

# 1. Consommation de fruits et légumes et santé

**Marie-Jo Amiot-Carlin** (coord.)

Pascale Barberger-Gateau

**Jean Dallongeville** (coord.)

Luc Dauchet

Cécile Delcourt

Christian Demigné

Christophe Dupont

Paule Latino-Martel

Claudie Roy

Philippe Verger

Documentation :

Dominique Fournier

## Table des matières

<b>1.1. Fruits et légumes et couverture des besoins nutritionnels</b> .....	<b>23</b>
1.1.1. Les caractéristiques nutritionnelles des fruits et légumes frais et transformés .....	23
1.1.2. Fruits et légumes et couverture des besoins nutritionnels .....	30
1.1.3. Conclusions .....	34
<b>1.2. Fruits et légumes et maladies cardiovasculaires</b> .....	<b>37</b>
1.2.1. Relation entre consommation de fruits et légumes et survenue de maladies cardiovasculaires dans les enquêtes prospectives.....	37
1.2.2. Essais d'intervention nutritionnelle .....	42
1.2.3. Relation avec les facteurs de risque.....	44
1.2.4. Rôle des vitamines .....	50
1.2.5. Conclusion.....	53
<b>1.3. Fruits et légumes et diabète</b> .....	<b>60</b>
<b>1.4. Fruits et légumes et cancers</b> .....	<b>63</b>
1.4.1. Synthèse des résultats des études épidémiologiques d'observation .....	63
1.4.2. Essais de prévention nutritionnelle .....	68
1.4.3. Mécanismes plausibles.....	70
1.4.4. Effets propres des fruits & légumes : analyse critique et pistes de recherche .....	73
1.4.5. Effet indirect des F&L sur le risque de cancer, via leur effet sur le surpoids et l'obésité .....	75
1.4.6. Eclairage donné par le récent rapport WCRF/AICR 2007 .....	76
1.4.7. Conclusion générale.....	76
<b>1.5. Fruits et légumes, maladies neuro-dégénératives et bien-être</b> .....	<b>82</b>
1.5.1. Maladie d'Alzheimer et autres démences.....	82
1.5.2. Maladie de Parkinson .....	86
1.5.3. Bien-être, dépression, santé mentale.....	87
<b>1.6. Fruits et légumes et maladies oculaires</b> .....	<b>92</b>
1.6.1. Données épidémiologiques .....	92
1.6.2. Mécanismes d'action potentiels des constituants des fruits et légumes dans les maladies oculaires dégénératives.....	95
<b>1.7. Fruits et légumes, intérêt pour la santé osseuse</b> .....	<b>100</b>
1.7.1. Nutriments susceptibles d'être impliqués dans l'impact des fruits et légumes sur le métabolisme osseux .....	101
1.7.2. Etudes épidémiologiques sur les relations possibles entre consommation de fruits et légumes et statut osseux .....	103
1.7.3. Conclusions .....	104
<b>1.8. Les intolérances aux fruits et légumes</b> .....	<b>107</b>
1.8.1. Allergies aux fruits et légumes.....	107
1.8.2. Troubles fonctionnels digestifs .....	110
<b>1.9. Exposition aux pesticides liée à la consommation de fruits et légumes</b> .....	<b>112</b>
1.9.1. Contexte .....	112
1.9.2. Eléments de méthodologie sur l'évaluation du risque.....	114
1.9.3. Evaluation de l'exposition aux pesticides <i>via</i> la consommation de fruits et légumes.....	118
1.9.4. Que manque-t-il, que faut-il améliorer pour répondre à la question ?.....	131
Résumé .....	134
<b>1.10. Exposition aux nitrates liée à la consommation de fruits et légumes</b> .....	<b>140</b>
1.11.1. Effets nocifs des nitrates et nitrites .....	140
1.11.2. Exposition <i>via</i> la consommation de fruits et légumes .....	141
1.11.3. Conclusions .....	142
<b>1.11. Conclusions : bilan de l'intérêt de la consommation de F&amp;L</b> .....	<b>144</b>
<b>Références bibliographiques</b> .....	<b>145</b>

## 1.1. Fruits et légumes et couverture des besoins nutritionnels

Marie-Jo Amiot-Carlin

Les fruits et légumes apportent dans notre alimentation quotidienne des fibres, des vitamines, des minéraux, dont les apports nutritionnels conseillés ont été établis. Ils renferment aussi une grande variété de composés, dépourvus de valeur nutritionnelle *stricto sensu*. Ces composés appartiennent à différentes familles : les polyphénols, les caroténoïdes (en dehors des caroténoïdes provitaminiques A) comme le lycopène ou la lutéine, les composés soufrés (glucosinolates et sulfures d'allyle) et les phytostérols. Aujourd'hui, il n'existe pas d'ANC pour ces microconstituants, même si beaucoup de travaux établissent qu'ils pourraient avoir également un effet préventif sur notre santé.

### 1.1.1. Les caractéristiques nutritionnelles des fruits et légumes frais et transformés

#### 1.1.1.1. Fibres, vitamines et minéraux

##### . Fibres

Les fibres sont un groupe de molécules polymères présentant une hétérogénéité de structures. Les fibres sont, d'une part des polysaccharides ou polyosides, et d'autre part des lignines lesquels sont des polymères complexes de phénylpropane. Les polysaccharides sont constitués des structures suivantes : la cellulose, les beta-glucanes, les hémicelluloses, les pectines, les gommages, les oligosaccharides et l'amidon résistant. Les fibres sont insolubles ou solubles. Les teneurs en fibres des fruits et légumes varient de 1 à 5,2 g pour 100 g de matière fraîche.

Les propriétés des fibres et leurs effets sont rapportés dans le Tableau 1.1-1. Aussi les fibres sont-elles susceptibles d'être efficaces sur (1) les paramètres physiologiques comme la satiété, l'excrétion fécale et l'activité motrice de l'intestin (2) sur les paramètres métaboliques, notamment sur la réponse lipémique post-prandiale et, à plus long terme sur la lipémie basale et (3) les caractéristiques de la flore colique, dus aux effets prébiotiques de certaines fibres (Lairon, 2001; Lairon and Chanussot, 2001; James, Muir et al., 2003).

Plusieurs études épidémiologiques ont été publiées sur la relation quantité de fibres ingérées et maladies cardiovasculaires. Une des premières études publiée par Kromhout et al. (Kromhout, Bosschieter et al., 1982) montre une importante diminution (rapport de 4) de la mortalité chez les hommes consommant au minimum 37 g/jour par rapport à ceux qui consomment moins de 20 g/j. Plus récemment, l'étude prospective conduite aux Etats Unis chez des hommes (Rimm, Ascherio et al., 1996) confirme une réduction de la mortalité cardiovasculaire (-60%) pour des forts consommateurs de fibres (30 g/j) par comparaison au quintile le plus faible consommateurs (10-17 g/jour). Une étude conduite en Europe (Pietinen, Rimm et al., 1996) montre qu'une augmentation de 3g/jour de fibres solubles est associée à une diminution de 27% de la mortalité cardiovasculaire. Deux autres études confirment l'effet protecteur des fibres sur les coronaropathies. Aux Etats-Unis, il a été montré, après 10 ans, que le risque est diminué de 34% chez le quintile de femmes (âgées de 37 à 64 ans) consommant le plus de fibres (22,9 g/jour par rapport au quintile des plus faibles consommatrices (11,5 g/jour) (Wolk, Manson et al., 1999). Cet effet protecteur est confirmé dans l'étude également conduite aux Etats-Unis chez des hommes et des femmes récemment publiée par Bazzano (2003).

Les relations entre type ou source de fibres et facteurs de risque cardiovasculaire ont été récemment précisées à partir des données de la cohorte SUVIMAX (Lairon, Arnault et al., 2005). Les enquêtes alimentaires dans l'étude SU.VI.MAX montrent que les hommes ingèrent en moyenne 21,9 g par jour de fibres totales comprenant 4,2 g de fibres solubles et les femmes ingèrent 18% de moins de fibres totales et 14,5% de moins de fibres solubles que les hommes. Les plus forts consommateurs de fibres (> 27,3 g/j H et >22,0 g/j F) ou fibres insolubles ont un risque diminué de surpoids, du rapport

**Tableau 1.1-1.** Effets reconnus (en gras) ou suggérés des fibres alimentaires sur la santé

Propriétés	Type de fibre	Espèce chimique	Mécanismes impliqués	Aliments
Satiété, poids	solubles	Gommes, pectines, hémicelluloses...	↑ masse fécale ↑ délai vidanges	Fruits, produits céréaliers complets, légumes secs, légumes frais
Contrôle glycémie insulinémie	solubles visqueuses	Galactomannanes β-glucanes	↑ délai vidange gastrique ↓ vitesse de digestion glucides	Gomme de guar, fruit, avoine, légumes
<b>Amélioration métabolisme des lipides</b>	<b>solubles</b>	<b>Gommes, pectines, hémicelluloses, β-glucanes</b>	<b>↓ absorption lipides</b> <b>↑ délai vidange gastrique</b>	<b>Gomme de guar, son et farine d'avoine, psyllium</b>
<b>↓ Constipation</b>	<b>insolubles</b>	<b>Cellulose, hémicelluloses, lignine</b>	<b>↓ des troubles de motricité intestinale</b>	<b>Son de blé</b>
↓ Diverticulose colique	forte rétention d'eau		↑ teneur en eau du contenu colique	Son de blé, avoine
Fermentation colique	pectines, guar	Amidons résistants, fructo- oligosaccharides	Fermentation par les Bactéries coliques et production d'acides gras volatils	Oignon, ail, artichauts, légumes secs
<b>Effet prébiotique</b>		<b>Fructo-oligosaccharides</b>		
Prévention cancers (FDA)	générant ↑ butyrate	Fructo- oligosaccharides	Dilution composés cancérogènes, ↓ [NH4]	Graines, fruits, légumes

taille/hanche élevé, de pression artérielle élevée et d'autres paramètres associés au risque cardiovasculaire (ApoB plasmatique, cholestérol, triacylglycérols et homocystéine) ( $p < 0.05$ ). Les fibres solubles apparaissent moins efficaces. Les fibres provenant des légumes sont associées à une diminution de la pression artérielle et de l'homocystéine, tandis que celles des fruits sont associées à une diminution de la pression artérielle et du rapport taille/hanche. Cette analyse à partir d'une sous-population de SU.VI.MAX confirme qu'une plus grande ingestion de fibres réduit le risque de développement de maladies cardiovasculaires. Dans la cohorte SUVIMAX, on peut noter que seulement 21% des hommes et 7% des femmes atteignent les recommandations de 25g/j (Martin, 2001; Marlett, McBurney et al., 2002). Ceci souligne que des efforts importants sont à faire pour inciter à une plus grande consommation de produits riches en fibres (fruits, légumes, céréales complètes) apportant également une diversité de type de fibres permettant une plus grande protection vis-à-vis des maladies cardio-vasculaires

Basée sur des résultats des études épidémiologiques sur les relations alimentation-santé, la recommandation est d'atteindre 25 g de fibres totales par jour, et si possible 30 g par jour pour les adultes y compris les jeunes adultes. Les recommandations françaises chez les enfants reprennent les données américaines, qui proposent la quantité de fibres totales = âge+5g. La quantité efficace de fibres solubles a été estimée à 10 g minimum.

L'artichaut est particulièrement riche en fibres solubles, de l'ordre de 35%, de même que les légumes secs (25% de fibres solubles). Les fruits secs comme les fruits séchés (figes, pruneaux et dattes) sont des sources intéressantes de fibres. Augmenter la consommation de fruits ou légumes pourrait permettre de mieux couvrir les besoins en fibres sans augmenter l'apport énergétique.

### **. Caroténoïdes pro-vitaminiques A**

Les caroténoïdes sont des pigments liposolubles (dont les couleurs varient du jaune au rouge). Environ 600 structures existent dans le monde végétal, dont certaines, retrouvées dans notre alimentation quotidienne génère de la vitamine A par clivage central de la chaîne carbonée. Les principaux caroténoïdes pro-vitaminiques A de notre alimentation sont l'alpha et le beta-carotène et la beta-cryptoxanthine. Le clivage central de ces caroténoïdes est réalisé majoritairement par la beta-beta

carotène<sup>15,15'</sup> monoxygénase. Théoriquement, une molécule de beta-carotène devrait donner 2 molécules de rétinol. En fait, il existe un consensus scientifique sur le facteur de conversion des caroténoïdes en rétinol : de 1/6 pour le beta-carotène (6 mg de beta-carotène correspond à la même activité que 1 mg de rétinol) et de 1/12 pour les autres caroténoïdes provitaminiques A (Azais-Braesco and Grolier, 2001).

La vitamine A se présente, dans l'organisme, sous la forme de rétinol, de rétinal (dans la rétine), d'acide rétinoïque (dans les os et les muqueuses) ou de palmitate de rétinyle (réserves stockées dans le foie). C'est dans la rétine qu'on l'a isolée la première fois, d'où le nom de "rétinol". Elle joue un rôle important dans la vision, notamment dans l'adaptation de l'oeil à l'obscurité, mais aussi dans la croissance des os, la reproduction et la régulation du système immunitaire (Azais-Braesco and Grolier, 2001; Krinsky and Johnson, 2005; Amiot, Babot-Laurent et al., 2007). Elle contribue à la santé de la peau et des muqueuses (yeux, voies respiratoires et urinaires, intestins), qui constituent notre première ligne de défense contre les bactéries et les virus. Elle est essentielle à la différenciation et la croissance cellulaire, car elle participe à la transcription de certains gènes et à la synthèse de certaines protéines. Elle semble jouer un rôle dans la régulation des réponses inflammatoires.

Les besoins en vitamine A reposent sur peu d'études. Le besoin minimal est estimé à 600 ER et l'apport souhaitable entre 1000 et 1200 ER. Les apports nutritionnels conseillés varient de 350 ER par jour pour un nourrisson à 950 ER par jour pour des femmes allaitant. Il est conseillé que les apports en vitamine A proviennent des produits animaux pour 40% (foie, beurre, fromage, oeufs, lait entier) et des produits d'origine végétale riches en caroténoïdes provitaminiques A pour 60%. Une consommation de 2,1 mg de beta-carotène (correspond à 350 ER), notamment par une consommation de fruits et de légumes est conseillée dans notre alimentation quotidienne.

L'étude SU.VI.MAX montre bien que les hommes, à l'inclusion, étaient sous-consommateurs de fruits et légumes, ce que se traduit par un niveau plasmatique en beta-carotène plus faible que les femmes (Galan, Viteri et al., 2005). Une plus grande consommation de fruits et légumes est à recommander pour couvrir les besoins en caroténoïdes pro-vitaminiques A. Les principales sources de caroténoïdes provitaminiques A sont les fruits et légumes de couleur orange (carottes, potiron, melons, abricots, agrumes, mangues...) mais aussi les légumes feuilles (choux verts, épinards et brocolis) (<http://www.ars.usda.gov/>)

### **. Vitamine B9 (acide folique)**

La vitamine B9 est représentée par le groupe des folates ou polyglutamates, dont les différentes formes dérivent de l'acide folique ou acide ptéro-monoglutamique. Ce sont les formes réduites, comme le dihydrofolate et le tétrahydrofolate, qui sont les seules actives (Potier de Courcy, Chritidès et al., 2001).

Les enquêtes nutritionnelles en France ont établi une corrélation étroite entre le statut biologique en folates et les apports alimentaires (Herberg, Preziosi et al., 1994).

Les folates, en tant que donneur d'unités mono-carbonées, participe au métabolisme des acides aminés et des acides nucléiques. Ils ont une fonction essentielle dans le métabolisme de l'histidine, de la glycine, dans la synthèse de la méthionine par reméthylation de l'homocystéine et dans la synthèse des purines et des pyrimidines. La carence en folates est associée à un risque accru de maladies cardiovasculaires et de déficit cognitif du sujet âgé (Krishnaswamy and Nair, 2001; Potier de Courcy, Chritidès et al., 2001; Stanger, 2002; Rampersaud, Kauwell et al., 2003).

De nombreuses études ont montré une corrélation inverse entre le niveau de folates circulants et l'homocystéinémie. Par ailleurs, on connaît l'association de polymorphismes génétiques de la MTHFR (5,10-méthylène-tétrahydrofolate réductase) avec l'homocystéinémie (Chango, Boisson et al., 2000). Chez les sujets, qui, génétiquement, présentent un défaut de synthèse de MTHF (fréquence de cette anomalie assez élevée dans la population française), un apport suffisant de folates par l'alimentation peut prévenir ces effets d'insuffisance métabolique.

Les besoins en folates sont augmentés dès le début de la grossesse (Potier de Courcy, Chritidès et al., 2001). Une carence dans les premières semaines de la grossesse peut provoquer un défaut de fermeture

du tube neural. Une déficience plus tardive ou moins aiguë peut entraîner un retard de croissance *in utero*, ou peut produire un déficit des réserves en folates du nouveau-né. Compte tenu des différentes données, un apport minimal de 400 microg/jour est préconisé pour éviter tout risque durant la grossesse. Il apparaît qu'un tel apport est difficilement atteignable.

Les apports conseillés en folates sont de 330 microg/jour pour les hommes et adolescents et 300 microg/jour pour les femmes et adolescentes 16-19 ans et tous les adolescents de 13 à 15 ans. Sur la base des données INCA, les besoins nutritionnels moyens apparaissent loin d'être couverts par les très faibles consommateurs de fruits et légumes.

Les fruits et légumes sont des sources intéressantes d'acide folique, avec notamment les épinards frais, les petits pois, les haricots verts, les avocats et les tomates (<http://www.ars.usda.gov/>). Notons que les céréales, les légumineuses et les fruits secs (noix, amandes) sont aussi de bons contributeurs de l'acide folique et les sources les plus riches sont la levure et le foie (>200 microg/100g produit).

IL faut noter aussi que les fruits et légumes contiennent également beaucoup d'autres vitamines du groupe B (B1, B2, B3, B5 et B6). Même si la contribution est inférieure à 20% pour chacune d'entre elles, ce groupe d'aliments participe à l'apport quotidien de ces vitamines.

### . **Vitamine C (acide ascorbique)**

La vitamine C, en raison de sa structure comportant une fonction ène-diol, comporte des propriétés réductrices à la base de son activité biologique. Elle assure deux fonctions principales : une activité antioxydante et un rôle de cofacteur dans les réactions d'hydroxylation catalysées par les oxygènes. Aussi la vitamine C intervient-elle dans la synthèse de collagène, des catécholamines et de la carnitine. La vitamine C est caractérisée par un très fort potentiel antioxydant. L'ascorbate piège les espèces oxygénées réactives dérivées de l'oxygène, tels le radical hydroxyle et l'anion superoxyde, ainsi que les espèces réactives dérivées de l'azote, tel que le peroxydant (Jacob and Sotoudeh, 2002; Birlouez-Aragon and Tessier, 2003; Padayatty, Katz et al., 2003).

A concentration optimale (60 micromol/L dans le plasma), teneur assurée par une consommation journalière de 110 mg (équivalent à son Apport Nutritionnel Conseillé), son pouvoir réducteur protège nos tissus de l'ensemble des espèces radicalaires produites en milieu aqueux dans des conditions normales. En s'oxydant elle-même, elle protège ainsi un grand nombre de biomolécules. Le glutathion, autre composant réducteur, est capable de régénérer la vitamine C ; un tel système permet le maintien de la concentration en vitamine C dans notre organisme. Une baisse de la concentration de vitamine C dans l'organisme, malgré le maintien des apports à un niveau adéquat, révèle la présence d'un stress oxydant et l'inefficacité de l'organisme à faire face à ce stress.

La vitamine C est essentiellement apportée par les fruits et légumes consommés en frais et leurs produits dérivés, dont les jus de fruits (Tableau 1.1-5 en Annexe). L'enquête INCA montre que plus de la moitié de la population française ne respectent pas les besoins nutritionnels moyens. Une consommation supérieure de fruits frais est à recommander pour couvrir les besoins, notamment chez les faibles consommateurs. Les sources de vitamine C sont, pour les fruits, les Citrus, les kiwis, les abricots et les petits fruits rouges, et pour les légumes, les poivrons et les choux.

Il faut noter que, à côté de la vitamine C, les fruits et légumes renferment de faibles quantités de vitamine E qui peuvent participer de façon non négligeable à l'apport quotidien (fruits secs, kiwi...). L'impact des apports en vitamine E a généralement été pris en compte dans le cadre d'associations avec la vitamine C et éventuellement d'autres composés (polyphénols ou caroténoïdes) qui permettent une autoprotection de ces substances antioxydantes.

### . **Vitamine K**

La vitamine K regroupe des substances liposolubles possédant une structure commune, le noyau 2-méthyl-1-4 naphthoquinone, et dont les deux formes les plus importantes sont : les phyloquinones (d'origine végétale) ou vitamine K1 et les ménaquinones (d'origine bactérienne) ou vitamine K2 (Dowd, Ham et al., 1995; Guillaumont, 2001).

La vitamine K est un cofacteur indispensable à la carboxylation de certaines protéines intervenant dans la coagulation et dans l'activation de l'ostéocalcine. Des études plus récentes tentent de préciser le rôle de cette vitamine dans les processus de la minéralisation osseuse (Nieves, 2005).

Les besoins en vitamine K ne sont pas connus avec précision, mais il existe un consensus pour dire qu'ils sont faibles et évalués à 1 microg/kg/jour pour un adulte, ce qui permet une activité coagulante normale. Chez les personnes âgées, la carence en vitamine K serait fréquente, notamment chez les sujets atteints d'ostéoporose. Les apports nutritionnels conseillés varient de 10 microg par jour pour un nourrisson à 45 microg par jour pour un adulte.

Le statut nutritionnel en vitamine K de la population française est difficile à évaluer. En effet, il n'existe pas de marqueurs biologiques de la vitamine K, et l'apport est difficile à estimer en raison du manque de données des tables de composition. Cependant les fruits et légumes sont des sources importantes de vitamine K, les sources les plus riches étant les légumes verts (brocolis, choux, laitue, cresson, épinards) (Booth, Pennington et al., 1996) (<http://www.ars.usda.gov/>). Il faut noter que les huiles végétales, plus particulièrement les huiles de colza et soja, sont également des sources riches en vitamine K (entre 100 et 1000 microg/100g de produit).

### *. Minéraux*

Les éléments minéraux indispensables sont classés en éléments minéraux majeurs : phosphore (P) calcium (Ca) magnésium (Mg) sodium (Na) potassium (K) chlore (Cl), et en oligo-éléments : fer (Fe) zinc (Zn) cuivre (Cu) managnèse (Mn) iode (I) sélénium (Se)... (Drüeke and Lacour, 2001; Rayssiguier, Boirie et al., 2001). Les fruits et légumes sont principalement des sources de K et de Mg.

Concernant le potassium, des fortes concentrations intracellulaires sont nécessaires pour le bon fonctionnement de nos cellules. Le potassium agit en étroite collaboration avec le sodium pour maintenir l'équilibre acido-basique du corps et celui des fluides. Il est essentiel à la transmission des impulsions nerveuses et à la contraction musculaire, y compris celle du muscle cardiaque. Des apports insuffisants en potassium ont un effet négatif sur la pression artérielle. L'effet protecteur d'un apport alimentaire élevé de potassium sur le développement de l'hypertension artérielle est bien documenté et que des apports de potassium de 4,5 g/j sont recommandés dans le cadre de la prévention primaire de l'hypertension artérielle (He and Whelton, 1997; Whelton, He et al., 1997). La consommation habituelle de potassium se situe entre 2340 à 5850 mg par 24h (Martin, 2001), et les besoins sont estimés à 3100 mg au niveau européen (Scientific Committee for Food. Nutrient and energy intakes for the European Community. Luxembourg: Commission of the European Communities, 1993). Les meilleures sources de potassium sont les aliments frais peu transformés, dont les fruits et légumes, car la transformation peut diminuer considérablement la teneur en potassium. Notons aussi que les aliments crus sont généralement pauvres en sodium et que les jus de fruits et les soupes sont des sources de potassium. Le potassium alimentaire est principalement sous forme de phosphate, citrate et bicarbonate.

Le magnésium, second cation intracellulaire, constitue un élément d'importance majeure en biologie humaine. La plupart des voies métaboliques sont magnésio-dépendantes et cet élément joue un rôle clé dans l'équilibre ionique des membranes. Le magnésium intracellulaire jouerait un rôle clé dans l'action régulatrice de l'insuline et dans le bon fonctionnement du système vasculaire. Le déficit en magnésium peut être également exacerbé par des facteurs qui altèrent les mécanismes homéostasiques du Mg : stress, diabète... D'après Sontia and Touyz (2007), les études épidémiologiques ainsi que des études expérimentales montrent une corrélation inverse entre le magnésium sérique et la tension artérielle. Selon Huerta et al (2005), une consommation plus importante de magnésium par des aliments, incluant les fruits et légumes, voire une supplémentation pourrait être également un moyen de prévention du diabète de type 2 chez les enfants obèses.

Le besoin moyen en magnésium est de 5 mg/kg/j quel que soit le sexe et les apports nutritionnels conseillés sont fixés à 6 mg de Mg/kg/j. Les apports alimentaires ont été récemment évalués en France chez les sujets participant à la cohorte SU.VI.MAX. Plus des deux tiers des sujets ont des apports inférieurs aux ANC fixés à 6 mg/kg/j, ce qui confirme la fréquence de déficit magnésique par apport nutritionnel insuffisant. Cependant, la plupart des aliments riches en magnésium comme le chocolat et

les fruits secs amènent et aussi un apport calorique élevé. Les fruits et légumes ayant une très faible densité énergétique apparaissent des sources quotidiennes intéressantes pour mieux couvrir les besoins en magnésium.

### 1.1.1.2. Substances spécifiques des fruits et légumes

Les fruits et les légumes apportent une variété de composés, dépourvus de valeur nutritionnelle sensu stricto, qui pourraient avoir également des effets protecteurs vis-à-vis de diverses maladies dégénératives de par leurs effets biologiques rapportés dans de nombreux travaux (Tableau 1.1-2). Pour toutes ces substances, il n'existe pas à l'heure actuelle d'apports nutritionnels conseillés.

**Tableau 1.1-2.** Principaux constituants d'intérêt nutritionnel des fruits et légumes

Composé	Nature	Effet biologique	Recommandation	Contribution des F&L aux apports <sup>(1)</sup>	Déficit dans la population	F&L riches [autres aliments riches en ces nutriments]
Fibres	polymères : polysaccharides et lignines	actions sur la fonction gastro-intestinale ; action des fibres solubles sur certains désordres métaboliques, (hyperglycémie, hyperinsulinémie)	25-30 g/j dont 10 g de solubles	F+L = 38%	Environ 75% de la population n'atteignent pas 25 g/j	artichaut, fruits séchés [céréales]
Caroténoïdes pro-vitamine A ( $\alpha$ - et $\beta$ -carotènes)	pigments liposolubles	Vitamine A : dans la vision + autres (embryogenèse, croissance...)	Vitamine A : ANC = 900-700 $\mu$ g ER pour homme-femme	Vit. A : F+L = 38%		fruits et légumes de couleur orange, légumes feuilles [produits animaux]
Vitamine B9 (acide folique)	hydrosoluble	Participe au métabolisme des acides aminés et des acides nucléiques	ANC = 330-300 $\mu$ g pour homme-femme	F+L = 42%	chez 30-40% de la population Pb femmes enceintes	épinards, légumineuses, avocat, tomate [foie, levure de bière]
Vitamine C	hydrosoluble	antioxydant et cofacteur dans hydroxylation	ANC = 110 mg/j	F+L = 73%	chez >50% de la population	fruits frais agrumes et jus d'agrumes
Vitamine K	liposoluble	rôle dans la coagulation (et le métabolisme osseux)		F+L = 29%	difficile à évaluer	légumes-feuilles [huiles colza et soja]
Potassium	hydrosoluble	Maintien de l'équilibre acido-basique	3,1g (Europe)	F+L = 29% (90% des sels organiques)	75% < ANC	fruits et légumes frais
Magnésium	hydrosoluble	Participe à l'équilibre ionique des membranes	ANC = 6 mg Mg/kg/j	F+L = 22%	2/3 < ANC (SU.VI.MAX) <sup>o</sup>	fruits et légumes frais
Polyphénols	Grande diversité de structures composées de plusieurs noyaux phénoliques (différentes classes : acides phénoliques, flavonoïdes, tannins)	antioxydants (seuls ou en synergie) → protecteurs probables / maladies cardiovasculaires (flavonoïdes)	pas d'ANC	F+L = 28%		fruits (petits fruits rouges), légumes (artichaut, chou) [café, thé, céréales, vin]
Caroténoïdes non pro-vitamine A	pigments liposolubles	antioxydants (seuls ou en synergie)	pas d'ANC	(non évalué)		légumes feuilles (lutéine), tomate (lycopène)
Glucosinolates	hydrosolubles	anticarcinogènes potentiels (détoxification) par leurs métabolites	pas d'ANC	(en cours d'évaluation)		crucifères
Phytostérols	liposolubles, structure analogue à celle du cholestérol	hypocholestérolémiant... à dose forte (> alimentaire, 2g/j)	pas d'ANC			crucifères

<sup>(1)</sup> Contribution des F&L aux apports journaliers en fibres et micronutriments, estimés pour la consommation alimentaire moyenne (INCA)

### **. Polyphénols**

Les fruits apportent environ 28% de l'apport total en polyphénols (Brat, George et al., 2006) lequel est estimé à environ 1g par jour soit 10 fois l'apport en vitamine C et 100 fois celui en vitamine E. Une récente compilation d'études prospectives (Arts and Hollman, 2005) met en avant un effet protecteur probable d'un plus grand apport en flavonoïdes vis-à-vis des maladies cardio-vasculaires (confirmé dans le rapport FAO, 2006). Mais il n'est apparu aucune association entre apport en flavonoïdes et protection des cancers. A l'heure actuelle, il n'est pas possible d'établir des apports journaliers recommandés pour les polyphénols.

La protection des polyphénols vis-à-vis des maladies cardiovasculaires est apparue essentiellement reliée à leurs effets antioxydants (en particulier l'effet protecteur sur la peroxydation des lipoprotéines). Il a été montré dans de nombreuses études que les polyphénols neutralisent les radicaux libres, entités extrêmement réactives et délétères vis-à-vis de nos biomolécules (protéines, lipides, ADN). Au niveau du plasma, l'effet biologique des polyphénols ne semble pas être attribuable à un effet antiradicalaire direct, car leur biodisponibilité est faible (Ross and Kasum, 2002; Amiot, Babot-Laurent et al., 2007). En revanche, les polyphénols peuvent moduler l'expression ou l'activité de molécules impliquées dans le processus athérosclérotique, et par exemple diminuer la production de facteurs pro-inflammatoires, et stimuler celle de facteurs anti-inflammatoires. Ils sont aussi capables de diminuer d'autres facteurs de risque des maladies cardio-vasculaires, comme l'hyperlipémie. Un effet antiradicalaire des polyphénols reste toutefois possible au niveau du tube digestif, où ils sont largement majoritaires lors de la digestion (Halliwell, Rafter et al., 2005). Ils pourraient alors agir en limitant les effets délétères des substances pro-oxydantes présentes dans le repas et protéger les autres antioxydants alimentaires de la dégradation. Les polyphénols auraient certainement un rôle de synergie ou de complémentarité avec les autres antioxydants (vitamines C et E, caroténoïdes) dans la prévention du risque cardiovasculaire.

### **. Caroténoïdes non pro-vitaminiques A**

L'effet protecteur des caroténoïdes vis-à-vis de certaines grandes pathologies chroniques est essentiellement dû à leur pouvoir antioxydant (Rao, 2002; Krinsky and Johnson, 2005; Amiot, Babot-Laurent et al., 2007). Les caroténoïdes sont alors capables de neutraliser les espèces oxygénées réactives (ERO) tels que l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ) et les radicaux peroxy et de protéger ainsi les systèmes cellulaires de l'oxydation. Le caroténoïde le plus efficace en tant que piègeur de radicaux libres est le lycopène, suivi par  $\alpha$ -carotène,  $\beta$ -cryptoxanthine, zéaxanthine et  $\beta$ -carotène, lutéine. Les caroténoïdes ont certainement un rôle de complémentarité ou de synergie avec d'autres antioxydants, telles que les vitamines C et E.

En addition de ces propriétés antioxydantes, le lycopène présente aussi des effets biologiques mettant en jeu des activités anti-inflammatoires, antimutagéniques, anticarcinogènes. L'effet inhibiteur du lycopène sur la carcinogenèse pourrait impliquer plusieurs mécanismes tels que : neutralisation des ERO, régulation positive des systèmes de détoxification, inhibition de la prolifération cellulaire et augmentation de la différenciation, induction de la communication cellulaire par les "gap junctions" et inhibition de la progression du cycle cellulaire.

La lutéine jouerait alors un rôle protecteur vis-à-vis de la dégénérescence liée à l'âge, en agissant directement en tant qu'antioxydant mais aussi indirectement en absorbant la lumière bleue, responsable de la formation de radicaux libres. La lutéine et son isomère structural la zéaxanthine sont les deux principaux caroténoïdes présents dans la macula et la rétine. Leur concentration peut atteindre 1 mmol/L, ce qui est environ 500 fois plus élevé que leur concentration dans les autres tissus.

Il apparaît que les légumes verts à feuilles font partie des aliments contenant le plus de caroténoïdes, le cresson étant le plus riche. En effet, celui-ci est, avec le persil et les épinards, une source importante de  $\beta$ -carotène et de lutéine. La tomate et ses produits dérivés sont des sources importantes en lycopène.

## **. Glucosinolates**

Les brocolis, les choux, les choux- fleurs, les choux-frisés ou de Bruxelles sont des sources spécifiques de glucosinolates dans notre alimentation.

Récemment, il a été estimé que la consommation de ces végétaux type crucifère était de 11,3 g/jour en Espagne (cohorte espagnole nichée dans l'étude multicentrique EPIC "European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition". Cette consommation représente 5% de la consommation totale de légumes et correspond à 6,5 mg de glucosinolates. Aucune estimation de la consommation française n'existe. On peut supposer que la consommation française soit proche de cette valeur, laquelle est peu élevée comparée à celle des pays de l'Europe du Nord, de du Nord et de plusieurs pays d'Asie (Agudo, Slimani et al., 2002; Agudo, Ibanez et al., 2007). Pour être actifs, les glucosinolates doivent être hydrolysés par une enzyme, la myrosinase. La cuisson réduit l'activité de la myrosinase, ce qui, en théorie, diminuerait la possibilité de transformer les glucosinolates en composés actifs. Toutefois, les glucosinolates, une fois ingérés, sont transformés chez l'homme en isothiocyanates, substances potentiellement anticarcinogènes. Les isothiocyanates sont des substrats et inducteurs d'enzymes de la phase II comme la glutathion S-transférase (GST) impliquée dans la détoxification des carcinogènes (Stoewsand, 1995; Keum, Jeong et al., 2005; Moreno, Carvajal et al., 2006).

## **. Phytostérols**

La consommation de phytostérols (ou stérols végétaux), qui sont des molécules liposolubles avec une structure semblable à celle du cholestérol, permet de réduire le cholestérol plasmatique (Miettinen and Gylling, 2003; Miettinen and Gylling, 2006).

Dans une étude récente, la consommation en Espagne a été estimée à 276 mg/ jour et le phytostérol majoritairement ingéré est le beta-sitostérol (79,7%). Cette consommation est similaire à celle de la Finlande et des Pays-Bas. Dans des enquêtes alimentaires réalisées à Marseille dans le cadre d'une étude clinique (Amiot et al, 2007, données non publiées), la consommation varie de 65 mg/jour à 270 mg/jour avec une moyenne de 173 mg/jour. En France, l'élaboration d'une table de composition est en cours. Les aliments contributeurs de l'apport en phytostérols sont : les céréales complètes et le pain complet, les huiles végétales, les légumineuses (lentilles), le maïs, les fruits secs et les brocolis. Les légumes de type crucifère représentent jusqu'à 20% de la consommation.

Le résultat d'une méta-analyse a montré que la consommation journalière de 2g/j de phytostérols réduisait de 10% le LDL-C (Katan, Grundy et al., 2003). Cet effet hypocholestérolémiant semble passer par la réduction de l'incorporation du cholestérol (alimentaire et biliaire) dans les micelles mixtes via une inhibition compétitive des phytostérols. Il apparaît clairement que l'apport en phytostérols est insuffisant pour avoir un effet hypocholestérolémiant. Cependant d'autres mécanismes de protection sont suggérés, comme une augmentation de l'efflux du cholestérol au travers une augmentation du nombre de transporteurs (NPC1L1, ABCA1, ABC G5/G8) et du nombre de récepteurs aux LDL. La régulation de l'expression de ces protéines passe par le récepteur hépatique X (LXR) dont les phytostérols mais aussi les phyto-oxystérols sont des ligands connus.

## **1.1.2. Fruits et légumes et couverture des besoins nutritionnels**

### **. Les références concernant les besoins**

Pour chaque micronutriment, le besoin nutritionnel moyen (BNM) est estimé expérimentalement sur des échantillons limités de sujets ; il correspond à la moyenne des besoins individuels. L'apport nutritionnel conseillé (ANC) est calculé à partir des BNM pour couvrir les besoins de la plus grande partie de la population, soit 97,5% des individus en tenant compte de la variabilité inter-individuelle. Les ANC doivent être distingués des apports journaliers recommandés (AJR), qui sont des valeurs utilisées pour l'étiquetage des produits. Les AJR sont des valeurs uniques pour chaque nutriment, qui ne prennent pas en compte les différences liées à l'âge ou au sexe, et sont harmonisés au niveau européen.

### Encadré 1.1-1. Apports Nutritionnels Conseillés (ANC)

L'ANC est égal au besoin nutritionnel moyen (BNM)\*, mesuré sur un groupe d'individus, auquel sont ajoutés 2 écarts types représentant souvent chacun 15% de la moyenne, marge de sécurité statistique tenant compte de la variabilité inter-individuelle et permettant de couvrir les besoins de la plus grande partie de la population, soit 97,5 % des individus. Ainsi l'ANC est égal en général à 130% du besoin nutritionnel moyen. Mais pour certains nutriments il peut être différent ; c'est le cas des folates dont l'ANC correspond à 140 % du BNM.

(\* le BNM résulte de valeurs acquises sur un groupe expérimental constitué d'un nombre limité d'individus et correspond à la moyenne des besoins individuels. Les valeurs pourront être revues en fonction des connaissances acquises en nutriginétique, c'est à dire de l'étude des bases héréditaires de la variabilité de réponse aux nutriments, ce qui nécessite des études avec un grand nombre d'individus)

Référence : Martin A. *Apports nutritionnels conseillés pour la population française*. Paris : Tec et Doc, 2001.

### . Données de consommation française et calculs des apports en micronutriments

L'enquête INCA 1 a été réalisée d'août 1998 à juin 1999 sur deux échantillons indépendants, l'un d'adultes de 15 ans et plus (n = 1985) et l'autre d'enfants de 3 à 14 ans (n = 1016). Ces échantillons, constitués par tirage au sort de ménages à partir du fichier d'un opérateur téléphonique, sont représentatifs de la population française. Un carnet de sept jours (semainier) décrit la consommation alimentaire. Les enquêtes ont été réparties sur l'ensemble de l'année, pour tenir compte de la saisonnalité de la consommation. La contribution des F&L aux apports en nutriments a été calculée à partir des tables de composition nutritionnelle moyenne des aliments. Ces valeurs sont à considérer avec prudence, car les tables de composition n'intègrent pas les variations dues à de multiples facteurs (variété génétique, conditions de stockage, modes de préparation...).

Dans INCA, la consommation moyenne de F&L est évaluée à 365 g par jour chez les personnes de 15 ans et plus (Tableau 1.1-3). Cette estimation est cohérente avec les données d'études épidémiologiques portant sur des volontaires, ne prenant pas en compte tout à fait les mêmes catégories de F&L : 450 et 410 g/j respectivement pour les hommes et les femmes dans l'étude SU.VI.MAX (sur un échantillon de 4 652 sujets âgés de 35 à 63 ans, recrutés en 1994-1995) et 460 g/j dans l'étude européenne EPIC (portant sur 465 586 sujets d'âge moyen 51,7 ans recrutés entre 1992 et 1998).

Il existe une grande disparité de consommation au sein de la population française, notamment en fonction de l'âge des individus. Dans INCA, la tranche d'âge 15-24 ans consomme, en moyenne, hors jus de fruits, 224 g de F&L par jour alors que la tranche des plus de 65 ans en consomme 509 g. Des disparités similaires sont rapportées en Europe ; même dans les pays ayant une consommation moyenne élevée comme la Grèce et l'Espagne, une fraction de la population présente un niveau très faible de consommation.

**Tableau 1.1-3.** Consommation journalière (en grammes) de fruits et légumes (hors jus de fruits) en fonction de l'âge, dans l'enquête INCA 1

Catégorie / âge	15-24	25-44	45-54	65 et plus	Ensemble
Fruits	77	109	164	206	139
Compotes et fruits cuits	9	10	12	12	11
Légumes (hors pomme de terre)	94	116	146	129	121
Soupes	44	57	111	162	93
Fruits + légumes	171	225	311	335	260
Total	224	292	434	509	365

Dans un premier temps, la contribution des F&L frais et transformés aux apports de nutriments a été évaluée par rapport aux six autres groupes d'aliments (assaisonnements, féculents, plats préparés, produits laitiers, produits gras-sucrés-salés et viandes-poisson-œufs). Dans un second temps, au sein du groupe F&L, la contribution aux apports a été estimée pour chacun des 8 sous-groupes suivants : crudités, fruits séchés, fruits frais, fruits transformés, jus de F&L, légumes, fruits secs et soupes.

### Encadré 1.1-2. L'étude SU.VI.MAX

**Objectif :** L'étude SU.VI.MAX est une étude épidémiologique longitudinale avec un essai contrôlé (essai randomisé en double aveugle), ayant testé, sur des sujets présumés sains, l'impact pendant 8 ans d'un apport quotidien d'antioxydants à des doses nutritionnelles, accessibles par l'alimentation ( $\beta$ -carotène : 6 mg, vitamine C : 120 mg, vitamine E : 30 mg, sélénium : 100  $\mu$ g et zinc : 20 mg), sur la prévention des maladies cardiovasculaires et des cancers. A côté de ce premier objectif, un second objectif a été de constituer une base de données sur la consommation alimentaire des français.

**Méthodologies :** L'inclusion des volontaires (octobre-mai 1995) a faite suite aux deux étapes préalables : n appel au volontariat (mars-juin 1994) grâce au soutien des médias qui ont relayé l'appel des chercheurs; au total, 79 976 volontaires dans la tranche d'âge considérée se sont inscrits par téléphone, minitel ou par courrier, une sélection des participants (juin-août 1994) ; 21 481 personnes ont retourné les formulaires de consentement et les questionnaires dûment remplis. Parmi ces 21 481 volontaires ont été sélectionnés les 14 412 les plus représentatifs de la population française. En août 1994, la cohorte SU.VI.MAX était constituée, les personnes retenues informées. Les volontaires ont été convoqués entre octobre 1994 et fin mai 1995 pour leur premier bilan SUVIMAX; 8 mois ont donc été nécessaires pour réaliser l'inclusion des sujets de la cohorte après passage des unités mobiles dans les 65 villes-étapes SU.VI.MAX où étaient rattachés les 14 412 volontaires. En fait, 13017 volontaires entre 1994 et 2002, soit 7886 femmes de 35 à 60 ans et 5141 hommes de 45 à 60 ans ont participé à cette étude. Les volontaires ont été partagés en deux groupes : l'un recevant la pilule SUVIMAX, l'autre une capsule placebo sans aucune substance et ceci tous les jours pendant 8 ans. Le cocktail SU.VI.MAX correspondait à la prise d'un complément nutritionnel à visée anti-oxydante, sa composition était la suivante : 6 mg de  $\beta$ -carotène, 120 mg vitamine C, 30 mg vitamine E, 100 microg de sélénium et 20 mg de zinc.

*Référence : Hercberg S, Preziosi P, Briancon S, et al. A primary prevention trial using nutritional doses of antioxidant vitamins and minerals in cardiovascular diseases and cancers in a general population: the SU.VI.MAX study-design, methods, and participant characteristics. SUPplementation en Vitamines et Minéraux Antioxydants. Control Clin Trials 1998;19:336-351 (Hercberg, Preziosi et al., 1998).*

### Encadré 1.1-3. L'étude EPIC

**Objectif :** L'étude prospective européenne sur le cancer et la nutrition (EPIC) est une étude prospective multi-centrique de cohorte, initiée en 1992. Cette étude représente un projet de collaboration entre 23 centres situés dans 10 pays Européens: l'Allemagne, le Danemark, l'Espagne, la France, la Grèce, la Hollande, l'Italie, la Norvège, le Royaume-Uni et la Suède.

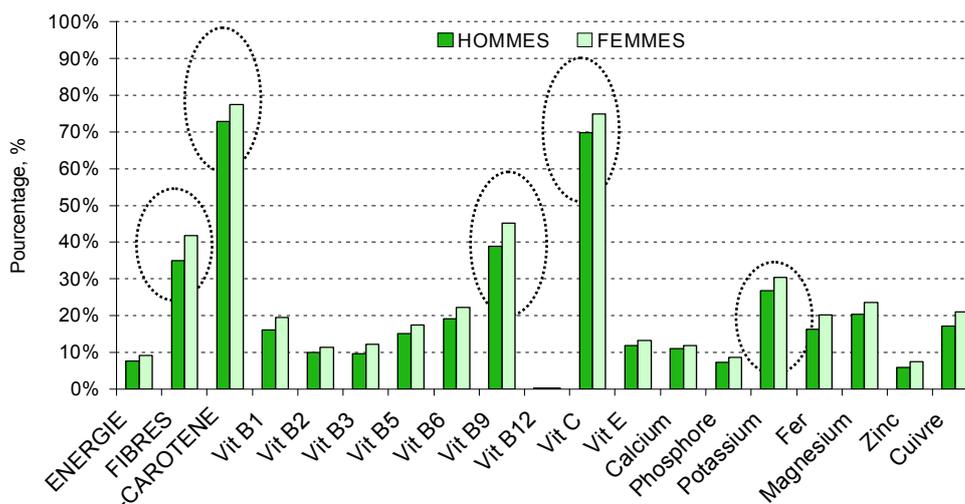
**Méthodologie :** Plus de 500 000 bénévoles âgés de 35 à 70 ans, ont été inclus. Les informations sur les habitudes alimentaires et les données anthropométriques ont été recueillies à l'inscription. Des prises de sang ont été faites à la plupart des participants. EPIC représente la plus importante base de données mise à disposition pour les études prospectives de l'étiologie des cancers. Elle peut intégrer des questionnaires sur le mode de vie et le régime, des marqueurs biologiques alimentaires, des polymorphismes métaboliques et génétiques, avec l'avantage supplémentaire de pouvoir comparer l'incidence des cancers et des habitudes alimentaires entre les centres. La méthode de référence utilisée pour la validation du questionnaire était l'interview, effectué par une diététicienne, de l'alimentation des 24 heures précédentes, appelé rappel de 24h. Une des hypothèses testées dans l'étude EPIC est l'effet protecteur éventuel de la consommation de fruits et de légumes contre certains cancers.

*Références : Riboli E, Hunt KJ, Slimani N, et al. European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC): study populations and data collection. Public Health Nutr 2002;5:1113-24. (Riboli, Hunt et al., 2002)  
Slimani N, Kaaks R, Ferrari P, et al. European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) calibration study: rationale, design and population characteristics. Public Health Nutr 2002;5:1125-45. (Slimani, Kaaks et al., 2002)*

Pour évaluer la contribution des fruits et légumes en différents nutriments, la table de composition nutritionnelle des aliments de l'enquête INCA a été construite à partir de différentes sources de composition nutritionnelle moyenne des aliments<sup>1</sup>. La majorité des informations nutritionnelles de la table des aliments INCA est issue de la table du CIQUAL<sup>1</sup> de 1995. Cependant, les aliments de l'étude INCA n'étant pas tous présents dans le CIQUAL, les informations nutritionnelles ont été recherchées dans la table de composition SU.VI.MAX.<sup>2</sup>, la table du CIQUAL<sup>3</sup> 1996, la table de Souci<sup>4</sup> et la table de McCance<sup>5</sup>. Enfin, les teneurs moyennes en zinc, cuivre, iode et sélénium proviennent de la table USDA<sup>6</sup>.

Il faut être prudent dans l'interprétation car les tables de composition n'intègrent pas les variations dues à de multiples facteurs : variété, effet du stockage, modes de préparation... Dans un premier temps, nous avons évalué la contribution des fruits et légumes frais et transformés par rapport aux six autres groupes d'aliments : assaisonnements, féculents, plats préparés, produits laitiers, produits gras-sucrés-salés et les viandes-poisson-œufs. Dans un second temps, au sein du groupe fruits et légumes, la répartition de la contribution en divers nutriments dans 8 sous-groupes : les crudités, les fruits séchés, les fruits frais, les fruits transformés, les jus de fruits et légumes (seulement les jus pressés et à base de concentrés, mais pas les nectars), les légumes, les fruits secs et les soupes.

Les fruits et les légumes participent pour : 38,5% aux apports en fibres, 37,8% à ceux en vitamine A par leur richesse en caroténoïdes provitaminiques A, 41,6% en vitamine B9, 73% en vitamine C, 28,8% en potassium et 22,15% en magnésium (Figure 1.1-1 et Tableau 1.1-4 en Annexe). On peut constater également que les fruits également une grande diversité de vitamines et minéraux. Peu énergétiques, ils représentent le groupe d'aliments avec la plus forte densité nutritionnelle.



**Figure 1.1-1.** Contribution des F&L aux apports journaliers d'énergie et de nutriments dans l'alimentation (calculée à partir des données de l'enquête INCA 1)

Au sein du groupe fruits et légumes (Tableau 1.1-5, en Annexe), les fruits frais, les crudités et les jus sont les principaux contributeurs de vitamine C. Pour les fibres, les fruits frais et les légumes

<sup>1</sup> 1. Favier J., Ireland-Ripert J., Toque C., & Feinberg M. 1995. CIQUAL. Répertoire Général des Aliments. Table de composition Lavoisier, Tec&Doc, Paris.

2. Ouvrage collectif 2006. Table de composition des aliments SU.VI.MAX. Economica Editions.

3. Lamand M., Tressol J., Ireland-Ripert J., Favier J., & Feinberg M. 1996. CIQUAL. Répertoire Général des Aliments. Tome 4. Table de composition minérale. Eds Lavoisier, Tec&Doc, Paris.

4. Souci S.W. Fachmann W. Kraut H. 2000. Food composition and nutrition tables. CRC Press. Medpharm, Scientific Publishers, Stuttgart:6th revised edition.

5. Food Standard Agency, McCance and Widdowson's 2002. The composition of foods. Cambridge: Royal Society of Chemistry, Editor; Sixth Summary Edition.

6. USDA, Agricultural Research Service 2006. USDA National Nutrient Database for Standard Reference. Available at <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/>

représentent les pourcentages les plus élevés. Les crudités, les légumes et les soupes contribuent aux apports en caroténoïdes provitaminiques A. Ces mêmes sous-groupes avec les fruits contribuent également aux apports en vitamine B9.

Au sein du groupe F&L, les fruits frais, les crudités et les jus sont les principaux fournisseurs de vitamine C. Inciter à consommer plus de produits frais et des jus d'agrumes, reconnus pour leur richesse en vitamine C, est un moyen pour couvrir les besoins en cette vitamine chez les très faibles consommateurs de F&L. Les fruits frais et les légumes sont les principaux pourvoyeurs de fibres de l'alimentation. Augmenter la consommation de fruits ou légumes (une ou deux portions de 80 g) pourrait permettre de mieux couvrir les besoins en fibres. Les crudités, les légumes et les soupes contribuent aux apports en vitamine A par leur richesse en caroténoïdes pro-vitaminiques A. Ces mêmes sous-groupes avec les fruits contribuent également aux apports en vitamine B9.

### **1.1.3. Conclusions**

Les fruits et les légumes sont des aliments avec une forte densité nutritionnelle, soit un apport calorique faible et une grande richesse en vitamines, en minéraux et en substances spécifiques, les modes d'action de ces derniers commençant à être mieux connus. Pour certains micronutriments, les fruits et les légumes représentent des sources importantes de notre alimentation : c'est le cas de la vitamine C, des folates et de la vitamine A apportée par les caroténoïdes pro-vitaminiques A. De plus, les fruits et légumes contribuent à l'apport quotidien d'autres vitamines, notamment celles du groupe B, ainsi qu'à une grande diversité de minéraux.

On peut considérer que les données INCA reflètent au plus juste la consommation moyenne de fruits et légumes, laquelle peut être évaluée à environ 350 g par jour. Mais il existe une grande disparité de consommation au sein de la population française. Tout d'abord on peut constater d'une part une consommation assez élevée de fruits et légumes et produits dérivés chez les consommateurs plus âgés, et d'autre part un pourcentage important de très faibles consommateurs (environ 25% de la population dont la consommation est inférieure à 250g). Une telle disparité a déjà été rapportée pour différents pays d'Europe, même pour des pays présentant une consommation moyenne élevée comme la Grèce et l'Espagne. Par ailleurs les femmes sont plus consommatrices de fruits et légumes.

De part la faible consommation de fruits et légumes, des déséquilibres apparaissent clairement dans la population française, notamment ceux en fibres, en vitamines B9 et C, et en minéraux, dont le potassium. D'après les données INCA (1999), il apparaît que les apports en ces nutriments sont très insuffisants surtout pour les très faibles consommateurs de fruits et légumes. Leurs apports pourraient être largement augmentés par une consommation plus importante de fruits et de légumes.

Certains groupes de population apparaissent ainsi à plus haut risque de non-couverture de leurs besoins en micronutriments : il s'agit des enfants et adolescents, de la population féminine (jeunes filles, femmes en âge de procréer et femmes enceintes), des sujets âgés et des personnes en situation précaire.

On peut donc s'interroger sur l'évolution dans le temps des grandes différences de consommation de fruits et légumes observées entre les différents groupes d'âge. Nos données sont encore limitées. Les résultats de l'enquête INCA2 qui seront publiés prochainement permettra de réactualiser nos connaissances sur les déficiences de la population française et de les analyser en fonction de l'évolution de notre mode de vie et de nos habitudes alimentaires. Par ailleurs, des tables de composition réactualisées sont nécessaires pour mieux préciser les apports en nutriments et autres substances bioactives.

## Annexe

**Tableau 1.1-4.** Contribution des différents groupes d'aliments à l'apport journalier en nutriments  
(Source : données INCA, 1999)

groupe	ASSAISON -NEMENTS	FECULENTS	FRUITS_ LEGUMES	PLATS PREPARES	PRODUITS_ LAITIERS	PROD_SALE_ GRAS-SUCRE	VIANDE POISSON -OEUF
FREQ_	1332	1332	1327	1240	1326	1328	1332
énergie	7,96%	23,99%	8,56%	10,38%	11,71%	19,84%	18,42%
lipides	21,03%	5,54%	2,66%	13,67%	16,62%	15,98%	25,57%
glucides	0,07%	43,27%	15,09%	7,65%	5,12%	28,81%	0,68%
protéines	0,22%	15,51%	4,86%	10,72%	17,89%	6,64%	45,01%
AGS	22,74%	3,09%	1,13%	12,76%	23,00%	17,03%	21,29%
suc_aj	0,00%	2,79%	5,00%	0,78%	3,95%	87,59%	0,24%
fibres	0,01%	41,03%	38,49%	9,97%	0,20%	10,55%	0,62%
β-carotène	3,77%	0,17%	75,50%	12,57%	3,17%	3,25%	2,73%
Vit_A totale	10,41%	0,17%	37,84%	9,72%	13,53%	8,23%	21,00%
Vit_B1	0,19%	20,86%	17,67%	11,22%	9,31%	8,51%	33,15%
Vit_B2	0,41%	9,32%	10,41%	7,87%	31,66%	10,03%	31,05%
Vit_B3	0,04%	18,62%	10,66%	11,07%	3,00%	4,34%	53,10%
Vit_B5	0,29%	13,73%	16,30%	8,52%	20,64%	10,06%	31,23%
Vit_B6	0,15%	21,01%	20,39%	9,21%	7,42%	6,29%	36,29%
Vit_B9	0,10%	19,43%	41,59%	7,34%	9,41%	9,43%	13,43%
Vit_B12	0,07%	0,77%	0,27%	9,37%	21,16%	5,51%	63,61%
Vit_C	0,02%	9,44%	72,99%	7,07%	2,79%	4,27%	4,20%
Vit_E	32,65%	10,83%	17,59%	12,71%	4,39%	11,08%	11,75%
Vit_D	12,24%	0,32%	0,11%	9,55%	9,76%	21,10%	47,70%
Min_Ca	0,60%	7,02%	11,35%	10,39%	55,82%	9,88%	5,98%
Min_P	0,48%	14,76%	7,98%	10,13%	26,78%	9,41%	31,35%
Min_K	0,22%	18,15%	28,79%	8,70%	14,91%	7,67%	22,37%
Min_Fe	0,34%	24,55%	17,95%	10,39%	3,96%	10,56%	33,09%
Min_Mg	0,22%	25,28%	22,15%	10,09%	13,84%	10,05%	19,26%
Min_Zn	0,22%	15,92%	6,76%	11,91%	19,73%	6,68%	39,74%
Min_Cu	0,17%	32,43%	19,18%	11,72%	3,79%	13,47%	20,18%
Min_I	0,61%	9,58%	3,86%	8,92%	33,54%	12,13%	32,17%
Min_Se	0,12%	20,91%	4,15%	10,58%	7,96%	7,61%	49,47%
Min_Na	0,41%	27,98%	11,08%	18,74%	13,03%	7,76%	22,42%

**Tableau 1.1-5. Contribution des différentes catégories de fruits et légumes  
à l'apport journalier en nutriments  
(Source : données INCA, 1999)**

catégories	Crudités	Fruits séchés	Fruits frais	Fruits transf.	Jus	Légumes	Fruits secs	Soupes	Total
<b>Energie</b>	0,70%	1,07%	3,84%	1,30%	2,65%	1,12%	2,97%	2,44%	8,56%
<b>Lipides</b>	0,55%	0,07%	0,46%	0,07%	0,18%	0,40%	5,91%	0,42%	2,66%
<b>Glucides</b>	0,89%	2,22%	8,08%	2,96%	5,33%	1,59%	0,43%	4,78%	15,09%
<b>Protéines</b>	0,65%	0,35%	1,09%	0,12%	1,11%	1,80%	2,06%	1,30%	4,86%
<b>Fibres</b>	5,46%	3,81%	15,32%	2,46%	1,83%	12,89%	3,42%	10,37%	<b>38,49%</b>
<b>β-carotène</b>	27,35%	2,03%	12,41%	0,44%	4,42%	21,38%	0,09%	32,18%	<b>75,50%</b>
<b>Vit A totale</b>	13,96%	1,06%	6,53%	0,18%	1,73%	10,55%	0,04%	16,70%	<b>37,84%</b>
<b>Vit B1</b>	2,95%	0,65%	4,73%	1,10%	8,74%	3,44%	4,05%	3,73%	17,67%
<b>Vit B2</b>	2,01%	1,05%	3,01%	0,64%	2,50%	3,25%	1,13%	1,10%	10,41%
<b>Vit B3</b>	1,86%	1,34%	3,20%	0,51%	2,54%	2,64%	3,11%	2,69%	10,66%
<b>Vit B5</b>	3,21%	1,18%	4,84%	0,56%	5,87%	3,97%	3,45%	2,76%	16,30%
<b>Vit B6</b>	3,22%	1,03%	8,84%	0,94%	4,08%	4,01%	2,86%	5,04%	20,39%
<b>Vit B9</b>	11,39%	0,50%	10,80%	0,37%	10,45%	12,32%	3,58%	6,07%	<b>41,59%</b>
<b>Vit B12</b>	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,15%	0,00%	0,23%	0,27%
<b>Vit C</b>	11,49%	0,39%	27,84%	2,42%	45,69%	11,85%	0,25%	6,65%	<b>72,99%</b>
<b>Vit E</b>	2,63%	1,25%	4,70%	0,98%	2,46%	2,45%	6,30%	2,14%	17,59%
<b>Min Ca</b>	1,84%	0,75%	2,75%	0,58%	2,05%	3,79%	1,43%	3,03%	11,35%
<b>Min P</b>	1,18%	0,79%	1,94%	0,20%	1,81%	2,44%	2,94%	2,33%	7,98%
<b>Min K</b>	5,53%	3,45%	10,80%	1,11%	9,10%	5,27%	2,25%	5,81%	<b>28,79%</b>
<b>Min Fe</b>	2,69%	3,02%	3,52%	1,32%	4,88%	7,16%	2,29%	3,82%	17,95%
<b>Min Mg</b>	3,01%	1,95%	6,82%	0,98%	6,23%	5,70%	6,42%	6,33%	<b>22,15%</b>
<b>Min Zn</b>	1,10%	0,46%	1,74%	0,27%	0,07%	2,55%	2,71%	1,79%	6,76%
<b>Min Cu</b>	2,96%	2,06%	7,46%	1,65%	0,69%	5,22%	8,93%	4,84%	19,18%
<b>Min I</b>	0,63%	0,17%	1,03%	0,05%	1,17%	0,62%	0,43%	1,98%	3,86%
<b>Min Se</b>	0,33%	0,70%	0,81%	0,18%	2,61%	1,13%	0,71%	1,63%	4,15%
<b>Min Na</b>	0,32%	0,05%	0,26%	0,24%	0,10%	3,24%	0,03%	13,48%	11,08%

## 1.2. Fruits et légumes et maladies cardiovasculaires

Jean Dallongeville, Luc Dauchet

Les cardiopathies ischémiques et les accidents vasculaires cérébraux sont la principale cause de décès en France et dans le monde. L'alimentation et les habitudes de vie ont un rôle important dans l'étiologie des maladies cardiovasculaires. Plusieurs nutriments comme les acides gras saturés, les acides gras *trans* et le sel affectent les niveaux des principaux facteurs de risque et la survenue des accidents vasculaires.

Ces dernières décennies, la mise en évidence biologique de possibles effets protecteurs de nombreux constituants, notamment des antioxydants, a stimulé un intérêt particulier pour l'étude des propriétés des fruits et des légumes. A la fin des années 80, la cohérence des données expérimentales, cliniques et épidémiologiques qui montraient des effets favorables des fruits et légumes et de leurs composés sur l'athérosclérose a conduit les autorités de santé américaines, et plus tard françaises, à promouvoir la consommation de fruits et légumes de la population (Committee on Diet and Health and National Research Council, 1989; National Cancer Institute, 2001; Ministère de la Santé et des Solidarités, 2006).

Depuis, de nombreuses autres études ont été publiées. L'objectif de cette revue est d'analyser les arguments qui permettent de préciser la nature de la relation entre la consommation de fruits et légumes et les maladies vasculaires. Pour cela, nous nous sommes intéressés principalement aux études qui évaluaient les effets de la consommation de fruits et de légumes sur les facteurs de risque et la survenue de maladies cardiovasculaires. La revue est divisée en 4 parties : les études épidémiologiques prospectives qui mesurent la relation entre la consommation de fruits et légumes et la survenue d'événements vasculaires dans des cohortes de population, les essais d'intervention nutritionnelle qui évaluent les effets de la consommation de fruits et légumes sur la survenue d'événements vasculaires, les études cliniques qui mesurent les effets de la consommation de fruits et légumes sur les facteurs de risque cardiovasculaire, et les essais d'intervention pharmacologique qui mesurent l'impact des principaux composés des fruits et légumes sur la survenue d'événements vasculaires.

### 1.2.1. Relation entre consommation de fruits et légumes et survenue de maladies cardiovasculaires dans les enquêtes prospectives

L'analyse de la relation entre la consommation de fruits et de légumes et le risque de maladie chronique s'appuie en grande partie sur des études épidémiologiques d'observation, conduites pour la plupart aux Etats-Unis et en Europe du Nord. Les études contrôlées d'intervention nutritionnelle sont rares et plus récentes.

Les enquêtes épidémiologiques d'observation sont des techniques d'étude d'association entre des facteurs d'exposition et des maladies. La mise en évidence d'une association entre la consommation de fruits et légumes et les maladies vasculaires est une étape importante de la recherche étiologique de ces maladies. Cependant, une mesure d'association ne préjuge pas d'un lien causal entre le facteur d'exposition et la maladie. D'autres arguments sont nécessaires pour établir les effets de la consommation de fruits et légumes sur la santé cardiovasculaire (Potischman and Weed, 1999).

Plusieurs approches expérimentales sont possibles. Les études cas-témoins sont les plus anciennes. Elles comparent les habitudes alimentaires de patients et témoins. En épidémiologie nutritionnelle, ces enquêtes souffrent toutefois d'importantes limites méthodologiques en raison notamment, de la chronologie des maladies chroniques, dont l'initiation peut précéder de plusieurs années les manifestations cliniques rendant difficile l'évaluation précise des habitudes alimentaires antérieures. Dans ce travail, comme dans les rapports récents de l'OMS/FAO (Bazzano, 2005), l'analyse des

enquêtes prospectives a été privilégiée car elles offrent le meilleur compromis méthodologique pour l'étude de l'association entre des facteurs nutritionnels et des maladies vasculaires.

Les enquêtes épidémiologiques prospectives nutritionnelles évaluent les relations entre les habitudes alimentaires observées et les maladies vasculaires dans des cohortes de sujets. Dans ces enquêtes, l'investigateur a un rôle d'observateur et n'intervient pas sur le comportement alimentaire des participants. Le principe des études prospectives repose donc sur la description des caractéristiques (sociales, économiques, cliniques, biologiques) et des habitudes alimentaires des sujets. La cohorte ainsi caractérisée est suivie pendant un temps donné, généralement plusieurs années, au cours duquel certains participants vont présenter un événement vasculaire. Le principe de l'analyse consiste à comparer les habitudes alimentaires de ces derniers, à celles des sujets qui en restent indemnes, dévoilant ainsi des différences éventuelles entre les patients et les témoins non malades.

Cependant, ce raisonnement est compliqué par le fait que les habitudes alimentaires - comme par exemple la consommation de fruits et de légumes - sont étroitement dépendantes de caractéristiques sociales ou culturelles, de niveau d'éducation, ou d'habitudes de vie (Irala-Estevez, Groth et al., 2000; Roos, Johansson et al., 2001; Kamphuis, Giskes et al., 2006) dont certaines sont elles-mêmes associées au risque vasculaire. Cette double association introduit un élément de confusion dans l'interprétation de l'analyse nutritionnelle car les habitudes alimentaires reflètent des caractéristiques plus larges des individus ne permettant pas d'attribuer aux seuls paramètres nutritionnels les relations observées avec l'événement vasculaire. De ce fait, il persiste une incertitude quant à la réalité du lien causal et à l'intensité de l'association entre le facteur d'exposition nutritionnelle et les maladies vasculaires.

Dans cette revue, les articles qui s'intéressent aux fruits et/ou aux légumes comme variable d'exposition nutritionnelle ont été répertoriés. Les fruits et les légumes sont considérés comme un ensemble, à l'instar des recommandations de santé publique. Les études qui rapportent des résultats par catégories particulières de fruit ou légume ont été exclues car trop peu nombreuses. Les études qui décrivent les relations avec les micro- ou macro-constituants (comme les fibres ou les vitamines) n'ont pas été retenues en raison de l'imprécision des tables de composition des aliments. Il est important de noter la grande variabilité des méthodes de recueil de données alimentaires et d'expression des résultats.

Le critère de jugement clinique retenu est la diminution des événements vasculaires fatals ou non, d'origine cardiaque ou cérébrale. Les études qui rapportent des événements vasculaires périphériques, rénaux, et abdominaux, des gestes thérapeutiques, tels que l'angioplastie ou le pontage, ou des critères composites de ces événements sont présentées séparément. Il est important de noter qu'en dépit d'un vocabulaire commun ces critères cachent une grande diversité de méthodes et de critères diagnostiques qui nuisent à la précision de l'évaluation des relations.

### **1.2.1.1. Revues antérieures**

En 1997, Ness et Powles ont analysé les études écologiques, cas-témoins, prospectives et d'intervention qui rapportaient une relation entre la consommation de fruits, légumes et leurs composés chimiques et la survenue de cardiopathies ischémiques, d'accidents vasculaires cérébraux et circulatoires (Ness and Powles, 1997). Six cohortes sur 16 rapportaient une association favorable entre la consommation de fruits et légumes ou leurs composés et la survenue de cardiopathies ischémiques, 6 sur 8 montraient une association favorable avec les accidents vasculaires cérébraux, et 1 sur 2 avec les événements cardiovasculaires. La relation semblait plus forte pour les accidents cérébrovasculaires que coronaires. Sans exclure la possibilité de biais de publication et sans préjuger des mécanismes impliqués, les auteurs concluaient que la consommation de fruits et légumes ou de leurs composés était inversement associée à la survenue d'accidents vasculaires cérébraux et, à un moindre degré, coronaires ischémiques. Les auteurs signalaient également la rareté des études qui disposaient d'une estimation de la consommation de fruits et légumes pour ces analyses : 5 enquêtes prospectives seulement, dont certaines manquaient de puissance statistique.

En 1998, Law et Morris ont mesuré dans une méta-analyse d'enquêtes prospectives la relation entre la consommation de fruits et légumes et de leurs constituants et les cardiopathies ischémiques (Law and Morris, 1998). Les enquêtes cas-témoins et écologiques et les études rapportant moins de 50 événements étaient exclues pour des raisons méthodologiques. L'analyse montrait une diminution non significative des risques relatifs d'événements coronaires de 14% entre les extrêmes de consommation ( $\geq 90^{\circ}$  vs.  $\leq 10^{\circ}$  percentile) de fruits (3 études) et de 18% pour les légumes (2 études). Les tests statistiques suggéraient une hétérogénéité de résultats entre les études. Les principales critiques de ce travail ont porté sur les lacunes dans l'identification des études, sur le manque de précision des critères de sélection, et sur l'inadéquation des méthodes d'analyses statistiques (Law and Morris, 1999; Ness, Egger et al., 1999).

Dans une analyse des données de la Nurses' Health Study et de la Professionals' Health Study, Hu et al rapportent en 2003 une diminution du risque relatif de 20% [9-32%] et 18% [7-30%] de cardiopathies ischémiques et une diminution de 31% [14-53%] et 10% [-12-38% ; ns] des accidents vasculaires cérébraux entre les quintiles supérieurs et inférieurs de consommation de fruits et de légumes, respectivement (Hu, 2003).

En 2005, Bazzano et al ont réévalué la relation entre consommation de fruits et légumes et les cardiopathies ischémiques à partir d'enquêtes prospectives (Bazzano, Serdula et al., 2003; Bazzano, 2005). Dans ce travail, les enquêtes qui rapportaient uniquement une relation avec des micro- ou macro-constituants des fruits et légumes ou avec un aliment particulier (par exemple : les agrumes, tomates...) étaient exclues. Au total, 14 enquêtes prospectives rapportaient une relation avec les cardiopathies ischémiques, 11 avec les accidents vasculaires cérébraux. La méta-analyse des résultats montre une diminution du risque relatif de 15% [10-20%] pour les cardiopathies ischémiques et une diminution de 20% [7-34%] pour les accidents vasculaires cérébraux entre les sujets des quintiles extrêmes de consommation de fruits et de légumes.

Dans une méta-analyse récente, Dauchet et al ont mesuré la relation entre des quantités de fruits et légumes consommées et le risque d'accident vasculaire cérébral et cardiaque à partir d'études épidémiologiques prospectives (Dauchet, Amouyel et al., 2005; Dauchet, Amouyel et al., 2006). Pour cela, les études qui présentaient des données quantitatives de consommation étaient incluses. Les risques relatifs étaient exprimés par rapport à la variation d'un portion de 106 g/j et les critères de jugement comprenaient les accidents vasculaires cérébraux et les événements coronaires (fatals ou non). Sept enquêtes prospectives étaient utilisées pour les accidents vasculaires cérébraux, 9 pour les événements coronaires. Les résultats montrent une diminution de 11% [7-15%] et 3% [2-8%] du risque relatif d'accident vasculaire cérébral par portion additionnelle quotidienne de fruits ou de légumes respectivement (Dauchet, Amouyel et al., 2005). Ces relations étaient compatibles avec un effet dose dépendant. Enfin, les analyses ne mettaient pas en évidence d'hétérogénéité entre les résultats ni de biais de publication évident. Pour les événements coronaires, les résultats montraient une diminution du risque de 7% [3-10%] par portion de fruits additionnelle quotidienne (Dauchet, Amouyel et al., 2006). La relation entre la consommation de légumes et la survenue d'événements coronaires est plus difficile à interpréter en raison d'un biais de publication qui ne permettait pas de conclure définitivement. L'analyse de la relation entre la consommation de fruits et de légumes pris dans leur globalité montrait une diminution de 5% [2-7%] du risque d'accident vasculaire cérébral par portion quotidienne (Dauchet, Amouyel et al., 2005) et une diminution de 4% [1-7%] du risque d'accident coronaire (Dauchet, Amouyel et al., 2006).

Une autre méta-analyse rapporte la relation entre la consommation de fruits et de légumes pris dans leur globalité et la survenue d'accidents vasculaires cérébraux et coronaires. Les résultats montrent une diminution du risque relatif d'accident vasculaire cérébral de 26% (He, Nowson et al., 2006) et une diminution du risque relatif de cardiopathie ischémique de 17% (He, Nowson et al., 2007) entre les sujets qui consomment 5 portions de fruits et légumes par jour et ceux qui en consomment moins de 3. Les tests d'hétérogénéité mettaient en évidence une absence d'homogénéité pour les études présentant les événements coronaires.

### **1.2.1.2. Récapitulatif des enquêtes prospectives**

Dans ce paragraphe, les enquêtes prospectives anciennes et plus récentes qui évaluent la relation entre la consommation de fruits et/ou légumes et la survenue de maladies vasculaires ont été répertoriées. Les articles sont issus de Pub-Med et des références d'articles, de revues et de méta-analyses publiés précédemment. Seuls les articles qui présentent la consommation de "fruits", de "légumes" et de "fruits et légumes" comme variable d'exposition nutritionnelle sont retenus. Les analyses par catégories particulières de fruits et légumes (ex : noix, salade) ou par composé chimique (ex : fibres, vitamines) sont exclues. Les critères de jugement clinique retenus sont la diminution des événements vasculaires fatals ou non, d'origine cardiaque ou cérébrale.

Le Tableau 1.2-1 présente les principales études prospectives publiées à ce jour (Kushi, Lew et al., 1985; Hirayama, 1986; Fraser, Sabate et al., 1992; Fehily, Yarnell et al., 1993; Knekt, Reunanen et al., 1994; Gaziano, Manson et al., 1995; Gillman, Cupples et al., 1995; Key, Thorogood et al., 1996; Knekt, Jarvinen et al., 1996; Pietinen, Rimm et al., 1996; Rimm, Ascherio et al., 1996; Sahyoun, Jacques et al., 1996; Mann, Appleby et al., 1997; Joshipura, Ascherio et al., 1999; Cox, Whichelow et al., 2000; Hirvonen, Virtamo et al., 2000; Liu, Manson et al., 2000; Strandhagen, Hansson et al., 2000; Bazzano, He et al., 2001; Joshipura, Hu et al., 2001; Liu, Lee et al., 2001; Bazzano, He et al., 2002; Johnsen, Overvad et al., 2003; Mozaffarian, Kumanyika et al., 2003; Rissanen, Voutilainen et al., 2003; Sauvaget, Nagano et al., 2003; Steffen, Jacobs et al., 2003; Dauchet, Ferrieres et al., 2004; Genkinger, Platz et al., 2004; Hung, Joshipura et al., 2004; Ness, Maynard et al., 2005; Tucker, Hallfrisch et al., 2005). Les résultats sont présentés par événements vasculaires : Tableau 1.2-2, cardiopathies ischémiques fatales ou non ; Tableau 1.2-3, mortalité coronaire ; Tableau 1.2-4, maladies cardiovasculaires (critère composite incluant au moins une de localisations vasculaires fatales ou non) ; Tableau 1.2-5, accidents vasculaires cérébraux fatals ou non.

Les caractéristiques des sujets sont très variées, liées à la diversité des critères d'inclusion des études ou au mode de recrutement des sujets : genre (hommes et/ou femmes) ; âge (sujets âgés, enfants, bornes d'âge d'inclusion) ; catégories socioprofessionnelles (cohortes professionnelles) ; cohortes particulières (Irradiés d'Hiroshima), etc.

La plupart des enquêtes ont été conduites en Amérique du Nord et en Europe de Nord. Les dates d'inclusion couvrent essentiellement la fin du 20<sup>e</sup> siècle, sur une période de 50 ans, pendant laquelle les habitudes alimentaires et les modes de vie ont beaucoup évolué.

Les méthodes de recueil alimentaire sont nombreuses, comprenant l'histoire alimentaire, le rappel des 24 heures, le questionnaire alimentaire et le carnet alimentaire de 3 ou 7 jours. L'expression de la relation entre la variable d'exposition alimentaire (F&L) et la maladie varie entre les études. Les risques relatifs sont ainsi exprimés en fonction des quintiles, quartiles ou tertiles extrêmes, ou le risque est exprimé pour un changement d'apport ou pour un changement de fréquence de consommation quotidienne, rendant les comparaisons difficiles.

Enfin, les effectifs des études, la durée du suivi, la définition des événements et les facteurs d'ajustement diffèrent considérablement.

#### **. Accident vasculaire coronaire**

Les enquêtes prospectives (n=8) sur la relation entre la consommation de fruits et/ou légumes et les cardiopathies ischémiques sont présentées Tableau 1.2-2. Parmi ces études, 4 rapportent plus de 1000 événements, 1 présente entre 500 et 1000 événements et 3 présentent moins de 500 événements.

Une seule étude, la Health Professional Follow-up Study (n=1063 événements), rapporte une réduction du risque statistiquement significative entre la consommation de "*fruits et légumes*" et la survenue d'infarctus fatal et non fatal (RR 0.96 [0.93-1.00] pour une portion supplémentaire). Cinq décrivent une relation inverse entre la consommation de fruits et légumes et les événements coronaires ischémiques, mais non significative. Enfin, la NHANES Follow-up study (n=1786) présente un RR proche de 1 (RR 1.01 [0.84-1.21]).

Cinq études rapportent une relation entre la consommation de "*fruits*" et la survenue d'événements coronaires. La Health Professional Follow-up Study (n=1063 événements) rapporte une réduction du risque statistiquement significative (RR 0.92 [0.87-0.98] pour une portion supplémentaire). Trois autres présentent une relation inverse mais statistiquement non significative entre la consommation de fruit et la survenue d'événements coronaire. Une dernière enquête (n=134 événements) présente un risque relatif proche de 1.

Cinq études rapportent une relation entre la consommation de "*légumes*" et la survenue d'événements coronaires. La Nurses' Health Study (n=1127 événements) et la Physicians' Health Study (n=1148 événements) rapportent une réduction du risque statistiquement significative. Les 3 autres présentent des relations statistiquement non significatives.

#### **. Mortalité coronaire**

Les enquêtes présentant la relation entre la consommation de fruits et/ou légumes et la mortalité coronaire sont présentées Tableau 1.2-3. Le nombre d'événements varie entre 639 et 58 décès.

Parmi ces études, aucune ne rapporte une association statistiquement significative avec la consommation de "fruits et légumes". Une seule présente une relation inverse significative entre la consommation de "fruits" et les décès coronaires. Deux enquêtes rapportent une relation inverse significative entre la consommation de "légumes" et les décès coronaires (ATBC, n=635 décès ; Baltimore Longitudinal Study, n=71 décès).

#### **. Événements cardiovasculaires**

Les études prospectives sur la consommation de fruits et légumes et les événements cardiovasculaires sont présentées Tableau 1.2-4. Sept études présentent une relation entre la consommation de fruits et légumes et les événements cardiovasculaires.

Une relation inverse significative entre la consommation de "fruits et légumes" et la survenue d'événements cardiovasculaire est observée dans 2 études sur 4. Cinq et 4 études rapportent la relation entre la consommation de "fruits" et de "légumes" respectivement. Une relation inverse significative est retrouvée dans la moitié d'entre-elles.

#### **. Accidents vasculaires cérébraux fatals et non fatals**

La relation entre la consommation de fruits et légumes et les accidents vasculaires cérébraux est présentée Tableau 1.2-5.

Dix études rapportent une association entre la consommation de fruits et/ou légumes et la survenue d'événements vasculaires cérébraux. Trois études rapportent un nombre d'évènement compris entre 500 et 1000, 4 présentent entre 200 et 500 événements, les 3 dernières moins de 100 événements. Parmi les 6 études qui présentent une relation entre la consommation de "fruits et légumes" et la survenue d'un évènement cérébrovasculaire, 3 présentent une association statistiquement significative. Les autres présentent des relations inverses non significatives.

Huit études rapportent une relation entre la consommation de "fruits" et la survenue d'événements cérébrovasculaires. Quatre rapportent une réduction du risque statistiquement significative. Les autres présentent des relations inverses non significatives.

Sept études rapportent une relation entre la consommation de "légumes" et la survenue d'événements cérébrovasculaires. Trois rapportent une réduction du risque statistiquement significative. Les autres présentent des relations inverses non significatives.

### **1.2.1.3 Interprétation des résultats**

L'analyse de ces résultats montre que la consommation de fruits et ou de légumes est associée à une baisse des taux d'accidents coronaires fatals ou non fatals et des accidents vasculaires cérébraux dans

la grande majorité des études en population publiées à ce jour. Cependant, les tests de tendance, qui permettent d'estimer la possibilité d'une relation dose réponse, ne sont pas toujours statistiquement significatifs, suggérant l'absence de relation dépendante de la quantité de fruits et légumes consommés et la survenue des événements cardiovasculaires ou un manque de puissance statistique.

Les associations sont le plus souvent statistiquement non significatives suggérant que la relation est de faible intensité ou que les enquêtes manquent de puissance. L'estimation de l'intensité de la relation est difficile tant les méthodes de recueil des données alimentaires et l'expression des résultats diffèrent entre les études.

Les résultats des études publiés à ce jour semblent homogènes, rapportant des relations inverses entre la consommation de fruits et légumes et la survenue d'événements vasculaires. Toutefois, deux méta-analyses récentes (He, Nowson et al., 2006; He, Nowson et al., 2007) rapportent des tests d'hétérogénéité significatifs entre les enquêtes prospectives qui explorent la relation entre les légumes et les cardiopathies ischémiques. De plus, bien que les résultats des principales grandes prospectives nutritionnelles soient publiés, la possibilité de biais de publications ne peut pas être totalement exclue. Par exemple, dans l'étude Framingham la relation entre la consommation de fruits et légumes et les événements cérébrovasculaires, mais pas cardiovasculaires, est documentée ; de même, dans la Physicians' Health Study seules les données des légumes, mais pas les fruits, sont publiées.

Au sein de chaque étude, les tests de tendance permettent d'estimer la possibilité d'une relation dose dépendante. Les résultats de ces tests sont le plus souvent non significatifs, suggérant l'absence de relation dépendante de la quantité de fruits et légumes consommés.

Les enquêtes prospectives nutritionnelles présentent des limites méthodologiques qu'il convient de rappeler. Les sujets qui s'engagent dans les cohortes sont des volontaires, souvent motivés, qui présentent des caractéristiques différentes de la population générale. Ces différences peuvent théoriquement influencer les relations observées. Certaines cohortes sont issues de bases de sondage professionnelles (Infirmières américaines), communautaire (Framingham) ou historique (Irradiés d'Hiroshima). La généralisation des résultats à d'autres communautés peut poser des problèmes. Dans la plupart des études, les habitudes alimentaires sont recueillies une seule et unique fois à l'inclusion des sujets. Ainsi, les associations mesurées après plusieurs années de surveillance des cohortes peuvent-elles être affectées par des changements éventuels du comportement alimentaire de certains sujets. Les méthodes d'évaluation de la consommation alimentaire sont nombreuses et variées. Certaines reflètent mal les habitudes alimentaires au long cours. D'autres sont sujettes à des biais de mémorisation. Enfin, les informations recueillies sont parfois très limitées. L'imprécision qui en résulte tend à réduire l'intensité de l'association. Les habitudes alimentaires tendent à ségréger avec les caractéristiques sociales des sujets dont certaines peuvent influencer le risque cardiovasculaire (Lawlor, Davey et al., 2004). Ce facteur de confusion n'est pas toujours mesuré avec précision ou pris en compte dans les modèles d'analyses statistiques.

Les enquêtes épidémiologiques prospectives sont des techniques de mesure d'association entre la consommation de fruits et légumes et les maladies vasculaires et ne préjugent pas d'un lien causal entre le facteur d'exposition et la maladie. En l'absence de randomisation il est difficile de distinguer ce qui tient de l'effet propre de l'aliment sur l'évènement vasculaire, des caractéristiques sociales, du mode de vie ou de facteurs non mesurés dans les relations observées. Plusieurs arguments peuvent être avancés pour estimer le degré de causalité des associations observées dans les enquêtes observationnelles (Potischman and Weed, 1999). L'intensité de la relation observée dans les études doit être importante, dose dépendante et homogène entre les études. Ces conditions ne semblent pas être respectées parfaitement dans le cas des études des fruits et légumes et des maladies cardiovasculaires. D'autres arguments seront évalués dans la suite de la revue.

### **1.2.2. Essais d'intervention nutritionnelle**

Depuis quelques années, l'étude de la relation entre la consommation de fruits et de légumes et les maladies chroniques s'est enrichie des résultats d'essais d'intervention nutritionnelle. Ces études ont

une importance majeure dans la démonstration des relations de cause à effet entre la consommation de fruits et légumes et la prévention des maladies cardiovasculaires. A l'heure actuelle, elles restent rares en raison des difficultés propres à leur mise en œuvre.

Les essais d'intervention nutritionnelle évaluent les effets de la consommation d'un régime enrichi en fruits et légumes sur la survenue d'événements vasculaires. Contrairement aux études épidémiologiques d'observation, l'investigateur a un rôle actif sur le comportement nutritionnel des participants. Le principe de ces essais repose sur la comparaison d'un régime expérimental, enrichi en fruits et en légumes, et témoin, moins riche en végétaux. La randomisation de l'affectation du régime assure une comparabilité parfaite des caractéristiques des sujets des groupes expérimental et témoin, notamment pour les facteurs de confusion. A l'instar des études prospectives les participants sont suivis sur le plan médical pendant un temps donné. Une difficulté importante consiste à pérenniser les modifications du comportement alimentaire dans le groupe expérimental pendant toute la durée de l'intervention. Le principe de l'analyse vise à comparer les taux d'incidence des événements vasculaires des groupes expérimental et témoin. A l'issue de l'étude l'interprétation des résultats est simplifiée car les différences observées sont en principe attribuables à la seule intervention nutritionnelle. Ainsi la démonstration d'une modification des taux d'événements dans le groupe expérimental apporte-t-elle des arguments forts pour un lien de cause à effet entre l'alimentation et l'événement vasculaire. De plus, si les conditions de l'intervention se rapprochent des conditions de vie habituelle, il devient possible d'extrapoler les bénéfices à la communauté.

Dans un premier temps, les études qui évaluent l'efficacité des interventions nutritionnelles sur les modifications des comportements alimentaires seront brièvement décrites. Ensuite, les résultats des essais qui ont mesuré l'impact de ces interventions chez des coronariens et des sujets sains seront rapportés.

### **1.2.2.1. Conseils alimentaires et consommation de fruits et de légumes**

Les modifications des comportements alimentaires et leurs pérennisations au long cours sont des éléments importants de la réussite des essais d'intervention nutritionnelle. Dans une méta-analyse des études randomisées de plus de 3 mois (6 à 48 mois), Brunner *et al* ont évalué l'impact des méthodes visant à augmenter la consommation de fruits et de légumes chez des adultes (Brunner, Thorogood *et al.*, 2006). Ces méthodes étaient nombreuses, allant de la simple information nutritionnelle à l'aide de livrets, à des interventions plus élaborées, conduites par du personnel médical au cours d'entretiens spécialisés. La méta-analyse montrait une augmentation significative des apports quotidiens de fruits et de légumes chez les sujets qui bénéficiaient des conseils. Cependant, la différence avec le groupe témoin était modeste, à peine supérieure à 1 portion par jour pour l'ensemble des études. Les analyses en sous-groupes montraient de meilleurs résultats pour les interventions soutenues, conduites dans un environnement médical ou chez les sujets avec des antécédents vasculaires ou de cancer.

### **1.2.2.2. Consommation de fruits et légumes et morbidité mortalité cardiovasculaire**

#### **. Prévention des récurrences chez des patients coronariens**

Pour un individu, la probabilité de faire un accident vasculaire est fortement majorée lorsqu'il présente déjà des antécédents similaires. Plusieurs études ont évalué chez des coronariens l'effet de régimes enrichis en fruits et légumes sur les taux de récurrences. Même si les mécanismes de ces complications relèvent de voies physiopathologiques sensiblement différentes de celles l'athérogenèse, leurs résultats complètent les données de prévention primaire.

En marge d'un essai pharmacologique, 11 000 patients coronariens ont bénéficié de conseils diététiques pour augmenter leur consommation de fruits et légumes, mais aussi de poisson et d'huile d'olive (Barzi, Woodward *et al.*, 2003). Les récurrences diminuaient de 40 à 45% chez les patients qui consommaient des fruits et des légumes plus d'une fois par jour comparativement à ceux qui en

consommaient rarement ou jamais. Cependant, ces résultats doivent être interprétés avec prudence car ils sont issus d'une étude d'intervention non contrôlée.

En France, l'étude de Lyon a évalué l'impact d'une intervention multifactorielle qui comprenait une augmentation de la consommation de fruits et légumes (mais aussi l'arrêt du tabac, la pratique d'une activité physique régulière et l'ingestion d'une margarine enrichie en acide gras n-3) sur les taux de récurrence cardiovasculaire chez 302 sujets coronariens (de Lorgeril, Renaud et al., 1994; de Lorgeril, Salen et al., 1999) . Après 5 ans, les récurrences fatales diminuaient dans le groupe expérimental comparativement aux témoins. Toutefois, le caractère multifactoriel de l'intervention ne permet pas d'attribuer ces bénéfices à la consommation de fruits et légumes (Kris-Etherton, Eckel et al., 2001).

L'essai randomisé DART II a évalué l'effet de conseils nutritionnels pour augmenter la consommation de fruits et légumes, de fibres alimentaires et de jus d'orange naturel sur la survenue d'accidents vasculaires chez 3 114 angineux de moins de 70 ans (Burr, Ashfield-Watt et al., 2003). Le suivi durait entre 3 à 9 ans. Au terme de l'étude, les taux de décès cardiaque et de mort subite n'étaient pas différents entre les groupes expérimental et témoin. Dans une enquête nutritionnelle ancillaire, il apparaissait que les différences d'apports de fruits et légumes étaient de l'ordre de 20 g/j entre les groupes expérimental et témoin, expliquant sans doute l'absence de résultat (Ness, Ashfield-Watt et al., 2004; Burr, 2007) .

### *. Prévention des accidents vasculaires en prévention primaire*

La "Women's Health Initiative Randomized Controlled Dietary Modification Trial a mesuré l'effet de conseils diététiques pour diminuer des apports lipidiques (à 20% des AET), augmenter la consommation de fruits et légumes (à 5 portions par jour) et de céréales (à 6 portions par jour) sur les taux de survenue de cancers (Beresford, Johnson et al., 2006; Prentice, Caan et al., 2006) et de maladies cardiovasculaires (Howard, Manson et al., 2006) chez 48 835 femmes ménopausées âgées de 50 à 79 ans. Après 6 ans, la consommation de fruits et légumes était plus élevée de 1,2 portions par jour dans le groupe expérimental que dans le témoin. Les taux d'évènements coronaires ou vasculaires cérébraux n'étaient pas différents entre les 2 groupes. Le risque d'évènements majeurs diminuait de 7% chez les femmes sans antécédents cardiovasculaires et augmentait de 3,4% chez les femmes avec des antécédents positifs.

**En conclusion**, les essais randomisés d'intervention nutritionnelle qui ont évalué les effets des fruits et légumes sur les évènements cardiovasculaires sont très rares. A l'heure actuelle, aucun n'a mis en évidence un effet protecteur des fruits et légumes vis-à-vis des maladies cardiovasculaires. Toutefois, les résultats de ces études sont difficilement interprétables en raison de l'échec relatif des interventions nutritionnelles qui n'ont pas produit de gains significatifs de consommation de fruits et légumes par rapport aux témoins. Par conséquent, la preuve formelle que la consommation de fruits et légumes diminue les taux de survenue de maladie cardiovasculaire est encore inexistante.

### **1.2.3. Relation avec les facteurs de risque**

Un facteur de risque cardiovasculaire est une caractéristique clinique ou biologique d'un individu qui augmente sa probabilité de faire un accident cardiovasculaire. Les principaux facteurs de risque sont le tabagisme, l'hypercholestérolémie, l'hypertension artérielle, le diabète de type 2 et l'obésité. Les principaux agents pharmacologiques de prévention primaire des maladies cardiovasculaires agissent essentiellement sur des facteurs de risque cardiovasculaire. Par extension, l'étude des effets de la consommation des fruits et de légumes sur les facteurs de risque cardiovasculaire apparaît comme un élément important de l'argumentation de leurs effets protecteurs vis-à-vis les maladies cardiovasculaires.

Des travaux de laboratoire et des études chez l'homme ont montré des effets favorables de certains composés des fruits et des légumes sur des facteurs de risque cardiovasculaire (Lampe, 1999; Van Duyn and Pivonka, 2000). Ces résultats obtenus dans des expériences de supplémentation pharmaco-

logique contrôlées ne reflètent pas toujours bien l'environnement physiologique des fruits et des légumes. En effet, les fruits et les légumes contiennent de multiples composés susceptibles d'interagir. De plus, les procédés usuels de conditionnement ou de traitement culinaire peuvent affecter leurs propriétés. Dès lors, il apparaît important de s'intéresser aux effets propres des fruits et légumes, notamment pour définir les quantités efficaces pour produire une normalisation des facteurs de risque.

Dans l'ESCO, les principales études cliniques qui ont mesuré les effets de la consommation de fruits et de légumes sur variations des niveaux des principaux facteurs de risque (pression artérielle, le LDL-cholestérol et le poids) ont été examinées. L'objectif était de déterminer si la consommation de fruits et légumes produisait une variation significative de ces facteurs et d'estimer la quantité de fruits et légumes nécessaires pour produire un effet cliniquement significatif.

### **1.2.3.1. Hypertension artérielle**

L'hypertension artérielle est un facteur de risque majeur d'accident vasculaire cérébral, de maladie cardiovasculaire (infarctus du myocarde, insuffisance cardiaque) et d'atteinte rénale vasculaire. De nombreux arguments sont en faveur d'un effet possible de la consommation de fruits et légumes sur la régulation de la pression artérielle (Shah, Jeffery et al., 1990): les végétariens présentent des niveaux de pression artérielle inférieurs aux non-végétariens (Sacks, Rosner et al., 1974); la substitution d'une alimentation omnivore par un régime végétarien s'accompagne d'une baisse de la pression artérielle (Margetts, Beilin et al., 1986); l'augmentation de la pression artérielle au cours du vieillissement est moins marquée chez les consommateurs de fruits et légumes (Dauchet, Kesse-Guyot et al., 2007); les apports de magnésium et de potassium contenu dans les fruits et les légumes sont inversement associés à la pression artérielle (Ascherio, Rimm et al., 1992; Dyer, Elliott et al., 1994; Stamler, Caggiula et al., 1996), l'augmentation des apports de potassium diminue les taux de survenu d'hypertension artérielle (1990).

Plus récemment, des études cliniques contrôlées ont spécifiquement évalué les effets de la consommation de fruits et légumes sur la pression artérielle.

Dans l'essai randomisé DASH, 459 sujets avec une élévation modérée de la pression artérielle ont été randomisés en 3 groupes d'intervention nutritionnelle : un groupe *fruits et légumes*, un groupe *DASH* (riche en fruits, légumes et en calcium et pauvre en acides gras saturés) et un régime témoin (alimentation américaine habituelle) (Appel, Moore et al., 1997). Les apports de fruits et de légumes étaient de 5,2 et 3,3 portions par jour dans les groupes *fruits et légumes* et *DASH* contre 1,6 et 2,0 portions par jour dans le groupe témoin. Des repas calibrés étaient fournis aux participants pendant les 8 semaines de l'intervention. Les résultats montrent une diminution modeste (-2,8 et -1,1 mm de Hg de la pression artérielle systolique et diastolique) dans le groupe *fruits et légumes* comparativement aux témoins. Cet effet était plus marqué chez les sujets hypertendus (-7,2 et -2,8 mm de Hg) et non significatif chez les sujets normotendus (-0,8 et -0,3 mm de Hg) (Appel, Moore et al., 1997). Enfin, les effets étaient plus nets avec le régime *DASH* (-5,5 et -3,0 mm de Hg) ou lorsque les apports de sel étaient réduits (-8,9 et -4,5 mm de Hg) (Appel, Moore et al., 1997; Sacks, Svetkey et al., 2001). Ces travaux, conduits dans des conditions expérimentales rigoureuses, démontrent l'effet hypotenseur de la consommation de fruits et légumes chez des sujets modérément hypertendus. Cet effet est toutefois très modeste. Enfin, la généralisation des conclusions à la communauté pose des problèmes en raison de la durée limitée de l'intervention.

La même équipe a entrepris une nouvelle étude pour évaluer l'efficacité du régime *DASH* en ambulatoire (Appel, Champagne et al., 2003; Elmer, Obarzanek et al., 2006) . Dans l'étude PREMIER, 810 sujets pré-hypertendus (PAS/PAD entre 120-159/80-95 mm Hg) étaient randomisés en 3 groupes. Le groupe *recommandation* recevait des conseils pour une prise en charge hygiéno-diététique optimale de l'hypertension, le groupe *recommandation-DASH* bénéficiait de la prise en charge optimale et du régime *DASH*, enfin le groupe témoin bénéficiait d'une prise en charge standard (Svetkey, Harsha et al., 2003; Funk, Elmer et al., 2006). Les conseils étaient dispensés au cours de 18 entretiens pour le groupe *recommandation* et *recommandation-DASH* et par une entrevue de 30

minutes pour le groupe témoin. L'intervention durait 6 mois. A l'issue de l'étude, les apports de fruits et légumes étaient passés de 4,8 à 7,8 portions par jour dans le groupe *recommandation-DASH*, et étaient restés stables dans les groupes *recommandation* (de 4,6 à 5,1 portions par jour) et témoin (4,4 à 4,9 portions par jour). Comparativement au groupe témoin, la pression artérielle a diminué dans le groupe *recommandations-DASH* (PAS/PAD : -4,3/-2,6 mm de Hg) et *recommandation* (PAS/PAD : -3,7/-1,7 mm de Hg). Les effets n'étaient pas statistiquement différents entre ces 2 groupes, suggérant que le régime *DASH* n'apporte pas de bénéfice supplémentaire lorsque les recommandations de prise en charge optimale sont respectées. Après 18 mois, la diminution de pression artérielle par rapport au témoin s'était atténuée dans le groupe *recommandations-DASH* (PAS/PAD : -1,9 et 1,1 mm de Hg) malgré la persistance d'un différentiel de consommation de fruits et de légumes équivalent suggérant un échappement au régime (Elmer, Obarzanek et al., 2006).

Dans un essai conduit à Oxford, 729 sujets sans antécédents de maladies cardiovasculaires (autre que l'hypertension) étaient randomisés en 2 groupes pour évaluer l'impact de la consommation de fruits et de légumes sur la pression artérielle (John, Ziebland et al., 2002). Le groupe expérimental bénéficiait de conseils nutritionnels dont l'objectif était d'augmenter la consommation de fruits et légumes jusqu'à 5 portions par jour ou plus. L'intervention comprenait un entretien éducatif de 25 minutes par une infirmière, un appel téléphonique 2 semaines après, et un courrier d'information le 3<sup>e</sup> mois. Le groupe témoin recevait un livret d'information. La durée de l'étude était de 6 mois. A l'inclusion, la consommation de fruits et légumes était égale à 3,4 portions par jour dans les 2 groupes. Six mois après l'inclusion, la consommation de fruits et légumes avait augmenté de 1,4 portions par jour dans le groupe expérimental et de 0,1 portions par jour dans le groupe témoin. Le bilan biologique montrait une augmentation significative de vitamines plasmatiques dans le groupe expérimental, témoignant de l'adhérence au régime. La pression artérielle diminuait significativement dans le groupe expérimental (PAS/PAD : -3,4 et -1,4 mm de Hg) comparativement au groupe témoin. Ces résultats démontrent qu'une intervention dont l'objectif est d'augmenter la consommation de fruits et légumes jusqu'à 5 portions par jour diminue faiblement les niveaux de pression artérielle chez des sujets maintenus dans leur condition de vie habituelle.

*DASH*, *PREMIER* et l'étude d'Oxford, avaient pour critère de jugement principal la pression artérielle. D'autres études, généralement en marge d'essais de prévention du cancer, ont rapporté des effets de la consommation de fruits et légumes sur la pression artérielle.

Dans la Minnesota CPRU Diet Intervention, 200 sujets avec des adénomes colorectaux étaient randomisés en 2 groupes : le groupe expérimental bénéficiait de conseils pour augmenter la consommation de fruits et légumes jusqu'à 8 portions ; le groupe témoin bénéficiait de conseils généraux (Smith-Warner, Elmer et al., 2000). A l'issue de l'étude, d'une durée de 1 an, les apports quotidiens de fruits et légumes étaient de 11,9 portions dans le groupe expérimental et de 6,2 pour les témoins, se traduisant par une augmentation des indicateurs biologiques de la consommation de fruits et légumes. La pression artérielle n'était pas différente entre les 2 groupes.

Dans le Women's Health Initiative Randomized Controlled Dietary Modification Trial (Howard, Van Horn et al., 2006), la différence de consommation de fruits et légumes entre le groupe bénéficiant des fruits et légumes et le groupe témoin était de l'ordre de 1,2 portions par jour. La pression artérielle, mesurée 3 ans après l'inclusion, était plus basse dans le groupe expérimental (PAS/PAD : -0,17/-0,31 mm de Hg) que dans le groupe témoin.

En conclusion, l'analyse des études cliniques et des essais d'intervention nutritionnelle montre que la consommation de fruits et légumes diminue la pression artérielle. Ces effets sont observés pour des objectifs d'apports de fruits et légumes supérieurs à 5 portions par jour. La baisse de la pression artérielle est très modeste, insignifiante à l'échelle individuelle, un peu plus marquée chez les hypertendus. Compte tenu du lien étroit qui unit la pression artérielle et le risque cardiovasculaire, et compte tenu aussi de la prévalence élevée de l'hypertension artérielle dans la population, une diminution même très minime de la pression artérielle pourrait se traduire par un bénéfice cardiovasculaire notable à l'échelle d'une population (Rose, 1985). Enfin, des études complémentaires sont nécessaires pour démontrer si les effets observés à court terme (*DASH*, Oxford) persistent au long cours.

### 1.2.3.2. Hypercholestérolémie

L'hypercholestérolémie est facteur de risque majeur de cardiopathies ischémiques. Plusieurs composés des fruits et légumes présentent des propriétés hypocholestérolémiantes avérées. Les fibres sont des composés végétaux résistants à la digestion qui favorisent l'excrétion de cholestérol dans les fèces, en modifiant la physiologie biliaire et le cycle entéro-hépatique du cholestérol (Lampe, 1999). Une méta-analyse des essais cliniques contrôlés a mis en évidence une baisse de 0,13 mmol/l de LDL-cholestérol pour la consommation de 3 grammes de fibres solubles par jour (Brown, Rosner et al., 1999). Les autres paramètres du bilan lipidique ne sont pas affectés, suggérant un effet spécifique sur le métabolisme du LDL-cholestérol. Les phytostérols (sitostérol, sitostanol, campostérol et campostanol) sont des constituants chimiques des plantes. Ils inhibent l'absorption intestinale du cholestérol alimentaire par des mécanismes de compétition directe. Dans des conditions expérimentales contrôlées, l'ingestion de quantités importantes de phytostérols (>2 g/j) diminue les niveaux plasmatiques de LDL-cholestérol chez l'homme (Thompson and Grundy, 2005).

Les effets de la consommation de fruits et légumes sur le LDL-cholestérol plasmatique ont été rapportés dans plusieurs études. Aucune n'avait pour critère de jugement principal les lipides plasmatiques. De ce fait, les schémas expérimentaux et les caractéristiques des sujets ne sont pas optimisés pour l'investigation de ce facteur de risque. Par exemple, aucune étude n'incluait exclusivement des sujets hypercholestérolémiques, plus à même de répondre à une intervention hypolipémiante.

Dans une étude néo-zélandaise, 90 sujets âgés de 18 à 69 ans consommant moins de 3 portions de fruits et légumes par jour ont été randomisés en 2 groupes (Zino, Skeaff et al., 1997): le groupe expérimental recevait des conseils pour augmenter les apports de fruits et légumes jusqu'à 8 portions par jour ; le groupe témoin maintenait ses habitudes alimentaires. Après 4 semaines d'intervention, la consommation de fruits et légumes était de 7,1 portions par jour dans le groupe expérimental et de 2,4 dans le groupe témoin. Les niveaux de LDL- et HDL-cholestérol n'étaient pas différents entre le groupe expérimental (2,9 et 1,2 mmol/l) et témoins (2,8 et 1,2 mmol/l) au terme de 4 semaines.

Dans une étude, 29 femmes consommant moins de 5 portions de fruits et légumes par jour étaient randomisées en 2 groupes : un groupe expérimental bénéficiait de conseils pour augmenter la consommation de fruits et légumes à plus de 9 portions par jour ; et un groupe témoin. Après 6 mois d'intervention, la consommation de fruits et de légumes était plus élevée dans le groupe expérimental (3,5 et 4,7 portions par jour) que témoin (2,0 et 2,1 portions par jour). Les niveaux de LDL-cholestérol n'étaient pas différents entre les 2 groupes (190 vs. 202 mg/dL) (Maskarinec, Chan et al., 1999).

Dans DASH, la consommation du régime *fruits et légumes* pendant 8 semaines s'accompagnait d'une diminution non significative du LDL-cholestérol de 0,05 mmol/l comparativement au groupe témoin (Obarzanek, Sacks et al., 2001). Dans l'étude d'Oxford, le régime avec les fruits et légumes pendant 6 mois était associé à une augmentation non significative de 0,018 mmol/l du LDL cholestérol par rapport aux témoins (John, Ziebland et al., 2002). Et dans la Minnesota CPRU Diet Intervention, le LDL cholestérol était sensiblement plus bas dans le groupe expérimental que témoin au terme d'une année d'intervention (Smith-Warner, Elmer et al., 2000).

D'autres études ont associé à l'augmentation de la consommation de fruits et légumes des objectifs de diminution des apports lipidiques.

Dans le Polyp Prevention Trial, 2 079 sujets avec des antécédents d'adénomes colorectaux étaient randomisés en 2 groupes : le groupe expérimental bénéficiait de conseils diététiques pour augmenter la consommation de fruits et légumes, de fibres et réduire les apports en lipides ; le groupe témoin conservait une alimentation américaine habituelle. Après 4 ans, le cholestérol plasmatique total diminuait un peu plus dans le groupe expérimental (0,13 mmol/l) que témoin (0,07 mmol/l) (Lanza, Schatzkin et al., 2001).

Dans une étude ancillaire de la Women's Healthy Eating and Living Study, 400 femmes avec des antécédents de cancer du sein étaient randomisées pour recevoir des conseils pour augmenter leurs apports de fibres (30 g/j), en fruits (3 portions/j) et en légumes (5 portions/j) et diminuer leurs lipides

(<20% des AET) (Pierce, Newman et al., 2004), ou (Rock, Flatt et al., 2004) des conseils hygiéno-diététiques généraux pour la prévention du cancer du sein. Après 12 mois d'intervention, les apports de fruits et légumes étaient plus élevés dans le groupe expérimental (4,2 et 7,8 portions par jour) que témoin (3,4 et 3,9 portions par jour). Les niveaux de LDL-cholestérol n'étaient pas différents entre les 2 groupes. En revanche, les concentrations de HDL-cholestérol diminuaient dans le groupe expérimental par rapport au témoin (Rock, Flatt et al., 2004).

Enfin, dans le Women's Health Initiative Randomized Controlled Dietary Modification Trial, un régime riche en fruits et légumes et réduit en lipides pendant 3 ans diminuait les niveaux plasmatiques de cholestérol total, de LDL-cholestérol et de HDL-cholestérol de -3,26 (p<0.05), -3,55 (p<0.05) et -0,43 (ns) mg/dl comparativement aux témoins (Howard, Van Horn et al., 2006).

En conclusion, aucune étude n'a été conçue pour tester spécifiquement les effets de la consommation de fruits et légumes sur le LDL-cholestérol. Ainsi, les schémas expérimentaux, la puissance des études et les critères d'inclusion des sujets ne permettent pas de juger au mieux des effets du régime sur les paramètres lipidiques. La plupart des données sont issues d'essais de prévention ou d'études pilotes. Les résultats suggèrent que des apports de fruits et légumes équivalents à ceux qui diminuent la pression artérielle n'ont pas d'effet sur les niveaux de LDL-cholestérol. Dans les essais de prévention du cancer, qui associent une diminution des apports lipidiques à l'augmentation des fruits et légumes, la baisse très modeste du LDL-cholestérol peut s'accompagner d'une diminution concomitante du HDL-cholestérol. Aujourd'hui les preuves d'un effet de la consommation de fruits et légumes sur les niveaux de LDL-cholestérol sont pratiquement inexistantes.

### **1.2.3.3. Obésité**

L'obésité est un facteur de risque de diabète et de cardiopathies ischémiques, qui résulte d'un déséquilibre entre les apports et les dépenses énergétiques. Les fruits et les légumes sont une source énergétique alimentaire de densité réduite du fait de leur contenu limité en matière grasse (9 kcal/g) et d'une teneur élevée en eau (0 kcal/g) et en fibres non digestibles. A poids égal, ils apportent moins de calories que d'autres aliments plus riches en lipides. Dans le contexte général d'abondance énergétique qui caractérise les habitudes alimentaires des sociétés occidentales, une consommation importante de fruits et de légumes, en substitution d'aliments plus denses, pourrait contribuer à la diminution de la ration calorique quotidienne (Ledikwe, Blanck et al., 2006; Ledikwe, Blanck et al., 2006) et du poids (Rolls, Drewnowski et al., 2005; Ledikwe, Blanck et al., 2006).

Des investigations de courte durée semblent confirmer ces hypothèses. En effet, ces expériences contrôlées ont montré que la consommation d'aliments de faible densité énergétique était associée à une diminution des apports caloriques quotidiens (Bell, Castellanos et al., 1998; Rolls, Bell et al., 1999; Rolls, Bell et al., 1999). Les résultats indiquent que les sensations de rassasiement sont contrôlées par le poids des aliments ingérés. Ainsi, la substitution d'aliments de forte densité par des aliments de plus faible densité énergétique déclenche-t-elle la satiété pour des apports caloriques inférieurs (Yao and Roberts, 2001). La régulation à plus long terme semble plus complexe notamment dans des conditions expérimentales laissant libre le choix des aliments (Yao and Roberts, 2001), limitant l'utilisation des résultats de ces expériences pour les problématiques de santé publique (Drewnowski, Almiron-Roig et al., 2004).

Des revues antérieures ont évalué les effets de la consommation des fruits et légumes sur la régulation du poids (Rolls, Ello-Martin et al., 2004; Tohill, Seymour et al., 2004; Tohill, 2005). Dans ce travail, nous avons retenu les études randomisées qui évaluaient les effets de la consommation de fruits et légumes sur le poids. Il est important de noter en préambule que la plupart des études n'étaient pas conçues pour étudier les effets des fruits et légumes sur les paramètres anthropométriques. Les essais de prévention du cancer qui avaient pour objectif une diminution des apports lipidiques sans objectif obligatoire de contrôle de poids sont présentés. En revanche, les études d'interventions multifactorielles avec un objectif de perte de poids (notamment chez des patients obèses) ne sont pas rapportées car elles ne permettent pas de juger les seules propriétés des fruits et légumes.

### **. Consommation de fruits et légumes et régulation du poids**

Dans une petite étude de 6 mois chez 29 femmes, la comparaison d'un régime expérimental (apportant 3,5 portions de fruits et 4,7 de légumes par jour) et d'un régime témoin (2,0 portions de fruits et 2,1 de légumes par jour) n'avait pas d'effet sur le poids (128 contre 125 livres) (Maskarinec, Chan et al., 1999).

Dans la Minnesota CPRU Diet Intervention, la consommation de fruits et légumes pendant 1 an diminuait les apports lipidiques mais augmentait les glucides alimentaires sans réduire des apports énergétiques. Au terme de l'étude, les différences de poids entre les groupes expérimental et témoin n'étaient pas significatives (Smith-Warner, Elmer et al., 2000).

Dans l'essai d'Oxford, la consommation de fruits et légumes était associée à une augmentation du poids (0,6 kg) équivalente à l'augmentation observée dans le groupe témoin (0,6 kg) (John, Ziebland et al., 2002).

Dans la Nutrition and Breast Health Study, l'effet de la consommation de 9 portions de fruits et légumes sur les paramètres anthropométriques a été évalué pendant 1 an chez 97 femmes âgées de 21 à 50 ans (Djuric, Poore et al., 2002). Les femmes étaient randomisées en 4 groupes (de 20 à 25 sujets) : *hypolipidique*, riche en *fruits et légumes*, *intervention combinée* et témoin (qui maintenait ses habitudes alimentaires). Après 1 an, la consommation de fruits et légumes était de 11,1 portions par jour dans le groupe *fruits et légumes* et de 3,6 dans le groupe témoin. Parallèlement, le poids passait de 66 à 67,7 kg dans le groupe *fruits et légumes* et diminuait de 65,5 à 65 kg dans le groupe témoin. Ces résultats doivent être interprétés avec prudence en raison des petits effectifs de l'étude.

Deux autres études avec des effectifs réduits ne mettent pas en évidence d'effet de la consommation de fruits et de légumes sur les indices anthropométriques (Zino, Skeaff et al., 1997; Maskarinec, Chan et al., 1999).

En conclusion, ces études en ambulatoire montrent que la promotion de la consommation de fruits et légumes *per se* n'a pas d'effet majeur sur le poids et l'indice de masse corporelle. Ces résultats doivent toutefois être considérés avec une certaine prudence en raison du petit nombre d'études et de leurs limites méthodologiques.

### **. Intervention avec objectif de diminution des apports lipidiques et régulation du poids**

Dans le Polyp Prevention Trial, l'augmentation des apports de fruits et légumes et la diminution des lipides se traduisaient par une diminution du poids de -0,65 kg, significativement plus forte que la variation de poids de +0,31 kg dans le groupe témoin (Lanza, Schatzkin et al., 2001). Ces différences étaient plus marquées la première année (-1,96 vs. +0,01 kg) et s'atténuaient progressivement au cours du temps.

Dans la Women's Health Initiative Randomized Controlled Dietary Modification Trial, les objectifs de l'intervention étaient de réduire les apports lipidiques jusqu'à 20% des AET en substituant les aliments riches en lipides par des fruits et des légumes (Howard, Manson et al., 2006). La différence de poids entre les groupes expérimental et témoin était un peu supérieure à 2 kg la 1<sup>re</sup> année et s'estompait progressivement pour atteindre 0,7 kg la 9<sup>e</sup> année d'étude. Les analyses a posteriori ont montré que la variation de poids était inversement corrélée à la variation des apports lipidiques (exprimés en % des AET) mais pas à celle de la consommation de fruits et légumes.

Enfin dans la Women's Healthy Eating and Living Study, 3 088 femmes âgées de 18 à 74 ans avec des antécédents de cancer du sein bénéficiaient de conseils pour augmenter leurs apports de fruits et de légumes (3 et 5 portions par jour) et de fibres (30 g/j), et diminuer leur consommation de lipides (<20% des AET). Après 6 ans, les apports en fruits et légumes étaient plus élevés dans le groupe expérimental (3,4 et 5,8 portions par jour) que dans le groupe témoin (2,9 et 3,6 portions par jour). En revanche, la différence de poids n'était pas significative entre les groupes intervention et témoin chez ces femmes avec des antécédents de cancer (Rock, Thomson et al., 2001; Thomson, Rock et al., 2005; Pierce, Natarajan et al., 2007).

En conclusion, les résultats montrent que la promotion de la consommation des fruits et légumes associée à une diminution des apports lipidiques diminue le poids de sujets participant à des essais de prévention du cancer. Ces résultats doivent cependant être considérés avec une certaine prudence en raison du petit nombre d'études et de leurs contraintes méthodologiques.

**En conclusion sur les facteurs de risque.** Les interventions réalisées dans un cadre expérimental contraint permettent de vérifier l'hypothèse, les interventions en ambulatoire testent parallèlement la faisabilité du traitement des facteurs de risque. Dans la mesure où les sujets peuvent adapter leur comportement, et en particulier échapper à la contrainte du régime, une partie de l'échec des résultats observés peut s'expliquer par une perte de l'adhérence au régime. Seule l'étude DASH contrôle expérimentalement les apports de fruits et légumes et permet de ce fait de tester l'hypothèse d'une relation avec les facteurs de risque. DASH, d'une durée de 8 semaines, montre un effet significatif sur la pression artérielle mais pas sur le LDL-cholestérol. L'effet sur le poids ne peut être testé dans cette étude où le maintien d'un poids stable faisait partie des objectifs.

#### 1.2.4. Rôle des vitamines

L'athérosclérose est un processus biologique multifactoriel complexe impliquant l'interaction de nombreux facteurs vasculaires et plasmatiques. L'hypothèse d'un effet des fruits et légumes sur la prévention des maladies cardiovasculaires est soutenue par des expériences biologiques cellulaires et chez l'animal de laboratoire. De nombreuses études ont ainsi mis en évidence des effets des vitamines dans la régulation des mécanismes d'oxydation, de migration et d'apoptose cellulaire, ainsi que dans les processus de thrombose et d'accumulation lipidique vasculaire (Lampe, 1999).

Deux hypothèses principales impliquent les vitamines dans les processus physiopathologiques de l'athérosclérose et de ses complications. Selon la première, l'oxydation des LDL favoriserait la formation et le développement de la plaque d'athérome en stimulant l'activation des monocytes dans l'espace sous-endothélial des vaisseaux (Chisolm and Steinberg, 2000; Witztum and Steinberg, 2001; Blomhoff, 2005). Le corollaire est que l'absorption de vitamines antioxydantes des fruits et légumes pourrait inhiber l'oxydation des LDL et par conséquent le développement de la plaque d'athérome.

La seconde découle du rôle de l'homocystéine dans l'athéromatose. Une baisse des concentrations plasmatiques d'homocystéine, induite par les vitamines B6, B9 et B12 contenues dans les légumes verts, pourrait ainsi diminuer le risque d'évènements thrombotiques.

Les études expérimentales, explorant séparément des voies métaboliques uniques, ne peuvent cependant pas rendre compte de la complexité des mécanismes mis en jeu dans le développement de l'athérosclérose. La démonstration chez l'homme des effets des microconstituants des fruits et légumes sur la survenue d'accidents cardiovasculaires est une étape importante de la démonstration des mécanismes protecteurs des effets des fruits et légumes. Les résultats des principales études de prévention vasculaire sont présentés brièvement.

##### *. Vitamine E*

Le terme "Vitamine E" évoque de nombreux isomères, dont l' $\alpha$ -tocophérol est le plus abondant et le plus actif dans le plasma. Les principales sources de vitamine E de l'alimentation en Europe et Amérique du Nord sont les huiles végétales et les légumes. Les apports alimentaires moyens dans la population sont de l'ordre de 10 à 15 mg/jour, correspondant aux apports conseillés (2001).

La vitamine E est un antioxydant liposoluble puissant. Cette propriété lui confère un rôle important dans la prévention de la peroxydation des lipides des membranes cellulaires et des LDL (Jialal, Fuller et al., 1995; Devaraj and Jialal, 1996; Fuller, Chandalia et al., 1996; Devaraj, Adams-Huet et al., 1997). L' $\alpha$ -tocophérol inhibe également l'activité de la protéine kinase C et la prolifération cellulaire, réduit l'angiogenèse tumorale, module l'expression de certains gènes et augmente la réponse

immunitaire (Traber, 2001; Brigelius-Flohe, Kelly et al., 2002; Chattopadhyay and Bandyopadhyay, 2006). L'ensemble de ces propriétés contribue *in vitro* à la prévention de l'athérosclérose.

La relation entre la consommation de vitamine E et les maladies cardiovasculaires est documentée dans la littérature épidémiologique. Une méta-analyse de 9 études prospectives regroupant 293 172 sujets, suivis en moyenne pendant 10 ans, a rapporté une relation inverse entre la consommation de vitamine E alimentaire et la survenue d'événements coronaires (Knekt, Ritz et al., 2004). La diminution du risque coronaire était atténuée après ajustement sur les principaux facteurs de confusion. Certaines études en revanche n'ont pas trouvé de relation entre les taux circulants de vitamine E et la maladie coronaire (Hense, Stender et al., 1993; Ohrvall, Berglund et al., 1996; Evans, Shaten et al., 1998).

Plusieurs essais contrôlés de prévention ont évalué les effets de la supplémentation en vitamine E sur la mortalité cardiovasculaire et totale. Les données de ces essais sont résumées dans 4 méta-analyses (Vivekananthan, Penn et al., 2003; Eidelman, Hollar et al., 2004; Shekelle, Morton et al., 2004; Miller, Pastor-Barriuso et al., 2005; Pham and Plakogiannis, 2005). Dans une analyse dose-réponse portant sur 19 essais (incluant plus de 130 000 sujets, suivis pendant 1,8 à 8,2 ans, et recevant entre 16,5 à 2000 UI/jour de vitamine E) la supplémentation vitaminique était directement associée à la mortalité totale (Miller, Pastor-Barriuso et al., 2005). L'augmentation était linéaire et continue à partir de 150 UI/jour de vitamine E. Ces résultats ont été confirmés dans une méta-analyse récente, qui montrait une augmentation moyenne de 4% du risque de décès chez les sujets qui reçoivent des suppléments de vitamine E (Bjelakovic, Nikolova et al., 2007).

En conclusion, la prescription de suppléments de vitamine E dans des essais randomisés n'est pas associée à une diminution des événements et de la mortalité cardiovasculaires. Ces résultats ne permettent pas de vérifier l'hypothèse d'un rôle protecteur de la vitamine E des légumes sur les maladies cardiovasculaires.

### **. Folate, vitamine B6, B12**

L'homocystéine est un acide aminé produit par le catabolisme de la méthionine. Les concentrations plasmatiques sont déterminées par des facteurs nutritionnels et génétiques. L'altération du métabolisme de l'homocystéine, secondaire à un défaut de la cystathionine synthase, est responsable des manifestations cliniques importantes et précoces d'athérosclérose (McCully, 1969; Welch and Loscalzo, 1998). Dans les études épidémiologiques, une augmentation modérée des concentrations d'homocystéine est associée à un risque accru de coronaropathie (Bautista, Arenas et al., 2002; Ford, Smith et al., 2002; the Homocysteine Studies Collaboration, 2002; Wald, Law et al., 2002).

Les carences en vitamines B6 (pyridoxine), B12 (cobalamine) ou B9 (folate) et des apports excessifs de méthionine s'accompagnent d'une augmentation significative des concentrations plasmatiques d'homocystéine. A l'inverse, le traitement par acide folique diminue les niveaux plasmatiques laissant prévoir un effet protecteur vasculaire (Homocysteine Lowering Trialists' Collaboration, 2005).

Deux méta-analyses récentes résument les résultats des essais de prévention vasculaire avec les vitamines B6, B12 et B9 en prévention secondaire (Bazzano, Reynolds et al., 2006; Wang, Qin et al., 2007). Dans la première, la supplémentation avec la vitamine B9 s'accompagnait d'une diminution de 4% du risque relatif de mortalité totale, de 5% du risque relatif d'événement cardiovasculaire et de 14% du risque relatif d'accident vasculaire (toutes non significatives). La suppression d'une étude de prévention secondaire des accidents vasculaires cérébraux (VISP) se traduisait par une diminution du risque de 24% (statistiquement significative). Des résultats similaires sont rapportés dans la seconde méta-analyse avec une sélection différente d'études (Wang, Qin et al., 2007). Le risque relatif d'accident vasculaire cérébral diminuait de 18%. La réduction du risque était corrélée à la durée de l'étude et à la diminution des niveaux plasmatiques d'homocystéine.

L'ensemble de ces résultats ne permet pas de conclure à un bénéfice de la supplémentation en vitamines B6, B9 et B12 pour la prévention des récurrences coronaires et cardiaques. La diminution du risque d'accident vasculaire cérébral chez les sujets sans antécédents cérébrovasculaires mérite d'être

signalée. Enfin, aucun essai d'intervention n'a traité la question de la prévention primaire des accidents vasculaires.

#### **. Vitamine A : $\beta$ -carotène et rétinol**

Le terme Vitamine A fait référence à un ensemble de molécules comprenant les caroténoïdes (pro "vitamine A") et les rétinoïdes. De nombreuses études épidémiologiques d'observation ont mis en évidence des relations favorables entre les niveaux plasmatiques ou les apports alimentaires de vitamine A et la survenue d'événements cardiaques (Marchioli, Schweiger et al., 2001). Les essais cliniques randomisés n'ont pas confirmé ces résultats. Les événements vasculaires tendent à augmenter chez les patients qui reçoivent les vitamines B6, B9 et B12 simultanément.

Une méta-analyse a fait la synthèse des essais randomisés de prévention cardiovasculaire avec le  $\beta$ -carotène. Les résultats montrent un excès de risque de décès cardiovasculaire chez les sujets qui reçoivent le traitement actif (Vivekananthan, Penn et al., 2003). Enfin une méta-analyse récente rapporte une augmentation significative du risque de mortalité toutes causes confondues de 7% dans les essais cliniques avec le  $\beta$ -carotène et de 16% dans les essais avec de la vitamine A (Bjelakovic, Nikolova et al., 2007).

#### **. Vitamine C : acide ascorbique**

La "Vitamine C" est un antioxydant hydrosoluble puissant chez l'homme (Sauberlich, 1994). Les concentrations plasmatiques sont étroitement contrôlées en fonction de la dose. Les principales sources alimentaires sont les fruits et les légumes.

La vitamine C est oxydée par de nombreux composés qui sont potentiellement impliqués dans diverses pathologies (Padayatty, Katz et al., 2003), notamment l'athérosclérose. L'oxydation *ex vivo* des LDL est diminuée par des concentrations physiologiques de vitamine C (Jialal and Grundy, 1991; Jialal and Grundy, 1993). La vitamine C augmente les concentrations d'oxyde nitrique endothélial en inhibant son oxydation et en augmentant sa synthèse (Huang, Vita et al., 2000; Heller, Unbehauen et al., 2001). Enfin, la vitamine C aurait des effets favorables sur la fonction endothéliale (Brown and Hu, 2001).

A l'heure actuelle, aucun essai de prévention primaire ni secondaire n'a encore évalué l'effet cardioprotecteur possible d'une supplémentation en vitamine C (Frei, 2003).

#### **. Multivitamines et minéraux**

Une méta-analyse récente a évalué les effets de suppléments multi-vitaminiques et minéraux sur la prévention des maladies cardiovasculaires (Huang, Caballero et al., 2006) sans mettre en évidence d'effet protecteur.

#### **. Conclusion**

L'analyse des essais de prévention avec la vitamine A, le  $\beta$ -carotène et la vitamine E n'a pas mis en évidence de bénéfice des suppléments sur la prévention des maladies cardiovasculaires (Kris-Etherton, Lichtenstein et al., 2004). A l'inverse, la supplémentation pharmacologique par la vitamine A, le  $\beta$ -carotène et la vitamine E est associée à un excès de mortalité. Les essais thérapeutiques avec les vitamines B6, B9 et B12 ont démontré une baisse des niveaux d'homocystéine mais pas de diminution significative des événements coronaires. Il persiste encore un doute concernant un effet protecteur possible de la supplémentation pharmacologique avec la vitamine B9 sur les événements vasculaires cérébraux. Enfin, l'absence d'essai thérapeutique pour la vitamine C ne permet pas de conclure. L'ensemble des études publiées à ce jour n'apporte donc pas de preuve directe d'un effet protecteur de la consommation de vitamines sur la survenue de coronaropathies et d'accidents vasculaires cérébraux.

### 1.2.5. Conclusion

Depuis la publication des recommandations de santé publique, de nouvelles études ont permis de préciser la nature de la relation entre la consommation de fruits et légumes et les maladies vasculaires. L'objectif de cette revue était d'analyser les arguments qui permettent de démontrer le lien entre la consommation de fruits et la survenue des maladies cardiovasculaires.

La publication récente d'essais de prévention a permis d'évaluer directement les effets de la consommation de fruits et légumes. Ces études sont encore trop peu nombreuses. Les résultats des deux essais, DART II pour la prévention secondaire et Women's Health Initiative Randomized Controlled Dietary Modification Trial pour la prévention primaire, n'ont pas démontré d'effet de l'intervention. Dans ces deux études, l'intervention n'était manifestement pas assez efficace pour créer un différentiel important de consommation de fruits et de légumes entre les groupes expérimental et témoin ne permettant pas de conclure définitivement.

En l'absence de résultat, et par conséquent de preuve formelle d'un effet protecteur de la consommation de fruits et légumes sur l'incidence des maladies cardiovasculaires, les arguments en faveur d'une relation doivent être recherchés dans les enquêtes épidémiologiques d'observation. Celles-ci sont nombreuses, conduites pour la plupart aux Etats-Unis et en Europe du Nord. Dans leur grande majorité les études prospectives montrent une diminution du risque relatif d'accidents coronaires fatals ou non fatals et cérébraux vasculaires. Cependant, la plupart des relations observées sont statistiquement non significatives, suggérant que ces relations sont de faible intensité ou que les études n'avaient pas assez de puissance pour démontrer une relation.

Les observations des études de cohorte ne préjugent pas d'un lien causal entre l'ingestion de fruits et de légumes et la formation de l'athérosclérose dans les vaisseaux. En effet, les consommateurs de fruits et légumes présentent des caractéristiques sociales, culturelles et des habitudes de vie qui leur confèrent une protection vis-à-vis des maladies cardiovasculaires. De plus, la consommation de fruits et légumes s'accompagne d'une diminution des apports d'autres aliments dont certains pourraient être délétères sur le plan vasculaire. Ainsi, les enquêtes épidémiologiques observationnelles ne permettent pas de conclure formellement quant aux effets des fruits et légumes.

Les effets de la consommation de fruits et légumes sur les facteurs de risque cardiovasculaire sont très faibles ou non démontrés. Dans des conditions d'expérimentation rigoureuses, la consommation de fruits et légumes s'accompagnent d'une diminution très modeste de la pression artérielle, un facteur de risque important de maladies cardio- et cérébrovasculaires. Les effets des fruits et légumes sur le LDL-cholestérol et le poids n'ont pas été explorés correctement.

L'hypothèse du rôle protecteur des vitamines antioxydantes sur la formation de la plaque d'athérome et la prévention de ses complications n'a pas été vérifiée dans des essais pharmacologiques de prévention cardiovasculaire. Ces essais montrent en revanche un surcroît de mortalité pour les suppléments de vitamine E, vitamine A et  $\beta$ -carotène.

Ainsi, à l'heure actuelle, les preuves d'un effet protecteur fort des fruits et légumes sur la survenue d'accidents cardiovasculaires sont très faibles, pratiquement inexistantes. Ceci n'exclut pas un effet des fruits et des légumes sur ces événements. Il reste toutefois à trouver les quantités efficaces et les conditions optimales d'une prévention individuelle. Par ailleurs, compte tenu de la forte prévalence de l'hypertension artérielle dans la population et de sa relation étroite avec les maladies vasculaires, la diminution très modeste de la pression artérielle sous l'effet d'une alimentation riche en fruits et légumes pourrait présager d'un bénéfice cardiovasculaire à l'échelle de la population.

**Tableau 1.2-1.** Description des Cohortes portant sur la consommation de Fruits et / ou Légumes et le risque de Cardiopathies ischémiques ou d'Accidents Vasculaires Cérébraux (AVC) fatals et non-fatals

Cohorte	Auteur	Revue	Date de publication	Lieu		Effectif (n/f)	Age (an)	Durée moyenne (ou médiane) de suivi (ans)	Date de recrutement	AVC totaux	AVC fatal ou non (généralement ischémique)	Accident coronaire fatal ou non	Mortalité coronaire	Maladie cardiovasculaire (généralement AVC et coronaire)	Evénement	Exposition	
Adventist Health Study	GE Fraser et al	Arch Int Med	1992	Californie (USA)	membres de la communauté Adventiste d'origine Caucasienne	10 003 / 16 740	> 25	6	1976			134	463		IM non fatal (n=134), IM fatal (n=260), Cardiopathie ischémique fatale (n=463)	score de fruits	FFQ
Mobile Clinic of the Finnish Social Insurance	P Knekt et al	Am J Epidemiology	1994	Finlande	volontaires sains recrutés en Finlande	2 748 / 2 385	30 à 69	12 à 16	1966 à 1972				244		décès coronaire	fruits et légumes	Dietary History
Framingham Study	MW Gillman et al	JAMA	1995	Framingham (USA)	résidents de la commune de Framingham	832 / -	45 à 65	20	1966 à 1969	97	61				AVC et AIT	fruits et légumes	24 hours Recall
ATBC	P Pietinen et al	Circulation	1996	Finlande : essai de prévention du cancer du poumon chez les fumeurs	fumeurs de 50 à 69 ans originaire du sud-ouest de la Finlande	21 930 / -	50 à 69	6.1	1993				635		décès coronaire	fruits (+ baies) et légumes	FFQ
Mobile Clinic of the Finnish Social Insurance	P Knekt et al	BMJ	1996	Finlande	volontaires sains recrutés en Finlande	2 748 / 2 385	30 à 69	26	1966 à 1972				473		décès coronaire	fruits	FFQ
Health Professionals' Follow-up Study	EB Rimm et al	JAMA	1996	USA	professionnels de santé	43 757 / -	40 à 75	6	1986			734			événement coronaire (n=511), décès coronaire (n=229)	fruits & légumes	FFQ
Boston Community	NR Sahyoun et al	Am J Epidemiology	1996	Massachusetts (USA)	volontaires de plus de 60 ans du Massachusetts	254 / 471	60 à 101	9 à 12	1981 à 1984				101		mortalité cardiaque	fruits (+ jus) et légumes	3 days food record
Vegetarians and other Health Conscious People	TJA Key et al	BMJ	1996	Royaume-Uni	Végétariens et Informé santé	4 336 / 6 435	> 16	16.8	1973 à 1979		147		350	598	décès coronaires, vasculaires et cérébraux	fruits frais	FFQ
Health Conscious Individuals	Jl Mann et al	Heart	1997	Royaume-Uni	Végétariens et Informé santé	4 102 / 6 700	16 à 79	13.3	1980 à 1984				64		décès coronaire	fruits frais et secs	FFQ
Health Professionals' Follow-up Study	KJ Joshipura et al	JAMA	1999	USA	Professionnels de santé	38 683 / -	40 à 75	8	1986		204				AVC ischémique fatal ou non	fruits, légumes et fruits & légumes	FFQ
Nurses' Health Study	KJ Joshipura et al	JAMA	1999	USA	Infirmières	- / 75 596	34 à 59	14	1980		366				AVC ischémique fatal ou non	fruits, légumes et fruits & légumes	FFQ
Women's Health Study	S Liu et al	Am J Clin Nutr	2000	USA	Femmes professionnelles de santé	- / 39127	age moyen 54	5	1993		160	126		418	infarctus du myocarde, AVC, maladie cardiovasculaire, pontage et angioplastie	fruits, légumes et fruits & légumes	FFQ
Study of men Born in 1913	E Strandhagen et al	Eur J Clin Nutr	2000	Göteborg (Suède)	Hommes nés en 1913	730 / -	54	26	1967					209/226	angor, infarctus et AVC (n= 209 non-fatals) et DC cardiovasculaire (n=226)	fruits, légumes	FFQ

British Health and Lifestyle Survey	BD Cox et al	Public Health Nutr	2000	Angleterre, Pays de Galles et Ecosse	Résident du Royaume Uni	1422 / 1826	35 à 75	7	1984 - 1985					392	MI, angor, pontage, AVC et AOMI mortalité	fruits et saisons	FFQ
ATBC	T Hirvonen et al	Stroke	2000	Finlande : essai de prévention du cancer du poumon chez les fumeurs	fumeurs originaire du sud-ouest de la Finlande	26 497 / -	50 à 69	6.1	1993		736				AVC ischémique	fruits, légumes	Dietary History
Physicians' Health Study	S Liu et al	Int J Epidemiol	2001	USA	Médecins Américains	15 220 / -	40 à 84	12	1982			387			infarctus du myocarde fatal ou non fatal	légumes (pourquoi pas fruits ?????)	FFQ
Health Professionals' Follow-up Study	KJ Joshipura et al	Ann Intern Med	2001	USA	Professionnels de santé	42 148 / -	40 à 75	8	1986			1063			événement coronaire fatal ou non	fruits, légumes et fruits & légumes	FFQ
Nurses' Health Study	KJ Joshipura et al	Ann Intern Med	2001	USA	Infirmières	- / 84 251	34 à 59	14	1980			1127			événement coronaire fatal ou non	fruits, légumes et fruits & légumes	FFQ
NHANES Follow-up Study	LA Bazzano et al	Am J Clin Nutr	2002	USA	Echantillon de population	3 684 / 5 924	25 à 74	19	1971 à 1975	888	1786	639	1445		événement coronaire fatal ou non, AVC totaux, décès cardiovasculaire	fruits & légumes	FFQ
Vegetarians and other Health Conscious People	JN Appleby et al	IARC Sci Publ	2002	Royaume-Uni	Végétariens et Informé santé	4325 / 6416	> 16	18 à 24	1973 à 1979	356			605	1202	décès coronaires, vasculaires et cérébraux	fruits frais	FFQ
Artherosclerosis Risk in Communities ARIC	LM Steffen et al	Am J Clin Nutr	2003	USA : Forsyth, Mineapolis, Washington counties	fruits, légumes et fruits & légumes	5 171 / 6 669	45 à 64	11	1987 à 1989	270	214	535			événement coronaire fatal ou non et AVC ischémique	fruits & légumes	semi quant. FFQ
Danish Diet Cancer and Health study	SP Johnsen et al	Am J Clin Nutr	2003	Copenhague et Aarhus (Danemark)	Volontaires sains	27 177 / 29 876	50 à 64	3.09	1993 à 1997		266				AVC ischémiques	fruits, légumes et fruits & légumes	semi quant. FFQ
Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor (KHD)	TH Rissanen et al	J Nutr	2003	Kupio (Finlande)	Echantillon de population	1 950 / -	42 à 60	12.8	1984 à 1989				115		Mortalité cardiovasculaire	fruits (+ baies) et légumes	Juornam Alimentaire de 4 jours
Nagasaki Life Span Study	C Sauvaget et al	Stroke	2003	Japon	Echantillon de population	14 966 / 23 471	35 à 103	16	1978 à 1981	1926	920				DC par AVC ischémique	fruits et légumes (verts et jaunes)	FFQ
Prime	L Dauchet et al	Br J Nut	2004	France et Ulster	Volontaires sains	8087 / -	50 à 59	5	1991			249			événement coronaire fatal ou non et angor	fruits, légumes et fruits & légumes	FFQ
Odyssey Cohort	JM Genkinger et al	Am J Epidemiology	2004	Washington county (USA)	Volontaires sains	6151	30 à 93	» 13	1974 et 1989				378		mortalité cardiovasculaire	fruits & légumes	FFQ
Nurses' Health Study & Health Professionals' Follow-up Study	HC Hung et al	J Nat Cancer Ints	2004	USA	Professionnels de santé et Infirmières	37 725 / 71 910	34 à 75	» 13	1984 et 1986				3864		IM et AVC fatal ou non	fruits, légumes et fruits & légumes	FFQ
Baltimore Longitudinal Study of Aging	KL Tucker et al	J Nutr	2005	USA	hommes de plus de 80 ans	501 / -	<80	18	1958			71			mortalité coronaire	fruits, légumes et fruits & légumes	Journal alimentaire de 7 jours X4
Carnegie (Boyd Orr) Survey	AR Ness et al	Heart	2006	Angleterre et Ecosse	enfants	4028	7.5	37	1937 à 1939	83			298		mortalité coronaire et AVC	fruits & légumes	7 days household inventory

IHD ischémic heart disease ; IM infarctus du myocarde ; AVC accident vasculaire cérébral.  
ATBC : Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study

**Tableau 1.2-2. Consommation de Fruits et / ou Légumes et Cardiopathies Ischémiques**

Cohorte	Auteur	Année	Critère de jugement	Nombre d'événements	Aliment	Résultats RR [95% IC]*	Test de tendance	Exposition
Adventist Health Study	Fraserr	1992	IM non-fatal	134	fruits	1.07 [0.58-1.96]	ns	>2 parts/j vs. <1/ j
Health Professionals' Follow-up Study	Rimm	1996	IM fatal et non-fatal	734	fruits et légumes	0.78 [0.58-1.04]		<sup>3</sup> 7 parts / j vs. < 3/ j
Health Professionals' Follow-up Study	Joshiपुरa	2001	IM fatal ou non-fatal	1063	fruits	0.92		1 portion supplémentaire / j
					légumes	0.97		
					fruits et légumes	0.96 [0.93-0.99]		
Nurses' Health Study	Joshiपुरa	2001	IM fatal ou non-fatal	1127	fruits	0.95		1 portion supplémentaire / j
					légumes	0.93		
					fruits et légumes	0.97 [0.93-1.00]		
Women's Health study	Liu	2000	IM fatal ou non-fatal	126	fruits	0,66 [0,36-1,22]	0.26	Q5 ( <sup>3</sup> 3.9 / j) vs. < Q1 (0.6/ j)
					légumes	0,88 [0,50-1,58]	0.6	Q5 ( <sup>3</sup> 6.9 / j) vs. Q1 (< 1.5/ j)
					fruits et légumes	0,63 [0,38-1,17]	0.21	Q5 ( <sup>3</sup> 10.2 / j) vs. < Q1 (2.6/ j)
Physicians' Health Study	Liu	2001	IM fatal ou non-fatal	387	légumes	0.81 [0.59-1.31]	0.24	<sup>3</sup> 2.5 portions / j vs. < 1/ j
NHANES Follow-up Study	Bazzano	2002	IM fatal ou non-fatal	1786	fruits et légumes	1.01 [0.84-1.21]	0.08	<sup>3</sup> 3 fois / j vs. < 1/ j
ARIC	Steffen	2003	IM fatal ou non-fatal	535	fruits et légumes	0.82 [0.57-1.17]	0.29	Q5 ( <sup>3</sup> 7.5 portions / j) vs. Q1 (< 2.1/ j)
Prime	Dauchett	2004	IM fatal ou non, angor	249	fruits	0.90 [0.66-1.24]	0.13	T3 ( <sup>3</sup> 1.29 fois/j) vs. T1 (£ 0.57/j)
					légumes	1.01 [0.88-1.15]	0.93	T3 ( <sup>3</sup> 1.5 fois/j vs. T1 (£ 0.79/j)
					fruits et légumes	0.78 [0.56-1.07]	0.18	T3 ( <sup>3</sup> 2.6 fois/j) vs. T1 (£ 1.57/j)
IHD ischemic heart disease ; IM infarctus du myocarde								
ARIC: Artherosclerosis Risk in Communities								
*Les RR correspondent aux variables d'expositions présentes dans les articles (colonne de droite)								

**Tableau 1.2-3. Consommation de Fruits et / ou Légumes et Mortalité Cardiovasculaire**

Cohorte	Auteur	Année	Critère de jugement	Nombre d'événements	Aliment	Résultats RR [95% IC]*	Test de tendance	Exposition
Adventist Health Study	Fraser	1992	Mortalité coronaire (definite)	260	fruit	1.08 [0.67-1.75]	ns	>2 fois / j vs. <1/ j
			Mortalité coronaire (death certificat)	463	fruit	1.18 [0.82-1.70]	ns	>2 fois / j vs. <1/ j
Mobile Clinic of Social Insurance	Knekt	1994	Mortalité coronaire	186 H 58 F	fruits	H: 0.77 [0.52-1.12] F: 0.66 [0.36-1.22]	H : 0.28 / F :0.10	3 <sup>ème</sup> tertile vs. 1 <sup>er</sup> tertile
Mobile Clinic of Social Insurance	Knekt	1996	Mortalité coronaire	350 H 123 F	légumes	H: 0.89 [0.65-1.21] F: 0.77 [0.49-1.21]	?	4 <sup>ème</sup> quartile vs. 1 <sup>er</sup> quartile
ATBC	Pietinen	1996	Mortalité coronaire	635	fruits (+ baies)	0.78 [0.59-1.03]	0.008	5 <sup>ème</sup> quintile vs. 1 <sup>er</sup> quintile
					légumes	0.60 [0.45-0.79]	<0.001	
Vegetarians and other health conscious people	Key	1996	Mortalité coronaire	350	fruits frais	0.76 [0.60-0.97]	nd	<sup>3</sup> 1 portion / j vs. <1/ j
Mobile Clinic of Social Insurance	Knekt	1994	Mortalité coronaire	350 H 123 F	légumes	H: 0.89 [0.65-1.21] F: 0.77 [0.49-1.21]		4 <sup>ème</sup> quartile vs. 1 <sup>er</sup> quartile
Health Conscious Individuals	Mann	1997	Mortalité coronaire	64	fruits	0.89 [0.44-1.80]	ns	<sup>3</sup> 10 fois / sem vs. < 5 /sem
					légumes verts	1.34 [0.47-3.84]	ns	<sup>3</sup> 5 fois /sem vs. < 1 /sem
Women's Health Study	Liu	2000	infarctus du myocarde, AVC, maladie cardiovasculaire, pontage et angioplastie	418	fruits	0.96 [0.70-1.33]	0.69	Q5 vs. Q1
					légumes	0.85 [0.61-1.19]	0.21	Q5 vs. Q2
					fruits et légumes	0.85 [0.61-1.17]	0.45	Q5 vs. Q3
NHANES Follow-up Study	Bazzano	2002	Mortalité coronaire	639	fruits et légumes	0.76 [0.56-1.03]	0.07	<sup>3</sup> 3 fois / j vs. < 1/ j
Vegetarians and other Health Conscious People	JN Appleby et al	2002	Mortalité coronaire	605	fruits frais	0.89 [0.77-1.03]		<sup>3</sup> 1 fois / j vs. < 1/ j
					légumes frais	0.94 [0.83-1.07]		<sup>3</sup> 1 fois / j vs. < 1/ j
Baltimore Longitudinal Study of Aging	KL Tucker	2005	IM fatal	71	fruits	0.97 [0.79-1.20]		1 portion supplémentaire /j
					légumes	0.73 [0.54-0.97]		
					fruits et légumes	0.90 [0.76-1.05]		
Carnegie (Boyd Orr) Survey	AR Ness	2006	Mortalité coronaire	298	fruits	1.19 [0.76-1.87]	0.7	Q4 (moy 90g/j) vs. Q1 (moy 0.7 g/j)
					légumes	1.01[0.70-1.63]	0.7	Q4 (moy 116g/j) vs. Q1 (moy 24 g/j)

Mortalité cardiaque : IM, trouble du rythme et insuffisance cardiaque fatals. Mortalité coronaire : IM fatal.

\*Les RR correspondent aux variables d'expositions présentes dans les articles (colonne de droite)

**Tableau 1.2-4. Consommation de Fruits et / ou Légumes et Mortalité Cardiovasculaire**

Cohorte	Auteur	Année	Critère de jugement	Nombre d'événements	Aliment	Résultats RR [95% IC]*	Test de tendance	Exposition
Boston Community	Sahyoun	1996	Mortalité cardiaque	101	fruit et jus de fruits	0.64 [0.34 - 1.21]	0.48	3 <sup>ème</sup> tertile vs. 1 <sup>er</sup> tertile
					légumes	0.51 [0.27 - 0.95]	0.04	
Study of Men Born in 1913	Strandhagen	2000	Mortalité cardiovasculaire	226	fruits	incidence : 27.7% vs 36.7%	0.042	0-1 vs. 6-7 prises / sem
					légumes	incidence : 26.9% vs 35.5%	ns	
			IM, angor, AVC non-fatal	209	fruits	incidence sur 26 ans de suivi : 32% vs 25,8%	ns	
					légumes	29.8% vs 24.6%	ns	
British Health and Lifestyle Survey	BD Cox	2000	Mortalité cardiovasculaire	392	fruits en hiver	H : OR=0.69 ; F OR=0.52	0.70 / 0.004	journalier à jamais (5 niveaux)
					fruits en été	H :OR=0.80 ; F OR=0.63	0.63 / 0.014	journalier à jamais (5 niveaux)
NHANES Follow-up Study	Bazzano	2002	Mortalité cardiovasculaire	1145	fruits et légumes	0.73 [0.58-0.92]	0.008	<sup>3</sup> 3 fois / j vs. < 1/ j
Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor (KIHD)	Rissanen	2003	Mortalité cardiovasculaire	115	fruits et légumes	0.59 [0.33-1.06]	0.02	Q5 (>408 g/j) vs. < Q1 (133 g/j)
Odyssey Cohort	Genkinger JM	2004	Mortalité cardiovasculaire	378	fruits et légumes	0.76 [0.54-1.06]	0.15	Q5 (med 4.9 portions/j) vs. Q1 (med 0.87/j)
Nurses' Health Study & Health Professionals' Follow-up Study	Hung H	2004	IM et AVC fatals ou non	3864	fruits	0.87 [0.80-0.94]		3 portions supplémentaires /j
					légumes	0.93 [0.86-1.00]		3 portions supplémentaires /j
					fruits et légumes	0.88 [0.81-0.95]		5 portions supplémentaires /j
Women's Health study	Liu S	2000	IM fatal ou non-fatal, PTCA, CABG	418	fruits	0,96 [0,70-1,33]	0.69	5 <sup>ème</sup> quintile vs. 1 <sup>er</sup> quintila
					légumes	0,85 [0,61-1,19]	0.21	
					fruits et légumes	0,85 [0,61-1,17]	0.45	

Mortalité cardiaque : IM, trouble du rythme et insuffisance cardiaque fatals. Mortalité coronaire : IM fatal.

\*Les RR correspondent aux variables d'expositions présentes dans les articles (colonne de droite)

**Tableau 1.2-5. Consommation de Fruits et / ou Légumes et Accidents Vasculaires Cérébraux (AVC)**

Cohorte	Auteur	Année	Critère de jugement	Nombre d'événements	Aliment	Résultats RR [95% IC]*	Test de tendance	Exposition
Framingham study	Gillman	1995	AVC ischémique	61	fruits et légumes	0.77 [0.60-0.98]		3 portions supplémentaires / j
			AVC total et AIT	97	fruits	0.81 [0.56-1.19]		
			AVC total et AIT	97	légumes	0.74 [0.54-1.02]		
Vegetarian Health Conscious People	Key	1996	AVC	147	fruits frais	0.68 [0.47-0.98]	nd	<sup>3</sup> 1 portion / j vs. <1 / j
Health Professionals' Follow-up Study	Joshiyura	1999	AVC ischémique	204	fruits et légumes	0.96 [0.89-1.03]		1 portion supplémentaire / j
					fruits	0.93 [0.82-1.05]		
					légumes	0.98 [0.88-1.09]		
Nurses' Health Study	Joshiyura	1999	AVC ischémique	366	fruits et légumes	0.93 [0.87-1.00]		1 portion supplémentaire / j
					fruits	0.87 [0.78-0.96]		
					légumes	0.95 [0.86-1.06]		
ATBC	T Hirvonen et coll.	2000	AVC non hémorragiques	736	Fruits	0.96 [0.78-1.18]	0.73	Q4 (>120 g/j) vs. Q1 (<32 g/j)
					Légumes	0.71 [0.57-0.87]	0.001	Q4 (>142 g/j) vs. Q1 (<59 g/j)
NHANES Follow-up Study	Bazzano	2002	AVC total	888	fruits et légumes	0.73 [0.57-0.95]	0.01	<sup>3</sup> 3 fois / j vs. < 1/ j
ARIC	Steffen	2003	AVC ischémique	214	fruits et légumes	0.94 [0.54-1.63]	0.4	Q5 ( <sup>3</sup> 7.5 portions / j) vs. < Q1 (2.1/ j)
Danish Cancer and Health study	Joshiyura	2003	AVC ischémique	266	fruits et légumes	0.72 [0.47-1.12]	0.04	Q5 (med 673 g/j) vs. Q1 (147 g/j)
					fruits	0.60 [0.38-0.95]	0.02	Q5 (med 423 g/j) vs. Q1 (41 g/j)
					légumes	1.00 [0.66-1.53]	0.57	Q5 (med 312 g/j) vs. Q1 (66 g/j)
Nagasaki Life Span Study	Sauvagat	2003	Mortalité par AVC ischémique	920	légumes verts et jaunes	H: 0.68 [0.50-0.94] F: 0.70 [0.55-0.90]	0.022/0.0054	1 portion / j vs. £1/ sem
					fruits	H: 0.63 [0.47-0.83] F: 0.77 [0.61-0.96]	0.0012/0.0175	
Carnegie (Boyd Orr) Survey	AR Ness et coll.	2006	Mortalité par AVC	83	fruits	0.48 [0.21-1.10]	0.3	Q4 (moy 90g/j) vs. Q1 (moy 0.7 g/j)
					légumes	0.40 [0.19-0.83]	0.01	Q4 (moy 116g/j) vs. Q1 (moy 24 g/j)

IM infarctus du myocarde ; AVC accident vasculaire cérébral. AIT accident ischémique transitoire.

ARIC: Artherosclerosis Risk in Communities

\*Les RR correspondent aux variables d'expositions présentes dans les articles (colonne de droite)

## 1.3. Fruits et légumes et diabète

Marie-Jo Amiot-Carlin

A l'opposé du diabète de type I, qui est une affection immunitaire de la cellule  $\beta$  du pancréas, le diabète de type II est une maladie nutritionnelle largement liée à la situation de pléthore alimentaire et de faible activité physique. Il se caractérise par un déficit d'insulino-sécrétion et une insulino-résistance, les 2 mécanismes conduisant à l'hyperglycémie chronique. Le déficit d'insulino-sécrétion résulte d'altérations complexes mettant en jeu la réduction de la masse des cellules  $\beta$ , la gluco- et la lipotoxicité et le stress oxydant. L'hyperglycémie chronique a des conséquences délétères importantes, principalement sur les micro-vaisseaux (microangiopathies). Celles-ci sont responsables des complications vasculaires (rénales, oculaires, cardiaques, artérite des membres inférieurs) qui font la gravité de la maladie. De plus, l'hyperglycémie chronique est fréquemment associée à une dyslipidémie qui se caractérise par plusieurs anomalies athérogènes des lipides et des lipoprotéines plasmatiques liées les unes aux autres : élévation des triglycérides, baisse du HDL cholestérol, apparition de particules LDL et HDL petites et denses, riches en triglycérides.

A côté du diabète, classiquement caractérisé par la présence d'une hyperglycémie à jeun ou permanente, il existe une phase précoce de la maladie, l'insulino-résistance, qui représente un enjeu majeur de santé publique. En effet, l'accroissement de la disponibilité nutritionnelle, notamment à travers des aliments à haute valeur énergétique, associé à divers changements sociologiques (faible dépense énergétique) conduisent à une augmentation de la masse du tissu adipeux menant à la surcharge pondérale ou à l'obésité. Il a été bien montré qu'il existe une relation inverse entre la sensibilité à l'insuline et la masse du tissu adipeux. L'insulino-résistance, ou premier stade de la maladie métabolique qui conduira potentiellement au diabète de type II, est caractérisée par la nécessité d'une sécrétion d'insuline plus forte pour maintenir la glycémie, qui elle est encore normale ou subnormale. Cette insulino-résistance, associée à une hypertension artérielle, à une dyslipidémie et à une microalbuminurie a été regroupée en un syndrome que l'on appelle parfois le syndrome X, ou plus récemment le syndrome métabolique. L'évolution de ce syndrome se fait vers un "épuisement" pancréatique, c'est-à-dire une insuffisance de la sécrétion d'insuline, et un diabète de type II.

Compte tenu des conséquences lourdes en termes de santé publique, la prévention primaire du diabète passe par des changements de style de vie, dont l'alimentation. Il a été très largement montré que la réduction du poids associée à la pratique d'une activité physique suffisante étaient très efficaces dans l'amélioration, voire la correction de l'insulino-résistance et de ses conséquences évolutives. De fait, à côté de diverses médications, la prescription de règles hygiéno-diététiques demeure au centre de la prise en charge de ces sujets. En France, la prévention du diabète fait l'objet de la politique nutritionnelle menée dans le cadre du Programme national nutrition et santé (PNNS) mis en place par le Ministère de la Santé et de la protection sociale en 2001, pour notamment réduire la prévalence du surpoids et de l'obésité chez l'adulte et chez l'enfant, facteur de risque important du diabète.

### 1.3.1. Les études épidémiologiques

Plusieurs études prospectives ont cherché à évaluer si la consommation de fruits et légumes était associée à une prévention du diabète de type II. Une plus grande consommation de fruits et de légumes est apparue associée à une diminution du risque de développer un diabète chez les femmes de la cohorte "National Health and Nutrition Examination Survey" (Ford and Mokdad, 2001). Une telle association n'a pas été retrouvée chez les hommes. Le risque est diminué de près de 40% chez les femmes consommant au minimum 5 portions de fruits et légumes par jour (RR: 0,65, IC 95% : 0,42-0,88) par rapport à celles qui n'en consomment pas. Dans cette même cohorte, il a été montré que la consommation de fruits et de légumes était plus faible chez les sujets ayant un syndrome métabolique. Chez ces sujets, les concentrations plasmatiques en divers micronutriments (vitamines C,  $\beta$ -carotène, lutéine/zéaxanthine) sont significativement (très) inférieures à celles des sujets n'ayant pas de syndrome métabolique (Ford, Mokdad et al., 2003). Dans une cohorte finlandaise, un apport plus

conséquent de fruits et de petits fruits (>136g par jour *versus* <33 g par jour) est associé également à une réduction du risque d'environ 30% (RR: 0,69, IC 95% : 0,51-0,92). Dans cette même étude, aucun effet n'a été observé pour l'apport en légumes (Montonen, Jarvinen et al., 2005). Mais si ces deux études sont apparues prometteuses dans la prévention du risque, d'autres sont sans effet (Lundgren, Bengtsson et al., 1989; Feskens, Bowles et al., 1991; Colditz, Manson et al., 1992; Meyer, Kushi et al., 2000; Liu, Serdula et al., 2004).

Récemment, dans la cohorte EPIC, il a été établi qu'un "bon" profil alimentaire (plus de fruits, moins de viandes, de légumineuses et de pain blanc) a des effets favorables sur des biomarqueurs plasmatiques associés à une plus grande protection du diabète de type II : HDL cholestérol et adiponectine plus élevés et, à l'opposé, hémoglobine glycosylée HbA1 et protéine C-réactive CRP plus basses (Heidemann, Hoffmann et al., 2005). Dans l'étude des infirmières "Nurses' Health Study II", une augmentation des marqueurs d'inflammation et du risque de développer un diabète de type II est associée à un profil alimentaire considéré comme défavorable : plus de sucres simples, de céréales raffinées, plus de viandes et moins de légumes riches en caroténoïdes et en glucosinolates (Schulze, Hoffmann et al., 2005). Plus récemment, Lindstrom et ses collaborateurs (2006) rapportent qu'un apport plus élevé de fibres (correspondant à une alimentation plus riche en céréales complètes, en fruits et en légumes) associé à un plus faible apport en lipides, notamment saturés, conduit à une diminution du poids et réduit le risque de développer un diabète de type II chez les sujets obèses.

Des modifications de style de vie appliquées dans des études d'intervention ont donné des résultats convaincants sur la prévention du diabète de type II (Tuomilehto, Lindstrom et al., 2001; Knowler, Barrett-Connor et al., 2002; Lindstrom, Eriksson et al., 2003; Lindstrom, Louheranta et al., 2003). Bien que l'apport plus important en fruits et légumes ait été une composante forte de ces études, il est impossible d'évaluer les effets propres à ce groupe d'aliments.

### 1.3.2. L'index glycémique

L'index glycémique est un paramètre qui a été, et reste encore, mis en avant pour essayer de caractériser le caractère potentiellement délétère de certains aliments. Il s'agit de mesurer la réponse glycémique chez l'homme, consécutive à l'ingestion d'un aliment (ou d'un groupe d'aliments). Bien sûr, ce paramètre n'a de sens que si on le rapporte à la quantité d'hydrates de carbone ingérés. Le but étant d'avoir l'index glycémique le plus bas pour un apport glucidique élevé, ce qui caractérise les sucres dits "lents" par rapport aux "rapides". Si ce paramètre est indéniablement intéressant pour caractériser des aliments comparables, il est clair que tout ce qui ralentit l'absorption digestive des sucres "améliore" l'index glycémique. Ainsi la présence de fibres joue un rôle important pour réduire l'index glycémique, mais l'apport lipidique aussi.

Différentes études prospectives récentes ont étudié les relations entre l'index glycémique de l'alimentation, ou le plus souvent le rapport entre l'index glycémique et la charge en hydrates de carbone et, la prise alimentaire (effet satiétogène), la tolérance glucidique (réponse à une charge glucidique), l'insulino-sensibilité ou divers autres paramètres reliés à l'insulino-résistance ou au diabète de type II. Une influence de l'index glycémique sur la prise alimentaire n'a pas été retrouvée par Jimenez-Cruz et coll (2003). Par contre, ces auteurs ont retrouvé dans le régime ayant le plus faible index glycémique une réduction de l'hémoglobine A1c, paramètre témoin de l'intensité de l'hyperglycémie chronique. Alfenas et coll ont également étudié les relations entre l'index glycémique et la prise alimentaire avec un résultat négatif, mais celui-ci a donné lieu à un vigoureux débat dans la littérature, témoignant des faiblesses de cette étude et de la conviction de la majorité des auteurs d'une relation faible entre l'index glycémique et la satiété.

Dans une autre étude interventionnelle portant sur 5675 sujets ayant pour objectif de déterminer l'influence de l'index glycémique sur la sensibilité à l'insuline (mesurée à l'aide d'un algorithme appelé HOMA-IR pour "homeostasis model assessment of insulin resistance"), Lau et coll ont montré que l'amélioration de la sensibilité à l'insuline retrouvée avec un régime à faible index glycémique était surtout le fait de la présence de fibres, et que lorsque ce paramètre était pris en compte l'effet propre des fruits et légumes était bien moindre.

Enfin, des études récentes ont montré que des interventions nutritionnelles visant à augmenter la part de fruits et légumes avaient des effets significatifs sur l'expression de différents gènes dans le tissu adipeux chez l'Homme. Bien sûr, les impacts sur la santé de telles études ne peuvent être que déductifs (Beulens et coll, Takeda et coll).

### **1.3.3. Conclusions**

Les relations entre alimentation et insulino-résistance ou diabète de type II sont claires. Il est notamment établi que la surcharge pondérale, et donc l'excès d'apport énergétique, est le principal facteur explicatif de cette pathologie. Cependant, il n'est pas possible de retrouver dans la littérature la démonstration claire et univoque qu'un apport riche en fruits et légumes est associé à la diminution du risque de développer un diabète de type II. De plus, le risque relatif étant ajusté sur l'IMC (indice de masse corporelle) dans toutes les études, il est impossible de séparer les effets du régime et les facteurs confondants susceptibles d'influer sur le poids. Par contre, la réduction de l'index glycémique des aliments, notamment par l'introduction de fibres, semble améliorer la sensibilité à l'insuline.

## 1.4. Fruits et légumes et cancers

Paule Latino-Martel, Luc Dauchet

Depuis une dizaine d'années, afin de préciser la relation entre la consommation de fruits & légumes (F&L) et le risque de cancer, plusieurs comités d'experts ont examiné et synthétisé les résultats des études épidémiologiques et biologiques. Le comité français réuni par le Centre national d'études et de recommandations sur la nutrition et l'alimentation (CNERNA, 1996) ainsi que le comité britannique "Committee on medical aspects of food and nutrition policy" (COMA, 1998) ont examiné l'homogénéité ou la discordance des résultats. Le comité international réuni par le "World cancer research fund" et l'"American institute for cancer research" a évalué et qualifié le niveau de preuve (convaincant, probable, possible, ou insuffisant) (WCRF and AICR, 1997). Plus récemment, le groupe d'experts internationaux conduit par l'"International agency for research on cancer" a analysé le niveau de preuve séparément pour les fruits ou les légumes (IARC, 2003; Vainio and Weiderpass, 2006). Enfin, une mise à jour du rapport du WCRF/AICR vient d'être publiée début novembre 2007.

### 1.4.1. Synthèse des résultats des études épidémiologiques d'observation

Pour actualiser et synthétiser les données épidémiologiques d'observation, nous avons pris comme documents de référence le rapport d'experts le plus récent au démarrage de l'expertise scientifique (IARC, 2003; Vainio and Weiderpass, 2006), ainsi que la méta-analyse (étude statistique faisant l'analyse combinée de plusieurs études) publiée la même année et portant sur différentes localisations de cancers (Riboli and Norat, 2003). Comme le rapport IARC, la méta-analyse de Riboli et Norat a considéré séparément les effets des fruits et les effets des légumes. Ces deux analyses ont pris en compte d'une part les résultats des études cas-témoins (rétrospectives) et d'autre part les résultats des études de cohorte (prospectives); bien que contemporaines, elles se distinguent par les critères de sélection des études et le mode d'expression des résultats (cf. Tableau 1.4-1).

D'une manière générale dans l'ESCo F&L, pour les études d'observation, en raison des limites méthodologiques des études cas- témoins (voir ci-dessous), les études de cohortes (prospectives) ont été privilégiées dans l'analyse des résultats et l'établissement des conclusions; en effet, ces dernières offrent le meilleur compromis méthodologique pour l'analyse des relations entre l'alimentation et la survenue de maladie.

Pour ce chapitre concernant la relation entre F&L et risque de cancer, nous avons mis à jour les données en nous appuyant sur les méta-analyses plus récentes lorsqu'elles existaient (cf. Tableau 1.4-1). Enfin ces résultats ont été complétés par les résultats des études de cohortes les plus récentes non incluses dans les méta-analyses et les précédentes revues de la littérature (cf. Tableau 1.4-2). Nous n'avons pas recherché l'exhaustivité pour les études cas-témoins et nous nous sommes limités aux synthèses de la littérature.

Ainsi, d'une manière générale, nous constatons qu'il existe de très nombreuses études d'observation portant sur la relation entre consommation de F&L et le risque de survenue de différents cancers. Les études cas-témoins sont les plus nombreuses et les plus anciennes mais plusieurs études de cohorte ont été publiés récemment. Les associations observées entre consommation de F&L et risque de cancer sont généralement plus fortes dans les études cas-témoins que dans les études de cohorte.

Ces contradictions peuvent s'expliquer par les limites méthodologiques des études cas-témoins. Les études cas-témoins comportent des faiblesses méthodologiques, en particulier dans le domaine de la nutrition, ce qui doit rendre leur interprétation prudente. Le souvenir et les déclarations portant sur l'alimentation passée peuvent être biaisés par le diagnostic de cancer. Le biais de sélection peut poser encore plus de problèmes: la participation des personnes souffrant d'un cancer est habituellement élevée alors que celle des témoins est souvent de l'ordre de 50 ou 60% (Hartge, Brinton et al., 1984). De plus, les personnes qui acceptent de participer à l'enquête en tant que témoins sont susceptibles

d'être plus attentifs à leur santé et donc de consommer plus de F&L que ceux qui n'y participent pas. Ainsi, lorsque les cas et les témoins sont comparés, cela induit une relation inverse apparente entre la consommation de F&L et cancer (Willett, 2005).

Les études de cohortes ne sont pas pour autant dépourvues de limites. En particulier elles présentent le plus souvent un biais de sélection : les sujets qui s'engagent dans les cohortes sont généralement des volontaires, qui présentent des caractéristiques différentes de la population générale, ce qui peut affecter les relations observées. Par exemple, les personnes volontaires pour participer à des enquêtes sont souvent plus soucieuses de leur état de santé ; elles peuvent présenter des apports nutritionnels optimaux limitant les possibilités de mettre en évidence des pathologies associées à des déficiences ou des carences. De plus, dans le cas des maladies peu fréquentes, tels que certains cancers, les études prospectives ne peuvent pas toujours être mise en œuvre, le nombre de nouveaux cas incidents étant trop faible ou exigeant pour être suffisant un nombre considérable de sujets ou un temps d'observation très long.

Les données issues de cet examen de la littérature sont résumées ci-après par localisation de cancer. On considère qu'une étude de cohorte ou une méta-analyse d'études de cohortes met en évidence une diminution significative du risque relatif (RR) de cancer, si  $RR < 1$  et si l'intervalle de confiance (entre crochets) ne comprend pas la valeur 1 ou  $p < 0,05$ . Selon les études, les événements mesurés peuvent être soit les nouveaux cas de cancers soit les décès par cancer. Les études portant sur la mortalité par cancer intègrent donc à la fois l'influence sur la survenue et sur les possibilités de guérison. Pour comparer les sujets ayant de fortes consommations de F&L par rapport à ceux qui ont de faibles consommations, ceux-ci sont répartis en sous-groupes égaux (tertiles, quartiles ou quintiles).

### *. Estomac*

La méta-analyse de Riboli et Norat ainsi que le rapport de l'IARC trouvaient une diminution importante du risque de cancer gastrique associée à la consommation de F&L dans les études cas-témoins. Pour les études de cohortes les résultats étaient plus modérés et non significatifs.

Une méta-analyse publiée en 2005, prenant en compte les résultats des cohortes récentes, a retrouvé une diminution significative du risque du cancer de l'estomac,  $RR = 0,82 [0,73-0,93]$ , associée à la consommation de fruits pour la classe de consommation supérieure par rapport à la classe de consommation inférieure. Cependant, ces résultats étaient très dépendants de la méthodologie des études. Cette relation était plus forte dans les cohortes ayant un suivi long et aucune relation n'était observée avec le risque de mortalité par cancer de l'estomac. Cette relation était non significative pour la consommation de légumes (Lunet, Lacerda-Vieira et al., 2005). Deux études de cohorte publiées depuis ont trouvé, pour l'une, une diminution du risque de cancer de l'estomac en dehors du cardia avec les fruits (Nouraie, Pietinen et al., 2005) et pour l'autre, pas de relation pour le risque de mortalité (Tokui, Yoshimura et al., 2005).

Ainsi les résultats des études de cohortes sont plutôt en faveur d'un effet protecteur des fruits. L'absence de relation observée avec la mortalité pourrait éventuellement s'expliquer par un nombre d'événements plus faible ou un diagnostic moins précis dans les études portant sur la mortalité. Des études supplémentaires seraient donc utiles pour préciser les relations avec la mortalité.

### *. Poumon*

La méta-analyse de Riboli et Norat ne trouvait pas d'association significative entre consommation de légumes et le risque de cancer du poumon dans les études de cohortes (trois cohortes). En revanche, elle trouvait une relation significative avec les fruits. Toutefois, la force de la relation entre consommation de fruits et risque de cancer était différente selon les études (test d'hétérogénéité significatif).

Le rapport de l'IARC incluant des études plus récentes trouvait une relation significative avec les consommations de F&L.

Depuis, de nombreux résultats d'études de cohortes ont été publiés. Dans une analyse combinant les données de huit cohortes (n = 3206), Smith-Warner et al ont retrouvé une diminution significative du risque de cancer du poumon associée à la consommation de fruits, RR = 0,77 [0,67-0,87], dans le quintile des grands consommateurs comparé au quintile des faibles consommateurs (Smith-Warner, Spiegelman et al., 2003). Dans cette analyse, une diminution du risque non significative était observée avec la consommation de légumes. D'autres résultats ont été publiés indépendamment. Trois études de cohorte ont observé une diminution significative du risque associé à la consommation de fruits (Neuhouser, Patterson et al., 2003; Sauvaget, Nagano et al., 2003; Miller, Altenburg et al., 2004) et quatre autres n'ont pas trouvé de relation significative (Hertog, Bueno-de-Mesquita et al., 1996; Ocke, Bueno-de-Mesquita et al., 1997; Jansen, Bueno-de-Mesquita et al., 2001; Liu, Sobue et al., 2004). Pour toutes ces études, les résultats sont non significatifs avec les légumes. Une seule retrouve une association avec les F&L combinés (Jansen, Bueno-de-Mesquita et al., 2001).

Ces résultats en faveur d'un effet des fruits doivent être nuancés par l'existence probable d'un effet de confusion lié au tabac. La consommation de tabac pourrait expliquer la relation observée avec les fruits. En effet la proportion de fumeurs est généralement plus faible chez les grands consommateurs de F&L. Ce facteur de confusion est généralement pris en compte dans l'analyse statistique grâce à un ajustement. Néanmoins, l'évolution de la consommation de tabac sur la période de suivi est rarement connue et la mesure de l'exposition au tabac peut être imprécise. Il est donc possible que la consommation de tabac influence de manière résiduelle la relation observée entre consommation de fruits et risque de cancer du poumon.

En conclusion, les résultats des études de cohorte suggèrent une diminution du risque de cancer du poumon associée à la consommation de fruits alors que l'association avec les légumes n'est pas clairement mise en évidence. Un travail de méta-analyse serait nécessaire pour quantifier plus précisément cette relation et explorer l'hétérogénéité entre les études.

#### *. Vessie*

Le rapport de l'IARC trouvait une diminution significative du risque de cancer de la vessie associée à la consommation de fruits dans les études cas-témoins mais pas significative dans les études de cohorte.

La méta-analyse de Riboli et Norat trouvait, sur trois études de cohortes, une diminution du risque de cancer de la vessie associée à la consommation de fruits mais pas de relation significative avec les légumes. Les résultats de cohortes non incluses dans la méta-analyse de Riboli et Norat confortent ces résultats : deux cohortes (Chyou, Nomura et al., 1993; Sakauchi, Mori et al., 2004) retrouvent une relation protectrice significative avec les fruits ; aucune cohorte ne retrouve de relation significative entre consommation de légumes et risque de cancer de la vessie ou cancer urothélial sur 152 sujets (Mills, Beeson et al., 1991), 569 sujets (Zeegers, Goldbohm et al., 2001), 157 sujets (Sauvaget, Nagano et al., 2003), 88 sujets (Sakauchi, Mori et al., 2004) et 237 sujets (Holick, De Vivo et al., 2005).

Ces résultats sont en faveur d'une possible relation protectrice entre consommation de fruits et risque de cancer de la vessie. Néanmoins, comme pour le cancer du poumon, on ne peut pas exclure un effet de confusion résiduel lié à la consommation de tabac. De plus, il faut noter que cette relation est retrouvée quasi exclusivement dans les études japonaises ou portant sur des Japonais immigrés à Hawaï et pas dans les études américaines (Holick, De Vivo et al., 2005) ; il est donc possible que la relation observée s'explique par l'existence d'un facteur de confusion spécifique à cette population (par exemple un comportement alimentaire spécifique associé à la consommation de fruits chez les Japonais). Des résultats d'études de cohorte dans d'autres populations en particulier en Europe seraient nécessaires pour conclure.

#### *. Voies aéro-digestives supérieures (VADS)*

La méta-analyse de Riboli et Norat et le rapport de l'IARC trouvaient, pour les études cas-témoins, une diminution importante du risque de cancer de l'oro-pharynx et du larynx associée à la consommation

de fruits. Cette association n'était significative pour la consommation de légumes que dans le rapport de l'IARC.

Une méta-analyse récente, portant sur une étude de cohorte et 16 études cas-témoins, confirme ces résultats en retrouvant une diminution de moitié du risque de cancer de la bouche ou du pharynx pour chaque portion de fruits ou de légumes supplémentaire consommée (Pavia, Pileggi et al., 2006). Bien que la relation observée soit forte, il faut mentionner l'existence de problèmes méthodologiques très importants. Tout d'abord, la force de la relation observée est très différente d'une étude à l'autre. Cette hétérogénéité pourrait s'expliquer par les limites méthodologiques des études cas-témoins. L'analyse des données suggère également l'existence d'un biais de publication qui majore probablement la relation observée (les études ayant des résultats significatifs sont plus facilement publiées).

Bien que nombreux, les résultats des études cas-témoins comportent trop de limites méthodologiques pour nous permettre de conclure. Il est donc nécessaire de disposer de résultats d'études prospectives. Les deux études de cohorte portant sur les cancers des VADS (Chyou, Nomura et al., 1995) ou sur des lésions pré-cancéreuses (Maserejian, Giovannucci et al., 2006) n'ont pas trouvé de relations significatives, mais le nombre de cas était très limité (92 et 207 cas). Les résultats de la cohorte "EPIC", portant sur un plus grand nombre de cas (352), trouvent une diminution significative du risque de cancer des VADS associée à la consommation de F&L (Boeing, Dietrich et al., 2006). Toutefois, d'autres résultats d'études de cohortes seraient nécessaires pour conclure.

### **. Côlon-rectum**

La méta-analyse de Riboli et Norat ne trouvait pas, dans les études de cohortes, de relation significative entre consommation de légumes (17 cohortes) ou de fruits (16 cohortes) et le risque global de cancer colo-rectal mais elle montrait des relations spécifiques entre consommation de légumes et risque de cancer du côlon et entre consommation de fruits et risque de cancer du rectum. Les résultats des cohortes nord-américaines et européennes étaient similaires.

Le rapport de l'IARC, qui prenait en compte deux cohortes plus récentes (Flood, Velie et al., 2002; McCullough, Robertson et al., 2003) ne trouvait pas de relation significative pour l'ensemble des études de cohorte.

Cinq études de cohorte, publiées depuis, n'ont trouvé aucune relation significative (Kojima, Wakai et al., 2004; Lin, Zhang et al., 2005; Sato, Tsubono et al., 2005; Tsubono, Otani et al., 2005; Wark, Weijenberg et al., 2005). En revanche, une étude de cohorte a trouvé une relation avec la consommation de fruits sur un petit nombre d'événements (Sanjoaquin, Appleby et al., 2004). Seules des relations spécifiques sur des sous-groupes de personnes, d'aliments ou de tumeurs sont significatives : diminution de la mortalité par cancer du rectum chez les hommes avec la consommation de légumes verts feuillus (Kojima, Wakai et al., 2004), association avec certains types histo-génétiques de tumeurs (Wark, Weijenberg et al., 2005). Par ailleurs, la consommation de fruits et de légumineuses a été associée à un risque moindre d'adénome du côlon distal dans la "Nurse's Health Study" (Michels, Giovannucci et al., 2006) mais une telle relation observée sur des lésions pré-cancéreuses ne permet pas de préjuger de l'effet sur l'apparition d'un cancer. Enfin, contrairement aux attentes, une augmentation de la mortalité par cancer du côlon associée à la consommation de fruits a été observée dans une cohorte, chez les femmes seulement, mais ce résultat reste isolé (Kojima, Wakai et al., 2004).

Au total, malgré des relations spécifiques isolées dans les études de cohortes et des relations significatives observées dans les études cas-témoins, les résultats récents des études de cohortes ne permettent pas de conclure à une diminution globale du risque de cancer colorectal associée à la consommation de F&L. Des explorations plus spécifiques seraient nécessaires et notamment des analyses séparées en fonction des localisations distales ou proximales (Smith-Warner, Spiegelman et al., 2006).

### **Sein**

La méta-analyse de Riboli et Norat trouvait une diminution significative du risque de cancer du sein associée à la consommation de légumes, pour les études de cohortes.

Le rapport de l'IARC trouvait une association avec la consommation de fruits.

Cependant, les résultats récents de grandes études portant sur un très grand nombre d'événements viennent remettre en cause ces observations. Une analyse poolée de 9 cohortes portant sur 7377 cancers du sein invasifs ne retrouve pas de relation significative ni avec les légumes (RR = 1,00 [0,97-1,02] pour 100 g supplémentaires) ni avec les fruits (RR = 0,99 [0,98-1,00]) (Smith-Warner, Spiegelman et al., 2001). Les résultats des cohortes non incluses dans cette étude poolée sont également non significatifs (Shibata, Paganini-Hill et al., 1992; Verhoeven, Assen et al., 1997; Maynard, Gunnell et al., 2003; Sauvaget, Nagano et al., 2003; Mattisson, Wirfalt et al., 2004; van Gils, Peeters et al., 2005). En particulier, aucune relation significative n'est retrouvée dans la cohorte "EPIC" dans une analyse portant sur 3659 cancers du sein (van Gils, Peeters et al., 2005). Néanmoins, il est possible que les femmes qui consomment plus de F&L soient plus soucieuses de leur santé et plus nombreuses à se soumettre au dépistage du cancer du sein. Ce phénomène aurait pour conséquence une augmentation du risque observé de cancer du sein chez ces femmes qui pourrait masquer un effet protecteur des F&L.

En conclusion, les résultats négatifs des études de cohorte récentes portant sur un très grand nombre d'événements ne sont pas en faveur de l'existence d'une relation entre la consommation de F&L et le risque de cancer du sein et suggèrent que, si cette relation existe, elle est probablement faible.

### *. Ovaire*

La méta-analyse de Riboli et Norat ainsi que le rapport de l'IARC ne disposaient pas d'informations suffisantes pour explorer la relation entre consommation de F&L et risque de cancer de l'ovaire.

Depuis, d'importants résultats d'études de cohorte ont été publiés. Une analyse poolée de 12 études de cohortes américaines et européennes rassemblant 2130 cancers incidents de l'ovaire n'a pas trouvé de relation entre la consommation de fruits (RR 1<sup>er</sup> quartile vs 4<sup>e</sup> quartile : 1,06 [0,92-1,21]) ou de légumes (RR 1<sup>er</sup> quartile vs 4<sup>e</sup> quartile : 0,90 [0,78-1,04]) et le risque de cancer de l'ovaire (Koushik, Hunter et al., 2005). Les résultats de deux autres grandes cohortes ont été publiés séparément. Dans la cohorte "EPIC", le risque relatif de survenue d'un cancer de l'ovaire pour une consommation de 80g de F&L supplémentaire était de 1,02 [0,95-1,10] (nombre de cancers de l'ovaire recensés : n = 581) (Schulz, Lahmann et al., 2005). Cette relation était également non significative dans la "Netherlands cohort study" (n = 252) (Mommers, Schouten et al., 2005).

En conclusion, aucune relation n'a été observée dans les études de cohorte entre consommation de F&L et risque de cancer de l'ovaire malgré des effectifs importants et des études bien menées. Il est donc peu probable qu'il existe une relation entre consommation de F&L et risque de cancer de l'ovaire ou cette relation, si elle existe, doit être faible.

### *. Prostate*

Le rapport de l'IARC ne trouvait pas de diminution du risque de cancer de la prostate associée à la consommation de **F&L** et trouvait même une légère augmentation du risque non significative associée à la consommation de fruits. Cette augmentation de risque observée pourrait s'expliquer par un meilleur dépistage chez les grands consommateurs de fruits qui sont, peut-être, des hommes plus soucieux de leur santé.

Depuis, les résultats récents de la "Health professional follow up study" ont suggéré une diminution du risque possible associée à la consommation de crucifères à la limite de la significativité ( $p < 0,06$ ) (Giovannucci, Rimm et al., 2003). Toutefois, ce résultat reste isolé et dans l'ensemble les données épidémiologiques ne sont pas en faveur d'une diminution du risque de cancer de la prostate associée à la consommation de F&L.

Il existe des hypothèses spécifiques (voir § 1.4.3) suggérant que les **tomates** pourraient avoir un effet protecteur spécifique sur le développement du cancer de la prostate. Ces hypothèses ont conduit à s'interroger sur l'existence d'un lien protecteur entre consommation de tomates et risque de cancer de la prostate. La méta-analyse de Etminan et al a trouvé une diminution significative du risque de cancer de

la prostate liée la consommation de tomate crue sur deux cohortes comportant 953 sujets au total (Etminan, Takkouche et al., 2004). Or, une étude de cohorte multicentrique nord-américaine récente remet en question cette relation : dans une analyse portant sur 1338 cancers de la prostate, Kirsh et al n'ont pas retrouvé de relation avec la consommation de tomate (Etminan, Takkouche et al., 2004). Les résultats des études de cohorte restent donc contradictoires et ne permettent pas actuellement de conclure.

#### . *Autres localisations*

Pour d'autres localisations (pancréas, utérus, rein et foie...), les données restent encore insuffisantes.

### 1.4.2. Essais de prévention nutritionnelle

En principe, les essais d'intervention permettent de palier certaines limites des études d'observation. Ils permettent surtout de mieux appréhender le lien de causalité dans les relations observées. Or, les essais d'intervention nutritionnelle sont particulièrement difficiles à mettre en place dans le domaine de la prévention des cancers. Il existe peu de facteurs de risques intermédiaires en cancérologie (comme par exemple la cholestérolémie ou la tension artérielle pour les maladies cardio-vasculaires) qui permettraient de juger de l'effet d'une intervention sur une courte période. Les essais de prévention nutritionnelle dans le domaine de la cancérologie doivent donc porter sur des populations importantes et sur des durées de suivi longues. Au-delà de la lourdeur de telles études, la portée des résultats est limitée par la difficulté à maintenir le respect des recommandations alimentaires sur une longue période dans le groupe intervention ce qui réduit la différence des expositions dans les groupes intervention et contrôle, et par conséquent l'effet attendu de l'intervention. Pour ces raisons, les essais d'intervention portant sur les relations entre consommation de F&L et cancer sont relativement rares.

Les seuls résultats publiés actuellement proviennent de trois essais de prévention basés sur des conseils diététiques visant en particulier à augmenter la consommation de F&L : "Women Health Initiative (WHI) randomized controlled trial" (Beresford, Johnson et al., 2006), "Polyp Prevention Trial (PPT)" (Shike, Lattkany et al., 2002; Lanza, Hartman et al., 2006) et "Women's Healthy Eating and Living (WHEL) randomized trial" (cf. Tableau 1.4-3).

Pour l'essai d'intervention **WHI**, 48835 femmes ménopausées ont été recrutées. Après tirage au sort, 40% d'entre elles ont été affectées au groupe intervention et 60% au groupe de comparaison. Le groupe intervention a suivi un programme intensif de modification du comportement alimentaire comportant 18 séances de groupe dans la première année et des séances de rappel trimestriel. Les objectifs de cette intervention étaient de diminuer la consommation de graisses à 20% de l'apport énergétique total (AET), d'augmenter la consommation de F&L à au moins 5 portions par jour, et la consommation de céréales à au moins 6 portions par jour. La consommation de F&L avait significativement augmenté dans le groupe intervention par rapport au groupe contrôle. Néanmoins, cette différence était relativement modérée (+ 1,2 portions à 1 an ; + 1,3 à 2 ans ; + 1,1 à 3 ans). Après un suivi moyen de 8,1 ans le risque de survenue d'un cancer du sein était de 9% inférieur dans le groupe intervention par rapport au groupe contrôle (RR = 0,91 [0,83-1,01]), mais cette diminution du risque n'était pas statistiquement significative (Prentice, Caan et al., 2006). Une autre analyse des données de cet essai ne retrouvait aucune diminution du risque de cancer colo-rectal (augmentation non significative du risque : RR = 1,08 [0,90-1,29]) (Beresford, Johnson et al., 2006).

L'essai **PPT** portait sur 1905 hommes et femmes de plus de 35 ans ayant eu au moins un adénome du côlon ou du rectum diagnostiqué par coloscopie. La moitié des sujets sélectionnés aléatoirement ont bénéficié d'une intervention consistant en 50 heures de conseils dont 20 la première année ayant pour objectif de diminuer la consommation de graisses à 20% de l'AET, d'augmenter la consommation de F&L à au moins 3,5 portions pour 1000 kcal et la consommation de fibres à 18 g pour 1000 kcal. Quatre ans après le début de l'intervention, la consommation de F&L avait augmenté de 1,13 [1,04-1,21] portions pour 1000 kcal dans le groupe intervention par rapport au groupe contrôle. Malgré les

modifications de comportement induits par l'intervention, aucun effet sur le risque de récurrence de polype n'a été observé (Lanza, Hartman et al., 2006). Une analyse complémentaire des données de cet essai a également montré une absence d'effet de l'intervention sur l'élévation des taux de l'antigène spécifique de la prostate (PSA), utilisé comme marqueur précoce du cancer de la prostate (Shike, Laskany et al., 2002).

Enfin l'essai **WHEL** portait sur 3088 femmes ayant un antécédent traité de cancer du sein. L'intervention attribuée aléatoirement à la moitié des femmes consistait en un programme de conseil téléphonique ayant pour objectif une consommation de 5 légumes par jour, de 0,90 L de jus de légumes, 3 fruits, 30 g de fibres, et 15 à 20 % de l'AET provenant des graisses. Après 7,5 ans de suivi, malgré des différences importantes de consommation entre les deux groupes (4,5 portions de légumes et 0,8 portion de fruits à 6 mois et 2,2 portions de légumes et 0,8 portion de fruits à 6 ans consommés en plus par le groupe intervention par rapport au groupe contrôle), aucun effet significatif n'a été observé sur la récurrence du cancer du sein (RR = 0,96 [0,80-1,14]) ni sur le risque de décès (RR = 0,91 [0,72-1,15]).

Ces résultats d'essais de prévention sont relativement décevants. Néanmoins, cette absence de résultat ne permet pas d'exclure un effet de la consommation de F&L sur le risque de survenue de cancers, ceci pour plusieurs raisons :

- Tout d'abord, le développement d'un cancer implique des processus très longs, les études épidémiologiques mesurent des consommations qui sont probablement représentatives des habitudes alimentaires d'une vie entière alors que les essais de prévention ne modifient le comportement que sur une période de quelques années (durée des trois essais comprise entre 4 et 8 ans) ;
- Etant donné les difficultés à faire évoluer les comportements alimentaires, les différences de consommation de F&L entre les groupes contrôle et intervention restent modestes et ne suffisent peut être pas à obtenir un effet suffisant pour être mis en évidence dans ce type d'étude. De plus, les conseils diététiques ne portaient pas uniquement sur les F&L (certains concernaient les matières grasses, les céréales) ce qui complique l'évaluation de l'effet spécifique des F&L ;
- L'étude PPT n'avait pas pour critère de jugement le risque de cancer mais la récurrence de lésions précancéreuses (adénomes colorectaux) ou la modification d'un biomarqueur intermédiaire (taux de PSA). Il est possible que les effets sur la survenue de cancers ne puissent pas être mesurés correctement par des critères de jugement intermédiaires tel le taux de PSA ou la récurrence de polypes colorectaux. Par exemple, la consommation de F&L pourrait avoir un effet sur la croissance des polypes et non sur leur apparition (Lanza, Hartman et al., 2006) ;
- L'étude WHEL n'avait pas pour critère la survenue de cancer du sein mais la récurrence et le décès précoce. Les résultats obtenus chez des personnes à haut risque ayant déjà eu un cancer ne sont peut-être pas extrapolables en prévention primaire ;
- L'étude WHI avait bien pour critère de jugement le risque de survenue de cancer du sein ou de cancer colorectal. La diminution du risque de cancer du sein de 9% associée à l'augmentation d'un peu plus d'une portion par jour de fruits & légumes même si elle est non significative est de l'ordre de grandeur de la diminution associée à la consommation de légumes retrouvée dans les études de cohorte dans la méta-analyse de Riboli et Norat. Un essai de plus grande puissance serait donc nécessaire pour vérifier ce résultat ;
- Enfin et surtout, les deux localisations de cancer ne font pas partie des localisations de cancer pour lesquelles les arguments en faveur d'un effet protecteur des F&L sont les plus nombreux.

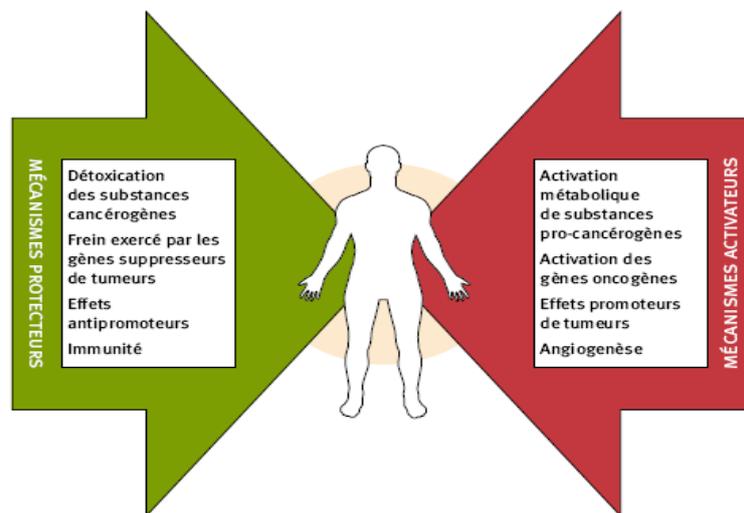
Finalement, d'autres essais de prévention primaire d'une puissance statistique suffisante, seraient nécessaires pour confirmer les arguments en faveur d'une relation de causalité entre consommation de F&L et diminution du risque cancer et évaluer l'efficacité des recommandations nutritionnelles sur le risque de cancers (Tadjalli-Mehr, Becker et al., 2003). En particulier, des essais portant sur des localisations de cancers pour lesquelles des relations sont suggérées par les études de cohorte (poumon, vessie, estomac, bouche, pharynx), seraient nécessaires.

### 1.4.3. Mécanismes plausibles

Rappelons que les cancers sont des maladies complexes, multi-étapes, dont le développement (cancérogenèse) requiert généralement plusieurs décennies. Grâce aux études sur animaux on a pu identifier plusieurs phases clés qui ont été appelées : initiation, promotion tumorale et progression tumorale. Schématiquement, l'initiation correspond aux premières altérations du génome qui induisent l'apparition de cellules transformées ; la promotion tumorale consiste en la multiplication des cellules transformées jusqu'à l'obtention d'une tumeur ; la progression tumorale correspond à l'acquisition de nouvelles anomalies génomiques, de la vascularisation de la tumeur et de la capacité de migration des cellules vers d'autres tissus.

Pour que le processus de cancérogenèse aille à son terme, on constate qu'il faut à la fois que des mécanismes activateurs soient déclenchés ou accentués et que des mécanismes protecteurs soient affaiblis ou annihilés (cf. Figure 1.4-1).

**Figure 1.4-1.** Mécanismes activateurs et protecteurs impliqués dans la cancérogenèse (source : brochure WCRF/NACRe, 2002)



Ces mécanismes opposés sont tous deux sous l'influence de facteurs endogènes et de facteurs exogènes. Ainsi, on considère actuellement que les cancers résultent d'une interaction gènes/environnement au sens large (c'est-à-dire incluant tous les facteurs auquel l'organisme biologique peut être exposé, y compris les facteurs alimentaires). Le terrain génétique joue un rôle primordial pour les cancers héréditaires (présence d'une prédisposition génétique), tandis que les facteurs environnementaux ont un poids plus important dans le cas des cancers sporadiques (cancers les plus nombreux) (Lacave, Larsen et al., 2005).

#### **Propriétés biologiques des composants des fruits et légumes**

Les F&L contiennent plus de 25000 constituants différents. De nombreux travaux réalisés à l'aide de modèles cellulaires ou de modèles animaux ont exploré les propriétés biologiques de certains de ces constituants (Milner, 2004; Aggarwal and Shishodia, 2006). Le tableau 1.4-4 donne une illustration des composants pouvant exercer des effets protecteurs à l'égard de la cancérogenèse et des mécanismes impliqués.

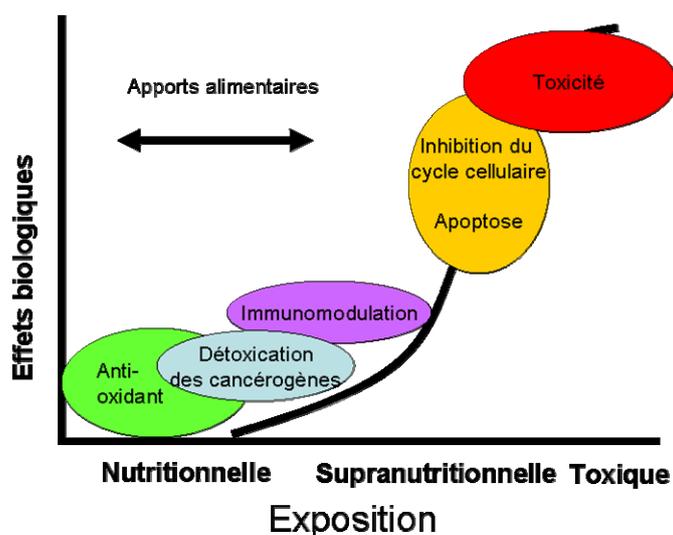
On constate qu'un même constituant des F&L peut exercer divers effets protecteurs, aux différents stades de la cancérogenèse. Par exemple, des polyphénols ou des sulfures d'allyle peuvent, grâce à leurs propriétés biochimiques, exercer des effets antioxydants en piégeant des radicaux libres ; étant reconnus par l'organisme comme des xénobiotiques, leur consommation régulière induit l'expression des gènes qui codent pour les enzymes de détoxication, avec pour conséquence l'accroissement de la

capacité de l'organisme à détoxifier des substances cancérigènes auxquelles l'organisme pourrait être exposé dans le même temps ; des polyphénols interviennent dans le contrôle de la multiplication et/ou de la mort cellulaire, améliorent les communications intercellulaires, inhibent l'angiogenèse ou les processus inflammatoires, etc.

**Tableau 1.4-4.** Exemples d'effets protecteurs des composants des F&L à l'égard de la cancérogenèse

Phases de la cancérogenèse	Effets protecteurs	Exemples de composants
<b>Initiation</b>	Induction des enzymes du métabolisme des xénobiotiques (en particulier les glutathion-S-transférases)	Polyphénols, sulfures d'allyle, glucosinolates
	Amélioration des défenses antioxydantes (piégeage des radicaux libres)	Polyphénols, vitamines C et E, caroténoïdes, sélénium
	Stimulation de la réparation de l'ADN	Polyphénols
	Inhibition de la formation de nitrosamines	Vitamine C
<b>Promotion tumorale</b>	Inhibition de la multiplication cellulaire	Polyphénols, lycopène, métabolite des fibres (butyrate)
	Induction de la différenciation cellulaire	butyrate
	Amélioration des communications intercellulaires par les jonctions communicantes	$\beta$ -carotène, lycopène, flavonoïdes, sulfures d'allyle
	Induction de la mort cellulaire programmée (apoptose)	Polyphénols, butyrate
	Modulation de l'état de la chromatine	Sulfures d'allyle, butyrate
<b>Progression tumorale</b>	Induction des réparations de l'ADN	Polyphénols
	Régulation de la méthylation de l'ADN	Vitamines B9, B6, B12
	Inhibition de l'angiogenèse	Polyphénols
	Stimulation des défenses immunitaires	Vitamines E et C, $\beta$ -carotène, sélénium
	Inhibition des processus inflammatoires	Polyphénols, vitamine C

On constate donc non seulement l'existence d'un très grand nombre de molécules potentiellement actives mais aussi une multiplicité de cibles biologiques pouvant contribuer à un effet protecteur global. Certaines de ces propriétés semblent pouvoir s'exprimer à des doses nutritionnelles tandis que d'autres sont obtenues à des doses pharmacologiques (cf. Figure 1.4-2).



**Figure 1.4-2.** Illustration de la diversité des effets exercés par des constituants alimentaires en fonction de la dose. Exemple du sélénium (Combs and Gray, 1998)

## Etudes d'interventions avec des composants des F&L

Quelques essais d'intervention ont été mis en œuvre pour vérifier les propriétés protectrices de certains composants des F&L :  $\beta$ -carotène, lycopène, vitamine E, vitamine C, fibres, etc. En particulier, les essais d'intervention portant sur le  $\beta$ -carotène, en combinaison avec d'autres composés, et le risque de cancer ont donné des résultats controversés qui, en fin de compte, ont été riches d'enseignements (cf. Tableau 1.4-5).

**Tableau 1.4-5.** Caractéristiques des principaux essais d'intervention avec le  $\beta$ -carotène

Essai d'intervention	Linxian	ATBC	CARET	PHS	Su.Vi.Max.
Référence	(Blot, Li et al., 1993)	(ATBC, 1994)	(Omenn, Goodman et al., 1996)	(Hennekens, Buring et al., 1996)	(Hercberg, Galan et al., 2004)
Dose de $\beta$ -carotène (mg/j) (composants associés)	15 (sélénium, $\alpha$ -tocophérol)	20 ( $\alpha$ -tocophérol)	30 (vit A)	25 (aspirine)	6 mg (vit C, $\alpha$ -tocophérol, zinc et sélénium)
Durée de suivi (années)	5	6	4	12	7,5
Population	Chinois ayant des déficiences nutritionnelles ; 30% de fumeurs	Finlandais (100% fumeurs)	Américains fumeurs (98%) exposés à l'amiante	Médecins américains (50% fumeurs)	Français (population générale, H plus faibles consommateurs de F&L que les F)
Concentration plasmatique finale de $\beta$ -carotène (ng/mL)					
Groupe Témoin	120	180	170	300	330 (H) 570 (F)
Groupe Intervention	860	3000	2100	1200	540 (H) 920 (F)
RR cancer de l'estomac	0,79* (incid)				
RR cancer du poumon		1,18* (incid) 1,08* (mort)	1,28* (incid) 1,17* (mort)	0,95 (incid) 1,02 (mort)	
RR tous cancers	0,87 (mort)				0,69* (incid hommes) 1,04 (incid femmes)

H : hommes ; F : femmes ; \* : résultat significatif ; incid : nouveaux cancers ; mort : mortalité

Le risque relatif de cancers a été réduit dans l'étude "Linxian" et dans l'étude française "Su.Vi.Max", alors qu'il a augmenté pour le cancer du poumon dans les études "ATBC" et "CARET", et n'a pas varié dans la "Physicians'Health Study". Ces différences d'effets peuvent trouver plusieurs explications :

- différence de statut nutritionnel initial de la population : intérêt d'un apport nutritionnel supplémentaire en cas de déficience nutritionnelle dans l'étude Linxian ou du fait du statut en  $\beta$ -carotène faible chez les hommes dans l'étude Su.Vi.Max. ;
- différence dans les niveaux d'apport de  $\beta$ -carotène : doses très supérieures (x5, x10) aux doses nutritionnelles dans le cas des études ATBC, CARET, PHS ; effet favorable d'une combinaison de molécules à activités antioxydantes fournies à dose nutritionnelle (étude Su.Vi.Max) ;
- différence d'exposition à des cancérogènes : populations sélectionnées à haut risque de cancer dans deux des quatre études : fumeurs (étude ATBC) et fumeurs exposés à l'amiante (étude CARET) ;
- effet pro-oxidant du  $\beta$ -carotène à forte dose se révélant délétère chez les sujets déjà exposés au tabac (études CARET et ATBC).

Une méta-analyse récente portant sur des essais randomisés de supplémentation vitaminique montre une augmentation significative du risque de mortalité pour la supplémentation en  $\beta$ -carotène, vitamine A et vitamine E (Bjelakovic, Nikolova et al., 2007). Une autre méta-analyse portant sur la vitamine E observe un effet qui diffère selon la dose : la vitamine E à dose supérieure à 400 UI/j augmente la mortalité, ce qui n'est pas le cas pour les doses inférieures (Miller, Pastor-Barriuso et al., 2005).

L'importance de tenir compte du statut tabagique est confirmée par les observations de l'étude cas-témoins nichée dans la cohorte de femmes françaises E3N. Dans cette étude, l'apport en  $\beta$ -carotène (alimentaire ou sous forme de compléments) est associé, chez les non-fumeurs, à une diminution des cancers dont le tabac est un des facteurs de risque reconnu, alors qu'un apport élevé en  $\beta$ -carotène est associé à une augmentation du risque chez les fumeurs (Touvier, Kesse et al., 2005).

D'autres essais d'intervention portant sur les folates ou les fibres donnent lieu à des résultats controversés (Hursting, Forman et al., 2006; Kim, 2006). Un essai randomisé récent mené chez 1210 sujets ayant des antécédents récents d'adénome ou de carcinome du côlon testant l'effet d'une supplémentation en acide folique à 1 mg/j pendant 3 ou 5 ans a trouvé une absence d'effet significatif sur le risque de survenue de nouvel adénome du côlon et en revanche une augmentation du risque de lésions avancées chez les sujets ayant été suivis 5 ans (Cole, Baron et al., 2007). Là encore, de nouvelles études contrôlant les facteurs suspectés d'induire ces divergences seront nécessaires.

Au total, ces divers essais d'intervention révèlent non seulement la difficulté de mimer l'effet protecteur des F&L avec des compléments alimentaires, mais aussi l'effet délétère d'un apport excessif de composants isolés (notamment pour les sujets exposés à des cancérogènes). Elles suggèrent que l'apport de F&L serait préférable du fait d'un apport optimal et diversifié des composants, propice à l'expression de leurs effets synergiques (Eberhardt, Lee et al., 2000; Liu, 2003; Liu, 2004).

#### **1.4.4. Effets propres des fruits & légumes : analyse critique et pistes de recherche**

Les études de cohorte récentes apportent des arguments en faveur d'une relation inverse entre la consommation de fruits et les risques de survenue de cancer de l'estomac, du poumon et de la vessie et dans une moindre mesure (manque d'études de cohorte) entre consommation de F&L et risque de cancer de l'oro-pharynx. Les relations sont observées dans des populations très différentes.

Il existe de nombreux arguments biologiques plausibles pour expliquer un éventuel effet protecteur des fruits et/ou des légumes. Les études réalisées sur cellules et sur animaux montrent des effets favorables des micro- et macro-constituants des F&L dans les mécanismes de cancérogenèse. Les résultats des essais de supplémentation chez l'Homme n'apportent cependant pas beaucoup d'arguments. L'hypothèse du rôle protecteur des constituants antioxydants sur la prévention du cancer a fait l'objet de plusieurs essais d'intervention contrôlés randomisés, qui ont donné des résultats hétérogènes suggérant l'influence du statut nutritionnel initial, des doses administrées, et de l'éventuelle exposition préalable à des facteurs de risque.

On observe un effet est plus net pour les fruits que pour les légumes. Cette différence est peut-être simplement liée au fait qu'il est plus facile d'estimer la consommation de fruits que celle de légumes. Par exemple, la quantité de légumes apportée par les plats composés est estimée à partir de recettes standard et ne reflète pas toujours la réalité. Au-delà de ces considérations méthodologiques, on peut également s'interroger sur les différences de composition des fruits par rapport aux légumes. Les fruits sont de plus grands contributeurs de vitamine C, tandis que les légumes (jaunes, oranges) sont de plus grands contributeurs de  $\beta$ -carotène. Est-ce que la réduction de risque de cancer associée à la consommation de fruits pourrait être en partie liée à leur contribution aux apports en vitamine C (et à une synergie avec d'autres composants des fruits)? Sachant que la vitamine C est dotée de nombreuses activités biologiques protectrices dont l'inhibition de la formation de nitrosamines dans l'estomac (cf. Tableau 1.4-4), et que les concentrations sériques de vitamines C diminuent avec le tabagisme (Faure, Preziosi et al., 2006), cette hypothèse méritera donc d'être réexaminée. Enfin, les légumes sont peut-être associés à d'autres facteurs qui pourraient masquer ou réduire leurs effets bénéfiques (matières grasses ajoutées, perte de nutriments liée à certains modes de cuisson).

Dans le cas des cancers liés au tabac, en particulier le cancer du poumon, il reste néanmoins possible que les ajustements statistiques ne suffisent pas à éliminer totalement ce facteur de confusion majeur. Les relations observées pourraient alors s'expliquer par une consommation de tabac plus faible chez

les grands consommateurs de F&L. La prise en compte des effets du tabac se fait par des ajustements statistiques. Cependant, l'ajustement statistique ne permet pas d'éliminer totalement ce facteur de confusion. En effet, les quantités de tabac consommées ainsi que la durée de consommation ne sont pas toujours mesurées avec précision : dans certaines études, seul le statut fumeur ou non-fumeur est connu. Dans l'analyse poolée de Smith-Warner (Smith-Warner, Spiegelman et al., 2003), la relation entre consommation de fruits & légumes et risque de cancer du poumon est considérablement atténuée après ajustement sur la consommation de tabac, ce qui démontre l'importance de ce facteur de confusion dans la relation observée. Il est donc très probable que la relation résiduelle observée après ajustement s'explique entièrement par un ajustement insuffisant sur la consommation de tabac. Cet effet de confusion du tabac joue probablement un rôle également très important dans les relations avec les cancers de la vessie et les cancers des VADS.

La relation observée entre consommation de fruits et cancer de l'estomac pourrait s'expliquer par d'autres facteurs de confusion non pris en compte comme les habitudes alimentaires ou le mode de conservation des aliments (fumaison, salaison, séchage). A l'inverse, le recours à des biomarqueurs plasmatiques apporte d'autres arguments : par exemple, l'étude cas-témoins nichée dans l'étude EPIC (EPIC-EURGAST) ainsi, alors que les auteurs n'ont pas observé de relation significative entre le risque de cancer gastrique et la consommation d'agrumes (Gonzalez, Pera et al., 2006) ou les apports estimés de vitamine C alimentaire (Jenab, Riboli et al., 2006), ils ont pu mettre en évidence une association inverse significative avec la vitamine C plasmatique (Jenab, Riboli et al., 2006). Ce type d'étude montre que l'estimation des apports alimentaires à partir de questionnaires (en particulier les questionnaires de fréquence) est moins précise que la mesure issue de biomarqueurs d'exposition et que cette imprécision peut faire perdre la significativité de l'effet ou masquer une relation modérée.

Les résultats des études de cohorte concernant le cancer colorectal sont pour l'instant hétérogènes. Pour les cancers du sein et de l'ovaire, les études récentes sont en faveur d'une absence de relation. Pour d'autres localisations de cancers, les données sont encore insuffisantes. D'ailleurs, il est important de rappeler que pour certaines localisations de cancers peu fréquentes, il n'est pas toujours possible de mettre en œuvre des études de cohorte de puissance suffisante. Dans ce cas, on ne pourra disposer que de résultats d'études cas-témoins.

L'absence de relation observée ne permet pas d'exclure un effet des F&L, en raison des imprécisions des mesures d'exposition et du faible nombre d'études de cohorte disponibles. De plus, même si les cohortes sont construites avec des effectifs très importants, le nombre d'événements reste relativement faible ce qui ne permet pas toujours de mettre en évidence un effet modéré. Enfin, des facteurs de confusion pourraient masquer l'effet des F&L. Par exemple, les grands consommateurs de F&L sont probablement plus soucieux de leur santé et participent peut être plus au dépistage ce qui augmenterait le nombre de cancer diagnostiqué et compenserait un éventuel effet des F&L. Un éventuel effet délétère des pesticides résiduels pourrait également compenser un éventuel effet bénéfique des F&L. Même s'il n'existe pas de preuve des effets cancérigènes des pesticides retrouvés dans l'alimentation, il est possible que les personnes atteintes de cancer aujourd'hui aient subi des expositions plus importantes à des époques où les expositions aux pesticides étaient moins bien contrôlées.

Certains aspects ont été peu explorés : les relations avec des types particuliers de fruits ou de légumes sont relativement mal étudiées. En effet, si les mesures de consommation de F&L totaux sont imprécises, il est encore plus difficile de mesurer les consommations de sous-groupes particuliers. Dans le cas des légumes crucifères (et de leurs composants spécifiques : isothiocyanates et indoles), on dispose du rapport publié par le groupe d'experts internationaux réunis par l'IARC qui a fait le point des données disponibles et des besoins de recherche (IARC, 2004). Par ailleurs, un éventuel effet d'une consommation diversifiée de F&L a été peu étudié. Il serait intéressant d'analyser d'utiliser des indicateurs de la diversité des F & L comme cela commence à être le cas dans les études épidémiologiques récentes examinant les déterminants socio-économiques de la consommation de F&L. Il conviendrait, dans la mesure du possible de tenir compte des polymorphismes génétiques des populations étudiées. Enfin, les seuls essais de prévention nutritionnelle visant à augmenter la consommation de F&L en association avec d'autres conseils diététiques n'ont pas été concluants.

**En conclusion**, les arguments en faveur d'un effet protecteur spécifique des F&L sur le risque de certains cancers reposent sur des enquêtes prospectives, ainsi que de très nombreuses études cas-témoins et études mécanistiques. Pour répondre aux questions en suspens de nouvelles recherches sont nécessaires :

- des études de cohorte de grande taille disposant d'un recueil de données alimentaires très précis, recourant à des biomarqueurs d'exposition aux nutriments des F&L et à leurs éventuels contaminants, ainsi qu'à des biomarqueurs d'effets en cancérogenèse validés (Rafter, Govers et al., 2004), et contrôlant précisément les facteurs de confusion connus, sont indispensables ;
- de plus, des essais de prévention de grande taille, incitant à consommer plus de F&L avec une durée de suivi très longue, portant sur les localisations de cancer (poumon, vessie, estomac, bouche, pharynx) pour lesquelles des relations sont suggérées par les études de cohorte, seraient donc souhaitables pour apporter la preuve d'un effet protecteur des F&L.

Il n'en reste pas moins que les F&L jouent un rôle essentiel dans l'équilibre alimentaire et dans le contenu de la ration, réduisant ainsi le risque lié à l'excès d'autres aliments en particulier les aliments très énergétiques qui contribuent au développement du surpoids et de l'obésité (eux-mêmes facteurs de risque de certains cancers : voir ci-après). Les études épidémiologiques récentes qui visent à mettre en évidence l'effet propre des F&L ajustent quasi systématiquement les résultats sur l'indice de masse corporelle (IMC) et gommant ainsi l'effet indirect des fruits et légumes via le surpoids et l'obésité. Ce n'est pas pour autant qu'il faille négliger, dans le domaine de la prévention, cet effet indirect des F&L sur le risque de cancer.

#### **1.4.5. Effet indirect des F&L sur le risque de cancer, via leur effet sur le surpoids et l'obésité**

Les F&L contribuent au maintien du poids et à la prévention du surpoids et de l'obésité. L'influence du surpoids et de l'obésité sur la survenue de cancers a été largement étudiée. Le propos n'est pas de proposer une revue exhaustive des données de la littérature concernant la relation entre surpoids/obésité et cancers, mais de rappeler les arguments marquants.

Les conclusions du comité d'experts internationaux réuni par l'IARC en 2002 (IARC, 2002) sont les suivantes : le surpoids et l'obésité ont été reconnus comme des facteurs de risque pour les cancers du côlon, du rein, de l'oesophage, du sein (en post-ménopause) et de l'endomètre. Les résultats disponibles ont également suggéré un effet possible du surpoids et de l'obésité à l'égard du risque de cancer pour d'autres localisations.

Depuis cette monographie, on mentionnera les résultats décisifs de l'étude prospective américaine de très grande taille (900 000 adultes, 16 ans de suivi, 57000 décès par cancer) menée par l'American Cancer Society (Calle, Rodriguez et al., 2003). Celle-ci a montré que les sujets qui ont un IMC élevé ont un risque de mortalité par cancer significativement plus élevé que les sujets qui ont un IMC normal (IMC compris entre 18,5 et 24,9 kg/m<sup>2</sup>). Il s'agit des cancers de l'oesophage, du côlon-rectum, du foie, de la vésicule biliaire, du pancréas et des reins dans les deux sexes, des cancers de l'estomac et de la prostate chez l'homme, et des cancers du sein, de l'endomètre, du col de l'utérus et de l'endomètre chez la femme.

Ainsi, la réduction du surpoids et de l'obésité est un facteur lié à la nutrition important pour la prévention des cancers et la réduction de la mortalité par cancer. La consommation de F&L, à côté de l'exercice physique régulier, contribue à limiter le surpoids et l'obésité.

**En conclusion**, en termes de recommandations nutritionnelles, il est important de prendre en considération non seulement l'effet propre des F&L sur le risque de cancer que nous avons analysé précédemment mais aussi et leur effet indirect via le surpoids et l'obésité.

#### **1.4.6. Eclairage donné par le récent rapport WCRF/AICR 2007**

Un éclairage complémentaire d'une grande portée est fourni par le dernier rapport du World Cancer Research Fund et de l'American Institute for Cancer Research, "Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer : a global perspective", qui vient d'être rendu public (1<sup>er</sup> novembre 2007). Ce rapport repose sur la revue systématique par 9 centres internationaux des publications réalisées jusqu'en 2006 puis l'évaluation par un panel de 22 experts internationaux. La qualification du niveau de preuve prend en compte la quantité, la qualité et la nature des données. En plus des critères classiques concernant la qualité des études, l'absence d'hétérogénéité et la plausibilité biologique, une relation est jugée "convaincante" si l'on dispose d'au moins deux types d'études et de 2 études de cohorte indépendantes, elle est jugée "probable" si l'on dispose d'au moins 2 études de cohorte indépendantes ou d'au moins 5 études cas-témoins. Les relations convaincantes et probables donnent lieu à des recommandations.

Concernant la relation entre la consommation de F&L et le risque de cancer, plus de 20 nouvelles méta-analyses ont été effectuées. Les principales conclusions du panel d'experts sont :

- L'affaiblissement des arguments en faveur d'un effet protecteur des F&L par les résultats des études de cohorte conduites depuis le milieu des années 1990. Dans aucune relation entre F&L et cancer les arguments ne sont suffisants pour être jugés convaincants, seules des relations probables sont évoquées.
- La diminution probable du risque des cancers de la bouche, du pharynx, du larynx, de l'œsophage et de l'estomac pour les F&L ; la diminution probable du risque de cancer du poumon pour les fruits seulement ;
- La protection probable par les F&L à l'égard de la prise de poids du fait de leur faible densité énergétique ; l'augmentation convaincante par le surpoids/obésité du risque de cancer pour de nombreuses localisations : œsophage (adénocarcinome), pancréas, côlon-rectum, sein (en post-ménopause), endomètre, rein ;
- L'objectif de santé publique d'atteindre une consommation moyenne en population de 600 g/j de F&L ; la recommandation pour les individus de consommer au moins 5 portions/j (au moins 400g/j) de F&L.

En comparaison avec l'analyse qui vient d'être faite dans le cadre de l'ESCo F&L, on constate que le panel d'experts réuni par le WRC et l'AICR arrive à des conclusions moins restrictives puisque les études cas-témoins lorsqu'elles sont de bonne qualité et en nombre suffisant ont été prises en compte pour l'établissement d'une relation probable.

#### **1.4.7. Conclusion générale**

Il existe des arguments en faveur d'un effet protecteur spécifique des F&L sur le risque de certains cancers qui reposent sur des enquêtes prospectives, de très nombreuses études cas-témoins et des études mécanistiques. Cependant des études de cohorte et des essais de prévention sont encore nécessaires pour confirmer cet effet protecteur.

Par ailleurs, la consommation de F&L qui participe au maintien d'un poids corporel normal et à la prévention du surpoids/obésité, contribue indirectement à la réduction du risque de nombreux cancers.

**Tableau 1.4-1. Récapitulatif des résultats du rapport de l'IARC (2003) et des méta-analyses**

Site	Aliment	Rapport IARC (2003) <sup>1</sup>		Méta-analyse de Riboli et Norat (2003) <sup>2</sup>			Méta-analyses ou analyses poolées récentes <sup>3</sup>			Nombre de cohortes récentes	Commentaire global
		Cas-témoins	Cohortes	Cas-témoins	Cohortes	Total	Référence	Catégories	Total		
Estomac	Fruits	28/0,63[0,58-0,69] <sup>Δ</sup>	10/0,85[0,77-0,95]	24/0,69[0,62-0,77]	7/0,89[0,73-1,09]	31/0,74[0,69-0,81]	Lunet 2005 : 15 C	catégorie supérieure vs inférieure	0,82[0,73-0,93]		Relation probable pour les fruits
	Légumes	20/0,66[0,61-0,71] <sup>Δ</sup>	5/0,94[0,84-1,06] <sup>Δ</sup>	17/0,78[0,71-0,86]	5/0,89[0,75-1,05]	22/0,81[0,75-0,87]	Lunet 2005 : 10 C		0,88[0,69-1,13]		
Poumon	Fruits	21/0,70[0,45-1,07] <sup>Δ</sup>	13/0,77[0,71-0,84]	22/0,83[0,74-0,94] <sup>Δ</sup>	13/0,86 <sub>Δ</sub> [0,78-0,94]	35/0,85[0,78-0,92] <sup>Δ</sup>	Smith-Warner 2003 : 8 C	5ème quintile vs 1er quintile	0,77[0,67-0,87]	1 NS	Relation probable avec les fruits mais pas avec les légumes
	Légumes	18/0,69[0,63-0,76] <sup>Δ</sup>	11/0,80[0,73-0,88]	14/0,85[0,77-0,92] <sup>Δ</sup>	11/0,92 <sub>Δ</sub> [0,84-1,07] <sup>Δ</sup>	25/0,89[0,82-0,93] <sup>Δ</sup>			0,88[0,78-1,00]		
Vessie	Fruits	5/0,74[0,59-0,92]	5/0,87[0,72-1,04]	5/0,82[0,70-0,94]	3/0,80[0,65-0,99]	8/0,81[0,73-0,91]				1: orange ↓ S; autres fruits & légumes NS	Relation possible des fruits: manque de données en dehors du Japon
	Légumes	3/0,89[0,76-1,16]	3/0,94[0,76-1,16]	4/0,90[0,78-1,03]	2/0,92[0,75-1,14]	6/0,91[0,82-1,00]					
Oro-pharynx	Fruits	10/0,45[0,38-0,53] <sup>Δ</sup>	1/diminition significative chez les femmes	9/0,53[0,37-0,76]		9/0,53[0,37-0,76]	Pavia 2006 (oral cancer): 15 CT et 1C	pour une portion supplémentaire	0,51[0,40-0,65]	1 NS + 1 lésions précancéreuses NS	Relation possible mais résultats d'études de cohortes trop rares
	Légumes	7/0,49[0,39-0,62]		7/0,84[0,67-1,07]		7/0,84[0,67-1,07]			0,50[0,38-0,65]		
Colo-rectal	Fruits	9/0,87[0,78-0,97]	11/1,00[0,96-1,05] <sup>Δ</sup>							colo-rectal: 2 NS et 1 ↓ S (fruits); côlon: 2 NS; rectum 1 ↓ S (légumes verts feuillus) et 1 NS; adénomes 1 ↓ S (fruits)	Résultats des études de cohortes hétérogènes: résultats isolés sur certains groupes alimentaires
	Légumes	13/0,63[0,56-0,70] <sup>Δ</sup>	10/0,97[0,87-1,08]								
Côlon	Fruits			10/0,90[0,82-0,99] <sup>Δ</sup>	9/0,97[0,91-1,04] <sup>Δ</sup>	19/0,90[0,82-1,00] <sup>Δ</sup>					
	Légumes			17/0,90[0,78-1,03] <sup>Δ</sup>	11/0,91[0,86-0,96]	27/0,91[0,83-1,00] <sup>Δ</sup>					
Rectum	Fruits				5/0,88[0,81-0,96]						
	Légumes				5/1,06[0,90-1,25]						
Sein	Fruits	12/0,99[0,92-1,07] <sup>Δ</sup>	6/0,82[0,71-0,95]	8/0,92[0,84-1,01]	10/0,99[0,98-1,00]	18/0,99[0,98-1,00]	Smith-Warner 2001: 9 C poolées	catégorie supérieure vs inférieure	0,99[0,98-1,00]	2 NS	Pas de relation
	Légumes	12/0,66[0,57-0,75] <sup>Δ</sup>	5/0,94[0,83-1,07]	10/1,00[0,97-1,02]	10/0,86[0,78-0,94]	20/0,96[0,94-0,98]			1,00[0,97-1,02]		
Ovaire	Fruits	données insuffisantes		données insuffisantes			Koushik 2005 : 12 C poolées	4ème quartile vs 1er quartile	1,06[0,92-1,21]	2 NS	Pas de relation
	Légumes								0,90[0,78-1,04]		



**Tableau 1.4-2. Résultats d'études de cohortes récentes non incluses dans le rapport IARC (2003) ou les méta-analyses**

Nom	COHORTE		POPULATION				SUIVI		EVENEMENTS		EXPOSITION		RESULTAT
	Référence	Pays	Type	H	F	Age	Début	Durée	Type	N	Niveau	Variable	Risque relatif
Health professionals follow up study	Maserejian (2006)	USA	Professionnels de santé	42311		40-75	1986	6 ans	Lésion précancéreuse de la cavité orale	207	5ème quintile vs 1er quintile	F&L	0,99[0,61-1,61] p_tend.=0,88
										F		0,77[0,47-1,27] p_tend.=0,14	
										L		1,05[0,65-1,71] p_tend. = 0,41	
	Giovanucci (2003)			47365				4 ans	Cancer de la prostate (T1a exclus)	2969		Crucifères	0,93[0,82-1,05] p_tend.=0,30
									Cancer de la prostate localisé	1681		Crucifères	0,88[0,74-1,05] p_tend. 0,06
Netherland cohort study	Mommers (2005)				62572	55-69		11,3 ans	Cancer de l'ovaire	252	5ème quintile vs 1er quintile	F	1,11[0,70-1,78] p_tend. 0,46
										L		0,98[0,61-1,58] p_tend. 0,83	
										F&L		1,13[0,70-1,82] p_tend. 0,53	
	Wark (2005)			58279	62572	55-69		7,3 ans	Cancer du côlon hMLH1 +	333	3ème tertile vs 1er tertile	F	1,03[0,78-1,35] p_tend.=0,81
								Cancer du côlon hMLH1 -	54	F		0,94[0,72-1,23] p_tend.=0,72	
											L	0,46 [0,23-0,90] p_tend.=0,029	
											L	0,86[0,45-1,65] p_tend.=0,67	
EPIC	Van Gils (2005)	Europe	Population générale Européenne		285526	25-70	1992	5,4 ans	Cancer du sein	3659	5ème quintile vs 1er quintile	F	1,09[0,94-1,25] p_tend. 0,11
										L		0,98[0,84-1,14] p_tend. 0,65	
										F		1,08[0,99-1,18]	
	Schulz (2005)			325640				6,3 ans	Cancer de l'ovaire	581	pour 80 g suppl	L	0,92[0,76-1,11]
											F&L	1,02[0,95-1,10]	
	Boeing (2006)						1992	6,3 ans	Cancer des voies aérodigestives supérieures	352	pour 80 g suppl pour 40 g suppl	F&L	0,91[0,83-1,00]
											F	0,97[0,92-1,02]	
											L	0,89[0,78-1,02]	
Japan Collaborative cohorte Study	Sakauchi (2004)	Japon	Recrutement en centre d'examen de santé	47997	66520	40-79	1988-1990	9,9 ans	Décès par cancer urothélial	88	quotidienne vs 0-2 fois/sem	F autre que orange	0,43[0,21-0,86] p_tend. 0,016
												NS avec les autres types de F&L	
										L verts feuillus		1,19[0,74-1,91] p_tend. 0,40	
										F		1,06[0,64-1,75] p_tend. 0,63	
	Kojima (2004)			45181	6243				Décès par cancer du côlon	284		L verts feuillus	0,57[0,34-0,94] p_tend. 0,02
									Décès par cancer du rectum	173		F	0,80[0,46-1,26] p_tend. 0,78
	Tokui (2005)			110792					décès par cancer de l'estomac	859		Pas de relation avec orange, mandarine, carotte, épinard, tomate, chou, jus de fruit, haricot, champignon	

Nurses' health study	Holick (2005)	USA	Infirmières	88796	30-55	1980	20ans	Cancer de la vessie	237	5ème quintile vs 1er quintile	F L F&L	0,95[0,62-1,46] p_tend. 0,01 1,29[0,87-1,19] p_tend. 0,40 1,08[0,70-1,65] p_tend. 0,99	
								Adénome du côlon distal et du rectum (cas prévalent)	1720	<=3 portions/jour vs >=7	F L F&L	0,60[0,44-0,81] p_tend. 0,001 0,82[0,65-1,05] p_tend.0,10 0,81[0,68-0,96] p_tend.0,02	
	Michels (2006)		Ayant eu une coloscopie	34467									
Japan Public Health Center based prospective study	Liu (2004)	Japon	Recrutement en centre d'examen de santé	45452	49924	40-69	1993	10 et 7 ans	Cancer du poumon	428	3ème tertile vs 1er tertile	F L F&L	1,16[0,84-4,58] 1,03[0,81-1,30] 1,10[0,79-1,52]
									JPHC	Tsubono (2005)	Japon	Population de 9 secteurs de centre de santé	42525
Women's health study	Lin (2005)	USA	Professionnelles de santé	36976		>=45	1993	10 ans	Cancer colo-rectal	223	5ème quintile vs 1er quintile	F L	0,79[0,49-1,27] p_tend. 0,30 0,88[0,56-1,38] p_tend. 0,30
Miyagi cohort study	Sato (2004)	Japon	Population rurale japonaise	22836	24769	40-64	1990	7ans	Cancer du côlon	165	4ème quartile vs 1er quartile	F L F&L	1,45[0,85-2,47] p_tend.=0,28 1,24[0,79-1,95] p_tend.=0,34 1,13[0,73-1,75] p_tend.=0,62
									Cancer du rectum	110	4ème quartile vs 1er quartile	F L F&L	1,41[0,73-2,73] p_tend.=0,30 1,14[0,73-2,73] p_tend.=0,55 1,12[0,67-1,89] p_tend.=0,37
Prostate lung colorectal ovarian trial	Kirsh (2006)	USA	Population générale	38352		55-74		4,2	Cancer de la prostate	1338	>3/sem vs <1/mois	Tomate crue	1,04[0,86-1,27] p_tend. 0,84
Malmö diet and cancer cohort	Mattisson (2004)	Suède	Femmes ménopausées	111720		51-80	1996	jusque decembre 2001	Cancer du sein	342	5ème quintile vs 1er quintile	F&L	0,82[0,57-1,17]
ATBC	Nourai (2005)	Finlande	Fumeurs participant à un essai de supplémentation en bêta-carotène	29133		50-69	1985-1988	12 ans	Cancer gastrique du cardia	64	4ème quartile vs 1er quartile	F L	1,00[0,47-2,18] p_tend.=0,77 0,81[0,27-2,48] p_tend.=0,59
									Cancer gastrique non cardia	179		F L	0,66[0,43-1,02] p_tend.=0,04 0,85[0,43-1,68] p_tend.=0,11
EPIC-Oxford	Sanjoaquin (2004)	GB		10998				17ans	Cancer colorectal	95		F	Diminution du risque associée à la consommation de F

**Tableau 1.4-3. Récapitulatif des études d'intervention**

Cohorte	Population	Effectif	Age	Intervention	Effet sur la consommation de F&L	Début	Durée	Critère de jugement	Nombre d'événements	Résultat	Référence
Women Health Initiative (WHI)	40 centres d'examen USA	48835 femmes	50-79 ans	40% bénéficient de l'intervention: conseils pour diminuer les graisses, augmenter F&L et céréales	A 3 ans: 5,2 portions/j dans le groupe intervention/ 3,9 dans le groupe contrôle	1993 - 1998	8,1 ans	Cancer colorectal Cancer du sein	480 1727	RR 1,08[0,90-1,29] RR 0,91[0,83-1,01] effet plus fort chez les femmes adhérant au régime	Beresford (2006) Prentice (2006)
Polyp Prevention Trial (PPT)	Sujets ayant des polypes adénomateux du côlon dans les 6 mois	1037 (intervention) 1042 (contrôle)	moyenne : 61	Conseils avec pour objectif : fibre 4,30g/MJ; F&L 0,84 portion/MJ; graisses=20% de l'AET	+0,27 portions de F&L /MJ (soit 1,13 portion /1000 kcal) dans le groupe intervention		4 ans	adénome colorectal avancé	1905	Pas d'effet de l'intervention : pas de lien entre augmentation de consommation de F&L et récurrence plus faible chez ceux qui ont le plus augmenté leur consommation de haricot OR 4ème Quintile = 0.35 p trend. 0,001	Lanza (2001; 2006)
	Sous-échantillon prostate	685+661	moyenne : 62	Conseils: peu de graisse beaucoup de F&L/ contrôle=brochure	+2,3 portions de F&L/j		4 ans	mesure annuelle de PSA		Pas de différence dans l'augmentation de PSA (p=0,34) 19 cancers de la prostate (contrôle)/ 22 (intervention)	Shike (2002)
Women Healthy Eating and Living (WHEL)	Femmes à un stade invasif précoce de cancer du sein (dans les 4 ans à partir du diagnostic)	3088 femmes	18-70 ans	Conseils par téléphone: 5 F&L; 450 g de jus de L; 30 g de fibres et graisses 15-20% de l'AET	+ 4,5 L et +0,8 F à 6 mois + 2,2 L et +0,8 F à 6 ans	1995-2000	7,5 ans	Récidives de cancer du sein et décès précoces	518 récidives et 315 décès	Récidive RR 0,96 [0,80-1,14] Décès 0,91[0,72-1,15]	Pierce (2002; 2007)

AET : apport énergétique total

## 1.5. Fruits et légumes, maladies neuro-dégénératives et bien-être

Pascale Barberger-Gateau

### 1.5.1. Maladie d'Alzheimer et autres démences

L'étude PAQUID (QUID des Personnes Agées) a permis d'estimer qu'il y aurait actuellement environ 860.000 cas de démence chez les plus de 65 ans en France avec une incidence de 220.000 nouveaux cas par an (Office parlementaire d'évaluation des politiques de santé, 2005)<sup>2</sup>. La démence se caractérise par un déclin cognitif associant des troubles de la mémoire et d'au moins une autre fonction cognitive, et dont la sévérité est assez importante pour entraîner des difficultés dans les activités de la vie quotidienne. La cause la plus fréquente de démence est la maladie d'Alzheimer (MA), affection irréversible dans l'état actuel de nos connaissances puisque les seuls traitements disponibles sont purement symptomatiques (Blennow, de Leon et al., 2006). Avant la survenue du stade de démence irréversible, le déclin cognitif progressif va se manifester par des déficiences cognitives légères (Mild Cognitive Impairment ou MCI) qui atteignent environ 15 à 20% de la population âgée de 65 ans et plus, mais qui représentent un état instable encore potentiellement réversible dans son évolution naturelle ou grâce à la mise en place d'une prévention secondaire (Petersen, 2004).

Les principaux facteurs de risque de MA, l'âge et la possession de l'allèle  $\epsilon 4$  du gène de l'apolipoprotéine E (apoE4) pour sa forme tardive ou sporadique, sont des facteurs de prédisposition qui n'offrent aucune possibilité de prévention. Il importe donc d'identifier des facteurs environnementaux modulant le vieillissement cérébral et le risque de MA, sur lesquels il serait possible d'agir. L'alimentation est à ce titre un levier d'action très intéressant, avec des hypothèses physiopathologiques permettant d'envisager un rôle des nutriments contenus dans les fruits et légumes (FL) via deux mécanismes principaux : l'apport de micro-nutriments anti-oxydants contre le stress oxydant et l'effet protecteur des folates contre l'hyperhomocystéinémie (Luchsinger and Mayeux, 2004).

Par ailleurs les affections cérébro-vasculaires sont par définition un facteur de risque majeur de démence vasculaire, mais elles sembleraient également être associées à la MA (Honig, Tang et al., 2003; Blennow, de Leon et al., 2006) suggérant que l'athérosclérose et la MA pourraient être deux processus pathologiques indépendants mais convergents (Casserly and Topol, 2004). Plusieurs études ont également montré que la présence d'un diabète (Biessels, Staekenborg et al., 2006) ou d'une obésité (Whitmer, Gunderson et al., 2005) était associée à un risque augmenté de démence. L'effet éventuel des fruits et légumes contre les maladies vasculaires, le diabète et l'obésité pourrait donc également contribuer à diminuer les démences, et nous renvoyons aux paragraphes correspondants.

#### 1.5.1.1. Données épidémiologiques

##### *. Etudes d'observation*

Seules les études longitudinales prospectives (études de cohorte) sont pertinentes pour montrer que le comportement alimentaire observé a bien précédé le déclin cognitif ou la démence, et non l'inverse, en particulier dans une affection dont le maître symptôme est la perte de la mémoire. Elles analysent soit directement les quantités de fruits et légumes consommées, soit leur traduction en termes de nutriments ingérés, quelle que soit leur source alimentaire, et peuvent également dans certaines études inclure les nutriments apportés par des suppléments. La plupart de ces études sont américaines et reflètent donc des habitudes alimentaires particulières tout en comprenant des proportions importantes d'utilisateurs de suppléments, qui peuvent biaiser les résultats si leur composition précise n'est pas

---

<sup>2</sup> <http://www.assemblee-nationale.fr/12/rap-off/i2454.asp>

prise en compte. Cependant trois grandes études épidémiologiques françaises comportent à la fois des données nutritionnelles et cognitives répétées en population générale âgée, permettant d'étudier les relations entre nutrition et vieillissement cérébral : l'étude PAQUID (Commenges, Scotet et al., 2000), l'étude EVA (Etude du Vieillissement Artériel) (Berr, Balansard et al., 2000) et l'Etude des 3 Cités (3C) (Three-City Study Group, 2003).

*. Association entre consommation de F&L et risque diminué de démence ou de MA ou de déclin cognitif (Tableau 1.5-1)*

Les jus de fruits et légumes ont des propriétés anti-oxydantes particulièrement intéressantes en raison de leur teneur en polyphénols provenant de la pulpe et de la peau. L'étude Kame a montré que le risque de MA diminuait significativement avec la fréquence de consommation de jus de fruits. Le risque relatif était de 0,24 (IC 0,09 à 0,61) pour ceux consommant des jus au moins 3 fois par semaine par rapport à ceux en consommant moins d'une fois, en ajustant sur la consommation totale de vitamines E, C et beta-carotène (ce qui permet de faire l'hypothèse que l'effet est attribuable à d'autres composants, dont les polyphénols) et les facteurs de confusion classiques dont le niveau d'études qui est aussi associé à un moindre risque de démence (Dai, Borenstein et al., 2006).

Une étude prospective a mis en évidence une diminution du risque de déclin cognitif chez les femmes consommant beaucoup de légumes verts à feuilles, riches en lutéine et zéaxanthine, deux caroténoïdes xanthophylles, mais aussi en folates (Kang, Ascherio et al., 2005). Ces résultats sont retrouvés dans l'étude Chicago Health and Aging Study (CHAP) qui met en évidence un déclin cognitif moins rapide chez les personnes âgées consommant au moins 4 portions de légumes par jour, surtout pour les légumes verts à feuilles, mais pas d'effet protecteur de la consommation de fruits (Morris, Evans et al., 2006). La consommation de fruits supérieure à la médiane n'est pas associée à une diminution du risque de MA dans le Washington Heights Inwood Columbia Aging Project (WHICAP) tandis que l'association avec la consommation de légumes n'y est plus significative dans les analyses multivariées (Scarmeas, Stern et al., 2006).

Dans l'étude 3C, une consommation quotidienne de fruits et légumes crus et cuits est associée à une diminution de 30% du risque de démence dans les 4 ans qui suivent (RR=0,72, IC 0,53 à 0,97) dans les modèles multivariés ajustés pour les caractéristiques socio-démographiques, l'apoE4, le diabète et l'IMC (Barberger-Gateau, Raffaitin et al., 2007).

Des données plus anecdotiques et reposant essentiellement sur des travaux in vitro et chez l'animal supposent un effet potentiellement protecteur de la consommation d'ail (Chauhan, 2005) mais il n'existe aucune étude épidémiologique à ce sujet. De plus les études ont été effectuées avec de l'extrait d'ail en solution alcoolique qui sort donc du champ de cette expertise.

*. Association entre nutriments potentiellement protecteurs contenus dans les F&L (folates, vitamine C, caroténoïdes, polyphénols...) et risque de démence*

*Données de consommation alimentaire de nutriments*

Les études épidémiologiques ayant analysé la relation entre consommation de nutriments anti-oxydants et le risque de démence ou de MA (Tableau 1.5-2) ont montré des résultats discordants (Luchsinger and Mayeux, 2004; Barberger-Gateau, Delcourt et al., 2006). L'étude PAQUID (flavonoïdes) (Commenges, Scotet et al., 2000), l'étude 3 C (flavonoïdes) (Letenneur, Proust-Lima et al., 2007) et la Rotterdam Study (vitamine C) (Engelhart, Geerlings et al., 2002) ont apporté des arguments en faveur d'un rôle protecteur des anti-oxydants contenus dans les FL contre la démence ou le déclin cognitif, contrairement au WHICAP (Luchsinger, Tang et al., 2003) et au CHAP (Morris, Evans et al., 2002). Les études épidémiologiques d'observation ont également montré des résultats disparates quant à l'effet protecteur éventuel de la consommation de folates contre le déclin cognitif et la démence (Luchsinger and Mayeux, 2004). Il est cependant très difficile d'isoler l'action d'un nutriment au sein de l'alimentation : en effet, celui-ci peut n'être qu'un marqueur de la consommation d'un autre nutriment auquel il est très associé dans certains aliments (exemple des légumes verts à feuilles qui apportent à la fois des folates et de la lutéine, caroténoïde xanthophylle).

### *Données de consommation de suppléments (Tableau 1.5-3)*

Bien qu'elles ne concernent pas directement la consommation de F&L et qu'elles portent sur des quantités ingérées quotidiennes généralement très supérieures à celles apportées par l'alimentation, les études d'observation sur la supplémentation en nutriments retrouvés dans les FL pourraient apporter des arguments sur la plausibilité des mécanismes d'action sous-jacents. L'utilisation de suppléments contenant de la vitamine C était associée à une réduction du risque de démence ou de déclin cognitif dans un sous-échantillon des cohortes Established Populations for the Epidemiologic Study of the Elderly (EPESE) (Morris, Beckett et al., 1998), dans la Cache County Study (Zandi, Anthony et al., 2004) et la Nurses' Health Study (Grodstein, Chen et al., 2003) mais pas dans le WHICAP (Luchsinger, Tang et al., 2003), ni l'étude CHAP (Morris, Evans et al., 2002), ni dans la Honolulu-Asia Aging Study (HAAS) (Laurin, Foley et al., 2002). De plus ces relations différaient en fonction du type et/ou du dosage des suppléments, en particulier de l'association entre vitamines E et C, mais également après prise en compte d'interactions avec des facteurs environnementaux comme le tabagisme ou génétiques comme l'apoE4. L'effet apparent des suppléments dans certaines études d'observation pourrait être dû à des facteurs de confusion non contrôlés, notamment socio-culturels.

#### **. Etudes d'intervention**

Seules les études d'intervention permettent d'éliminer définitivement les facteurs de confusion, notamment socio-démographiques (niveau d'études et de revenus) qui pourraient expliquer à la fois une forte consommation de FL et un moindre risque de démence.

#### *. Interventions visant à augmenter la consommation de F&L*

Aucune étude d'intervention publiée n'a évalué l'impact de l'augmentation de la consommation de fruits ou de légumes sur la démence ou le déclin cognitif.

#### *. Interventions avec des suppléments contenus dans les F&L*

Les quelques études d'intervention réalisées avec des suppléments comportant des nutriments contenus dans les F&L pourraient cependant apporter des arguments quant à la plausibilité biologique des résultats des études épidémiologiques d'observation, en éliminant les facteurs de confusion.

#### *Anti-oxydants*

En prévention primaire, une association d'antioxydants n'a eu aucun effet sur le déclin cognitif de volontaires sains (Smith, Clark et al., 1999). L'article de Chandra (2001) qui rapportait des résultats positifs d'une supplémentation avec un ensemble d'anti-oxydants a été officiellement rétracté par le journal Nutrition (Meguid, 2005). Une étude ancillaire de la Women's Health Study, étude randomisée en double aveugle contre placebo de supplémentation par 600 UI de vitamine E un jour sur deux chez des femmes âgées de 65 ans et plus, n'a pas trouvé d'impact sur le déclin cognitif sauf chez les femmes ayant un apport alimentaire de cette vitamine inférieur à la médiane de l'échantillon (6,1 mg/j), peu d'activité physique (moins d'une fois par semaine) et n'ayant pas de diabète (Kang, Cook et al., 2006). Il faut toutefois se méfier des analyses post-hoc non planifiées avant la randomisation car elles peuvent porter sur des sous-groupes non comparables.

En prévention secondaire, un récent essai randomisé de supplémentation en vitamine E à 2000 UI/jour chez des patients atteints de MCI s'est avéré négatif (Petersen, Thomas et al., 2005). Il faut souligner qu'il s'agit de doses extrêmement élevées, très largement supérieures aux ANC, et avec lesquelles des effets délétères pro-oxydants pourraient même être attendus, administrées à des individus ayant déjà développé des signes cliniques de la maladie. De telles doses ne peuvent en aucun cas être obtenues par l'alimentation, même en accompagnant abondamment les légumes d'huile végétale (principale source de vitamine E).

#### *Folates*

Une revue de littérature des essais randomisés parue en 2007 concluait à l'absence de preuve de l'efficacité d'une supplémentation en folates contre le déclin cognitif, qu'il s'agisse de prévention primaire ou secondaire (Balk, Raman et al., 2007). Un essai randomisé publié depuis a montré l'efficacité de la supplémentation par 800 µg/j d'acide folique sur le déclin cognitif chez des sujets de

50 à 70 ans ayant une hyperhomocystéinémie sans déficit en vitamine B12 (Durga, van Boxtel et al., 2007). Une telle dose est toutefois très difficile à atteindre avec des légumes (elle équivaut par exemple à 500 g de mâche) mais il peuvent apporter un complément intéressant à côté des sources animales (foie).

D'une façon générale, les résultats décevants des études d'intervention peuvent s'expliquer d'une part par un mauvais ciblage des personnes susceptibles de bénéficier d'un supplément d'apport des micronutriments évalués (absence de carence nutritionnelle), d'autre part par une inadéquation qualitative ou quantitative des suppléments utilisés. Il faut privilégier autant que possible l'apport alimentaire des nutriments plutôt que les suppléments (Lichtenstein and Russell, 2005).

### **1.5.1.2. Mécanismes d'action potentiels des constituants des fruits et légumes dans la pathologie dégénérative cérébrale**

#### **. Anti-oxydants**

Le cerveau est particulièrement vulnérable au stress oxydant en raison de sa composition en acides gras poly-insaturés (AGPI) à longue chaîne très sensibles à la peroxydation (en particulier le DHA C22:6(n-3)), de sa consommation élevée d'oxygène entraînant un niveau élevé de production de radicaux libres et de sa teneur en Fer-ascorbate pro-oxydant (Floyd and Hensley, 2002). Par ailleurs les systèmes de défense anti-oxydants y sont assez peu présents et semblent devenir moins efficaces avec le vieillissement (Coyle and Puttfarcken, 1993). Dans la MA l'accumulation de protéine  $\beta$ -amyloïde est associée à une augmentation de la production de radicaux libres, attestée par une augmentation de la peroxydation lipidique au niveau cérébral (Floyd and Hensley, 2002; Montine, Neely et al., 2002). Des phénomènes oxydatifs révélés par des dosages d'isoprostanes, marqueurs de la peroxydation lipidique, ont aussi été observés dans les cerveaux de patients atteints de MCI avec des niveaux similaires à ceux de patients atteints de maladie d'Alzheimer, suggérant un rôle précoce du stress oxydant dans la pathogénie de la MA (Markesbery, Kryscio et al., 2005).

Les données biologiques d'études épidémiologiques confirment la relation entre statut oxydatif de l'organisme et risque de démence ou de déclin cognitif. Dans l'étude EVA, des taux élevés de TBARS (marqueurs de peroxydation lipidique) étaient associés à une augmentation de la probabilité de déclin cognitif, d'autant plus que les taux d'antioxydants plasmatiques étaient bas (sélénium, caroténoïdes ou vitamine E) (Berr, Balansard et al., 2000). Dans PAQUID, des taux bas de vitamine E plasmatique (marqueur du statut oxydatif global) étaient associés à un risque plus élevé de démence ultérieure (Helmer, Peuchant et al., 2003). Le niveau en anti-oxydants du plasma (activités enzymatiques, vitamines, caroténoïdes) était également plus faible chez des sujets atteints de MCI, et proche de celui des patients atteints de MA dans une étude italienne (Rinaldi, Polidori et al., 2003). Une étude expérimentale de supplémentation menée chez des sujets atteints de MA a montré l'intérêt de l'association des vitamines E (400 UI) et C (1000 mg/j) pour améliorer les paramètres de peroxydation lipidique chez ces patients (Kontush, Mann et al., 2001). Il s'agit là toutefois de doses très supérieures aux ANC, non atteignables par l'alimentation, et de malades, non de prévention primaire.

Le rôle spécifique des caroténoïdes xanthophylles dans la MA, la démence vasculaire ou le MCI est suggéré par deux études cas-témoin (Rinaldi, Polidori et al., 2003; Polidori, Mattioli et al., 2004) et une étude en IRM (den Heijer, Launer et al., 2001). Dans l'étude EVA les participants ayant un bas niveau de performances cognitives avaient de plus bas taux plasmatiques de lycopène et de zéaxanthine (Akbaraly, Faure et al., 2007). L'effet protecteur des anti-oxydants (évalué par le niveau plasmatique de beta-carotène) serait plus marqué chez les sujets ayant le facteur de risque génétique de la MA (apoE4) (Hu, Bretsky et al., 2006). On manque cependant d'études longitudinales permettant d'affirmer le caractère causal de ces associations.

Des données chez l'animal viennent corroborer ces hypothèses. La supplémentation de l'alimentation de rats âgés par des extraits d'épinards, de fraises ou de myrtilles a retardé les déficits neuronaux et cognitifs liés à l'âge (Youdim and Joseph, 2001; Joseph, Shukitt-Hale et al., 2005; Lau, Shukitt-Hale et al., 2005). L'effet des myrtilles a été attribué par ces auteurs à leurs propriétés anti-oxydantes et

anti-inflammatoires, mais aussi à l'effet direct des flavonoïdes qu'elles contiennent sur la signalisation cellulaire améliorant la plasticité cérébrale au niveau de l'hippocampe.

Les anti-oxydants (vitamine C, caroténoïdes, flavonoïdes) contenus dans les fruits et légumes pourraient donc contribuer à protéger le cerveau contre le stress oxydant et à prévenir la survenue de la pathologie dégénérative cérébrale.

#### **. Vitamines du groupe B, folates et homocystéine**

Les carences en vitamines B12 ou en folates sont associées à des déficits neurologiques congénitaux ou acquis. Elles pourraient peut-être avoir un rôle dans la prévention des pathologies neuro-dégénératives. De plus, leur carence est associée à une élévation de l'homocystéinémie, facteur de risque vasculaire et potentiellement de démence (voir chapitre sur la pathologie vasculaire) (Reynolds, 2006).

#### **. Acides gras poly-insaturés : rôle de l'ac. Alpha-linolénique**

Certains végétaux (mâche) apportent également de l'acide alpha-linolénique C18:3(n-3), acide gras essentiel précurseur du DHA dont le rôle protecteur contre le déclin cognitif et la démence est soupçonné (Bourre, 2005). Cependant les quantités apportées par les légumes sont tout-à-fait négligeables à côté de celles fournies par les huiles végétales, en particulier de colza et de noix, et la recommandation porterait donc plus sur le choix de l'huile d'assaisonnement que sur celui de la salade pour couvrir les besoins en ces nutriments. Nous ne détaillerons donc pas ici les mécanismes d'action potentiels de ces acides gras.

### **Synthèse**

Les études épidémiologiques d'observation fournissent des résultats encourageants quant à l'effet protecteur des fruits et légumes dans le vieillissement cérébral mais elles ne sont étayées par aucune étude d'intervention. Une association entre la consommation de fruits et légumes en général, de jus de fruits et légumes, ainsi que de légumes à feuilles et un moindre risque de déclin cognitif et de maladie d'Alzheimer a été mise en évidence. Ces résultats ont une plausibilité biologique car ils peuvent s'expliquer par les effets des nutriments anti-oxydants (flavonoïdes, caroténoïdes, vitamine C) et des folates contenus dans les fruits et légumes. L'effet protecteur des anti-oxydants serait plus marqué chez les sujets ayant le facteur de risque génétique (apoE4 +). Toutefois, en l'absence d'études d'intervention visant à augmenter la consommation de fruits et légumes et malgré l'ajustement sur de nombreux facteurs socio-culturels et génétiques, on ne peut exclure des effets de confusion résiduels qui expliqueraient les associations. Enfin peu d'études épidémiologiques dans le monde disposant à la fois de données nutritionnelles et neuro-psychologiques de qualité, les résultats reposent donc sur un petit nombre de sites d'observation (mais de grande taille chacun) essentiellement aux Etats-Unis, en France et aux Pays-Bas.

## **1.5.2. Maladie de Parkinson**

La maladie de Parkinson (MP) est une affection neuro-dégénérative due principalement à la perte de neurones du locus niger entraînant un déficit de la neuro-transmission dopaminergique mais aussi d'autres systèmes neurotransmetteurs. Beaucoup plus rare que la maladie d'Alzheimer, sa prévalence augmente avec l'âge, passant de 0,6% à 3,5% entre 65 et 89 ans en Europe (Fahn and Sulzer, 2004). Une meta-analyse de 25 études a estimé l'incidence pour l'ensemble de la population entre 16 et 19 nouveaux cas pour 100.000 personnes-années (Fahn and Sulzer, 2004). Son incidence croît légèrement avec le vieillissement, le risque de développer une MP augmentant de 1,1% par année d'âge (Fahn and Sulzer, 2004).

### **1.5.2.1. Etudes épidémiologiques**

Très peu d'études ont analysé l'association entre consommation de F&L ou leurs nutriments et risque de MP, et elles ont amené des résultats discordants voire paradoxaux.

Une méta-analyse réalisée en 2005 (Etminan, Gill et al., 2005) n'a identifié que 8 études comportant des données sur la relation entre consommation de vitamine C, E ou beta-carotène et risque de MP dont une seule étude de cohorte (Zhang, Hernan et al., 2002). En combinant les données, seule la consommation alimentaire modérée de vitamine E est associée à un moindre risque de MP (RR=0,81, CI 0,67 à 0,98), pas celle de vitamine C ni de beta-carotène, ce qui n'est pas en faveur d'un effet protecteur des fruits et légumes à part les oléagineux (noix : Golbe, Farrell et al., 1988). Ce résultat est similaire à celui de l'unique étude de cohorte qui trouve un effet protecteur de la vitamine E d'origine alimentaire et des noix (Zhang, Hernan et al., 2002). Une étude cas-témoins (Scheider, Hershey et al., 1997) n'a pas mis en évidence d'effet protecteur de la consommation passée globale d'anti-oxydants estimée par questionnaire de fréquence semi-quantitatif alors qu'au contraire, la consommation de certains caroténoïdes, fruits et légumes était plus élevée chez les patients atteints de MP. Deux hypothèses sont envisageables : un mauvais contrôle des facteurs de confusion dans cette petite étude rétrospective, ou un effet toxique des pesticides contenus dans les F&L, dont le rôle est par ailleurs soupçonné dans la maladie de Parkinson (Fahn and Sulzer, 2004).

Concernant les vitamines du groupe B, la Rotterdam Study n'a pas trouvé d'association avec les folates ni la vitamine B12 d'origine alimentaire, mais un risque diminué avec la vitamine B6 (trouvée essentiellement dans le poisson et le foie mais aussi dans la banane, la pomme de terre non pelée et certains fruits secs) uniquement chez les fumeurs (de Lau, Koudstaal et al., 2006).

### **1.5.2.2. Mécanismes d'action potentiels**

Le rôle potentiel du stress oxydant dans la MP (Fahn and Sulzer, 2004) permettrait d'espérer un rôle protecteur des fruits et légumes riches en anti-oxydants (vitamine C, caroténoïdes, flavonoïdes). Par ailleurs des taux élevés d'homocystéine pourraient contribuer à aggraver le déficit dopaminergique en raison de ses effets neurotoxiques (de Lau, Koudstaal et al., 2006). Les folates contenus dans les F&L pourraient donc contribuer à améliorer l'état fonctionnel de ces malades en permettant un abaissement de l'homocystéinémie.

### **Synthèse**

Malgré des hypothèses séduisantes au niveau des mécanismes d'action potentiels, il n'existe guère d'arguments convaincants d'un effet protecteur des F&L pour la prévention de la maladie de Parkinson. Très peu d'études d'observation ont été conduites, aucune intervention, et elles ont donné des résultats discordants.

### **1.5.3. Bien-être, dépression, santé mentale**

Il existe très peu d'études étayant un rôle direct de la consommation des F&L dans le bien-être au sens de la définition de la santé de l'OMS "état de bien-être complet, physique, psychique et social et non pas la simple absence de maladie ou d'infirmité". Un effet indirect pourrait être mis en jeu : si les F&L ont réellement des effets protecteurs contre certaines maladies, le soulagement des symptômes qui leur sont attribuables peut concourir à une amélioration du bien-être perçu. Nous n'aborderons pas dans ce chapitre les effets supposés des isoflavones de soja sur les symptômes de la ménopause.

#### **1.5.3.1. Données épidémiologiques**

##### **. Etudes d'observation**

A la date du 03/12/2006, aucune revue de littérature n'a été publiée au cours des 10 dernières années en français ou en anglais concernant la relation entre la consommation de fruits ou légumes et le bien-être, la dépression ni la santé mentale. Les seuls travaux de synthèse publiés concernent les herbes médicinales utilisées en supplément, les isoflavones de soja dans les symptômes liés à la ménopause et l'ail. Nous avons trouvé seulement deux études épidémiologiques ayant analysé la relation entre

consommation de F&L et bien-être ou dépression. D'une façon générale il est extrêmement difficile d'isoler l'effet propre des FL sur le bien-être, notion très subjective, indépendamment de leur effet sur les maladies, comme nous l'avons évoqué ci-dessus.

Une étude transversale menée auprès de Chinois âgés de 65 ans et plus a trouvé une association entre une forte consommation de légumes supérieure à 2112 g/semaine (soit 300 g/jour) (et aussi de vitamines A, B2, B3, C, de fibres ou d'isoflavones de soja) et un moindre risque de dépression évaluée par la Geriatric Depression Scale. Cet effet protecteur persistait dans les analyses multivariées. Aucune association n'était observée avec la consommation de fruits (Woo, Lynn et al., 2006). Cependant aucune causalité ne peut en être inférée car il s'agit d'une analyse purement transversale. En effet, il est très possible que les personnes déprimées aient modifié leur comportement alimentaire.

Une publication très récente de données de la cohorte EPIC-Norfolk (UK) portant sur 16792 participants âgés de 41 à 80 ans a mis en évidence une association positive entre consommation de FL et la dimension physique de l'échelle de qualité de vie SF-36 mesurée 18 mois plus tard, indépendamment de l'IMC, du tabagisme, du niveau socio-culturel, de la consommation d'énergie totale et de la présence de co-morbidités à la visite initiale (Myint, Welch et al., 2007). Cette association était également retrouvée pour la dimension mentale chez les femmes. Une augmentation de la consommation de 2 portions de FL par jour correspondait à une augmentation de 11% de la probabilité d'avoir un bon état fonctionnel subjectif au SF-36. De même une modification globale des comportements alimentaires (consommation de fruits et légumes) mais aussi d'activité physique était associée à une amélioration de l'état de santé mental chez des résidents de quartiers défavorisés en Grande-Bretagne .

### ***. Etudes d'intervention***

Aucune étude d'intervention publiée n'a cherché à augmenter la consommation de fruits ou légumes avec pour objectif principal d'améliorer l'humeur des participants. Un essai randomisé a comparé deux méthodes de conseil nutritionnel afin d'augmenter la consommation de F&L dans un échantillon de 271 adultes de 18 à 70 ans d'un quartier défavorisé de Londres (Steptoe, Perkins-Porras et al., 2004). Les composantes physique et mentale du SF-36 se sont améliorées durant les 8 premières semaines de l'intervention dans les deux groupes, de façon corrélée à l'augmentation de la consommation de FL. L'association se maintenait sur 1 an uniquement pour la composante physique du SF-36, suggérant que l'impact était plus dû à une amélioration globale de l'état de santé que directement de l'état psychique. L'augmentation de la consommation de FL était aussi associée à une amélioration de l'état de santé auto-évalué. La plausibilité biologique des résultats était corroborée par l'existence d'une corrélation entre l'évolution des taux plasmatiques de vitamine C et l'amélioration du score de santé physique du SF-36. Par contre aucune association n'a pu être mise en évidence avec les taux plasmatiques de beta-carotène. Il faut souligner que cette étude n'a pas comparé des recommandations d'augmentation de consommation des F&L à l'alimentation habituelle, mais deux méthodes différentes d'éducation nutritionnelle. Ses résultats peuvent donc être biaisés comme ceux d'une étude de cohorte, notamment par l'effet placebo qui va augmenter le bien-être par le seul fait d'être inclus dans une étude. Il n'y pas de double aveugle possible ici.

Un essai en cours évalue l'impact d'une intervention multi-factorielle (incluant la recommandation de 5 fruits et légumes par jour) sur l'état psychologique de femmes traitées pour cancer du sein, mais il s'agit d'une population très particulière et le rôle spécifique des fruits et légumes ne pourra pas être isolé (Saxton, Daley et al., 2006).

### **1.5.3.2. Arguments biologiques**

Les légumes verts à feuilles sont riches en folates qui auraient un rôle contre la dépression. En effet, de nombreuses études ont trouvé une relation entre des niveaux plasmatiques de folates bas et un risque accru de dépression (Reynolds, 2006). Une étude finlandaise a mis en évidence un risque accru de haut niveau de symptomatologie dépressive chez les hommes dans le tercile inférieur de consommation de folates mais il s'agit d'une simple étude transversale (Tolmunen, Voutilainen et al., 2003).

Plusieurs études d'intervention ont montré l'intérêt du traitement adjuvant par les folates chez des patients déprimés, confirmé par méta-analyse (Taylor, Carney et al., 2003). Une revue de littérature conduite en 2006 identifie 6 essais randomisés de traitement par les folates chez des patients présentant des symptômes neuropsychiatriques, dont 5 ont montré une amélioration de l'humeur et de l'intégration sociale (Reynolds, 2006). Cependant il s'agit ici de patients traités et non de prévention primaire. De plus ces études d'intervention sont menées avec des suppléments dont les teneurs en acide folique (200 µg à 15 mg/j) ou methyl folates (15 à 50 mg par jour) semblent parfois difficiles à atteindre avec l'alimentation.

### **Synthèse**

Les données biologiques permettent d'espérer un effet positif des légumes verts, riches en folates, sur la symptomatologie dépressive. Cependant les données épidémiologiques en faveur d'un effet bénéfique des F&L sur le bien-être reposent sur une seule étude d'intervention qui souffre de limites méthodologiques et doit être reproduite dans d'autres contextes pour apporter des arguments plus concluants.

**Tableau 1.5-1.** Principales études épidémiologiques longitudinales d'observation de la relation entre consommation de fruits ou légumes et vieillissement cérébral pathologique

Etude	N	Age	Facteur étudié	Evénement suivi	Résultat (après ajustement)
Kame (hommes japonais aux Etats-Unis) (Dai, Borenstein et al., 2006)	3045	≥ 65	Jus de fruits et légumes (fréquence)	Maladie d'Alzheimer	Effet protecteur RR = 0,24 (IC 0,09 à 0,61) pour ceux consommant des jus au moins 3 fois par semaine
WHICAP (Etats-Unis) (Scarmeas, Stern et al., 2006)	2258		Légumes (quantité/j)	Maladie d'Alzheimer	Effet protecteur d'une consommation de légumes supérieure à la médiane en analyse brute RR=0,76 (IC 0.60 à 0.97), NS en multivarié
Nurses' Health Study (Etats-Unis) (Kang, Ascherio et al., 2005)	15080	≥ 70	Fruits et légumes (portions)	Déclin cognitif	Pas d'association entre fruits et déclin cognitif Effet protecteur des légumes verts à feuilles
CHAP (Etats-Unis) (Morris, Evans et al., 2006)	3718	≥ 65	Légumes	Déclin cognitif	
PAQUID (France) (Letenneur, Proust-Lima et al., 2007)	1640	≥ 68	Fruits (quantité/j) Légumes (quantité/j)	Déclin cognitif	Pas d'effet significatif propre quand ajusté sur flavonoïdes
3C (France) (Barberger-Gateau, Raffaitin et al., 2007)	8085	≥ 65	Fruits et légumes (fréquence)	Démence	Effet protecteur HR=0,72 (IC 0.53 à 0.97) pour une consommation quotidienne de fruits et légumes crus et cuits

WHICAP : Washington Heights Inwood Columbia Aging Project

CHAP : Chicago Health and Aging Project

PAQUID : QUID des Personnes Agées

3C : Etude des 3 Cités

**Tableau 1.5-2.** Principales études épidémiologiques longitudinales d'observation de la relation entre consommation de nutriments anti-oxydants et vieillissement cérébral pathologique

Etude	N	Age	Facteur étudié	Evénement suivi	Résultat significatif (après ajustement)
PAQUID (France) (Commenges, Scotet et al., 2000)	1367	≥ 68	Flavonoïdes alimentaires	Démence	Effet protecteur
PAQUID (France) (Letenneur, Proust-Lima et al., 2007)	1640	≥ 68	Flavonoïdes alimentaires	Déclin cognitif sur 10 ans	Effet protecteur
Rotterdam Study (Pays-Bas) (Engelhart, Geerlings et al., 2002)	5395	≥ 55	Vitamine E Vitamine C β-carotène flavonoïdes alimentaires	Maladie d'Alzheimer	Effet protecteur des vitamines C et E Pas d'effet du α-carotène ni des flavonoïdes sauf chez les fumeurs
CHAP (Etats-Unis) (Morris, Evans et al., 2002)	815	≥ 65	Vitamine E Vitamine C β-carotène alimentaires + suppléments	Maladie d'Alzheimer	Pas d'effet de la vitamine C ni du α-carotène, ni de la vitamine E en suppléments Effet protecteur de la vitamine E alimentaire seulement chez apoE4 négatifs
WHICAP (Etats-Unis) (Luchsinger, Tang et al., 2003)	980	≥ 65	Caroténoïdes Vitamine E Vitamine C alimentaires + suppléments	Maladie d'Alzheimer	Aucune association avec les données alimentaires ni les suppléments

**Tableau 1.5-3.** Principales études épidémiologiques longitudinales d'observation de la relation entre consommation de suppléments anti-oxydants et vieillissement cérébral pathologique

Etude	N	Age	Facteur étudié	Evénement suivi	Résultat (après ajustement)
EPESE (Etats-Unis) (Morris, Beckett et al., 1998)	633	≥ 65	Suppléments en vitamines E ou C	Maladie d'Alzheimer	Effet protecteur de la vitamine C, pas la E. Mais peu de variables d'ajustement.
Cache County Study (Etats-Unis) (Zandi, Anthony et al., 2004)	3227	≥ 65	Suppléments en vitamines E (>400 UI) ou C (>500 mg)	Maladie d'Alzheimer	Pas d'association avec l'utilisation de vit. E ou C seules mais effet protecteur de l'utilisation combinée vit. E+C
Nurses' Health Study (Etats-Unis) (Grodstein, Chen et al., 2003)	14 968	70-79	Suppléments en vitamines E ou C, sauf multi-vitamines	Tests des fonctions cognitives	Meilleures performances avec suppléments vit. E+C combinées, surtout si faible apport nutritionnel en vit. E
HAAS (hommes Japonais à Honolulu) (Laurin, Masaki et al., 2004)	2369	71-92	Suppléments en vitamines E ou C	Démence Maladie d'Alzheimer Démence vasculaire	Aucune association avec consommation de suppléments, à court ou long terme

## 1.6. Fruits et légumes et maladies oculaires

Cécile Delcourt

Les maladies oculaires liées à l'âge (cataracte, dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA) et glaucome) sont actuellement les principales causes de cécité au niveau mondial (Resnikoff, Pascolini et al., 2004). La cataracte, caractérisée par une opacification du cristallin (lentille en avant de l'œil, ayant pour fonction la focalisation de la lumière sur la rétine), est la première cause de cécité mondiale, représentant à elle seule 50 % des cas de cécité. Ceci est dû essentiellement à sa plus grande fréquence, à des âges plus précoces, dans les pays en voie de développement, qui n'ont par ailleurs pas les moyens chirurgicaux d'y faire face. Comme dans les autres pays industrialisés, l'extraction du cristallin est l'acte chirurgical le plus fréquent en France, avec environ 400 000 opérations chaque année (Baubeau, Bousquet et al., 2001). La DMLA est la première cause de cécité dans les pays industrialisés, où elle représente 50 % des cas (Resnikoff, Pascolini et al., 2004). Nous avons estimé récemment sur la base de données françaises et internationales, que le nombre de personnes atteintes de la forme symptomatique de la DMLA est d'environ 608 000 (Delcourt, 2007). Le nombre de nouveaux cas a été estimé à 30 000 chaque année en France (Korobelnik, Moore et al., 2006). Malgré des progrès thérapeutiques récents, notamment avec l'apparition de traitements anti-angiogéniques, cette pathologie reste très préoccupante et pour l'essentiel irréversible. Enfin, le glaucome est la troisième cause de cécité au niveau mondial (Resnikoff, Pascolini et al., 2004).

Le rôle des facteurs nutritionnels soulève un grand intérêt pour la prévention de la cataracte et de la DMLA, alors que le glaucome ne semble pas fortement lié à l'alimentation. Les principaux facteurs de risque connus sont, pour la cataracte, le tabagisme, le diabète, l'utilisation de corticoïdes oraux et l'exposition aux ultraviolets (Asbell, Dualan et al., 2005); pour la DMLA, il s'agit du tabagisme (Thornton, Edwards et al., 2005) et du polymorphisme du gène du Complement Factor H (impliqué dans l'immunité innée) et de l'apolipoprotéine E (impliqué dans le métabolisme lipidique) (Haddad, Chen et al., 2006). L'intérêt pour la nutrition en ophtalmologie est récent et a été décuplé par la publication en 2001 des résultats d'un grand essai randomisé, démontrant l'efficacité de la supplémentation en antioxydants vis-à-vis de la prévention de la DMLA (Areds, 2001). Les fruits et légumes pourraient ainsi avoir un rôle important dans la prévention de la cataracte et de la DMLA, au travers de deux mécanismes principaux : un effet antioxydant global (notamment apports en vitamines C et E), et un effet passant par les apports en caroténoïdes. En effet, l'œil accumule spécifiquement deux caroténoïdes, la lutéine et la zéaxanthine (qui sont isomères), à l'exclusion des autres caroténoïdes présents dans le plasma (alpha- et bêta-carotène, lycopène, bêta-cryptoxanthine). La lutéine et la zéaxanthine sont présentes à très fortes concentrations dans la partie centrale de la rétine, où elles forment le pigment maculaire, qui a donné son nom à cette zone de la rétine (macula lutea : tache jaune). Le rôle du pigment maculaire est de filtrer physiquement la lumière bleue (qui a des effets toxiques sur la rétine au travers de réactions photochimiques entraînant la production d'un stress oxydant) ainsi qu'un effet directement antioxydant, comme tous les caroténoïdes (Whitehead, Mares et al., 2006). La lutéine et la zéaxanthine sont également les deux seuls caroténoïdes présents dans le cristallin, où elles pourraient avoir un rôle similaire (Bernstein, Khachik et al., 2001). La lutéine et la zéaxanthine proviennent uniquement de l'alimentation, et principalement de la consommation de légumes verts à feuille (épinards, chou frisé, etc.). Un effet préventif de l'apport en fruits et légumes est actuellement supposé pour la DMLA et la cataracte, bien que les données épidémiologiques et interventionnelles restent limitées dans ce domaine.

### 1.6.1. Données épidémiologiques

L'épidémiologie des maladies oculaires est une discipline assez récente. L'intérêt pour le rôle des facteurs nutritionnels étant encore plus récent, il existe encore relativement peu d'études au niveau mondial sur ce sujet. Elles sont pour l'essentiel anglo-saxonnes (Etats-Unis et Australie). Les résultats

obtenus ne sont donc pas toujours aisément extrapolables aux populations européennes, en raison d'habitudes alimentaires différentes, et en particulier d'une utilisation bien inférieure de compléments alimentaires. De plus, il existe encore peu de données provenant d'études prospectives, seules à même de démontrer que les habitudes alimentaires ont bien précédé l'apparition de la maladie, et d'éliminer la possibilité que les habitudes alimentaires soient le reflet de changements dus à la maladie elle-même. Ces aspects sont cependant un peu moins déterminants dans le cas des maladies oculaires que pour d'autres pathologies. En effet, les maladies oculaires entraînent moins de changement de comportement que d'autres pathologies plus sévères (cancer, déficits cognitifs) et n'entraînaient pas, jusqu'à très récemment, de recommandations diététiques pouvant biaiser les estimations (comme pour les maladies cardiovasculaires ou le diabète). Les études prospectives restent cependant plus fiables, bien que souvent associées à une faible puissance statistique due au faible nombre des cas incidents, ceci pouvant expliquer l'absence d'association souvent observée dans ces études.

### **1.6.1.1. Etudes d'observation**

#### *. Association entre consommation de FL et risque diminué de DMLA ou de cataracte*

Il existe un nombre extrêmement restreint d'études ayant cherché à mesurer les associations entre consommation de fruits et légumes et maladies oculaires. Les études publiant de tels résultats l'ont souvent fait pour conforter les résultats d'analyses portant sur les nutriments (en particulier la lutéine et la zéaxanthine) et se sont donc intéressées à des fruits et légumes particuliers (épinards, brocolis, crucifères, chou, melon...) plutôt qu'à la consommation globale de fruits et légumes. Concernant la DMLA, la Eye Disease Case Control Study, première grande étude cas-témoin ayant recherché les facteurs de risque de la DMLA, avait montré une très forte diminution du risque de DMLA néovasculaire chez les sujets forts consommateurs d'épinards (OR=0,54 (0,3-0,9) pour 2-4 fois par semaine contre moins d'une fois par mois) (Seddon, Ajani et al., 1994). Par contre, dans une étude transversale australienne, aucune association n'était trouvée en consommation d'épinards, ou de brocolis et risque de DMLA (Smith, Mitchell et al., 1999). Dans une analyse commune des études Nurses et Physicians' Health, une consommation importante de fruits était associée à un risque de DMLA incidente diminué de 36 % (OR=0,64 (0,44-0,93)), tandis qu'aucune association n'était trouvée avec la consommation totale de légumes, ainsi qu'avec la consommation d'épinards (Cho, Seddon et al., 2004). Dans l'étude de Beaver Dam, aucune relation significative n'a été trouvée entre la consommation de fruits et légumes et l'incidence de la DMLA précoce (Vandenlangenberg, Maresperlman et al., 1998). Globalement, les études sont très peu nombreuses, et ne semblent pas indiquer de manière évidente un effet protecteur fort de la consommation de fruits et légumes vis à vis de la DMLA.

Les données concernant la cataracte sont plus nombreuses et plus cohérentes. En totale cohérence avec l'hypothèse du rôle de la lutéine et de la zéaxanthine, toutes les études disponibles montrent un risque réduit de cataracte chez les forts consommateurs d'épinards, et, dans une moindre mesure, de légumes verts. La consommation totale de fruits et légumes ne semble cependant pas associée au risque de cataracte, probablement parce que les légumes verts représentent seulement une partie de fruits et légumes. Ainsi, dans une analyse transversale de l'étude de Beaver Dam aux USA, la consommation de FL n'était significativement associée au risque de cataracte, tandis que la forte consommation d'épinards et de salade verte était significativement associée à une diminution du risque de cataracte nucléaire (Mares Perlman, Brady et al., 1995). Dans une étude cas-témoin italienne, un risque diminué de cataracte était associé à une forte consommation de crucifères (OR=0,5 (0,3-0,8)), d'épinards (OR=0,6 (0,4 – 0,9)), de tomates (OR=0,5 (0,4-0,8)) et de melon (OR=0,5 (0,5-0,8)) (Tavani, Negri et al., 1996). Dans l'étude transversale des Blue Mountains (Australie), la forte consommation de brocolis et d'épinards était associée à un risque diminué de cataracte nucléaire, association à la limite de la signification (OR=0,6 (0,4-1,1), p de tendance=0,10 et OR=0,7 (0,4 – 1,4), p de tendance=0,07, respectivement). Enfin, trois études prospectives, provenant de grandes cohortes américaines, montraient un risque significativement réduit d'environ 50% d'extraction du cristallin chez les forts consommateurs d'épinards et de brocolis (Hankinson, Stampfer et al., 1992; Brown, Rimm et al., 1999; Chasan Taber, Willett et al., 1999).

Globalement, ces données épidémiologiques d'observation sont donc en faveur d'une réduction importante du risque de cataracte, et peut-être de DMLA, chez les forts consommateurs de légumes verts, et en particulier d'épinards (principale source de lutéine et zéaxanthine dans nos populations).

#### **. Association entre nutriments potentiellement protecteurs (antioxydants, caroténoïdes) et risque de maladies oculaires**

Les études d'association entre apports en nutriments antioxydants (principalement vitamines E et C) et cataracte ont donné des résultats discordants (Tableau 1). Bien qu'une association significative soit retrouvée dans la plupart des études, elle n'est pas reproductible d'une étude à l'autre, l'association étant tantôt avec la vitamine C, tantôt avec la vitamine E, rarement avec les deux. De plus, les 2 études épidémiologiques prospectives ne montrent aucune association avec les apports nutritionnels en vitamines C et E (Lyle, Maresperlman et al., 1999; Jacques, Taylor et al., 2005). Par contre, les études disponibles sont nettement en faveur d'un effet protecteur d'un apport important en lutéine et zéaxanthine. Ainsi, toutes les études, depuis les plus anciennes (n'estimant que l'apport de vitamine A totale, ou de caroténoïdes totaux) aux plus récentes (distinguant les différents caroténoïdes), montrent un risque significativement diminué de cataracte chez les sujets ayant des apports élevés en lutéine et zéaxanthine (Tableau 1), à l'exception d'une étude cas-témoin espagnole et d'une étude prospective très récente ayant une faible puissance statistique (seuls 408 sujets suivis). Dans l'ensemble, ces études indiquent une relation spécifique avec la localisation nucléaire des opacités cristalliniennes. Malgré la forte corrélation des apports nutritionnels des différents caroténoïdes (alpha- et bêta-carotène, lycopène, bêta-cryptoxanthine, lutéine et zéaxanthine), les études épidémiologiques semblent confirmer le lien spécifique avec la lutéine et la zéaxanthine, spécificité attendue en raison de l'absence des autres caroténoïdes dans le cristallin. Ces données nutritionnelles sont également en parfaite cohérence avec les données concernant la consommation de légumes verts, issues des mêmes études.

En ce qui concerne la DMLA, les résultats sont moins convaincants (Tableau 2). Alors que trois études cas-témoin ayant montré un risque diminué de DMLA pour les apports élevés en lutéine et zéaxanthine, deux grandes études transversales et deux études prospectives à 5 ans n'ont montré aucune association du risque de DMLA avec les apports en vitamine C, E, zinc et caroténoïdes. Les trois études prospectives à long terme (8 à 10 ans) ont donné des résultats discordants : l'une montrait un effet protecteur du zinc et de la vitamine E mais pas de la lutéine et de la zéaxanthine (van Leeuwen, Boekhoorn et al., 2005), l'autre un effet protecteur de la lutéine et de la zéaxanthine et du zinc mais un effet délétère du bêta-carotène et de la vitamine E (Tan, Wang et al., 2007), tandis que la troisième ne montrait aucune association significative (Cho, Seddon et al., 2004).

#### **1.6.1.2. Etudes d'intervention**

##### **. Interventions visant à augmenter la consommation de FL**

Il n'existe aucune étude d'intervention ayant cherché à évaluer l'effet de l'augmentation de la consommation de FL sur la prévention des maladies oculaires.

##### **. Interventions avec des suppléments contenus dans les FL**

La principale étude est l'étude AREDS (Age-Related Eye Diseases Study), portant sur près de 5000 sujets, et ayant pour objectif principal l'évaluation de l'effet d'une combinaison d'antioxydants, administrée par voie orale à doses pharmacologiques (500 mg/jour de vitamine C, 400 UI/jour de vitamine E, 15 mg/jour de bêta-carotène, 80 mg/jour d'oxyde de zinc associé à 2 mg/jour d'oxyde de cuivre), vis-à-vis de la prévention de la DMLA et de la cataracte. Cette étude a montré une réduction significative de 28 % du risque de DMLA sévère incidente chez les sujets traités par rapport au placebo (Areds, 2001). Par contre, aucun effet n'était montré pour la forme précoce de la DMLA, ni pour la cataracte (Areds, 2001). Ceci est cohérent avec une méta-analyse récente (Chong, Wong et al., 2007), montrant que les données des études épidémiologiques prospectives et des essais randomisés actuellement publiés ne sont pas en faveur d'un effet des antioxydants en prévention primaire de la

DMLA. Les quelques autres études d'intervention disponibles vont dans le même sens, ne montrant pas d'effet des antioxydants généraux sur l'incidence de la DMLA précoce (Teikari, Laatikainen et al., 1998; Taylor, Tikellis et al., 2002), ni de la cataracte (Teikari, Virtamo et al., 1997; Christen, Manson et al., 2003; McNeil, Robman et al., 2004; Gritz, Srinivasan et al., 2006), à l'exception d'une étude anglo-américaine, montrant une réduction du risque d'évolution de la cataracte, mais l'effet n'était pas homogène entre les sujets américains et anglais, limitant l'extrapolation des résultats (Chylack Lt, Brown et al., 2002). Aucune de ces études n'avait la puissance statistique nécessaire pour reproduire les résultats de l'étude AREDS concernant la réduction du risque de DMLA sévère chez les sujets supplémentés.

Seule une petite étude randomisée a évalué l'effet d'une supplémentation en lutéine et zéaxanthine dans la DMLA atrophique, suggérant une légère amélioration des sujets traités (Richer, Stiles et al., 2004). Plusieurs grands essais randomisés (dont un deuxième volet de l'étude AREDS) sont actuellement en cours.

## **1.6.2. Mécanismes d'action potentiels des constituants des fruits et légumes dans les maladies oculaires dégénératives**

### **1.6.2.1. Antioxydants**

L'oeil est particulièrement soumis au stress oxydant en raison de son exposition directe à la lumière. L'absorption de la lumière par les tissus oculaires est accompagnée d'un transfert d'énergie qui initie des réactions photochimiques. En présence d'oxygène, celles-ci entraînent la production d'espèces oxygénées réactives (EOR). Le cristallin et la cornée sont les tissus les plus touchés, car ils absorbent les ultraviolets. Ainsi, l'exposition aux ultraviolets est maintenant un facteur de risque reconnu de la cataracte, sur la base d'une quinzaine d'études épidémiologiques (Asbell, Dualan et al., 2005). L'oxydation des protéines de structure du cristallin, entraînant leur agrégation, est directement responsable de l'opacification de celui-ci (Boscia, Grattagliano et al., 2000). In vitro et chez l'animal, des niveaux élevés d'EOR (tels que l'eau oxygénée, génératrice de radicaux hydroxyles, ou les peroxydes lipidiques) provoquent une opacification du cristallin (Spector, 1995; Babizhayev, 1996). Chez l'homme, on observe également des niveaux élevés d'EOR dans les cristallins cataractés, et dans l'humeur aqueuse d'yeux atteints de cataracte (Spector, 1995). Les vitamines C et E permettent de retarder le processus caractogène dans plusieurs modèles animaux (Taylor and Hobbs, 2001).

En ce qui concerne la rétine, de manière similaire au cerveau, la sensibilité au stress oxydant provient principalement d'une très forte activité métabolique, productrice d'EOR, associée à une forte concentration d'acides gras poly-insaturés (principalement l'acide docosahéxaénoïque ou DHA, de la série oméga 3), facilement peroxydables. L'exposition à la lumière visible (puisque les ultraviolets sont absorbés en avant de l'œil par le cristallin et la cornée) contribue également au stress oxydant rétinien. Les expériences chez l'animal et quelques cas cliniques indiquent que c'est particulièrement la lumière bleue qui est dommageable pour la rétine (Beatty, Koh et al., 2000). Les expériences in vitro montrent que les dommages rétiniens dus à un stress oxydant, ou à un stress photochimique peuvent être réduits par l'adjonction de vitamines C ou E (Beatty, Koh et al., 2000). La vitamine E pourrait être particulièrement importante, car, étant liposoluble, elle a pour rôle principal de protéger les acides gras polyinsaturés de la lipoperoxydation. Dans l'étude française POLA, nous avons mis en évidence une réduction du risque de DMLA de 80% chez les personnes ayant des niveaux plasmatiques élevés de vitamine E (Delcourt, Cristol et al., 1999). La Baltimore Longitudinal Study of Aging (West, Vitale et al., 1994) et l'Eye Disease Case-Control Study (1993) avaient montré des résultats similaires, mais qui n'atteignaient pas la signification statistique. Cependant, les taux plasmatiques de vitamine E n'y étaient pas corrigés pour les lipides circulants qui transportent la vitamine E, contrairement à notre étude.

### 1.6.2.2. Lutéine et zéaxanthine

La lutéine et la zéaxanthine s'accumulent de manière spécifiquement dans la rétine, où elles forment le pigment maculaire, et dans le cristallin (Whitehead, Mares et al., 2006). Leur rôle probable consiste en la filtration de la lumière bleue (pouvant provoquer des dommages sur la rétine), ainsi qu'un rôle directement antioxydant (Whitehead, Mares et al., 2006). La densité du pigment maculaire peut être mesurée *in vivo*, de manière non invasive, en utilisant ses propriétés d'absorption de la lumière bleue. Trois petites études cas-témoin ont ainsi mis en évidence une diminution de la densité du pigment maculaire dans les rétines à haut risque de DMLA, suggérant un effet protecteur du pigment maculaire vis-à-vis de la DMLA (Beatty, Murray et al., 2001; Bone, Landrum et al., 2001; Bernstein, Zhao et al., 2002). Dans l'étude française POLA, les sujets ayant un niveau plasmatique élevé en lutéine et zéaxanthine, montraient un risque très fortement diminué de DMLA (précoce ou sévère) (OR= 0,21 (0,05-0,79)) (Delcourt, Carriere et al., 2006). Dans la même étude, le risque de cataracte (tous type confondus) était également diminué de moitié pour les niveaux élevés de zéaxanthine plasmatique (OR= 0,53 (0,31-0,89)), tandis qu'aucune association significative n'était retrouvée pour la lutéine seule, ou combinée avec la zéaxanthine (Delcourt, Carriere et al., 2006). Ces résultats sont cohérents avec les quelques autres études disponibles dans ce domaine. Une étude transversale anglaise et une étude cas-témoin américaine (Eye Disease Case-control Study, 1993) ont montré un risque de DMLA significativement diminué pour les niveaux plasmatiques élevés de lutéine et zéaxanthine, tandis que dans deux études épidémiologiques américaines, les résultats allaient dans le sens d'une diminution du risque mais n'étaient pas statistiquement significatifs, probablement en raison d'une très faible puissance statistique (Mares Perlman, Brady et al., 1995; Mares Perlman, Fisher et al., 2001). Seules trois études antérieures ont estimé les associations entre niveaux plasmatiques de lutéine et zéaxanthine et cataracte, ne trouvant pas d'association significative (Mares Perlman, Brady et al., 1995; Lyle, Maresperlman et al., 1999; Gale, Hall et al., 2001). Deux de ces études ne distinguaient pas la lutéine de la zéaxanthine, ce qui peut avoir affaibli les associations, au cas où l'association avec la zéaxanthine soit effectivement plus forte qu'avec la lutéine.

Alors que les études épidémiologiques portant sur les apports alimentaires et celles portant sur les mesures plasmatiques sont assez cohérentes en ce qui concerne la cataracte (et globalement en faveur d'un effet protecteur de la lutéine et de la zéaxanthine vis-à-vis de cette pathologie), les résultats sont beaucoup plus discordants pour la DMLA : tandis qu'une association n'a été trouvée que dans deux études cas-témoin (les plus sujettes aux biais, par rapport aux études en population), les études avec mesures biologiques (rétiniennes ou plasmatique) semblent indiquer une forte diminution du risque de DMLA pour les statuts biologiques élevés. Outre la moindre précision de l'estimation des apports alimentaires (qui de plus ne prennent pas en compte certains éléments jouant sur la biodisponibilité tels que le mode de cuisson et les assaisonnements), ceci suggère que d'autres facteurs affectant la biodisponibilité de ces composés pourraient être impliqués dans la DMLA. La lutéine et la zéaxanthine ont un métabolisme complexe, impliquant le métabolisme des lipides (elles sont transportées par les lipoprotéines) ainsi que des transporteurs spécifiques (encore mal connus), responsables de l'accumulation dans les tissus oculaires (Whitehead, Mares et al., 2006). Certains facteurs, tels que le tabagisme et l'obésité sont maintenant connus pour diminuer la densité du pigment maculaire, à apports alimentaires constants (Whitehead, Mares et al., 2006). Il n'est pas impossible également que des interactions existent avec des facteurs génétiques. On peut bien sûr penser aux gènes des transporteurs de la lutéine et de la zéaxanthine. De plus, le gène du Complement Factor H, impliqué dans l'immunité innée, est fortement au risque de DMLA, avec un risque attribuable de 50 % (Haddad, Chen et al., 2006). D'autres gènes sont en cours d'identification. Les interactions entre les facteurs nutritionnels et génétiques devront être recherchées dans les futures études .

### Synthèse

La consommation de légumes verts, et en particulier de légumes verts à feuille (dont les épinards) pourrait être particulièrement importante pour la prévention des maladies dégénératives oculaires (principalement la cataracte et la DMLA). En effet, de nombreux arguments biologiques et expérimentaux sont en faveur d'un effet protecteur de la lutéine et de la zéaxanthine (deux

caroténoïdes provenant des légumes verts) vis à vis de ces pathologies. Les études épidémiologiques sont encore peu nombreuses dans ce domaine. En ce qui concerne la cataracte, plusieurs études prospectives montrent de manière concordante une diminution du risque chez les sujets ayant une forte consommation de lutéine et zéaxanthine, et de manière cohérente, chez les sujets ayant une forte consommation d'épinards et autres légumes verts. Dans le domaine de la DMLA, les résultats sont plus décevants, puisque seule une des études prospectives a mis en évidence une association entre risque de DMLA et apport alimentaire en lutéine et zéaxanthine, ce qui est en contradiction avec les études comportant des mesures biologiques (plasmatiques ou rétiniques). En sus de l'alimentation, d'autres facteurs, en particulier génétiques, affectant la biodisponibilité de ces composés, pourraient être responsables de ces discordances entre études alimentaires et études biologiques. Les interactions gène-alimentation seront particulièrement importantes à rechercher, surtout depuis l'identification de gènes ayant un risque attribuable de plus de 50 % pour la DMLA.

De manière plus large, les apports en antioxydants (vitamines C et E notamment) apparaissent liés à une diminution du risque de cataracte et de DMLA. Cependant, il existe de fortes discordances entre les observations épidémiologiques et les études d'intervention portant sur les composés antioxydants. Ces discordances pourraient provenir d'effets de confusion. En particulier en ce qui concerne la cataracte, d'autres composés liés à l'apport en fruits et légumes, tels que les vitamines du groupe B, ou la lutéine et la zéaxanthine pourraient expliquer l'échec des essais d'intervention portant sur les vitamines C et E.

**Tableau 1.6-1.** Principales études épidémiologiques d'observation de la relation entre consommation de nutriments anti-oxydants et cataracte.

Auteur, Etude	N	Type	Facteur étudié	Type de cataracte	Résultat significatif (après ajustement)*
Leske, LOCS (Leske, Chylack Lt et al., 1991)	1380	cas-témoin	Vitamines A,C, E	Tous types	Effet protecteur des vitamines A, C et E (OR=0,40 (0,21-0,78) pour l'index antioxydant global)
Tavani (Tavani, Negri et al., 1996)	913	Cas-témoin	Vitamines C et E	Extraction du cristallin	Effet protecteur de la vitamine E (OR=0,5 (0,3 – 1,0))
Valero (Valero, Fletcher et al., 2002)	702	Cas-témoin	Vitamines C, E, zinc, sélénium, caroténoïdes	Tous types	Effet protecteur de la vitamine C
Mares-Perlman, Beaver Dam Eye Study (Mares Perlman, Brady et al., 1995)	1919	Transversale	Vitamines A, C, E, caroténoïdes	Nucléaire	Effet protecteur des vitamines A et E et de la lutéine
Cumming, Blue Mountains Eye Study (Cumming, Mitchell et al., 2000)	2756	Transversale	Vitamine C, zinc, caroténoïdes totaux	Tous types	Effet protecteur des caroténoïdes totaux (nucléaire)
Jacques, Taylor Nutrition and Vision Project (Jacques, Chylack Lt et al., 2001; Taylor, Jacques et al., 2002)	478	Transversale	Vitamines C, E, caroténoïdes	Tous types	Effet protecteur de la vitamine C, limite signification pour vitamine E et L&Z (nucléaire)
Vu Melbourne VIP Study (Vu, Robman et al., 2006)	2322	Transversale	Lutéine et zéaxanthine	Tous types	Effet protecteur pour L&Z (nucléaire)
Lyle, Beaver Dam Eye Study (Lyle, Maresperlman et al., 1999)	1354	Prospective	Vitamines C, E, caroténoïdes	Nucléaire	Effet protecteur pour L&Z uniquement
Chasan-Taber Nurse Health Study (Chasan Taber, Willett et al., 1999)	77 466	Prospective	Caroténoïdes	Extraction du cristallin	Effet protecteur pour L&Z uniquement
Brown, Physicians' Health Study (Brown, Rimm et al., 1999)	36 644	Prospective	Caroténoïdes	Extraction du cristallin	Effet protecteur pour L&Z uniquement
Jacques, Nutrition and Vision Project (Jacques, Taylor et al., 2005)	408	Prospective	Vitamines C, E, caroténoïdes	Nucléaire	Pas d'association significative
Yoshida Japan PHC Study (Yoshida, Takashima et al., 2007)	35186	Prospective	Vitamine C	Tous types, extraction du cristallin	Effet protecteur de la vitamine C

\* facteurs nutritionnels montrant une association statistiquement significative avec au moins l'un des types de cataracte (nucléaire, corticale, sous-capsulaire postérieure, mixte...)  
L&Z : lutéine et zéaxanthine

**Tableau 1.6-2.** Principales études épidémiologiques d'observation de la relation entre consommation de nutriments anti-oxydants et DMLA.

Auteur, Etude	N	Type	Facteur étudié	Type de DMLA	Résultat significatif (après ajustement)*
Seddon, EDCC (Seddon, Ajani et al., 1994)	876	Cas-témoin	Vitamines A, C et E, caroténoïdes	DMLA néovasculaire	Effet protecteur pour caroténoïdes totaux et surtout pour L&Z (OR=0,43 (0,2-0,7))
Snellen (Snellen, Verbeek et al., 2002)	138	Cas-témoin	L&Z	DMLA néovasculaire	Effet protecteur de L&Z
AREDS (SanGiovanni, Chew et al., 2007)	4519	Cas-témoins	Vitamines A, E, C, caroténoïdes	DMLA précoce et sévère	Effet protecteur de la L&Z
Mares Perlman, Beaver Dam Eye Study (Mares Perlman, Klein et al., 1996)	1968	Transversale	Vitamines C et E, Caroténoïdes, zinc	DMLA précoce et sévère	Pas d'association significative
Smith, Blue Mountains Eye Study (Smith, Mitchell et al., 1999)	2900	Transversale	Vitamines A et C, carotene, zinc	DMLA précoce et sévère	Pas d'association significative
Vandenlangenberg, Beaver Dam Eye Study (Vandenlangenberg, Maresperlman et al., 1998)	1709	Prospective (5 ans)	Vitamines C et E, Caroténoïdes, zinc	DMLA précoce et sévère	Pas d'association convaincante
Flood, Blue Mountains Eye Study (Flood, Smith et al., 2002)	1989	Prospective (5 ans)	Vitamines A et C, caroténoïdes, zinc	DMLA précoce	Vitamine C : effet délétère significatif
Cho, Health Professionals' Study (Cho, Seddon et al., 2004)	118 428	Prospective (au moins 12 ans)	Vitamines A, C, E, caroténoïdes	DMLA précoce et néovasculaire	Pas d'association significative
Van Leeuwen, Rotterdam Study (van Leeuwen, Boekhoorn et al., 2005)	4170	Prospective (8 ans)	Vitamines C, E, caroténoïdes, zinc	DMLA précoce et sévère	Effet protecteur de vitamine E et zinc
Tan, Blue Mountains Eye Study (Tan, Wang et al., 2007)	2454	Prospective (10 ans)	Vitamins A,C, E, caroténoïdes, zinc, fer	DMLA précoce et sévère	Effet protecteur de la L&Z et du zinc, effet délétère du béta-carotène et de la vitamine E

## 1.7. Fruits et légumes, intérêt pour la santé osseuse

C. Demigné

### Généralités

L'ostéoporose est une maladie fréquente, caractérisée par une fragilité de l'os, aboutissant à des fractures, sources de douleurs et de handicap. La prise de conscience des relations possibles entre consommation des fruits et légumes et santé osseuse, au sens large c'est-à-dire en incluant les problèmes de rhumatologie et ceux plus spécifiquement liés à l'ostéoporose, est relativement récente. Si l'on prend simplement en compte les études épidémiologiques principales sur les relations fruits et légumes/santé osseuse, on observe qu'elles sont relativement rares (1 par an au mieux) jusqu'au tournant des années 2000, alors que leur fréquence se situe ensuite entre 2 et 4 par an. Ceci signifie que d'ores et déjà la majorité des études dans ce domaine ont paru au cours des années 2000, et on a donc dans ce domaine une littérature récente. A cette littérature basée sur des données épidémiologiques, se rajoute une littérature nettement plus abondante d'études mécanistiques visant à comprendre l'impact des divers nutriments apportés par les fruits et légumes sur le métabolisme osseux et les interactions éventuelles entre ces nutriments.

Il faut noter que les relations entre santé osseuse et nutrition ont certes été prises en compte de longue date, mais presque exclusivement sous l'angle de l'apport calcique et des facteurs qui peuvent y être rattachés (phosphore, vitamine D). S'il ne fait guère de doute qu'un apport calcique suffisant est une des clés d'un bon statut osseux, et ceci aux divers âges de la vie, diverses études épidémiologiques montrent que cette approche a ses limites.

Du point de vue des populations concernées par l'effet protecteur des fruits et légumes, on pense souvent en premier lieu aux populations âgées, chez qui les problèmes de santé osseuse s'expriment de façon très visible (troubles articulaires, ostéopénie voire ostéoporose) et avec une incidence très élevée, mais un nombre croissant de travaux met l'accent sur l'importance d'une bonne nutrition pour l'acquisition d'un capital osseux optimal chez l'adolescent(e) et le(la) jeune adulte.

Les impacts physiologiques pris en compte dans les études visant à établir un lien entre nutrition et statut osseux sont de divers types :

- les fractures ostéoporotiques : donc stade avancé du processus d'ostéoporose. Les fractures les plus caractéristiques sont les fractures du poignet, les fractures de la hanche et les fractures vertébrales. Certains épidémiologistes incluent aussi d'autres fractures d'origine accidentelle car ils considèrent que l'ostéoporose joue aussi un rôle primordial dans ce type de fracture.
- l'ostéopénie ou l'ostéoporose sans fracture : reposent essentiellement sur des examens en DEXA, le rôle de l'âge et du statut hormonal est évidemment primordial. Sur la base de ces examens, divers scores sont pris en compte : le T-score exprimé en prenant comme référence le pic maximum de masse osseuse entre 20 et 30 ans (en prenant de l'âge, tout le monde a un T-score physiologiquement modifié) et le Z-score exprimé avec comme valeur de référence une population de même âge que le sujet étudié. En pratique, un sujet non ostéoporotique aura au cours de sa vie un Z-score = 0, mais son T-score diminuera progressivement.
- le pic de masse osseuse, qui concerne alors les jeunes adultes.
- la densité osseuse chez l'enfant ou l'adolescent, qui peut être prédictive du pic de masse osseuse ou du moins alerter sur des problèmes (physiologiques et/ou nutritionnels) susceptibles de l'affecter défavorablement.

## **1.7.1. Nutriments susceptibles d'être impliqués dans l'impact des fruits et légumes sur le métabolisme osseux**

### **1.7.1.1. Facteurs liés au potentiel minéralisant**

#### **. Calcium**

Les fruits et légumes sont des sources relativement mineures de calcium avec des régimes de types occidentaux, qui comportent des apports en produits laitiers réguliers. Néanmoins, des concentrations notables de calcium (Ca) sont présentes dans les légumineuses (haricots, lentilles), les graines (amandes, noisettes, graines de tournesol...), les choux, certains légumes foliaires (cresson, épinards) ou des fruits tels que oranges ou figues. Globalement, l'apport en Ca par les fruits et légumes (sans compter les pommes de terre) est de 50-100 mg/j dans les pays occidentaux, mais il peut dépasser 200 mg/j dans certaines régions d'Asie ou d'Afrique. L'apport de Ca par ces aliments peut être artificiellement augmenté par des suppléments, par exemple les jus d'orange enrichis en Ca. La biodisponibilité du Ca peut être relativement élevée dans les fruits, même lorsqu'ils sont riches en citrate, par contre elle peut être limitée par la présence de phytates (cas des légumineuses) ou d'oxalate (certains légumes foliaires).

#### **. Magnésium**

Plus de la moitié du pool magnésique de l'organisme est localisé dans les os et cet élément est partie intégrante de la structure osseuse. Le magnésium (Mg) est apporté en quantités notables par les fruits et légumes (banane, avocat, graines) avec des taux compris entre 30 et 50 mg/100 g, voire davantage dans certains cas.

Compte tenu des valeurs recommandées chez l'adulte (300-400 mg/j), on voit que certains fruits et légumes peuvent contribuer pour une part notable du Mg de la ration, surtout si on prend en compte les légumineuses, sachant toutefois qu'un certain nombre de fruits sont assez pauvres en Mg (pommes, poires, ananas).

#### **. Potassium**

L'apport minéral le plus important des fruits et légumes est celui de potassium, sur un plan quantitatif et qualitatif. D'un point de vue quantitatif, il existe une différence sensible entre fruits et légumes : en moyenne, les légumes renferment environ 300 mg/100 g alors que les fruits contiennent 150-200 mg/100 g en moyenne, avec des disparités importantes (légumes : 150-600 mg/100 g ; fruits : 60-350 mg/100 g). Globalement, sur la base des consommations moyennes observées en fruits et légumes, ceux-ci apportent souvent moins de 50% des apports journaliers de potassium, qui est également présent dans les produits céréaliers et les produits animaux peu transformés (viandes, poissons, laitages). Toutefois, l'apport de potassium dans les fruits et légumes se fait essentiellement sous forme d'anions organiques (citrate, malate, voire oxalate ou tartrate).

Les sels organiques de potassium sont pratiquement les seuls composés de la ration susceptibles (après conversion en potassium/bicarbonate) de permettre la neutralisation au niveau rénal de l'acidité fixe, correspondant principalement aux ions  $SO_4$  provenant du catabolisme protéique. Cette fonctionnalité alcalinisante est portée de façon quasi-exclusive par les fruits et légumes, elle permet d'épargner le calcium osseux et l'azote des protéines musculaires. Il faut noter que cette fonctionnalité peut être altérée par certains traitements des aliments, notamment en ce qui concerne les légumes cuits à grande eau ce qui entraîne un lessivage partiel des cations. Par ailleurs, l'addition de sel (appertisation par exemple) détériore aussi l'impact alcalinisant des légumes, vraisemblablement par des mécanismes rénaux affectant la réabsorption du calcium et/ou celle des bicarbonates.

#### **. Fibres**

Les fibres solubles sont susceptibles d'affecter l'absorption du calcium et du magnésium. Il faut d'abord noter que des effets néfastes sur cette absorption ont parfois été attribués aux fibres alors qu'en fait l'effet observé correspondait à la présence de phytate(s), ce problème concernant assez peu

les fruits et légumes mais plutôt les céréales peu raffinées et les légumineuses. Les pectines, dont les résidus galacturonate ou des propriétés chélatrices faibles, ont également été soupçonnées de gêner l'absorption des cations divalents ; toutefois diverses expériences ont montré que l'effet des pectines sur la balance de calcium était limité mais qu'il pouvait exister un déplacement du site principal d'absorption, vers le gros intestin. En fait, les fibres très fermentescibles sont susceptibles d'augmenter l'absorption de calcium et magnésium dans le gros intestin par des mécanismes complexes (acidification du milieu, effets trophiques sur la muqueuse colique, induction de la CaBP...).

### **1.7.1.2. Facteurs antioxydants/anti-inflammatoires et vitamines**

#### **. Vitamine C**

Cette vitamine est impliquée dans les réactions d'hydroxylation nécessaires à la synthèse de la matrice de collagène (type I) de l'os (hydroxylation des résidus lysine et proline du procollagène), et elle pourrait aussi promouvoir la différenciation des ostéoprogéniteurs (cellules stromales ST2) alors que les données sur les cellules impliquées dans la résorption osseuse sont plus conflictuelles.

La vitamine C intervient bien entendu sur le statut anti-oxydant (piégeage de radicaux libres ou, *a contrario*, production de OH° en présence de fer (dans le cadre de la réaction inflammatoire). Toutefois, les effets protecteurs de la vitamine C sont souvent conditionnels (efficace que chez les fumeuses, ou dans certaines tranches d'âge) même si des taux faibles de vitamine C plasmatique sont généralement retrouvés chez les sujets ostéoporotiques, sachant que la vitamine C pourrait alors être un marqueur autant qu'un agent causal. A côté de la vitamine C, les fruits et légumes renferment de faibles quantités de vitamine E qui peuvent participer de façon non négligeable à l'apport quotidien (fruits secs, fenouil, kiwi, salsifis...). L'impact des apports en vitamine E a généralement été pris en compte dans le cadre plus général de l'apport en principes antioxydants, c'est-à-dire en association avec la vitamine C et éventuellement d'autres composés.

#### **. Polyphénols**

Si l'on écarte les isoflavones, très étudiées pour leurs propriétés pseudoestrogéniques mais absentes des fruits et légumes courants, les effets des autres polyphénols ont pour l'instant été essentiellement étudiés sur modèle animal. Des effets de prévention de l'ostéopénie par la rutine (quercétine glycosylée) ont été montrés chez la ratte OVX, impliquant probablement le puissant effet antioxydant de la quercétine ou de ses métabolites. Des effets notables ont été obtenus également avec des dérivés de la naringénine, faiblement antioxydante ainsi qu'avec l'oleuropéine, le resveratrol ou la phloridzine. La mise en évidence d'effets des flavonoïdes natifs des fruits et légumes chez l'homme reste très difficile du fait de la complexité du profil des flavonoïdes dans un produit donné et de la diversité de composition entre les divers fruits et légumes.

#### **. Vitamine K**

Les légumes foliaires (épinards, salade, brocolis) sont les principales sources de vitamine K1, mais les légumes racines (carottes, pomme de terre) sont relativement pauvres en cette vitamine. Les données actuelles suggèrent que les besoins en vitamine K sont en général bien couverts pour ce qui est du contrôle de l'hémostase et de la coagulation ; par contre il semble que la carboxylation optimale de l'ostéocalcine et de la protéine GLA matricielle (impliquées dans le contrôle du processus de minéralisation) requiert des apports plus élevés en vitamine K. En pratique, on observe que les patients ostéoporotiques présentent des faibles concentrations circulantes en phylloquinones et menaquinones et les patients sous warfarine présentent un risque ostéoporotique accru. Les premiers essais de supplémentation en vitamine K augmentent la carboxylation de l'ostéocalcine et améliorent le statut osseux.

#### **. Vitamines du groupe B**

Une corrélation entre homocystéinémie élevée et risque de fracture ostéoporotique a été rapportée chez les individus atteints d'homocystéinurie (qui présentent des hyperhomocystéinémies), et dans

l'étude NHANES III entre les sujets présentant des homocystéinémies  $>20 \mu\text{mol/L}$  et ceux avec des homocystéinémies  $<10 \mu\text{mol/L}$ . Il s'agit donc de situations relativement extrêmes. Parmi les nombreuses vitamines impliquées dans le contrôle du métabolisme de l'homocystéine, la vitamine B6 (dérivée de la pyridoxine) et surtout la vitamine B9 (acide folique, dans les légumes foliaires en particulier) peuvent être apportées en quantités notables par les fruits et légumes. Par ailleurs, la sensibilité aux apports en vitamine B9 peut être modulée par le polymorphisme de la méthylène tetrahydrofolate réductase, qui pourrait retentir sur le métabolisme osseux indépendamment de l'homocystéine par "linkage disequilibrium" avec des gènes voisins, tels que celui de la lysine hydroxylase I impliquée dans le métabolisme du collagène.

### **1.7.1.3. Autres nutriments potentiellement protecteurs**

Les acides gras n-3 sont désormais identifiés comme des composés susceptibles d'avoir un rôle protecteur vis-à-vis des problèmes d'ostéoporose, mais les fruits et légumes sont des sources très limitées en ces composés, hormis certains produits riches en lipides (avocats par exemple, graines diverses).

Les composés pseudo-oestrogéniques (en général par l'intermédiaire de métabolites bactériens) tels que isoflavones ou lignanes sont peu importants dans les fruits ainsi que dans la plupart des légumes.

### **1.7.1.4. Nutriments des fruits et légumes susceptibles d'avoir un impact négatif**

Les phytates sont peu abondants dans les fruits et seules les légumineuses peuvent en contenir des quantités non négligeables, mais qui ne posent pas de problèmes dans le contexte d'une alimentation omnivore. Par contre, les fruits et légumes sont une source majeure d'oxalate alimentaire, mais la richesse en oxalate est confinée à quelques produits (rhubarde, épinards, oseille). L'oxalate n'est que partiellement absorbé et cette absorption est fortement réduite par la présence simultanée de calcium dans l'alimentation ; par ailleurs il existerait des différences individuelles dans la capacité d'absorption de l'oxalate liées à la composition de la microflore bactérienne.

## **1.7.2. Etudes épidémiologiques sur les relations possibles entre consommation de fruits et légumes et statut osseux**

Il faut tout d'abord noter que les études d'intervention sont pour l'instant très peu nombreuses et portent sur de faibles effectifs (Tableau 1.7-1). Leur durée étant limitée, les critères d'efficacité sont des marqueurs intermédiaires du statut osseux. A côté de ces études, il en existe plusieurs autres montrant l'efficacité du K citrate ou K bicarbonate sur le métabolisme calcique.

La fréquence de parution des études d'observation n'est importante que depuis 2004, ce qui laisse peu de recul.

Les populations étudiées sont très différentes du point de vue de l'âge : sur les moins de 20 ans, sur des groupes d'âge moyen (45-60 ans). Il existe aussi des études comportant des populations d'âges très différents (Michaelsson et al., 1995, Prynne et al., 2006, Welch et al., 2007) ; par contre on n'identifie pas vraiment d'étude portant spécifiquement sur des groupes relativement âgés (75 ans et plus).

Dans l'ensemble, les études trouvent des effets sensibles des fruits et légumes sur certains paramètres du métabolisme osseux et calcique, généralement plus significatifs chez la femme. Si on considère les études portant sur plus de 1000 sujets, celle de Welch et al (2007) qui a corrélé la densité osseuse (calcaneum) et le PRAL de la ration (lié à l'apport en fruits et légumes) semble particulièrement pertinente. Elle trouve effectivement un impact favorable des rations à PRAL négatif (alcalinisantes) sur la densité osseuse, mais seulement chez les femmes. L'étude ne trouve pas de relation significative entre PRAL de la ration et risque de fracture. Il faut noter que cette étude n'a pas segmenté la population étudiée en fonction de l'âge et ne prend donc pas en compte des différences de réponses rénales au PRAL de la ration en fonction de l'âge.

Donc, à l'heure actuelle, on ne dispose que de très peu de données sur l'impact des fruits et légumes sur le risque fracturaire lui-même (et ce type de donnée sera très long à obtenir), alors que des effets favorables sur les marqueurs du statut osseux tendent à s'accumuler au fil des années.

### 1.7.3. Conclusions

. Même si le risque de développer une ostéoporose est pour une part notable dépendant de facteurs non nutritionnels (origine ethnique, facteurs héréditaires...), les facteurs nutritionnels ont néanmoins un poids important et il existe des possibilités d'action préventive dans ce domaine . Même si le rôle des facteurs calciques (calcium, vitamine D...) est reconnu, il est clair que les facteurs extracalciques jouent aussi un rôle critique et souvent synergique avec le calcium.

. Les études sont actuellement relativement peu nombreuses, même si leur nombre augmente rapidement. Le rapprochement entre les diverses études est rendu difficile par le fait que les paramètres de la santé osseuse étudiés sont variés : densité osseuse à différents âges, niveau de calciurie ou incidence des fractures ostéoporotiques.

. A l'heure actuelle, il est difficile d'identifier des aliments de la catégorie fruits et légumes plus spécifiquement protecteurs. Par contre, certains nutriments sont régulièrement identifiés comme protecteurs : sels organiques de potassium (et de magnésium), vitamine C, polyphénols, voire vitamine K...

. Les populations concernées par les questions de prévention nutritionnelle de l'ostéoporose ne se limitent pas aux sujets âgés ostéopéniques ou aux femmes pendant la période péri-ménopausale. La prévention nutritionnelle de l'ostéopénie concerne aussi (peut être même avant tout) les sujets jeunes, en particulier la transition adolescents/jeunes adultes qui correspond au pic de masse osseuse au cours de la vie, chez qui la sous-consommation de fruits et légumes est un problème récurrent.

. D'un point de vue communication nutritionnelle sur les fruits et légumes, les chiffres préconisés pour un apport optimal de potassium/anions organiques apportent des arguments forts aux recommandations de type '5-10 par jour'.

**Tableau 1.7-1. Etudes épidémiologiques sur les relations possibles entre consommation de fruits et légumes et statut osseux**

Etude (titre publication)	Année parution	Auteurs	Journal	Type	Nombre de sujets	Age	Conclusions	Commentaires
More acidic dietary acid-base load is associated with reduced calcaneal broadband ultrasound attenuation in women but not in men: results from the EPIC-Norfolk cohort study	2007	(Welch <i>et al.</i> , 2007)	Am J Clin Nutr (2007), 85(4): 1134-1141	Transversal	14563 (hommes & femmes)	42-82	Une ingestion élevée de précurseurs acidifiants (PRAL élevé) était significativement associée à un plus faible BUA calcanéol chez les femmes, mais pas chez les hommes. Pas de relation notée entre PRAL et historique de fractures ou incidence de fractures. Les sujets présentant un PRAL élevé consommaient plus de viande, poisson, œufs et produits céréaliers, et avaient une moindre consommation de fruits et légumes.	
Impact of seafood and fruit consumption on bone mineral density	2007	(Zalloua <i>et al.</i> , 2006)	Maturitas (2007), 56: 1--11	Transversal	5848 hommes & 6207 femmes	25-54	Une plus forte consommation de fruits était associée à une BMD plus élevée pour les deux sexes, alors qu'aucun impact positif des légumes n'a été mis en évidence	
Fruit and vegetable intakes and bone mineral status: a cross sectional study in 5 age and sex cohorts	2006	(Prynne <i>et al.</i> , 2006)	Am J Clin Nutr (2006) 83: 1420-1428	Transversal	adolescents (filles 125 & garçons 132), jeunes femmes 120 et des sujets âgés (femmes 73 et hommes 70).	16-18, 23-37 et 60-83	chez les adolescents (quel que soit le sexe) et les femmes âgées, une relation positive peut être trouvée entre densité minérale osseuse et consommation de fruits. Chez les garçons uniquement, la DMO du col du fémur était positivement associée avec la consommation de fruits et de vitamine C. Aucune association n'a pu être montrée chez les jeunes adultes entre DMO et la consommation de légumes.	
Greater fruit and vegetable intake is associated with increased bone mass among postmenopausal Chinese women	2006	(Chen <i>et al.</i> , 2006)	Br J Nutr (2006) 96: 754-751	Transversal	670 femmes chinoises post-ménopausées	48-63	Association positive indépendante entre consommation de fruits et légumes et DMO (toutes localisations) après ajustement par rapport à l'âge, le temps post-ménopause, la taille et la poids, l'ingestion d'énergie/protéines/Ca et l'activité physique. Une élévation de la consommation journalière de fruits et légumes de 100 g/j conduit à une élévation de la DMO de 0,0060 à 0,0098 g/cm <sup>2</sup> selon la localisation	Quintiles extrêmes très différents, min 222 g/j et max 749 g/j, effet protecteur surtout sur le quintile le plus élevé. Mode de consommation des fruits et légumes assez particulier: prédominance des agrumes pour les fruits, et forte prédominance des légumes foliaires pour les légumes.
Positive effects of vegetable and fruit consumption and calcium intake on bone mineral accrual in boys during growth from childhood to adolescence: the University of Saskatchewan Pediatric Bone Mineral Accrual Study.	2005	(Vatanparast <i>et al.</i> , 2005)	Am J Clin Nutr (2005) 82: 700-706	Longitudinal (7 ans)	85 garçons et 67 filles	8 à 20	la majorité des garçons (88%) avaient des apports adéquats en Ca (Canada: 1300 mg/j). Seule une minorité de sujets (<30%) consommaient des F & L à raison de 5-10 parts/j. Une analyse (multivariée) montre que l'ingestion de fruits et légumes, celle de Ca et le niveau d'activité physique sont des prédicteurs indépendants de la masse osseuse minérale chez les garçons (mais pas chez les filles)	L'absence d'effet des fruits et légumes chez les filles pourrait être dû à une sous-déclaration (underreporting) des consommations alimentaires dans ce groupe
Low dietary potassium intake and high dietary estimates on net endogenous acid production are associated with low bone mineral density in premenopausal women and increased markers on bone resorption in postmenopausal women	2005	(Macdonald <i>et al.</i> , 2005)	Am J Clin Nutr (2005) 81: 923-933	Longitudinal (4 ans)	5119 femmes	45 à 54	La comparaison des quintiles de consommation de K les plus hauts avec les plus bas (ou des NEAP les plus bas avec les plus hauts) montre une augmentation de 6-8% des ratios fPYD/creatinine et fDPD/creatinine. Une différence de 8% de la BMD a été observée entre les quartiles de consommation de K les plus hauts et les plus bas	Le K de la ration, un indicateur de NEAP et d'ingestion de F & L, peut exercer un effet modeste sur les marqueurs de santé osseuse et à long-terme sur le risque d'ostéoporose
Potassium intake and the calcium economy	2005	(Rafferty <i>et al.</i> , 2005)	J Am Coll Nutr (2005) 24: 99-106	Longitudinal (5 ans)	191 femmes étudiées 1 à 5 fois à environ 5 ans d'intervalle (644 études au total). 301 études ont été menées après ménopause, sans hormonothérapie substitutive, 343 études ont été effectuées avant ménopause ou après ménopause mais avec une thérapie de substitution aux oestrogènes	50 à 55	Le K alimentaire était fortement associé (négativement) avec le niveau de calciurie. Cependant, le K alimentaire était négativement corrélé avec l'absorption de Ca marqué et n'était pas associé avec le Ca urinaire après ajustement sur l'absorption de Ca.	Les régimes riches en K diminuent la calciurie, mais ceci ne semble pas affecter notablement la Ca economy, sans doute parce que la moindre calciurie s'accompagne d'une réduction de l'absorption intestinale. Cependant, il faut noter que les consommations élevées de Ca dans

								cette étude étaient surtout dues aux produits laitiers et à la viande..."cannot exclude a possible balance effect for different food sources of K".
Fruit and vegetable consumption and bone mineral density: the Northern Ireland Young Hearts Project	2004	(McGarland <i>et al.</i> , 2004)	Am J Clin Nutr (2004) 80: 1019-1023	Transversal	Cross-sectional epidemiologic study 'Young Hearts 2000' : garçons (324) et filles (378) de 12 ans et garçons (274) et filles (369) de 15 ans.	12 à 15	En utilisant des régressions multiples pour tenir compte des facteurs confondants possibles, il a été observé que les filles de 12 ans fortes consommatrices de F&L avaient une BMD du talon plus élevée que chez les faibles consommatrices	Les pommes de terre sont exclues des légumes
Dietary acid-base balance and intake of bone-related nutrients in Cambridge teenagers	2004	(Prynne <i>et al.</i> , 2004)	Eur J Clin Nutr (2004) 58: 1462-1471	Longitudinal (3 jours)	111 garçons et 101 filles	16 à 18	Les valeurs moyennes de consommation de Ca et P étaient au dessus des ANR UK. 39% des garçons et 36% des filles avaient des apports en vitamine K inférieurs à 1 mg/kg BW/j. La consommation de Ca était corrélée positivement à tous les autres nutriments excepté les vitamines C et K. Les garçons avaient une NAEind plus élevée que les filles. Une corrélation positive a été observée entre NAE et la consommation journalière de lait, fromage, viande et céréales et une corrélation négative avec la consommation de pommes de terre et de fruits.	Avec le type de consommation des adolescents, une moindre NAE était accompagnée d'une moindre ingestion de Ca.
Fruit and vegetable intakes are an independent predictor of bone size in early pubertal children.	2004	(Tylavsky <i>et al.</i> , 2004)	Am J Clin Nutr (2004) 79: 311-317.	Transversal	56 filles (Tanner stage 2) dont la consommation était enregistrée indépendamment sur 3 jours. Les sujets sont répartis selon deux typologies de consommation de F&L : faible (<3 parts/j), élevée (>3 parts/j).		Après ajustement pour l'âge, le BMI et l'activité physique, les filles qui consommaient plus de 3 parts/j avait une surface osseuse dans le corps entier et le radius plus élevée (6,0 et 8,3%), une plus faible excrétion de Ca et une moindre sécrétion de pTH	Une consommation élevée de F&L a des effets bénéfiques sur la bone area du radius et du corps entier chez des filles pré-pubères. La plus faible calciurie associée avec une ingestion élevée de F&L peut être un facteur important
Diet and hip fracture risk: a case-control study. Study Group of the Multiple Risk Survey on Swedish Women for Eating Assessment.	1995	(Michaelsson <i>et al.</i> , 1995)	Int J Epidemiol (1995) 24: 771-782	Transversal	65000 femmes	47 à 81	Quand on compare le quartile le plus élevé au quartile le plus faible, pour l'ingestion d'un nutriment donné, le Fe (OR 3,3), le Mg (OR 2,7) et la vitamine C (OR 1,9) ont été retrouvés comme facteurs indépendants de risque de fracture de la hanche. Une ingestion élevée de Ca n'était pas protectrice. Identification de divers facteurs défavorables liés au mode de vie (tabagisme, manque d'activité physique, faible BMI, diabète) et un rôle protecteur de l'hormonothérapie substitutive.	difficile à interpréter, de l'aveu des auteurs eux-mêmes. Qualité du questionnaire ?
Dietary acid-base balance, bone resorption, and calcium excretion	2006	(Jajoo <i>et al.</i> , 2006)	J Am Coll Nutr (2006) 25: 224-230	Intervention (60 j)	40 hommes & femmes	64	Chez tous les sujets, les changements de NAE rénale(RNAE) étaient corrélés avec ceux de pTH, N-télopeptide urinaire (NTX) et calciurie	.
Effect of fruit on net acid and urinary calcium excretion in an acute feeding trial of women	2004	(Bell et Whiting, 2004)	Nutrition (2004) 20: 492-493	Intervention	15 sujets Comparaison de l'effet de pommes fraîches ou d'applesauce' chez des sujets recevant un repas expérimental de base à base de protéine et de sucre. La taille des portions d'applesauce était 2,5 fois plus grande que celle de pommes fraîches et étaient équivalente à 7 portions de fruits (1,6 mM de K), contre 2 parts environ pour les pommes fraîches (7,4 mM de K).	?	Comparé aux conditions normales, le repas expérimental élève la RNAE et la calciurie. Les deux présentations de pommes diminuent la RNAE en dessous de la valeur témoin, et réduisent (sans l'abolir entièrement) l'hypercalciurie.	Dans ce modèle, les fruits frais ou transformés sont efficaces, mais les seconds doivent être donnés en plus forte quantité

## 1.8. Les intolérances aux fruits et légumes

### 1.8.1. Allergies aux fruits et légumes

Christophe Dupont

La réaction allergique décrit une réactivité immunologique aux protéines présentes dans les aliments. Cette réactivité est en général médiée par des immunoglobulines spécifiques, les IgE, et plus rarement par des mécanismes immunologiques non IgE médiés. Les protéines responsables sont propres à chaque aliment, et responsables de symptômes variables, dont le plus sévère est le choc anaphylactique.

Il existe aussi, pour les fruits et légumes, une réactivité croisée avec les pollens : un sujet allergique à un pollen pourra manifester une réaction clinique lors de l'ingestion d'un fruit ou légume dont les protéines comportent des similitudes.

Il semble exister une forte progression du nombre des allergies aux fruits et légumes, qui représentent maintenant près de 60% des cas d'allergies alimentaires tous âges confondus (Deville and Pauli, 1997).

#### 1.8.1.1. Les allergènes des fruits et légumes

Le séquençage du génome du modèle d'espèce *Arabidopsis* montre qu'il existe un codage d'environ 25 000 protéines qui, sur la base de leurs fonctions, peuvent se classer en protéines structurales et métaboliques, en protéines de protection, qui défendent la plante contre l'invasion des pathogènes ou des parasites et les protéines de stockage, qui fournissent un support nutritionnel à la germination dans les graines. Les protéines qui déclenchent le développement des réponses allergiques au travers du tractus digestif appartiennent essentiellement à deux grandes super familles (Breiteneder and Radauer, 2004; Mills, Jenkins et al., 2004).

La super famille des prolamines comprend les trois groupes majeurs d'allergène végétaux, les albumines, les protéines de transfert lipidique et les inhibiteurs d'alpha amylase et de trypsine de céréales, qui ont des structures liées et sont stables lors des processus thermiques et de la protéolyse. Ce dernier groupe inclut des allergènes majeurs de la noix du Brésil, de l'arachide, des fruits comme les pêches et des céréales comme le riz et le blé.

La super famille des cupines comprend la majorité des globulines, protéines de stockage d'un grand nombre de végétaux. Les globulines sont également des allergènes retrouvés dans les aliments végétaux comme l'arachide, le soja, et la noisette.

La famille des cystines protéases C1 comprend les protéases de type papaye venant des microbes, des plantes ou des animaux. Cette famille contient deux allergènes notables qui sensibilisent au travers du tractus digestif, notamment l'actinidine du kiwi et l'allergène du soja Gly m Bd 30k/P3.

Il est actuellement possible de définir les protéines de structure et la relation au cours de l'évolution de ces familles de protéines de l'allergène qui leur appartient, et de discuter le rôle de la structure protéique dans la détermination de l'allergénicité protéique.

#### 1.8.1.2. Le choc anaphylactique

##### . Le choc anaphylactique

Le choc anaphylactique est l'une des trois manifestations potentiellement létales de l'allergie, à côté de l'angio-œdème laryngé asphyxique et de l'asthme aigu grave (Moneret-Vautrin, 2007). Le choc

correspond à une hypotension systolique majeure (collapsus). Si le terme français souligne le collapsus, élément majeur de la gravité de l'anaphylaxie, les auteurs anglo-saxons l'englobent plus volontiers sous le terme général d'anaphylaxie sévère, définie par l'atteinte d'au moins deux organes et pouvant être dominée par l'asthme aigu grave ou par l'angio-œdème laryngé.

### **. La fréquence de l'anaphylaxie sévère**

L'anaphylaxie sévère touche 1 à 3 personnes sur 10 000, le chiffre paraissant plus élevé aux Etats-Unis, avec une létalité de 0,6 à 2%, soit une mort par million d'habitants (Moneret-Vautrin, 2007). Il existe, depuis une dizaine d'années, une importante augmentation de fréquence de l'anaphylaxie de toute origine, d'un facteur 2 à 5, d'après les études anglaise, australienne et française. Aux Etats-Unis, l'anaphylaxie alimentaire motive 29 000 passages annuels dans les services d'urgence et rend compte de 125 à 150 décès par an. (Moneret-Vautrin, 2007).

La part de l'allergie alimentaire au sein de l'anaphylaxie sévère est très variable selon les études : de 9 à 38% selon les grandes séries publiées. Si l'allergie alimentaire est trois fois plus fréquente dans la population pédiatrique que dans la population adulte, le choc anaphylactique est plus rare que dans cette population que chez l'adulte : 4,9% des allergies alimentaires de l'enfant contre 30% chez l'adulte. La fréquence dépend de l'âge : les données du Centre d'investigations cliniques et biologiques en allergologie alimentaire (Moneret-Vautrin, 2007) portant sur 974 enfants allergiques alimentaires montrent une incidence du choc anaphylactique de 3,4% entre 1 et 3 ans, de 6,4% entre 3 et 6 ans et de 17,8% entre 6 et 15 ans.

### **. Les aliments en cause**

La place de l'arachide et des fruits à coque est universellement reconnue. Le tableau 1.8-1 communique la situation en France, où l'arachide, la noix de cajou, les laits de vache et de brebis, la farine de lupin attirent plus particulièrement l'attention.

**Tableau 1.8-1.** Etiologie de 110 cas d'anaphylaxies sévères de l'enfant déclarées par le Réseau d'Allergo-Vigilance (2002-2005)

<i>Allergènes identifiés</i>	<i>n</i>	<i>%</i>
Arachide	27	24,5
Fruits secs à coque	29	26,4
Noix du Brésil	2	
Noix de cajou	14	
Noix	5	
Noisette	2	
Pistache	2	
Pignon de pin	3	
Châtaigne	0	
Amande	1	
Lait de vache	18	16,3
Lait de chèvre	12	
Lait de brebis	3	
Crustacés (crevette)	6	
Légumineuses	5	4,5
Soja	2	
Farine de lupin	2	
Lentilles	3	
Mollusques (escargot)	5	4,5
Viandes	3	2,7
Volaille (dinde, pintade)	1	
Porc	1	
Bœuf	1	
Sarrasin (croisant avec le latex)	2	1,8
Céleri	3	2,7
Farine de blé	1	0,9
Œuf	1	0,9
Choc idiopathique	1	0,9

Les habitudes régionales de consommation ont des répercussions sur le rang des aliments : par exemple, moutarde et kiwi sont plus fréquemment incriminés dans le Sud-Ouest. La place des allergènes masqués, non étiquetés, échappant à la vigilance parentale, qui était de 12% en 2002 et qui est actuellement chiffrée à 19% des cas, est préoccupante. Les oléosines sont des allergènes majeurs récemment identifiés. Elles ont été responsables d'un choc anaphylactique sévère chez un enfant induit par un arôme dont le support était l'huile de sésame.

### **1.8.1.3. Le syndrome d'allergie orale**

#### **. Le syndrome d'allergie orale (OAS)**

Le syndrome d'allergie orale (OAS) est une réaction immunologique à certaines protéines dans une variété de fruits, légumes et noix, qui se développe chez certains sujets présentant une allergie au pollen et touche préférentiellement la bouche et la gorge. Ces réactions ne sont pas liées aux pesticides ou aux métaux lourds.

#### **. Les personnes touchées et les pollens impliqués**

L'OAS est presque toujours précédé par le rhume des foins et tend à survenir chez l'enfant comme chez l'adulte. Il est habituellement associé aux allergies au pollen de bouleau mais peut aussi toucher les sujets allergiques aux pollens de graminées, à l'ambroisie (plus fréquent en Amérique du Nord) et à l'armoise (plus fréquent en Europe). Ces réactions peuvent survenir à toute époque de l'année mais sont souvent plus fréquentes au cours de la saison pollinique.

A titre d'exemple, 50 à 70% des allergiques au pollen de bouleau sont sensibilisés aux fruits et aux légumes de la famille des Rosacées (pommes, cerises, pêches, abricots) et des Bétulacées (noisettes), et 50% des allergiques aux Composées (armoise et ambroisie) ont une sensibilisation au céleri.

#### **. Les aliments impliqués**

Les aliments impliqués dans l'allergie croisée au bouleau, l'armoise, l'ambroisie et les graminées sont listés dans le tableau 1.8-2. La plupart des réactions sont déclenchées par les aliments crus, puisque les protéines allergéniques sont habituellement détruites par la cuisson (elles sont labiles à la chaleur). Les principales exceptions sont le céleri et les fruits à coque, qui peuvent déclencher des réactions même après cuisson. Certaines parties de la plante, comme la peau, sont plus allergéniques que d'autres, mais les caractéristiques allergiques de certains fruits semblent diminuer pendant la conservation. Les aliments associés à l'OAS qui peuvent aussi déclencher des réactions anaphylactiques sont le kiwi, la noisette, la pomme de terre, le céleri, le persil, les haricots, et le cumin.

On décrit aussi les syndromes identifiés : "bouleau-armoise-céleri", "pollens de graminées-tomate", "ambroisie-melon-banane", "céleri-épices", "ambroisie-kiwi", "pollens de graminées-pollens de céréales", et les allergies croisées entre les différentes légumineuses : "arachide-pois-soja", "arachide-lentilles", "arachide-lupin".

#### **. Les bases de la réactivité pollens-aliments**

Ces associations d'allergies alimentaires et polliniques sont expliquées par des communautés antigéniques : les profilines, protéines du cytosquelette végétal communes à ces différents végétaux ainsi qu'au latex, lui-même d'origine végétale (Radauer and Breiteneder, 2007).

On invoque aussi le rôle de diverses protéines communes à différents végétaux : protéine PR, protéines de transfert lipidique, protéines de stress (mises en jeu lors d'agressions infectieuses ou parasitaires), panallergène de 60 kDa commun à de nombreux végétaux susceptible d'expliquer l'apparition d'allergies inattendues à des aliments nouvellement introduits. Les chitinases de classe I sont des allergènes (30 à 45 kDa) impliqués dans les réactions croisées entre le latex et les fruits (avocat), mais pas dans les allergies isolées au latex ou aux fruits.

### **. Les symptômes et leur apparition**

Les symptômes comprennent le prurit et le gonflement des lèvres, de la bouche et de la gorge, la conjonctivite, le nez qui coule et les éternuements. Pour certains sujets, le simple fait de toucher le fruit ou de le peler peut entraîner une éruption (rash), un prurit ou un gonflement lorsque le jus touche la peau.

Des réactions plus sérieuses peuvent prendre la forme de papules d'urticaire ou de gonflement du pharynx et des voies respiratoires. Dans de rares cas, des réactions allergiques sévères ont été rapportées sous la forme de vomissement, de diarrhée, d'asthme, d'urticaires généralisées et de choc anaphylactique. Les symptômes se développent dans les minutes qui suivent la consommation ou l'approche de l'aliment, beaucoup plus rarement plus d'une heure plus tard.

**Tableau 1.8-2.** Aliments les plus fréquemment associés aux allergies aux pollens de bouleau, d'ambroisie, de graminées et d'armoise

Allergie au type de pollen	Peut aussi déclencher une réaction allergique à ces aliments :
Bouleau	Fruits : kiwi, pomme, poire, prune, pruneau, pêche, nectarine, abricot, cerise Légumes : céleri, carotte, panais, persil, aneth, anis, cumin, coriandre, fenouil, pomme de terre, tomate, poivron vert, lentilles, pois, haricot, cacahuète Noix : noisette, noix, amande Graines : tournesol
Ambroisie	Fruits : banane, pastèque, cantaloup, honeydew Légumes : courgette, concombre
Graminées	Fruits : melon, pastèque, tomate, orange, kiwi
Armoise	Fruits : pomme, pastèque, melon Légumes : céleri, carotte

#### **1.8.1.4. Les réactions allergiques non IgE-médiées**

Certains enfants présentent au cours des premières années de la vie un état de poly-allergie alimentaire, au cours duquel une alimentation extrêmement restrictive est seule tolérée. Ces poly-allergies alimentaires peuvent toucher tous les aliments, notamment les céréales, fruits et légumes. Elles ne s'associent pas obligatoirement à un mécanisme IgE-médié et le seul moyen diagnostique est la réalisation de patch tests, au cours desquels l'application sur la peau de l'aliment pendant 48 heures permet de déclencher une réaction locale retardée, à l'image de la réaction retardée induite par l'ingestion de l'aliment chez l'enfant.

Les symptômes de ces poly-allergies alimentaires chroniques associent la survenue d'un malaise général au cours de l'ingestion de l'aliment, des vomissements et de la diarrhée à répétition.

Le traitement de cette poly-allergie alimentaire est l'utilisation pendant une période parfois relativement longue de formules à base d'acides aminés, dont la consommation par l'enfant est prolongée jusqu'à l'apparition d'une tolérance qui survient généralement au-delà de l'âge de 3 à 4 ans.

#### **1.8.2. Troubles fonctionnels digestifs**

Parmi différents constituants, les fruits et légumes contiennent des fibres en proportions variables. Celles-ci sont constituées d'éléments à faible (fibres solubles : pectines ou gommages) ou très faible (fibres insolubles) digestibilité. L'effet des fibres sur la fermentation intestinale et le volume des selles est bien établi. Ainsi la présence de fibres végétales représente un élément important de la physiologie intestinale et du contenu intraluminal. Par contre, la présence de fibres, notamment crues, est souvent tenue pour responsable de nombreuses manifestations d'intolérance intestinale ("Irritable Bowel Syndrome - IBS" ou syndrome du côlon irritable). Le rôle des fibres végétales dans la pathogénie et le

traitement des troubles intestinaux fonctionnels reste très controversé. L'analyse de la littérature montre que les études ne sont pas très nombreuses et que leurs résultats ne permettent pas de conclusions définitives.

Une méta-analyse récente (Bijkerk et al., 2004) résumant différentes études concernant les fibres et les pathologies fonctionnelles coliques a conclu que si les fibres peuvent améliorer la constipation [risque relatif 1,56 ; 95% d'intervalle de confiance, (1,21-2,02)], rien ne permet de retenir un effet sur les douleurs abdominales. Les fibres solubles semblent plutôt avoir un effet bénéfique [RR 1,55 ; 95% IC, (1,35-1,78)], tandis que les fibres insolubles aggraveraient plutôt les troubles, cet effet n'étant toutefois pas significatif [RR 0,89 ; 95% CI, (0,72-1,11)]. Cette étude conclut que l'effet global des fibres sur les troubles fonctionnels digestifs est marginal. Ainsi il semble raisonnable d'attirer l'attention de tous les prescripteurs ou consommateurs concernant l'enrichissement ou au contraire l'exclusion des régimes en constituants végétaux ou en fibres ajoutées (Tan and Seow-Choen, 2007). Les croyances concernant ces éléments contenus dans l'alimentation reposent davantage sur des opinions basées sur l'expérience individuelle que sur des travaux réellement convaincants. Cependant, il s'agit plutôt d'incertitudes nécessitant la réalisation d'études cliniques plus probantes.

## 1.9. Exposition aux pesticides liée à la consommation de fruits et légumes

Claudie Roy

### 1.9.1. Contexte

Le système intensif de la production agricole à haut rendement, développé jusqu'à nos jours, est lié à l'utilisation massive de produits phytopharmaceutiques (pesticides) très efficaces dans la protection des végétaux. La France est ainsi le troisième consommateur mondial de pesticides et tient le premier rang au niveau européen (78 268 t vendues en 2005, source : UIPP). Compte tenu de leur présence importante dans l'environnement, notamment dans l'eau (IFEN, 2006), de leur toxicité, de leur impact négatif sur l'environnement et des effets potentiels nocifs sur la santé humaine, ces produits font l'objet d'une réglementation qui se renforce progressivement et de mesures visant à réduire leur utilisation ou leur impact (INRA and Cemagref, 2005). Cette prise de conscience du risque lié à l'utilisation des pesticides concerne la population générale et ces inquiétudes sont régulièrement relayées dans la presse, notamment la presse consumériste, ainsi qu'à travers les réseaux d'ONG, d'associations, ou de citoyens<sup>3</sup>.

C'est dans ce contexte que se situent, en France, un certain nombre d'actions :

- Alerte du Comité de la prévention et de la précaution (CPP, 2002) sur la nécessité de tenir compte des risques liés aux pesticides,
- Plan national santé-environnement 2004-2008 dont un des objectifs est de prévenir les pathologies d'origine environnementale et notamment les cancers,
- Création de l'Observatoire des résidus de pesticides (ORP),
- Expertise scientifique collective INRA-Cemagref à la demande des ministères chargés de l'agriculture et de l'écologie, sur les moyens de réduire l'emploi des pesticides et de limiter les impacts environnementaux (INRA and Cemagref, 2005),
- Plan interministériel de réduction des risques liés aux pesticides 2006-2009 (juin 2006).

Ces actions s'inscrivent dans les politiques (*stratégies*) communautaires :

- **Stratégie thématique concernant l'utilisation durable des pesticides** COM(2002)349 et COM(2006)372, inscrite dans le 6<sup>e</sup> programme d'action pour l'environnement [COM(2001)31] *en vue de réduire les impacts des pesticides sur la santé humaine et sur l'environnement, et, plus généralement, de parvenir à une utilisation plus sûre des pesticides et à une réduction globale sensible des risques, tout en assurant la protection nécessaire aux cultures.*
- **Stratégie européenne en matière de santé/environnement** "SCALE initiative" COM(2003)338 et plan d'action 2004-2010 en faveur de l'environnement et de la santé COM(2004)416 (*pour améliorer les informations et les connaissances et renforcer la coordination entre le secteur de la santé, de l'environnement et de la recherche tant au niveau UE que national*). *Le but de cette stratégie est de réduire les maladies liées à des facteurs environnementaux y compris les produits chimiques et les pesticides. Elle se focalise sur les groupes les plus vulnérables de la société, notamment les enfants, et doit contribuer à une utilisation plus sûre des pesticides.*

---

<sup>3</sup> Par exemple: Pesticide Action Network International <http://www.pan-international.org/panint/?q=node/33> et France Nature Environnement : <http://www.fne.asso.fr>

## Glossaire

**Biocide** : Produit destiné à détruire, repousser ou à rendre inoffensifs les organismes nuisibles, à en prévenir l'action ou à les combattre de toute autre manière, par des moyens chimiques ou biologiques (*selon la directive 98/8/CE concernant les biocides*)

**Pesticide** : Terme général utilisé pour désigner à la fois les produits phytopharmaceutiques (PPP) et les biocides. Les PPP constituent le groupe le plus important des pesticides dont l'historique législatif est le plus ancien. Le terme est utilisé ici pour désigner à la fois les substances actives et les préparations commerciales des PPP.

**Produit phytopharmaceutique** : Produit servant à protéger les plantes contre les organismes nuisibles : insectes et champignons (insecticide et fongicide), qui détruit les plantes indésirables (herbicide) ou qui agit comme régulateur de croissance.

**Substance active** : produit chimique (molécule) utilisé dans les produits phytopharmaceutiques qui constitue le composant essentiel qui permet aux produits phytopharmaceutiques de protéger la plante

**Perturbateur endocrinien** : "Un perturbateur endocrinien est une substance ou un mélange exogène altérant les fonctions du système endocrinien et induisant des effets nocifs sur la santé d'un organisme intact, de ses descendants ou (sous-)populations" (*programme international sur la sécurité des substances chimiques [PISC]*) L'altération de la fonction endocrine engendrée par un perturbateur endocrinien peut survenir par interférence, dans l'organisme, avec la synthèse, la sécrétion, le transport, la liaison (aux récepteurs des cellules) ou l'élimination des hormones naturelles qui sont responsables de la maintenance de l'homéostasie, de la reproduction, du développement et du comportement. Ces substances peuvent agir en mimant, activant (agoniste) ou inhibant (antagoniste) l'action des hormones. La dose, la charge corporelle, la fréquence et la durée de l'exposition à des périodes critiques de la vie sont des facteurs importants pour évaluer les effets d'un perturbateur endocrinien (*stratégie communautaire concernant les perturbateurs endocriniens : COM (1999) 706 final*).

## Contexte réglementaire (cadre législatif)

Depuis plusieurs années, l'Union européenne s'est dotée d'une législation phytosanitaire, en constante évolution, dont l'objectif est notamment de garantir la sécurité des denrées alimentaires produites à partir des végétaux, afin de protéger la santé du consommateur et de garantir la protection des cultures dans tous les Etats membres. L'Union européenne contrôle la vente et l'utilisation des produits phytopharmaceutiques (PPP) et fixe les normes permettant d'assurer la surveillance et le contrôle de leurs résidus.

L'encadrement de l'usage des pesticides s'appuie sur la Directive 91/414/CEE relative à l'autorisation de mise sur le marché des PPP. Entrée en application en 1993, elle concerne notamment l'évaluation du risque *a priori* des substances actives (molécules) nouvelles et la réévaluation des substances actives "existantes" (*i.e.* commercialisée en 1993)<sup>4</sup> selon des critères toxicologiques et écotoxicologiques qui se renforcent. Les substances actives sont évaluées au niveau communautaire en vue de leur inclusion sur une liste positive (connue sous le nom d'Annexe 1). L'évaluation des préparations commerciales contenant ces substances est effectuée par les Etats membres au niveau national. En Juillet 2006, la Commission a proposé de nouvelles règles harmonisées au niveau communautaire pour la mise sur le marché des PPP (COM(2006)388). Ce nouveau règlement, destiné à remplacer la Directive 91/414/CEE, devrait prendre effet en 2008. Par ailleurs, la Commission a également proposé une directive cadre sur les pesticides (COM(2006)373) concernant les aspects de la phase d'utilisation et de distribution, non abordés dans le nouveau règlement. Ces propositions, qui visent à renforcer la protection de la santé publique et de l'environnement, s'inscrivent dans la stratégie globale européenne concernant l'utilisation durable des pesticides (COM(2006)372).

<sup>4</sup> Fin 2003, suite à cette évaluation ou parce que certaines substances ont été abandonnées par les industriels, 450 substances actives étaient retirées du marché, ce qui représente plus de 50% des substances actives présentes sur le marché en 1993. En fin d'année 2006, l'EFSA a achevé la deuxième étape de la procédure d'évaluation concernant 50 substances actives. La troisième étape de l'examen, qui concerne 137 substances, devrait être achevée en 2008.

[http://ec.europa.eu/food/plant/protection/evaluation/index\\_fr.htm](http://ec.europa.eu/food/plant/protection/evaluation/index_fr.htm) <http://www.efsa.europa.eu/fr/science/praper.html>

La surveillance des résidus de pesticides dans les denrées alimentaires, dont les fruits et légumes (F&L), s'appuie notamment sur le règlement CE N° 396/2005 (Cf. Annexe) concernant les limites maximales applicables aux résidus (LMR) de pesticides présents dans ou sur les denrées alimentaires. Ce règlement, en cours de mise en œuvre, vise à harmoniser les LMR des pesticides au niveau européen et à remplacer les anciennes directives (fixant les LMR) par un acte unique.

### ***Les programmes de surveillance et de contrôle des résidus de pesticides dans les produits alimentaires d'origine végétale***

La Commission européenne a mis en place depuis 1996, au niveau des Etats membres, un programme de surveillance annuel des résidus de pesticides dans les produits alimentaires d'origine végétale qui fournit des données supplémentaires en vue de l'évaluation du risque. Les données de ce plan de surveillance complètent celles issues d'autres programmes de surveillance ou de contrôle nationaux qui sont également communiqués à la Commission et font l'objet d'un rapport annuel de synthèse de la situation européenne concernant les résidus de pesticides dans les produits alimentaires d'origine végétale<sup>5</sup>. Le programme de surveillance coordonné communautaire est un programme glissant, portant chaque année sur un ensemble restreint de produits dont les contrôles sont reconduits à intervalles réguliers (de 3 ans depuis 2000). Le nombre de pesticides recherchés s'accroît d'année en année : 9 en 1996, 20 de 1998 à 2000, 36 en 2001, 42 en 2003, 47 en 2004 et 55 en 2005. En France, le service de la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (DGCCRF) du ministère chargé de la consommation est le responsable du plan communautaire et des plans de surveillance et de contrôle nationaux des pesticides dans les produits alimentaires d'origine végétale issus de la production nationale ou importés, au stade de leur commercialisation, et transmet l'ensemble de ces résultats au niveau européen.

## **1.9.2. Eléments de méthodologie sur l'évaluation du risque**

Il existe un paradigme pour l'évaluation du risque des substances chimiques pour la santé humaine. Il peut être divisé en 4 étapes principales présentées ci-après dans le cas des pesticides (Renwick, 2002).

- **Identification du danger** : *Quel est l'effet toxique du pesticide ?*
- **Caractérisation du danger** : *Quelle est la relation dose-effet ? Quelle peut être la dose de sécurité pour l'homme ?*
- **Evaluation de l'exposition** : *Quelle est la dose de pesticide ingérée par l'homme ?*
- **Caractérisation du risque** : *Quel est le risque associé à l'ingestion de cette dose ?*

### **1.9.2.1. Identification et caractérisation du danger**

Les pesticides représentent un nombre important de molécules (environ 400 dont l'usage est actuellement autorisé), classées dans plusieurs familles chimiques et dont les effets toxiques sont spécifiques et peuvent être multiples. Ces substances actives sont utilisées dans plusieurs centaines de préparations commerciales.

Aucun pesticide utilisé pour la production agricole ne peut être mis sur le marché sans avoir fait l'objet d'une **évaluation de risque a priori** (Cf. ci-avant, Directive 91/414/CEE). L'identification du danger pour l'homme passe par une série de tests *in vitro* et *in vivo*, sur modèle animal, selon des lignes directrices bien définies. Ces tests de toxicité explorent notamment les effets génotoxiques, immunotoxiques, neurotoxiques, sur la reproduction, la toxicité aiguë (effet d'une dose) ou de court terme (répétition des doses sur plusieurs jours), la toxicité de long terme (chronique) et les effets cancérigènes. On distingue deux types d'effets, les effets avec seuil, pour lesquels le mécanisme d'action nécessite la présence d'une concentration suffisante de substance pour obtenir un effet, et les effets sans seuil, comme peuvent l'être les effets génotoxiques et cancérigènes, pour lesquels il

<sup>5</sup> [http://ec.europa.eu/food/fvo/specialreports/pesticides\\_index\\_en.htm](http://ec.europa.eu/food/fvo/specialreports/pesticides_index_en.htm)

n'existe pas de seuil dans la relation dose-réponse. Dans le cas des effets avec seuil, ces tests associés à l'exploration de la relation dose-réponse et à l'utilisation de facteurs de sécurité, permettant l'extrapolation des résultats de l'animal à l'homme et prenant en compte la variabilité interindividuelle, aboutissent à l'établissement de valeurs toxicologiques de références (VTR). Les VTR sont des niveaux d'exposition de sécurité pour la santé humaine. Pour les effets sans seuils, il est admis qu'aucun niveau d'exposition n'est exempt de risque. Les substances qui présentent ce type d'effets ne devraient pas se trouver dans les aliments ou du moins à des concentrations les plus faibles possibles. Cependant, il existe des méthodes d'extrapolation des effets aux faibles doses qui permettent de quantifier le risque et qui sont notamment utilisées par l'Union européenne (Feinberg et al., 2006).

On distingue deux sortes de VTR pour l'exposition alimentaire aux pesticides (effets à seuil) :

- La dose journalière admissible (DJA, ou ADI en anglais) qui est la dose toxicologique de référence utilisée pour mesurer le risque chronique de long terme. C'est la quantité estimée de substance présente dans l'aliment exprimée sur la base du poids corporel qui peut être ingérée chaque jour, pendant toute la durée de la vie, sans risque appréciable pour la santé.
- La dose de référence aiguë (ARfD, en anglais) qui est la dose toxicologique de référence utilisée pour mesurer le risque à court terme. C'est la quantité estimée de substance présente dans l'aliment exprimée sur la base du poids corporel qui peut être ingérée pendant une courte période (un repas ou un jour) sans risque appréciable pour la santé.

Les tests et les méthodes permettant l'identification et la caractérisation du danger évoluent. Des effets tels que les effets de type perturbateur endocrinien font l'objet de recherches et du développement de nouveaux tests, notamment au niveau de l'OCDE qui développe ou révisé les lignes directrices d'essais pour la détection des perturbateurs endocriniens. Mais beaucoup d'**incertitude** existe sur les effets des faibles doses, les effets à long terme (différés) et les effets des mélanges de substances auxquelles l'homme est exposé *via* son alimentation ou d'autres sources et voies d'exposition.

**Le danger peut être identifié *a posteriori***, après que les pesticides aient été mis sur le marché. Un cas historique, dans le domaine de l'écotoxicologie, est celui du DDT, un insecticide organochloré, dont le métabolite, le DDE, par son action sur la reproduction des oiseaux - *via* la diminution de l'épaisseur des coquilles d'œufs - sa persistance et ses propriétés de bioaccumulation, a été responsable dans les années 1950/60 de la chute de populations de rapaces, espèces placées en sommet de chaîne alimentaire. Cet insecticide, interdit depuis les années 70 (1972, pour la France), s'est avéré, depuis, être un perturbateur endocrinien ayant notamment une action anti-androgène (Kelce et al., 1995).

Des études expérimentales sur animaux ont ainsi mis en évidence de nouveaux effets neurotoxiques, de type perturbateur endocrinien ou cancérogènes de certains pesticides. Parallèlement, des risques pour l'homme semblent se dessiner, notamment dans les populations d'utilisateurs professionnels de ces produits. Des études épidémiologiques sont en cours au niveau national pour identifier le danger (par exemple, certains projets du programme de recherche Environnement et Santé de l'AFSSET et du programme de recherche du MEDD sur les perturbateurs endocriniens). Citons le cas du chlordécone, un insecticide organochloré, identifié comme perturbateur endocrinien et dont les effets sur la reproduction ont été mis en évidence dans des études expérimentales sur animaux de laboratoire. Cet insecticide persistant, potentiellement bioaccumulable, a été employé en culture bananière aux Antilles jusqu'en 1993. Ses résidus peuvent contaminer les denrées alimentaires et la population locale (AFSSA, 2005). Une étude épidémiologique est en cours pour étudier les conséquences d'une exposition prénatale à ce perturbateur endocrinien (Multigner L., INSERM, colloque de lancement du Programme national sur les perturbateurs endocriniens (PNRPE), 2006)<sup>6</sup>.

Il est à noter que les effets éventuels des pesticides sur la survenue de cancers font actuellement l'objet d'une expertise collective à l'INSERM dans le cadre plus global d'une approche "cancers et environnement".

---

<sup>6</sup> <http://www.ecrin.asso.fr/?q=node/4212&highlight=colloque%2CPNRPE>

### **1.9.2.2. Evaluation de l'exposition alimentaire et caractérisation du risque**

#### **. Schéma classique**

L'évaluation de l'exposition s'effectue à partir des données de contamination et des données de consommation des aliments. La plupart du temps par pesticide et par produit, ou pour plusieurs produits alimentaires si le pesticide est utilisé pour le traitement de (ou se trouve dans) plusieurs produits.

#### **. Cas de la construction des LMR et du processus d'autorisation des pesticides**

L'exposition est évaluée dans le processus d'édification des limites maximales de résidus autorisées (LMR) en utilisant les concentrations de résidus de pesticide issues d'essais en plein champ réalisés selon les bonnes pratiques agricoles et servant à définir les LMR (Cf. Annexe) afin de confronter les valeurs issues de ces calculs aux VTR (DJA et, plus récemment, ARfD). Le pesticide ne peut être admis à l'utilisation que dans les conditions d'usage pour lesquelles les concentrations de ses résidus dans les produits végétaux ne conduisent pas à dépasser les VTR qui lui sont spécifiques. *La LMR n'est pas un seuil toxicologique et la plupart du temps le produit de la LMR par la consommation potentielle du produit végétal conduit à une exposition bien en dessous de la DJA.*

#### **. Cas des programmes de surveillance**

Les aliments préparés à partir de produits végétaux ne dépassant pas les LMR sont considérés comme acceptables du point de vue toxicologique. De manière générale, les évaluations d'exposition sont réalisées à partir des données issues des programmes de surveillance lorsque la LMR est dépassée sur un produit et les doses d'exposition sont confrontées aux VTR.

#### **. Approche déterministe de l'évaluation de l'exposition**

L'approche déterministe est largement reconnue et généralement utilisée par les instances réglementaires et l'industrie pour évaluer l'exposition des consommateurs aux pesticides. La méthode déterministe usuelle utilise une valeur fixe d'estimation par variable (consommation, contamination) conduisant à une seule valeur d'estimation de l'exposition, selon généralement des scénarios de "pire cas" afin de protéger la santé du consommateur. Cette approche est ci-après illustrée dans le cas de l'évaluation de l'exposition à partir des données de surveillance communautaires pour un produit d'origine végétale.

#### **. Exposition chronique**

Cette évaluation est basée sur un scénario de "pire cas" qui correspond à la concentration en résidus du 90<sup>e</sup> percentile de la distribution des concentrations en résidus pour le pesticide et le produit considérés, y compris les échantillons sans résidus détectables. La consommation de produit considérée est la consommation moyenne, définie par l'OMS pour la "zone Europe", et l'évaluation est réalisée pour un individu adulte de 60 kg. La valeur obtenue est comparée à la DJA afin de caractériser le risque.

#### **. Exposition aiguë**

Cette évaluation nécessite des données de consommation sur un jour. Elle est effectuée selon le modèle utilisé au Royaume-Uni<sup>7</sup> dans lequel l'évaluation de l'exposition est réalisée à partir du 97,5<sup>e</sup> percentile de la consommation afin d'inclure les forts consommateurs d'un produit (protocole OMS). Le modèle permet de considérer plusieurs catégories de consommateurs en fonction de leur âge ou de leurs habitudes alimentaires (ex : végétariens). L'évaluation a été faite sur la base d'un adulte (16-64+ ans) de 70 kg et d'un jeune enfant (1,5 à 4,5 ans) de 14,5 kg jusqu'en 2003. En 2004, les groupes petits enfants (6-12 mois) et enfants de 4-6 ans ont notamment été différenciés. Les données de consommation et les poids corporels utilisés sont ceux du Royaume-Uni, qui possède une base de données très complète. Le scénario de "pire cas" considéré est le cas de la concentration maximale de résidu trouvée dans un échantillon de produit. Il faut signaler qu'un échantillon est un échantillon composite, c'est-à-dire constitué de plusieurs unités (exemple : 10 pommes pour l'échantillon de pomme), un facteur de variabilité multiplicateur, qui est fonction de la taille des unités, est donc appliqué pour tenir compte de la répartition non homogène des résidus dans les éléments constitutifs de l'échantillon. La valeur obtenue est confrontée à l'ARfD afin de caractériser le risque. L'exposition

<sup>7</sup> <http://www.pesticides.gov.uk/approvals.asp?id=1687>

aiguë ne concerne pas tous les pesticides et, par ailleurs, les valeurs de référence ne sont pas toutes disponibles (en 2004 : 18 pesticides sur 47 recherchés).

Il est à noter que les résidus de pesticides sont dosés dans l'échantillon de produit tel qu'il est récolté. Des facteurs de correction peuvent donc être introduits dans les calculs d'exposition (chronique ou aiguë) afin, par exemple, de ne tenir compte que de la partie comestible du produit ou bien de prendre en compte des traitements (lavage, cuisson...) pouvant conduire à une modification de la teneur en résidus (cf. § 1.9.3.2). Cet affinage de l'évaluation de l'exposition peut être effectué dans un deuxième temps si l'évaluation conduite selon le scénario le plus défavorable conduit à dépasser les VTR.

### **. Exposition à plusieurs pesticides. Comment cumuler ?**

En réalité, il est possible, d'une part que certains produits contiennent plusieurs pesticides et d'autre part que le consommateur soit exposé au cours d'un repas ou d'une journée à plusieurs types de résidus de pesticides provenant des différents produits qu'il a consommés. L'identification du danger et sa caractérisation sont effectués par pesticide et peu de choses sont connues sur les effets des mélanges de substances qui pourraient avoir notamment des interactions synergiques (ou antagonistes). Cependant, des approches sont entreprises, au niveau européen et international, pour évaluer le risque lié à l'exposition à plusieurs pesticides.

Aux Etats-Unis, en 1996, la loi sur la protection de la qualité de l'alimentation (Food Quality Protection Act) conduisit l'agence américaine pour la protection de l'environnement (EPA) à considérer l'effet cumulatif pour la santé humaine qui pourrait résulter de l'exposition à des substances qui auraient un mécanisme commun de toxicité<sup>8</sup>. L'effet de tels mélanges de substances est considéré comme additif (addition des doses). La caractérisation du risque repose sur le pouvoir toxique relatif de chaque substance du groupe par rapport à l'une d'entre elles retenue comme référence. Les insecticides organophosphorés, affectant le système nerveux, constituent le premier groupe étudié et retenu pour agir par un même mécanisme de toxicité, l'inhibition de l'acétylcholinestérase (*via* sa phosphorylation) dans le système nerveux central et périphérique (Mileson et al., 1998). L'EPA a identifié trois autres groupes de pesticides agissant par un mécanisme commun de toxicité : les insecticides N-méthyl carbamates (affectant le système nerveux), des herbicides de la famille des triazines (effets sur le développement et la reproduction) et des herbicides de la famille des chloroacétanilides (pouvant provoquer des tumeurs nasales).

D'autres approches sur le risque cumulatif aigu de pesticides présentant un même mécanisme d'action ont été entreprises en Europe (cf. § 1.9.3.4).

L'évaluation de l'exposition cumulative aux pesticides à travers plusieurs produits est réalisée selon une **approche probabiliste** qui nécessite d'utiliser des logiciels appropriés. Cette approche, plus réaliste que l'approche déterministe, permet de prendre en compte tous les niveaux de consommation et tous les niveaux de contamination et génère une distribution de l'exposition. L'approche probabiliste permet de quantifier l'incertitude et la variabilité et d'estimer la probabilité de dépasser une VTR.

L'évaluation de l'exposition cumulative aux pesticides est une préoccupation de l'Union européenne (UE). Dans le nouveau règlement CE N° 396/2005, concernant les limites maximales applicables aux résidus de pesticides présents dans ou sur les denrées alimentaires, il est demandé d'œuvrer à l'élaboration d'une méthodologie permettant de tenir compte des effets cumulatifs et synergiques possibles des pesticides sur la santé humaine. A l'heure actuelle, il n'y a pas d'approche commune consensuelle au niveau européen ou international pour évaluer ces risques. C'est pourquoi l'Autorité européenne de sécurité alimentaire (AESA ou EFSA, en anglais) a organisé, en novembre 2006, un colloque<sup>9</sup> visant à faire le point sur les méthodologies existantes et, si nécessaire, à identifier de nouvelles approches.

<sup>8</sup> <http://www.epa.gov/pesticides/cumulative/index.htm>

<sup>9</sup> [http://www.efsa.europa.eu/fr/science/colloquium\\_series/colloquium\\_7.html](http://www.efsa.europa.eu/fr/science/colloquium_series/colloquium_7.html)

### 1.9.3. Evaluation de l'exposition aux pesticides *via* la consommation de fruits et légumes

#### 1.9.3.1. Contamination en résidus de pesticides des fruits et légumes

##### *. Résultats des programmes de surveillance et de contrôle nationaux des Etats membres de l'Union européenne en 2004<sup>3</sup>*

##### *. Fréquence des résidus de pesticides détectés*

En 2004, dans le cadre de leurs programmes de surveillance, 23 Etats membres de l'UE (les 15, plus 8 nouveaux Etats membres) et les 3 Etats de l'AELE signataires de l'accord sur l'espace économique européen (Norvège, Islande et Liechtenstein) ont procédé au contrôle des résidus de pesticides sur 50428 échantillons (2891 pour la France) de F&L pour rechercher jusqu'à 677 pesticides différents (222, en France). Sur l'ensemble des échantillons, 42% (44%, en France) présentaient des teneurs égales ou inférieures aux LMR nationales ou communautaires et dans 5% (3,9%, en France) des échantillons les teneurs en résidus dépassaient les LMR. En France, 69,5% des échantillons de F&L étaient d'origine nationale, 16,4% provenaient de l'Union européenne et 14,1% étaient importés des pays tiers. Les fruits ont présenté plus de résidus détectés (66% des échantillons) que les légumes (34%) avec respectivement 3,8% et 4% d'échantillons non conformes. Il est à noter que plus de 50% (34/63) des couples "produit végétal - pesticide" d'origine nationale dépassant la LMR correspondait à des usages interdits en France<sup>10</sup>. La France a procédé en outre à 1245 contrôles ciblés (c'est-à-dire orientés sur des productions ou des expéditions soupçonnées de pouvoir présenter des dépassements de LMR) dont 48% des échantillons avaient des teneurs égales ou inférieures aux LMR et 11% avaient des teneurs en résidus dépassant les LMR.

*Concernant les aliments à base de produits végétaux destinés aux jeunes enfants, pour lesquels la réglementation est plus stricte (LMR ≤ 0,01 mg/kg), 1334 échantillons furent analysés (pour 18 pays) : 6% des échantillons avaient des teneurs en résidus égales ou inférieures aux LMR et 2,7% des échantillons avaient des teneurs supérieures aux LMR.*

##### *. Plusieurs résidus de pesticides sur un même échantillon*

Sur l'ensemble des échantillons de produits végétaux analysés, c'est-à-dire y compris les céréales (4,9% des échantillons; 7% en France) et en considérant les plans de surveillance et de contrôle ciblés, 23,4% (25,5%, soit 1139/4466, en France) des échantillons contenait plus d'un pesticide, 10,3% (12,2%, en France) en contenait deux, 5,8% (7,2%, en France) en contenait 3, et 7,3% (6,1%, en France) en contenait 4 et plus.

##### *. Quels pesticides ?*

Les insecticides et les fongicides sont les pesticides qui sont toujours les plus détectés dans les F&L, avec une prédominance des fongicides. Comme en 2003, les fongicides du groupe manèbe (famille des dithiocarbamates) sont les pesticides qui ont été les plus détectés sur les F&L dans l'ensemble des pays, suivis d'un insecticide organophosphoré, le chlorpyrifos, puis, d'un fongicide de la famille des imidazoles, l'imazalil (utilisé en traitement après récolte), de la procymidone (fongicide de la famille des dicarboximides), du groupe bénomyl<sup>11</sup> (famille des benzimidazoles), de l'iprodione (fongicide de la famille des dicarboximides) et du thiabendazole (fongicide utilisé en traitement après récolte). En France, en 2004, ces pesticides ont été détectés selon l'ordre décroissant suivant : thiabendazole, groupe benomyl, chlorpyrifos, imazalil, groupe manèbe, iprodione et procymidone. La substance

<sup>10</sup> [http://www.observatoire-pesticides.gouv.fr/upload/bibliotheque/237848756776583622332804672716/DGCCRF\\_2004\\_rapport.pdf](http://www.observatoire-pesticides.gouv.fr/upload/bibliotheque/237848756776583622332804672716/DGCCRF_2004_rapport.pdf)

<sup>11</sup> Le groupe benomyl comprend deux substance actives inscrite à l'annexe I, le carbendazime et le thiophanate-méthyl, et le benomyl qui n'est plus autorisé dans l'Union européenne (Décision 2002/928/CE). Le benomyl et le thiophanate-méthyl se transforment en carbendazime. Il est à noter que l'inscription du carbendazime à l'annexe I s'accompagne de restrictions d'usage, il ne sera plus autorisé sur les F&L (Directive 2006/135/CE)

occupant la première place, avant le thiabendazole, fut l'hydrazide maléique, une substance limitant la croissance, recherchée uniquement dans les bulbes et pommes de terre sur lesquels il est utilisé pour inhiber ou supprimer les germes (20/76 échantillons).

*. Derniers résultats pour la France (2005)*

En France, selon les plans de surveillance nationaux de 2005<sup>12</sup>, 93,4% des échantillons de F&L étaient conformes, 38% avaient des teneurs en résidus inférieures ou égales aux LMR et 6,7% (vs 3,9% en 2004) présentaient une teneur en résidus dépassant les LMR nationales ou communautaires. Au titre des contrôles ciblés, orientés principalement sur les salades d'hiver sous abris et les plantes racines tropicales, 9,5% des échantillons ont dépassé les LMR. Par ailleurs, aucune non-conformité n'a été décelée en ce qui concerne les produits à base de fruits ou de légumes destinés à l'alimentation infantile.

*. Résultats du programme de surveillance communautaire entre 1999 et 2004 en France*

Les tableaux 1.9-1 et 1.9-2 (en fin de section) montrent la proportion des échantillons présentant des résidus de certains pesticides détectés sur 17 F&L couramment consommés. Les substances détectées varient selon les produits végétaux en liaison notamment avec les autorisations d'usage des pesticides et les habitudes culturelles des utilisateurs. On notera les fréquences relativement élevées concernant (par ordre décroissant à l'intérieur de chaque famille de pesticides) :

- les résidus d'insecticides organophosphorés, notamment du chlorpyrifos, sur orange/mandarine, raisin de table, pomme, pêche/nectarine, poire, poivron et l'augmentation des résidus de chlorpyrifos sur pomme et raisin de table entre 2001 et 2004 (de 5,5% à 19,3% et de 9,8% à 20,4% des échantillons, respectivement) ;
- les résidus de fongicides de la famille des dithiocarbamates sur les choux, les salades, les épinards et leur augmentation sur fraise et sur tomate entre 2001 et 2004 ;
- les résidus de fongicides dicarboximides (iprodione et/ou procymidone) sur salade, pêche/nectarine, fraise, tomate, raisin de table et carotte ;
- les résidus de fongicides phthalimides (captane et/ou folpel) sur pomme, poire, pêche/nectarine, salade, raisin de table et fraise (en diminution, respectivement entre 2001-2003 et 2001-2004 pour ces deux derniers produits) et enfin, sur les choux-fleurs.

**Les insecticides organophosphorés (OP)** agissent sur le système nerveux central et périphérique. Les substances de cette famille ont une toxicité aiguë élevée et sont suspectées d'être impliquées dans des maladies neurodégénératives (Abou-Donia, 2003). Elles sont considérées comme préoccupantes depuis plusieurs années. Nous avons vu précédemment (§ 1.9.2.2) qu'elles avaient un mécanisme d'action commun et que des approches avaient été entreprises pour évaluer leurs effets cumulatifs, notamment aigus. Ces substances relativement anciennes sont très bon marché et ont été abondamment utilisées. Suite à la procédure de réévaluation des substances actives (Cf. Directive 91/414/CEE) de nombreux OP ont déjà été retirés du marché et le processus se poursuit. Le **chlorpyrifos** et le chlorpyrifos-méthyl (moins utilisé) (Directive 2005/72/CE), ont été inscrits sur la liste positive (annexe 1 de la directive 91/414/CEE) des substances actives autorisées, ainsi que le diméthoate et le phosmet (Directive 2007/25 CE). A ce jour, les autres OP inclus à l'annexe 1 ont des usages autorisés très limités. Ce sont le méthamidophos (Directive 2006/131/CE ; usage autorisé limité à la pomme de terre), l'éthoprophos et le pyrimiphos-méthyl (Directive 2007/52/CE ; usages autorisés ne concernant pas le traitement des F&L). Il est à noter que la diminution du nombre de substances de la famille des OP ne signifie pas forcément que de moins grandes quantités seront utilisées dans cette famille. Il peut se produire un phénomène de substitution et la substance autorisée verra sa consommation augmenter si son efficacité est reconnue et que son prix est attractif par rapport à d'autres substances présentes sur le marché. L'augmentation des résidus de chlorpyrifos sur pomme et sur raisin entre 2001 et 2004

---

<sup>12</sup>

[http://www.minefi.gouv.fr/directions\\_services/dgccrf/securite/produits\\_alimentaires/controles\\_alimentaires/2007/pesticides\\_vegetaux.htm](http://www.minefi.gouv.fr/directions_services/dgccrf/securite/produits_alimentaires/controles_alimentaires/2007/pesticides_vegetaux.htm)

peut relever en partie de ce type de processus, suite au retrait du marché de plusieurs insecticides OP fin 2003 et notamment du parathion-méthyl. Cet insecticide OP était autorisé d'usage en France sur pommier et vigne et n'a pas été recherché lors du programme de surveillance communautaire de 2001. Par ailleurs, compte tenu des résistances aux insecticides développées par le carpocapse du pommier, le chlorpyrifos reste, avec l'azinphos-méthyl (dont l'autorisation de mise sur le marché est retirée depuis le 01/01/07), un des rares insecticides encore efficace pour lutter contre ce ravageur (depuis l'exclusion du parathion-méthyl) (source : Sauphanor B, INRA-Avignon). Il est à noter que les résidus d'azinphos-méthyl ont également augmenté sur la pomme entre 2001 et 2004 sur les échantillons nationaux du programme communautaire (de 1% à 5,7%). On ne peut totalement exclure dans cette augmentation la possibilité d'une amélioration des techniques de détection, mais les laboratoires impliqués dans les contrôles en 2001 et 2004 étaient les mêmes, ainsi que les limites de détection indiquées.

Le problème des résidus de **fongicides de la famille des dithiocarbamates** sur salade et légumes feuilles est récurrent. Les dithiocarbamates sont très utilisés et représentent des volumes importants. Ils comprennent plusieurs substances, notamment le manèbe et le **mancozèbe**. Cette dernière molécule est la plus utilisée en France dans cette famille (5<sup>e</sup> substance active la plus consommée dans l'Union européenne des 15, en 1999 (Eurostat, 2002). Des expérimentations sur animaux ont montré que ces deux substances, ainsi que le métiram, qui fait partie de la même sous-famille des éthylène-bis-dithiocarbamates (EBDC), pouvaient avoir des effets toxiques sur la thyroïde et induire des cancers de la thyroïde *via* un métabolite commun l'éthyléthiourée (ETU) (EPA Office of Pesticide Programs (OPP), 2001). Ces trois substances actives ont été inscrites à l'annexe 1 (Directive 2005/72/CE). Dans cette directive, il est demandé aux Etats membres d'accorder une attention particulière aux résidus de ces substances présents dans les denrées alimentaires et d'évaluer l'exposition alimentaire des consommateurs.

**L'iprodione et la procymidone** appartiennent à la famille des dicarboximides (imides cycliques) comme la vinclozoline. La vinclozoline est reconnue, *via* ses métabolites, comme un perturbateur endocrinien à activité anti-androgène. Son métabolite ultime, la 3,5-dichloroaniline serait carcinogène. La procymidone et l'iprodione auraient également une activité anti-androgène mais ne semblent pas agir par le même mécanisme de toxicité (EPA, 2000). L'iprodione est inscrite à l'annexe 1 depuis 2003 (Directive 2003/31/CE), la procymidone est inscrite avec un usage très limité (Directive 2006/132/CE) et les autorisations de mise sur le marché des produits contenant de la vinclozoline sont supprimées depuis le 01/01/07.

**Le captane**, fongicide dont les résidus sont particulièrement présents sur la pomme et la poire, est inscrit à l'annexe 1, ainsi que le **folpel** (Directive 2007/5/CE).

Le type de molécule et les teneurs en résidus de pesticides dans les produits végétaux dépendent des autorisations d'usage selon le type de culture et sont notamment liés au mode de production, à la sensibilité des produits cultivés aux agresseurs et maladies et enfin aux conditions climatiques. Il est à noter que la culture du pommier, très développée en France est aussi celle qui nécessite le plus de traitements, soit en moyenne, en 1997, 17,6 traitements fongicides et 10,5 traitements insecticides/acaricides par an, avec des disparités régionales liées notamment au climat (INRA and Cemagref, 2005).

### **1.9.3.2. Impact des traitements sur les résidus de pesticides**

Afin de protéger les consommateurs, les évaluations de risque de première étape considèrent les produits végétaux bruts, tels que récoltés ou mis à disposition sur le marché, c'est-à-dire avec leur peau et sans aucun traitement domestique ou industriel. Les F&L peuvent être lavés, épluchés, cuits, et subir différents traitements technologiques industriels. Tous ces traitements peuvent influencer leurs teneurs en pesticides. Par ailleurs la teneur des produits en résidus de pesticide peut évoluer au cours du stockage.

La répartition des pesticides dans un produit végétal dépend à la fois de la nature du pesticide (systémique ou pas), de ses propriétés physicochimiques et du support végétal sur lequel il se trouve. Cette répartition va conditionner notamment l'effet de l'épluchage et du lavage. Leurs propriétés physicochimiques, comme la solubilité dans l'eau, influencent également la redistribution des pesticides lors d'une préparation comme l'extraction d'un jus (Burchat et al., 1998). De nombreuses molécules sont disponibles sur le marché et les combinaisons "pesticide - produit végétal" sont multiples. Les effets des traitements selon toutes ces combinaisons sont difficiles à réaliser. Cependant, de nombreuses expérimentations ont été effectuées sur le devenir de plusieurs pesticides ou famille de pesticides, dans des produits végétaux modèles, sous l'effet du stockage ou de divers traitements. Par ailleurs, ce type d'essais est demandé par les instances réglementaires de nombreux pays pour les dossiers d'autorisation des pesticides. Il est à noter que les études disponibles dans la littérature concernent souvent des substances qui ne sont plus autorisées ou sont en voie d'exclusion dans l'Union européenne.

Une revue de la littérature et des rapports annuels sur l'évaluation des pesticides du comité conjoint d'experts FAO/OMS sur les résidus de pesticides dans les aliments (JMPR) a été réalisée par Holland et al. en 1994. Elle montre que d'une manière générale le stockage et les différents traitements que peuvent subir les F&L entre leur récolte et leur consommation conduisent à une réduction nette de leur teneur en résidus de pesticides, notamment à travers les opérations d'épluchage, de lavage, de blanchiment et de cuisson. Les procédés de transformation industriels de la conserverie combinent plusieurs traitements, dont ceux cités précédemment, qui aboutissent à des réductions importantes des teneurs en résidus de pesticides des produits de départ. Ces résultats sont confirmés par des études récentes réalisées avec divers produits végétaux et pesticides (Chavarri, Herrera, and Arino, 2004; Chavarri, Herrera, and Arino, 2005; Christensen, Granby, and Rabolle, 2003; Zabik et al., 2000). Cependant, elles font également apparaître des disparités dans l'efficacité des traitements, comme l'inefficacité du lavage pour éliminer les résidus de chlorpyrifos de la pomme ou d'autres végétaux (Krol et al., 2000; Rasmussen, Poulsen, and Hansen, 2003) et des augmentations possibles des teneurs en résidus suite à certaines transformations, comme l'augmentation de la concentration des résidus de procymidone et de vinclozoline dans la compote de pêche (Balnova, Mladenova, and Shtereva, 2006).

Par ailleurs, l'efficacité de ces traitements varie selon les conditions dans lesquelles ils sont réalisés. Ainsi, le lavage à température élevée peut être plus efficace que celui à basse température et le lavage domestique s'avère souvent moins efficace que le lavage commercial, qui est plus performant et utilise des produits d'addition. L'impact sur la teneur en résidus de pesticides peut également être modulé selon le mode de cuisson. Ainsi, les résidus de chlorothalonil (fongicide) sont réduits de 85 à 98% par vaporisation lors d'une cuisson dans un récipient ouvert alors qu'une cuisson en condition fermée conduit à l'hydrolyse avec 50% du chlorothalonil se retrouvant inchangé sur le produit alimentaire et le produit de l'hydrolyse se retrouvant dans le jus de cuisson (Holland et al., 1994).

Enfin, certains procédés de transformation peuvent conduire à la formation de produits de dégradation ou métabolites plus toxiques que la molécule parente (Holland et al., 1994; Petersen, Tomerlin, and Barraç, 1996). La présence possible de ces produits de dégradation pose le problème de la pertinence des substances recherchées lors des contrôles réglementaires ou industriels. L'exemple le plus connu est celui de la formation d'éthylène thiourée (ETU), un carcinogène potentiel, formé à partir des EBDC (Cf. § 1.9.3.1). Les conditions qui favorisent cette conversion sont la chaleur et un pH élevé. L'ETU se retrouve notamment dans les conserves (Holland et al., 1994; Kontou, Tsipi, and Tzia, 2004; Petersen, Tomerlin, and Barraç, 1996). Ce métabolite peut se trouver également sur les produits végétaux bruts. Les techniques de lavage sont assez efficaces pour l'élimination des EBDC et de l'ETU.

Les résultats des programmes de surveillance et de contrôle nationaux des Etats membres de l'Union européenne sur les produits transformés montrent également une nette diminution de la présence de résidus de pesticides par rapport aux produits végétaux frais. Ainsi, en 2004, sur 3678 échantillons analysés, 24% présentaient des concentrations en résidus de pesticides inférieures ou égales aux LMR nationales ou communautaires (vs 42% pour les F&L frais) et 1,2% des échantillons avaient des teneurs supérieures aux LMR (vs 5% pour les F&L frais).

### **. Facteurs de transformation**

Afin d'affiner l'évaluation de l'exposition de la population aux pesticides, *via* la consommation des produits alimentaires, des facteurs de transformation peuvent être appliqués. Ces facteurs prennent en compte différents traitements que peut subir le produit et ont été établis notamment à partir des tests inclus dans les dossiers d'autorisation des pesticides. Cependant, ces facteurs ne sont pas toujours disponibles et, dans la mesure où ils le sont, des lacunes peuvent être à combler compte tenu du nombre de combinaisons possibles pesticide-produit et procédés de transformation.

Le règlement CE/396/2005 mis en place par l'Union européenne prévoit une annexe VI dédiée aux facteurs de transformation. Actuellement, dans le processus d'inscription des substances actives à l'annexe I de la directive 91/414/CEE (autorisation européenne des substances actives, Cf. § 1.9.1), des études sont réalisées sur le devenir des substances actives en fonction de différents traitements, dans différentes conditions (température, pH, durée) et les métabolites qui pourraient se former suite à ces traitements sont recherchés. Par ailleurs, l'impact des procédés usuels (lavage, chauffage, procédé de fabrication...) sur les niveaux de résidus sont évalués. Ces études ne concernent pas toutes les substances actives. Elles ne concernent que celles qui peuvent être présentes à des niveaux quantifiables sur le produit végétal avant sa transformation. Chaque étude de transformation (ex : préparation d'un jus de fruit) est effectuée selon sa propre méthodologie, il n'existe pas de lignes directrices harmonisées. Par conséquent, les facteurs de transformation découlant de ces études peuvent être très variables pour un même processus. Ces facteurs de transformation sont actuellement disponibles au niveau des monographies et devraient à plus ou moins long terme figurer dans les données rendues publiques au moment de l'inscription des substances actives à l'Annexe I de la directive 91/414 CEE (source: Vergnet C., Afssa-DiVE).

### **1.9.3.3. Evaluation de l'exposition à partir des données du plan de surveillance communautaire**

Sur la base des données et informations transmises par les Etats membres, concernant le programme communautaire, une analyse de risques sanitaires aigus ou chroniques encourus par les consommateurs du fait de ces résidus de pesticides est effectuée et consignée dans le rapport annuel européen.

#### **. Risque chronique**

Selon la méthodologie d'évaluation de l'exposition présentée précédemment (§ 1.9.2.2), aucun des pesticides recherchés (de 36 à 47 selon l'année) dans aucun des produits végétaux suivis dans les plans de surveillance communautaires n'ont dépassé la valeur toxicologique de référence utilisée pour évaluer le risque chronique (DJA) de 2001 à 2004. L'ingestion maximale de pesticide par produit a été respectivement de 11%, 10%, 0,2% et 5,4% de la DJA.

#### **. Risque aigu**

Selon la méthodologie d'évaluation de l'exposition présentée précédemment (§ 1.9.2.2), la dose de référence a été dépassée pour un certain nombre de pesticides, notamment chez les enfants. En 2003, par exemple, dans le raisin de table, cette dose a été dépassée pour 4 pesticides. Il s'agit de 2 insecticides organophosphorés, le chlorpyrifos et le diméthoate (pour les enfants) d'un insecticide pyrèthrine, la lambda-cyhalothrine (pour les enfants) et enfin d'un insecticide carbamate, le méthomyl (pour les adultes et les enfants). Tous ces pesticides agissent sur le système nerveux.

Le tableau 1.9-3 présente les pesticides et les produits dans lesquels la dose de référence aiguë (ARfD), de l'OMS ou de l'UE, a été dépassée en 2004 pour l'ensemble du programme<sup>13</sup>. Pour les 8 pesticides pour lesquels l'ARfD a été dépassée, des évaluations d'exposition ont été réalisées pour les concentrations en dessous du maximum détecté afin d'identifier d'autres échantillons pouvant conduire au dépassement de l'ARfD. L'ARfD a été dépassée pour 6 pesticides dans la laitue et pour 3 dans la

<sup>13</sup> Le programme communautaire de 2004 portait sur pomme, tomate, salade, fraise, poireau, chou pommé ainsi que sur jus d'orange et seigle/avoine. [http://ec.europa.eu/food/fvo/specialreports/pesticide\\_residues/report\\_2004\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fvo/specialreports/pesticide_residues/report_2004_en.pdf)

pomme, et cela a concerné uniquement les petits enfants (6-12 mois) ou enfants de 4-6 ans pour 6 pesticides, les adultes n'étant concernés que pour 2 insecticides organophosphorés. Il est à noter que l'ARfD a été dépassée pour l'oxydéméthon-méthyl pour 0,5% (5/997) et 1% (15/1554) des échantillons respectifs de laitues et de pommes dans lesquels cet insecticide organophosphoré a été recherché.

Le rapport souligne que ces résultats proviennent d'une évaluation qui doit être considérée à titre indicatif, effectuée pour des scénarios de "pire cas" basés sur les concentrations maximales de résidus de pesticide détectées, combinées avec des consommations élevées (comme 180 g de pomme chez l'enfant de 6-12 mois ou 73 g de salade chez l'enfant de 4-6 ans, selon le modèle du Royaume-Uni utilisé dans cette évaluation) et des poids corporels bas. Il est à noter, comme le reconnaît le Panel de l'EFSA sur les produits phytopharmaceutiques et leurs résidus (PPR panel), que le dépassement de l'ARfD ne conduit pas forcément à un effet toxique, compte tenu des facteurs de sécurité appliqués pour construire les VTR, et que ce mode de calcul déterministe ponctuel d'estimation de l'exposition ne permet pas d'évaluer l'ingestion de pesticides par la population générale ou les sous-groupes de population (EFSA and PPR, 2007).

Par ailleurs, il faut tenir compte du statut légal des substances actives qui font l'objet de la directive 91/414 CEE dont le processus en cours conduit à l'exclusion de certaines substances ou à des restrictions d'usage. Ainsi, l'oxydéméthon-méthyl n'a pas été inclus à l'annexe 1, suite à sa réévaluation (Décision 2007/392/CE) et le méthidathion est exclu depuis fin 2004 avec quelques usages limités, notamment en France, qui s'achèveront en décembre 2007.

**Tableau 1.9-3.** Combinaisons pesticide-produit pour lesquelles l'ARfD a été dépassée dans l'évaluation de l'exposition réalisée à partir des données du programme de surveillance communautaire 2004<sup>a</sup>

Pesticide	Produit	% ARfD	% d'échantillons >ARfD
Deltaméthrine In PYR	laitue	157 (enfant 4-6 ans)	0,05%
Diméthoate In OP	chou	106 <sup>b</sup> (petit enfant) <sup>c</sup>	0,1%
Lambda-cyhalothrine In PYR	laitue	157 (enfant 4-6 ans)	0,05%
Groupe manèbe Fn DTC	laitue	107-160 Probinèbe <sup>d</sup> (enfant 4-6 ans)	≤ 0,7%
Groupe manèbe Fn DTC	pomme	235 Probinèbe <sup>d</sup> 118 Manèbe <sup>d</sup> (petit enfant)	≤ 0,07%
Méthamidophos In OP	laitue	60-456 (adulte) 108-823 (enfant 4-6 ans)	0,2%
Méthidathion In OP	pomme	216 (petit enfant)	0,03%
Méthomyl In CB	laitue	107 (enfant 4-6 ans)	0,1%
Oxydéméthon-méthyl In OP	laitue	62-651 (adulte) 112-1175 (enfant 4-6 ans)	0,5%
Oxydéméthon-méthyl In OP	pomme	22-718 (adulte) 147-4702 (petit enfant)	1,0%

In=insecticide, Fn=fongicide ; PYR=pyréthrianoïde ;

OP=organophosphoré ; DTC=dithiocarbamate ; CB=carbamate

<sup>a</sup>Les consommations et les poids corporels utilisés dans ces évaluations sont ceux du Royaume-Uni. Ces expositions doivent être considérées à titre indicatif <sup>11</sup>

<sup>b</sup>Un facteur a été appliqué pour tenir compte de la réduction des résidus au cours de la cuisson

<sup>c</sup>Enfants de 6-12 mois selon le modèle du Royaume-Uni

<sup>d</sup>Les pesticides du groupe manèbe (DTC) sont dosés ensemble *via* un résidu commun, le CS<sub>2</sub>. Probinèbe et manèbe sont deux pesticides de la famille des DTC dont les ARfD sont différentes, le calcul diffère donc selon que l'on estime que le groupe dosé ne renferme que l'un ou l'autre de ces pesticides.

### 1.9.3.4. Etudes d'exposition

#### . En France

Les études d'évaluation de l'exposition aux pesticides via la consommation de F&L disponibles en France sont plutôt anciennes. Elles ont été réalisées selon une approche déterministe, pour évaluer l'exposition chronique, selon un scénario pessimiste maximaliste. Cette **approche théorique** considère que tous les fruits ou légumes consommés ont été traités avec l'ensemble des pesticides autorisés pour leur culture et contiennent des concentrations de résidus égales aux LMR en vigueur. Elle n'introduit pas de facteurs de correction pour tenir compte de traitements comme le lavage, l'épluchage ou encore la cuisson, pouvant conduire à une diminution des teneurs en pesticides. Une estimation a été réalisée à partir des consommations françaises de l'ensemble des fruits et légumes et pour 167 pesticides (CREDOC and OCA, 1992; CREDOC and OCA, 1994). Les expositions potentielles journalières moyennes (exposition journalière maximale théorique) à chaque pesticide ont été comparées à leurs DJA spécifiques en se basant sur le poids corporel d'un adulte de 60 kg. Selon cette estimation, 22 pesticides présentaient une exposition potentielle moyenne supérieure à la DJA dont 15 entre 100% et 200% de la DJA et 7 >200% de la DJA. A l'heure actuelle, 16 de ces pesticides ne sont plus ou ne seront plus, à court terme, autorisés. Ces pesticides étaient majoritairement des insecticides organophosphorés (12), dont un seul à ce jour est encore autorisé mais sans usage sur les F&L (pyrimiphos- méthyl). Il est à noter que l'oxydéméthon-méthyl (Cf. tableau 1.9-3), dont l'exclusion est récente (Décision 2007/392/CE), figurait dans les pesticides dépassant les 200% de la DJA ainsi que le fongicide captane (Cf. § 1.9.3.1). Concernant le captane, comme sur les données de 2004, cette substance était très présente sur pomme puisque ce fruit était le produit qui contribuait le plus à l'exposition au captane, suivi de la tomate et, dans les mêmes proportions, de la poire, du poireau, de la laitue, du raisin et de la pêche.

En 1996, une autre étude a été réalisée sur l'exposition *via* la consommation de F&L à 20 de ces 22 pesticides, auxquels ont été ajoutés 4 pesticides (dont 3 insecticides OP), pour lesquels l'exposition journalière maximale théorique avait dépassé 100% de la DJA, dans une étude intermédiaire. L'estimation a été rendue plus "réaliste" en intégrant des données de teneurs réelles en pesticides issues des plans de surveillance de la DGCCRF pour 16 d'entre eux. La LMR a été utilisée pour estimer les teneurs en résidus des 8 autres pesticides. Ces estimations affinées restent encore surévaluées mais inférieures à celles des années précédentes pour les mêmes pesticides dans les mêmes produits alimentaires, notamment en raison de la diminution de certaines LMR autorisées. Les pesticides pour lesquels la DJA a été dépassée concernaient 8 pesticides dont 6 insecticides organophosphorés actuellement non autorisés, incluant toujours l'oxydéméthon- méthyl.

Plus récemment, une étude selon l'approche théorique maximaliste, utilisée dans l'étude CREDOC-OCA (1992/1994) a été entreprise, dans le cadre de l'étude de faisabilité concernant l'Observatoire des résidus de pesticide (ORP), afin de permettre l'identification des substances prioritaires à surveiller (AFSSA, AFSSE, and IFEN, 2004). Lors de cette étude, ont été utilisées les LMR en vigueur, pour les concentrations de résidus, et les données de consommation individuelles de l'enquête INCA (Volatier, 2000), plus complètes que les données de consommation utilisées dans l'étude CREDOC-OCA. A la différence de la précédente étude, qui ne les incluait pas, les aliments complexes ont été décomposés en leurs constituants respectifs pour lesquels existait une LMR. Le risque chronique à environ 300 substances actives a été estimé pour les adultes (>15 ans) et les enfants (<15 ans) **via la consommation des F&L mais aussi de céréales, d'aliments d'origine animale et de l'eau**. Ce dernier aliment s'est révélé être un très faible contributeur à l'exposition. Cette étude a mis en évidence une exposition supérieure à la DJA (>100% de la DJA) chez les enfants, pour 32 pesticides en usage, soit 10 pesticides de plus que chez les adultes. Sur ces 32 substances, 21 d'entre elles ont été exclues (retrait du marché au plus tard fin 2007 pour certaines molécules), 6 sont inscrites à l'annexe 1 et 5 sont en cours de révision. La majorité de ces substances était des insecticides organophosphorés (17). Parmi les 11 substances non exclues figurent: 2 pesticides dont les résidus sont fréquemment trouvés lors des programmes de surveillance, l'insecticide organophosphoré chlorpyrifos et le fongicide imazalil (Cf. § 1.9.3.1) ; 2 autres insecticides organophosphorés, le chlorpyrifos-méthyl (inscrit avec le chlorpyrifos à l'annexe 1) et le pyrimiphos-méthyl (sans usage sur F&L) ; 2 acaricides, dont le dicofol, molécule

chlorée de la famille des carbinols (2,3% des échantillons analysés (≈2500) en France en 2003 contenaient des résidus [source: DGCCRF]); un fongicide de la famille des dithiocarbamates, le thirame (inscrit à l'annexe1); et enfin 4 substances, 2 ayant peu de chance de se trouver dans les F&L (2 herbicides) et 2 non utilisées sur F&L.

Par ailleurs, dans le cadre de l'étude de faisabilité de l'ORP (AFSSA, AFSSE, and IFEN, 2004), une **tentative d'évaluation plus réaliste de l'exposition chronique alimentaire à 8 molécules tests** a été entreprise. Les données de consommation de l'étude INCA, représentatives de la population générale, et les données des plans de surveillance et de contrôle nationaux des **produits végétaux, animaux et de l'eau** ont été utilisés. Les hypothèses émises ont été protectrices, tendant à une surestimation de l'exposition. Ainsi, il a été admis que toutes les cultures disposant d'une LMR avaient effectivement été traitées par la substance active, que pour une culture traitée tous les produits végétaux présents sur le marché avaient été traités par la substance active, et enfin il n'a été tenu compte d'aucun facteur de transformation. Les résidus non détectés ont été considérés selon 3 hypothèses usuelles pour traiter ce type de données. Une hypothèse haute considérant que tout résidu de pesticide non détecté se trouve dans l'aliment à une teneur égale à la LOD ou à la LOQ indiquée par le laboratoire ; une hypothèse basse attribuant la valeur zéro aux résidus non détectés et une hypothèse intermédiaire ( $\frac{1}{2}$  LOD ou  $\frac{1}{2}$  LOQ). Pour cette évaluation, des hypothèses (haute et basse) ont également été nécessaires pour estimer la teneur en résidus des cultures pour lesquelles aucune donnée de contamination n'était disponible. Il ressort de cette étude que, selon l'estimation la plus basse, la DJA n'a jamais été dépassée pour aucune des 8 molécules retenues, même aux fortes expositions (95<sup>e</sup> percentile), et que, pour l'estimation la plus haute, la DJA a été dépassée à la fois pour le 95<sup>e</sup> percentile et pour l'exposition médiane à l'aldicarbe, un insecticide de la famille des carbamates. Cette substance active n'est plus autorisée en agriculture dans l'Union européenne (Décision 2003/199/ CE). Il est à noter que sur les 8 molécules retenues, 4 ont été exclues depuis, suite à leur révision, et 4 sont inscrites à l'annexe 1 de la directive 91/414/CEE. Les quatre substances autorisées sont : le carbendazime (considéré dans l'étude au sens du groupe benomyl, c'est-à-dire y compris le thiophanate-méthyl) insecticide(s) systémique(s) dont les résidus étaient fréquemment trouvés dans les F&L (Cf. § 1.9.3.1), l'iprodione (également fréquemment détecté) le folpel et le chlorothalonil (fongicide de la famille des chloronitriles). L'exposition à ces 4 pesticides a donc été, selon l'hypothèse la plus défavorable, respectivement de 11,7%, 10,8%, 3,5% et 4,4% de la DJA. Il est à noter que l'exposition à la vinclozoline, dont l'utilisation s'achèvera fin 2007, représentait 39,2% de la DJA. Selon ses auteurs, les résultats de cette étude de faisabilité sont à considérer avec précaution et ne peuvent exprimer l'exposition de la population française. Elle a permis de pointer les améliorations à mettre en place pour l'acquisition des données dans un but d'évaluation globale de l'exposition aux pesticides (Cf. § 1.9.4).

Une étude a été réalisée par l'AFSSA pour évaluer l'**exposition des nourrissons et des enfants en bas âge (3 à 18 mois)** aux résidus de pesticides apportés par l'alimentation (Even, Berta, and Volatier, 2002). Les nourrissons et jeunes enfants sont particulièrement sensibles aux substances toxiques et leurs niveaux d'exposition alimentaire sont plus élevés que ceux des adultes en raison des niveaux de consommation plus élevés par unité de poids corporel. En conséquence, les aliments infantiles sont soumis à une LMR  $\leq 0,01$  mg/kg (Directives 1999/39/CE et 1999/50/CE) (Cf. § 1.9.3.1). Cependant les jeunes enfants ne sont pas exclusivement nourris avec des préparations industrielles infantiles et consomment des aliments à base de F&L frais. Une évaluation de l'exposition aux pesticides *via* la consommation des F&L des aliments infantiles ou courants, a été réalisée en utilisant les données de concentration des F&L issues des plans de surveillance nationaux (1997-1998), la LMR de 0,01 pour les produits infantiles à base de végétaux, et des données spécifiques françaises de consommation journalières moyennes de ces aliments par les enfants de ces tranches d'âge. La limite de quantification (LOQ) ou  $\frac{1}{2}$  LOQ a été retenue pour les échantillons sans résidus détectables. Dans l'hypothèse la plus défavorable, l'exposition chronique journalière moyenne était supérieure à la DJA pour six pesticides. On retrouve, 4 pesticides déjà mentionnés dans l'étude CREDOC-OCA (1992/94) dont 3 insecticides organophosphorés (non autorisés actuellement) comprenant l'oxydéméthion-méthyl. Cette approche a été effectuée selon un scénario pessimiste et présente les mêmes limites que l'étude réalisée dans le contexte de l'ORP. Peu d'échantillons avaient des résidus détectables et le calcul d'exposition est largement influencé par les échantillons aux résidus non détectables. Par ailleurs, aucun facteur de transformation n'a été utilisé.

**En conclusion**, en France métropolitaine, les études d'évaluation de l'exposition aux pesticides *via* la consommation des F&L sont anciennes. Elles ont été réalisées selon l'approche déterministe, par pesticide, en utilisant une approche théorique maximaliste (concentration en résidus supposées égales aux LMR). Ces études avaient essentiellement pour but de sélectionner les substances actives prioritaires à surveiller. Elles ne prétendaient pas mesurer l'exposition réelle de la population française. Quelques études plus récentes, dont celle réalisée notamment dans le contexte de l'étude de faisabilité de l'ORP, se sont appuyées sur des données réelles de contamination issues des plans de surveillance nationaux. Ces études ont surtout révélé des points à améliorer pour évaluer l'exposition aux pesticides en France. Il est à noter que toutes ces études ne considèrent que l'exposition chronique, l'exposition aiguë, dont l'évaluation est plus récente, n'est pas abordée. Par ailleurs, **la législation est en constante évolution et la plupart des molécules qui ont pu être identifiées comme préoccupantes ont souvent été retirées du marché des PPP européen**, suite à leur révision, y compris dans le cas des molécules identifiées dans les études les plus récentes. Cependant, ces pesticides peuvent contaminer certains produits alimentaires en provenance de pays où ils sont encore utilisés. Par ailleurs, dans le cadre d'une exposition globale aux pesticides *via* les différentes sources de contamination, il faut considérer l'éventuelle persistance et présence de ces substances ou de leurs métabolites dans l'environnement. Par exemple, cela est le cas pour l'atrazine, herbicide abondamment utilisé, retiré du marché en France depuis 2003 et qui contamine encore les ressources en eau. Les pesticides persistants et/ou bioaccumulables ne sont plus autorisés à l'usage et certains d'entre eux font partie des polluants organiques persistants (POP) faisant l'objet de la convention de Stockholm (2001)<sup>14</sup> des Nations unies. Les molécules qui sont retirées actuellement du marché ne présentent donc pas ces caractéristiques. En ce qui concerne les insecticides organophosphorés, ces substances sont vite dégradées, notamment par rapport aux insecticides organochlorés qui les ont précédés. Les pesticides organochlorés, en raison de leur grande persistance et de leurs propriétés de bioaccumulation, sont toujours recherchés dans les programmes de surveillance des produits alimentaires d'origine animale et dans les programmes de biosurveillance chez l'homme (Cf. § 1.9.3.5). Le cas du chlordécone aux Antilles est une illustration du risque encouru avec les substances persistantes (Cf. § 1.9.2.1).

#### *. Cas spécifique de l'exposition alimentaire au chlordécone aux Antilles*

L'AFSSA a réalisé une première évaluation de l'exposition alimentaire au chlordécone de la population martiniquaise (AFSSA, 2005). Le chlordécone, substance chlorée très stable, se dégrade difficilement et imprègne les sols des anciennes bananeraies dans lesquelles il a été utilisé. Ces terres ont été reconverties à la culture vivrière. Le chlordécone peut contaminer certaines denrées végétales ou animales et les eaux de captage. L'évaluation de l'exposition conduite selon différents scénarios réalistes, se basant sur les données de consommation et de contaminations disponibles, a permis d'identifier les principaux aliments vecteurs contribuant à l'exposition de la population. Les aliments les plus contaminés identifiés sont des légumes racines/tubercules mais d'autres aliments, moins contaminés, peuvent être de forts contributeurs à l'exposition en raison de leur forte consommation (concombre, tomate, melon et chair de poulet). Par ailleurs, certains aliments d'origine animale, comme le tilapia et le crabe, peuvent être fortement contaminés mais ils sont consommés de façon occasionnelle. L'estimation de l'exposition chronique en zone contaminée, sous l'hypothèse d'absence de limite maximale de contamination, conduit à un dépassement de la VTR pour 30%, 20% et 15% des individus de l'échantillon, respectivement, des enfants de 3-5 ans, des enfants de 3-15 ans et des adultes, avec une exposition maximum représentant 350% de la VTR chez les enfants (3-15 ans) et 260% chez les adultes. Les auteurs soulignent l'incertitude sur les niveaux de contamination réels des aliments (nombre de données analytiques faible), compensée en partie par les hypothèses de travail définies de façon à surestimer plutôt qu'à sous-estimer l'exposition, ainsi que le manque de données de contamination et de consommation chez les plus jeunes enfants. L'AFSSA a proposé des limites maximales de contamination provisoires sur les huit aliments vecteurs qui contribuent le plus à l'exposition afin de réduire l'exposition chronique en dessous de la VTR. Elle a également fixé une limite maximale, pour les autres aliments, garantissant que le seuil d'exposition aiguë ne serait pas dépassé. L'AFSSA a, de plus, formulé des recommandations de consommation de certains légumes

---

<sup>14</sup> <http://www.pops.int/>

racines issus des jardins familiaux (sur sol contaminé), qui sont relayées au niveau local par une campagne d'information en cours. Les résultats de différentes enquêtes en cours sont attendus pour affiner ces évaluations et proposer éventuellement de nouvelles limites pour les résidus de contamination.

#### 1.9.3.4.2. Autres études

Comme il a déjà été signalé, les consommateurs peuvent être exposés *via* leur alimentation à plusieurs pesticides à travers plusieurs produits et certaines approches ont été entreprises pour estimer cette exposition. Nous présenterons ici les résultats de ces expériences réalisées en Europe, en gardant à l'esprit que ces méthodologies font actuellement l'objet de discussions et ne sont pas consensuelles.

La première approche sur l'exposition cumulative aux pesticides, effectuée aux Etats-Unis, concernait les insecticides organophosphorés identifiés comme ayant un mécanisme commun de toxicité, l'inhibition de l'acétylcholinestérase au niveau des synapses, dans le système nerveux central et périphérique (Cf. § 1.9.2.2). Les insecticides carbamates qui agissent également sur le système nerveux par inhibition de l'acétylcholinestérase n'ont pas été considérés par l'EPA comme ayant un mécanisme commun de toxicité avec les insecticides organophosphorés, en raison de différences pharmacocinétiques et pharmacodynamiques dans leur processus d'action et d'élimination. Les approches réalisées en Europe, notamment aux Pays-Bas et au Danemark, se sont tout naturellement portées sur ces insecticides anticholinestérasiques. Cependant, au contraire des Etats-Unis, les insecticides organophosphorés et carbamates ont été considérés comme ayant un mécanisme commun de toxicité. Les évaluations ont été effectuées en combinant les éléments de la méthodologie de l'EPA et d'autres éléments permettant d'évaluer le pouvoir toxique relatif de chaque substance du groupe par rapport à l'une d'entre elles retenue comme référence. Différentes substances de référence furent retenues. Les données de contamination issues des plans de surveillance nationaux et les données de consommation nationales ont été utilisées. Les échantillons ne contenant pas de résidus détectés ont été traités selon 2 scénarios, optimiste ou pessimiste. Des facteurs de correction (épluchage, lavage, cuisson...) ont été appliqués pour affiner l'évaluation. Le Danemark a effectué une évaluation déterministe de l'exposition cumulative chronique et aiguë selon la méthodologie de l'OMS. Les Pays-Bas utilisent, pour déterminer l'exposition aiguë, une approche probabiliste prenant en compte l'ensemble des concentrations en résidus et l'ensemble des consommations de différents produits. Un logiciel a été mis au point à cet effet (Monte Carlo Risk Assessment (MCRA)).

**Selon l'approche danoise** (Jensen, Petersen, and Granby, 2003), réalisée à partir des données des plans de surveillance 1996-2001, pour 35 pesticides, et en considérant les groupes adulte et enfant (1-14 ans) ni la DJA, ni l'ARfD de la molécule prise comme référence ne furent dépassées, donnant à penser que la population danoise n'était exposée ni au risque cumulatif chronique ni au risque aigu des pesticides organophosphorés et carbamates *via* la consommation de F&L et de céréales.

**Dans l'approche des Pays-Bas** (Boon and van Klaveren, 2003), réalisée à partir des données des plans de surveillance 2000-2001, pour 40 pesticides et en considérant la population générale et les enfants (1-6 ans), on constate que les résultats de la caractérisation du risque pouvaient différer selon la substance de référence (acéphate ou phosmet) utilisée pour calculer le pouvoir toxique relatif des pesticides impliqués dans l'évaluation. Selon les valeurs des ARfD de l'OMS en usage en 2002<sup>15</sup>, les enfants de 1-6 ans étaient exposés à des doses pouvant dépasser l'ARfD du phosmet aux percentiles les plus élevés de la distribution de l'exposition (P99,5 et P99,9), ce qui n'était pas le cas lorsque l'acéphate était utilisé comme référence. Cependant, les seuils toxicologiques ne sont pas dépassés avec la nouvelle valeur de l'ARfD du phosmet, revue en 2003 par l'OMS<sup>16</sup>. Il est à noter que l'ARfD de l'acéphate a également été revue à la hausse en 2005 par l'OMS<sup>17</sup>. *Cela montre que les VTR évoluent à la lumière de nouveaux résultats expérimentaux et cela conditionne évidemment la caractérisation du risque.* Dans cette étude, la contribution des produits qui participaient le plus à

<sup>15</sup> <http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpeval/jmpr2002.htm>

<sup>16</sup> <http://whqlibdoc.who.int/publications/2004/924166519X.pdf>

<sup>17</sup> [http://www.who.int/ipcs/publications/jmpr/pesticide\\_inventory.pdf](http://www.who.int/ipcs/publications/jmpr/pesticide_inventory.pdf)

l'exposition dépendait également de la substance de référence utilisée. Plusieurs points sont discutés dans cet article et montrent la nécessité de l'action internationale entreprise par l'Union européenne visant à élaborer une méthodologie harmonisée pour l'évaluation du risque cumulatif des pesticides.

Par ailleurs, il est à noter que dans cette étude, 6% des échantillons présentaient au moins 2 résidus de pesticides différents avec une prédominance sur les échantillons d'agrumes (oranges et mandarines). Il faut toutefois garder à l'esprit que ces échantillons sont constitués de plusieurs unités. La multitude des résidus d'insecticides organophosphorés possibles sur oranges/mandarines ressort également sur les résultats des plans de surveillance communautaires en France (tableaux 1.9-1 et 1.9-2). Le raisin s'est révélé être le produit qui a le plus contribué à l'exposition alimentaire aux insecticides anticholinestérasiques et 2 insecticides organophosphorés (parathion et monocrotophos), à présent interdits d'usage, étaient les plus impliqués dans l'exposition à ce groupe d'insecticides. Une étude a récemment été réalisée par la même équipe<sup>18</sup> (communication) pour évaluer l'exposition alimentaire aiguë aux insecticides organophosphorés en utilisant les résultats des plans de surveillance 2003-2005 des Pays-Bas et l'acéphate comme pesticide de référence. Elle montre que, selon la méthodologie utilisée, l'exposition de la population de ce pays semble conforme, pour la période considérée, que les produits qui contribuent le plus à l'exposition aux organophosphorés sont les épinards et les agrumes et que les pesticides les plus impliqués dans cette exposition sont le méthamidophos, le méthidathion, le diméthoate et ométhoate. *On remarquera l'évolution des pesticides les plus déterminants dans l'exposition entre ces deux études, qui est notamment due à l'évolution de la législation et des usages* (le parathion et le monocrotophos ont été respectivement retirés du marché en 2002 et 2003).

**Une étude réalisée au Royaume-Uni** (Pennycook et al., 2004<sub>a</sub>) a évalué l'exposition aiguë des enfants de 1,5 à 4,5 ans à certains pesticides (dithiocarbamates, phosmet et carbendazime) *via* la consommation de pommes ou de poires. Les auteurs utilisèrent une approche probabiliste introduisant des facteurs de variabilité pour tenir compte de la distribution possible non homogène des résidus dans un échantillon composite (10 unités) et ont choisi un scénario de pire cas, *i.e.* celui dans lequel la concentration en résidu serait retrouvée dans un seul fruit, consommé par un enfant sur 10 dans la population d'enfants consommateurs du fruit. L'évaluation de l'exposition a été réalisée à partir des données des plans de surveillance du Royaume-Uni de 2000 à 2002, des données de consommation individuelles et des poids corporels des enfants de la tranche d'âge considérée. Selon ce modèle protecteur, le nombre d'enfants qui auraient pu être exposés à une dose excédant l'ARfD, *via* la consommation de pomme ou de poire, se situait entre 10 et 226,6 enfants par jour, selon le pesticide et l'année du plan de surveillance. Ces résultats sont donnés à titre indicatif. Certains points ont été controversés (Pennicook et al, 2004<sub>b</sub>), notamment le facteur de variabilité utilisé (trop élevé) et la validité ou la valeur des l'ARfD, dont celle du phosmet (trop basse et qui a été révisée à la hausse, Cf. ci-avant).

### **1.9.3.5. Les études de biosurveillance**

Les études de biosurveillance (qui s'appuient sur des marqueurs biologiques) donnent des informations sur l'exposition totale aux pesticides à partir de différentes sources et différentes voies (orale, dermique et par inhalation). Dans la population générale, il est reconnu que l'alimentation est la plus forte contributrice à cette exposition. Cependant l'exposition par l'usage des pesticides dans les activités de jardinage ou des biocides dans les habitations n'est probablement pas négligeable. De plus, la population résidant en zone agricole peut être exposée *via* le compartiment aérien. Cette source d'exposition apparaît comme non négligeable en zone viticole et arboricole (INVS, 2006). En milieu professionnel, les expositions par inhalation et voie cutanée peuvent être prépondérantes. Les marqueurs d'expositions utilisés sont généralement la molécule elle-même ou ses métabolites. Leur dosage, effectué dans les liquides biologiques (sang, urine), permet de connaître la dose interne d'exposition des individus.

---

<sup>18</sup> <http://www.rikilt.wur.nl/UK/>

Les principaux pesticides recherchés dans les études de biosurveillance sont les anciens pesticides organochlorés, les insecticides organophosphorés et, plus récemment, les insecticides pyréthrinoïdes. Les pesticides organochlorés marquent une contamination ancienne et sont dosés dans le sang. Les insecticides organophosphorés ou les pyréthrinoïdes de synthèse, rapidement métabolisés dans l'organisme, sont généralement dosés *via* leurs métabolites urinaires. Leur présence signe une contamination récente. L'exposition aux insecticides organophosphorés est évaluée *via* des métabolites communs urinaires (dialkylphosphates) qui ne permettent pas d'identifier la substance parente. Certains insecticides organophosphorés, notamment le chlorpyrifos (+ chlorpyrifos-méthyl) et le parathion (+ parathion-méthyl) ont été dosés *via* leurs métabolites spécifiques respectifs (Barr et Angerer, 2006; Angerer et al., 2007). Les métabolites des insecticides organophosphorés et pyréthrinoïdes, non toxiques, peuvent être présents dans l'environnement en tant que produits de dégradation de ces substances. En conséquence, leur présence dans l'organisme peut ne pas refléter uniquement une exposition à la molécule parente et une surestimation de l'exposition est possible (Needham et al., 2007).

Deux principaux programmes de biosurveillance, incluant des pesticides, et portant sur des échantillons représentatifs de la population générale, sont conduits aux Etats-Unis (Needham et al., 2007) et en Allemagne (Angerer et al., 2007) et ont permis de dégager certains résultats concernant l'exposition aux pesticides organophosphorés et pyréthrinoïdes de synthèse, largement employés en agriculture.

Aux Etats-Unis, les CDC (Centers for Disease Control and prevention) conduisent un programme de biosurveillance sur un échantillon représentatif de la population américaine dont les résultats ont fait l'objet d'un troisième rapport (CDC, 2005)<sup>19</sup> concernant la période 2001-2002 et la période précédente 1999-2000. En Allemagne, le "German Environmental Surveys" (GerES) est une étude de population reconduite périodiquement depuis le milieu des années 80 faisant partie d'un système de surveillance environnemental en relation avec la santé. Ce système de surveillance inclut des résultats sur l'air ambiant et recueille des informations complémentaires sous forme de questionnaires afin d'élucider les voies et sources de contamination (Schulz et al., 2007). A la différence des études précédentes, le GerES IV, qui est actuellement en cours, cible la surveillance sur les enfants. Cette étude a été précédée d'une étude pilote au cours de laquelle les métabolites urinaires des insecticides organophosphorés et pyréthrinoïdes ont été dosés chez 363-396 enfants de 2 à 17 ans. Afin d'évaluer les sources d'exposition, ces pesticides ont été recherchés sur les poussières de maison et des informations complémentaires ont été recueillies notamment sur les habitudes alimentaires (questionnaire de fréquence) et l'usage des biocides.

### ***.Insecticides organophosphorés.***

Il ressort que les niveaux moyens des dialkylphosphates urinaires trouvés pour la période 2001-2002 aux Etats-Unis sont généralement inférieurs à ceux trouvés dans les études réalisées en Allemagne (adultes et enfants) et en Italie, sur des échantillons de population plus petits, chez les enfants (Aprea et al. 2000) et chez les adultes (Aprea et al., 1996). Les résultats enregistrés chez les enfants en Italie sont légèrement supérieurs à ceux de l'Allemagne (Heudorf et al., 2004 ; Becker et al., 2006). L'exposition des enfants est supérieure à celle des adultes, (Aprea et al., 2000 ; CDC, 2005, Becker et al., 2006). Les niveaux urinaires du métabolite du chlorpyrifos trouvés aux Etats-Unis, pour la période 2001-2002, sont similaires à ceux trouvés dans un échantillon d'adultes en bonne santé en Allemagne (Koch et al., 2001) et en Italie (Aprea et al., 1999). Comme pour les dialkylphosphates, les concentrations de ce métabolite spécifique augmentent quand l'âge diminue (Adgate et al., 2001 ; Barr et al. 2004 ; CDC, 2005). L'étude pilote GerES IV montre que l'exposition des enfants en Allemagne est liée à la consommation de fruits frais et de jus de fruits (Becker et al., 2006). Par ailleurs, une étude réalisée aux Etats-Unis, dans l'Etat de Washington, sur 39 enfants de 2-5 ans a montré que les concentrations urinaires en dialkylphosphates (diméthyl alkylphosphates) étaient plus élevées chez les enfants consommant des produits (essentiellement des jus, des fruits et des légumes) issus de l'agriculture conventionnelle que chez ceux consommant les mêmes produits issus de l'agriculture

---

<sup>19</sup> <http://www.cdc.gov/exposurereport/report.htm>

biologique (Curl et al., 2003). De plus, une étude longitudinale, réalisée dans le même Etat, sur 23 enfants de 3-11 ans, a montré que la substitution dans le régime alimentaire, de produits (essentiellement des jus, des fruits et des légumes, mais aussi des céréales) issus de l'agriculture conventionnelle par les mêmes produits issus de l'agriculture biologique, conduisait à une diminution, immédiatement après le changement de régime, jusqu'à des niveaux de concentration non détectables, des métabolites urinaires du chlorpyrifos et du malathion (Lu et al., 2006a). Ces études, malgré leurs limites, soulignent le rôle déterminant de la consommation de F&L dans l'exposition aux pesticides organophosphorés. Certaines de ces études suggèrent que les VTR pourraient être dépassées chez les enfants (Curl et al., 2003, Becker et al., 2006)

### **. Insecticides pyréthrinoïdes**

Ces insecticides à usage agricole sont aussi très utilisés pour des usages domestiques. Ce sont des neurotoxiques très puissants pour les insectes. Ils sont employés à des doses beaucoup plus faibles que les insecticides organophosphorés, ce qui diminue l'exposition générale. Leur toxicité aiguë orale chez le rat est équivalente ou inférieure à celle des organophosphorés. Les substances largement utilisées (citées ci-après) sont immédiatement hydrolysées, donc détoxiquées, dans l'organisme humain (Angerer et al., 2007).

L'acide 3-phénoxybenzoïque (3-PBA) est un métabolite de trois insecticides pyréthrinoïdes (cyperméthrine et deltaméthrine [inscrits à l'annexe 1] et perméthrine [exclu]). Il est possible que ce métabolite puisse aussi provenir d'autres insecticides pyréthrinoïdes (CDC, 2005).

Ce métabolite est trouvé dans 90% des échantillons urinaires des enfants de l'étude pilote GerES IV et présente les concentrations les plus élevées des métabolites recherchés pour la période 2001-2002 aux Etats-Unis. L'étude pilote GerES IV montre que la cis-DCCA et la trans-DCCA (métabolites de 3 insecticides pyréthrinoïdes : cyfluthrine et cyperméthrine [inscrites à l'annexe 1] et perméthrine), sont respectivement présentes dans 56% et 74% des échantillons urinaires des enfants et que la présence de perméthrine dans la poussière de maison et la consommation de légumes bouillis sont des déterminants significatifs de l'exposition aux pyréthrinoïdes. Dans cette étude, les facteurs influençant la présence de perméthrine dans les poussières de maison sont principalement la présence et la taille de tapis en fibres naturelles (souvent traités avec des pyréthrinoïdes), puis l'usage de biocides chez les animaux domestiques et l'usage de biocides contre les insectes à l'intérieur du domicile. Bien qu'il soit communément admis que l'exposition aux pyréthrinoïdes est principalement d'origine alimentaire, seuls les légumes bouillis, parmi tous les aliments, se sont avérés liés à cette exposition. Une étude, réalisée en Allemagne, laisse supposer que la voie orale est la principale voie de contamination (*vs* cutanée) aux insecticides pyréthrinoïdes et que la source la plus probable est l'alimentation (Shettgen et al., 2002). Cependant, le protocole de l'étude longitudinale américaine, citée précédemment pour les insecticides organophosphorés (Lu et al., 2006a), a eu moins d'effet sur le niveau des métabolites urinaires des insecticides pyréthrinoïdes (Lu et al., 2006b), largement utilisés dans les usages domestiques aux Etats-Unis depuis les restrictions concernant l'usage des organophosphorés comme biocides. Dans l'étude pilote GerES IV, l'exposition aux pyréthrinoïdes (liée notamment à leur usage comme biocides) est liée négativement à l'âge (les plus jeunes enfants sont les plus exposés). Une des raisons pourrait être leur comportement spécifique de porter les doigts à la bouche. Cependant, une autre étude réalisée en Allemagne ne trouve aucune influence de l'âge sur cette exposition (Heudorf et al., 2004).

### **. Anciens pesticides organochlorés**

Ces pesticides, s'ils doivent être considérés dans le cas d'une exposition globale, ont moins de signification dans le cadre de l'exposition *via* la consommation de F&L, à l'exception de cas particuliers comme celui décrit pour le chlordécone (§ 1.P.3.4.1). Ces substances liposolubles, présentes dans l'environnement, contaminent plutôt les produits alimentaires d'origine animale.

La surveillance de l'exposition aux anciens pesticides organochlorés est effectuée par leur dosage dans le sang, mais leur dosage dans le lait maternel permet également de contrôler l'évolution du niveau de ces contaminants. L'exposition à ces pesticides, notamment au HCB et au DDE, le métabolite du DDT, a fortement diminué au cours des dernières décennies aux Etats-Unis (CDC, 2005) et en

Allemagne (Raab, 2007). Aux Etats-Unis, les niveaux de HCB sont inférieurs aux limites de détection depuis 1999. Les niveaux enregistrés en Allemagne en 1998 (Becker et al., 2002) sont également très bas (0,44µg/l sérum en moyenne). Les concentrations moyennes sériques de DDE, pour la période 2001-2002 sont équivalentes à celles enregistrées en Allemagne, en 1998, chez les adultes, et sont inférieurs aux niveaux trouvés dans certaines études en Nouvelle-Zélande ou en Slovaquie (CDC, 2005). Les niveaux de DDE des Allemands de l'Est étaient, en 1998, plus de 3 fois supérieurs à ceux des Allemands de l'Ouest (Becker et al., 2002). Les concentrations de ces pesticides s'accroissent avec l'âge du fait de leur propriété de bioaccumulation. Il est à noter que les concentrations d'aldrin, de dieldrin et d'endrin, anciens insecticides à usage agricole, sont à des niveaux inférieurs aux limites de détection ou très bas dans les derniers résultats américains (CDC, 2005). Tous les pesticides organochlorés recherchés ne sont pas ici passés en revue, mais la tendance est à une exposition en diminution aux Etats-Unis et dans un pays européen comme l'Allemagne.

*Les résultats des études de biosurveillance montrent une diminution de l'exposition de la population générale aux très anciens pesticides organochlorés, dans des pays industrialisés, comme les Etats-Unis et l'Allemagne, et confirment l'exposition aux familles d'insecticides utilisées en agriculture : insecticides organophosphorés et pyréthrinoïdes. Certaines études font apparaître le rôle déterminant de la consommation des F&L dans l'exposition aux insecticides organophosphorés en Allemagne et aux Etats-Unis. Concernant les pyréthrinoïdes, la part de l'exposition via les usages domestiques pourrait être un facteur important de l'exposition dans ces deux pays.*

Si les études de biosurveillance renseignent sur l'exposition réelle à des contaminants, elles présentent toutefois des limites. Il est ainsi difficile de relier les doses internes observées à des seuils toxicologiques, c'est-à-dire d'explorer la relation dose-effet, et de donner une signification à cette exposition en termes de santé publique. Par ailleurs, les dosages effectués *via* les métabolites urinaires ne sont pas toujours spécifiques de la molécule parente, qui n'est pas identifiée. De plus, la présence de ces métabolites (si non toxiques) préformés dans l'environnement peut conduire à une surestimation de l'exposition. Enfin, afin d'identifier les sources et voies de l'exposition mesurée, ces dosages doivent être complétés par des informations recueillies lors d'enquêtes menées parallèlement et par le dosage des substances surveillées, sur les compartiments environnementaux.

**En France**, aucune donnée de biosurveillance n'est à ce jour disponible pour les pesticides. L'InVS œuvre à la mise en place d'un système de biosurveillance environnemental, qui concerne en partie ces substances. La mise en place de ce système se fait notamment à travers l'Etude nationale nutrition santé (ENNS)<sup>20</sup>. Son dispositif scientifique s'appuie sur un examen clinique et des dosages biologiques en population générale adulte, complété d'un questionnaire sur les habitudes de vie. Les pesticides recherchés sont des organochlorés, des organophosphorés et des pyréthrinoïdes. Leur dosage est effectué sur un sous-échantillon de 500 individus extrait de l'échantillon d'environ 3700 adultes inclus dans l'étude. Les résultats sont attendus pour 2008 et permettront d'avoir une première estimation de l'exposition à ces substances en France (source : Fréry N., InVS).

## **1.9.4. Que manque-t-il, que faut-il améliorer pour répondre à la question ?**

### **1.9.4.1. Le point en France**

La réponse à la question de l'exposition aux pesticides *via* la consommation de fruits et légumes et de la quantification du risque qui lui est lié passe par des évaluations s'appuyant sur des données de consommation, des données de contamination et les poids corporels des individus de la population concernée.

#### **. Données de contamination**

En France, les données de contamination concernant les produits d'origine végétale présents sur le marché, sont issues des plans de surveillance de la DGCCRF.

<sup>20</sup> <http://www.invs.sante.fr/surveillance/nutrition/enns.htm>

L'Observatoire des résidus de pesticides (ORP), comme cela est indiqué dans sa présentation<sup>21</sup>, a notamment pour vocation de rassembler, en vue de leur valorisation, les résultats des plans de surveillance des résidus de pesticides dans différents milieux (eau, air) et produits consommés par l'homme afin d'estimer l'exposition globale de la population française aux pesticides. Dans son étude de faisabilité (AFSSA, AFSSE, IFEN, 2004), un certain nombre de points à améliorer, mis en évidence notamment à partir des études présentées § 1.9.3.4, sont soulignés. Les plans de surveillance ayant un objectif de contrôle de conformité par rapport aux LMR, il s'agit d'optimiser ces plans pour répondre à un objectif d'estimation des expositions. On citera :

- L'amélioration des critères de définition des plans aléatoires ou ciblés (objectif atteint).
- L'amélioration des performances analytiques afin de baisser certains seuils de détection des substances actives dans les denrées alimentaires.
- L'indication systématique dans les bases de données des seuils de détection (LOD) et de quantification (LOQ). A ce sujet, on notera que les définitions de la LOD et de la LOQ nécessiteraient d'être harmonisées selon une méthodologie commune au niveau des laboratoires.

Nous pouvons ajouter que pour réaliser l'évaluation de l'exposition cumulative à différents pesticides il est nécessaire que :

- Chaque échantillon analysé et chaque substance recherchée sur cet échantillon soient identifiés et que chaque résultat soit renseigné *i.e.* que la valeur de la concentration du résidu ou la mention "non-déecté" soit reportée. Ainsi est-il possible d'accéder aux résidus présents ou non sur un échantillon pour toutes les molécules qui auront été recherchées sur cet échantillon.

Par ailleurs, comme le souligne l'étude de faisabilité de l'ORP, des informations sur les usages, par les agriculteurs, des pesticides selon les cultures seraient nécessaires. Elles permettraient de pondérer la contribution de chaque pesticide autorisé sur une culture à son traitement. Il faut ajouter que ce type de renseignements, indispensable pour affiner l'évaluation du risque, devrait être actualisé régulièrement car les usages sont notamment liés à la législation et au développement des résistances aux pesticides.

Il serait également utile de connaître la distribution des concentrations en résidus des produits issus des activités de jardinage et autoconsommés, et les usages des jardiniers amateurs.

Comme cela avait été prévu dans l'étude de faisabilité de l'ORP, l'AFSSA et ses partenaires ont mis en œuvre une étude du dosage des résidus de pesticides dans les aliments tels que consommés. Ce type d'étude, "Total Diet Study" (TDS) ou "étude d'alimentation totale", a l'avantage de fournir des valeurs réelles de contamination ne nécessitant pas d'utiliser des facteurs de transformation pour affiner l'évaluation de l'exposition (Cf. § 1.P.3.2). L'étude est en cours de formalisation et débutera dans le courant de l'année 2007. Elle prend en compte les facteurs région et période, et les échantillons prélevés sont des échantillons composites. Cependant, ce type d'étude est lourd à mettre en œuvre et coûteux. Il devrait être reconduit périodiquement environ tous les quatre ans. Par ailleurs, comme le précise l'étude de faisabilité de l'ORP, les études TDS comportent certaines limites : cette approche globale ne permet pas de connaître de façon détaillée la contribution des différents produits végétaux (ou animaux) à l'exposition.

### **. Données de consommation**

L'enquête individuelle nationale de consommation alimentaire (INCA), à visée de santé publique, fournit des données adaptées à l'évaluation du statut nutritionnel et à l'évaluation de l'exposition aux contaminants présents dans les aliments. Elle concerne la population adulte et les enfants à partir de 3 ans. Après l'enquête INCA1, réalisée en 1999 (Volatier, 2000), une seconde enquête, liée à l'ENNS<sup>18</sup>, est en voie d'achèvement et ses résultats seront présentés fin 2007. Les données de cette enquête devraient être disponibles en 2008 selon certaines modalités. Dans le cadre de l'étude de faisabilité de l'ORP, un travail a été effectué afin de pouvoir utiliser cette base de données pour l'évaluation de l'exposition aux pesticides. Ainsi est-il possible d'obtenir la consommation de chacun des individus de la base pour chaque produit végétal (ou animal), y compris lorsqu'il est inclus dans une préparation.

---

<sup>21</sup> <http://www.observatoire-pesticides.gouv.fr/>

Ces données de consommation peuvent donc être croisées avec les données de contamination des plans de surveillance.

Par ailleurs, il existe les bases de données annuelles sur les achats des ménages du panel TNS-Secodip (ou TNS-Worldpanel) qui fournit des renseignements détaillés sur les achats de fruits et légumes frais ou transformés. Ces données peuvent être utiles dans l'évaluation du risque chronique. Cependant, elles ne permettent pas de connaître les consommations individuelles et ne comportent pas d'informations sur l'autoconsommation ni sur la consommation hors foyer. Des méthodes d'individualisation de ces données enregistrées par ménage sont en cours.

Il serait utile d'acquérir des données précises actualisées sur l'autoconsommation individuelle ou par ménage, en termes de quantité, des différents produits d'origine végétale. Toutefois, des données sur l'autoconsommation des fruits et légumes ont été acquises dans l'étude réalisée par l'InVS et l'AFSSA sur l'imprégnation par les dioxines des populations vivant à proximité d'usines d'incinération d'ordures ménagères<sup>22</sup>.

Concernant les nourrissons et les enfants en bas âge, les données de consommation sont acquises dans le cadre de l'étude Alliance7 de Dijon dont la dernière enquête date de 2005.

#### **1.9.4.2. Demande de recherche amont pour évaluer le risque**

##### ***. Identification du danger et caractérisation du danger des pesticides***

La demande cognitive dans ces domaines est toujours forte. Elle s'effectue à travers les programmes de recherche nationaux ou internationaux. Elle concerne notamment :

- Les études épidémiologiques (relation effet/exposition, chez l'homme) ;
- L'étude, *via* l'expérimentation animale, des effets des faibles doses, de mélanges de substances, de mise au point de tests de dépistage d'effets perturbateurs endocriniens ;
- L'étude des mécanismes d'action des substances et l'identification des marqueurs d'effet, notamment pour grouper les substances agissant par un même mécanisme d'action (§ 1.9.2.2) ;
- L'exploration et la modélisation de la relation dose-réponse pour définir les VTR ;
- L'extrapolation des résultats des expérimentations animales à l'homme et les facteurs de sécurité.

##### ***. Méthodologie d'évaluation de l'exposition à plusieurs pesticides***

Comme indiqué dans le § 1.9.2.2, dans le cadre du règlement CE N° 396/2005 concernant les LMR, l'Union européenne œuvre à l'élaboration d'une méthodologie harmonisée permettant de tenir compte des effets cumulatifs et synergiques possibles des pesticides sur la santé humaine. C'est-à-dire permettant de combiner les expositions à divers pesticides présentant un même mécanisme d'action, mais aussi à plusieurs pesticides ayant des mécanismes d'action différents et pouvant présenter des effets additifs, synergiques ou antagonistes. Les points discutés et les recommandations formulées lors du premier colloque organisé à cet effet, en novembre 2006, ont été publiés en avril 2007.

L'effet cumulatif signifie, dans ce contexte, la prise en compte de l'exposition simultanée à plusieurs pesticides à travers l'alimentation. Il ressort que la priorité est l'évaluation du risque cumulatif, notamment aigu, pour les pesticides qui présentent un mécanisme d'action commun. L'objectif est d'élaborer des lignes directrices pour évaluer cette exposition. Cela passe par l'exploration des données existantes et la possible mise en œuvre de recherches comme l'étude des mécanismes d'actions, cité précédemment, et le développement d'un logiciel informatique basé sur des modèles probabilistes existants, comme celui des Pays-Bas (1.9.3.4) ou ceux utilisés aux Etats-Unis. Il a été recommandé que cette méthodologie s'élabore en relation avec l'EPA pour prendre en compte l'expérience américaine et dans un contexte de coopération scientifique internationale dans le domaine. Les autres voies d'exposition, autres qu'alimentaire, devraient être envisagées à plus long terme.

---

<sup>22</sup> <http://www.invs.sante.fr/surveillance/dioxines/default.htm>

## Résumé

La prise de conscience du risque lié à l'utilisation des produits phytopharmaceutiques (ou pesticides) pour la protection des cultures, à la fois au niveau des instances gouvernementales et des citoyens, est un phénomène général dans les pays industrialisés et se traduit par des actions et des politiques visant à renforcer la réglementation concernant les pesticides et à réduire leur utilisation et leur impact.

Dans l'Union européenne, l'usage des pesticides et le contrôle de leurs résidus dans les denrées alimentaires est très encadré et la législation dans ce domaine est en constante évolution. Les pesticides (substances actives et préparations les contenant) sont soumis à une procédure très complète d'évaluation de risque *a priori* avant leur mise sur le marché, qui relève de la Directive 91/414/CEE. Cette évaluation concerne les substances actives "nouvelles" et les substances actives "existantes" au moment de la mise en application de cette directive en 1993. La surveillance des résidus de pesticides s'appuie notamment sur le règlement CE N°396/2005, en cours de mise en œuvre, concernant les limites maximales applicables aux résidus (LMR) de pesticides présents dans ou sur les produits alimentaires (et les aliments pour animaux) d'origine végétale et animale, qui vise à leur harmonisation au niveau européen et au renforcement de la sécurité du consommateur. *La Commission européenne a proposé un nouveau règlement concernant l'autorisation des pesticides, destiné à remplacer la Directive 91/414/CEE, ainsi qu'une Directive cadre sur les pesticides concernant les aspects de la phase d'utilisation et de distribution, non abordés dans le nouveau règlement. Ces propositions, qui visent à renforcer la protection de la santé publique et de l'environnement, s'inscrivent dans la stratégie globale concernant l'utilisation durable des pesticides.*

La Commission européenne a mis en place depuis 1996, au niveau des Etats membres, un programme de surveillance annuel des résidus de pesticides dans les produits alimentaires d'origine végétale qui fournit des données en vue de l'évaluation du risque. Les données de ce plan complètent celles issues d'autres programmes de surveillance ou de contrôle nationaux, qui font l'objet d'un rapport annuel de synthèse de la situation européenne. Le programme communautaire est un programme glissant, portant chaque année sur un ensemble restreint de produits dont les contrôles sont reconduits à intervalles réguliers.

Les plans de surveillance nationaux des Etats membres et de trois Etats de l'AELE montrent, qu'en 2004, 47% (48% en France) des échantillons de F&L présentaient des résidus de pesticides et 5% (3,9% en France) des échantillons avaient des teneurs supérieures aux LMR, c'est-à-dire non conformes. En France, ces chiffres sont respectivement de 44,6% et 6,7%, selon les derniers plans de surveillance de 2005. Les résidus les plus fréquemment détectés sur les F&L sont les fongicides et les insecticides. Près de 25% des échantillons de produits végétaux analysés en 2004 (y compris les céréales et en considérant les contrôles ciblés) contenaient 2 pesticides ou plus. Il faut cependant souligner qu'un échantillon est un échantillon composite, c'est-à-dire composé de plusieurs unités.

Le type de molécule et les teneurs en résidus de pesticides dans les produits végétaux dépendent des autorisations d'usage selon le type de culture et sont notamment liés au mode de production, à la sensibilité des produits cultivés aux agresseurs et maladies (notamment problème de résistances) et aux conditions climatiques. Tous les pesticides utilisés en agriculture ne conduisent pas à des niveaux de résidus quantifiables dans les produits végétaux.

Les traitements comme l'épluchage, le lavage, la cuisson ou les procédés de transformations industriels (ex : conserverie) conduisent généralement à des teneurs en résidus inférieures à celles des produits frais. Cependant l'efficacité de certains traitements, comme le lavage, dépend de la nature du pesticide (systémique ou pas), de ses propriétés physico-chimiques et du produit végétal sur ou dans lequel il se trouve. La diminution des résidus de pesticides peut être également conditionnée par les modalités du traitement de lavage ou de cuisson. Enfin certains procédés de transformation peuvent conduire à la formation de métabolites plus toxiques que la molécule parente. Les métabolites qui pourraient être générés par un procédé de transformation sont généralement recherchés lors des tests

fournis pour les dossiers d'autorisation des pesticides et l'impact sur les niveaux de résidus des traitements usuels cités précédemment est évalué. Des facteurs de correction issus de ces dossiers permettent de tenir compte des différents traitements et procédés de transformation sur les teneurs en pesticides pour l'évaluation de l'exposition. Cependant ces facteurs ne sont pas toujours disponibles.

L'évaluation de l'exposition aux pesticides s'effectue à partir des données de contamination et des données de consommation et les approches méthodologiques diffèrent selon les objectifs. Dans le cadre réglementaire, l'approche usuelle est déterministe, ponctuelle et protectrice. Elle utilise une valeur fixe d'estimation de la consommation et de la contamination conduisant à une valeur d'estimation de l'exposition et se base sur des scénarios de "pire cas" afin de protéger le consommateur. Des approches probabilistes, prenant en compte tous les niveaux de consommation et tous les niveaux de contamination et permettant de générer une distribution des expositions, sont utilisées par certains pays industrialisés, notamment pour évaluer l'exposition aiguë. Les doses d'exposition obtenues lors des évaluations sont confrontées aux doses toxicologiques de référence (valeur toxicologique de référence : VTR) afin de caractériser le risque. On distingue deux sortes de VTR pour l'exposition alimentaire aux pesticides : la dose journalière admissible (DJA) qui est la dose toxicologique de référence utilisée pour mesurer le risque chronique de long terme, et la dose de référence aiguë (ARfD), qui est la dose toxicologique de référence utilisée pour mesurer le risque de court terme (un repas, un jour). L'évaluation de l'exposition aiguë ne concerne pas tous les pesticides.

Les méthodologies d'évaluation usuelles, déterministes ou probabilistes, considèrent l'exposition par pesticide. Or, en réalité, le consommateur est exposé à plusieurs pesticides *via* son alimentation. Des approches sont en cours pour évaluer ce risque pour les pesticides présentant un mécanisme commun de toxicité. Les Etats-Unis ont une expérience de plusieurs années dans ce domaine. Dans le cadre du nouveau règlement CE N° 396/2005 concernant les LMR, l'Union européenne a engagé récemment une réflexion visant à l'élaboration de lignes directrices pour évaluer l'exposition cumulative aux pesticides *via* l'alimentation, dans un contexte de coopération scientifique internationale.

Dans l'Union européenne, l'évaluation usuelle de l'exposition, conduite par pesticide et par produit végétal, à partir des résultats des données de surveillance du programme communautaire (qui porte chaque année sur un nombre restreint de produits végétaux) montre que l'exposition chronique aux pesticides recherchés (de 36 à 47) n'a pas dépassé leur DJA de 2001 à 2004 pour l'ensemble des Etats membres participants. Cependant, des concentrations de certains résidus de pesticides (organophosphorés, pyrèthrinoïdes, carbamates et dithiocarbamates) dans certains produits végétaux ont pu conduire à une exposition aiguë dépassant l'ARfD, notamment chez les enfants. Toutefois, cette évaluation à la fois pessimiste et simplifiée ne doit être considérée qu'à titre indicatif et ne permet pas d'évaluer les consommations de pesticides par la population générale ou les sous-groupes de population.

Les études de biosurveillance (qui s'appuient sur des marqueurs biologiques) réalisées sur de grands échantillons représentatifs de la population aux Etats-Unis et en Allemagne confirment l'exposition à des familles d'insecticides très utilisées en agriculture : les insecticides organophosphorés et les insecticides pyrèthrinoïdes. Dans cette exposition il faut tenir compte de l'impact des autres sources et voies d'exposition comme celles liées aux usages domestiques de ces familles d'insecticides. Certaines études font apparaître le rôle déterminant de la consommation des F&L dans l'exposition aux insecticides organophosphorés aux Etats-Unis et en Allemagne.

En France, les études d'évaluation de l'exposition aux pesticides *via* la consommation de F&L (anciennes), ou à travers plusieurs sources alimentaires d'exposition (F&L, céréales, produits d'origine animale et eau), réalisées, ne prétendent pas rendre compte de l'exposition de la population française. Elles ont été effectuées par pesticide et ont utilisé soit une approche théorique maximaliste (concentration en résidus supposées égales aux LMR) soit des scénarios pessimistes à partir de données réelles de contamination, sur un nombre restreint de molécules. Leur objectif était essentiellement d'identifier des substances prioritaires à surveiller ou de tester, dans le cadre de la

création de l'Observatoire des Résidus de Pesticides (ORP), la faisabilité de l'évaluation de l'exposition globale aux pesticides à partir des données disponibles en France.

Plusieurs actions sont en cours, dans le cadre de l'ORP. Elles concernent le recueil des données de contamination au niveau des administrations et la mise en œuvre d'une étude d'alimentation totale pour recueillir des données de contamination sur les produits alimentaires tels que consommés. Concernant les données de consommation, la deuxième version de l'enquête individuelle nationale de consommation alimentaire (INCA2) est en voie d'achèvement. Par ailleurs, l'InVS met en place un système de biosurveillance qui concerne en partie les pesticides (organophosphorés, pyréthrinoïdes et organochlorés). La mise en place de ce système s'effectue à travers l'étude nationale nutrition santé (ENNS) à laquelle est liée l'étude INCA. L'ensemble de ces actions vise à estimer l'exposition globale de la population française aux différents pesticides à travers les différentes sources et voies d'exposition et doit permettre l'évaluation de l'exposition *via* la consommation de fruits et légumes.

Il est important de noter que de nombreuses substances identifiées dans les évaluations d'exposition comme préoccupantes ont été interdites d'usage dans l'Union européenne, suite à leur réévaluation au titre de la Directive 91/414/CEE. Ainsi, de nombreuses molécules de la famille des insecticides organophosphorés, toujours identifiés dans les substances préoccupantes, ont été retirées du marché. A ce jour, dans cette famille, seules quatre molécules sont incluses à l'annexe 1 de la directive 91/414/CEE (autorisation européenne des substances actives) sans restriction d'usage. Certaines substances, dans cette famille ou dans d'autres familles, ont été inscrites à l'annexe 1 avec des restrictions d'usage, comme le carbendazime, qui ne sera plus autorisé sur F&L, et la procymidone dont l'usage sera très limité. Ces substances ne devraient donc plus être préoccupantes dans le cadre de l'exposition alimentaire *via* la consommation de F&L, à l'exception du cas de produits végétaux en provenance des pays hors Union européenne sur lesquels elles seraient toujours utilisées, et des cas de fraudes. Il faut cependant noter que la diminution du nombre de substances dans la famille des organophosphorés ne garantit pas une diminution des quantités utilisées dans cette famille. Il peut se produire un phénomène de substitution et la substance autorisée verra sa consommation augmenter si son efficacité est reconnue et que son prix est attractif par rapport à d'autres substances présentes sur le marché. C'est ce qui semble se produire avec le chlorpyrifos.

Il faut aussi garder à l'esprit que l'évaluation de l'exposition aux pesticides est empreinte d'incertitude. Elle dépend des méthodologies mises en œuvre. Elle est soumise au type de données de consommation et de contamination disponibles et aux contraintes liées aux plans d'échantillonnage des produits alimentaires (ex : échantillons composites). La caractérisation du risque lié à cette exposition dépend des VTR qui sont disponibles. Ces VTR évoluent à la lumière de nouvelles données (issues de l'expérimentation animale ou de données sur l'homme) ou de nouvelles approches méthodologiques pour les construire. Par ailleurs, de nouveaux effets peuvent être identifiés. Le dépassement d'une VTR ne conduit pas forcément à un effet toxique compte tenu des facteurs de sécurité appliqués pour la construire. Mais l'inverse est aussi possible, c'est-à-dire qu'une exposition inférieure aux VTR pourrait un jour s'avérer nocive car beaucoup d'incertitude perdure sur l'effet des faibles doses, l'effet de mélanges de substances et les effets cumulés.

La demande cognitive est donc toujours forte. L'enjeu se situe dans le domaine de l'identification du danger et de sa caractérisation (cela passe par les études épidémiologiques et les expérimentations sur modèle animal), ainsi que sur les méthodologies d'évaluation du risque qui s'édifient dans un contexte international.

**Tableau 1.9-1.** Résidus d'insecticides organophosphorés et de fongicides DTC<sup>1</sup> détectés en France sur 17 produits végétaux<sup>2</sup>

Produit	Année	Nombre d'échantillons	Insecticides organophosphorés					Fongicides DTC		
			Fréquence des résidus détectés					Nombre d'échantillons	Fréquence des résidus détectés	
			Chlorpyrifos	Malathion	Diméthoate	Méthamidophos	Pyrimiphos-méthyl			Méthidathion
Pomme	2001	245-268	<b>5,5%</b>	0,0%	1,6%	0,0%	0,0%	0,3%	240	2,5%
	2004	295	<b>19,3%</b>	0,7%	1,4%	0,0%	0,0%	0,7%		1,7%
Banane	2002	84-94	2,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	31	0,0%
Haricot	2002	80-110	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	70	2,9%
Carotte	2002	166-246	0,8%	0,0%	0,8%	0,0%	0,0%	0,0%	166	0,0%
Chou-fleur	1999	66	0,0%	nr	nr	0,0%	0,0%	0,0%	66	<b>6,1%</b>
	2003	69	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	28	<b>28,6%</b>
Concombre	2000	96	0,0%	nr	nr	0,0%	0,0%	0,0%	96	2,1%
	2003	82-85	0,0%	0,0%	0,0%	2,4%	0,0%	0,0%	73	1,4%
Raisin	2001	43-61	<b>9,8%</b>	0,0%	<b>8,2%</b>	0,0%	0,0%	0,0%	61	1,6%
	2003	93	<b>20,4%</b>	0,0%	2,2%	1,0%	0,0%	0,0%	67	3,0%
Chou pommé	2000	64	0,0%	nr	nr	0,0%	0,0%	0,0%	64	<b>15,6%</b>
	2004	44-62	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	39	<b>15,4%</b>
Laitue	2001	294-379	0,3%	0,0%	0,3%	<b>5,1%</b>	0,0%	0,0%	366	<b>23,2%</b>
	2004	206	0,5%	0,0%	1,0%	0,0%	0,0%	0,0%	202	<b>16,8%</b>
Melon	1999	57	0,0%	nr	nr	1,8%	0,0%	0,0%	57	<b>12,3%</b>
Orange/Mandarine	2002	135-195	<b>43,1%</b>	<b>23,1%</b>	1,5%	0,0%	2,1%	<b>26,2%</b>	96	1,0%
Pêche/Nectarine	2002	129-136	3,7%	0,0%	1,5%	<b>7,0%</b>	0,7%	0,0%	129	0,8%
Poire	2002	93-116	<b>5,2%</b>	3,4%	1,9%	0,0%	0,0%	0,0%	103	2,9%
Poivron	1999	54	<b>7,4%</b>	nr	nr	<b>31,5%</b>	<b>13,0%</b>	0,0%	54	0,0%
	2003	92	4,3%	4,3%	0,0%	1,1%	<b>10,9%</b>	0,0%	64	0,0%
Epinard	2002	52-64	1,6%	1,6%	0,0%	1,9%	0,0%	0,0%	64	<b>9,4%</b>
Fraise	2001	141	0,7%	2,1%	0,0%	1,4%	0,0%	0,0%	107	0,0%
	2004	112	0,0%	1,8%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	112	<b>6,2%</b>
Tomate	2001	272	1,5%	0,0%	0,0%	3,3%	0,0%	0,0%	272	1,5%
	2004	200	1,5%	0,0%	0,0%	0,0%	0,5%	0,0%	154	<b>7,8%</b>

<sup>1</sup> Dithiocarbamates

<sup>2</sup> D'après les résultats du programme de surveillance communautaire

nr : Non recherché

**Tableau 1.9-2.** Résidus de Fongicides dicarboximides et phtalimides détectés en France sur 17 produits végétaux<sup>1</sup>

Produit	Année	Fongicides dicarboximides			Fongicides phtalimides	
		Nombre d'échantillons	Fréquence des résidus détectés		Nombre d'échantillons	Fréquence des résidus détectés
			Iprodione	Procymidone		
Pomme	2001	308	0,6%	0,0%	308	<b>13,3%</b>
	2004	295	0,7%	0,0%	295	<b>16,3%</b>
Banane	2002	94	0,0%	0,0%	94	0,0%
Haricot	2002	110	0,9%	<b>7,3%</b>	110	1,8%
Carotte	2002	246	<b>14,2%</b>	1,2%	246	0,0%
Chou-fleur	1999	66	0,0%	nr		nr
	2003	69	0,0%	0,0%	69	5,8%
Concombre	2000	96	3,1%	nr		nr
	2003	85	3,5%	4,7%	85	1,2%
Raisin	2001	61	<b>11,5%</b>	<b>6,6%</b>	61	<b>27,9%</b>
	2003	93	<b>7,5%</b>	<b>15,0%</b>	93	<b>7,5%</b>
Chou pommé	2000	64	1,6%	nr		nr
	2004	62	4,8%	0,0%	62	0,0%
Laitue	2001	379	<b>31,1%</b>	<b>16,9%</b>	379	3,4%
	2004	206	<b>20,4%</b>	<b>20,4%</b>	206	<b>6,8%</b>
Melon	1999	57	0,0%	nr		nr
Orange/Mandarine	2002	195	0,0%	0,0%	195	0,0%
Pêche/Nectarine	2002	136	<b>31,6%</b>	<b>5,1%</b>	136	<b>6,6%</b>
Poire	2002	116	2,6%	4,3%	116	<b>13,8%</b>
Poivron	1999	54	0,0%	nr		nr
	2003	92	1,1%	<b>5,4%</b>	92	0,0%
Epinard	2002	64	<b>6,3%</b>	1,6%	64	0,0%
Fraise	2001	141	<b>14,2%</b>	<b>12,1%</b>	141	<b>14,2%</b>
	2004	112	<b>14,3%</b>	<b>14,3%</b>	112	4,5%
Tomate	2001	272	<b>4,8%</b>	<b>13,6%</b>	272	0,4%
	2004	200	<b>5,5%</b>	<b>16,0%</b>	200	0,5%

<sup>1</sup> D'après les résultats du programme de surveillance communautaire  
nr : Non recherché

## Annexe : Surveillance des résidus de pesticides dans les produits alimentaires

### **Teneurs maximales en résidus de pesticides et renforcement de la protection des consommateurs : cadre harmonisé pour les limites maximales applicables aux résidus de pesticides (règlement CE N° 396/2005 (en cours de mise en œuvre))**

Les quantités maximales autorisées de résidus (ou limites maximales de résidus : LMR) de pesticides pouvant se trouver dans un produit destiné à l'alimentation humaine et animale sont fixées, en ce qui concerne les pesticides autorisés en agriculture, au niveau du seuil de sécurité que l'on est en droit d'attendre si le pesticide est utilisé conformément aux règles et aux restrictions figurant sur son autorisation. *Il est important de noter que la LMR n'est pas un seuil toxicologique.* Néanmoins, pour établir les LMR, il est tenu compte que cette limite maximale (déclinée par pesticide et par produit) ne conduise pas à dépasser les valeurs toxicologiques de référence du pesticide considéré. Une LMR n'est fixée que lorsqu'elle est considérée comme sûre. A l'heure actuelle, les LMR sont fixées au niveau communautaire pour environ 250 substances actives de produits phytopharmaceutiques pour plusieurs milliers de produits alimentaires, les autres LMR (en l'absence de LMR communautaire) ayant été fixées au niveau de l'Etat membre.

**Le règlement CE N° 396/2005** du 23/02/05 vise à harmoniser les LMR des pesticides au niveau européen et à remplacer les anciennes directives (notamment pour ce qui concerne les F&L : directives 76/895/CEE et 90/642/CEE), modifiées à plusieurs reprises, par un acte unique. Il prévoit que les LMR des pesticides seront harmonisées à l'issue d'une période transitoire d'introduction progressive et ne seront établies qu'au niveau européen. Lorsqu'aucune LMR spécifique pour un produit n'aura été établie, une valeur par défaut de 0,01 mg/kg sera appliquée. L'Autorité européenne de sécurité des aliments (AESa, en anglais: EFSA) est en charge de l'évaluation des risques; la gestion des risques relève de la Commission européenne, qui fixe les LMR en tenant compte des avis émis par l'EFSA (*les LMR doivent être constamment réexaminées et modifiées afin de prendre en compte toute nouvelle information ou donnée*).

Dans le cadre du processus de mise en application du règlement CE N° 396/2005, l'EFSA a rendu publique l'évaluation de la sécurité des LMR provisoires (LMR nationales) proposées pour 236 substances actives, (EFSA, 15 mars 2007)\*. L'évaluation de l'exposition des consommateurs européens, réalisée selon les lignes de la méthodologie OMS en vigueur, a pris en compte les schémas de consommation alimentaire en Europe ainsi que les groupes vulnérables de population, tels que les enfants et les nourrissons. Plus de 62000 LMR (combinaisons pesticide/produit) ont été évaluées selon des modèles maximalistes, protecteurs pour le consommateur. L'exposition chronique a été évaluée en cumulant l'exposition à travers tous les produits sur lesquels le pesticide était utilisé et en considérant les LMR nationales les plus élevées et les consommations nationales respectives. L'exposition aiguë a été évaluée en considérant la LMR européenne la plus élevée, par combinaison pesticide/produit, croisée avec la plus forte consommation européenne pour ce produit et la dose d'exposition a été comparée à la plus faible VTR disponible. D'après cette évaluation, 92 des 236 substances actives présentent des LMR qui ne sont pas susceptibles de conduire à un dépassement des VTR (DJA et ARfD), c'est-à-dire de présenter un risque chronique ou aigu pour le consommateur. Pour les 144 autres substances actives cette première évaluation

n'exclut pas un risque potentiel pour le consommateur. L'EFSA précise que compte tenu du manque de données et des hypothèses protectrices qui ont dû être appliquées, cette évaluation doit être considérée comme un premier criblage afin d'identifier les substances dont les LMR pourraient conduire à un risque pour le consommateur européen ; que si les expositions calculées dépassaient les VTR cela ne signifiait pas que les LMR posaient nécessairement un problème de sécurité ; et qu'il était donc nécessaire d'affiner ces évaluations en se basant sur des scénarios plus réalistes.

*L'EFSA souligne que les résultats de cette évaluation ne reflètent pas l'exposition actuelle du consommateur européen, qui doit être effectuée à partir des résultats des programmes de surveillance. Il est à noter qu'au moment de cette analyse, parmi les 236 substances actives ayant fait l'objet de cette évaluation, 71 n'étaient plus autorisées dans l'Union européenne (dont 16 avec des LMR provisoires ne conduisant à aucun risque), 144 étaient en cours d'évaluation et 21 étaient inscrites à l'Annexe 1. Sur les 165 substances actives autorisées, 76 avaient des LMR provisoires ne conduisant à aucun risque.*

\*[http://www.efsa.europa.eu/en/science/praper/maximum\\_residue\\_levels/mrl\\_opinion.html](http://www.efsa.europa.eu/en/science/praper/maximum_residue_levels/mrl_opinion.html)

## 1.10. Exposition aux nitrates liée à la consommation de fruits et légumes

Philippe Verger

Les nitrates et les nitrites sont des substances faisant partie du cycle de l'azote et donc naturellement contenues dans l'environnement. Depuis le début du 20<sup>e</sup> siècle, l'utilisation intensive de nitrates en agriculture comme fertilisants ainsi que les rejets dans l'environnement des déjections des animaux d'élevage ont considérablement accru leur concentration aussi bien dans les sols que dans l'eau et les plantes notamment destinées à l'alimentation humaine.

Les légumes et en particulier les légumes feuillus sont la source principale d'exposition alimentaire aux nitrates, que ces végétaux captent et concentrent à des concentrations variables mais toujours importantes en fonction des pratiques agricoles et du climat. Les autres sources de l'exposition humaine sont l'eau de boisson, les fruits, les céréales et les charcuteries auxquelles les nitrates (mais aussi les nitrites) sont ajoutés comme additif (E249, E250, E251, E252) à des fins de conservation et de coloration.

Dans des conditions normales de stockage (durée limitée et obscurité) les fruits et les légumes ne sont pas un vecteur majeur des nitrites comparativement aux produits de charcuterie. On estime que 5% des nitrates ingérés sont convertis en nitrites par l'organisme : ce pourcentage en apparence faible peut constituer *in fine* une source non négligeable d'exposition aux nitrites en cas d'ingestion de quantités importantes de nitrates.

### 1.11.1. Effets nocifs des nitrates et nitrites

#### . Effets non carcinogènes

Le principal effet toxique des nitrates est la méthémoglobinémie, qui est un effet aigu correspondant à la capacité réduite du sang à transporter l'oxygène dans l'ensemble de l'organisme. Elle résulte le plus souvent de la consommation par de jeunes enfants d'eau très contaminée. La concentration naturelle des nitrates dans l'eau est habituellement de quelques milligrammes par litre alors que ce sont des concentrations supérieures à 50 mg/litre qui ont été associées à la méthémoglobinémie chez des nouveau-nés nourris au biberon (Fan and Steinberg, 1996).

Sur la base d'expérimentations de toxicologie étudiant l'exposition chronique de rongeurs, des Doses Journalières Acceptables ont été établies pour les nitrates et les nitrites à respectivement 3,7 et 0,06 mg/kg de poids corporel (WHO, 2002). Les effets retenus respectivement pour les nitrates et les nitrites sont la diminution de mobilité spermatique et l'hypertrophie des surrénales.

#### . Effets carcinogènes

En dépit de nombreuses études épidémiologiques, i.e. 7 études cas-témoin (Risch, Jain et al., 1985; Buiatti, Palli et al., 1990; Boeing, Frentzel-Beyme et al., 1991; Gonzalez, Riboli et al., 1994; Hansson, Nyren et al., 1994; La vecchia, Ferraroni et al., 1994; Pobel, Riboli et al., 1995) et 2 études de cohorte (van Loon, Botterweck et al., 1997; van Loon, Botterweck et al., 1998; Knekt, Jarvinen et al., 1999) ayant analysé l'association entre l'ingestion de **nitrates** par l'alimentation et les cancers gastriques et 1 étude cas-témoin ayant analysé l'association entre l'ingestion de nitrates par l'alimentation et les cancers œsophagiens (Rogers, Vaughan et al., 1995), aucune corrélation positive n'a été retrouvée. Une relation inverse retrouvée dans plusieurs des études cas-témoin est probablement attribuable à une forte consommation de légumes plutôt qu'à l'ingestion de nitrates eux-mêmes.

L'analyse de l'association entre exposition alimentaire aux **nitrites** et cancer de l'estomac est basée sur 7 études cas-témoin et 2 études de cohorte. Parmi ces travaux épidémiologiques, 6 études cas-témoin montrent une association positive alors que les études de cohorte ne montrent pas de

corrélation significative lorsqu'elles sont ajustées pour les facteurs confondants et en particulier la vitamine C (van Loon, Botterweck et al., 1997; van Loon, Botterweck et al., 1998; Knekt, Jarvinen et al., 1999). Enfin, 2 études cas-témoin ont montré une relation positive mais non significative entre ingestion de nitrites et cancer de l'œsophage (Rogers, Vaughan et al., 1995; Mayne, Risch et al., 2001).

Les études analysant la relation entre nitrates ou nitrites provenant des légumes et cancer du côlon et du rectum sont moins nombreuses et contradictoires : une étude cas-témoin conduite aux Etats-Unis (De Roos, Ward et al., 2003) montre une augmentation significative du risque de ces localisations de cancers associée à l'exposition aux nitrites par les aliments, alors qu'une étude de cohorte conduite en Finlande ne montrait pas d'association (Knekt, Jarvinen et al., 1999).

De même, 2 études cas-témoin ont analysé la relation entre l'exposition alimentaire aux nitrites et l'apparition de lymphome non-hodgkinien (LMNH) aux Etats-Unis : une étude montrait une élévation du risque (Ward, Cerhan et al., 2006) et l'autre pas (Ward, Mark et al., 1996).

De nombreuses études épidémiologiques ont étudié la relation entre nitrates ou nitrites provenant des légumes et différentes localisations cancéreuses dont le cerveau, le tractus urinaire, le pancréas, la bouche, le larynx, le poumon, l'utérus, le sein... et aucune n'a montré une relation positive claire. Cependant, s'agissant de l'association des nitrates et nitrites avec ces localisations de cancers, plusieurs études ont observé une relation positive entre plusieurs types de cancers et un apport élevé en nitrates et/ou nitrites provenant de l'eau de boisson combiné à un apport faible en vitamine C (cerveau (Lee, Wrensch et al., 1997); cerveau (Schwartzbaum, Fisher et al., 1999) ; LMNH (Ward, Mark et al., 1996) ; côlon (De Roos, Ward et al., 2003)). La plupart de ces études ont été conduites dans des régions où les nitrates dans l'eau de boisson sont élevés du fait de l'utilisation intensive de fertilisants azotés.

## **1.11.2. Exposition *via* la consommation de fruits et légumes**

### ***. Concentration des nitrates dans les fruits et les légumes***

La concentration des nitrates dans les fruits et les légumes est très variable en fonction du type de légume, de la saison de récolte et des durées de stockage (Walker, 1990; Gangolli, Vandenbrandt et al., 1994; European Commission, 1997). Sur la base de la littérature disponible, les légumes peuvent être divisés en 3 catégories en fonction de leur teneur en nitrates : faible teneur (<100 mg/kg), teneur intermédiaire (100-1000 mg/kg) et forte teneur en nitrates (>1000 mg/kg) (Chilvers, Inskip et al., 1984).

Les légumes feuillus tels que les salades et les épinards par exemple ont les concentrations les plus élevées en nitrates (>1000 mg/kg). En Italie (De Martin and Restani, 2003), les concentrations en nitrates dans les légumes feuillus ont été analysées entre 80 et 6250 mg/kg, avec des concentrations plus fortes dans les légumes issus de l'agriculture biologique à la fois pour les salades vertes (1680 versus 3009 mg/kg) et les endives (3232 versus 4629 mg/kg). En France (Malmauret, Parent-Massin et al., 2002), la concentration médiane des nitrates plus nitrites obtenus par agriculture conventionnelle ou biologique a été mesurée à respectivement 1591 et 1135 mg/kg, pour les épinards, et à respectivement 804 et 1221 mg/kg, pour les laitues. En Pologne, la concentration en nitrates dans les laitues a été mesurée jusqu'à 3500 mg/kg (Nabrzyski and Gajewska, 1994). Enfin au Royaume Uni, entre 1996 et 1998 (Ysart, Miller et al., 1999), la teneur moyenne en nitrates des laitues produites sous serre était de 2382 et 3124 mg/kg respectivement en été et en hiver, alors que les concentrations en nitrates des laitues produites en extérieur étaient de 1085 mg/kg. Dans la même étude, la concentration en nitrates des épinards était de 1900 mg/kg. Dans une étude plus récente (Food Safety Inspection Service, 2004), la concentration moyenne en nitrates des laitues produites sous serre durant l'été était de 2999 mg/kg (intervalle : 676-4382 mg/kg;  $n = 18$ ) ; en hiver la concentration moyenne était de 3617 mg/kg (intervalle : 1945-5720 mg/kg;  $n = 33$ ). Pour les laitues produites à l'extérieur, les concentrations étaient plus basses aussi bien en été (moyenne : 1140 mg/kg; intervalle : 181-2656 mg/kg) qu'en hiver (moyenne : 1997 mg/kg; intervalle : 810-3100 mg/kg). En 2004 et dans la même

étude, la concentration moyenne en nitrates dans les épinards était de 1815 mg/kg (intervalle : 141-3909 mg/kg).

Une seconde catégorie de légumes inclut les pommes de terre, les choux et les haricots, dans lesquels la concentration en nitrate varie de 100 à 1000 mg/kg. En Pologne, des concentrations allant jusqu'à 800 mg/kg (Nabrzyski and Gajewska, 1994) ont été mesurées dans des haricots verts. En France, les concentrations en nitrates dans les carottes étaient de 113 et 394 mg/kg, respectivement, pour les produits issus de l'agriculture traditionnelle ou de l'agriculture biologique (Malmauret, Parent-Massin et al., 2002). Dans la même étude, des concentrations de 711 et 561 mg/kg de nitrate, ont été mesurées respectivement dans des haricots issus de l'agriculture conventionnelle ou biologique.

Les légumes comme les asperges, les oignons, les tomates et les autres fruits frais contiennent moins de nitrates que les catégories précédentes, avec des concentrations inférieures à 100 mg/kg. La concentration moyenne en nitrates dans les fruits frais a été mesurée à 27 mg/kg (intervalle : 12-46 mg/kg) (FSA, 1998). En France (Malmauret, Parent-Massin et al., 2002), la concentration des nitrates dans les tomates a été mesurée à 19 et 1 mg/kg respectivement dans les produits issus de l'agriculture conventionnelle et biologique. Enfin, en Pologne (Nabrzyski and Gajewska, 1994), les concentrations en nitrates des fruits était comprise entre 1,3 et 36 mg/kg et une concentration de 58,7 mg/kg de nitrates a été mesurée dans les fraises.

#### **. Concentration des nitrites dans les fruits et les légumes**

La concentration moyenne en nitrites des légumes est en général inférieure à 2 mg/kg. Une concentration moyenne de 0,5 mg/kg a été mesurée au Royaume-Uni dans une Etude de l'Alimentation Totale (FSA, 1998) pour tous les légumes.

#### **. Exposition alimentaire aux nitrates**

L'exposition moyenne aux nitrates pour un adulte est estimée entre 60 et 90 mg par jour, dont 90% proviennent de l'alimentation lorsque l'eau de boisson n'est pas fortement contaminée. Pour les forts consommateurs de légumes, cette exposition peut atteindre 200 mg par jour (Grosse, Baan et al., 2006). Pour un individu de 60 kg cette exposition correspond à 30 à 90% de la Dose Journalière Admissible.

#### **. Exposition alimentaire aux nitrites**

L'exposition alimentaire aux nitrites est estimée entre 0,75 et 2 mg par jour, correspondant à 20 à 55% de la Dose Journalière Admissible sachant que les sources majeures d'exposition à ces composés sont la consommation de produits de charcuterie contenant des nitrites utilisés comme additifs et la conversion endogène des nitrates.

### **1.11.3. Conclusions**

L'évaluation du risque lié aux nitrates contenus dans les légumes est complexe. En effet, il est bien établi que la toxicité des nitrates en eux-mêmes est faible et que leurs effets toxiques sont liés en majeure partie à leur conversion en nitrites. En ce qui concerne les effets non cancérigènes des nitrites, leur Dose Journalière Admissible peut être atteinte ou même dépassée pour certains consommateurs, mais dans ce cas, les contributeurs majeurs à l'exposition humaine sont les produits de charcuterie et les nitrites issus de la consommation des nitrates et transformés par l'organisme. En ce qui concerne les effets carcinogènes des nitrites, il existe des indices significatifs en toxicologie expérimentale montrant que ceux-ci ne sont pas directement cancérigènes même si les études épidémiologiques ont produit des résultats contradictoires. Le lien de causalité entre nitrites et cancer retrouvé dans certaines études pourrait être lié à la transformation des nitrites en nitrosamines, qui sont quant à elles, des composés reconnus comme cancérigènes probables (Classe 2A) par le Centre International de Recherche sur le Cancer. A l'inverse, la relation négative entre nitrates et cancers pourrait être liée au fait que les nitrates ingérés *via* les fruits et les légumes se transforment moins en nitrites - par rapport à

ceux contenus dans l'eau - grâce à leur contenu en vitamine C et anti-oxydants pouvant inhiber cette transformation..

En tout état de cause ces conclusions, si elles ne permettent pas de quantifier de manière certaine les risques pour la santé liés aux nitrates contenus dans les légumes, ne doivent pas masquer le fait que le rejet massif de nitrates dans l'environnement depuis plus de 50 ans est à l'origine de l'augmentation de l'exposition humaine à des composés toxiques qui en dérivent et que l'on retrouve à des concentrations croissantes dans l'eau et dans les aliments.

## 1.11. Conclusions : bilan de l'intérêt de la consommation de F&L

L'observation des habitudes alimentaires dans des études épidémiologiques prospectives montre une association entre la consommation de F&L et la santé. Ces résultats doivent toutefois être nuancés car ces études comportent des facteurs de confusion liés au fait qu'il est très difficile de séparer les habitudes de consommation de F&L d'autres facteurs du mode de vie. Les essais de prévention les plus récents n'ont pas permis d'établir un lien de causalité entre cette consommation de F&L et la prévention des pathologies. Si on dispose de différents arguments épidémiologiques et mécanistiques en faveur d'un effet bénéfique des F&L dans la prévention de certaines pathologies, la démonstration formelle reste à faire. L'impact favorable mais discret de la consommation de F&L sur la pression artérielle pourrait induire un bénéfice sur le plan vasculaire à l'échelle d'une population.

Les F&L sont une source importante de fibres, vitamines et minéraux nécessaires au bon fonctionnement des principales fonctions physiologiques de l'organisme. Les données de consommation alimentaire montrent un déficit d'apports de certains de ces composés par rapport aux apports nutritionnels conseillés. Les F&L représentent la source alimentaire quasi exclusive de certains de ces nutriments. A ce titre, la consommation de F&L ne peut être qu'encouragée.

Il faut noter que cette consommation s'accompagne d'une exposition aux pesticides et aux nitrates. Néanmoins, cette exposition varie considérablement selon les F&L et leurs traitements préalables. Le statut de fort consommateur de F&L, dès lors que ces F&L sont diversifiés, ne devrait pas conduire à une exposition aux pesticides et aux nitrates dépassant les doses toxicologiques.

Enfin, de par leur densité calorique réduite, les F&L contribuent à réduire la densité énergétique de l'alimentation. Envisager leur consommation en substitution d'aliments plus denses sur le plan calorique ou moins riches sur le plan des micro-nutriments apparaît donc comme une stratégie raisonnable pour rééquilibrer les apports énergétiques de l'alimentation. Il semble toutefois que cette stratégie soit plus efficace si elle est comprise par le consommateur et volontaire.

Au total, malgré l'absence de preuve expérimentale d'une causalité de la consommation de F&L sur les pathologies, les bénéfices nutritionnels potentiels observés dans les enquêtes de population conduisent à préconiser une augmentation de la consommation de F&L pour les faibles consommateurs. Plus globalement, le faible contenu énergétique des F&L facilite l'adoption et le maintien d'une alimentation équilibrée par leurs consommateurs, ce qui est cohérent avec les recommandations du PNNS. En l'état des connaissances, les principaux bénéfices attendus sont le rééquilibrage des apports vitaminiques, de fibres et de minéraux d'une partie de la population, et plus particulièrement de celle des faibles consommateurs.

## Références bibliographiques

### Couverture des besoins nutritionnels

- (2006). Table de composition des aliments SU.VI.MAX. Economica Editions.
- Agudo, A., Ibanez, R., Amiano, P., Ardanaz, E., Barricarte, A., Berenguer, A., Dolores Chirlaque, M., Dorronsoro, M., Jakszyn, P., Larranaga, N., Martinez, C., Navarro, C., Pera, G., Quiros, J. R., Sanchez, M. J., Tormo, M. J., and Gonzalez, C. A. (2007). Consumption of cruciferous vegetables and glucosinolates in a Spanish adult population. *European Journal of Clinical Nutrition*.
- Agudo, A., Slimani, N., Ocke, M. C., Naska, A., Miller, A. B., Kroke, A., Bamia, C., Karalis, D., Vineis, P., Palli, D., Bueno-de-Mesquita, H. B., Peeters, P. H. M., Engeset, D., Hjartaker, A., Navarro, C., Garcia, C. M., Wallstrom, P., Zhang, J. X., Welch, A. A., Spencer, E., Stripp, C., Overvad, K., Clavel-Chapelon, F., Casagrande, C., and Riboli, E. (2002). Consumption of vegetables, fruit and other plant foods in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) cohorts from 10 European countries. *Public Health Nutrition* **5**(6B), 1179-1196.
- Amiot, M. J., Babot-Laurent, C., and Touniaire, F. (2007). Plant Pigments as bioactive substances. In *Food colorants: chemical and functional properties* (C. Socaciu, Ed.) CRC Press.
- Arts, I. C. W., and Hollman, P. C. H. (2005). Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *American Journal of Clinical Nutrition* **81**(1), 317S-325S.
- Azais-Braesco, V., and Grolier, P. (2001). Vitamine A et caroténoïdes provitaminiques. In *Apports nutritionnels conseillés pour la population française* (A. Martin, Ed.), pp. 221-228: 221-228. Tec et Doc Lavoisier.
- Bazzano, L. A., Serdula, M. K., and Liu, S. (2003). Dietary intake of fruits and vegetables and risk of cardiovascular disease. *Current Atherosclerosis Reports* **5**(6), 492-499.
- Birlouez-Aragon, I., and Tessier, F. J. (2003). Antioxidant vitamins and degenerative pathologies: a review of vitamin C. *Journal of Nutrition, Health & Aging* **7**(2), 103-109.
- Booth, S. L., Pennington, J. A. T., and Sadowski, J. A. (1996). Food sources and dietary intakes of vitamin K-1 (phyloquinone) in the American diet: Data from the FDA Total Diet Study. *Journal of the American Dietetic Association* **96**(2), 149-154.
- Brat, P., George, S., Bellamy, A., Chaffaut, L. D., Scalbert, A., Mennen, L., Arnault, N., and Amiot, M. J. (2006). Daily polyphenol intake in France from fruit and vegetables. *Journal of Nutrition* **136**(9), 2368-2373.
- Cambridge: Royal Society of Chemistry, and Food Standard Agency (2002). McCance and Widdowson's the composition of foods (6th Summary Edition). 538 p.
- Chango, A., Boisson, F., Barbe, F., Quilliot, D., Drosch, S., Pfister, M., Fillon-Emery, N., Lambert, D., Fremont, S., Rosenblatt, D. S., and Nicolas, J. P. (2000). The effect of 677C -> T and 1298A -> C mutations on plasma homocysteine and 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase activity in healthy subjects. *British Journal of Nutrition* **83**(6), 593-596.
- Dowd, P., Ham, S. W., Naganathan, S., and Hershline, R. (1995). The Mechanism of Action of Vitamin-K. *Annual Review of Nutrition* **15**, 419-440.
- Drüeke, T. B., and Lacour, B. (2001). Potassium. In *Apports nutritionnels conseillés pour la population française* (A. Martin, Ed.), pp. 127-130: 127-130. Tec et Doc Lavoisier.
- Favier, J., Ireland-Ripert, J., Toque, C., and Feinberg, M. (1995). CIQUAL. Répertoire Général des Aliments. Table de composition. Lavoisier, Tec&Doc.
- Galan, P., Viteri, F. E., Bertrais, S., Czernichow, S., Faure, H., Arnaud, J., Ruffieux, D., Chenal, S., Arnault, N., Favier, A., Roussel, A. M., and Hercberg, S. (2005). Serum concentrations of beta-carotene, vitamins C and E, zinc and selenium are influenced by sex, age, diet, smoking status, alcohol consumption and corpulence in a general French adult population. *European Journal of Clinical Nutrition* **59**(10), 1181-1190.
- Godeau, P., Herson, S., and Piette, J. C. (2004). *Traité de médecine* (4<sup>e</sup>ed). 3300 p. Flammarion Médecine-Sciences.
- Guillaumont, M. (2001). Vitamine K. In *Apports nutritionnels conseillés pour la population française* (A. Martin, Ed.), pp. 244-248: 244-248. Tec et Doc Lavoisier.
- Halliwell, B., Rafter, J., and Jenner, A. (2005). Health promotion by flavonoids, tocopherols, tocotrienols, and other phenols: direct or indirect effects? Antioxidant or not? *American Journal of Clinical Nutrition* **81**(1), 268S-276S.
- He, J., and Whelton, P. K. (1997). Epidemiology and prevention of hypertension. *Medical Clinics of North America* **81**(5), 1077-1097.
- Hercberg, S., Preziosi, P., Briancon, S., Galan, P., Triol, I., Malvy, D., Roussel, A. M., and Favier, A. (1998). A primary prevention trial using nutritional doses of antioxidant vitamins and minerals in cardiovascular diseases and cancers in a general population: The SU.VI.MAX study - Design, methods, and participant characteristics. *Controlled Clinical Trials* **19**(4), 336-351.
- Hercberg, S., Preziosi, P., Galan, P., Devanlay, M., Keller, H., Bourgeois, C., Decourcy, G. P., and Cherouvrier, F. (1994). Vitamin Status of a Healthy French Population - Dietary Intakes and Biochemical Markers. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* **64**(3), 220-232.

- Huerta, M. G., Roemmich, J. N., Kington, M. L., Bovbjerg, V. E., Weltman, A. L., Holmes, V. F., Patrie, J. T., Rogol, A. D., and Nadler, J. L. (2005). Magnesium deficiency is associated with insulin resistance in obese children. *Diabetes Care* **28**(5), 1175-1181.
- Jacob, R. A., and Sotoudeh, G. (2002). Vitamin C function and status in chronic disease. *Nutrition in clinical care* **5**(2).
- James, S. L., Muir, J. G., Curtis, S. L., and Gibson, P. R. (2003). Dietary fibre: a roughage guide. *Internal Medicine Journal* **33**(7), 291-296.
- Katan, M. B., Grundy, S. M., Jones, P., Law, M., Miettinen, T., and Paoletti, R. (2003). Efficacy and safety of plant stanols and sterols in the management of blood cholesterol levels. *Mayo Clinic Proceedings* **78**(8), 965-978.
- Keum, Y. S., Jeong, W. S., and Kong, A. N. T. (2005). Chemopreventive functions of isothiocyanates. *Drug News & Perspectives* **18**(7), 445-451.
- Krinsky, N. I., and Johnson, E. J. (2005). Carotenoid actions and their relation to health and disease. *Molecular aspects of medicine* **26**(6).
- Krishnaswamy, K., and Nair, K. M. (2001). Importance of folate in human nutrition. *British Journal of Nutrition* **85**, S115-S124.
- Kromhout, D., Bosschieter, E. B., and de Lezenne Coulander, C. (1982). Dietary fibre and 10-year mortality from coronary heart disease, cancer, and all causes. The Zutphen study. *Lancet* **2**(8297).
- Lairon, D. (2001). Dietary Fibers and Dietary Lipids. In *Advanced dietary fibre technology* (B. V. McCleary, and L. Prosky, Eds.), pp. 177-185: 177-185. Blackwell Science Ltd.
- Lairon, D., Arnault, N., Bertrais, S., Planells, R., Clero, E., Hercberg, S., and Boutron-Ruault, M. C. (2005). Dietary fiber intake and risk factors for cardiovascular disease in French adults. *American Journal of Clinical Nutrition* **82**(6), 1185-94.
- Lairon, D., and Chanussot, F. (2001). Modulations nutritionnelles du métabolisme du cholestérol et des lipoprotéines. In *Aliments Fonctionnels* (M. Roberfroid, Ed.), pp. 167-192: 167-192. Tec et Doc Lavoisier.
- Lamand, M., Tressol, J., Ireland-Ripert, J., Favier, J., and Feinberg, M. (1996). CIQUAL. Répertoire Général des Aliments. Tome 4. Table de composition minérale. Lavoisier, Tec&Doc.
- Le Grusse, J., and Watier, B. (1993). Les Vitamines. Données Biochimiques, Nutritionnelles et Cliniques. Centre d'Etude et d'Information sur les Vitamines.
- Manach, C., Scabert, A., Morand, C., Remesy, C., and Jimenez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition* **79**(5), 727-747.
- Marlett, J. A., McBurney, M. I., and Slavin, J. L. (2002). Position of the American Dietetic Association: Health implications of dietary fiber. *Journal of the American Dietetic Association* **102**(7), 993-1000.
- Martin, A. (2001). Apports nutritionnels conseillés pour la population française. 650 p. Tec et Doc Lavoisier.
- Miettinen, T. A., and Gylling, H. (2003). Non-nutritive bioactive constituents of plants: Phytosterols. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* **73**(2), 127-134.
- Miettinen, T. A., and Gylling, H. (2006). Plant stanol and sterol esters in prevention of cardiovascular diseases: a review. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics* **44**(6), 247-250.
- Moreno, D. A., Carvajal, M., Lopez-Berenguer, C., and Garcia-Viguera, C. (2006). Chemical and biological characterisation of nutraceutical compounds of broccoli. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **41**(5), 1508-1522.
- Nieves, J. W. (2005). Osteoporosis: the role of micronutrients. *American Journal of Clinical Nutrition* **81**(5), 1232S-1239S.
- Padayatty, S. J., Katz, A., Wang, Y., Eck, P., Kwon, O., Lee, J. H., Chen, S., Corpe, C., Dutta, A., Dutta, S. K., and Levine, M. (2003). Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *Journal of the American College of Cardiology* **22**(1), 18-35.
- Pietinen, P., Rimm, E. B., Korhonen, P., Hartman, A. M., Willett, W. C., Albanes, D., and Virtamo, J. (1996). Intake of dietary fiber and risk of coronary heart disease in a cohort of Finnish men. The Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study. *Circulation* **94**(11), 2720-2727.
- Potier de Courcy, G., Chritidès, J. P., and Hercberg, S. (2001). Vitamine B9 (acide folique). In *Apports nutritionnels conseillés pour la population française* (A. Martin, Ed.), pp. 205-211: 205-211. Tec et Doc Lavoisier.
- Rampersaud, G. C., Kauwell, G. P. A., and Bailey, L. B. (2003). Folate: A key to optimizing health and reducing disease risk in the elderly. *Journal of the American College of Nutrition* **22**(1), 1-8.
- Rao, A. V. (2002). Lycopene, tomatoes, and the prevention of coronary heart disease. *Experimental Biology and Medicine* **227**(10), 908-913.
- Rayssiguier, Y., Boirie, Y., and Durlach, J. (2001). Magnésium. In *Apports nutritionnels conseillés pour la population française* (A. Martin, Ed.), pp. 205-211: 205-211. Tec et Doc Lavoisier.
- Riboli, E., Hunt, K. J., Slimani, N., Ferrari, P., Norat, T., Fahey, M., Charrondiere, U. R., Hemon, B., Casagrande, C., Vignat, J., Overvad, K., Tjonneland, A., Clavel-Chapelon, F., Thiebaut, A., Wahrendorf, J., Boeing, H., Trichopoulos, D., Trichopoulou, A., Vineis, P., Palli, D., Bueno-de-Mesquita, H. B., Peeters, P. H. M., Lund, E., Engeset, D., Gonzalez, C. A., Barricarte, A., Berglund, G., Hallmans, G., Day, N. E., Key, T. J., Kaaks, R., and Saracci, R. (2002). European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC): study populations and data collection. *Public Health Nutrition* **5**(6B), 1113-1124.
- Rimm, E. B., Ascherio, A., Giovannucci, E., Spiegelman, D., Stampfer, M. J., and Willett, W. C. (1996). Vegetable, fruit, and cereal fiber intake and risk of coronary heart disease among men. *Jama - Journal of the American Medical Association* **275**(6), 447-451.

- Ross, J. A., and Kasum, C. M. (2002). Dietary flavonoids: Bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annual Review of Nutrition* **22**, 19-34.
- Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Remesy, C., and Jimenez, L. (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **45**(4), 287-306.
- Slimani, N., Kaaks, R., Ferrari, P., Casagrande, C., Clavel-Chapelon, F., Lotze, G., Kroke, A., Trichopoulos, D., Trichopoulou, A., Lauria, C., Bellegotti, M., Ocke, M. C., Peeters, P. H. M., Engeset, D., Lund, E., Agudo, A., Larranaga, N., Mattisson, I., Andren, C., Johansson, I., Davey, G., Welch, A. A., Overvad, K., Tjonneland, A., van Staveren, W. A., Saracci, R., and Riboli, E. (2002). European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) calibration study: rationale, design and population characteristics. *Public Health Nutrition* **5**(6B), 1125-1145.
- Sontia, B., and Touyz, R. M. (2007). Role of magnesium in hypertension. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **458**(1), 33-39.
- Souci, S. W., Fachmann, W., and Kraut, H. (2000). Food composition and nutrition tables (6th revised edition). CRC Press. Medpharm, Scientific Publishers, Stuttgart.
- Stanger, O. (2002). Physiology of folic acid in health and disease. *Current Drug Metabolism* **3**(2), 211-223.
- Stoewsand, G. S. (1995). Bioactive Organosulfur Phytochemicals in Brassica-Oleracea Vegetables - a Review. *Food and Chemical Toxicology* **33**(6), 537-543.
- USDA, and Agricultural Research Service (2006). USDA National Nutrient Database for Standard Reference <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/>.
- Whelton, P. K., He, J., Cutler, J. A., Brancati, F. L., Appel, L. J., Follmann, D., and Klag, M. J. (1997). Effects of oral potassium on blood pressure - Meta-analysis of randomized controlled clinical trials. *Jama-Journal of the American Medical Association* **277**(20), 1624-1632.
- Wolk, A., Manson, J. E., Stampfer, M. J., Colditz, G. A., Hu, F. B., Speizer, F. E., Hennekens, C. H., and Willett, W. C. (1999). Long-term intake of dietary fiber and decreased risk of coronary heart disease among women. *Jama-Journal of the American Medical Association* **281**(21), 1998-2004.

## Maladies cardiovasculaires

- (1990). The Hypertension Prevention Trial: three-year effects of dietary changes on blood pressure. Hypertension Prevention Trial Research Group. *Archives of Internal Medicine* **150**(1), 153-162.
- (2001). Apports Nutritionnels Conseillés AFSSA.
- Appel, L. J., Champagne, C. M., Harsha, D. W., Cooper, L. S., Obarzanek, E., Elmer, P. J., Stevens, V. J., Vollmer, W. M., Lin, P. H., Svetkey, L. P., Stedman, S. W., and Young, D. R. (2003). Effects of comprehensive lifestyle modification on blood pressure control: main results of the PREMIER clinical trial. *Jama - Journal of the American Medical Association* **289**(16), 2083-2093.
- Appel, L. J., Moore, T. J., Obarzanek, E., Vollmer, W. M., Svetkey, L. P., Sacks, F. M., Bray, G. A., Vogt, T. M., Cutler, J. A., Windhauser, M. M., Lin, P. H., and Karanja, N. (1997). A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. DASH Collaborative Research Group. *New England journal of medicine* **336**(16), 1117-1124.
- Ascherio, A., Rimm, E., Giovannucci, E., Colditz, G., Rosner, B., Willett, W., Sacks, F., and Stampfer, M. (1992). A prospective study of nutritional factors and hypertension among US men. *Circulation* **86**(5), 1475-1484.
- Barzi, F., Woodward, M., Marfisi, R. M., Tavazzi, L., Valagussa, F., and Marchioli, R. (2003). Mediterranean diet and all-causes mortality after myocardial infarction: results from the GISSI-Prevenzione trial. *European Journal of Clinical Nutrition* **57**(4), 604-611.
- Bautista, L. E., Arenas, I. A., Penuela, A., and Martinez, L. X. (2002). Total plasma homocysteine level and risk of cardiovascular disease: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Journal of clinical epidemiology* **55**(9), 882-887.
- Bazzano, L. A. (2005). *Joint FAO/WHO WorkShop on Fruit and Vegetables for Health, 1-3 sept. 2004, Kobe, Japan* 66 p.
- Bazzano, L. A., He, J., Ogden, L. G., Loria, C., Vupputuri, S., Myers, L., and Whelton, P. K. (2001). Legume consumption and risk of coronary heart disease in US men and women: NHANES I Epidemiologic Follow-up Study. *Archives of internal medicine* **161**(21), 2573-2578.
- Bazzano, L. A., He, J., Ogden, L. G., Loria, C. M., Vupputuri, S., Myers, L., and Whelton, P. K. (2002). Fruit and vegetable intake and risk of cardiovascular disease in US adults: the first National Health and Nutrition Examination Survey Epidemiologic Follow-up Study. *American Journal of Clinical Nutrition* **76**(1), 93-99.
- Bazzano, L. A., Reynolds, K., Holder, K. N., and He, J. (2006). Effect of folic acid supplementation on risk of cardiovascular diseases: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Jama - Journal of the American Medical Association* **296**(22), 2720-2726.
- Bazzano, L. A., Serdula, M. K., and Liu, S. (2003). Dietary intake of fruits and vegetables and risk of cardiovascular disease. *Current Atherosclerosis Reports* **5**(6), 492-499.
- Bell, E. A., Castellanos, V. H., Pelkman, C. L., Thorwart, M. L., and Rolls, B. J. (1998). Energy density of foods affects energy intake in normal-weight women. *American Journal of Clinical Nutrition* **67**(3), 412-420.
- Beresford, S. A., Johnson, K. C., Ritenbaugh, C., Lasser, N. L., Snetselaar, L. G., Black, H. R., Anderson, G. L., Assaf, A. R., Bassford, T., Bowen, D., Brunner, R. L., Brzycki, R. G., Caan, B., Chlebowski, R. T., Gass, M., Harrigan, R. C., Hays, J., Heber, D., Heiss, G., Hendrix, S. L., Howard, B. V., Hsia, J., Hubbell, F. A.,

- Jackson, R. D., Kotchen, J. M., Kuller, L. H., LaCroix, A. Z., Lane, D. S., Langer, R. D., Lewis, C. E., Manson, J. E., Margolis, K. L., Mossavar-Rahmani, Y., Ockene, J. K., Parker, L. M., Perri, M. G., Phillips, L., Prentice, R. L., Robbins, J., Rossouw, J. E., Sarto, G. E., Stefanick, M. L., Van Horn, L., Vitolins, M. Z., Wactawski-Wende, J., Wallace, R. B., and Whitlock, E. (2006). Low-fat dietary pattern and risk of colorectal cancer: the Women's Health Initiative Randomized Controlled Dietary Modification Trial. *Jama - Journal of the American Medical Association* **295**(6), 643-654.
- Bjelakovic, G., Nikolova, D., Gluud, L. L., Simonetti, R. G., and Gluud, C. (2007). Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention: systematic review and meta-analysis. *Jama - Journal of the American Medical Association* **297**(8), 842-857.
- Blomhoff, R. (2005). Dietary antioxidants and cardiovascular disease. *Current Opinion in Lipidology* **16**(1), 47-54.
- Brigelius-Flohe, R., Kelly, F. J., Salonen, J. T., Neuzil, J., Zingg, J. M., and Azzì, A. (2002). The European perspective on vitamin E: current knowledge and future research. *American Journal of Clinical Nutrition* **76**(4), 703-716.
- Brown, A. A., and Hu, F. B. (2001). Dietary modulation of endothelial function: implications for cardiovascular disease. *American Journal of Clinical Nutrition* **73**(4), 673-686.
- Brown, L., Rosner, B., Willett, W. W., and Sacks, F. M. (1999). Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. *American Journal of Clinical Nutrition* **69**(1), 30-42.
- Brunner, E. J., Thorogood, M., Rees, K., and Hewitt, G. (2006). Dietary advice for reducing cardiovascular risk. *Cochrane database systematic review* **35**, 538-540.
- Burr, M. L. (2007). Secondary prevention of CHD in UK men: the Diet and Reinfarction Trial and its sequel. *Proceedings of the Nutrition Society* **66**(1), 9-15.
- Burr, M. L., Ashfield-Watt, P. A., Dunstan, F. D., Fehily, A. M., Breay, P., Ashton, T., Zotos, P. C., Haboubi, N. A., and Elwood, P. C. (2003). Lack of benefit of dietary advice to men with angina: results of a controlled trial. *European Journal of Clinical Nutrition* **57**(2), 193-200.
- Chattopadhyay, A., and Bandyopadhyay, D. (2006). Vitamin E in the prevention of ischemic heart disease. *Pharmacological Reports* **58**(2), 179-187.
- Chisolm, G. M., and Steinberg, D. (2000). The oxidative modification hypothesis of atherogenesis: an overview. *Free radical biology & medicine* **28**(12), 1815-1826.
- Committee on Diet and Health, and National Research Council (1989). Diet and Health: Implications for Reducing Chronic Disease Risk. National Academy Press, Washington, D.C.
- Cox, B. D., Whiclow, M. J., and Prevost, A. T. (2000). Seasonal consumption of salad vegetables and fresh fruit in relation to the development of cardiovascular disease and cancer. *Public Health Nutrition* **3**(1), 19-29.
- Dauchet, L., Amouyel, P., and Dallongeville, J. (2005). Fruit and vegetable consumption and risk of stroke: a meta-analysis of cohort studies. *Neurology* **65**(8), 1193-1197.
- Dauchet, L., Amouyel, P., Hercberg, S., and Dallongeville, J. (2006). Fruit and vegetable consumption and risk of coronary heart disease: a meta-analysis of cohort studies. *Journal of Nutrition* **136**(10), 2588-2593.
- Dauchet, L., Ferrieres, J., Arveiler, D., Yarnell, J. W., Gey, F., Ducimetiere, P., Ruidavets, J. B., Haas, B., Evans, A., Bingham, A., Amouyel, P., and Dallongeville, J. (2004). Frequency of fruit and vegetable consumption and coronary heart disease in France and Northern Ireland: the PRIME study. *British journal of nutrition* **92**(6), 963-972.
- Dauchet, L., Kesse-Guyot, E., Czernichow, S., Bertrais, S., Estaquio, C., Peneau, S., Vergnaud, A. C., Chat-Yung, S., Castetbon, K., Deschamps, V., Brindel, P., and Hercberg, S. (2007). Dietary patterns and blood pressure change over 5-y follow-up in the SU.VI.MAX cohort. *American Journal of Clinical Nutrition* **85**(6), 1650-1656.
- de Lorgeril, M., Renaud, S., Mamelle, N., Salen, P., Martin, J. L., Monjaud, I., Guidollet, J., Touboul, P., and Delaye, J. (1994). Mediterranean alpha-linolenic acid-rich diet in secondary prevention of coronary heart disease. *Lancet* **343**(8911), 1454-1459.
- de Lorgeril, M., Salen, P., Martin, J. L., Monjaud, I., Delaye, J., and Mamelle, N. (1999). Mediterranean diet, traditional risk factors, and the rate of cardiovascular complications after myocardial infarction: final report of the Lyon Diet Heart Study. *Circulation* **99**(6), 779-785.
- Devaraj, S., Adams-Huet, B., Fuller, C. J., and Jialal, I. (1997). Dose-response comparison of RRR-alpha-tocopherol and all-racemic alpha-tocopherol on LDL oxidation. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* **17**(10), 2273-2279.
- Devaraj, S., and Jialal, I. (1996). Oxidized low-density lipoprotein and atherosclerosis. *International journal of clinical & laboratory research* **26**(3), 178-184.
- Djuric, Z., Poore, K. M., Depper, J. B., Uhley, V. E., Lababidi, S., Covington, C., Klurfeld, D. M., Simon, M. S., Kucuk, O., and Heilbrun, L. K. (2002). Methods to increase fruit and vegetable intake with and without a decrease in fat intake: compliance and effects on body weight in the nutrition and breast health study. *Nutrition and Cancer* **43**(2), 141-151.
- Drewnowski, A., Almiron-Roig, E., Marmonier, C., and Luch, A. (2004). Dietary energy density and body weight: is there a relationship? *Nutrition Reviews* **62**(11), 403-413.
- Dyer, A. R., Elliott, P., and Shipley, M. (1994). Urinary electrolyte excretion in 24 hours and blood pressure in the INTERSALT Study. II. Estimates of electrolyte-blood pressure associations corrected for regression dilution bias. The INTERSALT Cooperative Research Group. *American journal of epidemiology* **139**(9), 940-951.

- Eidelman, R. S., Hollar, D., Hebert, P. R., Lamas, G. A., and Hennekens, C. H. (2004). Randomized trials of vitamin E in the treatment and prevention of cardiovascular disease. *Archives of Internal Medicine* **164**(14), 1552-1556.
- Elmer, P. J., Obarzanek, E., Vollmer, W. M., Simons-Morton, D., Stevens, V. J., Young, D. R., Lin, P. H., Champagne, C., Harsha, D. W., Svetkey, L. P., Ard, J., Brantley, P. J., Proschan, M. A., Erlinger, T. P., and Appel, L. J. (2006). Effects of comprehensive lifestyle modification on diet, weight, physical fitness, and blood pressure control: 18-month results of a randomized trial. *Annals of internal medicine* **144**(7), 485-495.
- Evans, R. W., Shaten, B. J., Day, B. W., and Kuller, L. H. (1998). Prospective association between lipid soluble antioxidants and coronary heart disease in men. The Multiple Risk Factor Intervention Trial. *American journal of epidemiology* **147**(2), 180-186.
- Fehily, A. M., Yarnell, J. W., Sweetnam, P. M., and Elwood, P. C. (1993). Diet and incident ischaemic heart disease: the Caerphilly Study. *British journal of nutrition* **69**(2), 303-314.
- Ford, E. S., Smith, S. J., Stroup, D. F., Steinberg, K. K., Mueller, P. W., and Thacker, S. B. (2002). Homocyst(e)ine and cardiovascular disease: a systematic review of the evidence with special emphasis on case-control studies and nested case-control studies. *International journal of epidemiology* **31**(1), 59-70.
- Fraser, G. E., Sabate, J., Beeson, W. L., and Strahan, T. M. (1992). A possible protective effect of nut consumption on risk of coronary heart disease. The Adventist Health Study. *Archives of Internal Medicine* **152**(7), 1416-1424.
- Frei, B. (2003). To C or not to C, that is the question! *Journal of the American College of Cardiology* **42**(2), 253-255.
- Fuller, C. J., Chandalia, M., Garg, A., Grundy, S. M., and Jialal, I. (1996). RRR-alpha-tocopheryl acetate supplementation at pharmacologic doses decreases low-density-lipoprotein oxidative susceptibility but not protein glycation in patients with diabetes mellitus. *American Journal of Clinical Nutrition* **63**(5), 753-759.
- Funk, K. L., Elmer, P. J., Stevens, V. J., Harsha, D. W., Craddick, S. R., Lin, P. H., Young, D. R., Champagne, C. M., Brantley, P. J., McCarron, P. B., Simons-Morton, D. G., and Appel, L. J. (2006). PREMIER--A Trial of Lifestyle Interventions for Blood Pressure Control: Intervention Design and Rationale. *Health promotion practice*.
- Gaziano, J. M., Manson, J. E., Branch, L. G., Colditz, G. A., Willett, W. C., and Buring, J. E. (1995). A prospective study of consumption of carotenoids in fruits and vegetables and decreased cardiovascular mortality in the elderly. *Annals of epidemiology* **5**(4), 255-260.
- Genkinger, J. M., Platz, E. A., Hoffman, S. C., Comstock, G. W., and Helzlsouer, K. J. (2004). Fruit, vegetable, and antioxidant intake and all-cause, cancer, and cardiovascular disease mortality in a community-dwelling population in Washington County, Maryland. *American journal of epidemiology* **160**(12), 1223-1233.
- Gillman, M. W., Cupples, L. A., Gagnon, D., Posner, B. M., Ellison, R. C., Castelli, W. P., and Wolf, P. A. (1995). Protective effect of fruits and vegetables on development of stroke in men. *Jama - Journal of the American Medical Association* **273**(14), 1113-1117.
- He, F. J., Nowson, C. A., Lucas, M., and MacGregor, G. A. (2007). Increased consumption of fruit and vegetables is related to a reduced risk of coronary heart disease: meta-analysis of cohort studies. *Journal of human hypertension* **21**(9), 717-728.
- He, F. J., Nowson, C. A., and MacGregor, G. A. (2006). Fruit and vegetable consumption and stroke: meta-analysis of cohort studies. *Lancet* **367**(9507), 320-326.
- Heller, R., Unbehaun, A., Schellenberg, B., Mayer, B., Werner-Felmayer, G., and Werner, E. R. (2001). L-ascorbic acid potentiates endothelial nitric oxide synthesis via a chemical stabilization of tetrahydrobiopterin. *Journal of biological chemistry* **276**(1), 40-47.
- Hense, H. W., Stender, M., Bors, W., and Keil, U. (1993). Lack of an association between serum vitamin E and myocardial infarction in a population with high vitamin E levels. *Atherosclerosis* **103**(1), 21-28.
- Hirayama, T. (1986). Nutrition and cancer--a large scale cohort study. *Progress in clinical and biological research* **206:299-311**, 299-311.
- Hirvonen, T., Virtamo, J., Korhonen, P., Albanes, D., and Pietinen, P. (2000). Intake of flavonoids, carotenoids, vitamins C and E, and risk of stroke in male smokers. *Stroke* **31**(10), 2301-2306.
- Homocysteine Lowering Trialists' Collaboration (2005). Dose-dependent effects of folic acid on blood concentrations of homocysteine: a meta-analysis of the randomized trials. *American Journal of Clinical Nutrition* **82**(4), 806-812.
- Howard, B. V., Manson, J. E., Stefanick, M. L., Beresford, S. A., Frank, G., Jones, B., Rodabough, R. J., Snetselaar, L., Thomson, C., Tinker, L., Vitolins, M., and Prentice, R. (2006). Low-fat dietary pattern and weight change over 7 years: the Women's Health Initiative Dietary Modification Trial. *Jama - Journal of the American Medical Association* **295**(1), 39-49.
- Howard, B. V., Van Horn, L., Hsia, J., Manson, J. E., Stefanick, M. L., Wassertheil-Smoller, S., Kuller, L. H., LaCroix, A. Z., Langer, R. D., Lasser, N. L., Lewis, C. E., Limacher, M. C., Margolis, K. L., Mysiw, W. J., Ockene, J. K., Parker, L. M., Perri, M. G., Phillips, L., Prentice, R. L., Robbins, J., Rossouw, J. E., Sarto, G. E., Schatz, I. J., Snetselaar, L. G., Stevens, V. J., Tinker, L. F., Trevisan, M., Vitolins, M. Z., Anderson, G. L., Assaf, A. R., Bassford, T., Beresford, S. A., Black, H. R., Brunner, R. L., Brzyski, R. G., Caan, B., Chlebowski, R. T., Gass, M., Granek, I., Greenland, P., Hays, J., Heber, D., Heiss, G.,

- Hendrix, S. L., Hubbell, F. A., Johnson, K. C., and Kotchen, J. M. (2006). Low-fat dietary pattern and risk of cardiovascular disease: the Women's Health Initiative Randomized Controlled Dietary Modification Trial. *Jama - Journal of the American Medical Association* **295**(6), 655-666.
- Hu, F. B. (2003). Plant-based foods and prevention of cardiovascular disease: an overview. *American Journal of Clinical Nutrition* **78**(3 Suppl), 544S-551S.
- Huang, A., Vita, J. A., Venema, R. C., and Keaney, J. F., Jr. (2000). Ascorbic acid enhances endothelial nitric-oxide synthase activity by increasing intracellular tetrahydrobiopterin. *Journal of biological chemistry* **275**(23), 17399-17406.
- Huang, H. Y., Caballero, B., Chang, S., Alberg, A. J., Semba, R. D., Schneyer, C. R., Wilson, R. F., Cheng, T. Y., Vassy, J., Prokopowicz, G., Barnes, G. J., and Bass, E. B. (2006). The efficacy and safety of multivitamin and mineral supplement use to prevent cancer and chronic disease in adults: a systematic review for a National Institutes of Health state-of-the-science conference. *Annals of internal medicine* **145**(5), 372-385.
- Hung, H. C., Joshipura, K. J., Jiang, R., Hu, F. B., Hunter, D., Smith-Warner, S. A., Colditz, G. A., Rosner, B., Spiegelman, D., and Willett, W. C. (2004). Fruit and vegetable intake and risk of major chronic disease. *Journal of the National Cancer Institute* **96**(21), 1577-1584.
- Irala-Estevez, J. D., Groth, M., Johansson, L., Oltersdorf, U., Prattala, R., and Martinez-Gonzalez, M. A. (2000). A systematic review of socio-economic differences in food habits in Europe: consumption of fruit and vegetables. *European Journal of Clinical Nutrition* **54**(9), 706-714.
- Jialal, I., Fuller, C. J., and Huet, B. A. (1995). The effect of alpha-tocopherol supplementation on LDL oxidation. A dose-response study. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* **15**(2), 190-198.
- Jialal, I., and Grundy, S. M. (1991). Preservation of the endogenous antioxidants in low density lipoprotein by ascorbate but not probucol during oxidative modification. *Journal of Clinical Investigation* **87**(2), 597-601.
- Jialal, I., and Grundy, S. M. (1993). Effect of combined supplementation with alpha-tocopherol, ascorbate, and beta carotene on low-density lipoprotein oxidation. *Circulation* **88**(6), 2780-2786.
- John, J. H., Ziebland, S., Yudkin, P., Roe, L. S., and Neil, H. A. (2002). Effects of fruit and vegetable consumption on plasma antioxidant concentrations and blood pressure: a randomised controlled trial. *Lancet* **359**(9322), 1969-1974.
- Johnsen, S. P., Overvad, K., Stripp, C., Tjonneland, A., Husted, S. E., and Sorensen, H. T. (2003). Intake of fruit and vegetables and the risk of ischemic stroke in a cohort of Danish men and women. *American Journal of Clinical Nutrition* **78**(1), 57-64.
- Joshipura, K. J., Ascherio, A., Manson, J. E., Stampfer, M. J., Rimm, E. B., Speizer, F. E., Hennekens, C. H., Spiegelman, D., and Willett, W. C. (1999). Fruit and vegetable intake in relation to risk of ischemic stroke. *Jama - Journal of the American Medical Association* **282**(13), 1233-1239.
- Joshipura, K. J., Hu, F. B., Manson, J. E., Stampfer, M. J., Rimm, E. B., Speizer, F. E., Colditz, G., Ascherio, A., Rosner, B., Spiegelman, D., and Willett, W. C. (2001). The effect of fruit and vegetable intake on risk for coronary heart disease. *Annals of internal medicine* **134**(12), 1106-1114.
- Kamphuis, C. B., Giskes, K., de Bruijn, G. J., Wendel-Vos, W., Brug, J., and van Lenthe, F. J. (2006). Environmental determinants of fruit and vegetable consumption among adults: a systematic review. *British journal of nutrition* **96**(4), 620-635.
- Key, T. J., Thorogood, M., Appleby, P. N., and Burr, M. L. (1996). Dietary habits and mortality in 11,000 vegetarians and health conscious people: results of a 17 year follow up. *BMJ* **313**(7060), 775-779.
- Knekt, P., Jarvinen, R., Reunanen, A., and Maatela, J. (1996). Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study. *BMJ* **312**(7029), 478-481.
- Knekt, P., Reunanen, A., Jarvinen, R., Seppanen, R., Heliovaara, M., and Aromaa, A. (1994). Antioxidant vitamin intake and coronary mortality in a longitudinal population study. *American journal of epidemiology* **139**(12), 1180-1189.
- Knekt, P., Ritz, J., Pereira, M. A., O'Reilly, E. J., Augustsson, K., Fraser, G. E., Goldbourt, U., Heitmann, B. L., Hallmans, G., Liu, S., Pietinen, P., Spiegelman, D., Stevens, J., Virtamo, J., Willett, W. C., Rimm, E. B., and Ascherio, A. (2004). Antioxidant vitamins and coronary heart disease risk: a pooled analysis of 9 cohorts. *American Journal of Clinical Nutrition* **80**(6), 1508-1520.
- Kris-Etherton, P., Eckel, R. H., Howard, B. V., St Jeor, S., and Bazzarre, T. L. (2001). AHA Science Advisory: Lyon Diet Heart Study. Benefits of a Mediterranean-style, National Cholesterol Education Program/American Heart Association Step I Dietary Pattern on Cardiovascular Disease. *Circulation* **103**(13), 1823-1825.
- Kris-Etherton, P. M., Lichtenstein, A. H., Howard, B. V., Steinberg, D., and Witztum, J. L. (2004). Antioxidant vitamin supplements and cardiovascular disease. *Circulation* **110**(5), 637-641.
- Kushi, L. H., Lew, R. A., Stare, F. J., Ellison, C. R., el Lozy, M., Bourke, G., Daly, L., Graham, I., Hickey, N., and Mulcahy, R. (1985). Diet and 20-year mortality from coronary heart disease. The Ireland-Boston Diet-Heart Study. *New England journal of medicine* **312**(13), 811-818.
- Lampe, J. W. (1999). Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies. *American Journal of Clinical Nutrition* **70**(3 Suppl), 475S-490S.
- Lanza, E., Schatzkin, A., Daston, C., Corle, D., Freedman, L., Ballard-Barbash, R., Caan, B., Lance, P., Marshall, J., Iber, F., Shike, M., Weissfeld, J., Slattery, M., Paskett, E., Mateski, D., and Albert, P. (2001). Implementation of a 4-y, high-fiber, high-fruit-and-vegetable, low-fat dietary intervention: results of dietary changes in the Polyp Prevention Trial. *American Journal of Clinical Nutrition* **74**(3), 387-401.

- Law, M. R., and Morris, J. K. (1998). By how much does fruit and vegetable consumption reduce the risk of ischaemic heart disease? *European journal of clinical nutrition* **52**(8), 549-556.
- Law, M. R., and Morris, J. K. (1999). By how much does fruit and vegetable consumption reduce the risk of ischaemic heart disease: response to commentary. *European Journal of Clinical Nutrition* **53**(11), 903-904.
- Lawlor, D. A., Davey, S. G., Kundu, D., Bruckdorfer, K. R., and Ebrahim, S. (2004). Those confounded vitamins: what can we learn from the differences between observational versus randomised trial evidence? *Lancet* **363**(9422), 1724-1727.
- Ledikwe, J. H., Blanck, H. M., Kettel Khan, L., Serdula, M. K., Seymour, J. D., Tohill, B. C., and Rolls, B. J. (2006). Dietary energy density is associated with energy intake and weight status in US adults. *American Journal of Clinical Nutrition* **83**(6), 1362-1368.
- Ledikwe, J. H., Blanck, H. M., Khan, L. K., Serdula, M. K., Seymour, J. D., Tohill, B. C., and Rolls, B. J. (2006). Low-energy-density diets are associated with high diet quality in adults in the United States. *Journal of the American Dietetic Association* **106**(8), 1172-1180.
- Liu, S., Lee, I. M., Ajani, U., Cole, S. R., Buring, J. E., and Manson, J. E. (2001). Intake of vegetables rich in carotenoids and risk of coronary heart disease in men: The Physicians' Health Study. *International journal of epidemiology* **30**(1), 130-135.
- Liu, S., Manson, J. E., Lee, I. M., Cole, S. R., Hennekens, C. H., Willett, W. C., and Buring, J. E. (2000). Fruit and vegetable intake and risk of cardiovascular disease: the Women's Health Study. *American Journal of Clinical Nutrition* **72**(4), 922-928.
- Mann, J. I., Appleby, P. N., Key, T. J., and Thorogood, M. (1997). Dietary determinants of ischaemic heart disease in health conscious individuals. *Heart* **78**(5), 450-455.
- Marchioli, R., Schweiger, C., Levantesi, G., Tavazzi, L., and Valagussa, F. (2001). Antioxidant vitamins and prevention of cardiovascular disease: epidemiological and clinical trial data. *Lipids* **36 Suppl:S53-63**, S53-S63.
- Margetts, B. M., Beilin, L. J., Vandongen, R., and Armstrong, B. K. (1986). Vegetarian diet in mild hypertension: a randomised controlled trial. *British medical journal (Clinical research ed.)* **293**(6560), 1468-1471.
- Maskarinec, G., Chan, C. L., Meng, L., Franke, A. A., and Cooney, R. V. (1999). Exploring the feasibility and effects of a high-fruit and -vegetable diet in healthy women. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention* **8**(10), 919-924.
- McCully, K. S. (1969). Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *American journal of pathology* **56**(1), 111-128.
- Miller, E. R., III, Pastor-Barriuso, R., Dalal, D., Riemersma, R. A., Appel, L. J., and Guallar, E. (2005). Meta-analysis: high-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. *Annals of internal medicine* **142**(1), 37-46.
- Ministère de la Santé et des Solidarités (2006). Deuxième Programme National Nutrition Santé. 51 p. Ministère de la Santé et des Solidarités,.
- Mozaffarian, D., Kumanyika, S. K., Lemaitre, R. N., Olson, J. L., Burke, G. L., and Siscovick, D. S. (2003). Cereal, fruit, and vegetable fiber intake and the risk of cardiovascular disease in elderly individuals. *Jama - Journal of the American Medical Association* **289**(13), 1659-1666.
- National Cancer Institute (2001). 5 a Day for Better Health Program. (G. Stables, and J. Heimendinger, Eds.) National Cancer Institute - National Institutes of Health 01-5019.
- Ness, A. R., Ashfield-Watt, P. A., Whiting, J. M., Smith, G. D., Hughes, J., and Burr, M. L. (2004). The long-term effect of dietary advice on the diet of men with angina: the diet and angina randomized trial. *Journal of human nutrition and dietetics* **17**(2), 117-119.
- Ness, A. R., Egger, M., and Powles, J. (1999). Fruit and vegetables and ischaemic heart disease: systematic review or misleading meta-analysis? *European Journal of Clinical Nutrition* **53**(11), 900-904.
- Ness, A. R., Maynard, M., Frankel, S., Smith, G. D., Frobisher, C., Leary, S. D., Emmett, P. M., and Gunnell, D. (2005). Diet in childhood and adult cardiovascular and all cause mortality: the Boyd Orr cohort. *Heart* **91**(7), 894-898.
- Ness, A. R., and Powles, J. W. (1997). Fruit and vegetables, and cardiovascular disease: a review. *International journal of epidemiology* **26**(1), 1-13.
- Obarzanek, E., Sacks, F. M., Vollmer, W. M., Bray, G. A., Miller, E. R., Lin, P. H., Karanja, N. M., Most-Windhauser, M. M., Moore, T. J., Swain, J. F., Bales, C. W., and Proschan, M. A. (2001). Effects on blood lipids of a blood pressure-lowering diet: the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) Trial. *American Journal of Clinical Nutrition* **74**(1), 80-89.
- Ohrvall, M., Berglund, L., Salminen, I., Lithell, H., Aro, A., and Vessby, B. (1996). The serum cholesterol ester fatty acid composition but not the serum concentration of alpha tocopherol predicts the development of myocardial infarction in 50-year-old men: 19 years follow-up. *Atherosclerosis* **127**(1), 65-71.
- Padayatty, S. J., Katz, A., Wang, Y., Eck, P., Kwon, O., Lee, J. H., Chen, S., Corpe, C., Dutta, A., Dutta, S. K., and Levine, M. (2003). Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *Journal of the American College of Cardiology* **22**(1), 18-35.
- Pham, D. Q., and Plakogiannis, R. (2005). Vitamin E supplementation in cardiovascular disease and cancer prevention: Part 1. *Annals of Pharmacotherapy* **39**(11), 1870-1878.
- Pierce, J. P., Natarajan, L., Caan, B. J., Parker, B. A., Greenberg, E. R., Flatt, S. W., Rock, C. L., Kealey, S., Al Delaimy, W. K., Bardwell, W. A., Carlson, R. W., Emond, J. A., Faerber, S., Gold, E. B., Hajek, R. A., Hollenbach, K., Jones, L. A., Karanja, N., Madlensky, L., Marshall, J., Newman, V. A., Ritenbaugh, C.,

- Thomson, C. A., Wasserman, L., and Stefanick, M. L. (2007). Influence of a diet very high in vegetables, fruit, and fiber and low in fat on prognosis following treatment for breast cancer: the Women's Healthy Eating and Living (WHEL) randomized trial. *Jama - Journal of the American Medical Association* **298**(3), 289-298.
- Pierce, J. P., Newman, V. A., Flatt, S. W., Faerber, S., Rock, C. L., Natarajan, L., Caan, B. J., Gold, E. B., Hollenbach, K. A., Wasserman, L., Jones, L., Ritenbaugh, C., Stefanick, M. L., Thomson, C. A., and Kealey, S. (2004). Telephone counseling intervention increases intakes of micronutrient- and phytochemical-rich vegetables, fruit and fiber in breast cancer survivors. *Journal of nutrition* **134**(2), 452-458.
- Pietinen, P., Rimm, E. B., Korhonen, P., Hartman, A. M., Willett, W. C., Albanes, D., and Virtamo, J. (1996). Intake of dietary fiber and risk of coronary heart disease in a cohort of Finnish men. The Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study. *Circulation* **94**(11), 2720-2727.
- Potischman, N., and Weed, D. L. (1999). Causal criteria in nutritional epidemiology. *American Journal of Clinical Nutrition* **69**(6), 1309S-1314S.
- Prentice, R. L., Caan, B., Chlebowski, R. T., Patterson, R., Kuller, L. H., Ockene, J. K., Margolis, K. L., Limacher, M. C., Manson, J. E., Parker, L. M., Paskett, E., Phillips, L., Robbins, J., Rossouw, J. E., Sarto, G. E., Shikany, J. M., Stefanick, M. L., Thomson, C. A., Van Horn, L., Vitolins, M. Z., Wactawski-Wende, J., Wallace, R. B., Wassertheil-Smolter, S., Whitlock, E., Yano, K., Adams-Campbell, L., Anderson, G. L., Assaf, A. R., Beresford, S. A., Black, H. R., Brunner, R. L., Brzyski, R. G., Ford, L., Gass, M., Hays, J., Heber, D., Heiss, G., Hendrix, S. L., Hsia, J., Hubbell, F. A., Jackson, R. D., Johnson, K. C., Kotchen, J. M., LaCroix, A. Z., Lane, D. S., Langer, R. D., Lasser, N. L., and Henderson, M. M. (2006). Low-fat dietary pattern and risk of invasive breast cancer: the Women's Health Initiative Randomized Controlled Dietary Modification Trial. *Jama - Journal of the American Medical Association* **295**(6), 629-642.
- Rimm, E. B., Ascherio, A., Giovannucci, E., Spiegelman, D., Stampfer, M. J., and Willett, W. C. (1996). Vegetable, fruit, and cereal fiber intake and risk of coronary heart disease among men. *Jama - Journal of the American Medical Association* **275**(6), 447-451.
- Rissanen, T. H., Voutilainen, S., Virtanen, J. K., Venho, B., Vanharanta, M., Mursu, J., and Salonen, J. T. (2003). Low intake of fruits, berries and vegetables is associated with excess mortality in men: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor (KIHD) Study. *Journal of nutrition* **133**(1), 199-204.
- Rock, C. L., Flatt, S. W., Thomson, C. A., Stefanick, M. L., Newman, V. A., Jones, L., Natarajan, L., Pierce, J. P., Chang, R. J., and Witztum, J. L. (2004). Plasma triacylglycerol and HDL cholesterol concentrations confirm self-reported changes in carbohydrate and fat intakes in women in a diet intervention trial. *Journal of nutrition* **134**(2), 342-347.
- Rock, C. L., Thomson, C., Caan, B. J., Flatt, S. W., Newman, V., Ritenbaugh, C., Marshall, J. R., Hollenbach, K. A., Stefanick, M. L., and Pierce, J. P. (2001). Reduction in fat intake is not associated with weight loss in most women after breast cancer diagnosis: evidence from a randomized controlled trial. *Cancer* **91**(1), 25-34.
- Rolls, B. J., Bell, E. A., Castellanos, V. H., Chow, M., Pelkman, C. L., and Thorwart, M. L. (1999). Energy density but not fat content of foods affected energy intake in lean and obese women. *American Journal of Clinical Nutrition* **69**(5), 863-871.
- Rolls, B. J., Bell, E. A., and Thorwart, M. L. (1999). Water incorporated into a food but not served with a food decreases energy intake in lean women. *American Journal of Clinical Nutrition* **70**(4), 448-455.
- Rolls, B. J., Drewnowski, A., and Ledikwe, J. H. (2005). Changing the energy density of the diet as a strategy for weight management. *Journal of the American Dietetic Association* **105**(5 Suppl 1), S98-S103.
- Rolls, B. J., Ello-Martin, J. A., and Tohill, B. C. (2004). What can intervention studies tell us about the relationship between fruit and vegetable consumption and weight management? *Nutrition Reviews* **62**(1), 1-17.
- Roos, G., Johansson, L., Kasmel, A., Klumbiene, J., and Prattala, R. (2001). Disparities in vegetable and fruit consumption: European cases from the north to the south. *Public Health Nutrition* **4**(1), 35-43.
- Rose, G. (1985). Sick individuals and sick populations. *International journal of epidemiology* **14**(1), 32-38.
- Sacks, F. M., Rosner, B., and Kass, E. H. (1974). Blood pressure in vegetarians. *American journal of epidemiology* **100**(5), 390-398.
- Sacks, F. M., Svetkey, L. P., Vollmer, W. M., Appel, L. J., Bray, G. A., Harsha, D., Obarzanek, E., Conlin, P. R., Miller, E. R., III, Simons-Morton, D. G., Karanja, N., and Lin, P. H. (2001). Effects on blood pressure of reduced dietary sodium and the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet. DASH-Sodium Collaborative Research Group. *New England journal of medicine* **344**(1), 3-10.
- Sahyoun, N. R., Jacques, P. F., and Russell, R. M. (1996). Carotenoids, vitamins C and E, and mortality in an elderly population. *American journal of epidemiology* **144**(5), 501-511.
- Sauberlich, H. E. (1994). Pharmacology of vitamin C. *Annual review of nutrition* **14**, 371-391.
- Sauvaget, C., Nagano, J., Allen, N., and Kodama, K. (2003). Vegetable and fruit intake and stroke mortality in the Hiroshima/Nagasaki Life Span Study. *Stroke* **34**(10), 2355-2360.
- Shah, M., Jeffery, R. W., Laing, B., Savre, S. G., Van Natta, M., and Strickland, D. (1990). Hypertension Prevention Trial (HPT): food pattern changes resulting from intervention on sodium, potassium, and energy intake. Hypertension Prevention Trial Research Group. *Journal of the American Dietetic Association* **90**(1), 69-76.
- Shekelle, P. G., Morton, S. C., Jungvig, L. K., Udani, J., Spar, M., Tu, W., Suttrop, J., Coulter, I., Newberry, S. J., and Hardy, M. (2004). Effect of supplemental vitamin E for the prevention and treatment of cardiovascular disease. *Journal of general internal medicine* **19**(4), 380-389.

- Smith-Warner, S. A., Elmer, P. J., Tharp, T. M., Fosdick, L., Randall, B., Gross, M., Wood, J., and Potter, J. D. (2000). Increasing vegetable and fruit intake: randomized intervention and monitoring in an at-risk population. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* **9**(3), 307-317.
- Stamler, J., Caggiula, A., Grandits, G. A., Kjelsberg, M., and Cutler, J. A. (1996). Relationship to Blood Pressure of Combinations of Dietary Macronutrients: Findings of the Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT). *Circulation* **94**(10), 2417-2423.
- Steffen, L. M., Jacobs, D. R., Jr., Stevens, J., Shahar, E., Carithers, T., and Folsom, A. R. (2003). Associations of whole-grain, refined-grain, and fruit and vegetable consumption with risks of all-cause mortality and incident coronary artery disease and ischemic stroke: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *American Journal of Clinical Nutrition* **78**(3), 383-390.
- Strandhagen, E., Hansson, P. O., Bosaeus, I., Isaksson, B., and Eriksson, H. (2000). High fruit intake may reduce mortality among middle-aged and elderly men. The Study of Men Born in 1913. *European journal of clinical nutrition* **54**(4), 337-341.
- Svetkey, L. P., Harsha, D. W., Vollmer, W. M., Stevens, V. J., Obarzanek, E., Elmer, P. J., Lin, P. H., Champagne, C., Simons-Morton, D. G., Aickin, M., Proschan, M. A., and Appel, L. J. (2003). Premier: a clinical trial of comprehensive lifestyle modification for blood pressure control: rationale, design and baseline characteristics. *Annals of epidemiology* **13**(6), 462-471.
- the Homocysteine Studies Collaboration (2002). Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke: a meta-analysis. *Jama - Journal of the American Medical Association* **288**(16), 2015-2022.
- Thompson, G. R., and Grundy, S. M. (2005). History and development of plant sterol and stanol esters for cholesterol-lowering purposes. *American journal of cardiology* **96**(1), 3-9.
- Thomson, C. A., Rock, C. L., Giuliano, A. R., Newton, T. R., Cui, H., Reid, P. M., Green, T. L., and Alberts, D. S. (2005). Longitudinal changes in body weight and body composition among women previously treated for breast cancer consuming a high-vegetable, fruit and fiber, low-fat diet. *European journal of nutrition* **44**(1), 18-25.
- Tohill, B. C. (2005). *Joint WHO/FAO Workshop on Fruit and Vegetables for Health, Kobe, Japan, 1-3 September 2004* 52 p.
- Tohill, B. C., Seymour, J., Serdula, M., Kettel-Khan, L., and Rolls, B. J. (2004). What epidemiologic studies tell us about the relationship between fruit and vegetable consumption and body weight. *Nutrition Reviews* **62**(10), 365-374.
- Tokui, N., Yoshimura, T., Fujino, Y., Mizoue, T., Hoshiyama, Y., Yatsuya, H., Sakata, K., Kondo, T., Kikuchi, S., Toyoshima, H., Hayakawa, N., Kubo, T., and Tamakoshi, A. (2005). Dietary habits and stomach cancer risk in the JACC Study. *Journal of epidemiology / Japan Epidemiological Association* **15 Suppl 2**, S98-108.
- Traber, M. G. (2001). Does vitamin E decrease heart attack risk? Summary and implications with respect to dietary recommendations. *Journal of Nutrition* **131**(2), 395S-397S.
- Tucker, K. L., Hallfrisch, J., Qiao, N., Muller, D., Andres, R., and Fleg, J. L. (2005). The combination of high fruit and vegetable and low saturated fat intakes is more protective against mortality in aging men than is either alone: the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Journal of nutrition* **135**(3), 556-561.
- Van Duyn, M. A., and Pivonka, E. (2000). Overview of the health benefits of fruit and vegetable consumption for the dietetics professional: selected literature. *Journal of the American Dietetic Association* **100**(12), 1511-1521.
- Vivekananthan, D. P., Penn, M. S., Sapp, S. K., Hsu, A., and Topol, E. J. (2003). Use of antioxidant vitamins for the prevention of cardiovascular disease: meta-analysis of randomised trials. *Lancet* **361**(9374), 2017-2023.
- Wald, D. S., Law, M., and Morris, J. K. (2002). Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. *BMJ* **325**(7374), 1202.
- Wang, X., Qin, X., Demirtas, H., Li, J., Mao, G., Huo, Y., Sun, N., Liu, L., and Xu, X. (2007). Efficacy of folic acid supplementation in stroke prevention: a meta-analysis. *Lancet* **369**(9576), 1876-1882.
- Welch, G. N., and Loscalzo, J. (1998). Homocysteine and atherothrombosis. *New England journal of medicine* **338**(15), 1042-1050.
- Witztum, J. L., and Steinberg, D. (2001). The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: does it hold for humans? *Trends in Cardiovascular Medicine* **11**(3-4), 93-102.
- Yao, M., and Roberts, S. B. (2001). Dietary energy density and weight regulation. *Nutrition Reviews* **59**(8 Pt 1), 247-258.
- Zino, S., Skeaff, M., Williams, S., and Mann, J. (1997). Randomised controlled trial of effect of fruit and vegetable consumption on plasma concentrations of lipids and antioxidants. *BMJ* **314**(7097), 1787-1791.

## Diabète

- Colditz, G., Manson, J., Stampfer, M., Rosner, B., Willett, W., and Speizer, F. (1992). Diet and risk of clinical diabetes in women. *American Journal of Clinical Nutrition* **55**(5), 1018-1023.
- Feskens, E., Bowles, C., and Kromhout, D. (1991). Carbohydrate intake and body mass index in relation to the risk of glucose intolerance in an elderly population. *American Journal of Clinical Nutrition* **54**(1), 136-140.

- Ford, E. S., and Mokdad, A. H. (2001). Fruit and vegetable consumption and diabetes mellitus incidence among US adults. *Preventive Medicine* **32**(1), 33-39.
- Ford, E. S., Mokdad, A. H., Giles, W. H., and Brown, D. W. (2003). The metabolic syndrome and antioxidant concentrations - Findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Diabetes* **52**(9), 2346-2352.
- Heidemann, C., Hoffmann, K., Spranger, J., Klipstein-Grobusch, K., Mohlig, M., Pfeiffer, A. F. H., and Boeing, H. (2005). A dietary pattern protective against type 2 diabetes in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) - Potsdam Study cohort. *Diabetologia* **48**(6), 1126-1134.
- Jimenez-Cruz, A., Bacardi-Gascon, M., Turnbull, W. H., Rosales-Garay, P., and Severino-Lugo, I. (2003). A flexible, low-glycemic index Mexican-style diet in overweight and obese subjects with type 2 diabetes improves metabolic parameters during a 6-week treatment period. *Diabetes Care* **26**(7), 1967-1970.
- Knowler, W. C., Barrett-Connor, E., Fowler, S. E., Hamman, R. F., Lachin, J. M., Walker, E. A., and Nathan, D. M. (2002). Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *New England Journal of Medicine* **346**(6), 393-403.
- Lau, C., Pedersen, O., Faerch, K., Carstensen, B., Glumer, C., Jorgensen, T., Tetens, I., and Borch-Johnsen, K. (2005). Dietary glycemic index, glycemic load, fiber, simple sugars, and insulin resistance - The Inter99 study. *Diabetes Care* **28**(6), 1397-1403.
- Lindstrom, J., Eriksson, J. G., Valle, T. T., Aunola, S., Cepaitis, Z., Hakumaki, M., Hamalainen, H., Ilanne-Parikka, P., Keinanen-Kiukaanniemi, S., Laakso, M., Louheranta, A., Mannelin, M., Martikkala, V., Moltchanov, V., Rastas, M., Salminen, V., Sundvall, J., Uusitupa, M., and Tuomilehto, J. (2003). Prevention of diabetes mellitus in subjects with impaired glucose tolerance in the Finnish Diabetes Prevention Study: Results from a randomized clinical trial. *Journal of the American Society of Nephrology* **14**(7), S108-S113.
- Lindstrom, J., Louheranta, A., Mannelin, M., Rastas, M., Salminen, V., Eriksson, J., Uusitupa, M., and Tuomilehto, J. (2003). The Finnish Diabetes Prevention Study (DPS): Lifestyle intervention and 3-year results on diet and physical activity. *Diabetes Care* **26**(12).
- Lindstrom, J., Peltonen, M., Eriksson, J. G., Louheranta, A., Fogelholm, M., Uusitupa, M., and Tuomilehto, J. (2006). High-fibre, low-fat diet predicts long-term weight loss and decreased type 2 diabetes risk: the Finnish Diabetes Prevention Study. *Diabetologia* **49**(5), 912-920.
- Liu, S. M., Serdula, M., Janket, S. J., Cook, N. R., Sesso, H. D., Willett, W. C., Manson, J. E., and Buring, J. E. (2004). A prospective study of fruit and vegetable intake and the risk of type 2 diabetes in women. *Diabetes Care* **27**(12), 2993-2996.
- Lopez-Garcia, E., Schulze, M. B., Fung, T. T., Meigs, J. B., Rifai, N., Manson, J. E., and Hu, F. B. (2004). Major dietary patterns are related to plasma concentrations of markers of inflammation and endothelial dysfunction. *American Journal of Clinical Nutrition* **80**(4), 1029-1035.
- Lundgren, H., Bengtsson, C., Blohme, G., Isaksson, B., Lapidus, L., Lenner, R., Saaek, A., and Winther, E. (1989). Dietary habits and incidence of noninsulin-dependent diabetes mellitus in a population study of women in Gothenburg, Sweden. *American Journal of Clinical Nutrition* **49**(4), 708-712.
- Meyer, K. A., Kushi, L. H., Jacobs, D. R., Slavin, J., Sellers, T. A., and Folsom, A. R. (2000). Carbohydrates, dietary fiber, and incident type 2 diabetes in older women. *American Journal of Clinical Nutrition* **71**(4), 921-930.
- Montonen, J., Jarvinen, R., Heliovaara, M., Reunanen, A., Aromaa, A., and Knekt, P. (2005). Food consumption and the incidence of type II diabetes mellitus. *European Journal of Clinical Nutrition* **59**(3), 441-448.
- Schulze, M. B., Hoffmann, K., Manson, J. E., Willett, W. C., Meigs, J. B., Weikert, C., Heidemann, C., Colditz, G. A., and Hu, F. B. (2005). Dietary pattern, inflammation, and incidence of type 2 diabetes in women. *American Journal of Clinical Nutrition* **82**(3), 675-684.
- Tuomilehto, J., Lindstrom, J., Eriksson, J. G., Valle, T. T., Hamalainen, H., Ilanne-Parikka, P., Keinanen-Kiukaanniemi, S., Laakso, M., Louheranta, A., Rastas, M., Salminen, V., Uusitupa, M., Aunola, S., Cepaitis, Z., Moltchanov, V., Hakumaki, M., Mannelin, M., Martikkala, V., and Sundvall, J. (2001). Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *New England Journal of Medicine* **344**(18), 1343-1350.

## Cancer

- Aggarwal, B. B., and Shishodia, S. (2006). Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochemical pharmacology* **71**(10), 1397-1421.
- ATBC (1994). The effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. The Alpha-Tocopherol, Beta Carotene Cancer Prevention Study Group. *New England Journal of Medicine* **330**(15), 1029-1035.
- Beresford, S. A., Johnson, K. C., Ritenbaugh, C., Lasser, N. L., Snetselaar, L. G., Black, H. R., Anderson, G. L., Assaf, A. R., Bassford, T., Bowen, D., Brunner, R. L., Brzyski, R. G., Caan, B., Chlebowski, R. T., Gass, M., Harrigan, R. C., Hays, J., Heber, D., Heiss, G., Hendrix, S. L., Howard, B. V., Hsia, J., Hubbell, F. A., Jackson, R. D., Kotchen, J. M., Kuller, L. H., LaCroix, A. Z., Lane, D. S., Langer, R. D., Lewis, C. E., Manson, J. E., Margolis, K. L., Mossavar-Rahmani, Y., Ockene, J. K., Parker, L. M., Perri, M. G., Phillips, L., Prentice, R. L., Robbins, J., Rossouw, J. E., Sarto, G. E., Stefanick, M. L., Van Horn, L., Vitamins, M.

- Z., Wactawski-Wende, J., Wallace, R. B., and Whitlock, E. (2006). Low-fat dietary pattern and risk of colorectal cancer: the Women's Health Initiative Randomized Controlled Dietary Modification Trial. *Jama - Journal of the American Medical Association* **295**(6), 643-654.
- Bjelakovic, G., Nikolova, D., Gluud, L. L., Simonetti, R. G., and Gluud, C. (2007). Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention: systematic review and meta-analysis. *Jama - Journal of the American Medical Association* **297**(8), 842-857.
- Blot, W. J., Li, J. Y., Taylor, P. R., Guo, W., Dawsey, S., Wang, G. Q., Yang, C. S., Zheng, S. F., Gail, M., and Li, G. Y. (1993). Nutrition intervention trials in Linxian, China: supplementation with specific vitamin/mineral combinations, cancer incidence, and disease-specific mortality in the general population. *Journal of the National Cancer Institute* **85**(18), 1483-1492.
- Boeing, H., Dietrich, T., Hoffmann, K., Pischon, T., Ferrari, P., Lahmann, P. H., Boutron-Ruault, M. C., Clavel-Chapelon, F., Allen, N., Key, T., Skeie, G., Lund, E., Olsen, A., Tjonneland, A., Overvad, K., Jensen, M. K., Rohrmann, S., Linseisen, J., Trichopoulou, A., Bamia, C., Psaltopoulou, T., Weinehall, L., Johansson, I., Sanchez, M. J., Jakszyn, P., Ardanaz, E., Amiano, P., Chirlaque, M. D., Quiros, J. R., Wirfalt, E., Berglund, G., Peeters, P. H., van Gils, C. H., Bueno-de-Mesquita, H. B., Buchner, F. L., Berrino, F., Palli, D., Sacerdote, C., Tumino, R., Panico, S., Bingham, S., Khaw, K. T., Slimani, N., Norat, T., Jenab, M., and Riboli, E. (2006). Intake of fruits and vegetables and risk of cancer of the upper aero-digestive tract: the prospective EPIC-study. *Cancer Causes Control* **17**(7), 957-969.
- Bosetti, C., Negri, E., Kolonel, L., Ron, E., Franceschi, S., Preston-Martin, S., McTiernan, A., Dal Maso, L., Mark, S. D., Mabuchi, K., Land, C., Jin, F., Wingren, G., Galanti, M. R., Hallquist, A., Glatte, E., Lund, E., Levi, F., Linos, D., and La Vecchia, C. (2002). A pooled analysis of case-control studies of thyroid cancer. VII. Cruciferous and other vegetables (International). *Cancer Causes Control* **13**(8), 765-775.
- Calle, E. E., Rodriguez, C., Walker-Thurmond, K., and Thun, M. J. (2003). Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of US adults. *New England Journal of Medicine* **348**(17), 1625-1638.
- Chyou, P. H., Nomura, A. M., and Stemmermann, G. N. (1993). A prospective study of diet, smoking, and lower urinary tract cancer. *Annals of epidemiology* **3**(3), 211-216.
- Chyou, P. H., Nomura, A. M., and Stemmermann, G. N. (1995). Diet, alcohol, smoking and cancer of the upper aerodigestive tract: a prospective study among Hawaii Japanese men. *International journal of cancer* **60**(5), 616-621.
- CNERNA (1996). Alimentation et cancer. Evaluation des données scientifiques. (E. Riboli, F. Declôître, and C. Collet-Ribbing, Eds.) 534 p. Lavoisier Tec & Doc, Paris.
- Cole, B. F., Baron, J. A., Sandler, R. S., Haile, R. W., Ahnen, D. J., Bresalier, R. S., McKeown-Eyssen, G., Summers, R. W., Rothstein, R. I., Burke, C. A., Snover, D. C., Church, T. R., Allen, J. I., Robertson, D. J., Beck, G. J., Bond, J. H., Byers, T., Mandel, J. S., Mott, L. A., Pearson, L. H., Barry, E. L., Rees, J. R., Marcon, N., Saibil, F., Ueland, P. M., and Greenberg, E. R. (2007). Folic acid for the prevention of colorectal adenomas - A randomized clinical trial. *Jama-Journal of the American Medical Association* **297**(21), 2351-2359.
- COMA (1998). Report of the working group on diet and cancer. Nutritional aspects of the development of cancer. 274 p. Stationery office, London.
- Combs, G. F., Jr., and Gray, W. P. (1998). Chemopreventive agents: selenium. *Pharmacology & therapeutics* **79**(3), 179-192.
- Eberhardt, M. V., Lee, C. Y., and Liu, R. H. (2000). Antioxidant activity of fresh apples. *Nature* **405**(6789), 903-904.
- Etminan, M., Takkouche, B., and Caamano-Isorna, F. (2004). The role of tomato products and lycopene in the prevention of prostate cancer: a meta-analysis of observational studies. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* **13**(3), 340-345.
- Faure, H., Preziosi, P., Roussel, A. M., Bertrais, S., Galan, P., Hercberg, S., and Favier, A. (2006). Factors influencing blood concentration of retinol, alpha-tocopherol, vitamin C, and beta-carotene in the French participants of the SU.VI.MAX trial. *European journal of clinical nutrition* **60**(6), 706-717.
- Flood, A., Velie, E. M., Chatterjee, N., Subar, A. F., Thompson, F. E., Lacey, J. V., Jr., Schairer, C., Troisi, R., and Schatzkin, A. (2002). Fruit and vegetable intakes and the risk of colorectal cancer in the Breast Cancer Detection Demonstration Project follow-up cohort. *American Journal of Clinical Nutrition* **75**(5), 936-943.
- Giovannucci, E., Rimm, E. B., Liu, Y., Stampfer, M. J., and Willett, W. C. (2003). A prospective study of cruciferous vegetables and prostate cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* **12**(12), 1403-1409.
- Gonzalez, C. A., Pera, G., Agudo, A., Bueno-de-Mesquita, H. B., Ceroti, M., Boeing, H., Schulz, M., Del Giudice, G., Plebani, M., Carneiro, F., Berrino, F., Sacerdote, C., Tumino, R., Panico, S., Berglund, G., Siman, H., Hallmans, G., Stenling, R., Martinez, C., Dorransoro, M., Barricarte, A., Navarro, C., Quiros, J. R., Allen, N., Key, T. J., Bingham, S., Day, N. E., Linseisen, J., Nagel, G., Overvad, K., Jensen, M. K., Olsen, A., Tjonneland, A., Buchner, F. L., Peeters, P. H., Numans, M. E., Clavel-Chapelon, F., Boutron-Ruault, M. C., Roukos, D., Trichopoulou, A., Psaltopoulou, T., Lund, E., Casagrande, C., Slimani, N., Jenab, M., and Riboli, E. (2006). Fruit and vegetable intake and the risk of stomach and oesophagus adenocarcinoma in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-EURGAST). *International journal of cancer* **118**(10), 2559-66.
- Hartge, P., Brinton, L. A., Rosenthal, J. F., Cahill, J. I., Hoover, R. N., and Waksberg, J. (1984). Random digit dialing in selecting a population-based control group. *American journal of epidemiology* **120**(6), 825-833.

- Hennekens, C. H., Buring, J. E., Manson, J. E., Stampfer, M., Rosner, B., Cook, N. R., Belanger, C., LaMotte, F., Gaziano, J. M., Ridker, P. M., Willett, W., and Peto, R. (1996). Lack of effect of long-term supplementation with beta carotene on the incidence of malignant neoplasms and cardiovascular disease. *New England Journal of Medicine* **334**(18), 1145-1149.
- Hercberg, S., Galan, P., Preziosi, P., Bertrais, S., Mennen, L., Malvy, D., Rousset, A. M., Favier, A., and Briancon, S. (2004). The SU.VI.MAX Study: a randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals. *Archives of internal medicine* **164**(21), 2335-2342.
- Hertog, M. G., Bueno-de-Mesquita, H. B., Fehily, A. M., Sweetnam, P. M., Elwood, P. C., and Kromhout, D. (1996). Fruit and vegetable consumption and cancer mortality in the Caerphilly Study. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* **5**(9), 673-677.
- Holick, C. N., De Vivo, I., Feskanich, D., Giovannucci, E., Stampfer, M., and Michaud, D. S. (2005). Intake of fruits and vegetables, carotenoids, folate, and vitamins A, C, E and risk of bladder cancer among women (United States). *Cancer Causes Control* **16**(10), 1135-1145.
- Hursting, S. D., Forman, M. R., Umar, A., Nunez, N. P., and Barrett, J. C. (2006). Evidence-based cancer prevention research: a multidisciplinary perspective on cancer prevention trials. In *Oncology. An evidence-based approach* (A. E. Chang, P. A. Ganz, D. F. Hayes, T. J. Klinsella, H. I. Pass, J. H. Schiller, R. M. Stone, and V. Strecher, Eds.), pp. 301-316: 301-316. Springer, USA.
- IARC (2003). Fruit and vegetables. IARC Handbooks of cancer prevention. volume 8 376 p. IARC Press, Lyon.
- IARC (2004). Cruciferous vegetables, isothiocyanates and indoles. IARC Handbooks of cancer prevention, volume 9 262 p. IARC Press, Lyon.
- Jansen, M. C., Bueno-de-Mesquita, H. B., Rasanen, L., Fidanza, F., Nissinen, A. M., Menotti, A., Kok, F. J., and Kromhout, D. (2001). Cohort analysis of fruit and vegetable consumption and lung cancer mortality in European men. *International journal of cancer* **92**(6), 913-918.
- Jenab, M., Riboli, E., Ferrari, P., Sabate, J., Slimani, N., Norat, T., Friesen, M., Tjonneland, A., Olsen, A., Overvad, K., Boutron-Ruault, M. C., Clavel-Chapelon, F., Touvier, M., Boeing, H., Schulz, M., Linseisen, J., Nagel, G., Trichopoulou, A., Naska, A., Oikonomou, E., Krogh, V., Panico, S., Masala, G., Sacerdote, C., Tumino, R., Peeters, P. H., Numans, M. E., Bueno-de-Mesquita, H. B., Buchner, F. L., Lund, E., Pera, G., Sanchez, C. N., Sanchez, M. J., Arriola, L., Barricarte, A., Quiros, J. R., Hallmans, G., Stenling, R., Berglund, G., Bingham, S., Khaw, K. T., Key, T., Allen, N., Carneiro, F., Mahlke, U., Del Giudice, G., Palli, D., Kaaks, R., and Gonzalez, C. A. (2006). Plasma and dietary vitamin C levels and risk of gastric cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-EURGAST). *Carcinogenesis* **27**(11), 2250-2257.
- Kim, Y. I. (2006). Does a high folate intake increase the risk of breast cancer? *Nutrition Reviews* **64**(10 Pt 1), 468-475.
- Kirsh, V. A., Mayne, S. T., Peters, U., Chatterjee, N., Leitzmann, M. F., Dixon, L. B., Urban, D. A., Crawford, E. D., and Hayes, R. B. (2006). A prospective study of lycopene and tomato product intake and risk of prostate cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* **15**(1), 92-98.
- Kojima, M., Wakai, K., Tamakoshi, K., Tokudome, S., Toyoshima, H., Watanabe, Y., Hayakawa, N., Suzuki, K., Hashimoto, S., Ito, Y., and Tamakoshi, A. (2004). Diet and colorectal cancer mortality: results from the Japan Collaborative Cohort Study. *Nutrition and Cancer* **50**(1), 23-32.
- Koushik, A., Hunter, D. J., Spiegelman, D., Anderson, K. E., Arslan, A. A., Beeson, W. L., van den Brandt, P. A., Buring, J. E., Cerhan, J. R., Colditz, G. A., Fraser, G. E., Freudenheim, J. L., Genkinger, J. M., Goldbohm, R. A., Hankinson, S. E., Koenig, K. L., Larsson, S. C., Leitzmann, M., McCullough, M. L., Miller, A. B., Patel, A., Rohan, T. E., Schatzkin, A., Smit, E., Willett, W. C., Wolk, A., Zhang, S. M., and Smith-Warner, S. A. (2005). Fruits and vegetables and ovarian cancer risk in a pooled analysis of 12 cohort studies. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* **14**(9), 2160-2167.
- Lacave, R., Larsen, C. J., and Robert, J. (2005). *Cancérologie fondamentale*. Société du cancer ED ed. 438p. John Libbey Eurotext.
- Lanza, E., Hartman, T. J., Albert, P. S., Shields, R., Slattery, M., Caan, B., Paskett, E., Iber, F., Kikendall, J. W., Lance, P., Daston, C., and Schatzkin, A. (2006). High dry bean intake and reduced risk of advanced colorectal adenoma recurrence among participants in the polyp prevention trial. *Journal of Nutrition* **136**(7), 1896-1903.
- Lanza, E., Schatzkin, A., Daston, C., Corle, D., Freedman, L., Ballard-Barbash, R., Caan, B., Lance, P., Marshall, J., Iber, F., Shike, M., Weissfeld, J., Slattery, M., Paskett, E., Mateski, D., and Albert, P. (2001). Implementation of a 4-y, high-fiber, high-fruit-and-vegetable, low-fat dietary intervention: results of dietary changes in the Polyp Prevention Trial. *American Journal of Clinical Nutrition* **74**(3), 387-401.
- Lin, J., Zhang, S. M., Cook, N. R., Rexrode, K. M., Liu, S., Manson, J. E., Lee, I. M., and Buring, J. E. (2005). Dietary intakes of fruit, vegetables, and fiber, and risk of colorectal cancer in a prospective cohort of women (United States). *Cancer Causes Control* **16**(3), 225-233.
- Liu, R. H. (2003). Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *American Journal of Clinical Nutrition* **78**(3 Suppl), 517S-520S.
- Liu, R. H. (2004). Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *Journal of Nutrition* **134**(12 Suppl), 3479S-3485S.
- Liu, Y., Sobue, T., Otani, T., and Tsugane, S. (2004). Vegetables, fruit consumption and risk of lung cancer among middle-aged Japanese men and women: JPHC study. *Cancer Causes Control* **15**(4), 349-357.
- Lunet, N., Lacerda-Vieira, A., and Barros, H. (2005). Fruit and vegetables consumption and gastric cancer: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Nutrition and Cancer* **53**(1), 1-10.

- Maserejian, N. N., Giovannucci, E., Rosner, B., Zavras, A., and Joshipura, K. (2006). Prospective study of fruits and vegetables and risk of oral premalignant lesions in men. *American journal of epidemiology* **164**(6), 556-566.
- Mattisson, I., Wirfalt, E., Johansson, U., Gullberg, B., Olsson, H., and Berglund, G. (2004). Intakes of plant foods, fibre and fat and risk of breast cancer--a prospective study in the Malmo Diet and Cancer cohort. *British journal of cancer* **90**(1), 122-127.
- Maynard, M., Gunnell, D., Emmett, P., Frankel, S., and Davey Smith, G. (2003). Fruit, vegetables, and antioxidants in childhood and risk of adult cancer: the Boyd Orr cohort. *Journal of epidemiology and community health* **57**(3), 218-225.
- McCullough, M. L., Robertson, A. S., Chao, A., Jacobs, E. J., Stampfer, M. J., Jacobs, D. R., Diver, W. R., Calle, E. E., and Thun, M. J. (2003). A prospective study of whole grains, fruits, vegetables and colon cancer risk. *Cancer Causes Control* **14**(10), 959-970.
- Michaud, D. S., Spiegelman, D., Clinton, S. K., Rimm, E. B., Willett, W. C., and Giovannucci, E. L. (1999). Fruit and vegetable intake and incidence of bladder cancer in a male prospective cohort. *Journal of the National Cancer Institute* **91**(7), 605-613.
- Michels, K. B., Giovannucci, E., Chan, A. T., Singhanian, R., Fuchs, C. S., and Willett, W. C. (2006). Fruit and vegetable consumption and colorectal adenomas in the Nurses' Health Study. *Cancer Research* **66**(7), 3942-3953.
- Miller, A. B., Altenburg, H. P., Bueno-de-Mesquita, B., Boshuizen, H. C., Agudo, A., Berrino, F., Gram, I. T., Janson, L., Linseisen, J., Overvad, K., Rasmuson, T., Vineis, P., Lukanova, A., Allen, N., Amiano, P., Barricarte, A., Berglund, G., Boeing, H., Clavel-Chapelon, F., Day, N. E., Hallmans, G., Lund, E., Martinez, C., Navarro, C., Palli, D., Panico, S., Peeters, P. H., Quiros, J. R., Tjonneland, A., Tumino, R., Trichopoulou, A., Trichopoulos, D., Slimani, N., and Riboli, E. (2004). Fruits and vegetables and lung cancer: Findings from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *International journal of cancer* **108**(2), 269-276.
- Miller, E. R., III, Pastor-Barriuso, R., Dalal, D., Riemersma, R. A., Appel, L. J., and Guallar, E. (2005). Meta-analysis: high-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. *Annals of internal medicine* **142**(1), 37-46.
- Mills, P. K., Beeson, W. L., Phillips, R. L., and Fraser, G. E. (1991). Bladder cancer in a low risk population: results from the Adventist Health Study. *American journal of epidemiology* **133**(3), 230-239.
- Milner, J. A. (2004). Molecular targets for bioactive food components. *Journal of Nutrition* **134**(9), 2492S-2498S.
- Mommers, M., Schouten, L. J., Goldbohm, R. A., and van den Brandt, P. A. (2005). Consumption of vegetables and fruits and risk of ovarian carcinoma. *Cancer* **104**(7), 1512-1519.
- Neuhouser, M. L., Patterson, R. E., Thornquist, M. D., Omenn, G. S., King, I. B., and Goodman, G. E. (2003). Fruits and vegetables are associated with lower lung cancer risk only in the placebo arm of the beta-carotene and retinol efficacy trial (CARET). *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* **12**(4), 350-358.
- Nouraie, M., Pietinen, P., Kamangar, F., Dawsey, S. M., Abnet, C. C., Albanes, D., Virtamo, J., and Taylor, P. R. (2005). Fruits, vegetables, and antioxidants and risk of gastric cancer among male smokers. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* **14**(9), 2087-2092.
- Ocke, M. C., Bueno-de-Mesquita, H. B., Feskens, E. J., van Staveren, W. A., and Kromhout, D. (1997). Repeated measurements of vegetables, fruits, beta-carotene, and vitamins C and E in relation to lung cancer. The Zutphen Study. *American journal of epidemiology* **145**(4), 358-365.
- Omenn, G. S., Goodman, G. E., Thornquist, M. D., Balmes, J., Cullen, M. R., Glass, A., Keogh, J. P., Meyskens, F. L., Valanis, B., Williams, J. H., Barnhart, S., and Hammar, S. (1996). Effects of a combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. *New England Journal of Medicine* **334**(18), 1150-1155.
- Pavia, M., Pileggi, C., Nobile, C. G., and Angelillo, I. F. (2006). Association between fruit and vegetable consumption and oral cancer: a meta-analysis of observational studies. *American Journal of Clinical Nutrition* **83**(5), 1126-1134.
- Pierce, J. P., Faerber, S., Wright, F. A., Rock, C. L., Newman, V., Flatt, S. W., Kealey, S., Jones, V. E., Caan, B. J., Gold, E. B., Haan, M., Hollenbach, K. A., Jones, L., Marshall, J. R., Ritenbaugh, C., Stefanick, M. L., Thomson, C., Wasserman, L., Natarajan, L., Thomas, R. G., and Gilpin, E. A. (2002). A randomized trial of the effect of a plant-based dietary pattern on additional breast cancer events and survival: the Women's Healthy Eating and Living (WHEL) Study. *Controlled clinical trials* **23**(6), 728-756.
- Prentice, R. L., Caan, B., Chlebowski, R. T., Patterson, R., Kuller, L. H., Ockene, J. K., Margolis, K. L., Limacher, M. C., Manson, J. E., Parker, L. M., Paskett, E., Phillips, L., Robbins, J., Rossouw, J. E., Sarto, G. E., Shikany, J. M., Stefanick, M. L., Thomson, C. A., Van Horn, L., Vitolins, M. Z., Wactawski-Wende, J., Wallace, R. B., Wassertheil-Smoller, S., Whitlock, E., Yano, K., Adams-Campbell, L., Anderson, G. L., Assaf, A. R., Beresford, S. A., Black, H. R., Brunner, R. L., Brzyski, R. G., Ford, L., Gass, M., Hays, J., Heber, D., Heiss, G., Hendrix, S. L., Hsia, J., Hubbell, F. A., Jackson, R. D., Johnson, K. C., Kotchen, J. M., LaCroix, A. Z., Lane, D. S., Langer, R. D., Lasser, N. L., and Henderson, M. M. (2006). Low-fat dietary pattern and risk of invasive breast cancer: the Women's Health Initiative Randomized Controlled Dietary Modification Trial. *Jama - Journal of the American Medical Association* **295**(6), 629-642.
- Rafter, J., Govers, M., Martel, P., Pannemans, D., Pool-Zobel, B., Rechkemmer, G., Rowland, I., Tuijtelars, S., and van Loo, J. (2004). PASSCLAIM--diet-related cancer. *European journal of nutrition* **43** Suppl 2, II47-II84.

- Riboli, E., and Norat, T. (2003). Epidemiologic evidence of the protective effect of fruit and vegetables on cancer risk. *American Journal of Clinical Nutrition* **78**(3), 559S-569S.
- Sakauchi, F., Mori, M., Washio, M., Watanabe, Y., Ozasa, K., Hayashi, K., Miki, T., Nakao, M., Mikami, K., Ito, Y., Wakai, K., and Tamakoshi, A. (2004). Dietary habits and risk of urothelial cancer death in a large-scale cohort study (JACC Study) in Japan. *Nutrition and Cancer* **50**(1), 33-39.
- Sanjoaquin, M. A., Appleby, P. N., Thorogood, M., Mann, J. I., and Key, T. J. (2004). Nutrition, lifestyle and colorectal cancer incidence: a prospective investigation of 10998 vegetarians and non-vegetarians in the United Kingdom. *British journal of cancer* **90**(1), 118-121.
- Sato, Y., Tsubono, Y., Nakaya, N., Ogawa, K., Kurashima, K., Kuriyama, S., Hozawa, A., Nishino, Y., Shibuya, D., and Tsuji, I. (2005). Fruit and vegetable consumption and risk of colorectal cancer in Japan: The Miyagi Cohort Study. *Public Health Nutrition* **8**(3), 309-314.
- Sauvaget, C., Nagano, J., Hayashi, M., Spencer, E., Shimizu, Y., and Allen, N. (2003). Vegetables and fruit intake and cancer mortality in the Hiroshima/Nagasaki Life Span Study. *British journal of cancer* **88**(5), 689-694.
- Schulz, M., Lahmann, P. H., Boeing, H., Hoffmann, K., Allen, N., Key, T. J., Bingham, S., Wirfalt, E., Berglund, G., Lundin, E., Hallmans, G., Lukanova, A., Martinez Garcia, C., Gonzalez, C. A., Tormo, M. J., Quiros, J. R., Ardanaz, E., Larranaga, N., Lund, E., Gram, I. T., Skeie, G., Peeters, P. H., van Gils, C. H., Bueno-de-Mesquita, H. B., Buchner, F. L., Pasanisi, P., Galasso, R., Palli, D., Tumino, R., Vineis, P., Trichopoulou, A., Kalapothaki, V., Trichopoulos, D., Chang-Claude, J., Linseisen, J., Boutron-Ruault, M. C., Touillaud, M., Clavel-Chapelon, F., Olsen, A., Tjonneland, A., Overvad, K., Tetsche, M., Jenab, M., Norat, T., Kaaks, R., and Riboli, E. (2005). Fruit and vegetable consumption and risk of epithelial ovarian cancer: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* **14**(11 Pt 1), 2531-2535.
- Shibata, A., Paganini-Hill, A., Ross, R. K., and Henderson, B. E. (1992). Intake of vegetables, fruits, beta-carotene, vitamin C and vitamin supplements and cancer incidence among the elderly: a prospective study. *British journal of cancer* **66**(4), 673-679.
- Shike, M., Latkany, L., Riedel, E., Fleisher, M., Schatzkin, A., Lanza, E., Corle, D., and Begg, C. B. (2002). Lack of effect of a low-fat, high-fruit, -vegetable, and -fiber diet on serum prostate-specific antigen of men without prostate cancer: results from a randomized trial. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **20**(17), 3592-3598.
- Smith-Warner, S. A., Spiegelman, D., Ritz, J., Albanes, D., Beeson, W. L., Bernstein, L., Berrino, F., van den Brandt, P. A., Buring, J. E., Cho, E., Colditz, G. A., Folsom, A. R., Freudenheim, J. L., Giovannucci, E., Goldbohm, R. A., Graham, S., Harnack, L., Horn-Ross, P. L., Krogh, V., Leitzmann, M. F., McCullough, M. L., Miller, A. B., Rodriguez, C., Rohan, T. E., Schatzkin, A., Shore, R., Virtanen, M., Willett, W. C., Wolk, A., Zeleniuch-Jacquotte, A., Zhang, S. M., and Hunter, D. J. (2006). Methods for pooling results of epidemiologic studies: the Pooling Project of Prospective Studies of Diet and Cancer. *American journal of epidemiology* **163**(11), 1053-1064.
- Smith-Warner, S. A., Spiegelman, D., Yaun, S. S., Adami, H. O., Beeson, W. L., van den Brandt, P. A., Folsom, A. R., Fraser, G. E., Freudenheim, J. L., Goldbohm, R. A., Graham, S., Miller, A. B., Potter, J. D., Rohan, T. E., Speizer, F. E., Toniolo, P., Willett, W. C., Wolk, A., Zeleniuch-Jacquotte, A., and Hunter, D. J. (2001). Intake of fruits and vegetables and risk of breast cancer: a pooled analysis of cohort studies. *Jama - Journal of the American Medical Association* **285**(6), 769-776.
- Smith-Warner, S. A., Spiegelman, D., Yaun, S. S., Albanes, D., Beeson, W. L., van den Brandt, P. A., Feskanich, D., Folsom, A. R., Fraser, G. E., Freudenheim, J. L., Giovannucci, E., Goldbohm, R. A., Graham, S., Kushi, L. H., Miller, A. B., Pietinen, P., Rohan, T. E., Speizer, F. E., Willett, W. C., and Hunter, D. J. (2003). Fruits, vegetables and lung cancer: a pooled analysis of cohort studies. *International journal of cancer* **107**(6), 1001-1011.
- Tadjalli-Mehr, K., Becker, N., Rahu, M., Stengrevics, A., Kurtinaitis, J., and Hakama, M. (2003). Randomized trial with fruits and vegetables in prevention of cancer. *Acta Oncologica* **42**(4), 287-293.
- Tokui, N., Yoshimura, T., Fujino, Y., Mizoue, T., Hoshiyama, Y., Yatsuya, H., Sakata, K., Kondo, T., Kikuchi, S., Toyoshima, H., Hayakawa, N., Kubo, T., and Tamakoshi, A. (2005). Dietary habits and stomach cancer risk in the JACC Study. *Journal of epidemiology / Japan Epidemiological Association* **15 Suppl 2**, S98-108.
- Touvier, M., Kesse, E., Clavel-Chapelon, F., and Boutron-Ruault, M. C. (2005). Dual Association of beta-carotene with risk of tobacco-related cancers in a cohort of French women. *Journal of the National Cancer Institute* **97**(18), 1338-1344.
- Tsubono, Y., Otani, T., Kobayashi, M., Yamamoto, S., Sobue, T., and Tsugane, S. (2005). No association between fruit or vegetable consumption and the risk of colorectal cancer in Japan. *British journal of cancer* **92**(9), 1782-1784.
- Vainio, H., and Weiderpass, E. (2006). Fruit and vegetables in cancer prevention. *Nutrition and Cancer* **54**(1), 111-142.
- van Gils, C. H., Peeters, P. H., Bueno-de-Mesquita, H. B., Boshuizen, H. C., Lahmann, P. H., Clavel-Chapelon, F., Thiebaut, A., Kesse, E., Sieri, S., Palli, D., Tumino, R., Panico, S., Vineis, P., Gonzalez, C. A., Ardanaz, E., Sanchez, M. J., Amiano, P., Navarro, C., Quiros, J. R., Key, T. J., Allen, N., Khaw, K. T., Bingham, S. A., Psaltopoulou, T., Koliva, M., Trichopoulou, A., Nagel, G., Linseisen, J., Boeing, H., Berglund, G., Wirfalt, E., Hallmans, G., Lenner, P., Overvad, K., Tjonneland, A., Olsen, A., Lund, E., Engeset, D., Alsaker, E., Norat, T., Kaaks, R., Slimani, N., and Riboli, E. (2005). Consumption of

- vegetables and fruits and risk of breast cancer. *Jama - Journal of the American Medical Association* **293**(2), 183-193.
- Verhoeven, D. T., Assen, N., Goldbohm, R. A., Dorant, E., van 't Veer, P., Sturmans, F., Hermus, R. J., and van den Brandt, P. A. (1997). Vitamins C and E, retinol, beta-carotene and dietary fibre in relation to breast cancer risk: a prospective cohort study. *British journal of cancer* **75**(1), 149-155.
- Wark, P. A., Weijnen, M. P., van 't Veer, P., van Wijhe, G., Luchtenborg, M., van Muijen, G. N., de Goeij, A. F., Goldbohm, R. A., and van den Brandt, P. A. (2005). Fruits, vegetables, and hMLH1 protein-deficient and -proficient colon cancer: The Netherlands cohort study. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* **14**(7), 1619-1625.
- WCRF, and AICR (1997). Food, nutrition and the prevention of cancer: a global perspective. 670p., Washington DC.
- WCRF, and AICR (2007). Food, nutrition physical activity and the prevention of cancer: a global perspective (+ CD-Rom des revues systématiques de la littérature : 14765p). Washington DC 517 p. <http://www.dietandcancerreport.org/downloads/summary/english.pdf>.
- WCRF, and NACRe (2002). Alimentation, nutrition et prévention des cancers, une perspective mondiale : application au contexte français. 35 p.
- Willett, W. C. (2005). Diet and cancer: an evolving picture. *Jama - Journal of the American Medical Association* **293**(2), 233-234.
- Yan, L., and Spitznagel, E. L. (2005). Meta-analysis of soy food and risk of prostate cancer in men. *International journal of cancer* **117**(4), 667-669.
- Zeegeers, M. P., Goldbohm, R. A., and van den Brandt, P. A. (2001). Consumption of vegetables and fruits and urothelial cancer incidence: a prospective study. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* **10**(11), 1121-1128.

## Maladies neuro-dégénératives et bien-être

- Akbaraly, N. T., Faure, H., Gourlet, V., Favier, A., and Berr, C. (2007). Plasma carotenoid levels and cognitive performance in an elderly population: Results of the EVA Study. *Journals of gerontology. Series A, Biological sciences and medical sciences* **62**(3), 308-316.
- Balk, E. M., Raman, G., Tatsioni, A., Chung, M., Lau, J., and Rosenberg, I. H. (2007). Vitamin B-6, B-12, and folic acid supplementation and cognitive function - A systematic review of randomized trials. *Archives of Internal Medicine* **167**(1), 21-30.
- Barberger-Gateau, P., Delcourt, C., and Berr, C. (2006). Peroxydation lipidique et vieillissement cérébral : apport des études épidémiologiques. OCL : Oléagineux Corps Gras Lipides **13**(1), 54-58.
- Barberger-Gateau, P., Raffaitin, C., Letenneur, L., Berr, C., Tzourio, C., Dartigues, J. F., and Alperovitch, A. (2007). Dietary patterns and risk of dementia: the Three-City cohort study. *Neurology* **69**(20), 1921.
- Berr, C., Balansard, B., Arnaud, J., Roussel, A. M., and Alperovitch, A. (2000). Cognitive decline is associated with systemic oxidative stress: the EVA study. *Etude du Vieillissement Arteriel. Journal of the American Geriatrics Society* **48**(10), 1285-1291.
- Biessels, G. J., Staekenborg, S., Brunner, E., Brayne, C., and Scheltens, P. (2006). Risk of dementia in diabetes mellitus: a systematic review. *Lancet neurology* **5**(1), 64-74.
- Blank, L., Grimsley, M., Goyder, E., Ellis, E., and Peters, J. (2007). Community-based lifestyle interventions: changing behaviour and improving health. *Journal of public health* **29**(3), 236-245.
- Blennow, K., de Leon, M. J., and Zetterberg, H. (2006). Alzheimer's disease. *Lancet* **368**(9533), 387-403.
- Bourre, J. M. (2005). Dietary Omega-3 fatty acids and psychiatry: mood, behaviour, stress, depression, dementia and aging. *Journal of nutrition, health & aging* **9**(1), 31-38.
- Casserly, I., and Topol, E. (2004). Convergence of atherosclerosis and Alzheimer's disease: inflammation, cholesterol, and misfolded proteins. *Lancet* **363**(9415), 1139-1146.
- Chandra, R. K. (2001). Effect of vitamin and trace-element supplementation on cognitive function in elderly subjects. *Nutrition* **17**(9), 709-712.
- Chauhan, N. B. (2005). Multiplicity of garlic health effects and Alzheimer's disease. *Journal of nutrition, health & aging* **9**(6), 421-432.
- Commenges, D., Scotet, V., Renaud, S., Jacqmin-Gadda, H., Barberger-Gateau, P., and Dartigues, J.-F. (2000). Intake of flavonoids and risk of dementia. *European Journal of Epidemiology* **16**(4), 357-363.
- Coyle, J. T., and Puttfarcken, P. (1993). Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. *Science* **262**(5134), 689-695.
- Dai, Q., Borenstein, A. R., Wu, Y., Jackson, J. C., and Larson, E. B. (2006). Fruit and vegetable juices and Alzheimer's disease: the Kame Project. *The American Journal of Medicine* **119**(9), 751-759.
- de Lau, L. M., Koudstaal, P. J., Witteman, J. C., Hofman, A., and Breteler, M. M. (2006). Dietary folate, vitamin B12, and vitamin B6 and the risk of Parkinson disease. *Neurology* **67**(2), 315-318.

- den Heijer, T., Launer, L. J., de Groot, J. C., de Leeuw, F. E., Oudkerk, M., van Gijn, J., Hofman, A., and Breteler, M. M. (2001). Serum carotenoids and cerebral white matter lesions: the Rotterdam scan study. *Journal of the American Geriatrics Society* 49(5), 642-646.
- Durga, J., van Boxtel, M. P., Schouten, E. G., Kok, F. J., Jolles, J., Katan, M. B., and Verhoef, P. (2007). Effect of 3-year folic acid supplementation on cognitive function in older adults in the FACIT trial: a randomised, double blind, controlled trial. *Lancet* 369(9557), 208-216.
- Engelhart, M. J., Geerlings, M. I., Ruitenberg, A., vanSwieten, J. C., Holman, A., Witteman, J. C. M., and Breteler, M. M. B. (2002). Dietary intake of antioxidants and risk of Alzheimer disease. *Jama - Journal of the American Medical Association* 287(24), 3223-3229.
- Etminan, M., Gill, S. S., and Samii, A. (2005). Intake of vitamin E, vitamin C, and carotenoids and the risk of Parkinson's disease: a meta-analysis. *Lancet Neurology* 4(6), 362-365.
- Fahn, S., and Sulzer, D. (2004). Neurodegeneration and neuroprotection in Parkinson disease. *NeuroRx* 1(1), 139-154.
- Floyd, R. A., and Hensley, K. (2002). Oxidative stress in brain aging. Implications for therapeutics of neurodegenerative diseases. *Neurobiology of Aging* 23(5), 795-807.
- Golbe, L. I., Farrell, T. M., and Davis, P. H. (1988). Case-control study of early life dietary factors in Parkinson's disease. *Archives of Neurology* 45(12), 1350-1353.
- Grodstein, F., Chen, J., and Willett, W. C. (2003). High-dose antioxidant supplements and cognitive function in community-dwelling elderly women. *American Journal of Clinical Nutrition* 77(4), 975-984.
- Helmer, C., Peuchant, E., Letenneur, L., Bourdel-Marchasson, I., Larrieu, S., Dartigues, J. F., Dubourg, L., Thomas, M. J., and Barberger-Gateau, P. (2003). Association between antioxidant nutritional indicators and the incidence of dementia: results from the PAQUID prospective cohort study. *European Journal of Clinical Nutrition* 57(12), 1555-1561.
- Honig, L. S., Tang, M. X., Albert, S., Costa, R., Luchsinger, J., Manly, J., Stern, Y., and Mayeux, R. (2003). Stroke and the risk of Alzheimer disease. *Archives of Neurology* 60(12), 1707-1712.
- Hu, P., Bretsky, P., Crimmins, E. M., Guralnik, J. M., Reuben, D. B., and Seeman, T. E. (2006). Association between serum beta-carotene levels and decline of cognitive function in high-functioning older persons with or without apolipoprotein E 4 alleles: MacArthur studies of successful aging. *Journals of gerontology. Series A, Biological sciences and medical sciences* 61(6), 616-620.
- Joseph, J. A., Shukitt-Hale, B., and Casadesus, G. (2005). Reversing the deleterious effects of aging on neuronal communication and behavior: beneficial properties of fruit polyphenolic compounds. *American Journal of Clinical Nutrition* 81(1), 313S-316S.
- Kang, J. H., Ascherio, A., and Grodstein, F. (2005). Fruit and vegetable consumption and cognitive decline in aging women. *Annals of Neurology* 57(5), 713-720.
- Kang, J. H., Cook, N., Manson, J., Buring, J. E., and Grodstein, F. (2006). A randomized trial of vitamin E supplementation and cognitive function in women. *Archives of Internal Medicine* 166(22), 2462-2468.
- Kontush, A., Mann, U., Artl, S., Ujeyl, A., Luhrs, C., MullerThomsen, T., and Beisiegel, U. (2001). Influence of vitamin E and C supplementation on lipoprotein oxidation in patients with Alzheimer's disease. *Free radical biology & medicine* 31(3), 345-354.
- Lau, F. C., Shukitt-Hale, B., and Joseph, J. A. (2005). The beneficial effects of fruit polyphenols on brain aging. *Neurobiology of Aging* 26(1, Supplement 1), 128-132.
- Laurin, D., Foley, D. J., Masaki, K. H., White, L. R., and Launer, L. J. (2002). Vitamin E and C supplements and risk of dementia. *Jama - Journal of the American Medical Association* 288(18), 2266-2268.
- Laurin, D., Masaki, K. H., Foley, D. J., White, L. R., and Launer, L. J. (2004). Midlife dietary intake of antioxidants and risk of late-life incident dementia: The Honolulu-Asia Aging Study. *American journal of epidemiology* 159(10), 959-967.
- Letenneur, L., Proust-Lima, C., Le Gouge, A., Dartigues, J., and Barberger-Gateau, P. (2007). Flavonoid intake and cognitive decline over a 10-Year Period. *American journal of epidemiology* 165(12), 1364-1371.
- Lichtenstein, A. H., and Russell, R. M. (2005). Essential nutrients: Food or supplements? Where should the emphasis be? *Jama - Journal of the American Medical Association* 294(3), 351-358.
- Luchsinger, J. A., and Mayeux, R. (2004). Dietary factors and Alzheimer's disease. *Lancet neurology* 3(10), 579-587.
- Luchsinger, J. A., Tang, M. X., Shea, S., and Mayeux, R. (2003). Antioxidant vitamin intake and risk of Alzheimer disease. *Archives of Neurology* 60(2), 203-208.
- Markesbery, W. R., Kryscio, R. J., Lovell, M. A., and Morrow, J. D. (2005). Lipid peroxidation is an early event in the brain in amnesic mild cognitive impairment. *Annals of Neurology* 58(5), 730-735.
- Meguid, M. M. (2005). Retraction. *Nutrition* 21(2), 286.
- Montine, T. J., Neely, M. D., Quinn, J. F., Beal, M. F., Markesbery, W. R., Roberts, L. J., and Morrow, J. D. (2002). Lipid peroxidation in aging brain and Alzheimer's disease. *Free radical biology & medicine* 33(5), 620-626.

- Morris, M. C., Beckett, L. A., Scherr, P. A., Hebert, L. E., Bennett, D. A., Field, T. S., and Evans, D. A. (1998). Vitamin E and vitamin C supplement use and risk of incident Alzheimer disease. *Alzheimer disease and associated disorders* 12(3), 121-126.
- Morris, M. C., Evans, D. A., Bienias, J. L., Tangney, C. C., Bennett, D. A., Aggarwal, N., Wilson, R. S., and Scherr, P. A. (2002). Dietary intake of antioxidant nutrients and the risk of incident Alzheimer disease on a biracial community study. *Jama - Journal of the American Medical Association* 287(24), 3230-3237.
- Morris, M. C., Evans, D. A., Bienias, J. L., Tangney, C. C., and Wilson, R. S. (2002). Vitamin E and cognitive decline in older persons. *Archives of Neurology* 59(7), 1125-1132.
- Morris, M. C., Evans, D. A., Tangney, C. C., Bienias, J. L., and Wilson, R. S. (2006). Associations of vegetable and fruit consumption with age-related cognitive change. *Neurology* 67(8), 1370-1376.
- Myint, P. K., Welch, A. A., Bingham, S. A., Surtees, P. G., Wainwright, N. W., Luben, R. N., Wareham, N. J., Smith, R. D., Harvey, I. M., Day, N. E., and Khaw, K. T. (2007). Fruit and vegetable consumption and self-reported functional health in men and women in the European Prospective Investigation into Cancer-Norfolk (EPIC-Norfolk): a population-based cross-sectional study. *Public Health Nutrition* 10(1), 34-41.
- Office parlementaire d'évaluation des politiques de santé (2005). Rapport sur la maladie d'Alzheimer et les maladies apparentées.
- Petersen, R. C. (2004). Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. *Journal of internal medicine* 256(3), 183-194.
- Petersen, R. C., Thomas, R. G., Grundman, M., Bennett, D., Doody, R., Ferris, S., Galasko, D., Jin, S., Kaye, J., Levey, A., Pfeiffer, E., Sano, M., van Dyck, C. H., and Thal, L. J. (2005). Vitamin E and donepezil for the treatment of mild cognitive impairment. *New England Journal of Medicine* 352(23), 2379-2388.
- Polidori, M. C., Mattioli, P., Aldred, S., Cecchetti, R., Stahl, W., Griffiths, H., Senin, U., Sies, H., and Mecocci, P. (2004). Plasma antioxidant status, immunoglobulin g oxidation and lipid peroxidation in demented patients: relevance to Alzheimer disease and vascular dementia. *Dementia and geriatric cognitive disorders* 18(3-4), 265-270.
- Reynolds, E. (2006). Vitamin B12, folic acid, and the nervous system. *Lancet neurology* 5(11), 949-960.
- Rinaldi, P., Polidori, M. C., Metastasio, A., Mariani, E., Mattioli, R., Cherubini, A., Catani, M., Cecchetti, R., Senin, U., and Mecocci, P. (2003). Plasma antioxidants are similarly depleted in mild cognitive impairment and in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging* 24(7), 915-919.
- Saxton, J. M., Daley, A., Woodroffe, N., Coleman, R., Powers, H., Mutrie, N., Siddall, V., and Crank, H. (2006). Study protocol to investigate the effect of a lifestyle intervention on body weight, psychological health status and risk factors associated with disease recurrence in women recovering from breast cancer treatment [ISRCTN08045231]. *BMC Cancer* 6, 35.
- Scarmeas, N., Stern, Y., Tang, M. X., Mayeux, R., and Luchsinger, J. A. (2006). Mediterranean diet and risk for Alzheimer's disease. *Annals of Neurology* 59(6), 912-921.
- Scheider, W. L., Hershey, L. A., Vena, J. E., Holmlund, T., Marshall, J. R., and Freudenheim (1997). Dietary antioxidants and other dietary factors in the etiology of Parkinson's disease. *Movement disorders* 12(2), 190-196.
- Smith, A., Clark, R., Nutt, D., Haller, J., Hayward, S., and Perry, K. (1999). Anti-oxidant vitamins and mental performance of the elderly. *Human Psychopharmacology Clinical and Experimental* 14(7), 459-471.
- Steptoe, A., Perkins-Porras, L., Hilton, S., Rink, E., and Cappuccio, F. P. (2004). Quality of life and self-rated health in relation to changes in fruit and vegetable intake and in plasma vitamins C and E in a randomised trial of behavioural and nutritional education counselling. *British journal of nutrition* 92(1), 177-184.
- Taylor, M. J., Carney, S., Geddes, J., and Goodwin, G. (2003). Folate for depressive disorders. *Cochrane database of systematic reviews*(2), CD003390.
- Three-City Study Group (2003). Vascular factors and risk of dementia: design of the Three-City Study and baseline characteristics of the study population. *Neuroepidemiology* 22(6), 316-325.
- Tolmunen, T., Voutilainen, S., Hintikka, J., Rissanen, T., Tanskanen, A., Viinamaki, H., Kaplan, G. A., and Salonen, J. T. (2003). Dietary folate and depressive symptoms are associated in middle-aged Finnish men. *Journal of Nutrition* 133(10), 3233-3236.
- Whitmer, R. A., Gunderson, E. P., Barrett-Connor, E., Quesenberry, C. P., Jr, and Yaffe, K. (2005). Obesity in middle age and future risk of dementia: a 27 year longitudinal population based study. *BMJ* 330(7504), 1360.
- Woo, J., Lynn, H., Lau, W. Y., Leung, J., Lau, E., Wong, S. Y. S., and Kwok, T. (2006). Nutrient intake and psychological health in an elderly Chinese population. *International Journal of Geriatric Psychiatry* 21(11), 1036-1043.
- Youdim, K. A., and Joseph, J. A. (2001). A possible emerging role of phytochemicals in improving age-related neurological dysfunctions: A multiplicity of effects. *Free radical biology & medicine* 30(6), 583-594.

- Zandi, P. P., Anthony, J. C., Khachaturian, A. S., Stone, S. V., Gustafson, D., Tschanz, J. T., Norton, M. C., Welsh Bohmer, K. A., and Breitner, J. C. S. (2004). Reduced risk of Alzheimer disease in users of antioxidant vitamin supplements - The Cache County Study. *Archives of Neurology* 61(1), 82-88.
- Zhang, S. M., Hernan, M. A., Chen, H., Spiegelman, D., Willett, W. C., and Ascherio, A. (2002). Intakes of vitamins E and C, carotenoids, vitamin supplements, and PD risk. *Neurology* 59(8), 1161-1169.

## Maladies oculaires

- (1993). Antioxidant status and neovascular age-related macular degeneration. Eye Disease Case-Control Study Group. *Archives of ophthalmology* 111(1), 104-9.
- Areds (2001). A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E and beta carotene for age-related cataract and vision loss: AREDS report no. 9. *Archives of ophthalmology* 119(10), 1439-1452.
- Areds (2001). A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E, beta carotene, and zinc for age-related macular degeneration and vision loss: AREDS report no. 8. *Archives of ophthalmology* 119(10), 1417-1436.
- Asbell, P. A., Dualan, I., Mindel, J., Brocks, D., Ahmad, M., and Epstein, S. (2005). Age-related cataract. *Lancet* 365(9459), 599-609.
- Asbell, P. A., Dualan, L., Mindel, J., Brocks, D., Ahmad, M., and Epstein, S. (2005). Age-related cataract. *Lancet* 365(9459), 599-609.
- Babizhayev, M. A. (1996). Failure to withstand oxidative stress induced by phospholipid hydroperoxides as a possible cause of the lens opacities in systemic diseases and ageing. *Biochimica et biophysica acta* 1315, 87-99.
- Baubeau, D., Bousquet, F., and Joubert, M. (2001). Le traitement chirurgical de la cataracte en France : un développement encore limité de la chirurgie ambulatoire. *Dress: étude et résultat* 101, 8p.
- Baubeau, D., Bousquet, F., and Joubert, M. (2001). Le traitement chirurgical de la cataracte en France. Un développement encore limité de la chirurgie ambulatoire. *Ministère de l'Emploi et de la Solidarité* 101.
- Beatty, S., Koh, H., Phil, M., Henson, D., and Boulton, M. (2000). The role of oxidative stress in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Survey of ophthalmology* 45(2), 115-134.
- Beatty, S., Murray, I. J., Henson, D. B., Carden, D., Koh, H., and Boulton, M. E. (2001). Macular pigment and risk for age-related macular degeneration in subjects from a Northern European population. *Investigative ophthalmology & visual science* 42(2), 439-446.
- Bernstein, P. S., Khachik, F., Carvalho, L. S., Muir, G. J., Zhao, D. Y., and Katz, N. B. (2001). Identification and quantitation of carotenoids and their metabolites in the tissues of the human eye. *Experimental eye research* 72(3), 215-223.
- Bernstein, P. S., Zhao, D. Y., Wintch, S. W., Ermakov, I. V., McClane, R. W., and Gellermann, W. (2002). Resonance Raman measurement of macular carotenoids in normal subjects and in age-related macular degeneration patients. *Ophthalmology*. 109(10), 1780-1787.
- Bone, R. A., Landrum, J. T., Mayne, S. T., Gomez, C. M., Tibor, S. E., and Twaroska, E. E. (2001). Macular pigment in donor eyes with and without AMD: a case-control study. *Investigative ophthalmology & visual science* 42(1), 235-240.
- Boscia, F., Grattagliano, I., Vendemiale, G., Micelli Ferrari, T., and Altomare, E. (2000). Protein oxidation and lens opacity in humans. *Investigative ophthalmology & visual science* 41(9), 2461-2465.
- Brown, L., Rimm, E. B., Seddon, J. M., Giovannucci, E. L., Chasan Taber, L., Spiegelman, D., Willett, W. C., and Hankinson, S. E. (1999). A prospective study of carotenoid intake and risk of cataract extraction in US men see comments. *American Journal of Clinical Nutrition* 70(4), 517-524.
- Brown, L., Rimm, E. B., Seddon, J. M., Giovannucci, E. L., Chasan-Taber, L., Spiegelman, D., Willett, W. C., and Hankinson, S. E. (1999). A prospective study of carotenoid intake and risk of cataract extraction in US men. *American Journal of Clinical Nutrition* 70(4), 517-524.
- Chasan Taber, L., Willett, W. C., Seddon, J. M., Stampfer, M. J., Rosner, B., Colditz, G. A., Speizer, F. E., and Hankinson, S. E. (1999). A prospective study of carotenoid and vitamin A intakes and risk of cataract extraction in US women see comments. *American Journal of Clinical Nutrition* 70(4), 509-516.
- Chasan-Taber, L., Willett, W. C., Seddon, J. M., Stampfer, M. J., Rosner, B., Colditz, G. A., Speizer, F. E., and Hankinson, S. E. (1999). A prospective study of carotenoid and vitamin A intakes and risk of cataract extraction in US women. *American Journal of Clinical Nutrition* 70(4), 509-516.
- Cho, E., Seddon, J. M., Rosner, B., Willett, W. C., and Hankinson, S. E. (2004). Prospective study of intake of fruits, vegetables, vitamins, and carotenoids and risk of age-related maculopathy. *Archives of ophthalmology* 122(6), 883-892.

- Chong, E. W., Wong, T. Y., Kreis, A. J., Simpson, J. A., and Guymer, R. H. (2007). Dietary antioxidants and primary prevention of age related macular degeneration: systematic review and meta-analysis. *Bmj* 335(7623), 755.
- Christen, W. G., Manson, J. E., Glynn, R. J., Gaziano, J. M., Sperduto, R. D., Buring, J. E., and Hennekens, C. H. (2003). A randomized trial of beta carotene and age-related cataract in US physicians. *Archives of ophthalmology* 121(3), 372-378.
- Chylack Lt, J. R., Brown, N. P., Bron, A., Hurst, M., Kopcke, W., Thien, U., and Schalch, W. (2002). The Roche European American Cataract Trial (REACT): a randomized clinical trial to investigate the efficacy of an oral antioxidant micronutrient mixture to slow progression of age-related cataract. *Ophthalmic epidemiology* 9(1), 49-80.
- Cumming, R. G., Mitchell, P., and Smith, W. (2000). Diet and cataract: the Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology* 107(3), 450-456.
- Cumming, R. G., Mitchell, P., and Smith, W. (2000). Dietary sodium intake and cataract: The Blue Mountains Eye Study. *American Journal of Epidemiology* 151(6), 624-626.
- Delcourt, C. (2007). Application of nutrigenomics in eye health. *Forum of nutrition* 60, 168-75.
- Delcourt, C. (2007). Epidémiologie de la DMLA dans la population française. In *Les DMLAs (9ème édition). Rapport de la Société Française d'Ophtalmologie* (G. Soubrane, G. Coscas, and E. H. Souied, Eds.), pp. 108-110: 108-110. Masson, Paris.
- Delcourt, C., Carriere, I., Delage, M., Barberger-Gateau, P., and Schalch, W. (2006). Plasma lutein and zeaxanthin and other carotenoids as modifiable risk factors for age-related maculopathy and cataract: the POLA Study. *Investigative ophthalmology & visual science* 47(6), 2329-35.
- Delcourt, C., Cristol, J. P., Tessier, F., Leger, C. L., Descomps, B., and Papoz, L. (1999). Age-related macular degeneration and antioxidant status in the POLA study. POLA Study Group. *Pathologies Oculaires Liees a l'Age. Archives of ophthalmology* 117(10), 1384-90.
- Eye Disease Case-control Study, G. (1993). Antioxidant status and neovascular age-related macular degeneration. published errata appear in *Arch Ophthalmol* 1993 Sep;111(9):1228, 1993 Oct;111(10):1366 and 1993 Nov;111(11):1499. *Archives of ophthalmology* 111(1), 104-109.
- Flood, V., Smith, W., Wang, J. J., Manzi, F., Webb, K., and Mitchell, P. (2002). Dietary antioxidant intake and incidence of early age-related maculopathy - The Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology* 109(12), 2272-2278.
- Flood, V., Smith, W., Wang, J. J., Manzi, F., Webb, K., and Mitchell, P. (2002). Dietary antioxidant intake and incidence of early age-related maculopathy: the Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology* 109(12), 2272-2278.
- Gale, C. R., Hall, N. F., Phillips, D. I., and Martyn, C. N. (2001). Plasma antioxidant vitamins and carotenoids and age-related cataract. *Ophthalmology* 108(11), 1992-1998.
- Gale, C. R., Hall, N. F., Phillips, D. I., and Martyn, C. N. (2003). Lutein and zeaxanthin status and risk of age-related macular degeneration. *Investigative ophthalmology & visual science* 44(6), 2461-2465.
- Gritz, D. C., Srinivasan, M., Smith, S. D., Kim, U., Lietman, T. M., Wilkins, J. H., Priyadarshini, B., John, R. K., Aravind, S., Prajna, N. V., Duraisami Thulasiraj, R., and Whitcher, J. P. (2006). The Antioxidants in Prevention of Cataracts Study: effects of antioxidant supplements on cataract progression in South India. *British journal of ophthalmology* 90(7), 847-51.
- Haddad, S., Chen, C. A., Santangelo, S. L., and Seddon, J. M. (2006). The genetics of age-related macular degeneration: a review of progress to date. *Survey of ophthalmology* 51(4), 316-63.
- Hankinson, S. E., Stampfer, M. J., Seddon, J. M., Colditz, G. A., Rosner, B., Speizer, F. E., and Willett, W. C. (1992). Nutrient intake and cataract extraction in women: a prospective study. *Bmj* 305(6849), 335-339.
- Jacques, P. F., Chylack, L. T., Hankinson, S. E., Khu, P. M., Rogers, G., Friend, J., Tung, W., Wolfe, J. K., Padhye, N., Willett, W. C., and Taylor, A. (2001). Long-term nutrient intake and early age-related nuclear lens opacities. *Archives of Ophthalmology* 119(7), 1009-1019.
- Jacques, P. F., Chylack Lt, J. R., Hankinson, S. E., Khu, P. M., Rogers, G., Friend, J., Tung, W., Wolfe, J. K., Padhye, N., Willett, W. C., and Taylor, A. (2001). Long-term nutrient intake and early age-related nuclear lens opacities. *Archives of ophthalmology* 119(7), 1009-1019.
- Jacques, P. F., Taylor, A., Moeller, S., Hankinson, S. E., Rogers, G., Tung, W., Ludovico, J., Willett, W. C., and Chylack, L. T. (2005). Long-term nutrient intake and 5-year change in nuclear lens opacities. *Archives of Ophthalmology* 123(4), 517-526.
- Jacques, P. F., Taylor, A., Moeller, S., Hankinson, S. E., Rogers, G., Tung, W., Ludovico, J., Willett, W. C., and Chylack Lt, J. R. (2005). Long-term nutrient intake and 5-year change in nuclear lens opacities. *Archives of ophthalmology* 123(4), 517-526.
- Kassoff, A., Kassoff, J., Buehler, J., Eglow, M., Kaufman, F., Mehu, M., Kieval, S., Mairs, M., Graig, B., Quattrocchi, A., Jones, D., Locatelli, J., Ruby, A., Capone, A., Garretson, B., Hassan, T., Trese, M. T., Williams, G. A., Regan, V., Manatrey, P., Streasick, P., Szydlowski, L., McIver, F., Bridges, C., Stanely, C., Cumming, K., Lewis, B., Zajechowski, M., Margherio, R. R., Cox, M. S., Werner, J. C., Falk, R.,

- Siedlak, P., Neubert, C., Klein, M. L., Stout, J. T., O'Malley, A., Lauer, A. K., Robertson, J. E., Wilson, D. J., Beardsley, C., Anderson, H., Wallace, P., Smith, G., Howard, S., Dreyer, R. F., Ma, C., Chenoweth, R. G., Zilis, J. D., Johnson, M., Rice, P., Daniel, H., Crider, H., Parker, S., Sherman, K., Martin, D. F., Aaberg, T. M., Sternberg, P., Curtis, L. T., Ju, B., Gilman, J., Myles, B., Strittman, S., Gentry, C., Yi, H., Lambert, M., Meredith, T., Saperstein, D., Lim, J. I., Stribling, B., Armiger, D., Swords, R., Orth, D. H., Flood, T. P., Civantos, J., deBustros, S., Packo, K. H., Merrill, P. T., Cohen, J. A., Figliulo, C., Morrison, C., Bryant, D. A., Doherty, D., McVicker, M., Drefcinski, T., Seddon, J. M., Pinnolis, M. K., Davis, N., Burton, I., Taitzel, T., Walsh, D., Snow, K. K., Jones-Devonish, D. A., Crouse, V. D., Rosenberg, J., Chew, E. Y., Csaky, K., Ferris, F. L., Shimel, K. H., Woods, M. A., Kuehl, E. M., Ciatto, P. F., Palmer, M., Babilonia-Ayukawa, G., Foster, G. E., Goodman, L., Kim, Y. J., Kivitz, I. J., Koutsandreas, D., LaReau, A., Mercer, R. F., Nashwinter, R., McCarthy, S. A., Ayres, L. M., Lopez, P., Randalls, A., Friberg, T. R., Eller, A. W., Gorin, M. B., Nixon, S., Mack, B., Curtin, D. Y., Ostroska, P. P., Fijewski, E., Alexander, J., Paine, M. K., Corbin, P. S., Warnicki, J., Bressler, S. B., Bressler, N. M., Cassel, G., Finkelstein, D., Goldberg, M., Haller, J. A., Ratner, L., Schachat, A. P., Sherman, S. H., Sunness, J. S., Schenning, S., Sackett, C., Cain, D., Emmert, D., Herring, M., McDonald, J., Wheeler, S., McMillan, M., George, T., Elman, M. J., Ballinger, R., Betancourt, A., Glasser, D., Herr, M., Hirsh, D., Kilingsworth, D., Kohlhepp, P., Lammlein, J., Raden, R. Z., Seff, R., Shuman, M., Starr, J., Carrigan, A., Sotirakos, P., Cain, T., Mathews, T., Ringrose, C., Chandra, S. R., Gottlieb, J. L., Ip, M. S., Klein, R., Nork, T. M., Stevens, T. S., Blodi, B. A., Altaweel, M., Klein, B. E. K., Olson, M., Soderling, B., Blatz, M., Perry-Raymond, J. R., Burke, K., Knutson, G., Peterson, J., Krolnik, D., Harrison, R., Somers, G., Myers, F. L., Wallow, I., Olsen, T. W., Bresnik, G., De Venecia, G., Perkins, T., Walker, W., Miller, J. L., Neider, M., Wabers, H. D., Weber, G., Myers, H. E. L., Davis, M. D., Hubbard, L., Magli, Y. L., Ansay, S., Armstrong, J., Lang, K., Badal, D., Geithman, P. L., Miner, K. D., Dohm, K. L., Esser, B., Hurtenbach, C., Craanen, S., Webster, M., Elledge, J., Reed, S., Benz, W., Reimers, J., Fisher, M. R., Gangnon, R., King, W., Gai, C. Y., Baliker, J., Carr, A., Osterby, K., Kastorff, L., Robinson, N., Onofrey, J., Glander, K. E., Brickbauer, J., Miller, D., Sowell, A., Gunter, E., Bowman, B., Lindblad, A. S., Milton, R. C., Clemons, T. E., Ederer, F., Gensler, G., Henning, A., Entler, G., McBee, W., Roberts, K., Stine, E., Berlin, S. H., Tomlin, K., Pallas, S., Scholl, P. R., Mengers, S. A., Anand, R., Sperduto, R. D., and Kurinij, N. (2001). A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E and beta carotene for age-related cataract and vision loss - AREDS Report No. 9. *Archives of Ophthalmology* 119(10), 1439-1452.
- Korobelnik, J. F., Moore, N., Blin, P., Dharmani, C., and Berdeaux, G. (2006). Estimating the yearly number of eyes with treatable neovascular age-related macular degeneration using a direct standardization method and a markov model. *Investigative ophthalmology & visual science* 47(10), 4270-6.
- Leske, M. C., Chylack Lt, J. R., and Wu, S. Y. (1991). The Lens Opacities Case-Control Study. Risk factors for cataract see comments. *Archives of ophthalmology* 109(2), 244-251.
- Lyle, B. J., Maresperlman, J. A., Klein, B. E. K., Klein, R., and Greger, J. L. (1999). Antioxidant intake and risk of incident age-related nuclear cataracts in the Beaver Dam Eye Study. *American journal of epidemiology* 149(9), 801-809.
- Lyle, B. J., Mares-Perlman, J. A., Klein, B. E. K., Klein, R., and Greger, J. L. (1999). Antioxidant intake and risk of incident age-related nuclear cataracts in the Beaver Dam Eye Study. *American Journal of Epidemiology* 149(9), 801-809.
- Lyle, B. J., Maresperlman, J. A., Klein, B. E. K., Klein, R., Palta, M., Bowen, P. E., and Greger, J. L. (1999). Serum carotenoids and tocopherols and incidence of age-related nuclear cataract. *American Journal of Clinical Nutrition* 69(2), 272-277.
- Mares Perlman, J. A., Brady, W. E., Klein, B. E., Klein, R., Haus, G. J., Palta, M., Ritter, L. L., and Shoff, S. M. (1995). Diet and nuclear lens opacities. *American journal of epidemiology* 141(4), 322-334.
- Mares Perlman, J. A., Brady, W. E., Klein, B. E., Klein, R., Palta, M., Bowen, P., and Stacewicz Sapuntzakis, M. (1995). Serum carotenoids and tocopherols and severity of nuclear and cortical opacities. *Investigative ophthalmology & visual science* 36(2), 276-288.
- Mares Perlman, J. A., Brady, W. E., Klein, R., Klein, B. E., Bowen, P., Stacewicz Sapuntzakis, M., and Palta, M. (1995). Serum antioxidants and age-related macular degeneration in a population-based case-control study. *Archives of ophthalmology* 113(12), 1518-1523.
- Mares Perlman, J. A., Fisher, A. I., Klein, R., Palta, M., Block, G., Millen, A. E., and Wright, J. D. (2001). Lutein and zeaxanthin in the diet and serum and their relation to age-related maculopathy in the third national health and nutrition examination survey. *American journal of epidemiology* 153(5), 424-432.
- Mares Perlman, J. A., Klein, R., Klein, B. E., Greger, J. L., Brady, W. E., Palta, M., and Ritter, L. L. (1996). Association of zinc and antioxidant nutrients with age-related maculopathy. *Archives of ophthalmology* 114(8), 991-997.
- Maresperlman, J. A., Brady, W. E., Klein, R., Vandenlangenberg, G. M., Klein, B. E. K., and Palta, M. (1995). Dietary-Fat and Age-Related Maculopathy. *Archives of Ophthalmology* 113(6), 743-748.
- McNeil, J. J., Robman, L., Tikellis, G., Sinclair, M. I., McCarty, C. A., and Taylor, H. R. (2004). Vitamin E supplementation and cataract: randomized controlled trial. *Ophthalmology* 111(1), 75-84.

- Resnikoff, S., Pascolini, D., Etya'ale, D., Kocur, I., Pararajasegaram, R., Pokharel, G. P., and Mariotti, S. P. (2004). Global data on visual impairment in the year 2002. *Bulletin of the World Health Organization* 82(11), 844-51.
- Richer, S., Stiles, W., Statkute, L., Pulido, J., Frankowski, J., Rudy, D., Pei, K., Tshipursky, M., and Nyland, J. (2004). Double-masked, placebo-controlled, randomized trial of lutein and antioxidant supplementation in the intervention of atrophic age-related macular degeneration: the Veterans LAST study (Lutein Antioxidant Supplementation Trial). *Optometry* 75(4), 216-230.
- SanGiovanni, J. P., Chew, E. Y., Clemons, T. E., Ferris, F. L., 3rd, Gensler, G., Lindblad, A. S., Milton, R. C., Seddon, J. M., and Sperduto, R. D. (2007). The relationship of dietary carotenoid and vitamin A, E, and C intake with age-related macular degeneration in a case-control study: AREDS Report No. 22. *Archives of ophthalmology* 125(9), 1225-32.
- Seddon, J. M., Ajani, U. A., Sperduto, R. D., Hiller, R., Blair, N., Burton, T. C., Farber, M. D., Gragoudas, E. S., Haller, J., Miller, D. T., and Et, A. L. (1994). Dietary carotenoids, vitamins A, C, and E, and advanced age-related macular degeneration. *Eye Disease Case-Control Study Group* see comments published erratum appears in *JAMA* 1995 Feb 22;273(8):622. *Jama* 272(18), 1413-1420.
- Seddon, J. M., Ajani, U. A., Sperduto, R. D., Hiller, R., Blair, N., Burton, T. C., Farber, M. D., Gragoudas, E. S., Haller, J., Miller, D. T., Yannuzzi, L. A., and Willett, W. (1994). Dietary Carotenoids, Vitamin-a, Vitamin-C, and Vitamin-E, and Advanced Age-Related Macular Degeneration. *Jama-Journal of the American Medical Association* 272(18), 1413-1420.
- Smith, W., Mitchell, P., Webb, K., and Leeder, S. R. (1999). Dietary antioxidants and age-related maculopathy - The Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology* 106(4), 761-767.
- Snellen, E. L., Verbeek, A. L., Van Den Hoogen, G. W., Cruysberg, J. R., and Hoyng, C. B. (2002). Neovascular age-related macular degeneration and its relationship to antioxidant intake. *Acta ophthalmologica Scandinavica* 80(4), 368-371.
- Snellen, E. L. M., Verbeek, A. L. M., van den Hoogen, G. W. P., Cruysberg, J. R. M., and Hoyng, C. B. (2002). Neovascular age-related macular degeneration and its relationship to antioxidant intake. *Acta Ophthalmologica Scandinavica* 80(4), 368-371.
- Spector, A. (1995). Oxidative stress-induced cataract: mechanism of action. *FASEB journal* 9(12), 1173-1182.
- Tan, J. S., Wang, J. J., Flood, V., Rochtchina, E., Smith, W., and Mitchell, P. (2007). Dietary Antioxidants and the Long-term Incidence of Age-Related Macular Degeneration The Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology*.
- Tavani, A., Negri, E., and La Vecchia, C. (1996). Food and nutrient intake and risk of cataract. *American journal of epidemiology* 6(1), 41-46.
- Tavani, A., Negri, E., and LaVecchia, C. (1996). Food and nutrient intake and risk of cataract. *Annals of Epidemiology* 6(1), 41-46.
- Taylor, A., and Hobbs, M. (2001). 2001 assessment of nutritional influences on risk for cataract. *Nutrition* 17(10), 845-857.
- Taylor, A., Jacques, P. F., Chylack, L. T., Hankinson, S. E., Khu, P. M., Rogers, G., Friend, J., Tung, W., Wolfe, J. K., Padhye, N., and Willett, L. C. (2002). Long-term intake of vitamins and carotenoids and odds of early age-related cortical and posterior subcapsular lens opacities. *American Journal of Clinical Nutrition* 75(3), 540-549.
- Taylor, A., Jacques, P. F., Chylack Lt, J. R., Hankinson, S. E., Khu, P. M., Rogers, G., Friend, J., Tung, W., Wolfe, J. K., Padhye, N., and Willett, W. C. (2002). Long-term intake of vitamins and carotenoids and odds of early age-related cortical and posterior subcapsular lens opacities. *American Journal of Clinical Nutrition* 75(3), 540-549.
- Taylor, H. R., Tikellis, G., Robman, L. D., McCarty, C. A., and McNeil, J. J. (2002). Vitamin E supplementation and macular degeneration: randomised controlled trial. *Bmj* 325(7354), 11.
- Teikari, J. M., Laatikainen, L., Virtamo, J., Haukka, J., Rautalahti, M., Liesto, K., Albanes, D., Taylor, P., and Heinonen, O. P. (1998). Six-year supplementation with alpha-tocopherol and beta-carotene and age-related maculopathy. *Acta ophthalmologica Scandinavica* 76(2), 224-229.
- Teikari, J. M., Virtamo, J., Rautalahti, M., Palmgren, J., Liesto, K., and Heinonen, O. P. (1997). Long-term supplementation with alpha-tocopherol and beta-carotene and age-related cataract. *Acta ophthalmologica Scandinavica* 75(6), 634-640.
- Thornton, J., Edwards, R., Mitchell, P., Harrison, R. A., Buchan, I., and Kelly, S. P. (2005). Smoking and age-related macular degeneration: a review of association. *Eye* 19(9), 935-944.
- Valero, M. P., Fletcher, A. E., De Stavola, B. L., Vioque, J., and Alepuz, V. C. (2002). Vitamin C is associated with reduced risk of cataract in a Mediterranean population. *Journal of nutrition* 132(6), 1299-1306.
- van Leeuwen, R., Boekhoorn, S., Vingerling, J. R., Witteman, J. C., Klaver, C. C., Hofman, A., and de Jong, P. T. (2005). Dietary intake of antioxidants and risk of age-related macular degeneration. *Jama* 294(24), 3101-7.

- VandenLangenberg, G. M., Maresperman, J. A., Klein, R., Klein, B. E. K., Brady, W. E., and Palta, M. (1998). Associations between antioxidant and zinc intake and the 5-year incidence of early age-related maculopathy in the Beaver Dam Eye Study. *American journal of epidemiology* 148(2), 204-214.
- VandenLangenberg, G. M., Mares-Perlman, J. A., Klein, R., Klein, B. E. K., Brady, W. E., and Palta, M. (1998). Associations between antioxidant and zinc intake and the 5-year incidence of early age-related maculopathy in the Beaver Dam Eye Study. *American Journal of Epidemiology* 148(2), 204-214.
- Vu, H. T., Robman, L., Hodge, A., McCarty, C. A., and Taylor, H. R. (2006). Lutein and zeaxanthin and the risk of cataract: the Melbourne visual impairment project. *Investigative ophthalmology & visual science* 47(9), 3783-6.
- West, S., Vitale, S., Hallfrisch, J., Munoz, B., Muller, D., Bressler, S., and Bressler, N. M. (1994). Are antioxidants or supplements protective for age-related macular degeneration? *Archives of ophthalmology* 112(2), 222-7.
- Whitehead, A. J., Mares, J. A., and Danis, R. P. (2006). Macular pigment: a review of current knowledge. *Archives of ophthalmology* 124(7), 1038-45.
- Yoshida, M., Takashima, Y., Inoue, M., Iwasaki, M., Otani, T., Sasaki, S., and Tsugane, S. (2007). Prospective study showing that dietary vitamin C reduced the risk of age-related cataracts in a middle-aged Japanese population. *European journal of nutrition*.

## Santé osseuse

- Bell, J. A., and Whiting, S. J. (2004). Effect of fruit on net acid and urinary calcium excretion in an acute feeding trial of women. *Nutrition* 20(5), 492-3.
- Chen, Y. M., Ho, S. C., and Woo, J. L. (2006). Greater fruit and vegetable intake is associated with increased bone mass among postmenopausal Chinese women. *British journal of nutrition* 96(4), 745-51.
- Jajoo, R., Song, L., Rasmussen, H., Harris, S. S., and Dawson-Hughes, B. (2006). Dietary acid-base balance, bone resorption, and calcium excretion. *Journal of the American College of Nutrition* 25(3), 224-30.
- Macdonald, H. M., New, S. A., Fraser, W. D., Campbell, M. K., and Reid, D. M. (2005). Low dietary potassium intakes and high dietary estimates of net endogenous acid production are associated with low bone mineral density in premenopausal women and increased markers of bone resorption in postmenopausal women. *American Journal of Clinical Nutrition* 81(4), 923-33.
- McGartland, C. P., Robson, P. J., Murray, L. J., Cran, G. W., Savage, M. J., Watkins, D. C., Rooney, M. M., and Boreham, C. A. (2004). Fruit and vegetable consumption and bone mineral density: the Northern Ireland Young Hearts Project. *American Journal of Clinical Nutrition* 80(4), 1019-23.
- Michaelsson, K., Holmberg, L., Mallmin, H., Sorensen, S., Wolk, A., Bergstrom, R., and Ljunghall, S. (1995). Diet and hip fracture risk: a case-control study. Study Group of the Multiple Risk Survey on Swedish Women for Eating Assessment. *International journal of epidemiology* 24(4), 771-782.
- Prynne, C. J., Ginty, F., Paul, A. A., Bolton-Smith, C., Stear, S. J., Jones, S. C., and Prentice, A. (2004). Dietary acid-base balance and intake of bone-related nutrients in Cambridge teenagers. *European Journal of Clinical Nutrition* 58(11), 1462-71.
- Prynne, C. J., Mishra, G. D., O'Connell, M. A., Muniz, G., Laskey, M. A., Yan, L., Prentice, A., and Ginty, F. (2006). Fruit and vegetable intakes and bone mineral status: a cross sectional study in 5 age and sex cohorts. *American Journal of Clinical Nutrition* 83(6), 1420-8.
- Rafferty, K., Davies, K. M., and Heaney, R. P. (2005). Potassium intake and the calcium economy. *Journal of the American College of Nutrition* 24(2), 99-106.
- Tylavsky, F. A., Holliday, K., Danish, R., Womack, C., Norwood, J., and Carbone, L. (2004). Fruit and vegetable intakes are an independent predictor of bone size in early pubertal children. *American Journal of Clinical Nutrition* 79(2), 311-317.
- Vatanparast, H., Baxter-Jones, A., Faulkner, R. A., Bailey, D. A., and Whiting, S. J. (2005). Positive effects of vegetable and fruit consumption and calcium intake on bone mineral accrual in boys during growth from childhood to adolescence: the University of Saskatchewan Pediatric Bone Mineral Accrual Study. *American Journal of Clinical Nutrition* 82(3), 700-6.
- Welch, A. A., Bingham, S. A., Reeve, J., and Khaw, K. (2007). More acidic dietary acid-base load is associated with reduced calcaneal broadband ultrasound attenuation in women but not in men: results from the EPIC-Norfolk cohort study. *American Journal of Clinical Nutrition* 85(4), 1134-1141.
- Zalloua, P. A., Hsu, Y. H., Terwedow, H., Zang, T., Wu, D., Tang, G., Li, Z., Hong, X., Azar, S. T., Wang, B., Bouxsein, M. L., Brain, J., Cummings, S. R., Rosen, C. J., and Xu, X. (2006). Impact of seafood and fruit consumption on bone mineral density. *Maturitas* 56, 1-11.

## Allergies

- Breiteneder, H., and Radauer, C. (2004). A classification of plant food allergens. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* **113**(5), 821-830.
- Deviller, P., and Pauli, G. (1997). Crossreactions involving plant allergens. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology* **15**(4), 405-413.
- Mills, E. N. C., Jenkins, J. A., Alcocer, M. J. C., and Shewry, P. R. (2004). Structural, biological, and evolutionary relationships of plant food allergens sensitizing via the gastrointestinal tract. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **44**(5), 379-407.
- Moneret-Vautrin, D. A. (2007). Choc anaphylactique par allergie alimentaire. In *Allergologie Pédiatrique* (P. Scheinmann, and J. de Blic, Eds.), pp. 261-264: 261-264. Flammarion Médecine Sciences.
- Radauer, C., and Breiteneder, H. (2007). Evolutionary biology of plant food allergens. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* **120**(3), 518-525.

## Troubles fonctionnels digestifs

- Aller, R., de Luis, D. A., Izaola, O., la Calle, F., del Olmo, L., Fernandez, L., Arranz, T., and Gonzalez Hernandez, J. M. (2004). Effects of a high-fiber diet on symptoms of irritable bowel syndrome: a randomized clinical trial. *Nutrition* **20**(9), 735-737.
- Aller, R., de Luis, D. A., Izaola, O., La Calle, F., del Olmo, L., Fernandez, L., Arranz, T., and Hernandez, J. M. (2004). Effect of soluble fiber intake in lipid and glucose levels in healthy subjects: a randomized clinical trial. *Diabetes research and clinical practice* **65**(1), 7-11.
- Bijkerk, C. J., de Wit, N. J., Muris, J. W., Jones, R. H., Knottnerus, J. A., and Hoes, A. W. (2003). Outcome measures in irritable bowel syndrome: comparison of psychometric and methodological characteristics. *American journal of gastroenterology* **98**(1), 122-127.
- Bijkerk, C. J., de Wit, N. J., Stalman, W. A., Knottnerus, J. A., Hoes, A. W., and Muris, J. W. (2003). Irritable bowel syndrome in primary care: the patients' and doctors' views on symptoms, etiology and management. *Canadian journal of gastroenterology* **17**(6), 363-368.
- Bijkerk, C. J., Muris, J. W., Knottnerus, J. A., Hoes, A. W., and de Wit, N. J. (2004). Systematic review: the role of different types of fibre in the treatment of irritable bowel syndrome. *Alimentary pharmacology & therapeutics* **19**(3), 245-251.
- Dapoigny, M., Stockbrugger, R. W., Azpiroz, F., Collins, S., Coremans, G., Muller-Lissner, S., Oberndorff, A., Pace, F., Smout, A., Vatn, M., and Whorwell, P. (2003). Role of alimentation in irritable bowel syndrome. *Digestion* **67**(4), 225-233.
- Mertz, H. R. (2003). Irritable bowel syndrome. *New England journal of medicine* **349**(22), 2136-2146.
- Miller, V., Lea, R., Agrawal, A., and Whorwell, P. J. (2006). Bran and irritable bowel syndrome: the primary-care perspective. *Digestive and liver disease* **38**(10), 737-740.
- Parisi, G. C., Zilli, M., Miani, M. P., Carrara, M., Bottona, E., Verdianelli, G., Battaglia, G., Desideri, S., Faedo, A., Marzolino, C., Tonon, A., Ermani, M., and Leandro, G. (2002). High-fiber diet supplementation in patients with irritable bowel syndrome (IBS): a multicenter, randomized, open trial comparison between wheat bran diet and partially hydrolyzed guar gum (PHGG). *Digestive diseases and sciences* **47**(8), 1697-1704.
- Tan, K. Y., and Seow-Choen, F. (2007). Fiber and colorectal diseases: separating fact from fiction. *World journal of gastroenterology* **13**(31), 4161-4167.

## Exposition aux pesticides

- (2006). Plan interministériel de réduction des risques liés aux pesticides 2006-2009  
[http://www.ecologie.gouv.fr/article.php3?id\\_article=6005](http://www.ecologie.gouv.fr/article.php3?id_article=6005) .
- Abou-Donia, M. B. (2003). Organophosphorus ester-induced chronic neurotoxicity. *Archives of environmental health* **58**(8), 484-497.
- Adgate, J. L., Barr, D. B., Clayton, C. A., Eberly, L. E., Freeman, N. C., Liroy, P. J., Needham, L. L., Pellizzari, E. D., Quackenboss, J. J., Roy, A., and Sexton, K. (2001). Measurement of children's exposure to pesticides: analysis of urinary metabolite levels in a probability-based sample. *Environmental health perspectives* **109**(6), 583-590.
- AFSSA (2005). Première évaluation de l'exposition alimentaire de la population martiniquaise au chlordécone. Propositions de limites maximales provisoires de contamination dans les principaux aliments vecteur. AFSSA <http://www.afssa.fr/ftp/afssa/31965-32028.pdf> .
- AFSSA, AFSSE, and IFEN (2004). Observatoire des résidus de pesticides. Etude de faisabilité. Rapport final du 30 juin 2004 <http://www.observatoire-pesticides.gouv.fr/index.php?pageid=373> .
- Angerer, J., Ewers, U., and Wilhelm, M. (2007). Human biomonitoring: State of the art. *International journal of hygiene and environmental health* **210**(3-4), 201-228.
- Aprea, C., Betta, A., Catenacci, G., Lotti, A., Magnaghi, S., Barisano, A., Passini, V., Pavan, I., Sciarra, G., Vitalone, V., and Minoia, C. (1999). Reference values of urinary 3,5,6-trichloro-2-pyridinol in the Italian

- population--validation of analytical method and preliminary results (multicentric study). *Journal of AOAC International* 82(2), 305-312.
- Aprea, C., Sciarra, G., Orsi, D., Boccalon, P., Sartorelli, P., and Sartorelli, E. (1996). Urinary excretion of alkylphosphates in the general population (Italy). *The Science of the total environment* 177(1-3), 37-41.
- Aprea, C., Strambi, M., Novelli, M. T., Lunghini, L., and Bozzi, N. (2000). Biologic monitoring of exposure to organophosphorus pesticides in 195 Italian children. *Environmental health perspectives* 108(6), 521-525.
- Balinova, A. M., Mladenova, R. I., and Shtereva, D. D. (2006). Effects of processing on pesticide residues in peaches intended for baby food. *Food additives and contaminants* 23(9), 895-901.
- Barr, D. B., and Angerer, J. (2006). Potential uses of biomonitoring data: a case study using the organophosphorus pesticides chlorpyrifos and malathion. *Environmental health perspectives* 114(11), 1763-1769.
- Barr, D. B., Bravo, R., Weerasekera, G., Caltabiano, L. M., Whitehead, R. D., Jr., Olsson, A. O., Caudill, S. P., Schober, S. E., Pirkle, J. L., Sampson, E. J., Jackson, R. J., and Needham, L. L. (2004). Concentrations of dialkyl phosphate metabolites of organophosphorus pesticides in the U.S. population. *Environmental health perspectives* 112(2), 186-200.
- Becker, K., Kaus, S., Krause, C., Lepom, P., Schulz, C., Seiwert, M., and Seifert, B. (2002). German Environmental Survey 1998 (GerES III): environmental pollutants in blood of the German population. *International journal of hygiene and environmental health* 205(4), 297-308.
- Becker, K., Seiwert, M., Angerer, J., Kolossa-Gehring, M., Hoppe, H. W., Ball, M., Schulz, C., Thumulla, J., and Seifert, B. (2006). GerES IV pilot study: assessment of the exposure of German children to organophosphorus and pyrethroid pesticides. *International journal of hygiene and environmental health* 209(3), 221-233.
- Boon, P., and van Klaveren, J. (2003). Cumulative exposure to acetylcholinesterase inhibiting compounds in the Dutch population and young children. Rikilt-Institute of Food Safety, Report 2003.003 25 p.
- Burchat, C. S., Ripley, B. D., Leishman, P. D., Ritcey, G. M., Kakuda, Y., and Stephenson, G. R. (1998). The distribution of nine pesticides between the juice and pulp of carrots and tomatoes after home processing. *Food additives and contaminants* 15(1), 61-71.
- CDC (2005). Third national report on human exposure to environmental chemicals. <http://www.cdc.gov/exposurereport/report.htm>.
- Chavarri, M., Herrera, A., and Arino, A. (2004). Pesticide residues in field-sprayed and processed fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84(10), 1253-1259.
- Chavarri, M., Herrera, A., and Arino, A. (2005). The decrease in pesticides in fruit and vegetables during commercial processing. *International Journal of Food Science and Technology* 40, 205-211.
- Christensen, H. B., Granby, K., and Rabolle, M. (2003). Processing factors and variability of pyrimethanil, fenhexamid and tolylfluanid in strawberries. *Food additives and contaminants* 20(8), 728-741.
- CPP (2002). Risques sanitaires liés à l'utilisation des produits phytosanitaires. Rapport 52 p.
- CREDOC, and OCA (1992). La consommation de pesticides dans les fruits et légumes en France en 1991, N° 127 135 p.
- CREDOC, and OCA (1994). La surveillance des résidus de pesticides dans les fruits et légumes-Détermination des priorités à partir des données de consommation en France en 1991, N° C002 33 p.
- CREDOC, and OCA (1996). Affinage des données de consommation de résidus de pesticides issus de fruits et légumes. In Etat d'avancement de la base de données de l'Observatoire des consommations alimentaires, N° C002.
- Curl, C. L., Fenske, R. A., and Elgethun, K. (2003). Organophosphorus pesticide exposure of urban and suburban preschool children with organic and conventional diets. *Environmental Health Perspectives* 111, 377-382.
- Ebrahim, S., Smith, G. D., McCabe, C., Payne, N., Pickin, M., Sheldon, T. A., Lampe, F., Sampson, F., Ward, S., and Wannamthee, G. (1998). Cholesterol and coronary heart disease: screening and treatment. *Quality in health care* : QHC 7(4), 232-239.
- EFSA, and PPR (2007). Statement of the Scientific panel on plant protection products and their residues on a request from the commission on acute dietary exposure assessment of pesticide residues in fruit and vegetables. Question number EFSA-Q-2006-114 (adopted 8 march 2007) [http://www.efsa.europa.eu/fr/science/ppr/ppr\\_statements/ppr\\_statement\\_iesti.html](http://www.efsa.europa.eu/fr/science/ppr/ppr_statements/ppr_statement_iesti.html).
- EPA (2000). Vinclozolin: Common mechanism of toxicity of dicarboximide fungicides. EPA, Washington.
- EPA Office of Pesticide Programs (OPP) (2001). The determination of whether dithiocarbamate pesticides share a common mechanism of toxicity. EPA, Washington <http://www.epa.gov/oppsrrd1/cumulative/dithiocarb.pdf>.
- European Commission (2006). Monitoring of pesticide residues in products of plant origin in the European Union, Norway, Iceland and Liechtenstein. 2004. Part I 39 p. [http://ec.europa.eu/food/fvo/specialreports/pesticide\\_residues/report\\_2004\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fvo/specialreports/pesticide_residues/report_2004_en.pdf).
- Eurostat (2002). The use of plant protection products in the European Union. Data 1992-1999. Theme 8. Environment and energy. Eurostat, Luxembourg.
- Even, I., Berta, J., and Volatier, J. (2002). Evaluation de l'exposition théorique des nourrissons et des enfants en bas âge aux résidus de pesticides apportés par les aliments courants et infantiles. AFSSA 116 p. <http://www.bdsp.tm.fr/FullText/Show.asp?Ref=304110>.
- Feinberg, M., Bertail, P., Tressou, J., and Verger, P. (2006). Analyse des risques alimentaires. 398 p. Lavoisier Tec & Doc, Paris.

- Heudorf, U., Angerer, J., and Drexler, H. (2004). Current internal exposure to pesticides in children and adolescents in Germany: urinary levels of metabolites of pyrethroid and organophosphorus insecticides. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 77(1), 67-72.
- Holland, P., Hamilton, D., Ohlin, B., and Skidmore, M. (1994). Effects of Storage and Processing on Pesticide-Residues in Plant-Products. *Pure and Applied Chemistry* 66(2), 335-356.
- IFEN (2006). Les pesticides dans les eaux : données 2003 et 2004, n°5 <http://www.ifen.fr/publications/dossiers/PDF/dossier05.pdf>.
- INRA, and Cemagref (2005). Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et en limiter les impacts environnementaux. [http://www.inra.fr/les\\_partenariats/expertise/expertises\\_realisees/pesticides\\_rapport\\_d\\_expertise](http://www.inra.fr/les_partenariats/expertise/expertises_realisees/pesticides_rapport_d_expertise).
- InVS (2006). Exposition aérienne aux pesticides des populations à proximité des zones agricoles. Bilan et perspectives du programme régional intercière 64 p. [http://www.invs.sante.fr/publications/2006/exposition\\_pesticides/index.html](http://www.invs.sante.fr/publications/2006/exposition_pesticides/index.html).
- Jensen, A. F., Petersen, A., and Granby, K. (2003). Cumulative risk assessment of the intake of organophosphorus and carbamate pesticides in the Danish diet. *Food additives and contaminants* 20(8), 776-785.
- Kelce, W. R., Stone, C. R., Laws, S. C., Gray, L. E., Kemppainen, J. A., and Wilson, E. M. (1995). Persistent DDT metabolite p,p'-DDE is a potent androgen receptor antagonist. *Nature* 375(6532), 581-585.
- Koch, H. M., Hardt, J., and Angerer, J. (2001). Biological monitoring of exposure of the general population to the organophosphorus pesticides chlorpyrifos and chlorpyrifos-methyl by determination of their specific metabolite 3,5,6-trichloro-2-pyridinol. *International journal of hygiene and environmental health* 204(2-3), 175-180.
- Kontou, S., Tsipi, D., and Tzia, C. (2004). Kinetics of maneb degradation during thermal treatment of tomatoes. *Journal of agricultural and food chemistry* 52(5), 1212-1219.
- Krol, W. J., Arsenault, T. L., Pylypiw, H. M., Jr., and Incorvia Mattina, M. J. (2000). Reduction of pesticide residues on produce by rinsing. *Journal of agricultural and food chemistry* 48(10), 4666-4670.
- Law, M. R., and Morris, J. K. (1998). By how much does fruit and vegetable consumption reduce the risk of ischaemic heart disease? *European journal of clinical nutrition* 52(8), 549-556.
- Law, M. R., and Morris, J. K. (1999). By how much does fruit and vegetable consumption reduce the risk of ischaemic heart disease: response to commentary. *European Journal of Clinical Nutrition* 53(11), 903-904.
- Lu, C., Toepel, K., Irish, R., Fenske, R. A., Barr, D. B., and Bravo, R. (2006). Organic diets significantly lower children's dietary exposure to organophosphorus pesticides. *Environmental health perspectives* 114(2), 260-263.
- Lu, C. S., Barr, D. B., Pearson, M., Bartell, S., and Bravo, R. (2006). A longitudinal approach to assessing urban and suburban children's exposure to pyrethroid pesticides. *Environmental health perspectives* 114, 1419-1423.
- Mileson, B. E., Chambers, J. E., Chen, W. L., Dettbarn, W., Ehrich, M., Eldefrawi, A. T., Gaylor, D. W., Hamernik, K., Hodgson, E., Karczmar, A. G., Padilla, S., Pope, C. N., Richardson, R. J., Saunders, D. R., Sheets, L. P., Sultatos, L. G., and Wallace, K. B. (1998). Common mechanism of toxicity: a case study of organophosphorus pesticides. *Toxicological Science* 41(1), 8-20.
- Needham, L. L., Calafat, A. M., and Barr, D. B. (2007). Uses and issues of biomonitoring. *International journal of hygiene and environmental health* 210(3-4), 229-238.
- Pennycook, F. R., Diamand, E. M., Watterson, A., and Howard, C. V. (2004). Modeling the dietary pesticide exposures of young children. *International Journal of Occupational and Environmental Health* 10, 304-309.
- Pennycook, F. R., Diamand, E. M., Watterson, A., and Howard, C. V. (2004). Modelling the dietary pesticide exposures of young children - Reply. *International Journal of Occupational and Environmental Health* 10, 469-470.
- Petersen, B., Tomerlin, J. R., and Barraj, L. (1996). Pesticide degradation: Exceptions to the rule. *Food Technology* 50, 221-223.
- Raab, U., Schwegler, U., Preiss, U., Albrecht, M., and Fromme, H. (2007). Bavarian breast milk survey - Pilot study and future developments. *International journal of hygiene and environmental health* 210(3-4), 341-344.
- Rasmussen, R. R., Poulsen, M. E., and Hansen, H. C. (2003). Distribution of multiple pesticide residues in apple segments after home processing. *Food additives and contaminants* 20(11), 1044-1063.
- Renwick, A. G. (2002). Pesticide residue analysis and its relationship to hazard characterisation (ADI/ARfD) and intake estimations (NEDI/NESTI). *Pest management science* 58(10), 1073-1082.
- Schettgen, T., Heudorf, U., Drexler, H., and Angerer, J. (2002). Pyrethroid exposure of the general population-is this due to diet. *Toxicology Letters* 134(1-3), 141-145.
- Schulz, C., Conrad, A., Becker, K., Kolossa-Gehring, M., Seiwert, M., and Seifert, B. (2007). Twenty years of the German Environmental Survey (GerES): Human biomonitoring - Temporal and spatial (West Germany/East Germany) differences in population exposure. *International journal of hygiene and environmental health* 210(3-4), 271-297.
- Volatier, J. L. (2000). Enquête individuelle et nationale sur les consommations alimentaires (INCA). Lavoisier Tec & Doc, Paris.
- Zabik, M. J., El-Hadidi, M. F., Cash, J. N., Zabik, M. E., and Jones, A. L. (2000). Reduction of azinphos-methyl, chlorpyrifos, esfenvalerate, and methomyl residues in processed apples. *Journal of agricultural and food chemistry* 48(9), 4199-4203.

- Plan National Santé-Environnement. Disponible à : <http://www.ecologie.gouv.fr/-Plan-national-sante-environnement-.html>
- Plan interministériel de réduction des risques liés aux pesticides 2006-2009. Disponible à : [http://www.ecologie.gouv.fr/article.php3?id\\_article=6005](http://www.ecologie.gouv.fr/article.php3?id_article=6005)
- Expertise scientifique collective INRA CEMAGREF (2005) Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et en limiter les impacts environnementaux. Disponible à : [http://www.inra.fr/les\\_partenariats/expertise/expertises\\_realisees/pesticides\\_rapport\\_d\\_expertise](http://www.inra.fr/les_partenariats/expertise/expertises_realisees/pesticides_rapport_d_expertise)
- Evaluation européenne des substances actives : [http://ec.europa.eu/food/plant/protection/evaluation/index\\_fr.htm](http://ec.europa.eu/food/plant/protection/evaluation/index_fr.htm)  
<http://www.efsa.europa.eu/fr/science/praper.html>
- Modèle d'évaluation de l'exposition alimentaire aux pesticides du Royaume-Uni : <http://www.pesticides.gov.uk/approvals.asp?id=1687>
- Exposition cumulative aux pesticides ayant un mécanisme commun de toxicité aux Etats-Unis (EPA) : <http://www.epa.gov/pesticides/cumulative/index.htm>
- Colloque EFSA Novembre 2006 : [http://www.efsa.europa.eu/fr/science/colloquium\\_series/colloquium\\_7.html](http://www.efsa.europa.eu/fr/science/colloquium_series/colloquium_7.html)
- Résultats des programmes de surveillance de la DGCCRF en France  
2004 : [http://www.observatoire-pesticides.gouv.fr/upload/bibliotheque/237848756776583622332804672716/DGCCRF\\_2004\\_rapport.pdf](http://www.observatoire-pesticides.gouv.fr/upload/bibliotheque/237848756776583622332804672716/DGCCRF_2004_rapport.pdf)  
2005 : [http://www.minefi.gouv.fr/directions\\_services/dgccrf/secure/produits\\_alimentaires/controles\\_alimentaires/2007/pesticides\\_vegetaux.htm](http://www.minefi.gouv.fr/directions_services/dgccrf/secure/produits_alimentaires/controles_alimentaires/2007/pesticides_vegetaux.htm)
- Convention de Stockholm concernant les polluants organiques persistants (POP) : <http://www.pops.int>
- Etude Nationale nutrition santé : <http://www.invs.sante.fr/surveillance/nutrition/enns.htm>
- COM(2001)31 : Sixième programme communautaire d'action pour l'environnement  
[http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/fr/com/2001/com2001\\_0031fr01.pdf](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/fr/com/2001/com2001_0031fr01.pdf)
- COM(2002)349 : Vers une stratégie thématique concernant l'utilisation durable des pesticides  
[http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/fr/com/2002/com2002\\_0349fr01.pdf](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/fr/com/2002/com2002_0349fr01.pdf)
- COM(2003)338 : Stratégie européenne en matière d'environnement et de santé  
[http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/fr/com/2003/com2003\\_0338fr01.pdf](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/fr/com/2003/com2003_0338fr01.pdf)
- COM(2004)416 : Plan d'action européen 2004-2010 en faveur de l'environnement et de la santé  
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:52004DC0416:FR:HTML>
- COM(2006)372 : Stratégie thématique concernant l'utilisation durable des pesticides  
[http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/fr/com/2006/com2006\\_0372fr01.pdf](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/fr/com/2006/com2006_0372fr01.pdf)
- COM(2006)373 : Directive du Parlement européen et du Conseil instaurant un cadre d'action communautaire pour parvenir à une utilisation durable des pesticides (proposition de)  
[http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/fr/com/2006/com2006\\_0373fr01.pdf](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/fr/com/2006/com2006_0373fr01.pdf)
- COM(2006)388 : Règlement du Parlement européen et du Conseil concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques (proposition de)  
[http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/fr/com/2006/com2006\\_0388fr01.pdf](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/fr/com/2006/com2006_0388fr01.pdf)

#### Personnes consultées

Volatier Jean-Luc, AFSSA-DERNS  
Fréry Nadine, InVS  
Sauphanor Benoit, INRA-Avignon  
Vergnet Claude, AFSSA-DIVE

### Exposition aux nitrates

- Boeing, H., Frentzel-Beyme, R., Berger, M., Berndt, V., Gores, W., Korner, M., Lohmeier, R., Menarcher, A., Mannl, H. F., and Meinhardt, M. (1991). Case-control study on stomach cancer in Germany. *International journal of cancer* **47**(6).
- Buiatti, E., Palli, D., Decarli, A., Amadori, D., Avellini, C., Bianchi, S., Bonaguri, C., Cipriani, F., Cocco, P., and Giacosa, A. (1990). A case-control study of gastric cancer and diet in Italy: II. Association with nutrients. *International journal of cancer* **45**(5), 896-901.
- Chilvers, C., Inskip, H., Caygill, C., Bartholomew, B., Fraser, P., and Hill, M. (1984). A survey of dietary nitrate in well-water users. *International journal of epidemiology* **13**(3), 324-331.
- De Martin, S., and Restani, P. (2003). Determination of nitrates by a novel ion chromatographic method: occurrence in leafy vegetables (organic and conventional) and exposure assessment for Italian consumers. *Food Additives and Contaminants* **20**(9), 787-792.
- De Roos, A. J., Ward, M. H., Lynch, C. F., and Cantor, K. P. (2003). Nitrate in public water supplies and the risk of colon and rectum cancers. *Epidemiology* **14**(6), 640-649.
- European Commission (1997). Assessment of dietary intake of nitrates by the population in the European Union as a consequence of consumption of vegetables.

- Report on task for scientific cooperation: Report of experts participating in task 3.2.3. Office for Official Publications of the European Communities.
- Fan, A. M., and Steinberg, V. E. (1996). Health implications of nitrate and nitrite in drinking water: An update on methemoglobinemia occurrence and reproductive and developmental toxicity. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **23**(1), 35-43.
- Food Safety Inspection Service (2004). UK monitoring programme for nitrate in lettuce and spinach. *Food Survey Information Sheet* **74/05**, 1-12.
- FSA (1998). Total diet study - Nitrate and nitrite. *Food Surveillance Information Sheet* **163**, 1-8.
- Gangolli, S. D., Vandenbrandt, P. A., Feron, V. J., Janzowsky, C., Koeman, J. H., Speijers, G. J. A., Spiegelhalter, B., Walker, R., and Wishnok, J. S. (1994). Nitrate, Nitrite and N-Nitroso Compounds. *European Journal of Pharmacology-Environmental Toxicology and Pharmacology Section* **292**(1), 1-38.
- Gonzalez, C. A., Riboli, E., Badosa, J., Batiste, E., Cardona, T., Pita, S., Sanz, J. M., Torrent, M., and Agudo, A. (1994). Nutritional Factors and Gastric-Cancer in Spain. *American Journal of Epidemiology* **139**(5), 466-473.
- Grosse, Y., Baan, R., Straif, K., Secretan, B., El Ghissassi, F., and Coglianò, V. (2006). Carcinogenicity of nitrate, nitrite, and cyanobacterial peptide toxins. *Lancet Oncology* **7**(8), 628-629.
- Hansson, L. E., Nyren, O., Bergstrom, R., Wolk, A., Lindgren, A., Baron, J., and Adami, H. O. (1994). Nutrients and Gastric-Cancer Risk - a Population-Based Case-Control Study in Sweden. *International Journal of Cancer* **57**(5), 638-644.
- Knekt, P., Jarvinen, R., Dich, J., and Hakulinen, T. (1999). Risk of colorectal and other gastro-intestinal cancers after exposure to nitrate, nitrite and N-nitroso compounds: A follow-up study. *International Journal of Cancer* **80**(6), 852-856.
- La Vecchia, C., Ferraroni, M., Davanzo, B., Decarli, A., and Franceschi, S. (1994). Selected Micronutrient Intake and the Risk of Gastric-Cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* **3**(5), 393-398.
- Lee, M., Wrensch, M., and Miike, R. (1997). Dietary and tobacco risk factors for adult onset glioma in the San Francisco Bay Area (California, USA). *Cancer Causes Control* **8**(1), 13-24.
- Malmauret, L., Parent-Massin, D., Hardy, J. L., and Verger, P. (2002). Contaminants in organic and conventional foodstuffs in France. *Food Additives and Contaminants* **19**(6), 524-532.
- Mayne, S. T., Risch, H. A., Dubrow, R., Chow, W. H., Gammon, M. D., Vaughan, T. L., Farrow, D. C., Schoenberg, J. B., Stanford, J. L., Ahsan, H., West, A. B., Rotterdam, H., Blot, W. J., and Fraumeni, J. F. (2001). Nutrient intake and risk of subtypes of esophageal and gastric cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* **10**(10), 1055-1062.
- Nabrzyski, M., and Gajewska, R. (1994). The content of nitrates and nitrites in fruits, vegetables and other foodstuffs. *Roczniki Pan'stwowego Zak?adu Higieny* **45**(3), 167-180.
- Pobel, D., Riboli, E., Cornee, J., Hemon, B., and Guyader, M. (1995). Nitrosamine, Nitrate and Nitrite in Relation to Gastric-Cancer - a Case-Control Study in Marseille, France. *European Journal of Epidemiology* **11**(1), 67-73.
- Risch, H. A., Jain, M., Choi, N. W., Fodor, J. G., Pfeiffer, C. J., Howe, G. R., Harrison, L. W., Craib, K. J., and Miller, A. B. (1985). Dietary factors and the incidence of cancer of the stomach. *American journal of epidemiology* **122**(6), 947-959.
- Rogers, M. A. M., Vaughan, T. L., Davis, S., and Thomas, D. B. (1995). Consumption of Nitrate, Nitrite, and Nitrosodimethylamine and the Risk of Upper Aerodigestive Tract Cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* **4**(1), 29-36.
- Schwartzbaum, J. A., Fisher, J. L., Goodman, J., Octaviano, D., and Cornwell, D. G. (1999). Hypotheses concerning roles of dietary energy, cured meat, and serum tocopherols in adult glioma development. *Neuroepidemiology* **18**(3), 156-166.
- van Loon, A. J. M., Botterweck, A. A. M., Goldbohm, R. A., Brants, H. A. M., van Klaveren, J. D., and van den Brandt, P. A. (1998). Intake of nitrate and nitrite and the risk of gastric cancer: a prospective cohort study. *British Journal of Cancer* **78**(1), 129-135.
- van Loon, A. J. M., Botterweck, A. A. M., Goldbohm, R. A., Brants, H. A. M., and vandenBrandt, P. A. (1997). Nitrate intake and gastric cancer risk: Results from the Netherlands Cohort Study. *Cancer Letters* **114**(1-2), 259-261.
- Walker, R. (1990). Nitrates, nitrites and N-nitrosocompounds: a review of the occurrence in food and diet and the toxicological implications. *Food additives and contaminants* **7**(6), 717-768.
- Ward, M. H., Cerhan, J. R., Colt, J. S., and Hartge, P. (2006). Risk of non-Hodgkin lymphoma and nitrate and nitrite from drinking water and diet. *Epidemiology* **17**(4), 375-382.
- Ward, M. H., Mark, S. D., Cantor, K. P., Weisenburger, D. D., CorreaVillasenor, A., and Zahm, S. H. (1996). Drinking water nitrate and the risk of non-Hodgkin's lymphoma. *Epidemiology* **7**(5), 465-471.
- WHO (2002). Evaluation of Certain Food Additives: Fifty-ninth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, WHO Technical Report Series n° 913, 161 p.
- Ysart, G., Miller, P., Barrett, G., Farrington, D., Lawrance, P., and Harrison, N. (1999). Dietary exposures to nitrate in the UK. *Food Additives and Contaminants* **16**(12), 521-532.