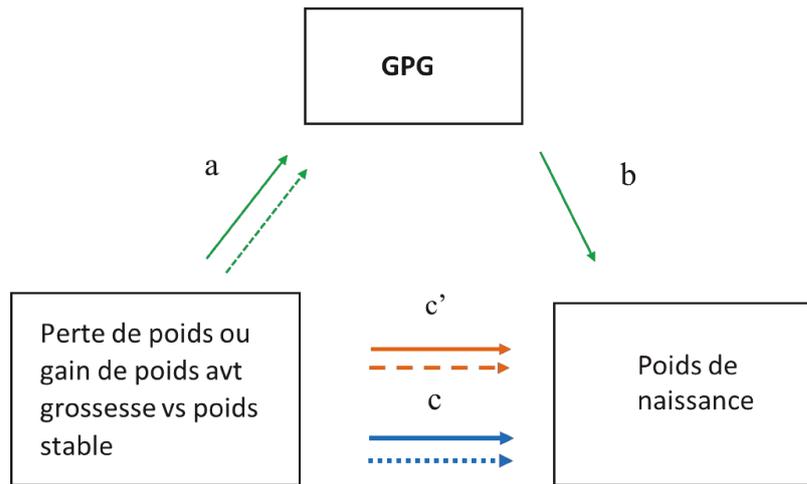


Figure 5.2 : Modèle de médiation

a est l'association entre les variations de poids avant grossesse et le gain de poids gestationnel (GPG).
b est l'association entre le GPG et le poids de naissance, ajusté sur les variations de poids avant grossesse.
 $a \times b$ est l'effet indirect. **c** est l'effet total : association entre les variations de poids et le poids de naissance.
c' est l'effet direct (non-médié) ajusté sur la variable médiatrice.

iii. Analyses complémentaires

Nous avons réalisé plusieurs analyses complémentaires décrites dans le **Tableau 5.2**, en lien avec plusieurs hypothèses susceptibles d'influencer nos résultats principaux. En effet, nous avons tout d'abord fait l'hypothèse que les femmes ayant perdu du poids intentionnellement suite à une restriction alimentaire pourraient être exposées à une reprise de poids gestationnelle plus importante qui se produirait dès le début de la grossesse. Nous avons par conséquent stratifié le groupe de femmes ayant perdu du poids avant la grossesse selon si elles avaient suivi un régime restrictif l'année avant la grossesse (en stratifiant les analyses par la variable en cas complet ou observée) ou si elles avaient eu une perte de poids liée à d'autres facteurs (non liée à des maladies chroniques, exclues des analyses).

Les femmes ayant donné naissance à un enfant dans les 2 ans précédant la grossesse actuelle, pouvaient déclarer des variations de poids physiologiques liées à la précédente grossesse et être classées dans le groupe de femmes ayant eu une perte ou gain de poids importante pour cette grossesse actuelle. Nous avons donc conduit une analyse complémentaire excluant ces femmes des analyses.

La variable gain de poids gestationnelle telle qu'elle a été construite présentait la limite d'inclure le poids de naissance de l'enfant. Les variations de prise de poids maternelle pouvaient varier en fonction du poids de naissance de l'enfant et influencer ainsi l'effet direct des variations pondérales avant grossesse sur le poids de naissance. Pour explorer cette hypothèse, nous avons étudié l'effet d'une variable appelée « GPG maternel », calculée en soustrayant le poids de naissance de l'enfant de la variable GPG initiale qui approche de façon approximative la part maternelle du gain de poids.

Parce que le GPG dépend aussi de la durée de la grossesse, nous avons exclu les naissances prématurées.

Enfin, la consommation de tabac avant et pendant la grossesse pourraient modifier nos associations. La consommation de tabac pourrait être associée à une moindre prise de poids avant la grossesse et inversement l'arrêt du tabac pendant la grossesse pourrait entraîner une reprise de poids gestationnelle plus importante. Pour cela, nous avons conduit nos analyses au sein du groupe des femmes non fumeuses.

Les analyses ont été réalisées également en cas complet sans données manquantes sur nos variables d'exposition, poids de naissance et facteurs de confusion.

Tableau 5.2 : Présentation des analyses complémentaires

Analyses complémentaires	Hypothèses
Perte de poids et régime restrictif avant grossesse / ou non	Reprise de poids gestationnelle plus importante en cas de restriction préalable
Etude de l'effet médiateur du « Gain de poids gestationnel maternel » = Gain de poids gestationnel – poids de naissance	Possible effet surestimé du gain de poids gestationnel car contient en partie le poids de naissance
Analyse chez les non fumeuses	Baisse appétit et moindre prise de poids gestationnelle ?
Exclusion des femmes ayant eu un enfant 2 ans avant cette grossesse	Possible modifications de poids physiologiques lié à la grossesse
Exclusion des naissances prématurées	Le gain de poids gestationnel dépend de la durée de la grossesse

III. Résultats

1. Caractéristiques de la population

Les caractéristiques des 16395 femmes incluses dans l'analyse sont résumées dans le **Tableau 5.3**, pour l'ensemble de l'échantillon et stratifiées selon la catégorie d'IMC à la conception. Les femmes étaient principalement nées en France (87 %) et étaient employées ou étudiantes (81 %). Plus de 43% fumaient avant la grossesse, et 26% étaient en surpoids ou obésité.

2. Analyses statistiques

a. Analyses univariées

Les femmes ayant eu un gain de poids avant grossesse avaient un plus faible niveau socio-économique comparées aux femmes avec perte de poids avant grossesse ou poids stable

(**Tableau 5.4**). Nous avons observé une différence significative entre les 3 groupes de variation de poids avant grossesse concernant le comportement tabagique ($p < 0.01$). Les femmes qui ont perdu du poids avant la grossesse étaient plus souvent fumeuses avant la grossesse. La proportion de ces femmes qui ont arrêté de fumer pendant leur grossesse était d'environ 26 %. Les résultats étaient similaires quel que soit le statut pondéral au moment de la conception. Au total, 57 % des femmes avaient eu une perte de poids suite à un régime restrictif déclaré au cours de l'année précédant la grossesse.

b. Association avec le gain de poids gestationnel

Une étude précédente menée dans la cohorte Elfe avait montré que la perte ou le gain de poids avant grossesse étaient associés à une augmentation du GPG après ajustement sur les facteurs de confusion précédemment décrits et l'IMC à la conception (Jacota, 2016). Chez les femmes avec un IMC $< 25 \text{ kg/m}^2$ au moment de la conception, celles qui avaient perdu du poids avant la grossesse avaient pris plus de 2 kilos supplémentaires pendant la grossesse en comparaison aux femmes ayant un poids stable avant la grossesse (**Tableau 5.5**). La prise de poids gestationnelle était également plus élevée chez les femmes ayant eu un gain de poids avant grossesse, que celles ayant eu un poids stable ($\beta = 1,12$ [95% IC 0,79 ; 1,45], $p < 0,01$).

Pour les femmes ayant un IMC $\geq 25 \text{ kg/m}^2$, celles avec une perte de poids avant grossesse $> 5 \text{ kg}$ avaient une prise de poids pendant la grossesse d'environ 2,8 kg supérieure comparées aux femmes du groupe de poids stable. De plus, les femmes avec gain de poids $> 5 \text{ kg}$ avant grossesse présentaient une dynamique persistante pendant la grossesse entraînant une augmentation de $> 1,6 \text{ kg}$ par rapport aux femmes ayant un poids stable (**Tableau 5.5**).

Tableau 5.3 : Description de la population Elfe (N = 16 395) sur l'ensemble de l'échantillon et stratifiée sur l'IMC à la conception*

Caractéristiques	Données manquantes <i>N</i> (%)	Population totale <i>N</i> = 16 395	BMI < 25 kg/m² <i>N</i> = 12 058	BMI ≥ 25 kg/m² <i>N</i> = 4 337
<i>Maternelles</i>				
Age (années)	4 (0,02)			
<25		2 225 (13,6)	1 582 (13,1)	643 (14,8)
25–35		11 085 (67,6)	8 273 (68,6)	2 812 (64,8)
>35		3 081 (18,8)	2 199 (18,2)	882 (20,3)
Nées en France	12 (0,07)	14 272 (87,1)	10 601 (88,0)	3 671 (84,8)
Niveau éducation	1 (0,01)			
Au plus niveau collègue		1 368 (8,3)	847 (7,0)	521 (12,0)
Niveau Bac		5 711 (34,8)	3 841 (31,9)	1 870 (43,1)
Bac + 2 ans		3 663 (22,3)	2 675 (22,2)	988 (22,8)
>Bac + 2 ans		5 652 (34,5)	4 694 (38,9)	958 (22,1)
Statut activité	351 (2,1)			
Employée ou étudiante		12 935 (80,6)	9 839 (83,2)	3 096 (73,3)
A domicile		3 109 (19,4)	1 982 (16,8)	1 127 (26,7)
Couverture santé	55 (0,3)			
Précaire		1 343 (8,2)	853 (7,1)	490 (11,4)
Universelle ou spécifique		14 997 (91,8)	11 170 (92,9)	3 827 (88,6)
Vit en couple	73 (0,4)	15 450 (94,7)	11 409 (95,1)	4 041 (93,5)
Tabac avant grossesse (Oui)	49 (0,3)	6 964 (42,6)	5 211 (43,3)	1 753 (40,6)
<i>Grossesse</i>				
Primipare	31 (0,2)	7 313 (44,7)	5 680 (47,2)	1 633 (37,7)
Suivi pendant grossesse	112 (0,7)			
Gynécologue		10 718 (65,8)	7 958 (66,4)	2 760 (64,1)
Sage-femme		2 034 (12,5)	1 455 (12,1)	579 (13,4)
Médecin généraliste ou aucun		907 (5,6)	638 (5,3)	269 (6,2)
Plusieurs professionnels		2 624 (16,1)	1 926 (16,1)	698 (16,2)
Tabac pendant grossesse (Oui)	104 (0,6)	3 281 (20,1)	2 446 (20,4)	835 (19,4)

Caractéristiques	Données manquantes	Population totale	BMI < 25 kg/m²	BMI ≥ 25 kg/m²
	<i>N (%)</i>	<i>N = 16 395</i>	<i>N = 12 058</i>	<i>N = 4 337</i>
Variations poids avant grossesse				
	2 102 (12,8)			
Perte de poids		1 415 (9,9)	806 (7,7)	609 (16,2)
Poids stable		11 210 (78,4)	8 952 (85,0)	2 258 (60,0)
Gain de poids		1 668 (11,7)	771 (7,3)	897 (23,8)
Régime restrictif avant grossesse	1 974 (12,0)	2 381 (16,5)	1 202 (11,3)	1 179 (31,1)
IMC conception				
	0 (0)			
Maigre		1 292 (7,9)	1 292 (10,7)	—
Normal		10 766 (65,7)	10 766 (89,3)	—
Surpoids		2 791 (17,0)	—	2 791 (64,4)
Obésité		1 546 (9,4)	—	1 546 (35,6)
Gain poids gestationnel (kg)	114 (0,7)	13,2 ± 5,5	13,9 ± 4,8	11,2 ± 7
<i>Nouveau-né</i>				
Age gestationnel (SA)	111 (0,7)	39,6 ± 1,4	39,6 ± 1,4	39,7 ± 1,4
Z-score poids naissance^a	322 (2,0)	0,08 ± 1,0	0,01 ± 0,9	0,27 ± 1,0
Catégories poids naissance^b				
	322 (2,0)			
Petit pour âge gestationnel		1 280 (8,0)	1 012 (8,6)	268 (6,3)
Approprié pour âge gestationnel		13 238 (82,4)	9 866 (83,5)	3 372 (79,2)
Gros pour âge gestationnel		1 555 (9,7)	939 (7,9)	616 (14,5)

*données descriptives présentées avant imputation multiple

Données présentées en n (%) ou moyenne ± ET

^aZ-score poids de naissance d'après la référence Audipog (Mamelle et al., 1996).

^bCatégories poids de naissance: petit pour âge gestationnel (<10^{ème} percentile), approprié pour âge gestationnel (10^{ème} au 90^{ème} percentile) et gros pour âge gestationnel (>90^{ème} percentile).

SA, semaines d'aménorrhées.

Tableau 5.4 : Caractéristiques des femmes selon les catégories de variations de poids avant grossesse (N = 14 293) *

Variables	N	Perte de poids N= 1415	Poids stable N=11 210	Gain poids N=1 668
Age maternel (années)	14 289	30,2 ± 5,0	30,8 ± 4,9	29,8 ± 5,4
Lieu naissance (France)	14 287	1 301 (92,1)	10 128 (90,4)	1 323 (79,3)
Niveau éducation maternelle	14 293			
Au plus niveau collège		124 (8,8)	668 (6,0)	256 (15,3)
Niveau BAC		574 (40,6)	3 539 (31,6)	753 (45,1)
Bac + 2ans		328 (23,2)	2 665 (23,8)	324 (19,4)
>Bac + 2 ans		389 (27,5)	4 338 (38,7)	335 (20,1)
Statut activité	14 027			
Employée ou étudiante		1 094 (79,2)	9 292 (84,2)	1 091 (67,6)
A domicile		288 (20,8)	1 740 (15,8)	522 (32,4)
Couverture assurance maladie	14 249			
Précaire		108 (7,6)	618 (5,5)	260 (15,7)
Universelle ou spécifique		1 306 (92,4)	10 556 (94,5)	1 401 (84,3)
Vit en couple (Oui)	14 227	1 336 (94,9)	10 697 (95,9)	1 521 (91,5)
Tabac avant grossesse (Oui)	14 262	702 (49,8)	4 765 (42,6)	678 (40,8)
Tabac pendant grossesse (Oui)	14 219	347 (24,7)	2 151 (19,3)	347 (20,9)
Comportement tabagique	14 154			
Pas tabac avant et pendant grossesse		697 (49,9)	6 363 (57,3)	969 (58,9)
Tabac avant grossesse seulement		358 (25,6)	2 632 (23,7)	343 (20,9)
Tabac avant et pendant grossesse		341 (24,4)	2 118 (19,1)	333 (20,2)
Grossesse				
Primipare (Oui)	14 273	512 (36,3)	5 065 (45,2)	717 (43,0)
Suivi de grossesse	14 206			
Gynécologue		926 (65,9)	7 440 (66,8)	1 053 (63,5)
Sage-femme		161 (11,5)	1 325 (11,9)	214 (12,9)
Médecin généraliste ou aucun		86 (6,1)	598 (5,4)	110 (6,6)
Plusieurs professionnels		233 (16,6)	1 779 (16,0)	281 (16,9)
Régime restrictif avant grossesse (Oui)	14 127	802 (57,2)	1 159 (10,5)	391 (23,9)
IMC conception kg/m²	14 293	25,5 ± 5,2	22,7 ± 4,2	26,2 ± 5,4
Gain de poids gestationnel (kg)	14 203	14,47 ± 6,8	13,0 ± 5,02	12,9 ± 6,1

*Données présentées avant imputation multiple. n (%) ou moyenne ± ET. Test de Chi-2 comparant les 3 groupes de variations de poids ou ANOVA pour les variables continues : toutes les différences étaient significatives entre les 3 groupes sauf pour le suivi de grossesse.

Tableau 5.5 : Association entre les variations de poids avant grossesse et le gain de poids gestationnel, selon les catégories d'IMC maternel

Variations pondérales	Gain de poids gestationnel	
	Modèle Brut β (%95 IC)	Modèle ajusté β (%95 IC)
IMC < 25 kg/m²		
<i>Variations pondérales avant grossesse</i>		
Perte de poids ^a	2,25 [1,84 ; 2,66]	2,20 [1,79 ; 2,61]
Poids stable ^a	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>
Gain de poids ^a	0,92 [0,59 ; 1,24]	1,12 [0,79 ; 1,45]
IMC \geq 25 kg/m²		
<i>Variations pondérales avant grossesse</i>		
Perte de poids ^b	2,28 [1,66 ; 2,89]	2,76 [2,21 ; 3,32]
Poids stable ^b	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>
Gain de poids ^b	0,84 [0,31 ; 1,37]	1,61 [1,12 ; 2,11]

Modèle ajusté : régression linéaire ajustée sur le niveau d'éducation maternelle, l'âge maternel, la consommation de tabac avant et pendant grossesse, le lieu de naissance, la parité, le régime d'assurance maladie, le statut d'activité et l'IMC.

^aMinimum–maximum du nombre de femmes dans chaque catégorie de variation de poids avant grossesse selon les bases imputées : perte de poids, 910–944; poids stable, 10 177–10 192; et gain de poids, 923–956.

^bMinimum–maximum du nombre de femmes dans chaque catégorie de variation de poids avant grossesse selon les bases imputées : perte de poids, 690–703; poids stable, 2 543–2 564; et gain de poids, 1 072–1 097

c. Association avec le poids de naissance

Parmi les femmes ayant un IMC préconceptionnel inférieur à 25 kg/m², les modèles multivariés ont montré qu'une perte de poids maternelle avant la grossesse était associée à une moyenne du Z-score de poids de naissance significativement augmentée, par rapport à celles ayant eu un poids stable ($\beta = 0,08$ [95% IC 0,02 ; 0,14], $p = 0,01$) (**Tableau 5.6**). Une tendance à un effet protecteur vis-à-vis du risque de PAG était observée, bien que non significative chez les femmes avec perte de poids ($\beta = 0,78$ [95% IC 0,58 ; 1,05], $p = 0,10$).

Dans le groupe des femmes avec un IMC avant la grossesse ≥ 25 kg/m², la perte de poids avant grossesse n'était pas associée au poids de naissance pour un IMC donné. Mais une tendance au risque de GAG était observée pour les femmes qui avaient eu un gain de poids avant la grossesse ($\beta = 1,19$ [95% IC 0,94 ; 1,49], $p = 0,15$).

3. Analyse de médiation

Chez les femmes avec un IMC < 25 kg/m² avant la grossesse, la prise de poids gestationnelle était positivement associée au poids de naissance ($\beta = 0,04$ [95% IC 0,037 ; 0,044], $p < 0,01$). Le tableau 5.6 montrait qu'une perte de poids avant la grossesse était associée à une augmentation du poids de naissance (pour l'effet total). Nos analyses de médiation ont révélé que cet effet était en réalité expliqué entièrement par l'effet indirect du GPG (**Figure 5.3**).

Chez les femmes en surpoids ou obèses, à même IMC en début de grossesse, une augmentation du GPG était également associée à une augmentation du poids de naissance ($\beta = 0,03$ [95% IC 0,026 ; 0,036], $p < 0,01$). Nous avons vu au préalable qu'une perte de poids avant grossesse n'était pas associée au poids de naissance (effet total). Nos analyses de médiation ont révélé que la perte de poids en période préconceptionnelle avait un effet direct significatif et était associée à une diminution du poids de naissance ($\beta = -0,11$ [95% CI -0,19 ; -0,03], $p = 0,01$) (**Figure 5.4**). Il y avait également un effet médiateur ou indirect significatif du GPG.

Aucune association significative n'a été mise en évidence entre un gain de poids important avant grossesse et le poids de naissance, quelle que soit la catégorie d'IMC à la conception. Toutefois, l'effet total était le résultat de la somme d'un effet direct non significatif et d'un effet médiateur significatif du GPG (**Figure 5.3 et 5.4**).

Tableau 5.6 : Association entre les variations de poids l'année avant la grossesse et le poids de naissance, stratifié selon l'IMC maternel (N = 16 395)

Variations pondérales l'année avant la grossesse	Z-score poids de naissance (Audipog), β (95% IC)		PAG ^a , OR (95% IC)		GAG ^a , OR (95% IC)	
	Modèle Brut	Modèle ajusté	Modèle Brut	Modèle ajusté	Modèle Brut	Modèle ajusté
IMC < 25 kg/m² (N = 12 058)						
Perte de poids ^b	0,14 (0,08 ; 0,21)	0,08 (0,02 ; 0,14)	0,71 (0,53 ; 0,95)	0,78 (0,58 ; 1,05)	1,15 (0,89 ; 1,47)	0,98 (0,75 ; 1,26)
Poids stable ^b	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>
Gain de poids ^b	0,04 (-0,04 ; 0,12)	0,02 (-0,06 ; 0,10)	1,01 (0,76 ; 1,33)	0,98 (0,74 ; 1,30)	1,16 (0,87 ; 1,54)	1,09 (0,81 ; 1,48)
IMC ≥ 25 kg/m² (N = 4 337)						
Perte de poids ^c	-0,01 (-0,09 ; 0,07)	-0,02 (-0,1 ; 0,06)	1,14 (0,80 ; 1,62)	1,13 (0,79 ; 1,61)	1,00 (0,77 ; 1,31)	0,96 (0,73 ; 1,26)
Poids stable ^c	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>	<i>Reference</i>
Gain de poids ^c	0,03 (-0,05 ; 0,11)	0,03 (-0,05 ; 0,11)	1,02 (0,73 ; 1,42)	0,96 (0,67 ; 1,37)	1,21 (0,97 ; 1,51)	1,19 (0,94 ; 1,49)

Modèle ajusté sur le niveau d'éducation maternel, l'âge maternel, le tabac avant et pendant grossesse, le lieu de naissance, le régime d'assurance maladie, la parité, le statut d'activité et l'IMC

^a Petit poids pour l'âge gestationnel (PAG) (10^{ème} percentile vs ≥ 10^{ème} percentile) et gros poids pour l'âge gestationnel (GAG) (> 90^{ème} vs ≤ 90^{ème} percentile) selon la référence d'Audipog (Mamelle et al., 1996)

^b Minimum–maximum du nombre de femmes dans chaque catégorie de poids avant grossesse selon les tables imputées: perte de poids, 910–944; poids stable, 10 177–10 192; et gain de poids 923–956.

^c Minimum–maximum du nombre de femmes dans chaque catégorie de variations de poids avant grossesse, selon les tables imputées : perte de poids, 690–703; poids stable, 2 543–2 564; et gain de poids, 1 072–1 097.

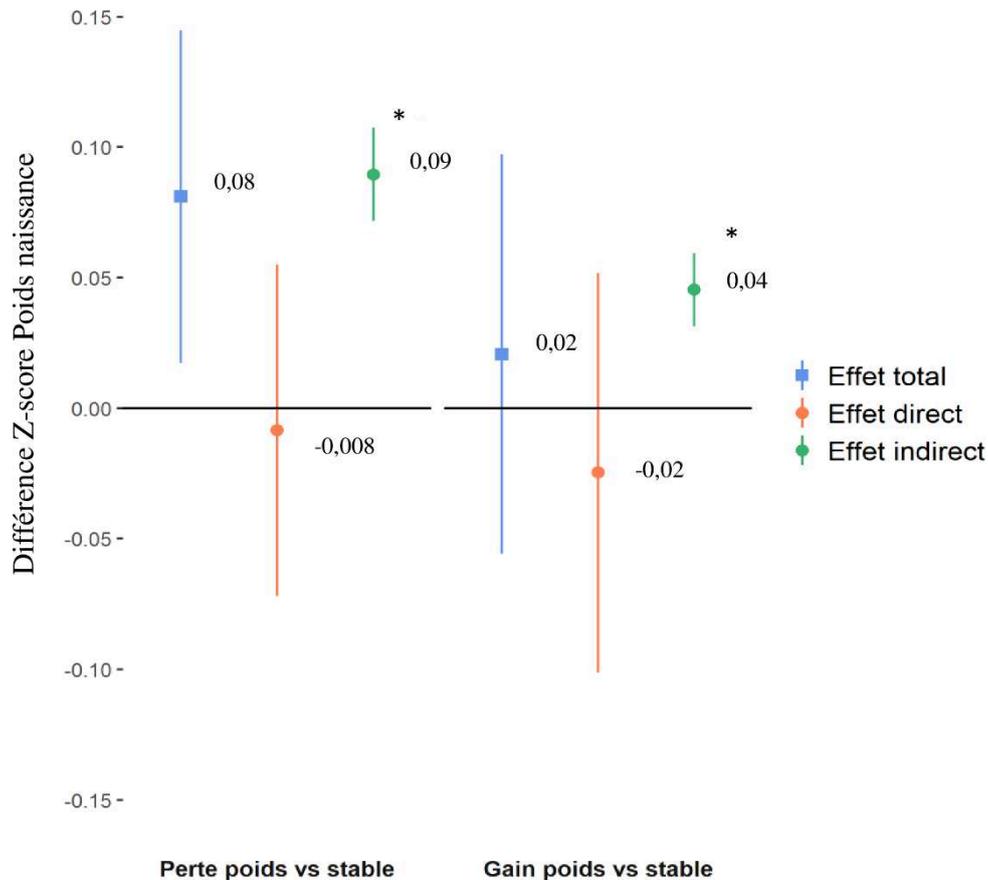


Figure 5.3 : Association entre les variations de poids avant grossesse et le poids de naissance médié par le GPG, dans le groupe de femmes avec IMC < 25 kg/m² à la conception (N = 12 058)

Taille d'effet β (95% IC). Tous les modèles sont ajustés sur le niveau d'éducation maternel, l'âge maternel, le tabac avant et pendant grossesse, le lieu de naissance, la parité, le régime d'assurance maladie, le statut d'activité et l'IMC. Le Z-score du poids de naissance défini selon le modèle d'Audipog (Mamelle et al., 1996). *Test de Sobel pour l'effet indirect $p < 0,001$.

Lorsque nous avons restreint les analyses aux femmes obèses soit avec un IMC ≥ 30 kg/m² (N = 1 546), les résultats étaient d'autant plus marqués. Nous avons observé un effet direct plus important que chez les femmes avec un ≥ 25 kg/m² à la conception ($\beta = -0,19$ [95% IC -0,33 ; -0,06], $p < 0,01$ vs $\beta = -0,11$ [95% IC -0,19 ; -0,03], respectivement). Nous avons aussi observé un effet total à la limite de la significativité ($\beta = -0,12$ [95% IC -0,26 ; 0,014], $p = 0,07$) (voir en **Figure Annexe 2**). Lorsqu'on s'est intéressé au groupe de femmes présentant un surpoids (entre 25 et 30 kg/m²), l'effet direct était de moindre ampleur comparé au groupe

de femmes avec une obésité ($\beta = -0,06$ [95% IC -0,17 ; 0,04], $p = 0,24$), mais ce groupe de femmes avaient une prise de poids gestationnelle plus élevée ($\beta = 0,10$ [95% IC 0,07 ; 0,13], $p < 0,001$).

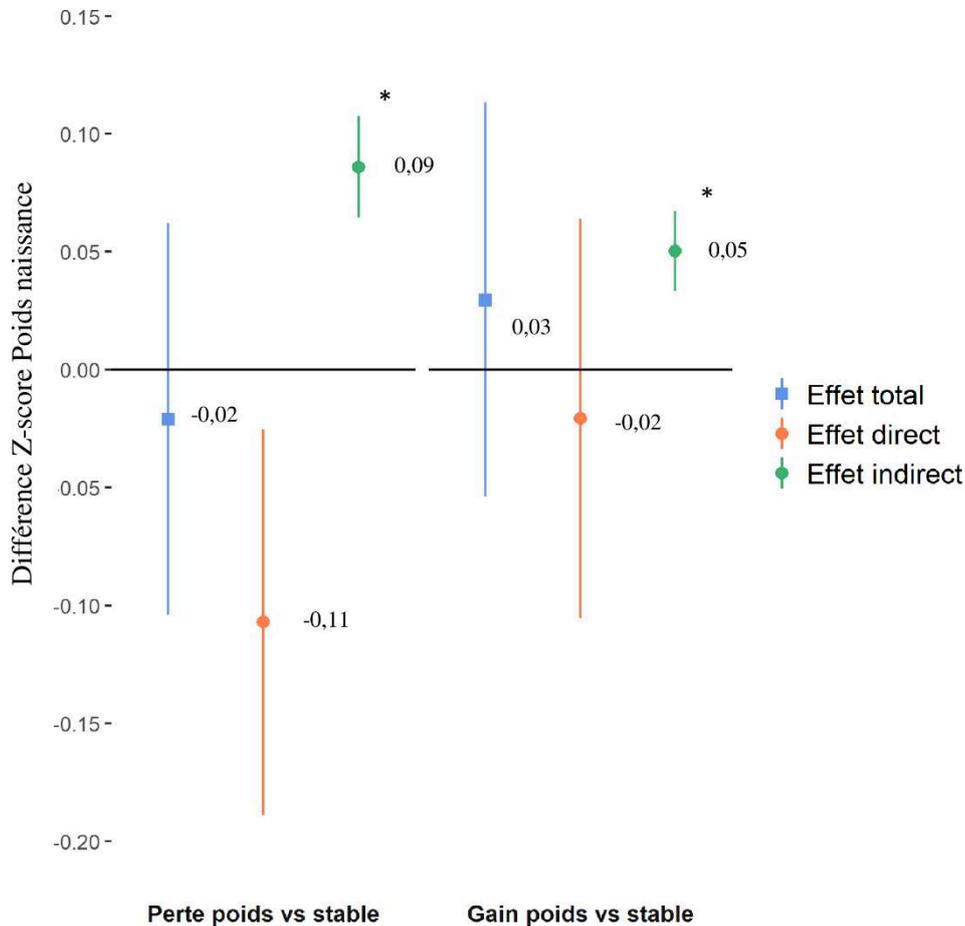


Figure 5.4 : Association entre les variations de poids avant grossesse et le poids de naissance médié par le GPG, dans le groupe de femmes avec IMC ≥ 25 kg/m² à la conception, (N = 4 337)

Taille d'effet β (95% IC). Tous les modèles sont ajustés sur le niveau d'éducation maternel, l'âge maternel, le tabac avant et pendant grossesse, le lieu de naissance, la parité, le régime d'assurance maladie, le statut d'activité et l'IMC. Le Z-score du poids de naissance défini selon le modèle d'Audipog (Mamelle et al., 1996). *Test de Sobel pour l'effet indirect $p < 0,001$.

4. Analyses complémentaires

a. Suivi de régime restrictif

Parmi les femmes avec un IMC en début de grossesse ≥ 25 kg/m², 1 179 (31,1 %) femmes avaient suivi un régime restrictif dans l'année précédant la grossesse et 2 608 (68,9 %) n'avaient

pas eu de régime. Comme illustré sur la **Figure 5.5**, l'effet médiateur du GPG était plus important chez les femmes ayant eu une perte de poids suite à un régime restrictif ($\beta = 0,09$ [95% IC 0,05 ; 0,12], $p < 0,001$).

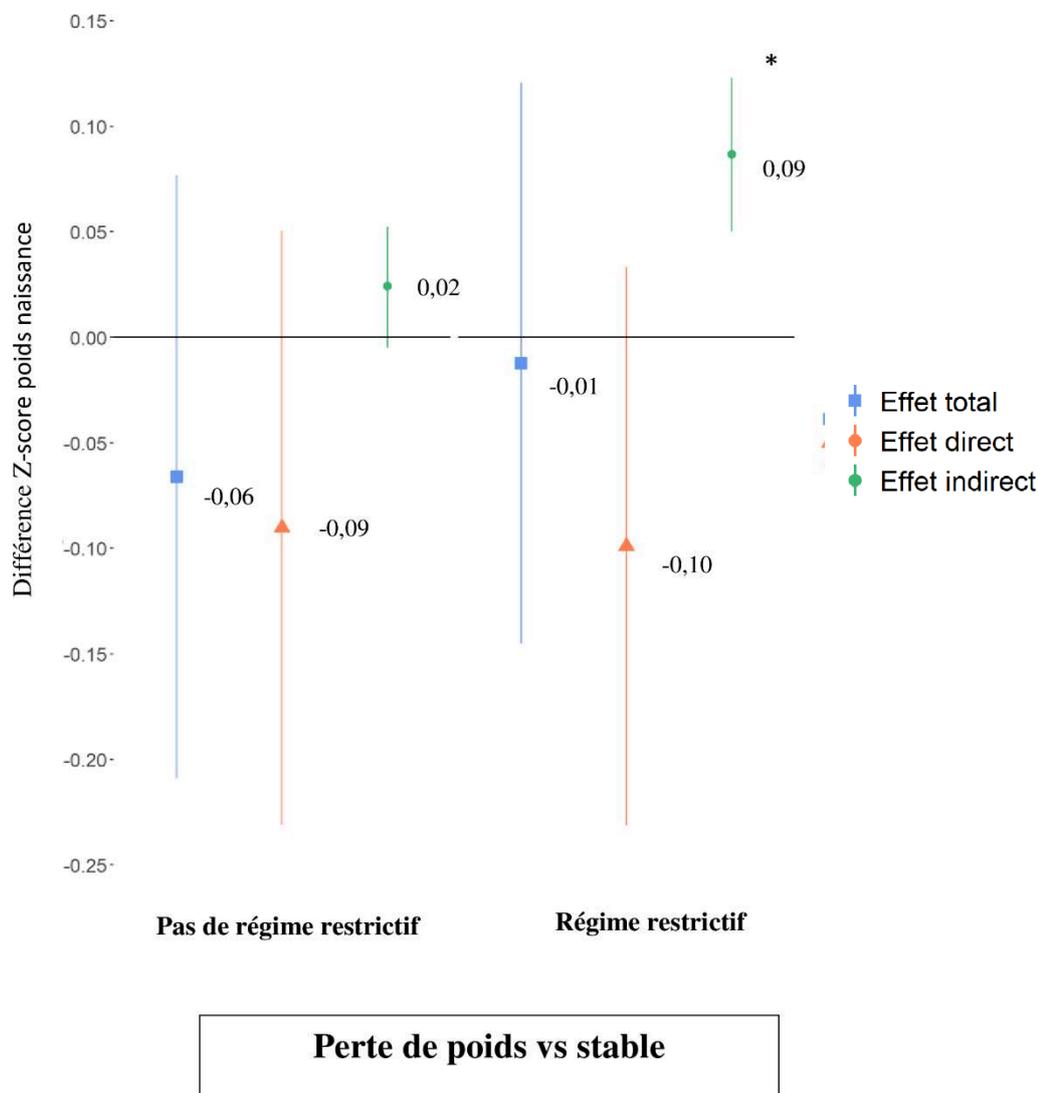


Figure 5.5 : Association entre la perte de poids avant grossesse et le poids de naissance médiée par le GPG, pour les femmes avec un IMC ≥ 25 kg/m² et stratifiée selon le suivi de régime restrictif ou non.

Taille d'effet β (95% IC). Tous les modèles sont ajustés sur le niveau d'éducation maternel, l'âge maternel, le tabac avant et pendant grossesse, le lieu de naissance, la parité, le régime d'assurance maladie, le statut d'activité et l'IMC. Le Z-score du poids de naissance défini selon le modèle d'Audipog (Mamelle et al., 1996).

*Test de Sobel pour l'effet indirect $p < 0,001$. Pour les femmes avec un IMC ≥ 25 kg/m² en début de grossesse, le minimum—maximum de femmes avec perte de poids ou stable avant grossesse dépendant des tables imputées sont les suivants : pas de régime & perte de poids, 208—208 ; & poids stable, 1 767—1 770 ; régime restrictif & perte de poids, 404—407 ; & poids stable, 494—497.

b. Exclusion des femmes avec un enfant né dans les 2 ans précédents

Dans une analyse complémentaire, nous avons exclu les femmes ayant donné naissance à un enfant dans les deux ans précédant la naissance actuelle (N = 2 925) afin d'évaluer dans quelle mesure nos résultats pouvaient être influencés par les changements de poids associés à une grossesse récente. Les résultats sont restés globalement inchangés : la perte et gain de poids étaient associés à une augmentation du GPG dans les deux groupes d'IMC. Pour les femmes ayant un IMC ≥ 25 kg/m², l'analyse de médiation retrouvait un effet direct négatif de la perte de poids avant la grossesse sur le poids à la naissance, bien que de moindre ampleur que dans l'ensemble de l'échantillon ($\beta = -0,07$ [95% IC -0,17 ; 0,02], p = 0,11).

c. Analyse utilisant l'estimation de la prise de poids maternelle spécifique

Chez les femmes avec un IMC ≥ 25 kg/m² et ayant eu perte de poids avant la grossesse, l'effet médiateur du GPG était, comme attendu, réduit par rapport à l'analyse principale ($\beta = 0,06$ [IC 95% 0,04 ; 0,08], p < 0,01). L'effet direct de la perte de poids était toujours associé négativement au poids de naissance, bien que l'association était légèrement inférieure à l'analyse principale ($\beta = -0,08$ [IC 95% -0,16 ; 0,003], p = 0,06) (**Figure 5.6**).

d. Autres analyses de sensibilité

Pour les mères non-fumeuses ayant un IMC ≥ 25 kg/m² à la conception (N = 2 533), l'effet direct de la perte de poids avant la grossesse sur le poids à la naissance était légèrement inférieur à celui de l'analyse principale ($\beta = -0,09$ [IC 95% -0,20 ; 0,03], p = 0,13, vs $\beta = -0,11$ [IC 95% -0,19 ; -0,03]). Nous observons cependant un effet indirect significatif et persistant du GPG ($\beta = 0,09$ [95% IC 0,06 ; 0,12], p < 0,001) (voir en **Figure Annexe 3**). Enfin, dans l'analyse excluant les naissances prématurées, les résultats étaient inchangés pour les deux catégories d'IMC.

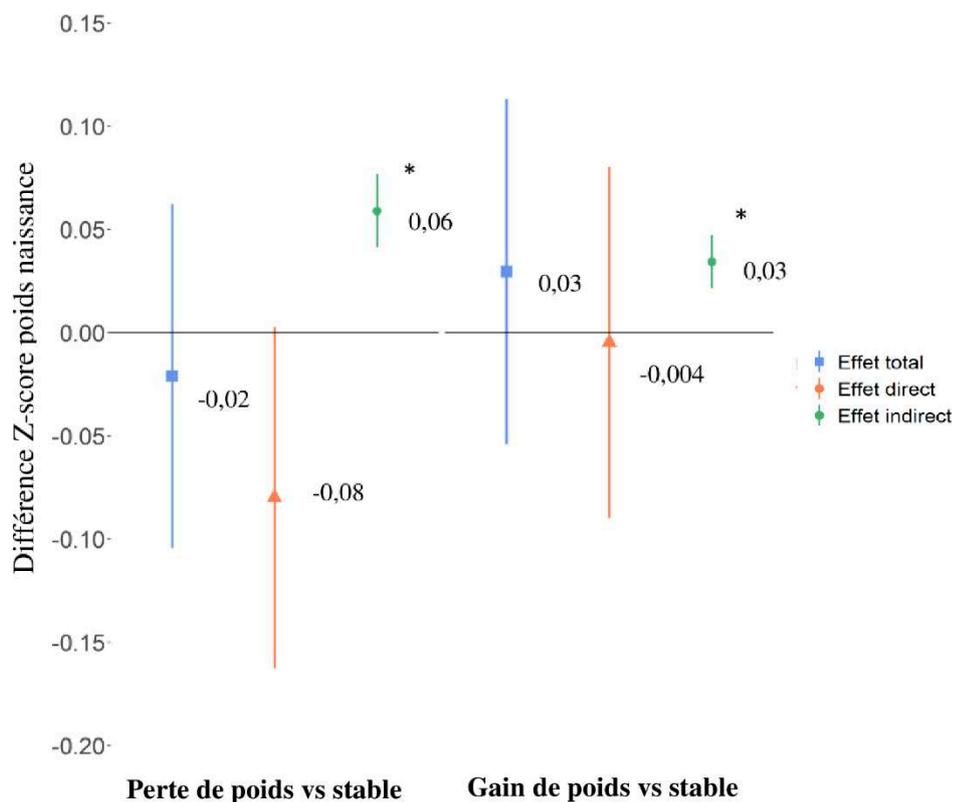


Figure 5.6 : Association entre les variations de poids avant grossesse et le poids de naissance médié par le GPG, dans le groupe de femmes avec IMC ≥ 25 kg/m² à la conception, analyse de sensibilité retirant le poids de naissance du GPG (N = 4 337)

Taille d'effet β (95% IC). Tous les modèles sont ajustés sur le niveau d'éducation maternel, l'âge maternel, le tabac avant et pendant grossesse, le lieu de naissance, la parité, le régime d'assurance maladie, le statut d'activité et l'IMC. Le Z-score du poids de naissance défini selon le modèle d'Audipog (Mamelle et al., 1996). *Test de Sobel pour l'effet indirect $p < 0,001$.

e. Analyse en cas complets

Des résultats similaires ont été obtenus à partir des analyses en cas complets (voir **Figure Annexe 4**). Nous avons également répliqué les analyses sur une population sans données manquantes sur le poids de naissance, mais avec imputation des covariables, les résultats restaient également inchangés.

IV. Discussion

1. Synthèse des résultats

Chez les femmes avec un IMC $< 25\text{kg/m}^2$ à la conception, en situation de perte de poids avant grossesse ou de restriction alimentaire, une perte de poids était associée à une augmentation du poids de naissance. L'analyse de médiation suggère que cette association serait en réalité totalement médiée et expliquée par une reprise de poids plus importante chez ces femmes pendant la grossesse. Pour les femmes présentant un surpoids et une obésité, nous n'avons pas retrouvé d'association entre la perte de poids avant grossesse et le poids de naissance (effet total). Cependant, après ajustement sur le GPG, la perte de poids avant grossesse était significativement associée à une diminution du poids de naissance (effet direct). Chez les femmes en surpoids ou obèses, l'effet attendu de la perte de poids avant la grossesse sur la réduction du poids de naissance serait, en moyenne, perdu par la reprise de poids gestationnelle. Pour les femmes avec un gain de poids important avant la grossesse, il y avait une persistance de la trajectoire pondérale antérieure, se traduisant par un effet indirect significatif du GPG, quel que soit l'IMC en début de grossesse.

Contrairement à nos résultats, une précédente étude menée au sein de la cohorte EDEN, a évalué l'évolution du poids entre l'âge de 20 ans et le début de la grossesse et a montré qu'une perte de poids avant la grossesse était associée à une réduction de la croissance fœtale et à un risque de petit poids pour l'âge gestationnel chez les femmes avec un IMC $< 25\text{ kg/m}^2$ (Diouf et al., 2011). Dans cette étude, la perte de poids concernait une période beaucoup plus longue avant la grossesse et reflétait moins les conséquences d'une perte de poids récente. De plus, les analyses étaient ajustées sur le GPG, considérant ainsi uniquement l'effet direct de la trajectoire pondérale antérieure. Une étude américaine incluant plus de 10 000 femmes obèses, a retrouvé que les femmes ayant eu une rétention de poids entre deux grossesses présentaient un risque

accru d'avoir un enfant macrosome à la naissance. Inversement, une perte de poids (≥ 2 unités IMC [kg/m^2]) entre leurs grossesses avait un effet bénéfique sur le poids de naissance et diminuait le risque de gros poids pour l'âge gestationnel. Cependant, une perte de poids excessive (>8 unités d'IMC) était associée à un risque plus élevé de retard de croissance chez l'enfant (Jain et al., 2013). Ces résultats soulignent la nécessité d'évaluer également l'impact d'une perte de poids excessive sur le développement fœtal. Une autre étude issue de données d'une cohorte nationale suédoise a également retrouvé une augmentation croissante du risque de gros poids pour l'âge gestationnel chez les femmes ayant eu un gain de poids entre deux grossesses et présentant un surpoids ou une obésité. Les auteurs recommandent une perte de poids après la grossesse chez les femmes en surpoids et obèses, ainsi que la prévention d'une prise de poids avant la grossesse pour les femmes ayant un IMC normal (Villamor et al., 2006).

Dans notre étude, nous n'avons pas retrouvé d'effet majeur d'un gain de poids important avant la grossesse sur le poids de naissance. Nous avons observé cependant que ces femmes continuaient à prendre relativement plus de poids au cours de la grossesse, bien que cette prise de poids était plus faible en moyenne que pour les femmes ayant perdu du poids avant la grossesse. Les femmes obèses ayant pris du poids avant la grossesse ont été décrites comme à risque de complications périnatales (Villamor et al., 2006). Ces femmes auraient pu bénéficier d'une attention médicale particulière ainsi que d'un suivi rapproché pendant la grossesse, qui limiterait l'effet sur le poids de naissance. Ces facteurs pourraient expliquer pourquoi nous n'avons pas retrouvé d'association avec la croissance fœtale. Enfin, les différences entre nos résultats et la littérature pourraient aussi être expliqués par les différentes périodes de temps avant la grossesse considérées pour l'étude des variations de poids (Stephenson et al., 2018).

Nous avons montré qu'une perte de poids de plus de 5 kg avant la grossesse était associée à une diminution du poids de naissance, après prise en compte du GPG chez les femmes obèses ou en surpoids. Pour un même IMC en début de grossesse, les femmes ayant perdu du poids

auraient un meilleur profil métabolique et lipidique en début de grossesse (Assali et al. 2001; Jensen et al. 2014). Une diminution de l'intolérance au glucose, une moindre hyperinsulinémie ou lipidémie peut expliquer l'effet direct observé de la perte de poids sur la diminution du poids de naissance, car ces facteurs contribuent à la croissance du fœtus (Di Cianni et al., 2005; HAPO Study Cooperative Research Group et al., 2008). De plus, des études menées chez des animaux obèses, ont montré une association entre la perte de poids ou une alimentation pauvre en graisses et une amélioration des conditions pour le développement de la descendance, comme une réduction de la masse grasse et une amélioration des fonctions métaboliques et hépatiques (Matusiak et al., 2014; McCurdy et al., 2009; Rattanatray et al., 2010).

Cependant, la perte de poids s'accompagne de plusieurs changements physiologiques tels que l'altération des réserves énergétiques, des modifications métaboliques et des voies hormonales impliquées dans la régulation de l'appétit, qui peut prédisposer à la reprise de poids ultérieure (Sumithran et al., 2013). Une étude menée au sein de la cohorte NutriNet-Santé a montré que la restriction alimentaire était un prédicteur direct de la prise de poids, avec un effet plus marqué que l'âge ou la consommation d'aliments à forte densité énergétique (Lampuré et al., 2017). Un mécanisme biologique appelé "nutrient clearance" explique la reprise de poids par un déséquilibre entre l'appétit augmenté et la dépense énergétique faible liée à la perte de poids préalable entraînant une modification des taux de leptine et d'insuline (MacLean et al., 2015). De ce fait, lors de la levée de la restriction, il y aurait une moindre élimination de l'énergie excédentaire qui serait stockée préférentiellement par les adipocytes sous la forme de lipides.

Le sevrage tabagique est également un facteur de risque bien connu de prise de poids. Dans notre étude, 26 % des femmes ayant perdu du poids et qui avaient fumé avant la grossesse ne fumaient plus pendant la grossesse. Lorsque nous avons restreint nos analyses aux femmes non fumeuses, les résultats restaient similaires et il y avait un effet persistant et positif du GPG.

Ces différentes conditions physiologiques peuvent donc faciliter les mécanismes de reprise du poids après une restriction. Dans le cas du gain de poids avant grossesse, la persistance de la trajectoire pondérale ascendante pourrait s'expliquer par un maintien du comportement alimentaire pendant la grossesse, ou des facteurs environnementaux (culturels, familiaux) et génétiques. Enfin, d'autres facteurs liés à la grossesse, tels qu'une diminution de l'activité physique, peuvent également favoriser une reprise de poids.

2. Forces et limites

Les points forts de notre étude sont le large nombre de femmes incluses, et la disponibilité des données sociodémographiques et médicales. Nous disposons d'informations additionnelles sur les antécédents médicaux des femmes et avons pu effectuer une sélection en excluant les femmes avec des pathologies pouvant modifier leurs variations pondérales antérieures. L'utilisation d'une technique d'imputation multiple a permis de limiter les biais dus aux données manquantes pour notre variable d'intérêt et les facteurs de confusion.

Parmi les limites de l'étude, un premier point est que les variations pondérales antérieures ont été déclarées rétrospectivement par les femmes à la naissance et peuvent présenter certains biais de sur ou sous-déclaration. Cependant, ces informations sur les changements de poids ($\pm 5\text{kg}$) ont été recueillies en classes, pour diminuer le risque de biais de mémoire et pour augmenter le taux de réponse sur une période récente (1 an avant la grossesse). La précision serait similaire si les informations avaient été recueillies par un professionnel de santé en début de grossesse. N'ayant pas l'information sur l'IMC un an avant la grossesse, nous avons donc utilisé l'IMC à la conception comme variable de stratification de nos analyses.

Une autre limite est que l'information sur la cause potentielle de la perte de poids se limite à la pratique d'un régime restrictif, et nous n'avons pas l'information sur le type de régime et la période concernée pendant l'année avant la grossesse. Nous n'avons pas pu

distinguer si dans certains cas, le mode de vie et d'autres facteurs associés à la perte de poids comme des modifications du niveau d'activité physique ou de sédentarité, expliqueraient en réalité les associations.

L'utilisation du GPG total incluant le poids de l'enfant pouvait également constituer une limite. Dans une analyse complémentaire, nous avons créé une variable s'approchant de la prise de poids maternelle spécifique, en soustrayant le poids de naissance de l'enfant au GPG total. Nous avons fait l'hypothèse que bien que le GPG contient le poids du placenta et le liquide amniotique, la principale source de variabilité du GPG auquel on a soustrait le poids de naissance était la composante maternelle. Les résultats de cette analyse complémentaire étaient similaires à ceux de l'analyse principale, qui confirment l'interprétation des résultats. Enfin, nous ne disposions pas d'informations sur le GPG aux différents trimestres de grossesse ; or le GPG n'est pas linéaire tout au long de la gestation et la prise de poids est plus faible au premier trimestre (Hutcheon et al., 2018). Des cinétiques distinctes de GPG pourraient avoir un impact différent sur la croissance du fœtus (Karachaliou et al., 2015; Margerison-Zilko et al., 2012).

La cohorte Elfe inclut seulement les naissances vivantes et les femmes ayant pu mener une grossesse à terme sans complications majeures. Nos résultats pourraient être biaisés, probablement en sous-estimant l'effet des variations de poids extrêmes sur la croissance fœtus, si celles-ci affectaient le risque de fausse-couche ou de mortalité à la naissance. Un biais de sélection pourrait aussi être possible, s'il existait des associations entre d'une part, les trajectoires de poids avant la grossesse et la croissance fœtale, et d'autre part, la probabilité d'inclusion dans Elfe. A l'exception du faible niveau d'éducation de la mère, que nous avons pris en compte dans les analyses, nous n'avons pas identifié d'autre raison évidente pour laquelle les variations de poids avant la grossesse influenceraient la probabilité d'inclusion.

3. Perspectives

Peu d'études se sont intéressées à ce jour aux variations de poids avant la grossesse et à l'impact sur le déroulement de la grossesse et le développement de l'enfant. La difficulté à réaliser des études en période préconceptionnelle réside notamment dans le recrutement et le suivi de ces femmes et peu d'études randomisées ont pu être menées. Les perspectives seraient de continuer à étudier le bénéfice/risque d'une perte de poids ou du régime restrictif avant la grossesse sur le déroulement de la grossesse, la croissance fœtale mais aussi le développement de l'enfant à plus long terme. Il serait également intéressant de continuer à étudier l'impact d'une perte de poids chez les femmes en surpoids ou obèses, présentant une infertilité, sur le taux de conception naturelle ou de réussite de la procréation médicale assistée (Moran et al., 2011). Une autre perspective serait d'étudier les autres facteurs associés aux variations de poids au-delà des aspects strictement quantitatifs : le caractère volontaire ou non, l'alimentation, les facteurs culturels ou psychologiques. Enfin, un travail préliminaire dans la cohorte Elfe a évalué l'impact des variations pondérales antérieures sur d'autres complications pendant la grossesse comme le diabète gestationnel (Jacota, 2016). Il serait intéressant de voir comment le diabète gestationnel ou l'hypertension gestationnelle médient les liens avec la santé ou le développement de l'enfant mais aussi avec d'autres issues de grossesse comme le risque de césarienne et de prématurité.

V. Conclusion

Peu d'études ont évalué l'association entre les variations de poids maternelles avant la grossesse et le développement foetal. Nos résultats suggèrent que chez les femmes en surpoids ou obèses, l'effet espéré de la perte de poids avant la grossesse sur la croissance du fœtus pourrait être annulée par une augmentation du gain de poids gestationnel. Ces résultats soulignent la nécessité d'une vigilance accrue de la prise de poids gestationnelle chez les femmes en surpoids ou obèses, et qui ont perdu du poids ou suivi un régime restrictif avant la grossesse. Il est nécessaire de continuer à développer des messages de prévention sur le surpoids auprès des jeunes femmes en âge de procréer dans un objectif d'amélioration de la santé périconceptionnelle.

CHAPITRE 6. Discussion générale

I. Synthèse des résultats

L'objectif général de ces travaux était d'étudier le rôle de la nutrition maternelle en période préconceptionnelle, via ses effets liés au statut pondéral, ou à l'apport en micronutriments, sur la croissance fœtale et la méthylation de l'ADN, à partir de données issues des cohortes EDEN et Elfe.

L'objectif de la première partie de thèse était de caractériser l'alimentation maternelle l'année avant la grossesse selon son potentiel d'apport en micronutriments impliqués dans le cycle de méthylation de l'ADN (c'est-à-dire en choline, bêtaïne, méthionine, vitamines B2, B6, B9, B12) et d'étudier l'association entre ces apports et les mesures anthropométriques de l'enfant à la naissance dans la cohorte mère-enfant française EDEN. Il s'agissait de la première étude s'intéressant à l'effet de l'apport combiné en ces micronutriments dès la période préconceptionnelle sur la croissance fœtale dans une cohorte de femmes françaises en âge de procréer. Trois profils alimentaires caractérisant de façon indépendante la variabilité de l'apport en ces nutriments ont été identifiés : « Varié et équilibré » (caractérisé par un apport élevé en vitamines B, choline, méthionine), « tendance végétarien » (apport en vitamines B6, B9 et bêtaïne) ; et « Riche en pain et féculents » (caractérisé principalement par un apport élevé en bêtaïne). Dans notre échantillon de femmes françaises ne présentant pas de carences nutritionnelles importantes, nos résultats ne suggéraient pas un effet majeur de l'apport en ces micronutriments sur les mesures anthropométriques à la naissance. Nous avons toutefois constaté qu'une adhésion au profil "tendance végétarien" était associée à un risque diminué de naissance prématurée. Ce résultat était cohérent avec la littérature soulignant l'importance d'un statut adéquat en folate en prévention du risque de prématurité (Fekete et al., 2010). Enfin, nous n'avons pas retrouvé d'effet majeur de la supplémentation vitaminique. Notre étude n'apporte

pas d'argument sur la nécessité de mettre en place des essais interventionnels en France visant à tester un effet d'une telle supplémentation vis-à-vis de la croissance fœtale.

La seconde partie visait à étudier l'association entre les trois profils alimentaires identifiés précédemment et la méthylation de l'ADN placentaire recueilli pour un sous-échantillon des enfants de la cohorte. Nous n'avons pas retrouvé d'association significative entre l'apport en micronutriments et la méthylation globale de l'ADN ni avec les sites CpG analysés séparément. Nos résultats ont cependant montré une association entre le profil « varié et équilibré » ainsi que « tendance végétarien » et des régions différentiellement méthylées localisées sur des gènes impliqués dans diverses fonctions essentielles au développement embryonnaire, comme le neurodéveloppement. Le profil « Pain et féculents » était associé à des régions localisées sur plusieurs gènes dont les fonctions seraient impliquées dans différentes voies métaboliques et de synthèse cellulaire.

La dernière partie s'est attachée à étudier le rôle du statut pondéral de la mère, un autre marqueur important de l'état nutritionnel en période périconceptionnelle. J'ai cherché à savoir si les variations de poids maternelles l'année avant la grossesse étaient associées à la croissance fœtale à partir des données de 16395 femmes de la cohorte de naissance longitudinale française Elfe. Indépendamment de l'IMC pré-conceptionnel et du statut socioéconomique des femmes, un régime amaigrissant, une perte ou un gain de poids important avant la grossesse étaient associés à un gain de poids gestationnel plus important. L'association positive entre une perte pondérale avant grossesse (> 5 kg) et la prise de poids gestationnelle était plus marquée chez les femmes présentant une obésité à la conception ou ayant suivi un régime avant cette grossesse. De plus, chez les femmes en surpoids ou obèses, nous avons observé qu'une perte de poids avant la grossesse était associée à une diminution du poids de naissance. Toutefois, cet effet était masqué par une prise de poids gestationnelle plus importante chez ces femmes, comparativement à celles ayant eu des variations de poids modérées avant la grossesse.

II. Forces et limites

Grâce aux données disponibles dans les deux cohortes de naissance EDEN et Elfe, spécialement conçues pour étudier les déterminants précoces du développement de l'enfant, nous avons pu aborder des thématiques originales et encore peu étudiées. Nous avons utilisé des méthodes statistiques adaptées aux problématiques de l'étude, comme la méthode de régression à rang réduit pour créer les profils alimentaires. Nous avons créé une table de composition alimentaire qui a permis d'estimer notamment les apports nutritionnels en choline et en bêtaïne, non documentés auparavant dans les études françaises. J'ai également eu l'opportunité de partir effectuer un séjour dans une équipe de recherche spécialisée en épigénétique afin d'analyser les données de méthylome placentaire. Cependant, certaines limites associées à ces travaux sont discutées dans les paragraphes suivants.

Puissance statistique dans l'étude EDEN

Nos résultats n'ont pas montré d'association majeure entre l'alimentation riche en micronutriments et la croissance fœtale ni la méthylation de l'ADN placentaire. Ce manque de significativité pourrait s'expliquer par un manque de puissance, notamment concernant l'étude de l'association entre les profils alimentaires et la méthylation de l'ADN placentaire, à partir d'une approche EWAS pour laquelle une méthode conservatrice de correction pour les tests multiples a été appliquée. Des études de réplification dans des populations plus larges seraient donc nécessaires pour confirmer les tendances observées ou mettre en évidence d'autres sites CpG intéressants. Cependant, la force des associations observées dans nos analyses avec la croissance fœtale et l'épigénétique était relativement faible. Une réplification des résultats pourrait augmenter la significativité des tests, sans pour autant rendre les résultats cliniquement plus pertinents que ce qui est observé dans notre étude.

Représentativité et sélection de la population

Les mères participantes dans la cohorte EDEN n'étaient pas représentatives de la population française, ne permettant pas de généraliser les résultats à l'ensemble des grossesses françaises. Comparé aux femmes enceintes de l'enquête nationale périnatale de 2003, celles de l'étude EDEN étaient en moyenne plus âgées, avaient un niveau d'éducation plus élevé et étaient plus susceptibles d'avoir un emploi (Heude et al., 2016). Cette sous-représentation des femmes en situation sociale défavorisée dans notre étude et probablement de femmes présentant des déficiences nutritionnelles importantes pourrait contribuer à la faiblesse des associations retrouvées avec la croissance fœtale et la méthylation de l'ADN placentaire. Dans les études épidémiologiques, la participation des sujets est basée sur le volontariat et il existe fréquemment des effets de sélection qui peuvent intervenir au cours des différentes étapes de recueil des données. Ce biais de sélection peut limiter la variabilité des facteurs d'intérêt comme l'alimentation et entraîner de plus faibles associations qu'en population générale. D'autres biais de sélection, comme la non-réponse partielle, peuvent engendrer des données manquantes et limiter la puissance statistique. Nous avons cependant utilisé une technique d'imputation multiple pour limiter les biais de sélections liés aux réponses partielles ou manquantes dans les questionnaires.

Un dernier point que je souhaiterais souligner est que la population sélectionnée dans les analyses sur les variations de poids avant grossesse et le poids de naissance dans l'étude Elfe était restreinte à l'inclusion des naissances vivantes et après > 33 SA. Cela implique que nos résultats ont été estimés sur des grossesses sans complications majeures, et certains effets pourraient être sous-estimés, si ceux-ci pouvaient influencer d'autres risques comme la grande prématurité, l'infertilité ou le risque de fausse-couche.

Biais liés à la mesure des expositions et confusion résiduelle

Une limite inhérente à l'épidémiologie nutritionnelle réside dans le manque de précision pour mesurer l'alimentation dans toute sa complexité. Comme c'est le cas dans la majorité des études similaires, les informations relatives à la consommation alimentaire ou les variations de poids dans la cohorte EDEN et Elfe ont été recueillies de façon déclarative et rétrospective dans les questionnaires alimentaires, ce qui peut être source de biais de déclaration. Cependant, ces outils ont permis d'obtenir des données essentielles sur les habitudes de consommation alimentaire en période préconceptionnelle. Une table de composition alimentaire a été créée à partir de différentes sources de données françaises et américaines pour estimer les apports des principaux micronutriments impliqués dans la méthylation de l'ADN. Bien que celle-ci ne rende pas compte avec exactitude de l'apport quotidien de ces nutriments, elle a permis d'ordonner notre échantillon d'étude selon la variabilité des apports pour en tester l'effet potentiel sur le fœtus et le placenta. Ce type d'analyse, bien qu'imprécise, reste un des moyens les plus simples d'évaluer les effets de l'alimentation dans toute sa complexité sur la santé. La reproduction dans différentes populations est essentielle et comme il l'est de rappeler que l'absence d'effet significatif ne signifie pas absence d'effet. Dans l'étude Elfe, les variations pondérales ont été déclarées par des réponses à choix multiples sur une variation catégorisée de ± 5 kg. Si une telle catégorisation peut constituer une perte d'information, elle permet également de limiter le biais de mémoire et le nombre de données manquantes. Une autre limite de ces analyses était l'absence d'information sur le poids maternel, et donc son IMC, un an avant la grossesse. Cette information nous aurait permis de retracer beaucoup plus précisément l'histoire pondérale des mères avant la grossesse.

Enfin, on peut souligner que la croissance fœtale est un phénotype très multifactoriel qui dépend de nombreux facteurs de nature différente tel que génétiques, environnementaux, maternels, placentaires et foetaux qui n'ont pas pu être tous pris en compte dans les analyses.

Bien que nous ayons pris en compte plusieurs facteurs de confusion dans nos analyses, il réside une possibilité de confusion résiduelle liée aux facteurs non pris en compte (culturels, l'activité physique, le recours aux soins), ou liée à un manque de précision sur la supplémentation vitaminique, la durée de régime restrictif, ou l'utilisation de variable approximative pour le revenu par exemple.

III. Implications en santé publique

1. Nutrition et recommandations

Ces travaux de thèse et d'autres dans la littérature incitent à s'intéresser à l'état nutritionnel des femmes en période préconceptionnelle pour la prise en charge d'une grossesse ou la préparation à une grossesse planifiée. Dans un contexte actuel sociétal où la norme de poids et la pression sociale augmentent fortement, de nombreuses femmes peuvent notamment avoir recours à des régimes amaigrissants entraînant des variations de poids extrêmes avec le changement de l'idéal de beauté (Germov et al., 1996; Pol, 2009). Il est essentiel d'avoir une prise en charge adaptée face à l'évolution des modes de consommation, afin de maintenir les conditions optimales pour la croissance fœtale et le développement de l'enfant et de prévenir le risque de maladies chroniques à long terme comme l'obésité infantile. L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation et de l'environnement et du travail (ANSES) a publié en 2019 de nouvelles recommandations en ce qui concerne les repères alimentaires et nutritionnels des femmes enceintes. Dans son rapport l'ANSES recommande : « aux femmes en âge de procréer de veiller à leur équilibre alimentaire sans attendre d'être enceintes afin d'assurer dès la conception un statut nutritionnel satisfaisant et compatible avec les besoins du fœtus et de la mère ». Un autre article a publié récemment des recommandations suite à la collaboration de plusieurs institutions internationales dans le cadre d'un projet s'intéressant aux effets de l'alimentation et du mode de vie précoces sur la programmation métabolique ("EarlyNutrition Research

Project”) (Koletzko et al., 2019). Cette publication souligne le rôle des différents professionnels de santé : gynécologues-obstétriciens, médecins généralistes, diététiciens, mais aussi sages-femmes qui jouent un rôle notable dans le dépistage et la prévention. Il est nécessaire que les professionnels accordent une attention particulière au poids corporel de la mère et à l’IMC des femmes en âge de procréer, et le cas échéant, fournir des conseils pour améliorer le mode de vie, l’alimentation et l’activité physique (Koletzko et al., 2019). Les sociétés savantes ont aussi un rôle majeur dans la rédaction de recommandations pour la pratique clinique et l’action conjointe des différents professionnels de santé est nécessaire afin de transmettre ces messages de santé publique aux patientes. Ainsi, en parallèle de ma thèse, j’ai collaboré à un groupe de travail au Collège National des Sages-femmes sur la rédaction de recommandations pour les professionnels de santé concernant les apports alimentaires, la supplémentation et les variations pondérales en période préconceptionnelle et gestationnelle (articles en préparation).

L’objectif serait d’aborder lors d’une consultation préconceptionnelle ou dès le début de la grossesse l’intérêt d’une amélioration du statut pondéral et d’une alimentation variée et équilibrée afin de s’assurer d’un apport adéquat en micronutriments et notamment en folates. Cependant, si le lien entre nutrition maternelle et développement de l’enfant est documenté, la difficulté persiste dans la communication de ces messages de santé publique. Il est encore difficile de les mettre en œuvre, et de cibler les populations les plus vulnérables et peu suivies. En France, le gouvernement a mis en place au cours de ces dernières années une politique nutritionnelle de santé publique, en lançant le Programme National Nutrition Santé (PNNS). Ce programme, élaboré en 2001 et évoluant tous les 5 ans, définit les objectifs de la politique nutritionnelle et prévoit diverses actions pour favoriser l’éducation, l’information, l’orientation de la population ainsi que le dépistage. Ces objectifs ont permis de définir un cadre national de référence pour la population et les professionnels de santé. Cependant, d’après le rapport du Haut Conseil de la Santé Publique pour le plan PNNS 2017-2021 (HCSP, 2017), malgré la mise

en place des programmes PNNS, les inégalités sociales de santé en nutrition se sont creusées lors des trois plans PNNS précédents. Plusieurs études épidémiologiques ont retrouvé un lien entre alimentation et catégorie socioéconomique. D'après les résultats publiés dans l'étude Elfe, le score PNNS (qui évalue l'adéquation des consommations alimentaires des femmes enceintes aux recommandations du PNNS) était associé positivement à l'âge, au niveau d'éducation et au revenu des femmes (Kadawathagedara et al., 2017). Dans mon travail de thèse sur la cohorte EDEN, nous avons retrouvé que les femmes avec un niveau d'éducation et revenu plus élevés avaient une adhérence plus forte à la consommation d'un profil « varié et équilibré » et à « tendance végétarien ». L'industrialisation de l'alimentation a favorisé aujourd'hui une société de consommation d'aliments riches en gras, sel et sucres. L'évolution de la qualité de l'alimentation ou la malnutrition représente également une situation à risque de carence en nutriments essentiels au développement de l'enfant, et de plus en plus retrouvée chez les femmes socialement défavorisées. La compréhension et l'appropriation des messages de santé publique et la possibilité matérielle de les mettre en œuvre est très socialement différenciée. Les choix individuels se porteront difficilement vers des aliments de bonne qualité nutritionnelle, si l'environnement n'y est pas favorable. L'objectif serait d'améliorer les déterminants individuels de consommation, mais aussi d'intervenir sur les déterminants contextuels comprenant la qualité nutritionnelle de l'offre alimentaire (composition des produits...), le prix des aliments et l'information du consommateur. Il est nécessaire de continuer à réfléchir sur la transmission de ces messages de santé publique et de les adapter au contexte social des patientes afin de réduire les inégalités sociales de santé.

2. Épigenétique et programmation de la santé

L'étude de l'épigénétique a pour objectif d'élucider la relation entre les gènes et leurs contextes, et de mieux comprendre comment des facteurs environnementaux multiples pourraient

contribuer au développement de l'individu au cours d'étapes clés. La période préconceptionnelle est une période déterminante pour la mise en place des marques épigénétiques. Les évidences épigénétiques ont de surcroît permis de montrer les conséquences des expositions environnementales non seulement sur la santé des individus, et peut-être même sur d'autres générations (Chiapperino, 2017). Nous avons des hypothèses solides pour étudier le rôle de l'apport en micronutriments vis-à-vis de la méthylation de l'ADN. Nos travaux n'ont pas montré d'effet mais invitent à continuer la recherche sur le lien entre la nutrition maternelle et l'épigénétique dans le cadre du paradigme de la DOHaD. L'identification des changements épigénétiques des individus liés à diverses expositions, pourrait dès lors permettre le développement de nouvelles perspectives de recherche en médecine préventive et personnalisée, par l'étude des modifications pathogènes liées à des variabilités du mode de vie, ou du régime alimentaire par exemple (Chiapperino, 2017; Rasool et al., 2015).

Il y a donc un enjeu aujourd'hui de comprendre comment certains facteurs (notamment nutritionnels) agissent sur les mécanismes épigénétiques, afin de réussir à développer des stratégies de prévention adaptées. Mais les mécanismes épigénétiques sont complexes. Il n'est pas encore clair aujourd'hui si les variations épigénétiques doivent être considérées comme des marqueur d'une exposition ou d'un risque de maladie, ou plutôt comme la 'conséquence' d'un événement associé à d'autres perturbations environnementales. Ces nouvelles découvertes risquent d'amener de nouvelles questions éthiques autour de la prise en charge et la notion de responsabilité en santé (Rial-Sebbag et al., 2016). Les résultats issus de ces recherches orienteront probablement la manière dont les individus perçoivent leur santé, mais aussi leur capacité à essayer de modifier l'héritabilité des marques épigénétiques, pour eux et leur descendance (Rial-Sebbag et al., 2016).

IV. Perspectives de recherche

La réplication des études sur l'association entre l'apport en micronutriments avec des méthodologies variées et le développement de l'enfant, notamment à plus large échelle pourraient apporter des résultats supplémentaires ou confirmer les relations observées. Il serait aussi intéressant de savoir si l'apport en micronutriments pendant la grossesse pourrait influencer la croissance fœtale. Des dosages biologiques des micronutriments seront réalisés prochainement dans le plasma maternel dans l'étude EDEN et pourraient apporter une précision sur le statut nutritionnel maternel en micronutriments et étudier ses relations avec la croissance fœtale. La réplication des analyses entre les apports en micronutriments et la méthylation de l'ADN dans le sang de cordon, dont les données sont disponibles dans EDEN, pourraient également apporter des résultats complémentaires. Enfin, nous avons ciblé nos analyses sur certains indicateurs de la croissance fœtale, mais il serait intéressant d'étudier d'autres aspects comme le développement neurologique ou psychomoteur de l'enfant.

Une autre perspective serait de mieux comprendre les relations entre les différents facteurs liés à l'alimentation et au mode de vie de la mère sur le développement de l'enfant. J'ai soumis un projet à ce sujet pour un post-doctorat à l'étranger. L'objectif serait de travailler à partir des données de la cohorte SWS (Southampton Women's Survey), qui a recruté plus de 12000 femmes en période préconceptionnelle, et dont les femmes enceintes ont été invitées par la suite à participer à la phase de l'enquête pendant la grossesse. Le projet serait d'étudier comment les variations pondérales de la mère avant la grossesse, le suivi d'un régime restrictif, ainsi que l'activité physique selon si elle est maintenue ou non pendant la grossesse pourraient influencer la croissance fœtale. Enfin, il serait intéressant de réaliser une comparaison des résultats entre les cohortes Elfe et SWS afin d'étudier les biais de confusion et de sélection

potentiels (données recueillies prospectivement dans l'étude SWS vs rétrospectivement dans Elfe).

De récentes études ont également constaté qu'un IMC paternel plus important à la conception était associé à une altération de la croissance fœtale et une augmentation de l'IMC chez l'enfant (Campbell et al., 2019). Un surpoids ou une obésité chez le père à la conception était associé à une augmentation du poids de naissance comparé aux pères avec un IMC < 25 kg/m². De plus, l'IMC paternel indépendamment de l'IMC maternel était associé à la méthylation de l'ADN dans le sang de cordon et dans les échantillons sanguins chez l'enfant à 3 et 7 ans (Noor et al., 2019). Des données sont disponibles sur les mesures anthropométriques et sur la consommation alimentaire chez le père dans les cohortes EDEN et Elfe. Elles pourraient permettre une analyse plus fine des associations avec l'IMC et le métabolisme des enfants.

Enfin, il a été montré dans la littérature que des interventions menées en période préconceptionnelle visant à améliorer l'alimentation et à augmenter l'activité physique chez des femmes obèses et présentant une infertilité s'avèrent efficaces (van Elten et al., 2018). De même, une perte de poids avant la conception serait associée à une augmentation des taux d'ovulation chez des femmes présentant une infertilité (liée au syndrome des ovaires polykystiques) (Legro et al., 2015). D'autres études interventionnelles chez les femmes en âge de procréer, ciblées sur le suivi du régime alimentaire associé ou non à l'activité physique seraient nécessaires pendant période préconceptionnelle, évaluant le risque de complications pendant la grossesse ainsi que le risque d'obésité ou de troubles métaboliques plus tard dans la descendance (Hanson et al., 2017).

CONCLUSION

D'après le concept du DOHaD, l'état nutritionnel joue un rôle dès la période préconceptionnelle sur le développement de l'enfant et de récentes études s'intéressent à son implication dans les mécanismes épigénétiques. Ce travail original de thèse a permis de décrire le rôle de facteurs nutritionnels majeurs en période préconceptionnelle, comme l'apport en nutriments et le statut pondéral. Dans la première partie ciblée sur les profils alimentaires caractérisant l'apport en micronutriments impliqués dans les voies de méthylation de l'ADN, nos résultats n'ont pas montré d'association majeure avec la croissance fœtale ni avec la méthylation de l'ADN placentaire. D'autres recherches sont nécessaires pour mieux comprendre l'importance d'un apport adéquat en ces nutriments, dans un contexte sociétal marqué par une évolution rapide des comportements alimentaires. Nous avons observé qu'une perte de poids en période préconceptionnelle chez les femmes en surpoids ou obèses était associée à une diminution du poids de naissance, mais que cet effet espéré était masqué par une prise de poids gestationnelle trop importante. Ces travaux soulignent la nécessité d'une vigilance accrue concernant la prise de poids au cours de la grossesse. La période préconceptionnelle représente ainsi une fenêtre importante pour étudier l'impact des expositions nutritionnelles précoces ; mais aussi d'opportunité pour la délivrance des messages de prévention ciblant le surpoids des femmes en âge de procréer ainsi que pour la promotion d'une alimentation variée et équilibrée.

BIBLIOGRAPHIE

- Abildgaard AB, Stein A, Nielsen SV, Schultz-Knudsen K, Papaleo E, et al. 2019. Computational and cellular studies reveal structural destabilization and degradation of MLH1 variants in Lynch syndrome. *eLife*. 8:e49138
- Abraham E, Rousseaux S, Agier L, Giorgis-Allemand L, Tost J, et al. 2018. Pregnancy exposure to atmospheric pollution and meteorological conditions and placental DNA methylation. *Environ. Int.* 118:334–47
- Agha M, Agha RA, Sandall J, Sandell J. 2014. Interventions to reduce and prevent obesity in pre-conceptual and pregnant women: a systematic review and meta-analysis. *PloS One*. 9(5):e95132
- Aguilera O, Fernández AF, Muñoz A, Fraga MF. 2010. Epigenetics and environment: a complex relationship. *J. Appl. Physiol.* 109(1):243–51
- Aïssi D. 2015. *Épidémiologie épi-génétique de biomarqueurs du risque cardiovasculaire : intérêt de l'étude de la méthylation de l'ADN à partir d'échantillons sanguins*. phdthesis thesis. Université Paris-Saclay
- Anderson OS, Sant KE, Dolinoy DC. 2012. Nutrition and epigenetics: an interplay of dietary methyl donors, one-carbon metabolism and DNA methylation. *J. Nutr. Biochem.* 23(8):853–59
- ANSES. 2020. *AVIS révisé de l'Anses relatif à l'actualisation des repères alimentaires du PNNS - Femmes enceintes et allaitantes | Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail*. <https://www.anses.fr/fr/content/avis-r%C3%A9vis%C3%A9-de-lanses-relatif-%C3%A0-lactualisation-des-rep%C3%A8res-alimentaires-du-pnns-femmes>
- Assali AR, Ganor A, Beigel Y, Shafer Z, Hershcovici T, Fainaru M. 2001. Insulin resistance in obesity: body-weight or energy balance? *J. Endocrinol.* 171(2):293–98
- Ba Y, Yu H, Liu F, Geng X, Zhu C, et al. 2011. Relationship of folate, vitamin B12 and methylation of insulin-like growth factor-II in maternal and cord blood. *Eur. J. Clin. Nutr.* 65(4):480–85
- Badart-Smook A, van Houwelingen AC, Al MD, Kester AD, Hornstra G. 1997. Fetal growth is associated positively with maternal intake of riboflavin and negatively with maternal intake of linoleic acid. *J. Am. Diet. Assoc.* 97(8):867–70
- Barker DJ, Osmond C. 1986. Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. *Lancet Lond. Engl.* 1(8489):1077–81
- Barker DJ, Osmond C, Golding J, Kuh D, Wadsworth ME. 1989. Growth in utero, blood pressure in childhood and adult life, and mortality from cardiovascular disease. *BMJ.* 298(6673):564–67
- Barker DJP. 1998. *Mothers, Babies and Health in Later Life*. Edinburgh: Churchill Livingstone
- Barker M, Dombrowski SU, Colbourn T, Fall CHD, Kriznik NM, et al. 2018. Intervention strategies to improve nutrition and health behaviours before conception. *Lancet Lond. Engl.* 391(10132):1853–64
- Belkacemi L, Nelson DM, Desai M, Ross MG. 2010. Maternal Undernutrition Influences Placental-Fetal Development1. *Biol. Reprod.* 83(3):325–31
- Bergen NE, Jaddoe VWV, Timmermans S, Hofman A, Lindemans J, et al. 2012. Homocysteine and folate concentrations in early pregnancy and the risk of adverse pregnancy outcomes: the Generation R Study. *BJOG Int. J. Obstet. Gynaecol.* 119(6):739–51
- Bertin M, Touvier M, Dubuisson C, Dufour A, Havard S, et al. 2016. Dietary patterns of French adults: associations with demographic, socio-economic and behavioural factors. *J. Hum. Nutr. Diet. Off. J. Br. Diet. Assoc.* 29(2):241–54

- Black MM, Walker SP, Fernald LCH, Andersen CT, DiGirolamo AM, et al. 2017. Early childhood development coming of age: science through the life course. *Lancet Lond. Engl.* 389(10064):77–90
- Black R. 2003. Micronutrient deficiency--an underlying cause of morbidity and mortality. *Bull. World Health Organ.* 81(2):79
- Blondel B, Coulm B, Bonnet C, Goffinet F, Le Ray C. 2017. Trends in perinatal health in metropolitan France from 1995 to 2016: Results from the French National Perinatal Surveys. *J. Gynecol. Obstet. Hum. Reprod.* 46(10):701–13
- Boeke CE, Baccarelli A, Kleinman KP, Burris HH, Litonjua AA, et al. 2012. Gestational intake of methyl donors and global LINE-1 DNA methylation in maternal and cord blood: prospective results from a folate-replete population. *Epigenetics.* 7(3):253–60
- Buchert R, Tawamie H, Smith C, Uebe S, Innes AM, et al. 2014. A peroxisomal disorder of severe intellectual disability, epilepsy, and cataracts due to fatty acyl-CoA reductase 1 deficiency. *Am. J. Hum. Genet.* 95(5):602–10
- Caffrey A, Irwin RE, McNulty H, Strain JJ, Lees-Murdock DJ, et al. 2018. Gene-specific DNA methylation in newborns in response to folic acid supplementation during the second and third trimesters of pregnancy: epigenetic analysis from a randomized controlled trial. *Am. J. Clin. Nutr.* 107(4):566–75
- Campbell JM, McPherson NO. 2019. Influence of increased paternal BMI on pregnancy and child health outcomes independent of maternal effects: A systematic review and meta-analysis. *Obes. Res. Clin. Pract.* 13(6):511–21
- Chang S-J. 1999. Adequacy of Maternal Pyridoxine Supplementation during Pregnancy in Relation to the Vitamin B₆ Status and Growth of Neonates at Birth. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo).* 45(4):449–58
- Chango A, Pogribny IP. 2015. Considering maternal dietary modulators for epigenetic regulation and programming of the fetal epigenome. *Nutrients.* 7(4):2748–70
- Charles M-A, Delpierre C, Bréant B. 2016. Le concept des origines développementales de la santé: Évolution sur trois décennies. *médecine/sciences.* 32(1):15–20
- Charles MA, Junien C. 2012. Les origines développementales de la santé (DOHAD) et l'épigénétique. *18, IRESP*
- Charles MA, Thierry X, Lanoe J-L, Bois C, Dufourg M-N, et al. 2020. Cohort Profile: The French national cohort of children (ELFE): birth to 5 years. *Int. J. Epidemiol.* 49(2):368-369j
- Charlesworth G, Balint B, Mencacci NE, Carr L, Wood NW, Bhatia KP. 2016. SLC25A46 mutations underlie progressive myoclonic ataxia with optic atrophy and neuropathy. *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.* 31(8):1249–51
- Chavatte-Palmer P, Vialard F, Tarrade A, Dupont C, Duranthon V, Lévy R. 2016. DOHAD et programmation pré- et péri-conceptionnelle. *médecine/sciences.* 32(1):57–65
- Chiapperino L. 2017. L'épigénétique et le concept DOHAD. Vers de nouvelles temporalités de la médecine « personnalisée » ? *Rev. MÉDICALE SUISSE.* 13:334–36
- CIQUAL. 2016. *Ciqual Table de composition nutritionnelle des aliments.* <https://ciqual.anses.fr/>
- Colombel M, Ricci E, Picard A, Bourrelly E. 2010. Hyperméthylation et cancer de la prostate. *Prog. En Urol.* 20(6):408–15

- Dabelea D, Mayer-Davis EJ, Lamichhane AP, D'Agostino RB, Liese AD, et al. 2008. Association of intrauterine exposure to maternal diabetes and obesity with type 2 diabetes in youth: the SEARCH Case-Control Study. *Diabetes Care*. 31(7):1422–26
- Dalfrà MG, Busetto L, Chilelli NC, Lapolla A. 2012. Pregnancy and foetal outcome after bariatric surgery: a review of recent studies. *J. Matern. Fetal Neonatal Med*. 25(9):1537–43
- Day CR, Kempson SA. 2016. Betaine chemistry, roles, and potential use in liver disease. *Biochim. Biophys. Acta*. 1860(6):1098–1106
- de Gavelle E, Huneau J-F, Bianchi CM, Verger EO, Mariotti F. 2017. Protein Adequacy Is Primarily a Matter of Protein Quantity, Not Quality: Modeling an Increase in Plant:Animal Protein Ratio in French Adults. *Nutrients*. 9(12):1333
- de Lauzon B, Romon M, Deschamps V, Lafay L, Borys J-M, et al. 2004. The Three-Factor Eating Questionnaire-R18 is able to distinguish among different eating patterns in a general population. *J. Nutr*. 134(9):2372–80
- Dean S, Rudan I, Althabe F, Webb Girard A, Howson C, et al. 2013. Setting Research Priorities for Preconception Care in Low- and Middle-Income Countries: Aiming to Reduce Maternal and Child Mortality and Morbidity. *PLoS Med*. 10(9):
- Dean SV, Lassi ZS, Imam AM, Bhutta ZA. 2014. Preconception care: closing the gap in the continuum of care to accelerate improvements in maternal, newborn and child health. *Reprod. Health*. 11(Suppl 3):S1
- Dedeurwaerder S, Defrance M, Bizet M, Calonne E, Bontempi G, Fuks F. 2014. A comprehensive overview of Infinium HumanMethylation450 data processing. *Brief. Bioinform*. 15(6):929–41
- Deierlein AL, Siega-Riz AM, Adair LS, Herring AH. 2011. Effects of pre-pregnancy body mass index and gestational weight gain on infant anthropometric outcomes. *J. Pediatr*. 158(2):221–26
- Delpierre C, Lepeule J, Cordier S, Slama R, Heude B, Charles M-A. 2016. DOHaD - Les apports récents de l'épidémiologie. *médecine/sciences*. 32(1):21–26
- De-Regil LM, Peña-Rosas JP, Fernández-Gaxiola AC, Rayco-Solon P. 2015. Effects and safety of periconceptional oral folate supplementation for preventing birth defects. *Cochrane Database Syst. Rev.* (12):CD007950
- Desai M, Crowther NJ, Lucas A, Hales CN. 1996. Organ-selective growth in the offspring of protein-restricted mothers. *Br. J. Nutr*. 76(4):591–603
- Deschamps V, de Lauzon-Guillain B, Lafay L, Borys J-M, Charles MA, Romon M. 2009. Reproducibility and relative validity of a food-frequency questionnaire among French adults and adolescents. *Eur. J. Clin. Nutr*. 63(2):282–91
- Di Cianni G, Miccoli R, Volpe L, Lencioni C, Ghio A, et al. 2005. Maternal triglyceride levels and newborn weight in pregnant women with normal glucose tolerance. *Diabet. Med. J. Br. Diabet. Assoc*. 22(1):21–25
- Diouf I, Charles MA, Thiebaugeorges O, Forhan A, Kaminski M, et al. 2011. Maternal weight change before pregnancy in relation to birthweight and risks of adverse pregnancy outcomes. *Eur. J. Epidemiol*. 26(10):789–96
- Dodd JM, Turnbull D, McPhee AJ, Deussen AR, Grivell RM, et al. 2014. Antenatal lifestyle advice for women who are overweight or obese: LIMIT randomised trial. *BMJ*. 348:g1285
- Dominguez-Salas P, Cox SE, Prentice AM, Hennig BJ, Moore SE. 2012. Maternal nutritional status, C(1) metabolism and offspring DNA methylation: a review of current evidence in human subjects. *Proc. Nutr. Soc*. 71(1):154–65

- Dominguez-Salas P, Moore SE, Baker MS, Bergen AW, Cox SE, et al. 2014. Maternal nutrition at conception modulates DNA methylation of human metastable epialleles. *Nat. Commun.* 5:3746
- Dong Y, Peng C-YJ. 2013. Principled missing data methods for researchers. *SpringerPlus.* 2(222):
- Du Y-F, Wei Y, Yang J, Cheng Z-Y, Zuo X-F, et al. 2019. Maternal betaine status, but not that of choline or methionine, is inversely associated with infant birth weight. *Br. J. Nutr.* 121(11):1279–86
- Dubuisson C, Lioret S, Touvier M, Dufour A, Calamassi-Tran G, et al. 2010. Trends in food and nutritional intakes of French adults from 1999 to 2007: results from the INCA surveys. *Br. J. Nutr.* 103(7):1035–48
- Duchesne A, Vaiman A, Castille J, Beauvallet C, Gaignard P, et al. 2017. Bovine and murine models highlight novel roles for SLC25A46 in mitochondrial dynamics and metabolism, with implications for human and animal health. *PLoS Genet.* 13(4):
- Fekete K, Berti C, Cetin I, Hermoso M, Koletzko BV, Decsi T. 2010. Perinatal folate supply: relevance in health outcome parameters. *Matern. Child. Nutr.* 6 Suppl 2:23–38
- Fekete K, Berti C, Trovato M, Lohner S, Dullemeijer C, et al. 2012. Effect of folate intake on health outcomes in pregnancy: a systematic review and meta-analysis on birth weight, placental weight and length of gestation. *Nutr. J.* 11:75
- Fleming TP, Watkins AJ, Velazquez MA, Mathers JC, Prentice AM, et al. 2018. Origins of lifetime health around the time of conception: causes and consequences. *Lancet Lond. Engl.* 391(10132):1842–52
- Fryer AA, Nafee TM, Ismail KMK, Carroll WD, Emes RD, Farrell WE. 2009. LINE-1 DNA methylation is inversely correlated with cord plasma homocysteine in man: A preliminary study. *Epigenetics.* 4(6):394–98
- Fujiwara K, Aoki S, Kurasawa K, Okuda M, Takahashi T, Hirahara F. 2014. Associations of maternal pre-pregnancy underweight with small-for-gestational-age and spontaneous preterm birth, and optimal gestational weight gain in Japanese women. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* 40(4):988–94
- Furness D, Fenech M, Dekker G, Khong TY, Roberts C, Hague W. 2013. Folate, vitamin B12, vitamin B6 and homocysteine: impact on pregnancy outcome. *Matern. Child. Nutr.* 9(2):155–66
- Germov J, Williams L. 1996. The Epidemic of Dieting Women: The Need for a Sociological Approach to Food and Nutrition. *Appetite.* 27(2):97–108
- Gernand AD, Schulze KJ, Stewart CP, West KP, Christian P. 2016. Micronutrient deficiencies in pregnancy worldwide: health effects and prevention. *Nat. Rev. Endocrinol.* 12(5):274–89
- Getahun D, Ananth CV, Peltier MR, Salihu HM, Scorza WE. 2007. Changes in prepregnancy body mass index between the first and second pregnancies and risk of large-for-gestational-age birth. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 196(6):530.e1-8
- Gibney ER, Nolan CM. 2010. Epigenetics and gene expression. *Heredity.* 105(1):4–13
- Gleason PM, Boushey CJ, Harris JE, Zoellner J. 2015. Publishing nutrition research: a review of multivariate techniques--part 3: data reduction methods. *J. Acad. Nutr. Diet.* 115(7):1072–82
- Gluckman PD, Hanson MA, Cooper C, Thornburg KL. 2008. Effect of In Utero and Early-Life Conditions on Adult Health and Disease. *N. Engl. J. Med.* 359(1):61–73
- Grigoriu A, Ferreira JC, Choufani S, Baczyk D, Kingdom J, Weksberg R. 2011. Cell specific patterns of methylation in the human placenta. *Epigenetics.* 6(3):368–79

- Haider BA, Bhutta ZA. 2017. Multiple-micronutrient supplementation for women during pregnancy. *Cochrane Database Syst. Rev.* 4:CD004905
- Hales CN, Barker DJ. 1992. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia.* 35(7):595–601
- Han Z, Mulla S, Beyene J, Liao G, McDonald SD, Knowledge Synthesis Group. 2011. Maternal underweight and the risk of preterm birth and low birth weight: a systematic review and meta-analyses. *Int. J. Epidemiol.* 40(1):65–101
- Hanson M, Barker M, Dodd JM, Kumanyika S, Norris S, et al. 2017. Interventions to prevent maternal obesity before conception, during pregnancy, and post partum. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 5(1):65–76
- HAPO Study Cooperative Research Group, Metzger BE, Lowe LP, Dyer AR, Trimble ER, et al. 2008. Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes. *N. Engl. J. Med.* 358(19):1991–2002
- HAS (2009). 2009. Projet de grossesse informations, messages de prévention, examens à proposer. *Haute Autorite de Sante (HAS)*
- HCSP. 2017. *Pour une Politique nutritionnelle de santé publique en France. PNNS 2017-2021.* <https://www.hcsp.fr/Explore.cgi/Groupe?clef=117>
- Hercberg S, Deheeger M, Preziosi P. 2002. *SU.VI.MAX Portions alimentaires: manuel-photos pour l'estimation des quantités.* Paris. Economica ed ed.
- Heude B, Forhan A, Slama R, Douhaud L, Bedel S, et al. 2016. Cohort Profile: The EDEN mother-child cohort on the prenatal and early postnatal determinants of child health and development. *Int. J. Epidemiol.* 45(2):353–63
- Heude B, Thiébauges O, Goua V, Forhan A, Kaminski M, et al. 2012. Pre-pregnancy body mass index and weight gain during pregnancy: relations with gestational diabetes and hypertension, and birth outcomes. *Matern. Child Health J.* 16(2):355–63
- Hezelgrave NL, Oteng-Ntim E. 2011. Pregnancy after bariatric surgery: a review. *J. Obes.* 2011:501939
- Hoffmann K, Schulze MB, Schienkiewitz A, Nöthlings U, Boeing H. 2004. Application of a new statistical method to derive dietary patterns in nutritional epidemiology. *Am. J. Epidemiol.* 159(10):935–44
- Hogeveen M, den Heijer M, Semmekrot BA, Sporcken JM, Ueland PM, Blom HJ. 2013. Umbilical choline and related methylamines betaine and dimethylglycine in relation to birth weight. *Pediatr. Res.* 73(6):783–87
- Hogg K, Price EM, Robinson WP. 2014. Improved reporting of DNA methylation data derived from studies of the human placenta. *Epigenetics.* 9(3):333–37
- Holm S. 1979. A Simple Sequentially Rejective Multiple Test Procedure. *Scand. J. Stat.* 6(2):65–70
- Hutcheon JA, Bodnar LM. 2018. Good Practices for Observational Studies of Maternal Weight and Weight Gain in Pregnancy. *Paediatr. Perinat. Epidemiol.* 32(2):152–60
- Ianzano L, Zhao XC, Minassian BA, Scherer SW. 2003. Identification of a novel protein interacting with laforin, the EPM2a progressive myoclonus epilepsy gene product. *Genomics.* 81(6):579–87
- Institute of Medicine (US) and National Research Council (US). 2009. *Weight Gain During Pregnancy: Reexamining the Guidelines.* Washington (DC): National Academies Press (US)
- International Standard Classification of Education (ISCED).* 2017. <http://uis.unesco.org/en/topic/international-standard-classification-education-isced>

- Irwin RE, Thursby S-J, Ondičová M, Pentieva K, McNulty H, et al. 2019. A randomized controlled trial of folic acid intervention in pregnancy highlights a putative methylation-regulated control element at ZFP57. *Clin. Epigenetics*. 11(1):31
- Ivorra C, García-Vicent C, Chaves FJ, Monleón D, Morales JM, Lurbe E. 2012. Metabolomic profiling in blood from umbilical cords of low birth weight newborns. *J. Transl. Med.* 10:142
- Jacota M. 2016. *Variations pondérales pré-conceptionnelles et gestationnelles : étude de leurs relations avec le diabète gestationnel et le développement de l'adiposité des enfants à 5-6 ans à partir des cohortes mère-enfant françaises EDEN et ELFE*. <http://www.theses.fr/2016SACLS329>
- Jain AP, Gavard JA, Rice JJ, Catanzaro RB, Artal R, Hopkins SA. 2013. The impact of interpregnancy weight change on birthweight in obese women. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 208(3):205.e1-7
- Jaleco AC, Neves H, Hooijberg E, Gameiro P, Clode N, et al. 2001. Differential Effects of Notch Ligands Delta-1 and Jagged-1 in Human Lymphoid Differentiation. *J. Exp. Med.* 194(7):991–1002
- Jansson T, Powell TL. 2013. Role of placental nutrient sensing in developmental programming. *Clin. Obstet. Gynecol.* 56(3):591–601
- Jensen MD, Ryan DH, Apovian CM, Ard JD, Comuzzie AG, et al. 2014. 2013 AHA/ACC/TOS guideline for the management of overweight and obesity in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and The Obesity Society. *J. Am. Coll. Cardiol.* 63(25 Pt B):2985–3023
- Jiang X, Yan J, West AA, Perry CA, Malysheva OV, et al. 2012. Maternal choline intake alters the epigenetic state of fetal cortisol-regulating genes in humans. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 26(8):3563–74
- Johnson L, Mander AP, Jones LR, Emmett PM, Jebb SA. 2008. Energy-dense, low-fiber, high-fat dietary pattern is associated with increased fatness in childhood. *Am. J. Clin. Nutr.* 87(4):846–54
- Junien C, Panchenko P, Pirola L, Amarger V, Kaeffer B, et al. 2016. Le nouveau paradigme de l'origine développementale de la santé et des maladies (DOHaD) - Épigénétique, environnement : preuves et chaînons manquants. *médecine/sciences*. 32(1):27–34
- Kadawathagedara M, Kersuzan C, Wagner S, Tichit C, Gojard S, et al. 2017. Adéquation des consommations alimentaires des femmes enceintes de l'étude ELFE aux recommandations du Programme national nutrition santé. *Cah. Nutr. Diététique*. 52(2):78–88
- Kapadia MZ, Park CK, Beyene J, Giglia L, Maxwell C, McDonald SD. 2015. Weight Loss Instead of Weight Gain within the Guidelines in Obese Women during Pregnancy: A Systematic Review and Meta-Analyses of Maternal and Infant Outcomes. *PloS One*. 10(7):e0132650
- Karachaliou M, Georgiou V, Roumeliotaki T, Chalkiadaki G, Daraki V, et al. 2015. Association of trimester-specific gestational weight gain with fetal growth, offspring obesity and cardio-metabolic traits in early childhood. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 212(4):502.e1-502.14
- Kierans WJ, Joseph K, Luo Z-C, Platt R, Wilkins R, Kramer MS. 2008. Does one size fit all? The case for ethnic-specific standards of fetal growth. *BMC Pregnancy Childbirth*. 8:1
- Knight-Agarwal CR, Williams LT, Davis D, Davey R, Cochrane T, et al. 2016. Association of BMI and interpregnancy BMI change with birth outcomes in an Australian obstetric population: a retrospective cohort study. *BMJ Open*. 6(5):e010667
- Koch F, Heuer T, Krems C, Claupein E. 2019. Meat consumers and non-meat consumers in Germany: a characterisation based on results of the German National Nutrition Survey II. *J. Nutr. Sci.* 8:e21

- Koletzko B, Godfrey KM, Poston L, Szajewska H, van Goudoever JB, et al. 2019. Nutrition During Pregnancy, Lactation and Early Childhood and its Implications for Maternal and Long-Term Child Health: The Early Nutrition Project Recommendations. *Ann. Nutr. Metab.* 74(2):93–106
- Kwong WY, Wild AE, Roberts P, Willis AC, Fleming TP. 2000. Maternal undernutrition during the preimplantation period of rat development causes blastocyst abnormalities and programming of postnatal hypertension. *Dev. Camb. Engl.* 127(19):4195–4202
- Lachat C, Hawwash D, Ocké MC, Berg C, Forsum E, et al. 2016. Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology—Nutritional Epidemiology (STROBE-nut): An Extension of the STROBE Statement. *PLOS Med.* 13(6):e1002036
- Lampuré A, Castetbon K, Hanafi M, Deglaire A, Schlich P, et al. 2017. Relative Influence of Socioeconomic, Psychological and Sensory Characteristics, Physical Activity and Diet on 5-Year Weight Gain in French Adults. *Nutrients.* 9(11):1179
- Le Grusse J, Watier B. 1993. *Les vitamines: données biochimiques, nutritionnelles et cliniques*. Neuilly-sur-Seine, France: Centre d' Etude et d'Information sur les Vitamines
- Leek JT, Storey JD. 2007. Capturing heterogeneity in gene expression studies by surrogate variable analysis. *PLoS Genet.* 3(9):1724–35
- Legro RS, Dodson WC, Kris-Etherton PM, Kunselman AR, Stetter CM, et al. 2015. Randomized Controlled Trial of Preconception Interventions in Infertile Women With Polycystic Ovary Syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 100(11):4048–58
- Lindblad B, Zaman S, Malik A, Martin H, Ekström AM, et al. 2005. Folate, vitamin B12, and homocysteine levels in South Asian women with growth-retarded fetuses. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 84(11):1055–61
- Lioret S, McNaughton SA, Crawford D, Spence AC, Hesketh K, Campbell KJ. 2012. Parents' dietary patterns are significantly correlated: findings from the Melbourne Infant Feeding Activity and Nutrition Trial Program. *Br. J. Nutr.* 108(3):518–26
- Liu Y, De A. 2015. Multiple Imputation by Fully Conditional Specification for Dealing with Missing Data in a Large Epidemiologic Study. *Int. J. Stat. Med. Res.* 4(3):287–95
- MacKinnon DP, Fairchild AJ, Fritz MS. 2007a. Mediation analysis. *Annu. Rev. Psychol.* 58:593–614
- MacKinnon DP, Fritz MS, Williams J, Lockwood CM. 2007b. Distribution of the product confidence limits for the indirect effect: Program PRODCLIN. *Behav. Res. Methods.* 39(3):384
- Mackinnon DP, Warsi G, Dwyer JH. 1995. A Simulation Study of Mediated Effect Measures. *Multivar. Behav. Res.* 30(1):41
- MacLean PS, Higgins JA, Giles ED, Sherk VD, Jackman MR. 2015. The role for adipose tissue in weight regain after weight loss. *Obes. Rev. Off. J. Int. Assoc. Study Obes.* 16 Suppl 1:45–54
- Mamelle N, Munoz F, Grandjean H. 1996. [Fetal growth from the AUDIPOG study. I. Establishment of reference curves]. *J. Gynécologie Obstétrique Biol. Reprod.* 25(1):61–70
- Margerison-Zilko CE, Shrimali BP, Eskenazi B, Lahiff M, Lindquist AR, Abrams BF. 2012. Trimester of maternal gestational weight gain and offspring body weight at birth and age five. *Matern. Child Health J.* 16(6):1215–23
- Matusiak K, Barrett HL, Callaway LK, Nitert MD. 2014. Periconception Weight Loss: Common Sense for Mothers, but What about for Babies? *J. Obes.* 2014:204295

- McCurdy CE, Bishop JM, Williams SM, Grayson BE, Smith MS, et al. 2009. Maternal high-fat diet triggers lipotoxicity in the fetal livers of nonhuman primates. *J. Clin. Invest.* 119(2):323–35
- McGee M, Bainbridge S, Fontaine-Bisson B. 2018. A crucial role for maternal dietary methyl donor intake in epigenetic programming and fetal growth outcomes. *Nutr. Rev.* 76(6):469–78
- McMillen IC, MacLaughlin SM, Muhlhausler BS, Gentili S, Duffield JL, Morrison JL. 2008. Developmental origins of adult health and disease: the role of periconceptional and foetal nutrition. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 102(2):82–89
- Meher A, Sundrani D, Joshi S. 2015. Maternal nutrition influences angiogenesis in the placenta through peroxisome proliferator activated receptors: A novel hypothesis. *Mol. Reprod. Dev.* 82(10):726–34
- Mei Z, Jefferds ME, Namaste S, Suchdev PS, Flores-Ayala RC. 2018. Monitoring and surveillance for multiple micronutrient supplements in pregnancy. *Matern. Child. Nutr.* 14 Suppl 5:e12501
- Michels KB, Schulze MB. 2005. Can dietary patterns help us detect diet-disease associations? *Nutr. Res. Rev.* 18(2):241–48
- Min JL, Hemani G, Davey Smith G, Relton C, Suderman M. 2018. Meffil: efficient normalization and analysis of very large DNA methylation datasets. *Bioinforma. Oxf. Engl.*
- Monnier P, Dandolo L. 2013. Rôle du locus H19 dans le placenta. *médecine/sciences.* 29(1):19–21
- Monsen A-LB, Schneede J, Ueland PM. 2006. Mid-trimester amniotic fluid methionine concentrations: a predictor of birth weight and length. *Metabolism.* 55(9):1186–91
- Moran L, Tsagareli V, Norman R, Noakes M. 2011. Diet and IVF pilot study: short-term weight loss improves pregnancy rates in overweight/obese women undertaking IVF. *Aust. N. Z. J. Obstet. Gynaecol.* 51(5):455–59
- Morgan JB, Dickerson JW. 2003. *Nutrition in Early Life* | Wiley. Wiley.com. <https://www.wiley.com/en-us/Nutrition+in+Early+Life+-p-9780471496243>
- Morse NL. 2012. Benefits of Docosahexaenoic Acid, Folic Acid, Vitamin D and Iodine on Foetal and Infant Brain Development and Function Following Maternal Supplementation during Pregnancy and Lactation. *Nutrients.* 4(7):799–840
- Muthayya S, Kurpad AV, Duggan CP, Bosch RJ, Dwarkanath P, et al. 2006. Low maternal vitamin B12 status is associated with intrauterine growth retardation in urban South Indians. *Eur. J. Clin. Nutr.* 60(6):791–801
- Noor N, Cardenas A, Rifas-Shiman SL, Pan H, Dreyfuss JM, et al. 2019. Association of Periconception Paternal Body Mass Index With Persistent Changes in DNA Methylation of Offspring in Childhood. *JAMA Netw. Open.* 2(12):e1916777–e1916777
- Ovesen P, Rasmussen S, Kesmodel U. 2011. Effect of prepregnancy maternal overweight and obesity on pregnancy outcome. *Obstet. Gynecol.* 118(2 Pt 1):305–12
- Ozanne SE, Hales CN. 1999. The long-term consequences of intra-uterine protein malnutrition for glucose metabolism. *Proc. Nutr. Soc.* 58(3):615–19
- Painter RC, Roseboom TJ, Bleker OP. 2005. Prenatal exposure to the Dutch famine and disease in later life: an overview. *Reprod. Toxicol. Elmsford N.* 20(3):345–52
- Parat S, Nègre V, Baptiste A, Valensi P, Bertrand A-M, et al. 2019. Prenatal education of overweight or obese pregnant women to prevent childhood overweight (the ETOIG study): an open-label, randomized controlled trial. *Int. J. Obes.* 43(2):362–73

- Pauwels S, Duca RC, Devlieger R, Freson K, Straetmans D, et al. 2016. Maternal Methyl-Group Donor Intake and Global DNA (Hydroxy)Methylation before and during Pregnancy. *Nutrients*. 8(8):474
- Pauwels S, Ghosh M, Duca RC, Bekaert B, Freson K, et al. 2017. Maternal intake of methyl-group donors affects DNA methylation of metabolic genes in infants. *Clin. Epigenetics*. 9:16
- Pol T de S. 2009. Surpoids, normes et jugements en matière de poids : comparaisons européennes
- Poston L, Bell R, Croker H, Flynn AC, Godfrey KM, et al. 2015. Effect of a behavioural intervention in obese pregnant women (the UPBEAT study): a multicentre, randomised controlled trial. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 3(10):767–77
- Pouchieu C, Lévy R, Faure C, Andreeva VA, Galan P, et al. 2013. Socioeconomic, lifestyle and dietary factors associated with dietary supplement use during pregnancy. *PLoS One*. 8(8):e70733
- Qu X, Zhang C, Zhai Y, Xing G, Wei H, et al. 2001. Characterization and tissue expression of a novel human gene npdc1. *Gene*. 264(1):37–44
- Rahmani E, Zaitlen N, Baran Y, Eng C, Hu D, et al. 2016. Sparse PCA corrects for cell type heterogeneity in epigenome-wide association studies. *Nat. Methods*. 13(5):443–45
- Rasmussen KM, Catalano PM, Yaktine AL. 2009. New guidelines for weight gain during pregnancy: what obstetrician/gynecologists should know. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol*. 21(6):521–26
- Rasool M, Malik A, Naseer MI, Manan A, Ansari SA, et al. 2015. The role of epigenetics in personalized medicine: challenges and opportunities. *BMC Med. Genomics*. 8(Suppl 1):S5
- Rattanatray L, MacLaughlin SM, Kleemann DO, Walker SK, Muhlhausler BS, McMillen IC. 2010. Impact of maternal periconceptional overnutrition on fat mass and expression of adipogenic and lipogenic genes in visceral and subcutaneous fat depots in the postnatal lamb. *Endocrinology*. 151(11):5195–5205
- Rial-Sebbag E, Lafaye CG, Simeoni U, Junien C. 2016. DOHaD et information épigénétique - Enjeux sociétaux. *médecine/sciences*. 32(1):100–105
- Richard K, Holland O, Landers K, Vanderlelie JJ, Hofstee P, et al. 2017. Review: Effects of maternal micronutrient supplementation on placental function. *Placenta*. 54:38–44
- Roberfroid D, Huybrechts L, Lanou H, Henry M-C, Meda N, et al. 2008. Effects of maternal multiple micronutrient supplementation on fetal growth: a double-blind randomized controlled trial in rural Burkina Faso. *Am. J. Clin. Nutr*. 88(5):1330–40
- Robertson KD. 2002. DNA methylation and chromatin - unraveling the tangled web. *Oncogene*. 21(35):5361–79
- Rogne T, Tielemans MJ, Chong MF-F, Yajnik CS, Krishnaveni GV, et al. 2017. Associations of Maternal Vitamin B12 Concentration in Pregnancy With the Risks of Preterm Birth and Low Birth Weight: A Systematic Review and Meta-Analysis of Individual Participant Data. *Am. J. Epidemiol*. 185(3):212–23
- Saeki N, Usui T, Aoyagi K, Kim DH, Sato M, et al. 2009. Distinctive expression and function of four GSDM family genes (GSDMA-D) in normal and malignant upper gastrointestinal epithelium. *Genes. Chromosomes Cancer*. 48(3):261–71
- Sanchez H, Hossain MB, Lera L, Hirsch S, Albala C, et al. 2017. High levels of circulating folate concentrations are associated with DNA methylation of tumor suppressor and repair genes p16, MLH1, and MGMT in elderly Chileans. *Clin. Epigenetics*. 9:74

- Schläwicke Engström K, Nermell B, Concha G, Strömberg U, Vahter M, Broberg K. 2009. Arsenic metabolism is influenced by polymorphisms in genes involved in one-carbon metabolism and reduction reactions. *Mutat. Res. Mol. Mech. Mutagen.* 667(1):4–14
- Schroeder DI, Schmidt RJ, Crary-Dooley FK, Walker CK, Ozonoff S, et al. 2016. Placental methylome analysis from a prospective autism study. *Mol. Autism.* 7:51
- Schulz LC. 2010. The Dutch Hunger Winter and the developmental origins of health and disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107(39):16757–58
- Sebastiani G, Herranz Barbero A, Borrás-Novell C, Alsina Casanova M, Aldecoa-Bilbao V, et al. 2019. The Effects of Vegetarian and Vegan Diet during Pregnancy on the Health of Mothers and Offspring. *Nutrients.* 11(3):
- Sebire NJ, Jolly M, Harris J, Regan L, Robinson S. 2001. Is maternal underweight really a risk factor for adverse pregnancy outcome? A population-based study in London. *BJOG Int. J. Obstet. Gynaecol.* 108(1):61–66
- Sharp GC, Lawlor DA, Richmond RC, Fraser A, Simpkin A, et al. 2015. Maternal pre-pregnancy BMI and gestational weight gain, offspring DNA methylation and later offspring adiposity: findings from the Avon Longitudinal Study of Parents and Children. *Int. J. Epidemiol.* 44(4):1288–1304
- Shimanuki Y, Mitomi H, Fukumura Y, Makino S, Itakura A, et al. 2015. Alteration of Delta-like ligand 1 and Notch 1 receptor in various placental disorders with special reference to early onset preeclampsia. *Hum. Pathol.* 46(8):1129–37
- Shrim A, Boskovic R, Maltepe C, Navios Y, Garcia-Bournissen F, Koren G. 2006. Pregnancy outcome following use of large doses of vitamin B6 in the first trimester. *J. Obstet. Gynaecol. J. Inst. Obstet. Gynaecol.* 26(8):749–51
- Stephenson J, Heslehurst N, Hall J, Schoenaker DAJM, Hutchinson J, et al. 2018. Before the beginning: nutrition and lifestyle in the preconception period and its importance for future health. *Lancet Lond. Engl.* 391(10132):1830–41
- Sterne JAC, White IR, Carlin JB, Spratt M, Royston P, et al. 2009. Multiple imputation for missing data in epidemiological and clinical research: potential and pitfalls. *BMJ.* 338:b2393
- Stråvik M, Jonsson K, Hartvigsson O, Sandin A, Wold AE, et al. 2019. Food and Nutrient Intake during Pregnancy in Relation to Maternal Characteristics: Results from the NICE Birth Cohort in Northern Sweden. *Nutrients.* 11(7):
- Suderman M, Staley JR, French R, Arathimos R, Simpkin A, Tilling K. 2018. dmrff: identifying differentially methylated regions efficiently with power and control. *bioRxiv.* 508556
- Sumithran P, Proietto J. 2013. The defence of body weight: a physiological basis for weight regain after weight loss. *Clin. Sci.* 124(4):231–41
- Sun Z, Chai HS, Wu Y, White WM, Donkena KV, et al. 2011. Batch effect correction for genome-wide methylation data with Illumina Infinium platform. *BMC Med. Genomics.* 4:84
- Tamura M, Tanaka S, Fujii T, Aoki A, Komiyama H, et al. 2007. Members of a novel gene family, Gsdm, are expressed exclusively in the epithelium of the skin and gastrointestinal tract in a highly tissue-specific manner. *Genomics.* 89(5):618–29
- Tamura T, Picciano MF. 2006. Folate and human reproduction. *Am. J. Clin. Nutr.* 83(5):993–1016
- Textor J, Hardt J, Knüppel S. 2011. DAGitty: a graphical tool for analyzing causal diagrams. *Epidemiol. Camb. Mass.* 22(5):745

- Thangaratinam S, Rogozińska E, Jolly K, Glinkowski S, Duda W, et al. 2012. Interventions to reduce or prevent obesity in pregnant women: a systematic review. *Health Technol. Assess. Winch. Engl.* 16(31):iii–iv, 1–191
- Timmermans YEG, Kant KDG van de, Oosterman EO, Spaanderman MEA, Villamor-Martinez E, et al. 2020. The impact of interpregnancy weight change on perinatal outcomes in women and their children: A systematic review and meta-analysis. *Obes. Rev.* 21(3):e12974
- Todd SE, Oliver MH, Jaquiery AL, Bloomfield FH, Harding JE. 2009. Periconceptional undernutrition of ewes impairs glucose tolerance in their adult offspring. *Pediatr. Res.* 65(4):409–13
- Tserga A, Binder AM, Michels KB. 2017. Impact of folic acid intake during pregnancy on genomic imprinting of IGF2/H19 and 1-carbon metabolism. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 31(12):5149–58
- Turnbull J, Tiberia E, Pereira S, Zhao X, Pencea N, et al. 2013. Deficiency of a Glycogen Synthase-associated Protein, Epm2aip1, Causes Decreased Glycogen Synthesis and Hepatic Insulin Resistance. *J. Biol. Chem.* 288(48):34627–37
- Ueland PM. 2011. Choline and betaine in health and disease. *J. Inherit. Metab. Dis.* 34(1):3–15
- USDA Department of Agriculture; the Agricultural Research Service. *Usda Branded Food Products Database. Nutrient Data Laboratory.* <https://www.usda.gov/>
- van Elten TM, Karsten MDA, Geelen A, van Oers AM, van Poppel MNM, et al. 2018. Effects of a preconception lifestyle intervention in obese infertile women on diet and physical activity; A secondary analysis of a randomized controlled trial. *PLoS One.* 13(11):e0206888
- van Lee L, Crozier SR, Aris IM, Tint MT, Sadananthan SA, et al. 2019. Prospective associations of maternal choline status with offspring body composition in the first 5 years of life in two large mother-offspring cohorts: the Southampton Women's Survey cohort and the Growing Up in Singapore Towards healthy Outcomes cohort. *Int. J. Epidemiol.* 48(2):433–44
- van Lee L, Tint MT, Aris IM, Quah PL, Fortier MV, et al. 2016. Prospective associations of maternal betaine status with offspring weight and body composition at birth: the Growing Up in Singapore Towards healthy Outcomes (GUSTO) cohort study. *Am. J. Clin. Nutr.* 104(5):1327–33
- Vento-Tormo R, Efremova M, Botting RA, Turco MY, Vento-Tormo M, et al. 2018. Single-cell reconstruction of the early maternal-fetal interface in humans. *Nature.* 563(7731):347–53
- Villamor E, Cnattingius S. 2006. Interpregnancy weight change and risk of adverse pregnancy outcomes: a population-based study. *The Lancet.* 368(9542):1164–70
- Vlahos A, Mansell T, Saffery R, Novakovic B. 2019. Human placental methylome in the interplay of adverse placental health, environmental exposure, and pregnancy outcome. *PLoS Genet.* 15(8):e1008236
- Wajed SA, Laird PW, DeMeester TR. 2001. DNA methylation: an alternative pathway to cancer. *Ann. Surg.* 234(1):10–20
- Wallace JM, Bhattacharya S, Campbell DM, Horgan GW. 2014. Inter-pregnancy weight change impacts placental weight and is associated with the risk of adverse pregnancy outcomes in the second pregnancy. *BMC Pregnancy Childbirth.* 14:40
- Wallace TC, Blusztajn JK, Caudill MA, Klatt KC, Natker E, et al. 2018. Choline. *Nutr. Today.* 53(6):240–53
- Waterland RA. 2006. Assessing the effects of high methionine intake on DNA methylation. *J. Nutr.* 136(6 Suppl):1706S-1710S

- Waterland RA, Jirtle RL. 2003. Transposable Elements: Targets for Early Nutritional Effects on Epigenetic Gene Regulation. *Mol. Cell. Biol.* 23(15):5293–5300
- Waterland RA, Kellermayer R, Laritsky E, Rayco-Solon P, Harris RA, et al. 2010. Season of conception in rural gambia affects DNA methylation at putative human metastable epialleles. *PLoS Genet.* 6(12):e1001252
- Waterland RA, Michels KB. 2007. Epigenetic epidemiology of the developmental origins hypothesis. *Annu. Rev. Nutr.* 27:363–88
- Weber M. 2011. La méthylation de l'ADN, un acteur-clé de la pluripotence. *médecine/sciences.* 27(5):483–85
- Weinhold B. 2006. Epigenetics: The Science of Change. *Environ. Health Perspect.* 114(3):A160–67
- Wilhelm-Benartzi CS, Houseman EA, Maccani MA, Poage GM, Koestler DC, et al. 2012. In Utero Exposures, Infant Growth, and DNA Methylation of Repetitive Elements and Developmentally Related Genes in Human Placenta. *Environ. Health Perspect.* 120(2):296–302
- Willett WC, Howe GR, Kushi LH. 1997. Adjustment for total energy intake in epidemiologic studies. *Am. J. Clin. Nutr.* 65(4 Suppl):1220S-1228S; discussion 1229S-1231S
- Williams PJ, Bulmer JN, Innes BA, Broughton Pipkin F. 2011. Possible Roles for Folic Acid in the Regulation of Trophoblast Invasion and Placental Development in Normal Early Human Pregnancy. *Biol. Reprod.* 84(6):1148–53
- Willis K, Lieberman N, Sheiner E. 2015. Pregnancy and neonatal outcome after bariatric surgery. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 29(1):133–44
- Woodall SM, Johnston BM, Breier BH, Gluckman PD. 1996. Chronic maternal undernutrition in the rat leads to delayed postnatal growth and elevated blood pressure of offspring. *Pediatr. Res.* 40(3):438–43
- Wu G, Bazer FW, Cudd TA, Meininger CJ, Spencer TE. 2004. Maternal nutrition and fetal development. *J. Nutr.* 134(9):2169–72
- Yang AS, Estécio MRH, Doshi K, Kondo Y, Tajara EH, Issa J-PJ. 2004. A simple method for estimating global DNA methylation using bisulfite PCR of repetitive DNA elements. *Nucleic Acids Res.* 32(3):e38
- Yi X, Li Q, Zhang J, Wang Z. 2015. A meta-analysis of maternal and fetal outcomes of pregnancy after bariatric surgery. *Int. J. Gynaecol. Obstet. Off. Organ Int. Fed. Gynaecol. Obstet.* 130(1):3–9
- Yu Z, Han S, Zhu J, Sun X, Ji C, Guo X. 2013. Pre-Pregnancy Body Mass Index in Relation to Infant Birth Weight and Offspring Overweight/Obesity: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS ONE.* 8(4):e61627
- Zeisel SH. 2009. Importance of methyl donors during reproduction. *Am. J. Clin. Nutr.* 89(2):673S-677S
- Zeisel SH, Mar M-H, Howe JC, Holden JM. 2003. Concentrations of choline-containing compounds and betaine in common foods. *J. Nutr.* 133(5):1302–7
- Zhang S, Rattanatray L, Morrison JL, Nicholas LM, Lie S, McMillen IC. 2011. Maternal obesity and the early origins of childhood obesity: weighing up the benefits and costs of maternal weight loss in the periconceptual period for the offspring. *Exp. Diabetes Res.* 2011:585749

ANNEXES

A - EXTRAITS DE QUESTIONNAIRES DE L'ÉTUDE EDEN

Questionnaire EDEN

Auto-questionnaire Alimentation 1



Nom :

Prénom :

.....

N° d'Identification : |_|_|_|_|_|_|_|_|

Date de remplissage : |_|_|_|_|_|_|_|_|

Auto-questionnaire alimentaire I

Ne rien inscrire dans cette colonne

CE QUESTIONNAIRE PORTE SUR VOTRE ALIMENTATION HABITUELLE **pendant l'année précédant LE DÉBUT DE VOTRE GROSSESSE**

I. Une liste d'aliments vous est proposée. Pouvez-vous indiquer à côté de chacun la **fréquence avec laquelle vous avez consommé cet aliment (ou groupe d'aliments)** au cours de l'année **AVANT LE DEBUT DE VOTRE GROSSESSE, que ce soit au cours des repas (à la maison ou à l'extérieur) ou entre les repas**. Pour chaque aliment présenté, cochez la case correspondant à la fréquence de votre consommation. Par exemple, si vous avez consommé **3 fois** des abats **au cours de l'année**, cochez la case située à l'intersection entre la ligne « abats » et la colonne « Moins d'une fois par mois » :

Jamais	Moins d'une fois par mois	Entre 1 et 3 fois par mois	Une fois par semaine	Entre 2 et 5 fois par semaine	Une fois par jour ou presque	Plusieurs fois par jour
--------	---------------------------	----------------------------	----------------------	-------------------------------	------------------------------	-------------------------

1. des abats (foie, langue de bœuf, rognons, ris de veau, tripes, boudin...)

<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				
--------------------------	-------------------------------------	--------------------------	--------------------------	--------------------------	--------------------------	--------------------------

1

**A. Abats, charcuterie, œufs : pendant l'année précédant LE DEBUT DE VOTRE GROSSESSE,
avec quelle fréquence avez-vous consommé ...?**

	1	2	3	4	5	6	7	
	Jamais	Moins d'une fois par mois	Entre 1 et 3 fois par mois	Une fois par semaine	Entre 2 et 5 fois par semaine	Une fois par jour ou presque	Plusieurs fois par jour	
1a. du foie (génisse, volailles, autres)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1a <input type="checkbox"/>
1b. de la langue de bœuf, des tripes, du boudin, des andouillettes, des ris de veau, des rognons	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1b <input type="checkbox"/>
2. du saucisson sec (ou salami), y compris à l'apéritif	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>
3. du cervelas ou de la mortadelle	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>
4. du pâté ou des rillettes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>
5. du jambon (blanc, cru, bacon, ...)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>
6. des saucisses (chipolatas, merguez, Strasbourg, ...)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>
7. des œufs « sur le plat », en omelette	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>
8. des œufs « pochés, durs ou à la coque »	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>

**B. Viande : pendant l'année précédant LE DEBUT DE VOTRE GROSSESSE,
avec quelle fréquence avez-vous consommé...?**

	1	2	3	4	5	6	7		
	Jamais	Moins	Entre 1 et	Une fois	Entre 2 et	Une fois	Plusieurs fois		
		d'une fois	3 fois	par semaine	5 fois	par jour	par jour		
		par mois	par mois		par semaine	ou presque			
1. de la viande de bœuf « grillée, rôtie ou sautée » (sauf steak haché)	<input type="checkbox"/>		1 <input type="checkbox"/>						
2. des steaks hachés	<input type="checkbox"/>		2 <input type="checkbox"/>						
3. de la viande de porc (sauf charcuterie)	<input type="checkbox"/>		3 <input type="checkbox"/>						
4. de la viande de veau	<input type="checkbox"/>		4 <input type="checkbox"/>						
5. de la viande d'agneau ou de mouton	<input type="checkbox"/>		5 <input type="checkbox"/>						
6. de la volaille (poulet, dinde, ...), du lapin	<input type="checkbox"/>		6 <input type="checkbox"/>						

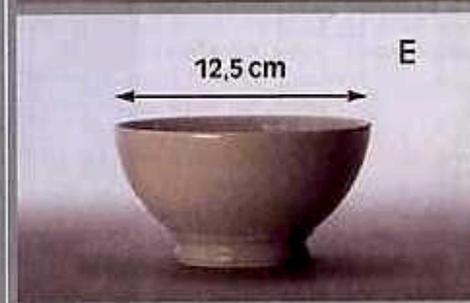
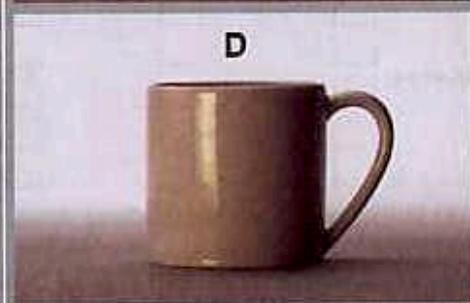
C. **Plats garnis : pendant l'année précédant LE DEBUT DE VOTRE GROSSESSE,**
avec quelle fréquence avez-vous consommé...?

	1	2	3	4	5	6	7		
	Jamais	Moins d'une fois par mois	Entre 1 et 3 fois par mois	Une fois par semaine	Entre 2 et 5 fois par semaine	Une fois par jour ou presque	Plusieurs fois par jour		
1. des friands (ou croissants ou crêpes fourrés)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1	<input type="checkbox"/>
2. des tartes salées (quiche, ...)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>
3. des croque-monsieurs	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>
4. des sandwichs	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	4	<input type="checkbox"/>
5. de la pizza	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	5	<input type="checkbox"/>
6. des raviolis ou lasagnes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	6	<input type="checkbox"/>
7. des hamburgers	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	7	<input type="checkbox"/>
8. du cassoulet	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	8	<input type="checkbox"/>
9. du couscous	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	9	<input type="checkbox"/>
10. de la choucroute (avec de la charcuterie)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	10	<input type="checkbox"/>
11. de la paëlla	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		

	<input type="checkbox"/>	11	<input type="checkbox"/>							
12. du chili con carné									12	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>									
13. des plats cuisinés "allégés"									13	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>									

TASSES - BOLS

Choisissez la lettre correspondant à la tasse ou au bol que vous avez utilisé



E. Lait et produits laitiers : pendant l'année précédant LE DEBUT DE VOTRE GROSSESSE,
avec quelle fréquence avez-vous consommé..?

Pour le lait, répondre en fonction du nombre de tasses ou bols consommés ; indiquer dans la dernière colonne n° 8 le type de tasse ou bol (A à G) que vous utilisez le plus fréquemment en vous reportant aux photos ci-contre.

Si vous ne consommez qu'une petite quantité de lait (par exemple « nuage de lait » dans le café...) chaque jour, indiquez H dans la colonne n° 8.

	1	2	3	4	5	6	7	8		
	Jamais	Moins d'une fois par mois	Entre 1 et 3 fois par mois	Une fois par semaine	Entre 2 et 5 fois par semaine	Une fois par jour ou presque	Plusieurs fois par jour	Indiquez la lettre du bol ou de la tasse utilisée le plus fréquemment		
1. du lait entier	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1	<input type="checkbox"/>
2. du lait demi-écrémé	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>
3. du lait écrémé	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>

A l'aide des photographies qui vous sont présentées, pouvez-vous indiquer ci-dessous, pour chaque type d'aliment cité, quelle portion (A, B, ou C) correspond le plus précisément à celle que vous consommiez généralement pendant l'année précédant LE DEBUT DE VOTRE GROSSESSE.

	« A »	« B »	« C »	Aliments non consommés	
1. steak	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> 0	1
2. viande en sauce	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> 0	2
3. charcuterie	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> 0	3

Choisissez la lettre correspondant à la portion que vous avez consommée

Portion
A

Portion
B

Portion
C

1



2



3



Pendant les 3 MOIS précédant votre grossesse, avez-vous pris des suppléments en vitamines et minéraux sous forme de comprimés, ampoules, sachets... :

0.non 1.oui

Si oui, cette prise de vitamines et minéraux a été :

1. occasionnelle

2. régulière ou presque

S'agissait-il d'un mélange de vitamines et/ou minéraux : 0. non 1. Oui

Si non, les vitamines ou minéraux que vous avez pris au cours de ces trois mois étaient-ils :

(cochez la ou les cases correspondantes)

1. de la vitamine A ou du carotène

2. de la vitamine B2 ou riboflavine

3. de la vitamine B6 ou pyridoxine

4. de la vitamine B9 ou acide folique

5. de la vitamine C

6. de la vitamine E

7. du calcium

8. du cuivre

9. du fer

10. de l'iode

11. du zinc

12. du sélénium

B – RÉSULTATS COMPLÉMENTAIRES

Tableau Annexe 1. Détail de la méthode utilisée pour l'imputation multiple (N = 1 638)

Variable	Type de Variable	Modèle Utilisé pour prédire les données *	% Données manquantes
Centre recrutement	Binaire	Régression logistique	0%
Sexe de l'enfant	Binaire	Régression logistique	0%
Parité	Binaire	Régression logistique	0,12%
Couverture assurance maladie	Binaire	Régression logistique	0,5%
Couverture complémentaire	Binaire	Régression logistique	0,55%
Vivre en couple	Binaire	Régression logistique	0,55%
Supplémentation en vitamines	Binaire	Régression logistique	0,7%
Pays de naissance	Binaire	Régression logistique	6,6%
Profil alimentaire 1 (scores)	Continue	Régression linéaire	0%
Profil alimentaire 2 (scores)	Continue	Régression linéaire	0%
Profil alimentaire 3 (scores)	Continue	Régression linéaire	0%
Profil alimentaire 4 (scores)	Continue	Régression linéaire	0%
Profil alimentaire 5 (scores)	Continue	Régression linéaire	0%
Profil alimentaire 6 (scores)	Continue	Régression linéaire	0%
Profil alimentaire 7 (scores)	Continue	Régression linéaire	0%
Poids de naissance	Continue	Régression linéaire	0%
Age maternel	Continue	Régression linéaire	0%
Age gestationnel à la naissance	Continue	Régression linéaire	0%
Poids mère avant grossesse	Continue	Régression linéaire	0,8%
Taille mère	Continue	Régression linéaire	1,3%
IMC	Continue	Régression linéaire	2,0%
Gain poids gestationnel	Continue	Régression linéaire	2,0%
Poids mère à 20 ans	Continue	Régression linéaire	3,5%
Taille naissance	Continue	Régression linéaire	2,9%
Périmètre crânien à la naissance	Continue	Régression linéaire	5,8%
Poids placenta	Continue	Régression linéaire	26%
Diabète gestationnel	Catégorielle (3 catégories)	Régression multinomiale	0,1%
Hypertension gestationnelle	Catégorielle (3 catégories)	Régression multinomiale	0,1%
Revenu mensuel ménage	Catégorielle (4 catégories)	Régression multinomiale	0,55%
Niveau d'éducation	Catégorielle (4 catégories)	Régression multinomiale	0,7%
Situation d'emploi	Catégorielle (3 catégories)	Régression multinomiale	0,8%
Tabac avant grossesse	Ordinale (3 catégories)	Régression logistique	1,2%
Tabac pendant grossesse	Ordinale (3 catégories)	Régression logistique	2,5%

*Méthode de spécification entièrement conditionnelle (FCS)

Tableau Annexe 2. Composition des 36 groupes alimentaires considérés pour la création des profils alimentaire par la méthode RRR

Groupe	Composition
1 Fromage	Sept types de fromage (emmental, gouda, industriel etc.)
2 Lait et laitages pauvres en MG	Fromage blanc ou yaourt 0% de matières grasses, lait demi-écrémé, lait écrémé
3 Lait et laitages riches en MG	Yaourt, fromage blanc, entremet, crème fraîche légère ou allégée
4 Riz, pâtes et autres	Riz, pâtes, semoule ou blé
5 Pain	Pain blanc, biscottes
6 Pain complet	Pain complet ou pains spéciaux
7 Céréales	Céréales petit-déjeuner et barres de céréales
8 Gâteau, pâtisserie	Viennoiseries, tartes, gâteaux pâtissier, cake
9 Sandwich	Sandwich
10 Fruits	Kiwi, abricot, pêches, fraises, banane, citron, orange, poire, pomme, raisin, autres fruits
11 Salade	Salade, épinards, cresson, endive
12 Poireau, chou	Poireau, chou, choux-fleur
13 Broccoli	Broccoli
14 Avocat	Avocat
15 Autres légumes	Carottes, haricots, petits pois, poivrons, tomates, maïs, autres légumes, crudités
16 Soja	Soja, légumes secs
17 Pommes de terre cuites, au four	Pommes de terre à l'eau, dauphines, purée
18 Frites ou pommes de terre frites	Frites or pommes de terre rissolées
19 Oeufs	Oeufs et omelettes
20 Viande	Boeuf, porc, veau, agneau, volaille
21 Foie et abats	Foie, langue, andouillettes, ris de veau
22 Charcuterie	Saucisson, salami, jambon, terrine
23 Poisson	Poisson fumé, pâné, à l'huile, coquillages
24 Plats préparés	Tartes, pizza, hamburger, hot-dog, chili con carne, plats à base de poisson, ravioli
25 Beurre	Beurre, margarine
26 Glaces	Glace
27 Sauces	Ketchup, vinaigre, mayonnaise
28 Jus de fruits	Jus de pomme et autres
29 Boissons sucrées et soda	Coca cola, soda, lemonade, sirops
30 Eau	Eau
31 Alcool	Bière, cidre, vin, gin, rhum
32 Café, thé	Café, thé
33 Collations et confiseries	Chips, biscuits, cookies, gâteaux apéritifs, bonbons
34 Barre chocolatée	Barre chocolatée, chocolat en poudre, mars
35 Confiture, Miel	Confiture, miel, pâte à tartiner chocolat
36 Noix et graines	Noix, cacahuètes, fruits séchés

Tableau Annexe 3. Moyenne ± ET des nutriments du métabolisme C1 l'année avant la grossesse selon les tertiles des profils alimentaires et comparaison avec les recommandations (quand elles sont connues)

<i>N</i> = 1707		Moyenne des nutriments ± ET		
Profils		Varié et équilibré		
	Recommandations	1 ^{er} tertile	2 ^{èm} tertile	3 ^{èm} tertile
Vitamine B2 (mg/j)	1,5 mg/j ¹	1,9 ± 0,7	2,1 ± 0,7	2,8 ± 0,9
Vitamine B6 (mg/j)	1,5 mg/j ¹	1,6 ± 0,6	1,7 ± 0,6	2,4 ± 0,8
Vitamine B9 (µg/j)	400 µg/j ¹	319,6 ± 133,9	345,9 ± 125,0	472,9 ± 186,8
Vitamine B12 (µg/j)	4 µg/j ¹	4,8 ± 2,3	5,5 ± 2,3	7,9 ± 5,0
Choline (mg/j)	425 mg/j ²	328,8 ± 118,0	359,6 ± 111,1	472,3 ± 169,9
Méthionine (g/j)	-	1,8 ± 0,74	1,9 ± 0,7	2,5 ± 1,0
Bétaïne (mg/j)	-	188,1 ± 76,2	186,2 ± 63,1	221,0 ± 85,8
Tendance végétarien				
		1 ^{er} tertile	2 ^{èm} tertile	3 ^{èm} tertile
Vitamine B2 (mg/j)	1,5 mg/j ¹	2,3 ± 0,9	2,1 ± 0,8	2,4 ± 0,9
Vitamine B6 (mg/j)	1,5 mg/j ¹	1,8 ± 0,7	1,7 ± 0,6	2,3 ± 0,8
Vitamine B9 (µg/j)	400 µg/j ¹	323,1 ± 141,6	342,1 ± 125,1	473,1 ± 181,3
Vitamine B12 (µg/j)	4 µg/j ¹	7,51 ± 5,0	5,3 ± 2,3	5,3 ± 2,5
Choline (mg/j)	425 mg/j ²	422,1 ± 174,0	353,5 ± 121,4	385,1 ± 137,7
Méthionine (g/j)	-	2,4 ± 1,01	1,9 ± 0,7	1,9 ± 0,7
Bétaïne (mg/j)	-	171,5 ± 70,4	187,0 ± 64,6	236,8 ± 80,4
Bread and Starchy Food				
		1 ^{er} tertile	2 ^{èm} tertile	3 ^{èm} tertile
Vitamine B2 (mg/j)	1,5 mg/j ¹	2,5 ± 0,9	2,2 ± 0,8	2,1 ± 0,8
Vitamine B6 (mg/j)	1,5 mg/j ¹	2,0 ± 0,8	1,8 ± 0,7	1,9 ± 0,8
Vitamine B9 (µg/j)	400 µg/j ¹	419,7 ± 191,2	365,7 ± 143,3	353,0 ± 149,5
Vitamine B12 (µg/j)	4 µg/j ¹	6,05 ± 3,9	5,7 ± 2,6	6,4 ± 4,2
Choline (mg/j)	425 mg/j ²	382,6 ± 140,6	375,1 ± 138,8	402,9 ± 164,7
Méthionine (g/j)	-	2,0 ± 0,8	2,0 ± 0,8	2,2 ± 1,0
Bétaïne (mg/j)	-	160,0 ± 66,0	195,7 ± 66,9	239,6 ± 76,9

¹ Recommandations de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (<https://www.anses.fr/fr/system/files/NUT2017SA0141.pdf>): recommandations pour les adults de > 18 ans. ²Recommandations de l'USDA (https://www.nal.usda.gov/sites/default/files/fnic_uploads/390-422_150.pdf).

Tableau Annexe 4. Association entre les profils alimentaires l'année avant la grossesse et l'anthropométrie néonatale à la naissance ou l'âge gestationnel, analyses en cas complets.

Profils alimentaires	Z-score poids de naissance β (95% IC)*		Z-score taille à la naissance β (95% IC)*		Z-score périmètre crânien β (95% IC) *		Age gestationnel (SA) β (95% IC)	
	Non ajusté	Ajusté ^a	Non ajusté	Ajusté ^a	Non ajusté	Ajusté ^a	Non-ajusté**	Ajusté ^{***a}
Varié et équilibré	0,04 [0 ; 0,08]	0,02 [-0,02; 0,06]	0,06 [0,02; 0,10]	0,03 [-0,01; 0,07]	0,03 [-0,01; 0,06]	0,01 [-0,03; 0,04]	-0,05 [-0,12; 0,02]	-0,05 [-0,12; 0,03]
Tendance végétarien	0,01 [-0,03; 0,06]	0,01 [-0,04; 0,06]	0,03 [-0,02; 0,08]	0,00 [-0,05; 0,05]	0,03 [-0,01; 0,07]	0,02 [-0,02; 0,07]	0,06 [-0,02; 0,14]	0,05 [-0,03; 0,14]
Pain et féculents	0,02 [-0,03; 0,07]	0,02 [-0,03; 0,07]	-0,03 [-0,08; 0,03]	-0,01 [-0,06; 0,04]	-0,01 [-0,05; 0,03]	-0,02 [-0,06; 0,03]	0,09 [-0,003; 0,18]	0,08 [-0,02; 0,17]

^a ajusté sur le centre, le niveau d'éducation maternelle, l'âge maternel, le statut d'emploi, le revenu mensuel, la parité, la consommation de tabac pendant la grossesse, l'IMC et la supplémentation vitaminique, * Z-scores de croissance selon la référence de Audipog (Mamelle et al., 1996) ** Age gestationnel : ajustement additionnel sur le sexe de l'enfant. β coefficients de la régression linéaire et IC à 95% pour une variation de 1 ET du score du profil alimentaire.

Tableau Annexe 5. Détail de la méthode utilisée pour l'imputation multiple (N=16 395)

Variable	Type de variable	Modèle utilisé pour prédire les données manquantes*	% données manquantes
Lieu de naissance	Binaire	Régression logistique	0,1%
Assurance maladie	Binaire	Régression logistique	0,5%
Tabac avant grossesse	Binaire	Régression logistique	0,5%
Tabac pendant grossesse	Binaire	Régression logistique	0,8%
En couple	Binaire	Régression logistique	0,6%
Parité	Binaire	Régression logistique	0,3%
Nombre d'échographies	Binaire	Régression logistique	3%
Régime restrictif avant grossesse	Binaire	Régression logistique	12,4%
Régime restrictif pendant grossesse	Binaire	Régression logistique	15,3%
Diabète gestationnel	Binaire	Régression logistique	4,3%
Hypertension	Binaire	Régression logistique	2,1%
Difficultés psychologiques pendant la grossesse	Binaire	Régression logistique	0,6%
Hospitalisation pendant grossesse	Binaire	Régression logistique	0,8%
Rupture prématurée membranes	Binaire	Régression logistique	2,7%
Antécédents médicaux pouvant influencer les variations de poids	Binaire	Régression logistique	6,1%
Antécédents médicaux pouvant influencer la croissance fœtale	Binaire	Régression logistique	6,1%
Femmes avec enfant ≤ 2 ans	Binaire (oui/non)	Régression logistique	0%
Sexe de l'enfant	Binaire	Régression logistique	0,1%
Age maternel	Continue	Régression linéaire	0,02%
Poids mère	Continue	Régression linéaire	1,3%
Taille mère	Continue	Régression linéaire	0,03%
IMC	Continue	Régression linéaire	1,3%
Prise poids gestationnelle	Continue	Régression linéaire	2%
Age gestationnel naissance	Continue	Régression linéaire	0,8%
Poids naissance	Continue	Régression linéaire	1,4%
Taille naissance	Continue	Régression linéaire	9%
Périmètre crânien	Continue	Régression linéaire	9,7%
Echographies 2 ^{ème} trimestre (Z-scores)	Continue	Régression linéaire	25-69%**
Echographies 3 ^{ème} trimestre (Z-scores)	Continue	Régression linéaire	20-69%**
Variations poids avant grossesse	Catégorielle (3 catégories)	Régression multinomiale	13,2%
Statut activité	Catégorielle (3 catégories)	Régression multinomiale	2,4%
Niveau éducation	Catégorielle (4 catégories)	Régression multinomiale	0,01%
Statut marital	Catégorielle (3 catégories)	Régression multinomiale	2%
Catégorie socio-professionnelle	Catégorielle (5 catégories)	Régression multinomiale	0%
Assurance santé complémentaire	Catégorielle (3 catégories)	Régression multinomiale	2,1%
Antécédent diabète	Catégorielle (4 catégories)	Régression multinomiale	2,1%
Antécédent hypertension	Catégorielle (3 catégories)	Régression multinomiale	1,4%
Suivi grossesse	Catégorielle (4 catégories)	Régression multinomiale	0,9%
Nombre consultations prénatales	Ordinale (3 catégories)	Régression multinomiale	1,8%
Consommation alcool	Catégorielle (4 catégories)	Régression multinomiale	0,7%
Strate maternité	Catégorielle (5 catégories)	Régression multinomiale	0%
Vague inclusion	Catégorielle (4 catégories)	Régression multinomiale	0%
Mode d'accouchement	Catégorielle (3 catégories)	Régression multinomiale	1,9%

*FCS méthode

**Intervalle du pourcentage de données manquantes sur les différents z-scores de la croissance mesurés aux échographies du 2^{ème} et 3^{ème} trimestres

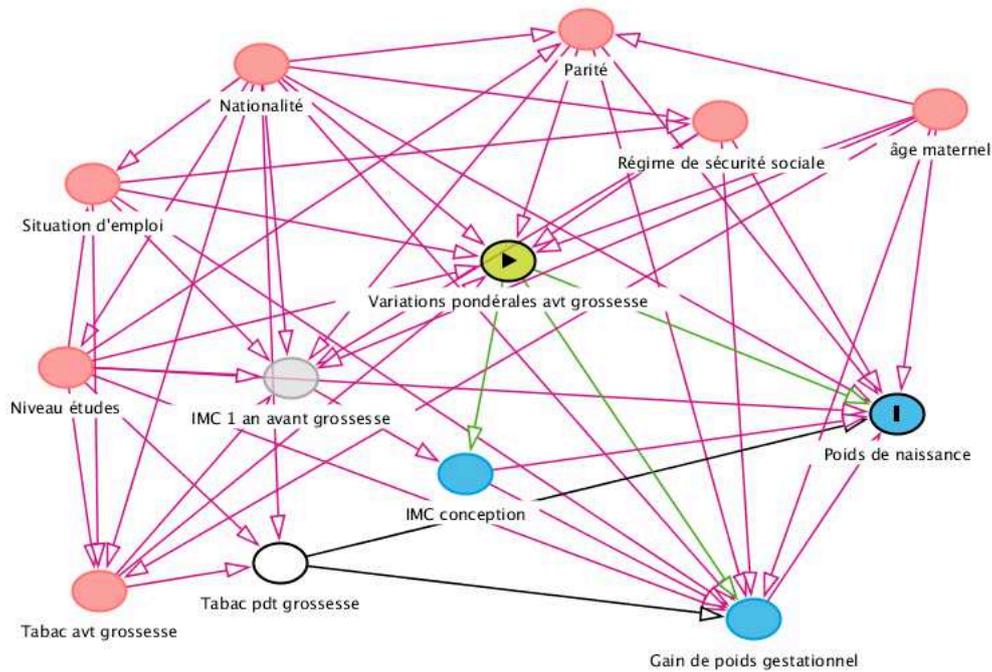


Figure Annexe 1 DAG : Diagramme causal construit avec le logiciel DAGitty pour le modèle étudiant l'association entre les variations pondérales l'année avant la grossesse et le poids de naissance dans la cohorte Elfe

Liste minimale suffisante de co-variables d'ajustement pour estimer l'effet total des variations de poids avant grossesse sur le poids de naissance : nationalité, niveau d'études, parité, situation d'emploi, régime de sécurité sociale, âge maternel et tabac avant grossesse et pendant grossesse.

Liste minimale suffisante de co-variables d'ajustement pour estimer l'effet direct des variations de poids avant grossesse sur le poids de naissance : nationalité, niveau d'études, régime de sécurité sociale, âge maternel, tabac pendant grossesse, gain de poids gestationnel et IMC

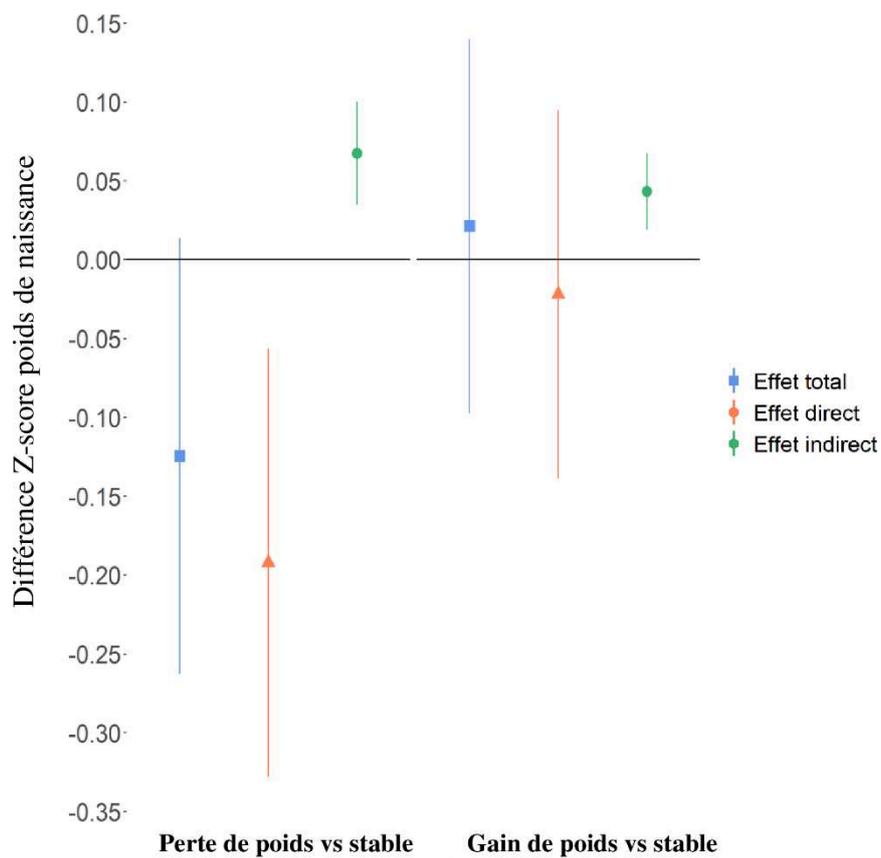


Figure Annexe 2 : Association entre les variations de poids avant grossesse et le poids de naissance médié par le GPG, analyse de sensibilité chez les femmes avec un IMC ≥ 30 kg/m² (N=1 546, données imputées)

Modèle ajusté sur le niveau d'éducation maternel, l'âge, le lieu de naissance, la parité, le régime d'assurance maladie, le statut d'activité, la consommation de tabac avant et pendant grossesse et l'IMC.

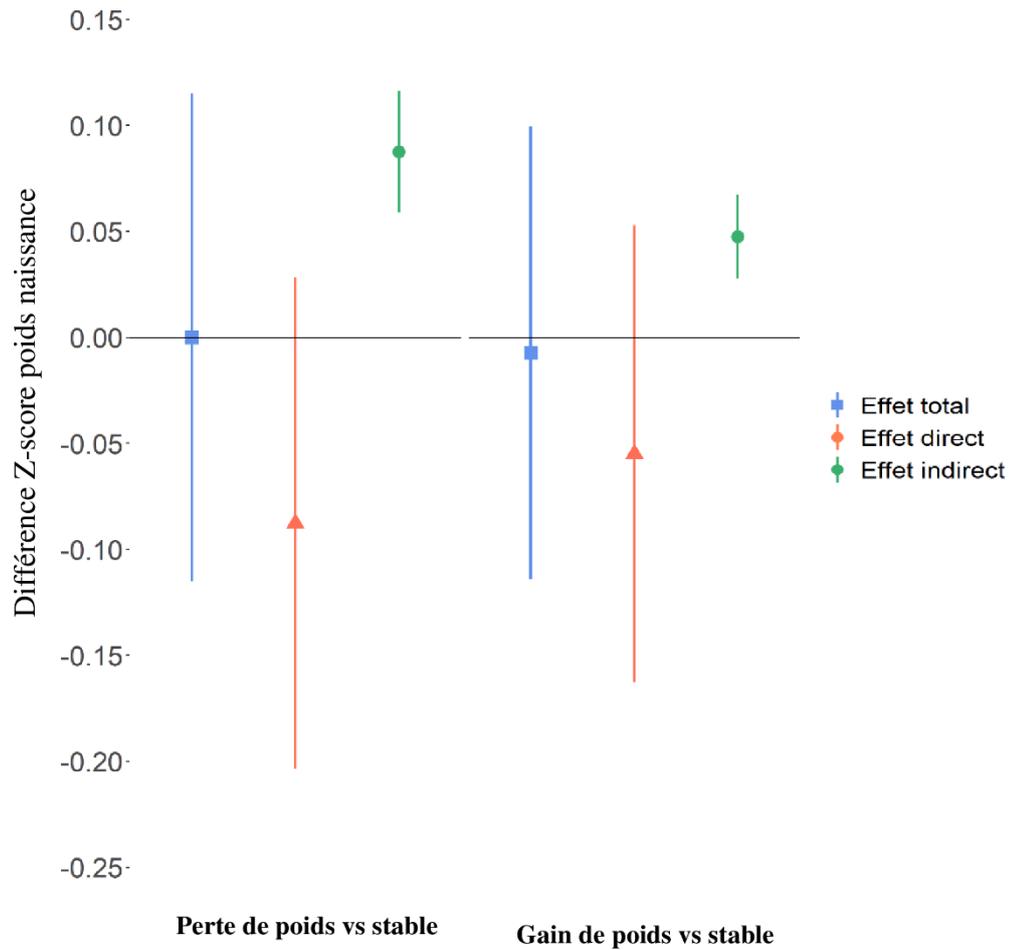


Figure Annexe 3 : Association entre les variations de poids avant grossesse et le poids de naissance médié par le GPG, analyse de sensibilité chez les femmes non fumeuses avec un IMC ≥ 25 kg/m² (N=2 533, données imputées)

Modèle ajusté sur le niveau d'éducation maternel, l'âge, le lieu de naissance, la parité, le régime d'assurance maladie, le statut d'activité et l'IMC.

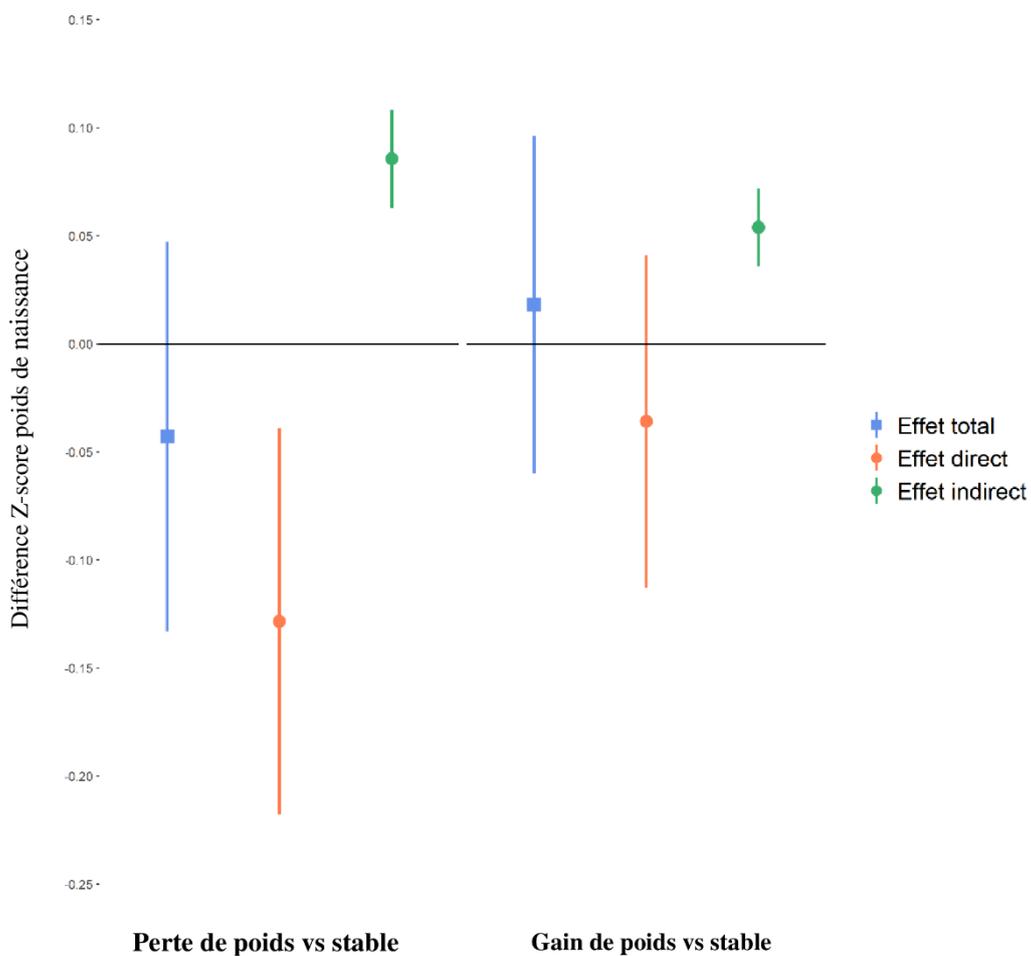


Figure Annexe 4 : Association entre les variations de poids avant grossesse et le poids de naissance médié par le GPG, analyse de sensibilité sur population en cas complets et chez les femmes avec un IMC ≥ 25 kg/m² (N=3 539)

Modèle ajusté sur le niveau d'éducation maternel, l'âge, le lieu de naissance, la parité, le régime d'assurance maladie, le statut d'activité, le tabac avant et pendant grossesse et l'IMC.

C - PUBLICATIONS

*Association between Dietary Intake of One-Carbon Metabolism Nutrients in the
Year before Pregnancy and Birth Anthropometry*
Nutrients Journal

Article

Association between Dietary Intake of One-Carbon Metabolism Nutrients in the Year before Pregnancy and Birth Anthropometry

Marion Lecorguillé ^{1,*} , Sandrine Lioret ¹, Blandine de Lauzon-Guillain ¹ , Erwan de Gavelle ², Anne Forhan ¹, François Mariotti ² , Marie-Aline Charles ^{1,3,†} and Barbara Heude ^{1,†} 

¹ Université de Paris, CRESS, INSERM, INRAE, F-75004 Paris, France; sandrine.lioret@inserm.fr (S.L.); blandine.delauzon@inserm.fr (B.d.L.-G.); anne.forhan@inserm.fr (A.F.); marie-aline.charles@inserm.fr (M.-A.C.); barbara.heude@inserm.fr (B.H.)

² UMR PNCA, AgroParisTech, INRAE, Université Paris-Saclay, F-75005 Paris, France; erwan.degavelle@agroparistech.fr (E.d.G.); mariotti@agroparistech.fr (F.M.)

³ Ined, Inserm, EFS, Joint Unit Elfe, 93322 Aubervilliers, France

* Correspondence: marion.lecorguille@inserm.fr

† These authors are joint senior authors on this work.

Received: 10 February 2020; Accepted: 18 March 2020; Published: 20 March 2020



Abstract: Few studies have evaluated the role of methylation-pathway nutrients involved in fetal growth (B vitamins, choline, betaine, and methionine). These one-carbon metabolism (OCM) nutrients are essential for DNA methylation in the periconception period. We aimed to characterize dietary patterns of 1638 women from the EDEN mother-child cohort in the year before pregnancy according to the contribution of OCM nutrients and to study the association of such patterns with anthropometric measurements at birth. Dietary intake before pregnancy was assessed by using a semi-quantitative food frequency questionnaire. We used the reduced-rank regression (RRR) method to identify dietary patterns using OCM nutrients as intermediate variables. We ran linear regressions models to study the association between dietary patterns scores and birth weight, length, head circumference, gestational age, and sex-specific z-scores, adjusting for maternal characteristics and vitamin supplementation before and during pregnancy. Three patterns, “varied and balanced”, “vegetarian tendency”, and “bread and starchy food” were identified, explaining 58% of the variability in OCM nutrient intake. Higher scores on the “varied and balanced” pattern tended to be associated with higher birth length and weight. In mainly well-nourished young French women, we did not find evidence that variability in OCM nutrient intake has major effects on fetal growth.

Keywords: dietary patterns; methyl-donors; one-carbon metabolism; nutrients; reduced rank regression; maternal diet; fetal growth; pre-conception period

1. Introduction

Among the multiple factors involved in the physiological process guaranteeing a healthy pregnancy, adequate micronutrient intake during the pregnancy is necessary to support placenta homeostasis and fetal development [1,2]. Micronutrients implicated in one-carbon metabolism (OCM) deserve special attention because the OCM cycle supports multiple physiological processes essential for human development [3]. Deficiencies in micronutrients related to OCM may affect cellular metabolism, cell proliferation, and fetal growth [2]. OCM nutrients are carriers or methyl-group donors (e.g., folates, choline, betaine, methionine) or cofactors of enzymes involved in the transfer reactions of these groups to DNA (namely vitamins B2, B6, and B12) [3]. Among them, folate is a key micronutrient required for cell, placenta and brain development [4]. Choline is implicated in the

synthesis of phospholipids in cell membranes and brain development [5,6]. Methionine is an essential amino acid that can be regenerated from homocysteine or choline pathways. Methionine is used to serve as the precursor to S-adenosylmethionine, the universal cellular methyl donor, and is required for protein synthesis during pregnancy [7]. Intake of these nutrients may affect epigenetic programming by changing DNA methylation in fetal tissues and placenta; therefore, they have a global impact on fetal growth [3,7].

Some studies have reported associations between individual OCM micronutrients and fetal development. Folate intake during pregnancy (dietary folate and folic acid supplementation) has been associated with higher birth weight. The average effect has been estimated to be a 2% increase in birth weight for every two-fold increase in folate intake [8] and further studies suggested that an adequate intake could be targeted for preventing small-for-gestational age birth weight (SGA) [9] and risk of prematurity [10]. A meta-analysis found that a low concentration of vitamin B12 (< 148 pmol/L) in maternal serum or plasma samples during pregnancy was associated with an increased risk of preterm birth (adjusted RR = 1.21 (95% confidence interval CI: 0.99, 1.49)). An increased risk of low birth weight (LBW) was also reported in association with vitamin B12 deficiency (RR = 1.15 (95% CI: 1.01, 1.31)) [11]. To date, a few studies have evaluated the role of intake of other OCM nutrients in fetal growth, with contrasting results [7,12–17]. One large study reported that higher maternal serum choline concentrations were associated with higher body fat mass (effect size = 0.60 SD (95% CI, 0.04, 1.16) per 5 µmol/L choline) and BMI z-score at birth (0.31 SD per 5 µmol/L (0.10–0.51)) [12]. An inverse association between maternal plasma betaine level and birth weight (−57.6 g per 5 µmol/L; 95% CI: −109.9, −5.3 g) was found in another study [13]. Inversely, it has been shown that choline measured in umbilical cord blood was associated with lower birth weight (−60 g per 1 SD increase in z-score; 95% CI (−89, −31)) [14]. For methionine, higher concentrations measured in amniotic fluid during pregnancy was positively associated with birth weight (Spearman $r = 0.13$) but also with a lower risk of large-for-gestational age birth weight (LGA) (OR = 0.44 for 1 SD increase in plasma concentration (95% CI: 0.21, 0.89)) [16,17].

The above studies often evaluated the impact of a single nutrient on fetal growth, but recent randomized and observational studies highlighted the positive effect of multiple-micronutrient supplementation on placental vascular function and for preventing fetal growth restriction in low- and middle-income countries [2,18,19].

The OCM cycle comprises different interlinked metabolic pathways and is of interest to investigate the effect of the combination of micronutrients provided by dietary intake on fetal development [20]. The variability in food intake in a population can be summarized by dietary patterns, which have been suggested to better reflect the interactions between foods and nutrients within the total diet [21]. There are different methods to derive dietary patterns: diet quality scores or indices based on a priori knowledge of dietary guidelines, or data-driven approaches (e.g., principal component analysis) [22]. The reduced-rank regression (RRR) method combines both approaches and has been shown to provide an understanding of the pathways by which diet can influence outcomes of interest [23,24] with the use of intermediate variables (e.g., OCM nutrients) [25].

So far, studies investigating the role of OCM nutrients in relation to fetal development have focused on dietary intake during the pregnancy period. However, the pre-conception period also deserves attention because it is an important time window for epigenetic programming of development and health due to major epigenetics processes taking place during this period [26].

Therefore, after identifying dietary patterns characterizing OCM micronutrient intake (B vitamins, methionine, choline, betaine) in the year before pregnancy, our objective was first to study maternal characteristics associated with these patterns in the pre-conception period, and second to investigate their association with birth anthropometry.

2. Material and Methods

This study is reported according to the Strengthening the Reporting of Observational Studies in Nutritional Epidemiology (STROBE-nut) guidelines [27] (see Supplementary Method S1: STROBE-nut statement).

2.1. Study

The EDEN mother-child study is a prospective cohort that aimed to evaluate the early, pre-, and post-natal determinants of child health and development [28] (see Supporting information, data availability). Study participation was proposed to all women visiting the prenatal clinic before 24 weeks' gestation. Between 2003 and 2006, 2002 (53%) pregnant women 18 to 45 years old were recruited in two centers: Nancy and Poitiers hospitals. Exclusion criteria were multiple pregnancies, known diabetes before pregnancy, French illiteracy or planning to move out of the region within the next 3 years.

All subjects gave their informed consent for inclusion before they participated in the study. The study received approval from the ethics committee (CCPPRB) of Kremlin Bicêtre Hospital (02-70) and the Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (CNIL), the French data privacy institution.

2.2. Dietary Data

The usual diet of women during the year before pregnancy was assessed retrospectively at inclusion (before 28 weeks' gestation; 15 weeks, on average) by using a validated food-frequency questionnaire (FFQ) [29]. This FFQ comprised 137 items, including 9 non-alcoholic and 7 alcoholic beverages; frequencies of consumption per food item was assessed on a 7-item scale from "never" to "several times a day". Portion sizes were estimated by using pictures derived from the validated SUVIMAX (SUplémentation en VItamines et Minéraux Anti-oXydants) portion booklet for 12 food categories (meat, French fries, pastas, vegetables, cakes, cheese etc.) on a three-level scale [30]. Daily intake (in grams/day) of each item was calculated by multiplying reported frequencies by portion sizes. Individual nutrient and total energy intake were calculated by multiplying the intake of each food item by the declared portion size and their corresponding nutrient content obtained from composition databases described below. These various intakes were estimated when less than four items were missing in the FFQ, in which case, food frequencies were imputed by the median of the observed frequencies for each item.

No food composition database was available to estimate direct intake of the nutrients implicated in OCM based on the EDEN FFQ items. Therefore, we used different sources for the food composition database and established correspondence with the Individual and National Food Consumption Survey (INCA 2) [31] to use food consumption data (see Method S2). The nutrient contents of INCA2 foods were extracted from the 2016 CIQUAL food composition database [32] that we used for estimating intake of energy, macronutrients, and B vitamins (B2, B6, B9, B12). To assess methionine intake, we used existing estimates for the INCA2 food items that were provided by a recent study and derived from French published analyses and international databases [33]. Finally, we used a specific food composition table from the US Department of Agriculture (USDA) National Nutrient Database for assessing choline and betaine intake [34], following a methodology similar to that used for methionine (see Method S3).

When we matched the EDEN FFQ food items and the INCA2 food items, we sometimes had to combine several INCA2 items to characterize a more generic EDEN FFQ one (i.e., various types of beef). In these cases, we used information for the frequency of food consumption by adult French women 18 to 50 years old for each of these food items in the INCA2 study [31] to compute an average weighted nutrient composition for the corresponding EDEN one.

These weights were then applied in estimating each nutrient or vitamin intake per EDEN FFQ item (see Method S2).

2.3. Other Collected Data

We collected parity, gestational age, child sex, and anthropometry at birth from medical records. We calculated z-scores for birth weight, length, and head circumference according to the French Audipog reference [35], which accounts for gestational age at birth and sex. Infants with a weight z-score strictly lower than the 10th percentile or strictly higher than the 90th percentile were classified as small for gestational age (SGA) or large for gestational age (LGA), respectively. Premature birth was defined as gestational age < 37 weeks' gestation.

Sociodemographic and pregnancy characteristics were recorded by interviews with the mothers by a midwife investigator at 6 months of pregnancy and after delivery. Maternal characteristics studied were country of birth (Europe, outside Europe), maternal age (18–25, 25–29, 30–34, ≥ 35 years), employment status (employed/student/staying at home, parental leave, unemployed, or other), maternal education level (at most lower secondary, upper secondary, post-secondary, or tertiary (Bachelor's, Master's, or doctoral level) according to the International Standard Classification of Education [36]), living with a partner (yes vs. no), and monthly household income (<1501, 1501–2300, 2301–3000, > 3000 €/month). Health-related variables included smoking during pregnancy and were classified into three groups to identify non-smokers, moderate, and heavy smokers (never, 1–9 cigarettes/day, ≥ 10 cigarettes/day). Pre-pregnancy body mass index (BMI) was calculated as reported weight (kg) divided by measured height² (m²) and classified into 4 categories according to the World Health Organization thresholds: underweight (<18.5 kg/m²), normal weight (18.5 to <25 kg/m²), overweight (25.0 to <30 kg/m²), and obese (≥ 30 kg/m²).

Information on dietary supplements was collected from maternal self-completed questionnaires: at inclusion for supplementation in the 3 months before pregnancy and after delivery for supplementation during pregnancy. We had information on consumption of mixed multivitamins/minerals or the use of single micronutrients, among which we selected vitamins B2, B6, and B9 (folic acid).

We classified the variable “vitamin supplementation” into the following four categories: no supplementation, supplementation only before pregnancy, supplementation only during pregnancy, and supplementation before and during pregnancy.

2.4. Sample Selection

Mothers who did not complete the FFQ ($n = 37$), with more than 3 items missing ($N = 155$), with implausible food group values ($N = 2$), or with extreme total energy intake ≤ 1000 or ≥ 5000 kcal/day ($N = 101$) were excluded from the RRR analysis. Those for whom infant birth weight was not available (early termination of pregnancy, delivery outside the study hospitals or lost to follow-up) were excluded ($N = 69$) from subsequent analyses. Figure 1 summarizes the steps of the population selection; 1638 women were included in the final multivariate analysis.

2.5. Missing Data Imputation

We performed multiple imputation of missing data for confounders and outcomes (birth length and head circumference) (Table S1). We included all variables providing information for the imputation process (sociodemographic factors, medical information, and birth characteristics) after ranking them in ascending order of missing data. We assumed that data were missing at random and generated 5 independent imputed datasets by using the fully conditional specification method. The results of the imputed datasets were combined by using the SAS “MI analyze” procedure, and standard errors were calculated by using Rubin's rules, which take into account the variability between the multiple regressions in imputed datasets [37,38]. Categorical variables were imputed by using a multinomial model, binary and ordinal variables by logistic regression, and continuous variables by linear regression.

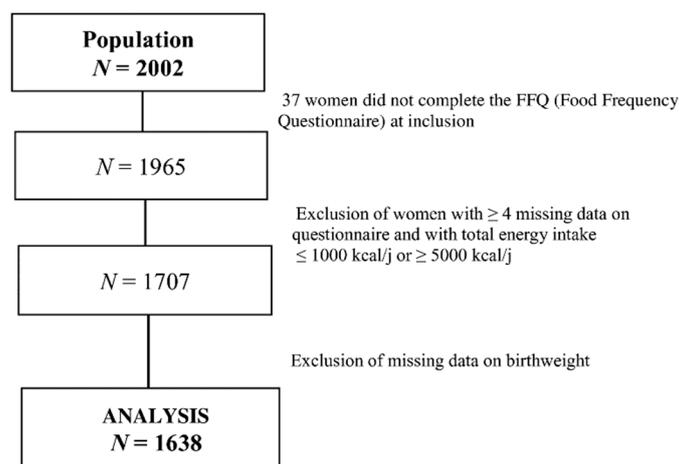


Figure 1. Flow chart of the selection of women included in the analysis.

2.6. Statistical Analysis

2.6.1. Dietary Patterns

The RRR method was used to determine the linear combinations of predictors (food groups) that explain as much as possible of the variation in the response, or nutrients variables (also called “intermediate” variables). Before using the RRR method, the 137 food items in the EDEN cohort were grouped into 36 major food groups or specific food items for those that were particularly rich in specific OCM nutrients, such as whole grain bread, avocado, and broccoli (Table S2). More than half of the sample consumed at least one food of the 36 food groups.

We used the 36 food items as predictor variables and the log-transformed nutrient variables (folates; vitamins B12, B2, and B6; betaine; choline; and methionine) as response variables. Confounding by total energy intake is a major point to address because women who consume more energy may also have higher consumption of specific nutrients [39]. Therefore, we pre-adjusted nutrient intake (response variables) for total energy intake and used the residuals of the regression models for each nutrient in the RRR analysis. The analysis was conducted using the proc pls and “RRR” option in SAS [23]. Factor loadings above a threshold of 0.20 were used to characterize the seven dietary patterns derived. For each woman, a score was calculated for each dietary pattern; it was the sum of the z-standardized average daily intake of the 36 food items multiplied by the corresponding weight provided by the RRR analysis.

2.6.2. Descriptive Statistics

Characteristics of mothers and their children are described with mean \pm SD and n (%) before imputation. Unadjusted associations between demographic, socioeconomic and health maternal characteristics, and the scores for each selected dietary pattern were tested by ANOVA, with $p < 0.05$ considered statistically significant.

2.6.3. Association with Outcomes

We analyzed the association between selected dietary pattern scores and birth weight, length, and head circumference z-scores (hereafter called “birth weight, length or head circumference at birth”) and gestational age by multivariable linear regression. Because the effect of micronutrient intake might differ whether or not they were provided by supplementation, interaction terms between the pattern scores and maternal supplement intake before pregnancy were systematically tested (in the complete-cases analysis). We also tested interaction terms between each pattern scores and offspring sex (in the complete cases analysis). No interaction terms were significant neither for birth weight nor for birth length ($p > 0.05$).

We also assessed the association between vitamin supplementation and infant anthropometry at birth. Logistic regression was used for analyzing the risk of SGA (as compared with non-SGA) or LGA (as compared with non-LGA), and prematurity. We adjusted gestational age and prematurity for infant sex. Betas (β) or odds ratios (ORs) and 95% confidence intervals (CIs) were calculated per 1 SD of the dietary pattern score.

Potential confounding factors were selected from the literature and their bivariate associations with our factors of interest. Therefore, all models were adjusted for center, maternal education level, maternal age, employment status, monthly household income, parity, smoking during pregnancy, BMI, and vitamin supplementation before and during pregnancy if appropriate. Maternal BMI was taken into account with a power three factor. As a complementary analysis, we used dietary pattern score quintiles to illustrate the shape of the association with birth size.

Finally, as a sensitivity analysis, we re-ran all the analyses restricted to complete cases (i.e., without any missing data for exposure, outcome, and covariates).

3. Results

3.1. Population Characteristics

The characteristics of the women selected for analysis ($N = 1638$) are summarized in Table 1. Mean maternal age was 30 years and women were mainly born in Europe (97%) and were employed (77%). Many had a tertiary education level (34%). About 26% of mothers smoked during pregnancy and more than 26% were overweight or obese at the beginning of pregnancy. Only 8.7% of women received vitamin and/or mineral supplementation within the three months before pregnancy and about 26% received supplementation only during pregnancy.

Table 1. Characteristics of women selected for analysis ($N = 1638$).

Sociodemographic Data	Missing Data n (%)	Population
Recruitment center, n (%)	0 (0)	-
Poitiers		809 (49.4)
Nancy		829 (50.6)
Maternal age (years), mean \pm SD	0 (0)	29.7 \pm 4.9
Country of birth, n (%)	108 (6.6)	-
Europe		1489 (97.3)
Maternal education level, n (%)	12 (0.7)	-
Lower secondary school		421 (25.9)
Upper secondary school		291 (17.9)
Post-secondary		367 (22.6)
Tertiary		547 (33.6)
Employment status, n (%)	13 (0.8)	-
Employed		1245 (76.6)
Student		43 (2.6)
Staying at home		337 (20.7)
Monthly household income (euros), n (%)	9 (0.5)	-
<1501		246 (15.1)
1501–2300		463 (28.4)
2301–3000		438 (26.9)
> 3000		482 (29.6)
Living with a partner (Yes), n (%)	9 (0.5)	880 (54.0)
Smoking before pregnancy (Yes), n (%)	20 (1.2)	-
No		1040 (64.3)
1–9/day		209 (12.9)
At least 10/day		369 (22.8)
Pregnancy		

Table 1. Cont.

Sociodemographic Data	Missing Data n (%)	Population
Gestational age (Weeks) *, mean ± SD	0 (0)	39.2 ± 1.7
Primiparous (Yes), n (%)	2 (0.12)	731 (44.7)
Vitamin supplementation, n (%)		-
No		930 (57.2)
Before pregnancy	12 (0.73)	142 (8.7)
During pregnancy		423 (26)
Before and during pregnancy		131 (8.1)
Smoking during pregnancy (Yes), n (%)	41 (2.5)	-
No		1185 (74.2)
1–9/day		338 (21.2)
At least 10/day		74 (4.6)
Pre-pregnancy BMI, n (%)	33 (2.0)	-
Underweight (<18.5 kg/m ²)		134 (8.3)
Normal (18.5 to <25 kg/m ²)		1060 (66)
Overweight (25.0 to <30 kg/m ²)		289 (18)
Obesity (≥30 kg/m ²)		122 (7.6)
Child sex, n (%)	0 (0)	-
Male		867 (52.9)
Female		771 (47.1)
Birth weight z-score ¹ , mean ± SD	0 (0)	−0.02 ± 1.0
Birth length z-score ¹ , mean ± SD	47 (2.9)	−0.01 ± 1.0
Head circumference z-score ¹ , mean ± SD	97 (5.8)	0.04 ± 0.8
Small for gestational age ² , n (%)	0(0)	157 (9.6)
Large for gestational age ² , n (%)	0(0)	-
Prematurity (<37 Weeks) *, n (%)	0(0)	121 (7.4)
		91 (5.6)

* WA, weeks' gestation. ¹ Birth weight z-score according to the French Audipog reference [35]. ² Birth weight categories to assess fetal growth: small for gestational age (<10th percentile) or large for gestational age (>90th percentile), according to the French Audipog reference [35].

3.2. Dietary Pattern Scores

Three of the seven patterns resulting from the reduced rank regression explained 58% of the considered variation in intake of nutrient (response) variables (Table 2). The first pattern, “varied and balanced”, was characterized by a high intake of low-fat milk, meat, liver, fish, eggs and egg dishes, cereals, mixed vegetables, chicory, leeks and cabbage, and broccoli and a low intake of snacks and confectionery and sugar-sweetened beverages. This pattern was characterized by high positive coefficients for B vitamins, choline, and methionine (0.37–0.44), but a lower coefficient for betaine (0.16) (Table 3). The second pattern, “vegetarian tendency”, explaining 14.5% of the variation in intake of nutrient variables, was characterized by a high intake of fruits, chicory, mixed vegetables, cereals, and bread, and a low intake of meat and liver. This pattern had a positive and high response score for B6 and B9 vitamins and betaine (0.38–0.51) and negative coefficients for vitamin B12, choline and methionine. The third pattern, “bread and starchy food”, explaining 8.3% of response variation, was characterized by a high intake of bread, sandwiches and rice, pasta and other grains, and a low intake of low-fat milk, fruits, fruit juices, and sugar-sweetened beverages. This pattern had a high coefficient for betaine (0.84) and negative coefficients for vitamins B2, B6, and B9. The other profiles are not presented because they did not display a specific pattern and each explained less than 4% of the variation in intake of nutrient variables. As a complementary result, Table S3 described the OCM nutrient intake (mean ± SD) per tertile of each dietary pattern, and shows as reference the current French and international (for choline) recommendations.

Table 2. Reduced rank regression factor loadings for the dietary patterns in the year before pregnancy in the EDEN cohort (N = 1707): selection of the first three dietary patterns.

Food Groups	Dietary Pattern 1	Dietary Pattern 2	Dietary Pattern 3
Explained Variation ^a	35	14	8
Low-fat milk	0.31 *	-0.04	-0.26 *
Other vegetables	0.31 *	0.33 *	0.00
Fish	0.29 *	-0.06	0.17
Meat	0.29 *	-0.32 *	0.20
Chicory	0.26 *	0.28 *	0.03
Leek, cabbage	0.23 *	0.16	-0.01
Eggs and egg dishes	0.23 *	-0.13	0.05
Cereals	0.22 *	0.36 *	-0.07
Broccoli	0.21 *	0.15	0.01
Liver	0.21 *	-0.28 *	-0.01
Fruits	0.19	0.41 *	-0.27 *
Water	0.16	0.11	0.02
Soya	0.16	0.11	-0.03
Whole grain bread	0.10	0.18	0.16
Hight-fat milk and cream	0.08	0.04	-0.24
Coffee, tea	0.07	0.00	-0.05
Avocado	0.06	0.11	-0.04
Bread	-0.006	0.21 *	0.53 *
Boiled or baked potatoes	0.04	0.00	0.00
Cheese	0.03	-0.12	-0.10
Rice, pasta, and others	0.03	0.06	0.36 *
Sauces	0.01	0.05	0.02
Nuts and seeds	-0.003	0.12	-0.12
Cold meats	-0.004	-0.18	0.02
Fruit juice	-0.02	0.18	-0.31 *
Ready-to-eat foods	-0.02	-0.09	0.13
Honey, jam	-0.04	0.09	0.04
Ice cream	-0.05	-0.01	-0.09
Fried or roasted potatoes	-0.08	-0.14	-0.03
Chocolate bar	-0.09	-0.05	-0.11
Butter	-0.10	-0.00	0.04
Alcohol	-0.10	-0.03	-0.03
Sandwich	-0.11	-0.04	0.22 *
Cakes, pastry	-0.19	-0.01	0.04
Snacks and confectionery	-0.20 *	-0.003	-0.10
Sugar-sweetened beverages	-0.29 *	-0.09	-0.23 *

^a Explained Variation in all responses or nutrients variables from the reduced-rank regression, * Factor loading ≥ 0.20.

Table 3. One-carbon metabolism nutrient intake in the year before pregnancy and association with the three dietary patterns resulting from the reduced-rank regression analysis in the EDEN cohort (N = 1707).

	Associations with Dietary Patterns **			
	Pre-conception Nutrient Intake *	Varied and Balanced	Vegetarian Tendency	Bread and Starchy Food
Vitamin B2 (mg/day)	2.27 ± 0.9	0.41	0.01	-0.33
Vitamin B6 (mg/day)	1.92 ± 0.8	0.44	0.38	-0.13
Vitamin B9 (µg/day)	379.47 ± 165	0.37	0.51	-0.30
Vitamin B12 (µg/day)	6.06 ± 3.7	0.37	-0.46	0.09
Choline (mg/day)	386.89 ± 149	0.43	-0.22	0.11
Betaine (mg/day)	198.42 ± 77.3	0.16	0.42	0.84
Methionine (mg/day)	2.09 ± 0.9	0.39	-0.40	0.23

* mean ± SD value of nutrient consumption during the year before pregnancy. ** coefficients of the responses (nutrients variables) scores for the three dietary patterns. A high response score for the “varied and balanced” factor reflects a diet rich in major OCM nutrients excepted for betaine.

3.3. Associations between Maternal Characteristics and Dietary Patterns

Younger women and those with a lower education level or who were unemployed had lower scores for the “varied and balanced” pattern than their counterparts, whereas women with a high monthly household income had higher scores for this pattern (Table 4). We found consistent associations for the “vegetarian tendency” pattern, except for maternal age, which was not associated with this pattern. In addition, students and primiparous women more frequently adhered to this pattern. Women with low maternal education or aged <25 years old had low scores on the “bread and starchy food” pattern. Smoking was associated with low scores on the “vegetarian tendency” and “varied and balanced” patterns. Underweight women less frequently ate a varied and balanced diet, whereas overweight women had low scores on the “vegetarian tendency” pattern. Women with vitamin supplementation before pregnancy had high scores on the “varied and balanced” pattern and had relatively high scores on the “vegetarian tendency” pattern compared to non-supplemented women ($p = 0.05$).

3.4. Association of Dietary Pattern Scores in the Year before Pregnancy with Birth Anthropometric Outcomes

On unadjusted linear regression, adherence to the “varied and balanced” pattern was positively associated with both birth weight ($p = 0.02$) and birth length ($p < 0.01$), and positively but not significantly associated with head circumference at birth ($p = 0.06$) (Table 5). After adjustment for maternal characteristics and pregnancy-related factors, the association with the “varied and balanced” diet decreased for birth weight ($p = 0.14$), birth length ($p = 0.08$), and head circumference at birth ($p = 0.43$) (Table 5). Using quintiles of scores for dietary patterns (Figure 2), we found that birth length increased across quintiles of the “varied and balanced” pattern (p for trend = 0.06).

On unadjusted logistic regression, the “bread and starchy food” pattern was associated with reduced probability of SGA ($p = 0.05$) and high scores on the “varied and balanced” pattern were associated with increased risk of LGA ($p < 0.01$). These associations were still significant in the adjusted model (Table S4). We found no significant association between the “vegetarian tendency” pattern and birth anthropometry. In the adjusted analyses, high scores on the “vegetarian tendency” pattern were associated with a low risk of prematurity ($p = 0.03$).

In adjusted analyses, vitamin supplementation during the three months before pregnancy was not significantly associated with birth size. Gestational length was shorter on average for women with supplementation before pregnancy ($p = 0.05$), but the risk of prematurity was not significantly higher (Table S4). We found no significant interactions between vitamin supplementation before pregnancy and dietary pattern scores in association with birth anthropometry (all $p > 0.05$).

Consistent results were found in the complete-case analysis, although with weaker associations between the “varied and balanced” pattern and both birth weight ($\beta = 0.02$ [95% CI $-0.02; 0.06$]) and birth length ($\beta = 0.03$ [95% CI $-0.01; 0.07$]).

Table 4. Unadjusted associations between maternal characteristics and dietary patterns (*N* = 1638).

Maternal Characteristics		Varied and Balanced β (95% CI)	Vegetarian Tendency β (95% CI)	Bread and Starchy Food β (95% CI)
Maternal age	<25	−0.34 [−0.51; −0.17]	−0.03 [−0.19; 0.13]	−0.16 [−0.30; −0.02]
	25–29	0 (reference)	0 (reference)	0 (reference)
	30–34	0.10 [−0.03; 0.23]	0.01 [−0.11; 0.13]	−0.08 [−0.19; 0.03]
	35	0.17 [0; 0.33]	0.04 [−0.11; 0.19]	−0.01 [−0.14; 0.13]
Country of birth	Non-Europe	0.27 [−0.09; 0.63]	−0.05 [−0.47; 0.38]	0.18 [−0.09; 0.46]
	Europe	0 (reference)	0 (reference)	0 (reference)
Maternal education level	Lower secondary school	−0.29 [−0.43; −0.14]	−0.42 [−0.55; −0.29]	−0.29 [−0.41; −0.17]
	Upper secondary school	−0.15 [−0.31; 0.01]	−0.25 [−0.39; −0.10]	−0.16 [−0.29; −0.02]
	Post-secondary	−0.13 [−0.28; 0.02]	−0.16 [−0.30; −0.03]	0 [−0.12; 0.12]
	Tertiary	0 (reference)	0 (reference)	0 (reference)
Employment status	Yes	0 (reference)	0 (reference)	0 (reference)
	Student	−0.04 [−0.38; 0.31]	0.38 [0.07; 0.69]	−0.17 [−0.46; 0.11]
	Staying at home	−0.22 [−0.36; −0.08]	−0.19 [−0.32; −0.07]	−0.11 [−0.22; 0.01]
Monthly household income (euros)	<1501	−0.08 [−0.25; 0.10]	−0.31 [−0.47; −0.15]	−0.1 [−0.25; 0.05]
	1501–2300	−0.04 [−0.19; 0.11]	−0.17 [−0.31; −0.04]	−0.2 [−0.32; −0.08]
	2301–3000	0 (reference)	0 (reference)	0 (reference)
	>3000	0.18 [0.04; 0.33]	0.07 [−0.07; 0.20]	−0.03 [−0.15; 0.1]
Smoking during pregnancy	No	0 (reference)	0 (reference)	0 (reference)
	1–9/day	−0.21 [−0.34; −0.07]	−0.2 [−0.32; −0.07]	−0.03 [−0.14; 0.08]
	At least 10/day	−0.65 [−0.92; −0.39]	−0.64 [−0.88; −0.40]	−0.11 [−0.34; 0.11]
Living with a partner	No	−0.11 [−0.22; 0]	−0.03 [−0.13; 0.07]	−0.04 [−0.13; 0.05]
	Yes	0 (reference)	0 (reference)	0 (reference)
Parity	Multiparous	0.01 [−0.10; 0.12]	−0.26 [−0.36; −0.16]	−0.01 [−0.10; 0.09]
	Primiparous	0 (reference)	0 (reference)	0 (reference)
Pre-pregnancy BMI *	Underweight	−0.44 [−0.65; −0.24]	−0.03 [−0.21; 0.16]	0.01 [−0.16; 0.18]
	Normal	0 (reference)	0 (reference)	0 (reference)
	Overweight	−0.01 [−0.16; 0.13]	−0.16 [−0.30; −0.03]	−0.1 [−0.22; 0.02]
	Obesity	−0.01 [−0.22; 0.20]	−0.34 [−0.54; −0.15]	−0.03 [−0.20; 0.15]
Vitamin supplementation	No	0 (reference)	0 (reference)	0 (reference)
	Before pregnancy	0.31 [0.11; 0.51]	0.18 [0; 0.36]	0.03 [−0.14; 0.20]
	During pregnancy	0.1 [−0.04; 0.23]	0.11 [−0.01; 0.23]	0.06 [−0.05; 0.17]
	Before and during pregnancy	0.11 [−0.10; 0.32]	0.13 [−0.06; 0.32]	−0.02 [−0.19; 0.15]

95% CI, 95% confidence interval. * Pre-pregnancy BMI: underweight as defined <18.5 kg/m²; normal weight 18.5 to <25 kg/m²; overweight 25.0 to <30 kg/m²; obese ≥30 kg/m².

Table 5. Association between dietary patterns in the year before pregnancy or vitamin supplementation and neonatal anthropometry at birth or gestational age (N = 1638) after multiple imputation: unadjusted and adjusted models.

Dietary Patterns	Birth Weight z-score β (95% CI) *		Birth Length z-score β (95% CI) *		Head Circumference z-score β (95% CI) *		Gestational Age (Weeks) β (95% CI)	
	Unadjusted	Adjusted ^a	Unadjusted	Adjusted ^a	Unadjusted	Adjusted ^a	Unadjusted **	Adjusted ** ^a
Varied and balanced	0.05 [0.01; 0.09]	0.03 [−0.01; 0.07]	0.07 [0.03; 0.11]	0.04 [−0.01; 0.08]	0.03 [−0.002; 0.07]	0.01 [−0.02; 0.05]	−0.06 [−0.13; 0.02]	−0.05 [−0.12; 0.02]
Vegetarian tendency	0.01 [−0.03; 0.06]	0.01 [−0.04; 0.05]	0.03 [−0.02; 0.08]	0.01 [−0.04; 0.06]	0.02 [−0.02; 0.06]	0.01 [−0.03; 0.05]	0.05 [−0.03; 0.13]	0.04 [−0.04; 0.12]
Bread and starchy food	0.02 [−0.03; 0.07]	0.02 [−0.03; 0.07]	−0.03 [−0.08; 0.02]	−0.02 [−0.07; 0.03]	−0.03 [−0.07; 0.02]	−0.03 [−0.08; 0.01]	0.06 [−0.03; 0.15]	0.05 [−0.04; 0.14]
Vitamin supplementation								
No	0 (reference)	0 (reference)	0 (reference)	0 (reference)	0 (reference)	0 (reference)	0 (reference)	0 (reference)
Before pregnancy	−0.09 [−0.26; 0.08]	−0.09 [−0.26; 0.08]	−0.15 [−0.34; 0.03]	−0.12 [−0.30; 0.05]	−0.08 [−0.23; 0.07]	−0.08 [−0.22; 0.07]	−0.30 [−0.60; −0.004]	−0.33 [−0.63; −0.02]
During pregnancy	−0.06 [−0.17; 0.05]	−0.08 [−0.19; 0.03]	−0.07 [−0.19; 0.05]	−0.07 [−0.19; 0.04]	−0.04 [−0.14; 0.06]	−0.07 [−0.17; 0.03]	−0.08 [−0.27; 0.12]	−0.11 [−0.30; 0.09]
Before and during pregnancy	0.04 [−0.14; 0.22]	0.07 [−0.11; 0.24]	0.01 [−0.19; 0.19]	0.03 [−0.15; 0.22]	−0.02 [−0.18; 0.13]	−0.04 [−0.20; 0.12]	−0.04 [−0.35; 0.27]	−0.05 [−0.36; 0.27]

^a adjusted for center, maternal education level, maternal age, employment status, monthly household income, parity, smoking during pregnancy, body mass index, and vitamin supplementation. * Birth z-scores according to the French Audipog reference [35]. ** Gestational age: adjusted for infant sex. β values of linear regression and 95% CIs for 1 SD of dietary pattern score.

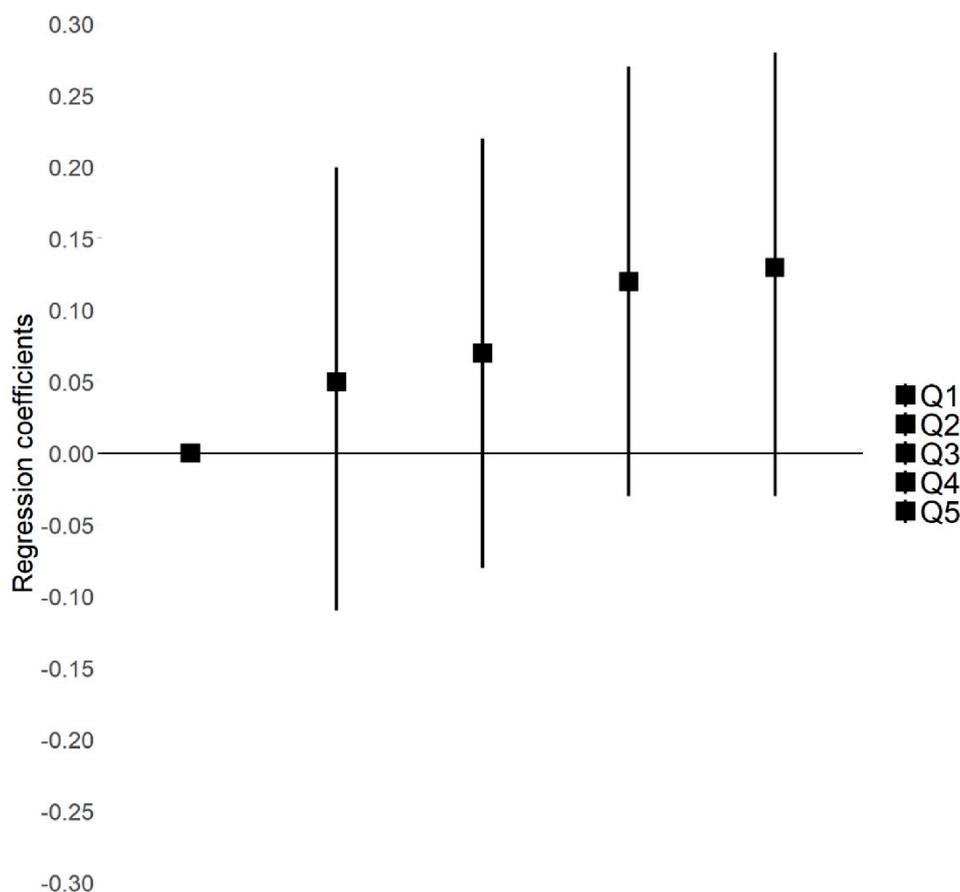


Figure 2. Linear regressions for birth length z-score by quintiles of “varied and balanced” pattern scores: analysis after multiple imputation ($N = 1638$). Q1 to Q5 are quintiles 1 to 5. Q1 (first quintile) is the reference. p -trend = 0.06. Model adjusted for center, maternal education level, maternal age, employment status, monthly household income, parity, smoking during pregnancy, body mass index, and vitamin supplementation. Birth length z-score according to the Audipog reference [35] β [95% CI].

4. Discussion

This study is the first attempt to evaluate the extent to which dietary patterns of OCM nutrient intake in the year before pregnancy are associated with fetal growth for women of childbearing age. The dietary patterns derived with the RRR method, with vitamins B2, B6, B9, and B12; choline; betaine; and methionine as intermediate variables, explained a substantial part (more than 58%) of the variation in intake of these micronutrients before pregnancy. Importantly, our study identified three patterns of maternal diet as the main source of OCM variability. A high score on the “varied and balanced diet” pattern correspond to a high intake of the main OCM micronutrients and a likely adequation with recommended intake for major OCM nutrients. The “vegetarian-tendency” pattern is related to high intake of vitamin B6, B9, and betaine to the detriment of others nutrients such as vitamin B12, choline, and methionine. The “bread and starchy food” pattern, is mainly characterized by betaine intake and a low level of B9 vitamins.

The nutrient intake according to dietary patterns that we found is consistent with previous studies showing that a high intake of plant-based foods may lead to high folate levels [40]. The INCA2 study showed that participants belonging to “traditional” or “diversified” dietary clusters had a greater vitamin intake, whereas adults with processed food or sandwich consumption had a low vitamin intake [41]. Our patterns were consistent with the reported dietary sources of choline (eggs, meat, wheat germ) and betaine (wheat, bread, spinach) [42].

The association of dietary patterns with socioeconomic and other behaviors was consistent with results from other studies of dietary patterns of young pregnant or non-pregnant women [43–45]. Consumption of fruits, vegetables, whole grains, and fish was high in women with increased education [43,45]. Age was also positively associated with a dietary pattern characterized by high consumption of fruits and vegetables [45]. Smoking and a high BMI were negatively related to fruit intake [43].

Importantly, our study further focused on dietary patterns that explained the variability in intake of the OCM nutrients combined and fetal development during the pre-conception period, which is a crucial time window for fetal programming. Some studies showed the association of single OCM micronutrients provided by the maternal diet or supplementation with both brain development and optimal birth weight [5,8,11,46]. However, single OCM nutrient studies do not take into account the associations between one OCM nutrient and the other OCM nutrients, although they collectively play a role in the underlying metabolism.

Our results suggest little evidence for an association between the “varied and balanced diet” score before pregnancy and birth weight, length, and head circumference. A high adherence to this pattern was also associated with an increased risk of LGA, which might be related more to longer length than increased adiposity. However, we found no relation between scores on the “vegetarian tendency” pattern and anthropometric measurements at birth. A pre-pregnancy varied and balanced diet providing a variety of nutrients may be best to support fetal development. Conversely, the vegetarian tendency pattern, although characterized by high intake of vitamins B6 and B9 also featured low vitamin B12 consumption, which may be less optimal for fetal growth. These results are consistent with studies highlighting the effect of multiple micronutrient supplementation for fetal growth [18,19].

Our finding of a high adherence to the “vegetarian tendency” pattern associated with reduced risk of prematurity is consistent with a review showing the importance of adequate folate status to avoid risk of prematurity [10]. However, another meta-analysis did not find any beneficial effects of folate supplementation during pregnancy on length of gestation [8].

The third pattern, “bread and starchy food,” contributed mainly to the variability in betaine intake and was associated with reduced risk of SGA not modified by adjustments for confounders. This pattern was less associated with maternal characteristics. Conversely, two studies showed that plasma betaine concentration during the second trimester was associated with smaller infant birth size, birth weight, and less abdominal fat mass [13,16]. Few other studies have evaluated the role of betaine for fetal growth, and controversial results might be explained by differences in measures of betaine intake or chance findings.

Although our dietary patterns were driven by the variability in content of OCM nutrients in the maternal diet, other aspects of the diet (macronutrients, fibers . . .) may also explain the observed associations, especially for the “varied and balanced” and “vegetarian tendency” patterns.

We did not find any association between vitamin supplementation and anthropometry at birth. Only a few women (8%) had vitamin supplementation before pregnancy and maintained this consumption during pregnancy. We did not have information on the duration of supplementation and whether it concerned specific trimesters during pregnancy. This lack of information precluded a more detailed analysis of the different vitamins or minerals used for supplementation. However, we found a positive association between vitamin supplementation before pregnancy and high scores on the “varied and balanced” pattern. A study of the NutriNet-Santé cohort showed that dietary supplement users had a high dietary intake of most vitamins and minerals [47].

Pre-conceptional vitamin supplementation was significantly associated with reduced gestational length, three days on average, with no association with risk of prematurity. This finding may be explained by reverse causation: women more at risk of gestational complications are more likely to be followed before pregnancy and then initiate early vitamin supplementation.

4.1. Strengths and Limitations

This study provides new insights into the characteristics of the diet of women of childbearing age before pregnancy in light of its contribution to the combined intake of micronutrients essential for fetal development. As compared with other dietary pattern approaches, the RRR technique was particularly useful because of its multivariate approach combined with existing knowledge of diet–disease associations and may help provide a novel understanding of the pathways by which diet influences health. Associations between food groups and nutrients can be used to interpret the effects of food groups as components of dietary patterns. We also used a multiple imputation technique to limit bias due to missing data for our variables of interest and confounders.

Among the limitations is the questionable accuracy of self-reported data on diet before pregnancy and supplementation before pregnancy and during pregnancy. Women may have under- or over-reported their consumption of specific food groups (e.g., social desirability for the diet or dietary habits). However, the accuracy might be similar for information collected by a health professional.

In our study, women with disadvantaged social status and possibly more nutritional deficiencies were under-represented, which may explain in part why we did not find stronger associations with fetal growth. Moreover, residual confounding cannot be ruled out, and thus, these results need replication.

4.2. Perspectives

The role of nutrition in OCM and DNA methylation has been more extensively studied in animal models than epidemiological studies. However, recent human research has indicated that altered consumption of methyl donors may affect the fetal epigenome [7]. One study conducted in Gambia found that infants conceived during the dry or wet season (with significant seasonal variation in nutrients) had different levels of DNA methylation at a number of sites correlated with their methyl-donor micronutrient status [26,48]. In another study, maternal diet and supplemental intake of methyl-group donors in the periconception period were associated with modifications in DNA methylation of buccal cells in genes selected for their involvement in growth and metabolism [49]. New evidence has demonstrated that epigenetic mechanisms may be involved in early development but also in later health and disease development [50]. Therefore, the associations between dietary patterns and placental and cord blood methylation need further study. The replication of results for the association between OCM nutrients on fetal growth and the study of more specific aspects of development, such as neural development, are also necessary.

5. Conclusions

This study identified three patterns describing the variability of the combined intake of OCM nutrients in the diet of French women of childbearing age. High adherence to a pattern associated with the combined intake of all major OCM nutrients may have a small contribution to fetal linear growth. In this sample of French women without large nutritional deficiencies, we did not find any evidence that the variation in intake of micronutrients implicated in methylation-related pathways, have major effect on fetal growth.

Supplementary Materials: The following are available online at <http://www.mdpi.com/2072-6643/12/3/838/s1>, Table S1: Details of the method used for multiple imputation ($N = 1638$), Table S2: Composition of the 36 food groups considered for generating dietary patterns with the reduced-rank regression method, Table S3: Mean \pm SD of OCM nutrients in the year before pregnancy according to tertiles of each pattern and comparison with recommendations (when they are known), Table S4: Association between dietary patterns in the year before pregnancy or vitamin supplementation and risk of small-for-gestational age (SGA) or large-for-gestational age (LGA) and prematurity ($N = 1638$) after multiple imputation: unadjusted and adjusted models, Method S1: STROBE-nut statement, Method S2: French assignment between INCA2 food item and EDEN food-frequency questionnaire (FFQ) and calculation of the OCM nutrients intake, Method S3: Choline and betaine intake assessment.

Author Contributions: Conceptualization, M.L., B.H., M.-A.C.; Methodology, M.L., A.F., B.d.L.-G., S.L., B.H., M.-A.C., E.d.G.; Software, N/A; Validation, S.L., B.d.L.-G., B.H., M.-A.C.; Formal analysis, M.L., B.H.; Investigation, B.H., M.-A.C.; Resources, B.H., M.-A.C.; Data curation, A.F., M.L.; Writing—original draft preparation, M.L., B.H.,

M.-A.C.; Writing—review and editing, M.L., S.L., B.d.L.-G., E.d.G., F.M., A.F., B.H., M.-A.C.; Visualization, M.L.; Supervision, M.-A.C., B.H.; Project administration, M.-A.C., B.H.; Funding acquisition, M.L., M.-A.C., B.H., B.H., and M.-A.C. contributed and supervised equally to the work of this article. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: The EDEN study was supported by Foundation for medical research (FRM), National Agency for Research (ANR), National Institute for Research in Public health (IRESP: TGIR cohorte santé 2008 program), French Ministry of Health (DGS), French Ministry of Research, INSERM Bone and Joint Diseases National Research (PRO-A), and Human Nutrition National Research Programs, Paris-Sud University, Nestlé, French National Institute for Population Health Surveillance (InVS), French National Institute for Health Education (INPES), the European Union FP7 programs (FP7/2007–2013, HELIX, ESCAPE, ENRIECO, Medall projects), Diabetes National Research Program (through a collaboration with the French Association of Diabetic Patients (AFD)), French Agency for Environmental Health Safety (now ANSES), Mutuelle Générale de l'Éducation Nationale a complementary health insurance (MGEN), French national agency for food security, and French-speaking association for the study of diabetes and metabolism (ALFEDIAM). The funders had no role in the design and conduct of the study; in the collection, management, analysis, and interpretation of the data; and preparation, review, or approval of the manuscript.

Acknowledgments: The authors thank the EDEN mother-child cohort study group, whose members are I. Annesi-Maesano, J.Y. Bernard, J. Botton, M.A. Charles, P. Dargent-Molina, B. de Lauzon-Guillain, P. Ducimetière, M. de Agostini, B. Foliguet, A. Forhan, X. Fritel, A. Germa, V. Goua, R. Hankard, B. Heude, M. Kaminski, B. Larroquey, N. Lelong, J. Lepeule, G. Magnin, L. Marchand, C. Nabet, F. Pierre, R. Slama, M.J. Saurel-Cubizolles, M. Schweitzer, and O. Thiebaugeorges.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

Abbreviations

BMI, body mass index; CI, confidence intervals; DP, dietary pattern; FFQ, food-frequency questionnaire; OCM, one-carbon metabolism; LBW, low birth weight; LGA, large-for-gestational age; OR, odds ratios; RRR, reduced rank regression, SGA small-for-gestational age; USDA, US Department of Agriculture.

References

- Richard, K.; Holland, O.; Landers, K.; Vanderlelie, J.J.; Hofstee, P.; Cuffe, J.S.M.; Perkins, A.V. Review: Effects of maternal micronutrient supplementation on placental function. *Placenta* **2017**, *54*, 38–44. [[CrossRef](#)]
- Gernand, A.D.; Schulze, K.J.; Stewart, C.P.; West, K.P.; Christian, P. Micronutrient deficiencies in pregnancy worldwide: Health effects and prevention. *Nat. Rev. Endocrinol.* **2016**, *12*, 274–289. [[CrossRef](#)]
- Anderson, O.S.; Sant, K.E.; Dolinoy, D.C. Nutrition and epigenetics: An interplay of dietary methyl donors, one-carbon metabolism and DNA methylation. *J. Nutr. Biochem.* **2012**, *23*, 853–859. [[CrossRef](#)]
- Morse, N.L. Benefits of docosahexaenoic acid, folic acid, vitamin D and iodine on foetal and infant brain development and function following maternal supplementation during pregnancy and lactation. *Nutrients* **2012**, *4*, 799–840. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Ueland, P.M. Choline and betaine in health and disease. *J. Inherit. Metab. Dis.* **2011**, *34*, 3–15. [[CrossRef](#)]
- Wallace, T.C.; Blusztajn, J.K.; Caudill, M.A.; Klatt, K.C.; Natker, E.; Zeisel, S.H.; Zelman, K.M. Choline. *Nutr. Today* **2018**, *53*, 240–253. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- McGee, M.; Bainbridge, S.; Fontaine-Bisson, B. A crucial role for maternal dietary methyl donor intake in epigenetic programming and fetal growth outcomes. *Nutr. Rev.* **2018**, *76*, 469–478. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Fekete, K.; Berti, C.; Trovato, M.; Lohner, S.; Dullemeijer, C.; Souverein, O.W.; Cetin, I.; Decsi, T. Effect of folate intake on health outcomes in pregnancy: A systematic review and meta-analysis on birth weight, placental weight and length of gestation. *Nutr. J.* **2012**, *11*, 75. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Bergen, N.E.; Jaddoe, V.W.V.; Timmermans, S.; Hofman, A.; Lindemans, J.; Russcher, H.; Raat, H.; Steegers-Theunissen, R.P.M.; Steegers, E.A.P. Homocysteine and folate concentrations in early pregnancy and the risk of adverse pregnancy outcomes: The Generation R study. *BJOG Int. J. Obstet. Gynaecol.* **2012**, *119*, 739–751. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Fekete, K.; Berti, C.; Cetin, I.; Hermoso, M.; Koletzko, B.V.; Decsi, T. Perinatal folate supply: Relevance in health outcome parameters. *Matern. Child. Nutr.* **2010**, *6*, 23–38. [[CrossRef](#)]
- Rogne, T.; Tielemans, M.J.; Chong, M.F.-F.; Yajnik, C.S.; Krishnaveni, G.V.; Poston, L.; Jaddoe, V.W.V.; Steegers, E.A.P.; Joshi, S.; Chong, Y.-S.; et al. Associations of maternal vitamin B12 concentration in pregnancy with the risks of preterm birth and low birth weight: A systematic review and meta-analysis of individual participant data. *Am. J. Epidemiol.* **2017**, *185*, 212–223. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

12. Van Lee, L.; Crozier, S.R.; Aris, I.M.; Tint, M.T.; Sadananthan, S.A.; Michael, N.; Quah, P.L.; Robinson, S.M.; Inskip, H.M.; Harvey, N.C.; et al. Prospective associations of maternal choline status with offspring body composition in the first 5 years of life in two large mother-offspring cohorts: The southampton women's survey cohort and the growing up in singapore towards healthy outcomes cohort. *Int. J. Epidemiol.* **2019**, *48*, 433–444. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Van Lee, L.; Tint, M.T.; Aris, I.M.; Quah, P.L.; Fortier, M.V.; Lee, Y.S.; Yap, F.K.; Saw, S.M.; Godfrey, K.M.; Gluckman, P.D.; et al. Prospective associations of maternal betaine status with offspring weight and body composition at birth: The growing up in singapore towards healthy outcomes (GUSTO) cohort study. *Am. J. Clin. Nutr.* **2016**, *104*, 1327–1333. [[CrossRef](#)]
14. Hogeveen, M.; den Heijer, M.; Semmekrot, B.A.; Sporcken, J.M.; Ueland, P.M.; Blom, H.J. Umbilical choline and related methylamines betaine and dimethylglycine in relation to birth weight. *Pediatr. Res.* **2013**, *73*, 783–787. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Ivorra, C.; García-Vicent, C.; Chaves, F.J.; Monleón, D.; Morales, J.M.; Lurbe, E. Metabolomic profiling in blood from umbilical cords of low birth weight newborns. *J. Transl. Med.* **2012**, *10*, 142. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Du, Y.-F.; Wei, Y.; Yang, J.; Cheng, Z.-Y.; Zuo, X.-F.; Wu, T.-C.; Shi, H.-F.; Wang, X.-L. Maternal betaine status, but not that of choline or methionine, is inversely associated with infant birth weight. *Br. J. Nutr.* **2019**, *121*, 1279–1286. [[CrossRef](#)]
17. Monsen, A.-L.B.; Schneede, J.; Ueland, P.M. Mid-trimester amniotic fluid methionine concentrations: A predictor of birth weight and length. *Metabolism* **2006**, *55*, 1186–1191. [[CrossRef](#)]
18. Haider, B.A.; Bhutta, Z.A. Multiple-micronutrient supplementation for women during pregnancy. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2017**, *4*. [[CrossRef](#)]
19. Roberfroid, D.; Huybregts, L.; Lanou, H.; Henry, M.-C.; Meda, N.; Menten, J.; Kolsteren, P. MISAME Study Group Effects of maternal multiple micronutrient supplementation on fetal growth: A double-blind randomized controlled trial in rural Burkina Faso. *Am. J. Clin. Nutr.* **2008**, *88*, 1330–1340.
20. Ramakrishnan, U.; Grant, F.; Goldenberg, T.; Zongrone, A.; Martorell, R. Effect of women's nutrition before and during early pregnancy on maternal and infant outcomes: A systematic review. *Paediatr. Perinat. Epidemiol.* **2012**, *26*, 285–301. [[CrossRef](#)]
21. Gleason, P.M.; Boushey, C.J.; Harris, J.E.; Zoellner, J. Publishing nutrition research: A review of multivariate techniques—part 3: Data reduction methods. *J. Acad. Nutr. Diet.* **2015**, *115*, 1072–1082. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Johnson, L.; Mander, A.P.; Jones, L.R.; Emmett, P.M.; Jebb, S.A. Energy-dense, low-fiber, high-fat dietary pattern is associated with increased fatness in childhood. *Am. J. Clin. Nutr.* **2008**, *87*, 846–854. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Hoffmann, K.; Schulze, M.B.; Schienkiewitz, A.; Nöthlings, U.; Boeing, H. Application of a new statistical method to derive dietary patterns in nutritional epidemiology. *Am. J. Epidemiol.* **2004**, *159*, 935–944. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Frank, L.K.; Jannasch, F.; Kröger, J.; Bedu-Addo, G.; Mockenhaupt, F.P.; Schulze, M.B.; Danquah, I. A dietary pattern derived by reduced rank regression is associated with type 2 diabetes in an urban ghanaian population. *Nutrients* **2015**, *7*, 5497–5514. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Michels, K.B.; Schulze, M.B. Can dietary patterns help us detect diet-disease associations? *Nutr. Res. Rev.* **2005**, *18*, 241–248. [[CrossRef](#)]
26. Dominguez-Salas, P.; Cox, S.E.; Prentice, A.M.; Hennig, B.J.; Moore, S.E. Maternal nutritional status, C(1) metabolism and offspring DNA methylation: A review of current evidence in human subjects. *Proc. Nutr. Soc.* **2012**, *71*, 154–165. [[CrossRef](#)]
27. Lachat, C.; Hawwash, D.; Ocké, M.C.; Berg, C.; Forsum, E.; Hörnell, A.; Larsson, C.; Sonestedt, E.; Wirfält, E.; Åkesson, A.; et al. Strengthening the reporting of observational studies in epidemiology—Nutritional epidemiology (STROBE-nut): An extension of the strobe statement. *PLoS Med.* **2016**, *13*, e1002036. [[CrossRef](#)]
28. Heude, B.; Forhan, A.; Slama, R.; Douhaud, L.; Bedel, S.; Saurel-Cubizolles, M.-J.; Hankard, R.; Thiebaugeorges, O.; De Agostini, M.; Annesi-Maesano, I.; et al. Cohort Profile: The EDEN mother-child cohort on the prenatal and early postnatal determinants of child health and development. *Int. J. Epidemiol.* **2016**, *45*, 353–363. [[CrossRef](#)]

29. Deschamps, V.; de Lauzon-Guillain, B.; Lafay, L.; Borys, J.-M.; Charles, M.A.; Romon, M. Reproducibility and relative validity of a food-frequency questionnaire among French adults and adolescents. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2009**, *63*, 282–291. [CrossRef]
30. Hercberg, S.; Deheeger, M.; Preziosi, P. *SU.VI.MAX Portions Alimentaires: Manuel-Photos Pour L'estimation des Quantités*; Economica, Ed.; Polytechnica: Paris, France, 2002; p. 132.
31. Dubuisson, C.; Lioret, S.; Touvier, M.; Dufour, A.; Calamassi-Iran, G.; Volatier, J.-L.; Lafay, L. Trends in food and nutritional intakes of French adults from 1999 to 2007: Results from the INCA surveys. *Br. J. Nutr.* **2010**, *103*, 1035–1048. [CrossRef]
32. Ciqual Table de Composition Nutritionnelle des Aliments. Available online: <https://ciqual.anses.fr/> (accessed on 5 October 2019).
33. De Gavelle, E.; Huneau, J.-F.; Bianchi, C.M.; Verger, E.O.; Mariotti, F. Protein adequacy is primarily a matter of protein quantity, not quality: Modeling an increase in plant: Animal protein ratio in french adults. *Nutrients* **2017**, *9*, 1333. [CrossRef] [PubMed]
34. USDA Department of Agriculture; the Agricultural Research Service. Usda Branded Food Products Database. Nutrient Data Laboratory. Available online: <https://www.usda.gov/> (accessed on 10 May 2018).
35. Mamelle, N.; Munoz, F.; Grandjean, H. [Fetal growth from the AUDIPOG study. I. Establishment of reference curves]. *J. Gynécologie Obstétrique Biol. Reprod.* **1996**, *25*, 61–70.
36. International Standard Classification of Education (ISCED). Available online: <http://uis.unesco.org/en/topic/international-standard-classification-education-isced> (accessed on 3 February 2019).
37. Dong, Y.; Peng, C.-Y.J. Principled missing data methods for researchers. *SpringerPlus* **2013**, *2*, 222. [CrossRef]
38. Sterne, J.A.C.; White, I.R.; Carlin, J.B.; Spratt, M.; Royston, P.; Kenward, M.G.; Wood, A.M.; Carpenter, J.R. Multiple imputation for missing data in epidemiological and clinical research: Potential and pitfalls. *BMJ* **2009**, *338*, b2393. [CrossRef] [PubMed]
39. Willett, W.C.; Howe, G.R.; Kushi, L.H. Adjustment for total energy intake in epidemiologic studies. *Am. J. Clin. Nutr.* **1997**, *65*, 1220S–1228S. [CrossRef]
40. Sebastiani, G.; Herranz Barbero, A.; Borrás-Novell, C.; Alsina Casanova, M.; Aldecoa-Bilbao, V.; Andreu-Fernández, V.; Pascual Tutusaus, M.; Ferrero Martínez, S.; Gómez Roig, M.D.; García-Algar, O. The Effects of vegetarian and vegan diet during pregnancy on the health of mothers and offspring. *Nutrients* **2019**, *11*, 557. [CrossRef]
41. Bertin, M.; Touvier, M.; Dubuisson, C.; Dufour, A.; Havard, S.; Lafay, L.; Volatier, J.-L.; Lioret, S. Dietary patterns of French adults: Associations with demographic, socio-economic and behavioural factors. *J. Hum. Nutr. Diet. Off. J. Br. Diet. Assoc.* **2016**, *29*, 241–254. [CrossRef]
42. Zeisel, S.H.; Mar, M.-H.; Howe, J.C.; Holden, J.M. Concentrations of choline-containing compounds and betaine in common foods. *J. Nutr.* **2003**, *133*, 1302–1307. [CrossRef]
43. Stråvik, M.; Jonsson, K.; Hartvigsson, O.; Sandin, A.; Wold, A.E.; Sandberg, A.-S.; Barman, M. Food and Nutrient Intake during Pregnancy in Relation to Maternal Characteristics: Results from the NICE Birth Cohort in Northern Sweden. *Nutrients* **2019**, *11*, 1680. [CrossRef]
44. Koch, F.; Heuer, T.; Krems, C.; Claupein, E. Meat consumers and non-meat consumers in Germany: A characterisation based on results of the German National Nutrition Survey II. *J. Nutr. Sci.* **2019**, *8*, e21. [CrossRef]
45. Lioret, S.; McNaughton, S.A.; Crawford, D.; Spence, A.C.; Hesketh, K.; Campbell, K.J. Parents' dietary patterns are significantly correlated: Findings from the Melbourne Infant Feeding Activity and Nutrition Trial Program. *Br. J. Nutr.* **2012**, *108*, 518–526. [CrossRef] [PubMed]
46. De-Regil, L.M.; Peña-Rosas, J.P.; Fernández-Gaxiola, A.C.; Rayco-Solon, P. Effects and safety of periconceptional oral folate supplementation for preventing birth defects. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2015**. [CrossRef] [PubMed]
47. Pouchieu, C.; Lévy, R.; Faure, C.; Andreeva, V.A.; Galan, P.; Hercberg, S.; Touvier, M. Socioeconomic, lifestyle and dietary factors associated with dietary supplement use during pregnancy. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e70733. [CrossRef] [PubMed]

48. Waterland, R.A.; Kellermayer, R.; Laritsky, E.; Rayco-Solon, P.; Harris, R.A.; Travisano, M.; Zhang, W.; Torskaya, M.S.; Zhang, J.; Shen, L.; et al. Season of conception in rural gambia affects DNA methylation at putative human metastable epialleles. *PLoS Genet.* **2010**, *6*, e1001252. [[CrossRef](#)]
49. Pauwels, S.; Ghosh, M.; Duca, R.C.; Bekaert, B.; Freson, K.; Huybrechts, I.; Langie, S.A.S.; Koppen, G.; Devlieger, R.; Godderis, L. Maternal intake of methyl-group donors affects DNA methylation of metabolic genes in infants. *Clin. Epigenetics* **2017**, *9*, 16. [[CrossRef](#)]
50. Chango, A.; Pogribny, I.P. Considering maternal dietary modulators for epigenetic regulation and programming of the fetal epigenome. *Nutrients* **2015**, *7*, 2748–2770. [[CrossRef](#)]



© 2020 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

*An association between maternal weight change in the year before pregnancy
and infant birth weight: ELFE, a French national birth cohort study*

Plos Medicine Journal

RESEARCH ARTICLE

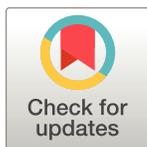
An association between maternal weight change in the year before pregnancy and infant birth weight: ELFE, a French national birth cohort study

Marion Lecorguillé^{1*}, Madalina Jacota², Blandine de Lauzon-Guillain¹, Anne Forhan¹, Marie Cheminat³, Marie-Aline Charles^{1,3‡}, Barbara Heude^{1‡}

1 Université de Paris, Centre of Research in Epidemiology and Statistics, INSERM, Institut national de la recherche agronomique, Paris, France, **2** APHP, Unité de Recherche Clinique, Hôpitaux Universitaires Paris île-de-France Ouest, Paris, France, **3** Institut national d'études démographiques, INSERM, Établissement français du sang, Joint Unit Elfe, Paris, France

‡ These authors are joint senior authors on this work.

* marion.lecorguille@inserm.fr



OPEN ACCESS

Citation: Lecorguillé M, Jacota M, de Lauzon-Guillain B, Forhan A, Cheminat M, Charles M-A, et al. (2019) An association between maternal weight change in the year before pregnancy and infant birth weight: ELFE, a French national birth cohort study. *PLoS Med* 16(8): e1002871. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002871>

Academic Editor: Kathleen Rasmussen, Cornell University, UNITED STATES

Received: March 6, 2019

Accepted: July 17, 2019

Published: August 20, 2019

Copyright: © 2019 Lecorguillé et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: Data cannot be shared publicly to conform with the EU General Data Protection regulation. Data are available from the ELFE Institutional Data Access / Ethics Committee (contact via <https://www.elfe-france.fr/en/the-research/access-to-data-and-questionnaires/>) for researchers who meet the criteria for access to confidential data.

Funding: ML received the PhD contract by the University Paris Descartes for this research. The

Abstract

Background

Weight-control interventions in pregnant women with overweight or obesity have limited effectiveness for fetal growth and birth outcomes. Interventions or prevention programs aiming at the pre-pregnancy period should be considered. However, how the woman's weight change before pregnancy affects fetal growth is not known. We investigated the association between weight change over the year before pregnancy and birth weight.

Methods and findings

We used the inclusion data of 16,395 women from the ELFE French national birth cohort, a nationally representative cohort in which infants were enrolled at birth with their families in 2011. Maternal weight change was self-reported and classified into 3 groups: moderate weight variation or stable weight, weight loss > 5 kg, and weight gain > 5 kg or both weight loss and gain > 5 kg. Multiple linear regression models were used to investigate the association between pre-pregnancy weight change and a birth weight z-score calculated according to the French Audipog reference, adjusted for a large set of maternal characteristics. The analyses were stratified by maternal body mass index (BMI) at conception (<25 versus ≥25 kg/m²) and adjusted for BMI within these categories. We used the MacKinnon method to test the mediating effect of gestational weight gain (GWG) on these associations. Mother's mean age was 30.5 years, 87% were born in France, and 26% had overweight or obesity. For women in either BMI category at conception, GWG was more than 2 kg higher, on average, for women with weight loss before pregnancy than for women with stable weight or moderate weight variation. For women with BMI < 25 kg/m² at conception, birth weight was significantly higher with weight loss than stable weight before pregnancy ($\beta = 0.08$ [95% CI 0.02; 0.14], $p = 0.01$), and this total effect was explained by a significant mediating effect

funder had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing interests: The authors have declared that no competing interests exist.

Abbreviations: BMI, body mass index; GWG, gestational weight gain; LGA, large for gestational age; SGA, small for gestational age.

through GWG. For women with BMI ≥ 25 kg/m² at conception, birth weight was not associated with pre-pregnancy weight loss during the year before pregnancy. Mediation analysis revealed that in these women, the direct effect of pre-pregnancy weight loss that would have resulted in a smaller birth weight z-score ($\beta = -0.11$ [95% CI $-0.19; -0.03$], $p = 0.01$) was cancelled out by the GWG. The mediating effect of GWG was even higher when weight loss resulted from a restrictive diet in the year before pregnancy. Weight gain before pregnancy was not associated with birth weight. Although we included a large number of women and had extensive data, the only potential cause of pre-pregnancy weight loss that was investigated was dieting for intentional weight loss. We have no information on other potential causes but did however exclude women with a history of pre-pregnancy chronic disease. Another limitation is declaration bias due to self-reported data.

Conclusions

Health professionals should be aware that GWG may offset the expected effect of weight loss before conception on fetal growth in overweight and obese women. Further studies are required to understand the underlying mechanisms in order to develop weight-control interventions and improve maternal periconceptional health and developmental conditions for the fetus.

Author summary

Why was this study done?

- Maternal obesity is associated with macrosomia at birth and long-term health consequences for the offspring.
- Results from weight-control interventions during pregnancy suggest that it is too late to address obesity consequences once the pregnancy has already started and that more attention should be paid to the preconception period.
- The impact of maternal weight changes before pregnancy on infant birth weight has not been thoroughly investigated.

What did the researchers do and find?

- We assessed the association between maternal reported weight changes during the year before pregnancy and infant birth weight in the ELFE French national birth cohort.
- For women with overweight and obesity, weight loss before pregnancy was associated with increased gestational weight gain compared to women with stable weight before pregnancy, which seemed to cancel out an expected reduction of infant birth weight.

What do these findings mean?

- For women with overweight and obesity, weight-control interventions before pregnancy could be beneficial for fetal growth. Health professionals should be aware of a potential weight gain rebound during pregnancy after a weight loss before pregnancy.
- Further studies are required to understand the role of weight changes in the preconception period in order to refine nutritional prevention messages for women of childbearing age.

Introduction

Reducing adverse pregnancy and fetal outcomes for women with overweight and obesity is a public health priority. Maternal obesity is a risk factor for maternal complications during pregnancy and for infants being large for gestational age (LGA) [1–3]. Also, maternal obesity during pregnancy has been associated with long-term health consequences for the offspring, such as increased body mass index (BMI) during infancy, childhood, and later life and increased risk of type 2 diabetes in adulthood [4,5]. Excessive gestational weight gain (GWG) can also contribute to increased risk of poor maternal and birth outcomes [1,6]. The Institute of Medicine recommends GWG ranges during pregnancy, according to pre-pregnancy BMI category, that are associated with good maternal and infant outcomes [7,8].

Some interventions to prevent or reduce obesity and its consequences have been implemented during the pregnancy period [9]. Lifestyle interventions during pregnancy could reduce GWG [10]. However, further studies have suggested that for women with overweight and obesity, diet and lifestyle interventions during pregnancy have very limited impact on other pregnancy outcomes, birth weight, and overweight risk in offspring [11–13]. These results are consistent with those from observational studies showing that high BMI before pregnancy was a stronger predictor of the risk of LGA than was excessive GWG [14]. Altogether, these results suggest that it is too late to address obesity consequences once the pregnancy has already started and that more attention should be paid to the preconception period.

The periconception period may represent a critical window during which nutritional exposure can influence embryo development and risk of obesity in the offspring. Similar maternal weight status at the start of pregnancy may result from distinct weight trajectories before pregnancy, which reflect particular nutritional and metabolic states. Different dynamics in preconception weight could specifically influence fetal growth and play a distinct role from the effect of nutritional stores during pregnancy. However, few studies have evaluated the association of maternal weight changes before pregnancy and fetal growth. Most human studies on this topic have addressed the impact of inter-pregnancy weight changes [15–17]. Epidemiological data have shown that in obese women, weight gain before pregnancy is associated with an increased risk of complications during pregnancy and macrosomia at birth [15–19]. Further studies have suggested decreased risk of LGA with weight loss between 2 pregnancies or after bariatric surgery for obese women [15,16,20]. However, increased risk of small for gestational age (SGA) has also been observed in association with bariatric surgery before pregnancy [21,22]. Weight loss before pregnancy could help reduce pregnancy and perinatal complications in overweight and obese women, but studies are needed to ensure that it has no harmful side effects. Conversely, women who were underweight at conception showed increased risk of preterm

delivery; another study showed, for those who lost weight before pregnancy, a risk of fetal growth restriction and low infant birth weight [23,24]. Hence, the consequences for pregnancy outcomes of weight change before pregnancy may differ according to maternal BMI status at conception.

Objective

This study aimed to investigate the association between maternal weight variation in the year before pregnancy and birth weight in a national birth cohort study in France. We hypothesized that maternal weight variation before pregnancy could be involved in the mechanisms programming fetal growth. Weight loss before pregnancy could be clinically relevant in overweight and obese women but not in normal-weight women, so we a priori stratified our analysis according to weight status at the beginning of pregnancy.

Methods

This study is reported as per the Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) guideline ([S1 STROBE guideline checklist](#)). A brief analysis plan was written and approved before starting statistical analyses ([S1 Protocol](#)).

Study

The ELFE study (Étude Longitudinale Française depuis l'Enfance) is a French national longitudinal birth cohort with more than 18,000 children included at birth. The rationale and design of the ELFE cohort were previously detailed [25]. Recruitment took place on 25 selected days during 4 periods in 2011. The inclusion criteria were birth at 33 weeks' amenorrhea or more, singleton or twin birth, and mother > 18 years, who gave informed consent and did not plan to leave metropolitan France within 3 years. Participation in the cohort was proposed to women who gave birth in 349 maternity hospitals randomly selected among the 544 public and private maternity hospitals in metropolitan France. Among eligible mothers, 51% agreed to participate ($N = 18,040$). The ELFE study was approved by an ethics committee (Comité de Protection des Personnes), the national committee on information concerning health research (Comité Consultatif sur le Traitement de l'Information en Matière de Recherche dans le domaine de la Santé), and the data protection authority (Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés).

Data collection

We used data collected from the following sources in the maternity wards after birth: medical records ([S1 Questionnaire](#)), face-to-face interviews ([S2 Questionnaire](#)), and self-administered questionnaires ([S3 Questionnaire](#)). A telephone questionnaire answered by the parents at 2 months after birth was also used to complete information on sociodemographic characteristics.

Preconception weight variations. The maternal self-administered questionnaire collected information on preconception weight variations during the year before pregnancy, with 5 possible answers: gain of >5 kg, gain of 2 to 5 kg, stable, loss of 2 to 5 kg, and loss of > 5 kg. We classified weight variation into 3 groups: weight loss > 5 kg; stable weight or moderate variation (absolute weight change ≤ 5 kg) (subsequently termed "stable weight"); and weight gain > 5 kg or both a loss > 5 kg and gain > 5 kg (subsequently termed "weight gain"). We grouped stable weight and moderate variation (absolute weight change ≤ 5 kg) in a single "stable weight" category because birth weight was not significantly different between the different

groups. Some women indicated both a weight gain > 5 kg and a loss > 5 kg in the year before pregnancy. Because these women were too few ($N = 191$) to be considered a separate group, they were grouped with the “weight gain” category.

The women also declared whether they had followed a restrictive diet to lose weight during the year before pregnancy.

Fetal growth and anthropometric measures. We collected gestational age, child sex, and anthropometry at birth from medical records. *z*-Scores for birth weight were calculated according to French Audipog reference [26] taking into account gestational age and sex at birth. We also wanted to give a clinical interpretation of the results and investigated birth weight *z*-score in the categories SGA (<10 th percentile), appropriate for gestational age (10th to 90th percentile), and LGA (>90 th percentile).

Maternal variables. Sociodemographic data collected included maternal age (continuous), parity, education level (lower secondary, upper secondary, post-secondary, or tertiary education) according to the International Standard Classification of Education [27], activity status at the beginning of pregnancy (staying at home [including housewife, parental leave, unemployment] versus employed or student), living with a partner (yes versus no), place of birth (born in France versus other country), and pregnancy caregiver (gynecologist, midwife, general practitioner or none, or multiple professionals).

Health-related variables collected included health insurance coverage (regular versus related to precarious situations), smoking before and during pregnancy (yes versus no), and GWG (continuous). Pre-pregnancy BMI was calculated as weight (kg) divided by height squared (m^2) and classified into 4 categories according to World Health Organization thresholds: underweight, <18.5 kg/m^2 ; normal weight, 18.5 to <25.0 kg/m^2 ; overweight, 25.0 to <30.0 kg/m^2 ; and obesity, ≥ 30.0 kg/m^2 . Maternal GWG was calculated as measured weight at the end of pregnancy minus weight before pregnancy as reported by mothers.

Preexisting type 1 or 2 diabetes or gestational diabetes and medical history of chronic hypertension or gestational hypertension were retrieved from medical records. In addition, medical history of chronic severe disease or disabilities recorded in the medical record was collected by the research assistant and coded according to the International Classification of Diseases, 10th revision.

Population selection

Among the 18,040 mothers, who gave birth to 18,328 infants included in the study, 56 withdrew from the study and asked for data deletion. We excluded 574 twins from the analyses, as well as 175 and 59 mothers with missing medical records and face-to-face interviews, respectively. Finally, we also excluded 842 women with a medical history before pregnancy that may result in weight changes (history of metabolic or endocrine disease, thyroid disease, autoimmune disease, depression, psychological disorder such as anorexia, epilepsy, digestive disease, Crohn disease, bariatric surgery, infectious disease, cancer or congenital anomaly, chronic hypertension, or type 1 or 2 diabetes). Finally, 227 records with missing data on BMI, a key stratification variable, were not considered in the analysis. Fig 1 summarizes the steps of the population selection, which resulted in data for 16,395 women included in the analysis.

Missing data imputation process

Most variables had less than 3% missing data, except for weight changes before pregnancy (collected by the self-administered questionnaire), which had about 13% missing data. Missing data for exposures, outcomes, and confounders were imputed using the SAS “MI” procedure. We compared women with and without a completed self-administered questionnaire and

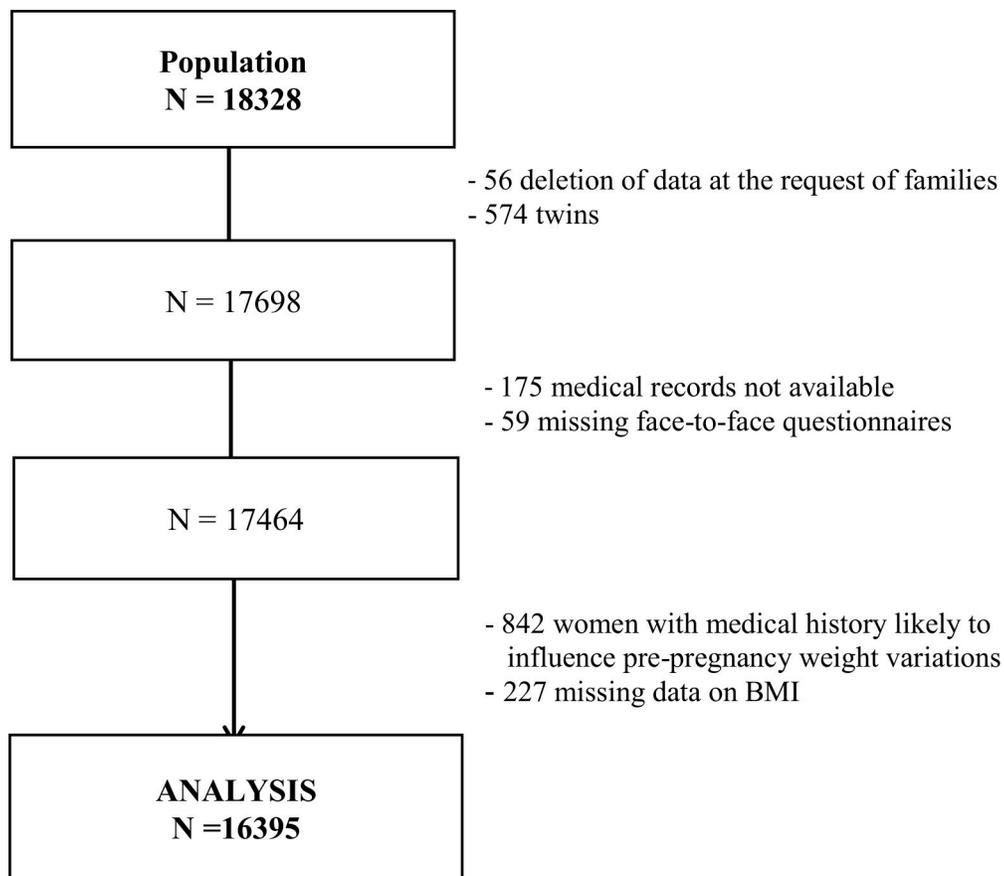


Fig 1. Selection of women for analysis.

<https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002871.g001>

included all variables with significant difference in the imputation process (sociodemographic factors, birth characteristics, and maternal medical history). We generated 5 imputed datasets using the fully conditional specification method (S1 Table). The results of different imputed datasets were combined using the SAS “MI analyse” procedure, and standard errors were calculated using Rubin’s rules, which take into account the variability between the multiple regressions in imputed datasets [28,29].

Statistical analysis

Characteristics of mothers and their children are described with mean ± SD and frequency (%) before imputation. We compared sociodemographic characteristics between women with different weight variations before pregnancy by chi-squared test for categorical variables and ANOVA for continuous variables, before imputation. Linear regression analyses were used to investigate the association between weight changes in the year before pregnancy and birth weight z-score (hereafter called “birth weight”). Logistic regression was used for analyzing the risk of SGA (SGA/no SGA) and LGA (LGA/no LGA). Women in the weight loss or gain group were compared to women with stable weight. We adjusted our analysis for the following confounders after careful selection based on directed acyclic graphs [30]: level of education, maternal age, smoking before and during pregnancy, place of birth, parity, health insurance coverage, and activity status. We stratified our analysis on weight status (i.e., maternal BMI at conception: <25 versus ≥25 kg/m²) for clinical considerations because weight loss before

pregnancy could be advised and beneficial in overweight and obese women but not in normal-weight or underweight women. The interaction between weight variation before pregnancy and weight status on birth weight was significant (complete-case analysis, $p = 0.003$). We additionally adjusted for BMI before pregnancy as a continuous variable within the 2 BMI categories. All analyses were performed with SAS version 9.3. $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Mediation analysis. To address our mediation hypothesis, we used the method developed by MacKinnon et al. [31,32] (Fig 2). We hypothesized that GWG, which was associated with both the exposure (weight variation before pregnancy) and the dependent variable (birth weight), could be on the causal pathway. Indeed, we previously reported in the ELFE cohort that weight loss before pregnancy was associated with increased average weight gain during pregnancy whatever the BMI category before pregnancy (path a in Fig 2) [33]. Mediation analyses were stratified by the BMI at conception categories <25 and ≥ 25 kg/m². The association between weight change (independent variable) and birth weight (dependent variable) adjusted for level of education, maternal age, smoking before and during pregnancy, place of birth, parity, health insurance coverage, activity status, and BMI corresponds to the total effect (path c in Fig 2). The direct effect, or non-mediated effect (path c'), is the effect of preconception weight change on birth weight via causal pathways other than influence on GWG, while the indirect effect is the effect that operates via the effect on GWG. The coefficient b relates the mediator to the dependent variable adjusted for the independent variable.

The product $a \times b$ corresponds to the mediation, or indirect, effect, which we tested by the significance of the Sobel test. For 95% standard normal confidence limits of the indirect effect, a critical value of 1.96 was used for the standard error [34].

Complementary analysis. To reinforce the validity of our results, we performed several additional analyses. We also stratified our analyses by restricting the group of women who lost weight before pregnancy to (1) those who declared dieting before pregnancy or (2) those who

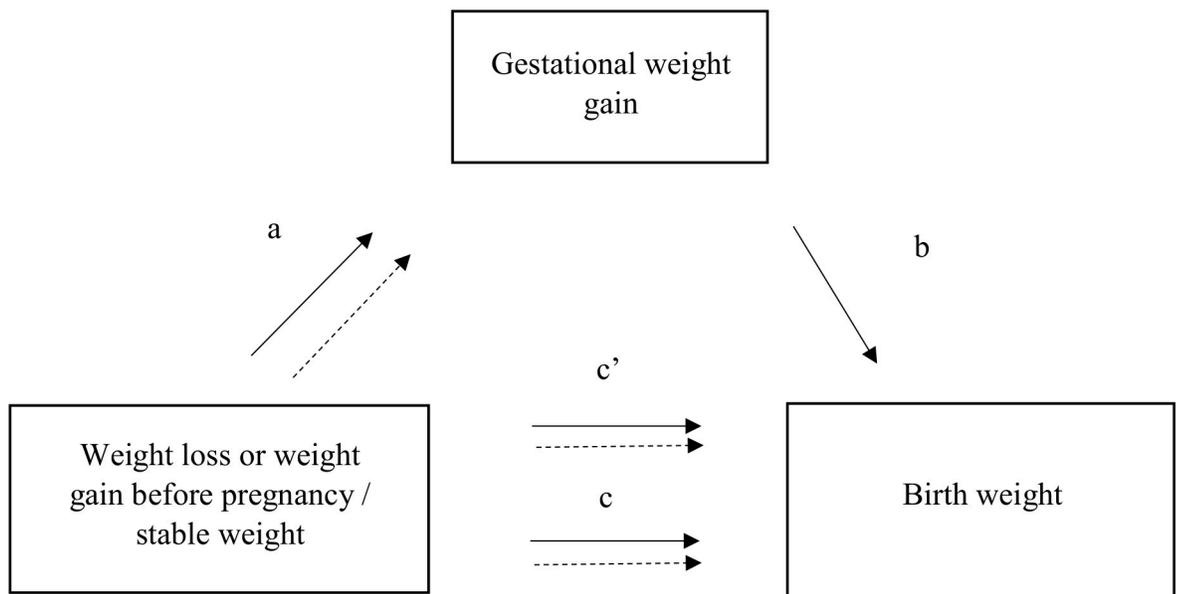


Fig 2. Mediator model. a is the association between weight variation and the potential mediator, gestational weight gain. b is the association between the potential mediator and the outcome variable, birth weight, adjusted for weight variation before pregnancy. $a \times b$ is the indirect effect. c is the total effect: overall association between weight variation and the outcome variable. c' is the direct effect (non-mediated effect) adjusted for the mediator variable.

<https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002871.g002>

lost weight for another unspecified reason (not related to severe illness). We hypothesized that women who lost weight secondary to intentional restriction of food intake would be more exposed to weight regain after the restriction cessation that generally occurs with the start of pregnancy.

Another complementary analysis consisted of excluding women who gave birth to a child within the 2 years preceding the studied pregnancy. Indeed, in this subgroup, women experiencing physiological weight changes related to the previous pregnancy might have been classified, depending on the date of pregnancy, in the weight gain or weight loss category in the year before pregnancy.

Another concern is that GWG includes the baby's weight. Therefore, the mediating effect of GWG could be overestimated, which would influence our estimate of the direct effect of weight change before pregnancy on birth weight. To explore this possibility, we studied, in a complementary analysis, the mediating effect of a variable called "maternal GWG," calculated by subtracting child's birth weight from GWG. Because the amount of GWG depends also on pregnancy duration, we performed a sensitivity analysis excluding premature birth.

Smoking behavior before and during pregnancy could modify the effect of weight variation before pregnancy on birth weight because many women could use smoking to restrict their appetite or weight gain before pregnancy. Therefore, we performed a complementary analysis restricted to women who did not smoke before and during pregnancy.

Finally, we re-ran all the analyses restricted to complete cases without missing data for exposure, outcome, and covariates.

Results

Population characteristics

The characteristics of the 16,395 women included in the analysis are summarized in [Table 1](#) for the whole sample and by weight status, before multiple imputation of missing data. The women were mainly born in France (87%) and were employed or students (81%). More than 42% smoked before pregnancy, and 26% were overweight or obese.

Statistical analysis

Univariate analysis. Women with weight loss before pregnancy more frequently stayed at home (20%) as compared with women with stable weight. We observed a significant difference between the 3 groups of weight variation before pregnancy in terms of smoking behavior ($p < 0.01$). Women who lost weight before pregnancy were more often smokers before pregnancy, and the proportion of these women who stopped smoking during pregnancy was about 26% and was greater than that for women with stable weight or weight gain before pregnancy. Results were similar whatever the weight status at conception. Overall, 57% of women with weight loss before pregnancy declared following a restrictive diet during the year before pregnancy ([S2 Table](#)).

Comparison of women by weight trajectory before pregnancy. Consistent with what was reported in a previous study of the ELFE cohort [[33](#)], weight loss and weight gain before pregnancy were associated with increased GWG after adjustment for confounders and BMI at conception. For women with BMI < 25 kg/m² at conception, those with weight loss before pregnancy gained more than 2 additional kilograms during pregnancy ($\beta = 2.20$ [95% CI 1.79; 2.61], $p < 0.01$) than women with stable weight before pregnancy ([S3 Table](#)). Weight gain during pregnancy was also higher among women with weight gain before pregnancy than those with stable weight ($\beta = 1.12$ [95% CI 0.79; 1.45], $p < 0.01$). For women with BMI ≥ 25 kg/m² at conception, those with weight loss before pregnancy gained about 2.8 kg more during

Table 1. Description of the ELFE population (N = 16,395) after excluding women with a medical history or missing data on body mass index (BMI), in the whole sample and by BMI at the beginning of pregnancy.

Characteristic	Missing data N (%)	Population (N = 16,395)	BMI < 25 kg/m ² (N = 12,058)	BMI ≥ 25 kg/m ² (N = 4,337)
Mother				
Maternal age (years), n (%)	4 (0.02)			
<25		2,225 (13.6)	1,582 (13.1)	643 (14.8)
26–35		11,085 (67.6)	8,273 (68.6)	2,812 (64.8)
>35		3,081 (18.8)	2,199 (18.2)	882 (20.3)
Born in France, n (%)	12 (0.07)	14,272 (87.1)	10,601 (88.0)	3,671 (84.8)
Maternal education, n (%)	1 (0.01)			
Lower secondary		1,368 (8.3)	847 (7.0)	521 (12.0)
Upper secondary		5,711 (34.8)	3,841 (31.9)	1,870 (43.1)
Post-secondary		3,663 (22.3)	2,675 (22.2)	988 (22.8)
Tertiary		5,652 (34.5)	4,694 (38.9)	958 (22.1)
Activity status, n (%)	351 (2.1)			
Employed or student		12,935 (80.6)	9,839 (83.2)	3,096 (73.3)
Staying at home		3,109 (19.4)	1,982 (16.8)	1,127 (26.7)
Health insurance coverage, n (%)	55 (0.3)			
For precarious situations		1,343 (8.2)	853 (7.1)	490 (11.4)
Regular		14,997 (91.8)	11,170 (92.9)	3,827 (88.6)
Living with a partner, n (%)	73 (0.4)	15,450 (94.7)	11,409 (95.1)	4,041 (93.5)
Smoking before pregnancy, n (%)	49 (0.3)	6,964 (42.6)	5,211 (43.3)	1,753 (40.6)
Pregnancy				
Primiparous, n (%)	31 (0.2)	7,313 (44.7)	5,680 (47.2)	1,633 (37.7)
Pregnancy caregiver, n (%)	112 (0.7)			
Gynecologist		10,718 (65.8)	7,958 (66.4)	2,760 (64.1)
Midwife		2,034 (12.5)	1,455 (12.1)	579 (13.4)
General practitioner or none		907 (5.6)	638 (5.3)	269 (6.2)
Multiple professionals		2,624 (16.1)	1,926 (16.1)	698 (16.2)
Smoking during pregnancy, n (%)	104 (0.6)	3,281 (20.1)	2,446 (20.4)	835 (19.4)
Weight variation in the year before pregnancy, n (%)	2,102 (12.8)			
Weight loss		1,415 (9.9)	806 (7.7)	609 (16.2)
Stable weight		11,210 (78.4)	8,952 (85.0)	2,258 (60.0)
Weight gain		1,668 (11.7)	771 (7.3)	897 (23.8)
Restrictive diet before pregnancy, n (%)	1,974 (12.0)	2,381 (16.5)	1,202 (11.3)	1,179 (31.1)
Pre-pregnancy BMI category	0 (0)			
Underweight		1,292 (7.9)	1,292 (10.7)	—
Normal		10,766 (65.7)	10,766 (89.3)	—
Overweight		2,791 (17.0)	—	2,791 (64.4)
Obesity		1,546 (9.4)	—	1,546 (35.6)
Gestational weight gain (kg), mean ± SD	114 (0.7)	13.2 ± 5.5	13.9 ± 4.8	11.2 ± 7
Newborn				
Gestational age of birth (WA), mean ± SD	111 (0.7)	39.6 ± 1.4	39.6 ± 1.4	39.7 ± 1.4
Birth weight Audipog z-score^a, mean ± SD	322 (2.0)	0.08 ± 1.0	0.01 ± 0.9	0.27 ± 1.0
Birth weight category^b, n (%)	322 (2.0)			
Small for gestational age		1,280 (8.0)	1,012 (8.6)	268 (6.3)
Appropriate for gestational age		13,238 (82.4)	9,866 (83.5)	3,372 (79.2)
Large for gestational age		1,555 (9.7)	939 (7.9)	616 (14.5)

^aBirth weight z-score according to the French Audipog reference [26].

^bBirth weight categories to assess fetal growth: small for gestational age (<10th percentile), appropriate for gestational age (10th to 90th percentile), and large for gestational age (>90th percentile) according to the French Audipog reference.

WA, weeks' amenorrhea.

<https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002871.t001>

pregnancy ($\beta = 2.76$ [95% CI 2.21; 3.32], $p < 0.01$) than women with stable weight before pregnancy. Also, women with weight gain before pregnancy had a persistent dynamic of excessive weight gain during pregnancy, resulting in >1.6 kg higher GWG ($\beta = 1.61$ [95% CI 1.12; 2.11], $p < 0.01$) compared with women with stable weight.

Association with birth weight z-score. For women with pre-pregnancy BMI < 25 kg/m², in multivariable models adjusted in particular for pre-pregnancy BMI, the difference in mean birth weight z-score was significantly increased for offspring of mothers with pre-pregnancy weight loss as compared with women with stable weight ($\beta = 0.08$ [95% CI 0.02; 0.14], $p = 0.01$) (Table 2). Pre-pregnancy weight loss was not significantly associated with the risk of SGA and LGA, although the risk of SGA was non-significantly decreased ($\beta = 0.78$ [95% CI 0.58; 1.05], $p = 0.10$). Among women with pre-pregnancy BMI ≥ 25 kg/m², weight loss before pregnancy was not associated with birth weight for a given pre-pregnancy BMI. Offspring of mothers with pre-pregnancy weight gain had increased birth weight and risk of LGA, although not significantly ($\beta = 1.19$ [95% CI 0.94; 1.49], $p = 0.15$).

Mediation analysis

For women with BMI < 25 kg/m² before pregnancy, increased GWG predicted increased birth weight ($\beta = 0.041$ [95% CI 0.037; 0.044], $p < 0.01$). The positive association between weight loss before pregnancy and birth weight (total effect) for a given pre-pregnancy BMI was fully mediated by the indirect effect of GWG, the direct effect being close to 0 ($\beta = -0.008$ [95% CI -0.07 ; 0.05], $p = 0.79$) (Fig 3).

For women with BMI ≥ 25 kg/m², increased GWG was also associated with increased birth weight ($\beta = 0.030$ [95% CI 0.026; 0.036], $p < 0.01$). The association between pre-pregnancy weight loss and birth weight was not significant, but when the model was adjusted for GWG, weight loss before pregnancy had a significant negative direct effect on birth weight ($\beta = -0.11$ [95% CI -0.19 ; -0.03], $p = 0.01$) for a given pre-pregnancy BMI (Fig 4). We found no significant association between weight gain before pregnancy and birth weight in the 2 BMI groups. However, we observed a significant mediating effect of GWG.

Table 2. Association between weight variation in the year before pregnancy and birth weight in unadjusted and adjusted model stratified by BMI (N = 16,395).

Weight change during the year before pregnancy	Birth weight z-score (Audipog), β (95% CI)		Small for gestational age ^a , OR (95% CI)		Large for gestational age ^a , OR (95% CI)	
	Unadjusted model	Adjusted model	Unadjusted model	Adjusted model	Unadjusted model	Adjusted model
BMI < 25 kg/m² (N = 12,058)						
Weight loss ^b	0.14 (0.08; 0.21)	0.08 (0.02; 0.14)	0.71 (0.53; 0.95)	0.78 (0.58; 1.05)	1.15 (0.89; 1.47)	0.98 (0.75; 1.26)
Stable weight ^b	0 (Ref)	0 (Ref)	0 (Ref)	0 (Ref)	0 (Ref)	0 (Ref)
Weight gain ^b	0.04 (-0.04; 0.12)	0.02 (-0.06; 0.10)	1.01 (0.76; 1.33)	0.98 (0.74; 1.30)	1.16 (0.87; 1.54)	1.09 (0.81; 1.48)
BMI ≥ 25 kg/m² (N = 4,337)						
Weight loss ^c	-0.01 (-0.09; 0.07)	-0.02 (-0.1; 0.06)	1.14 (0.80; 1.62)	1.13 (0.79; 1.61)	1.00 (0.77; 1.31)	0.96 (0.73; 1.26)
Stable weight ^c	0 (Ref)	0 (Ref)	0 (Ref)	0 (Ref)	0 (Ref)	0 (Ref)
Weight gain ^c	0.03 (-0.05; 0.11)	0.03 (-0.05; 0.11)	1.02 (0.73; 1.42)	0.96 (0.67; 1.37)	1.21 (0.97; 1.51)	1.19 (0.94; 1.49)

Adjusted model adjusted for maternal education level, maternal age, smoking before and during pregnancy, place of birth, parity, health insurance coverage, activity status, and pre-pregnancy BMI.

^aSmall for gestational age (<10 th versus ≥ 10 th percentile) and large for gestational age (>90 th versus ≤ 90 th percentile) according to the French Audipog reference [26].

^bMinimum–maximum number of women in each category of weight variation before pregnancy depending on imputed tables: weight loss, 910–944; stable weight, 10,177–10,192; and weight gain, 923–956.

^cMinimum–maximum number of women in each category of weight variation before pregnancy depending on imputed tables: weight loss, 690–703; stable weight, 2,543–2,564; and weight gain, 1,072–1,097.

<https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002871.t002>

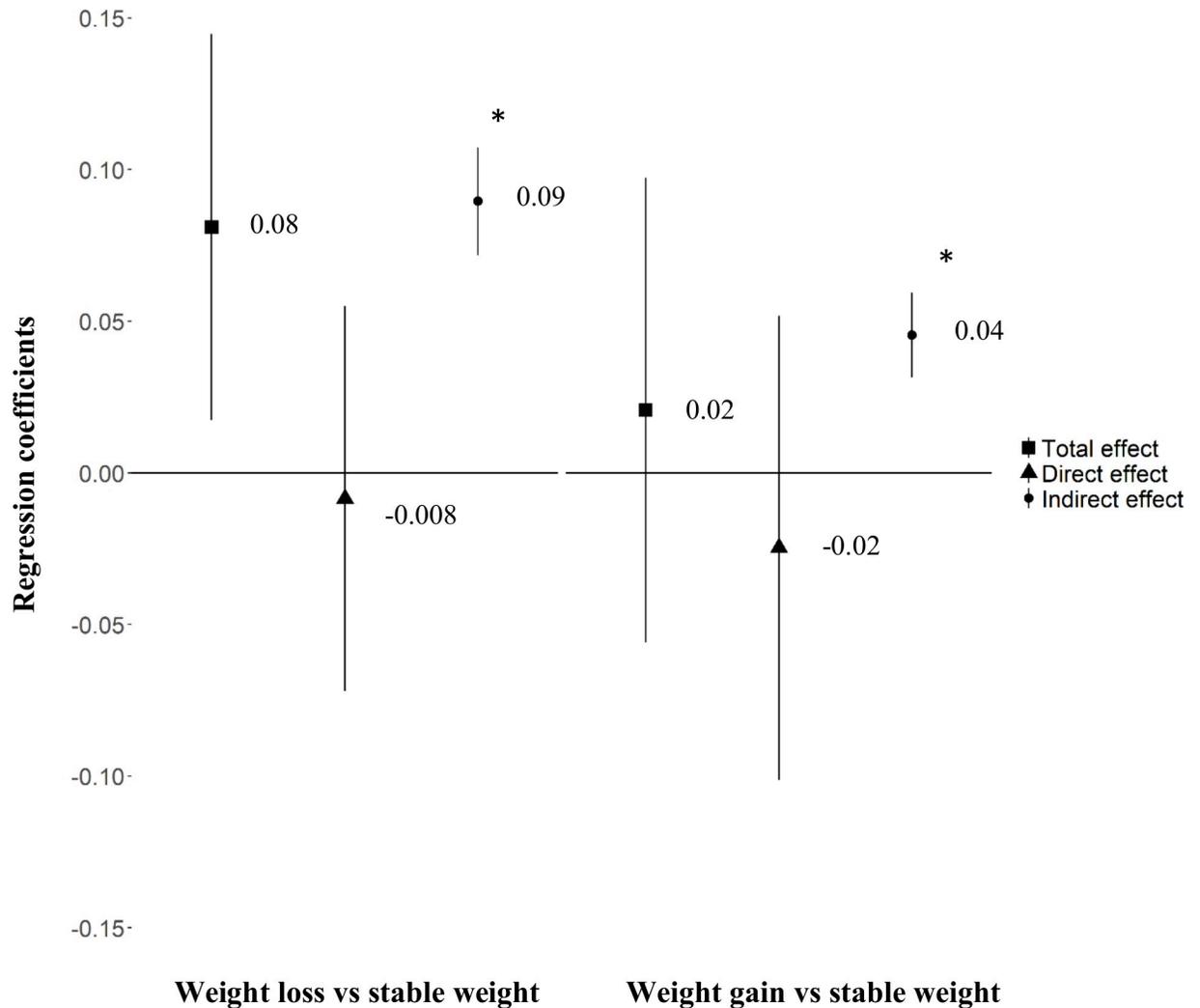


Fig 3. Association between weight variation before pregnancy and birth weight mediated by gestational weight gain for women with pre-pregnancy BMI < 25 kg/m². Effect size β (95% CI). All models were adjusted for maternal education level, maternal age, smoking before and during pregnancy, place of birth, parity, health insurance coverage, activity status, and pre-pregnancy BMI. Birth weight z-score according to the French Audipog reference [26]. * Sobel test of indirect effect $p < 0.001$.

<https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002871.g003>

The results were even stronger when we restricted the analysis to women with BMI ≥ 30 kg/m² ($N = 1,546$), for a direct effect ($\beta = -0.19$ [95% CI $-0.33; -0.06$], $p < 0.01$) and negative total effect ($\beta = -0.12$ [95% CI $-0.26; 0.014$], $p = 0.07$). The direct effect was lower for overweight than obese women ($\beta = -0.06$ [95% CI $-0.17; 0.04$], $p = 0.24$), but we found a persistent and higher effect of GWG in this group ($\beta = 0.10$ [95% CI $0.07; 0.13$], $p < 0.001$).

Complementary analyses

Restrictive diet. Among women with pre-pregnancy BMI ≥ 25 kg/m², 1,179 had followed a restrictive diet in the year before pregnancy and 2,608 had not. The mediating effect of GWG was increased for women who had dieted and lost weight in the year before pregnancy ($\beta = 0.09$ [95% CI $0.05; 0.12$], $p < 0.001$) (S1 Fig).

Exclusion of women with a child born within 2 years before the current birth. In a complementary analysis, we excluded women who gave birth to a child within 2 years before

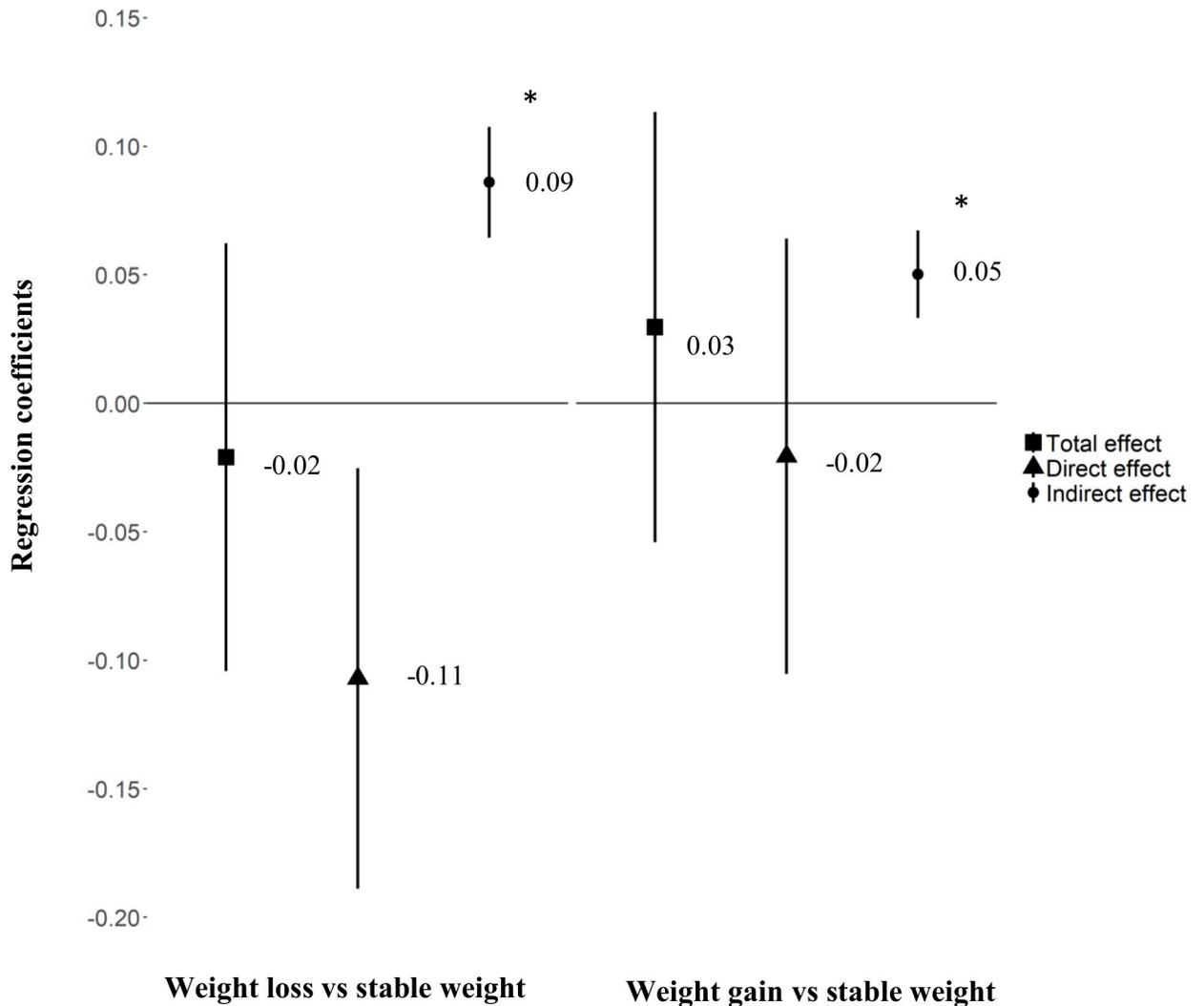


Fig 4. Association between weight variation before pregnancy and birth weight mediated by gestational weight gain for women with BMI ≥ 25 kg/m². Effect size β (95%CI). All models were adjusted on maternal education level, maternal age, smoking before and during pregnancy, place of birth, parity, health insurance coverage, activity status, and pre-pregnancy BMI. Birth weight z-score according to the French Audipog reference [26]. *Sobel test of indirect effect $p < 0.001$.

<https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002871.g004>

the current birth ($N = 2,925$) to assess how much our results were driven by weight changes associated with a recent pregnancy. The results were globally unchanged: Both weight loss and weight gain were associated with increased subsequent GWG in the 2 BMI groups. For women with BMI ≥ 25 kg/m², mediation analysis showed a negative direct effect of weight loss before pregnancy on birth weight, although of lower magnitude than in the whole sample ($\beta = -0.07$ [95% CI $-0.17; 0.02$], $p = 0.11$).

Analysis replacing GWG with our estimate of maternal GWG. In the complementary analysis for women with BMI ≥ 25 kg/m² and weight loss before pregnancy, the mediating effect of maternal GWG was, as expected, reduced as compared with the main analysis ($\beta = 0.06$ [95% CI $0.04; 0.08$], $p < 0.01$), but the mediation analyses still found a negative direct effect of pre-pregnancy weight loss only slightly lower than that in the main analysis ($\beta = -0.08$ [95% CI $-0.16; 0.003$], $p = 0.06$) (S2 Fig).

Sensitivity analysis. In our analysis restricted to non-smoking women with BMI < 25 kg/m² ($N = 6,744$), we found no association (total effect) between weight loss before pregnancy and birth weight ($\beta = 0.02$ [95% CI -0.07 ; 0.11]). For those with BMI ≥ 25 kg/m² ($N = 2,533$), the direct effect of pre-pregnancy weight loss on birth weight was slightly lower than in the main analysis ($\beta = -0.09$ [95% CI -0.20 ; 0.03], $p = 0.03$, versus $\beta = -0.11$ [95% CI -0.19 ; 0.03]), but we still observed a significant and persistent indirect effect of GWG ($\beta = 0.09$ [95% CI 0.06 ; 0.12], $p < 0.001$).

When we excluded premature birth in our sensitivity analysis, our results were unchanged for both BMI categories.

Complete-case analysis. Similar results were obtained from analyses restricted to complete cases as for analyses with imputed data. We also tested the analyses in participants without imputation of the outcome (birth weight) but with imputation of covariates, and the results were also unchanged.

Discussion

For women who were not overweight or obese at conception, we found a significant positive association between weight loss before pregnancy and birth weight that was totally mediated and explained by increased GWG. For women with overweight and obesity, we did not find an association between weight loss before pregnancy and birth weight. However, after taking into account GWG, weight loss before pregnancy had a negative direct effect on birth weight. GWG seemed to cancel out the expected effect on birth weight reduction of weight loss before pregnancy. For women with weight gain before pregnancy, GWG was increased during pregnancy and had a significant indirect effect on birth weight, but it did not translate into a significant total effect, and there was no direct association between weight gain before pregnancy and birth weight.

In contrast to our results, a previous French study evaluated weight change from age 20 years to pregnancy and showed that weight loss before pregnancy was associated with reduced fetal growth and with risk of SGA for women with BMI < 25 kg/m² [24]. In this study, pre-pregnancy weight loss reflected a much longer period before pregnancy and less directly reflected the consequence of a recent weight loss, especially in relation to increased GWG. In addition, the analyses were adjusted for GWG, and therefore only tested a direct effect of the previous weight trajectory without considering GWG as a mediator. An American study including more than 10,000 obese women found an increased risk of macrosomia for women with inter-pregnancy weight retention, but weight loss (≥ 2 BMI units [kg/m²]) between pregnancies was associated with reduced risk of LGA. However, excessive weight loss (> 8 BMI units) was related to increased SGA risk [16]. This finding highlights the need to also evaluate the risk of excessive weight loss before pregnancy for fetal development. Another study from a nationwide Swedish cohort also showed a dose-dependent increase in LGA risk with inter-pregnancy weight gain in overweight and obese women. The authors recommended weight loss after a pregnancy in overweight and obese women as well as prevention of weight gain before pregnancy for women with normal BMI [15]. After controlling for BMI at conception, we did not find an association between weight gain before pregnancy and birth weight. Women who self-reported weight gain in the year before conception showed a dynamic of excessive weight gain persisting over the pregnancy. However, their GWG was lower, on average, than that of women who lost weight before pregnancy. Obese women who gain weight before pregnancy are at risk of perinatal complications [15], and they might benefit from increased medical attention and monitoring during pregnancy. The differences between our

study and results in the literature could also be explained by different time periods before pregnancy for considering weight change [35].

We have shown that a pre-pregnancy weight loss of >5 kg is associated with reduced birth weight, after taking into account GWG. For a given pre-pregnancy BMI, overweight and obese women with a decreasing weight trajectory may have a better metabolic health and lipid profile at the start of pregnancy [36,37]. Lower frequency of glucose intolerance, hyperinsulinemia, or lipidemia may explain our observed direct effect on decreased birth weight, because all of these factors contribute to fetal growth [38,39]. Moreover, animal studies have shown an association of weight loss and low-fat diet in obese animals with better offspring outcomes, such as reduced fat mass and improved metabolic and hepatic function in offspring [40–42].

However, weight loss is accompanied by several physiological changes such as altered storage of energy and modified nutritional status and hormone pathways involved in the regulation of appetite, which can predispose to weight regain [43]. GWG is a unique and complex mechanism that can be influenced especially by maternal metabolism and placental function [44]. Smoking cessation is also a well-known risk factor for weight gain. In our study, 26% of women who smoked before pregnancy stopped smoking during pregnancy. When we restricted our analyses to overweight and obese women with no history of smoking, our main result was similar: We observed a negative direct effect of weight loss before pregnancy on birth weight and a positive indirect effect of GWG.

These physiological conditions may facilitate the mechanisms of weight regain after caloric restriction. Other factors related to pregnancy such as a decrease in physical activity may also elicit weight regain.

The strengths of our study are the large number of women included and the availability of sociodemographic and medical data. We had information on the medical history of women and excluded women with diseases, psychological disorders, bariatric surgery, and metabolic status that could have affected weight change before pregnancy. The use of multiple imputation techniques limited bias due to missing data in variables of interest and confounders.

Among the limitations is the questionable accuracy of data reported by the women on their weight history before pregnancy. However, our analysis focused on large weight changes (± 5 kg) in a recent period (1 year before pregnancy). The accuracy would be similar for information collected by a health professional at the start of pregnancy, and we feel that our results are relevant to a clinical situation. Another limitation is that our information on the potential cause of weight loss is limited to the practice of a restrictive diet, and information on the type of diet and dieting period in the year before pregnancy was lacking. We could not study whether our observed direct effect of weight loss on birth weight was due to the weight change itself or the modification of the maternal lifestyle driving it.

Using total GWG, including the baby's weight, is also a study limitation. When adjusting for total GWG, we took out part of the association we were trying to assess between pre-pregnancy weight variation and birth weight. To circumvent this drawback, in a complementary analysis, we approached the maternal component of GWG by subtracting the child's birth weight from the total GWG. We assumed that although GWG also includes placenta weight and amniotic fluid, the main source of variability of GWG minus birth weight was the maternal component. The results from this complementary analysis were similar to those of the main analysis, which supports our interpretation of the results.

Finally, we did not have information on intermediate weight measurements during pregnancy, which prevented us from assessing weight gain for specific periods or trimesters. GWG is not linear across gestation, and the rate of weight gain is slower in the first trimester [45]. Distinct kinetic GWG may have differential impact on fetal growth [46,47].

Only live births are included in the ELFE cohort. If weight change in the year before pregnancy affects the probability of miscarriage or stillbirth, our results could be biased, probably by underestimating the effect of extreme weight changes on fetal growth. A selection bias could also be possible if there were associations between, on the one hand, both fetal growth and weight change before pregnancy and, on the other, the probability of inclusion in the ELFE cohort. Except for low maternal education level, which was controlled for, we could not see any obvious reason why weight change before pregnancy would influence the probability of inclusion.

Conclusion

Few studies have evaluated the association between pre-pregnancy weight variation and fetal development. Our results suggest that increased GWG after weight loss before pregnancy may obscure any beneficial effect on fetal growth. These results call for increased vigilance on GWG in women who lost weight or dieted before pregnancy.

Supporting information

S1 Fig. Association between weight loss before pregnancy and birth weight mediated by gestational weight gain for women with BMI ≥ 25 kg/m² who had followed a restrictive diet or not. Effect size β (95% CI). All models were adjusted for maternal education level, maternal age, smoking before and during pregnancy, place of birth, parity, health insurance coverage, activity status, and pre-pregnancy BMI. Birth weight z-score according to the French Audipog reference [26]. *Sobel test of indirect effect $p < 0.001$. For women with BMI ≥ 25 kg/m² before pregnancy, the minimum–maximum numbers of women with weight loss or stable weight before pregnancy depending on imputed tables are as follows: no restrictive diet—weight loss, 208–208; stable weight, 1,767–1,770; with restrictive diet—weight loss, 404–407; stable weight, 494–497.

(TIFF)

S2 Fig. Association between weight variation before pregnancy and birth weight z-score mediated by gestational weight gain for women with a pre-pregnancy BMI ≥ 25 kg/m². Sensitivity analysis removing birth weight from gestational weight gain ($N = 4,337$). Effect size β (95% CI). All models were adjusted for maternal education level, maternal age, smoking before and during pregnancy, place of birth, parity, health insurance coverage, activity status, and pre-pregnancy BMI. Birth weight z-score according to the French Audipog reference [26]. *Sobel test of indirect effect $p < 0.001$.

(TIFF)

S1 Protocol. Description of the prospective analysis plan.

(DOCX)

S1 Questionnaire. Maternity medical record.

(PDF)

S2 Questionnaire. Maternity mother interview.

(PDF)

S3 Questionnaire. Maternal weight variation.

(DOCX)

S1 STROBE guideline checklist.

(DOC)

S1 Table. Details of the method used for multiple imputation. *Fully conditional specification method. **Percent interval of missing data for the different z-scores of fetal growth in the second and third trimester.

(DOCX)

S2 Table. Characteristics of women by weight variation before pregnancy ($N = 14,293$) before imputation, after excluding women with a medical history and missing data for BMI. Data are percent (n) or mean \pm SD. *By chi-squared test comparing the 3 groups of weight variation or ANOVA for continuous variables.

(DOCX)

S3 Table. Association between weight variation before pregnancy and gestational weight gain by BMI category. Adjusted model: linear regression adjusted for maternal education level, maternal age, smoking before and during pregnancy, place of birth, parity, health insurance coverage, active status, and pre-pregnancy BMI. ^aMinimum–maximum number of women in each category of weight variation before pregnancy depending on imputed tables: weight loss, 910–944; stable weight, 10,177–10,192; and weight gain, 923–956. ^bMinimum–maximum number of women in each category of weight variation before pregnancy depending on imputed tables: weight loss, 690–703; stable weight, 2,543–2,564; and weight gain, 1,072–1,097.

(DOCX)

Acknowledgments

The ELFE study is a joint project between the French Institute for Demographic Studies (INED) and the National Institute of Health and Medical Research (INSERM), in partnership with the French blood transfusion service (Établissement français du sang [EFS]), Santé publique France, the National Institute of Statistics and Economic Studies (INSEE), the Direction générale de la santé (part of the Ministry of Social Affairs and Health), the Direction générale de la prévention des risques (Ministry of the Environment), the Direction de la recherche, des études, de l'évaluation et des statistiques (Ministry of Social Affairs and Health), the Département des études, de la prospective et des statistiques (Ministry of Culture), and the Caisse nationale des allocations familiales, with the support of the Ministry of Higher Education, Research, and Innovation and the Institut national de la jeunesse et de l'éducation populaire.

We thank the members of the ELFE INED-INSERM-EFS joint unit and, above all, the families involved in the ELFE cohort, without whom this study would not have been possible.

Author Contributions

Conceptualization: Marion Lecorguillé, Madalina Jacota, Marie-Aline Charles, Barbara Heude.

Data curation: Blandine de Lauzon-Guillain, Marie Cheminat, Marie-Aline Charles, Barbara Heude.

Formal analysis: Marion Lecorguillé, Barbara Heude.

Funding acquisition: Marion Lecorguillé, Marie-Aline Charles, Barbara Heude.

Investigation: Marie Cheminat, Marie-Aline Charles, Barbara Heude.

Methodology: Marion Lecorguillé, Anne Forhan, Marie-Aline Charles, Barbara Heude.

Project administration: Marie-Aline Charles.

Resources: Marie-Aline Charles.

Software: Marion Lecorguillé, Anne Forhan.

Supervision: Marie-Aline Charles, Barbara Heude.

Validation: Blandine de Lauzon-Guillain, Marie-Aline Charles, Barbara Heude.

Visualization: Marion Lecorguillé.

Writing – original draft: Marion Lecorguillé.

Writing – review & editing: Marion Lecorguillé, Madalina Jacota, Blandine de Lauzon-Guillain, Anne Forhan, Marie-Aline Charles, Barbara Heude.

References

1. Deierlein AL, Siega-Riz AM, Adair LS, Herring AH. Effects of pre-pregnancy body mass index and gestational weight gain on infant anthropometric outcomes. *J Pediatr*. 2011; 158:221–6. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2010.08.008> PMID: 20863516
2. Yu Z, Han S, Zhu J, Sun X, Ji C, Guo X. Pre-pregnancy body mass index in relation to infant birth weight and offspring overweight/obesity: a systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE*. 2013; 8(4): e61627. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061627> PMID: 23613888
3. Ovesen P, Rasmussen S, Kesmodel U. Effect of prepregnancy maternal overweight and obesity on pregnancy outcome. *Obstet Gynecol*. 2011; 118:305–12. <https://doi.org/10.1097/AOG.0b013e3182245d49> PMID: 21775846
4. Dabelea D, Mayer-Davis EJ, Lamichhane AP, D'Agostino RB, Liese AD, Vehik KS, et al. Association of intrauterine exposure to maternal diabetes and obesity with type 2 diabetes in youth: the SEARCH Case-Control Study. *Diabetes Care*. 2008; 31:1422–6. <https://doi.org/10.2337/dc07-2417> PMID: 18375420
5. McMillen IC, MacLaughlin SM, Muhlhausler BS, Gentili S, Duffield JL, Morrison JL. Developmental origins of adult health and disease: the role of periconceptual and foetal nutrition. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2008; 102:82–9. <https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2007.00188.x> PMID: 18226059
6. Kapadia MZ, Park CK, Beyene J, Giglia L, Maxwell C, McDonald SD. Weight loss instead of weight gain within the guidelines in obese women during pregnancy: a systematic review and meta-analyses of maternal and infant outcomes. *PLoS ONE*. 2015; 10(7):e0132650. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132650> PMID: 26196130
7. Rasmussen KM, Catalano PM, Yaktine AL. New guidelines for weight gain during pregnancy: what obstetrician/gynecologists should know. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2009; 21:521–6. <https://doi.org/10.1097/GCO.0b013e3283332d24e> PMID: 19809317
8. Goldstein RF, Abell SK, Ranasinha S, Misso M, Boyle JA, Black MH, et al. Association of gestational weight gain with maternal and infant outcomes. *JAMA*. 2017; 317:2207–25. <https://doi.org/10.1001/jama.2017.3635> PMID: 28586887
9. Hanson M, Barker M, Dodd JM, Kumanyika S, Norris S, Steegers E, et al. Interventions to prevent maternal obesity before conception, during pregnancy, and post partum. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2017; 5:65–76. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(16\)30108-5](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(16)30108-5) PMID: 27743974
10. Agha M, Agha RA, Sandall J, Sandell J. Interventions to reduce and prevent obesity in pre-conceptual and pregnant women: a systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE*. 2014; 9(5):e95132. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095132> PMID: 24827704
11. Poston L, Bell R, Croker H, Flynn AC, Godfrey KM, Goff L, et al. Effect of a behavioural intervention in obese pregnant women (the UPBEAT study): a multicentre, randomised controlled trial. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2015; 3:767–77. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(15\)00227-2](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(15)00227-2) PMID: 26165396
12. Dodd JM, Turnbull D, McPhee AJ, Deussen AR, Grivell RM, Yelland LN, et al. Antenatal lifestyle advice for women who are overweight or obese: LIMIT randomised trial. *BMJ*. 2014; 348:g1285. <https://doi.org/10.1136/bmj.g1285> PMID: 24513442
13. Parat S, Nègre V, Baptiste A, Valensi P, Bertrand A-M, Chollet C, et al. Prenatal education of overweight or obese pregnant women to prevent childhood overweight (the ETOIG study): an open-label, randomized controlled trial. *Int J Obes (Lond)*. 2019; 43:362–73. <https://doi.org/10.1038/s41366-018-0205-z> PMID: 30242235
14. Heude B, Thiébauges O, Goua V, Forhan A, Kaminski M, Foliguet B, et al. Pre-pregnancy body mass index and weight gain during pregnancy: relations with gestational diabetes and hypertension,

- and birth outcomes. *Matern Child Health J.* 2012; 16:355–63. <https://doi.org/10.1007/s10995-011-0741-9> PMID: [21258962](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21258962/)
15. Villamor E, Cnattingius S. Interpregnancy weight change and risk of adverse pregnancy outcomes: a population-based study. *Lancet.* 2006; 368:1164–70. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)69473-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)69473-7) PMID: [17011943](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17011943/)
 16. Jain AP, Gavard JA, Rice JJ, Catanzaro RB, Artal R, Hopkins SA. The impact of interpregnancy weight change on birthweight in obese women. *Am J Obstet Gynecol.* 2013; 208:205.e1–7. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2012.12.018> PMID: [23246318](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23246318/)
 17. Getahun D, Ananth CV, Peltier MR, Salihu HM, Scorza WE. Changes in prepregnancy body mass index between the first and second pregnancies and risk of large-for-gestational-age birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2007; 196:530.e1–8. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2006.12.036> PMID: [17547882](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17547882/)
 18. Knight-Agarwal CR, Williams LT, Davis D, Davey R, Cochrane T, Zhang H, et al. Association of BMI and interpregnancy BMI change with birth outcomes in an Australian obstetric population: a retrospective cohort study. *BMJ Open.* 2016; 6:e010667. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2015-010667> PMID: [27165646](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27165646/)
 19. Wallace JM, Bhattacharya S, Campbell DM, Horgan GW. Inter-pregnancy weight change impacts placental weight and is associated with the risk of adverse pregnancy outcomes in the second pregnancy. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2014; 14:40. <https://doi.org/10.1186/1471-2393-14-40> PMID: [24450357](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24450357/)
 20. Hezelgrave NL, Oteng-Ntim E. Pregnancy after bariatric surgery: a review. *J Obes.* 2011; 2011:501939. <https://doi.org/10.1155/2011/501939> PMID: [21785717](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21785717/)
 21. Yi X, Li Q, Zhang J, Wang Z. A meta-analysis of maternal and fetal outcomes of pregnancy after bariatric surgery. *Int J Gynaecol Obstet.* 2015; 130:3–9. <https://doi.org/10.1016/j.ijgo.2015.01.011> PMID: [25863541](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25863541/)
 22. Willis K, Lieberman N, Sheiner E. Pregnancy and neonatal outcome after bariatric surgery. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2015; 29:133–44. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2014.04.015> PMID: [25225055](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25225055/)
 23. Han Z, Mulla S, Beyene J, Liao G, McDonald SD, Knowledge Synthesis Group. Maternal underweight and the risk of preterm birth and low birth weight: a systematic review and meta-analyses. *Int J Epidemiol.* 2011; 40:65–101. <https://doi.org/10.1093/ije/dyq195> PMID: [21097954](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21097954/)
 24. Diouf I, Charles MA, Thiebaugeorges O, Forhan A, Kaminski M, Heude B, et al. Maternal weight change before pregnancy in relation to birthweight and risks of adverse pregnancy outcomes. *Eur J Epidemiol.* 2011; 26:789–96. <https://doi.org/10.1007/s10654-011-9599-9> PMID: [21710259](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21710259/)
 25. Vandentorren S, Bois C, Pirus C, Sarter H, Salines G, Leridon H. Rationales, design and recruitment for the Elfe longitudinal study. *BMC Pediatr.* 2009; 9:58. <https://doi.org/10.1186/1471-2431-9-58> PMID: [19772571](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19772571/)
 26. Mamelle N, Munoz F, Grandjean H. [Fetal growth from the AUDIPOG study. I. Establishment of reference curves.] *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris).* 1996; 25:61–70.
 27. Eurostat. International Standard Classification of Education (ISCED). Brussels: Eurostat; 2018 [cited 2019 Jul 27]. Available from: [https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/International_Standard_Classification_of_Education_\(ISCED\)](https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/International_Standard_Classification_of_Education_(ISCED)).
 28. Dong Y, Peng C-YJ. Principled missing data methods for researchers. Springerplus. 2013; 2:222. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-222> PMID: [23853744](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23853744/)
 29. Sterne JAC, White IR, Carlin JB, Spratt M, Royston P, Kenward MG, et al. Multiple imputation for missing data in epidemiological and clinical research: potential and pitfalls. *BMJ.* 2009; 338:b2393. <https://doi.org/10.1136/bmj.b2393> PMID: [19564179](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19564179/)
 30. Textor J, Liskiewicz M. Adjustment criteria in causal diagrams: an algorithmic perspective. arXiv:12023764 [Preprint]. 2012 Feb 14 [cited 2019 Jul 23]. Available from: <http://arxiv.org/abs/1202.3764>.
 31. MacKinnon DP, Fairchild AJ, Fritz MS. Mediation analysis. *Annu Rev Psychol.* 2007; 58:593–614. <https://doi.org/10.1146/annurev.psych.58.110405.085542> PMID: [16968208](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16968208/)
 32. Mackinnon DP, Warsi G, Dwyer JH. A simulation study of mediated effect measures. *Multivar Behav Res.* 1995; 30:41. https://doi.org/10.1207/s15327906mbr3001_3 PMID: [20157641](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20157641/)
 33. Jacota M. Variations pondérales pré-conceptionnelles et gestationnelles: étude de leurs relations avec le diabète gestationnel et le développement de l'adiposité des enfants à 5–6 ans à partir des cohortes mère-enfant françaises EDEN et ELFE [thesis]. Paris: Paris-Saclay University; 2016.
 34. MacKinnon DP, Fritz MS, Williams J, Lockwood CM. Distribution of the product confidence limits for the indirect effect: Program PRODCLIN. *Behav Res Methods.* 2007; 39:384. PMID: [17958149](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17958149/)
 35. Stephenson J, Heslehurst N, Hall J, Schoenaker DAJM, Hutchinson J, Cade JE, et al. Before the beginning: nutrition and lifestyle in the preconception period and its importance for future health. *Lancet.* 2018; 391:1830–41. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)30311-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)30311-8) PMID: [29673873](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29673873/)

36. Jensen MD, Ryan DH, Apovian CM, Ard JD, Comuzzie AG, Donato KA, et al. 2013 AHA/ACC/TOS guideline for the management of overweight and obesity in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the Obesity Society. *J Am Coll Cardiol*. 2014; 63:2985–3023. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2013.11.004> PMID: [24239920](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24239920/)
37. Assali AR, Ganor A, Beigel Y, Shafer Z, Hershcovici T, Fainaru M. Insulin resistance in obesity: body-weight or energy balance? *J Endocrinol*. 2001; 171:293–8. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1710293> PMID: [11691649](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11691649/)
38. HAPO Study Cooperative Research Group, Metzger BE, Lowe LP, Dyer AR, Trimble ER, Chaovarindr U, et al. Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes. *N Engl J Med*. 2008; 358:1991–2002. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0707943> PMID: [18463375](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18463375/)
39. Di Cianni G, Miccoli R, Volpe L, Lencioni C, Ghio A, Giovannitti MG, et al. Maternal triglyceride levels and newborn weight in pregnant women with normal glucose tolerance. *Diabet Med J Br Diabet Assoc*. 2005; 22:21–5. <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2004.01336.x> PMID: [15606686](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15606686/)
40. Matusiak K, Barrett HL, Callaway LK, Nitert MD. Periconception weight loss: common sense for mothers, but what about for babies? *J Obes*. 2014; 2014:204295. <https://doi.org/10.1155/2014/204295> PMID: [24804085](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24804085/)
41. McCurdy CE, Bishop JM, Williams SM, Grayson BE, Smith MS, Friedman JE, et al. Maternal high-fat diet triggers lipotoxicity in the fetal livers of nonhuman primates. *J Clin Invest*. 2009; 119:323–35. <https://doi.org/10.1172/JCI32661> PMID: [19147984](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19147984/)
42. Rattanatray L, MacLaughlin SM, Kleemann DO, Walker SK, Muhlhausler BS, McMillen IC. Impact of maternal periconceptional overnutrition on fat mass and expression of adipogenic and lipogenic genes in visceral and subcutaneous fat depots in the postnatal lamb. *Endocrinology*. 2010; 151:5195–205. <https://doi.org/10.1210/en.2010-0501> PMID: [20861234](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20861234/)
43. Sumithran P, Proietto J. The defence of body weight: a physiological basis for weight regain after weight loss. *Clin Sci (Lond)*. 2013; 124:231–41. <https://doi.org/10.1042/CS20120223> PMID: [23126426](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23126426/)
44. Institute of Medicine, National Research Council. Weight gain during pregnancy: reexamining the guidelines. Washington (DC): National Academies Press; 2009.
45. Hutcheon JA, Bodnar LM. Good practices for observational studies of maternal weight and weight gain in pregnancy. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2018; 32:152–60. <https://doi.org/10.1111/ppe.12439> PMID: [29345321](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29345321/)
46. Margerison-Zilko CE, Shrimali BP, Eskenazi B, Lahiff M, Lindquist AR, Abrams BF. Trimester of maternal gestational weight gain and offspring body weight at birth and age five. *Matern Child Health J*. 2012; 16:1215–23. <https://doi.org/10.1007/s10995-011-0846-1> PMID: [21735140](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21735140/)
47. Karachaliou M, Georgiou V, Roumeliotaki T, Chalkiadaki G, Daraki V, Koinaki S, et al. Association of trimester-specific gestational weight gain with fetal growth, offspring obesity and cardio-metabolic traits in early childhood. *Am J Obstet Gynecol*. 2015; 212:502.e1–14. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2014.12.038> PMID: [25557209](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25557209/)

L'alimentation maternelle joue un rôle fondamental dès la période préconceptionnelle en permettant de couvrir les besoins nutritionnels essentiels à la croissance harmonieuse du fœtus. Ces dernières années, de nouvelles recherches ont montré l'implication de certains nutriments (les vitamines B2, B6, B9, B12, la méthionine, bêtaïne et choline) dans des processus épigénétiques majeurs qui ont lieu en début de grossesse et plus particulièrement la méthylation de l'ADN. Le premier objectif de cette thèse était d'explorer l'association entre les apports en micronutriments impliqués dans les processus épigénétiques l'année avant la grossesse avec d'une part la croissance fœtale, et d'autre part la méthylation de l'ADN placentaire. Nous avons identifié trois profils alimentaires décrivant la variabilité de l'apport combiné des micronutriments chez les jeunes femmes en âge de procréer dans la cohorte mère-enfant EDEN : « varié et équilibré », « tendance végétarien » et riche en « pain et féculents ». Nous n'avons pas retrouvé d'effet majeur de l'apport préconceptionnel en micronutriments impliqués dans les voies de méthylation sur la croissance fœtale, ni sur la méthylation de l'ADN placentaire. Nos résultats soulignaient cependant une association entre ces profils et des régions différentiellement méthylées localisées sur des gènes impliqués dans diverses fonctions et processus métaboliques essentiels au développement embryonnaire.

L'évolution récente des habitudes alimentaires nous place également dans un contexte où la prévalence du surpoids et de l'obésité a augmenté au cours de ces dernières années. De nombreuses études ont rapporté que le statut pondéral de la mère à la conception était associé au développement de l'enfant, mais peu d'études se sont intéressées aux variations de poids avant la grossesse qui reflètent pourtant l'état nutritionnel et métabolique maternel à la conception. Comme deuxième objectif, nous avons évalué si les variations pondérales maternelles l'année avant la grossesse pouvaient influencer le poids de naissance. Dans la cohorte de naissance nationale Elfe, nous avons observé, chez les femmes en surpoids ou obèses, qu'une perte de poids avant la grossesse était associée à une diminution du poids de naissance, en moyenne dans la population, mais que cet effet était masqué par une reprise de poids gestationnelle plus importante.

Ces travaux de thèse contribuent à mieux comprendre l'impact des expositions nutritionnelles en période préconceptionnelle sur la croissance fœtale. Ils incitent à poursuivre les recherches autour de cette période clé, afin d'aider au développement des messages de prévention du surpoids ou de l'obésité ainsi que de promotion d'une alimentation variée et équilibrée dans un objectif d'amélioration de la santé des femmes qui désirent une grossesse.

Mots-clés : cohorte de naissance, profils alimentaires, micronutriments, méthylation de l'ADN, placenta, variations de poids, période préconceptionnelle, croissance fœtale, poids de naissance.