



HAL
open science

Biomarqueurs d'exposition aux composés organochlorés et risque de cancer du sein : analyse de l'étude cas-témoins en population générale CECILE basée sur l'utilisation de modèles pharmacocinétiques

Delphine Bachelet

► **To cite this version:**

Delphine Bachelet. Biomarqueurs d'exposition aux composés organochlorés et risque de cancer du sein : analyse de l'étude cas-témoins en population générale CECILE basée sur l'utilisation de modèles pharmacocinétiques. Santé publique et épidémiologie. Université Paris Sud - Paris XI, 2012. Français. NNT : 2012PA11T005 . tel-00807245

HAL Id: tel-00807245

<https://theses.hal.science/tel-00807245>

Submitted on 28 Jan 2015

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

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

UNIVERSITÉ PARIS XI – FACULTÉ DE MÉDECINE PARIS-SUD

ÉCOLE DOCTORALE ED420

ANNÉE 2012

N°

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ PARIS XI

Diplôme Santé Publique – Épidémiologie

DELPHINE BACHELET

Née le 9 avril 1981 à Beauvais (Oise)

Présentée et soutenue publiquement le 23 janvier 2012

**Biomarqueurs d'exposition aux composés organochlorés et risque de cancer
du sein : analyse de l'étude cas-témoins en population générale CECILE basée
sur l'utilisation de modèles pharmacocinétiques**

Thèse dirigée par Monsieur Pascal GUÉNEL

JURY

Monsieur Jean BOUYER	Président
Madame Sylvaine CORDIER	Rapporteur
Monsieur le Professeur Patrick FÉNICHEL	Rapporteur
Monsieur Frédéric Yves BOIS	Examineur
Monsieur le Professeur Robert BAROUKI	Examineur
Monsieur Pascal GUÉNEL	Directeur

Remerciements

La thèse est passée pour moi d'une idée, à une envie, un projet, une réalité, une réalisation. C'est une longue évolution, riche en questionnements, réflexions et avancées, au bout de laquelle je me dis « ça valait le coup ! ». Ce chemin, je ne l'ai pas effectué seule.

Je tiens tout d'abord à adresser un grand MERCI à Pascal Guénel pour m'avoir confié ce travail dont le sujet m'a captivée. C'est une véritable chance pour moi d'avoir pu travailler sur CECILE, une étude de grande qualité. Je remercie Pascal de sa disponibilité, du partage de ses connaissances et de son expérience notamment lors de nos discussions enthousiastes sur les résultats obtenus et sur l'intérêt des méthodologies appliquées, de l'autonomie qu'il m'a laissée tout en étant toujours de bon conseil. J'ai beaucoup appris en travaillant avec lui.

Je remercie Chantal Guihenneuc-Jouyaux pour son aide précieuse en statistiques, sa disponibilité et sa grande pédagogie.

Je remercie Marc-André Verner, Sami Haddad et Michel Charbonneau pour avoir accepté de mettre en place avec nous le projet innovant et passionnant d'appliquer des modèles pharmacocinétiques à des données épidémiologiques. Merci pour leur enthousiasme, pour l'accueil chaleureux qu'ils m'ont réservé à Montréal et pour tous les échanges intéressants.

Je remercie Corinne Charlier pour l'apport de son expertise dans la méthodologie des dosages.

Je remercie Jean Bouyer pour me faire l'honneur de présider le jury. Je remercie Sylvaine Cordier et Patrick Fénichel, rapporteurs de cette thèse pour leurs remarques enrichissantes. Je remercie Robert Barouki et Frédéric Yves Bois pour avoir accepté d'être examinateurs de cette thèse.

Je remercie l'école doctorale ED420 de Santé Publique pour m'avoir permis de continuer à me former à des domaines élargissant mon horizon.

Je remercie Josiane Warszawski et Marie-Cécile Le Deley, mes tutrices de monitorat pour m'avoir confié l'enseignement de TD d'Épidémiologie et de Recherche Clinique. Je remercie mes collègues d'enseignement Isabelle Stücker, Mercedes, Isabelle, Aïsha et Bénédicte pour les conseils et les échanges de service. Je remercie également l'ensemble des étudiants que j'ai pu rencontrer qui m'ont permis de remettre en cause mes savoirs et de les approfondir de façon à pouvoir mieux les transmettre dans un cadre très agréable.

Je remercie la région Ile de France et l'Inserm qui ont financé cette thèse.

Je remercie les différents membres de l'équipe 6 « Epidémiologie environnementale des cancers » du CESP (U754 au début de ma thèse) à laquelle j'ai appartenu avec joie. Merci à Jacqueline Clavel pour m'y avoir accueillie. Merci à Jacqueline, à Denis Hémon, Isabelle Stücker, Florence Ménégaux pour les échanges d'idées et d'expériences au sein de l'unité. Merci à Stéphanie Goujon et à Laurent Orsi pour leur patience et leur gentillesse pour répondre à mes questions d'ordre statistique et informatique. Merci à Evelyne Przybilski grâce à qui les problèmes d'ordre administratif et logistique n'en sont plus ! Merci à Antoinette Anger pour sa gentillesse et la qualité de son travail dans la préparation des tables de données. Merci également, ainsi qu'à Thérèse Truong pour la relecture de ce manuscrit. Merci à tous les autres membres de l'équipe pour les bons moments partagés que ce soit à la cantine ou autour des chouquettes, des pots... Toutes ces pauses conviviales donnent l'énergie pour travailler dans la bonne humeur.

Merci spécial à Alexandra pour tout ce que nous avons partagé ensemble. Nous avons été davantage des sœurs que des collègues au cours de ces années de thèse. C'est inestimable la chance

d'avoir pu avancer à deux, de partager ensemble tous les questionnements aussi bien sur le travail scientifique que sur la vie en général, des sujets les plus primaires aux plus philosophiques ! La thèse s'est doublée de la construction d'une grande amitié que je compte bien faire perdurer !

Merci à mes amis du Vietnam, de Paris, de Rouen, ... pour les moments de détente et les sorties, pour votre présence dans les différents événements marquants de ma vie : les fêtes d'anniversaires, les déménagements et les pendaisons de crémaillères, les vacances... Merci à Caroline (et à la Mairie de Paris) pour les soirées théâtre ! Merci à Audrey qui m'a apporté son aide en anglais et ses astuces dans la préparation de différentes présentations.

Merci à ma grande famille : mes grands-parents, mes oncles et tantes, mes nombreux (trop pour être tous cités ici) cousins-cousines pour partager avec moi plus qu'un patrimoine génétique ! Merci pour l'esprit de famille que vous m'avez tous transmis, pour votre soutien et vos encouragements, pour l'optimisme et la bonne humeur générale. Merci plus spécifique à mes sœurs Marie et Mathilde, et leur Manuel respectif, pour leur présence (malgré la distance géographique), et pour pouvoir tout leur dire en sachant que je serai comprise. Merci à mes parents qui m'ont toujours entourée, encouragée, valorisée et donné envie d'aller plus loin.

Merci particulier à Daniel pour être à mes côtés, pour notre amour qui constitue ma joie de vivre et qui me rend enthousiaste dans tout ce que j'entreprends.

Résumé

Le cancer du sein est le plus fréquent des cancers de la femme. Son incidence n'est expliquée que partiellement par les facteurs de risque bien établis comme les facteurs reproductifs, hormonaux ou génétiques. Plusieurs éléments suggèrent l'existence de facteurs de risque environnementaux, tels que les polluants organochlorés persistants connus comme perturbateurs endocriniens. Les objectifs de ce travail sont : d'étudier les niveaux d'exposition, et leurs déterminants, au DDE (principal métabolite de l'insecticide DDT) et aux polychlorobiphényles (PCB) ; d'estimer par une modélisation pharmacocinétique à base physiologique (PBPK) les niveaux d'exposition au PCB-153 à la période péri-pubertaire qui constitue une fenêtre de susceptibilité accrue de la glande mammaire aux agents environnementaux ; d'étudier le rôle du DDE et du PCB-153 dans le risque de cancer du sein, à la fois à partir de prélèvements sanguins actuels et, pour le PCB-153, à partir de niveaux estimés à la période péri-pubertaire.

Ce travail a été effectué à partir de l'étude CECILE, étude cas-témoins en population générale incluant 1055 témoins et 1080 cas de cancer du sein diagnostiqués de février 2005 à mars 2008 dans les départements d'Ille-et-Vilaine et de Côte d'Or chez lesquels un prélèvement sanguin a permis d'effectuer des dosages de *p,p'*-DDE et de PCB-153. La modélisation PBPK mise en place en coopération avec une équipe de toxicologues canadiens a permis de simuler des profils toxicocinétiques vie entière de PCB-153 et d'estimer les niveaux d'exposition au cours de la puberté. Cette modélisation est basée sur les niveaux mesurés au moment de l'enquête, les facteurs individuels de variation (poids, taille, grossesses, allaitement) connus d'après le questionnaire et la courbe de contamination environnementale au cours du temps.

Les niveaux de contamination biologique observés sont plus faibles que ceux rapportés précédemment dans les populations occidentales. Nous montrons également que les principaux facteurs prédictifs des niveaux sériques de *p,p'*-DDE et de PCB-153 chez les femmes incluent l'âge, les habitudes alimentaires, le poids et ses variations au cours du temps, les grossesses et l'allaitement, et le lieu de résidence. Nous n'observons pas d'association entre les niveaux de *p,p'*-DDE et le risque de cancer du sein, mais une association inverse apparaît pour les cancers du sein de type négatifs pour les récepteurs hormonaux. Nous observons également une association inverse avec les niveaux de PCB-153 chez les femmes de 50 ans et plus. L'association inverse est renforcée lorsque les niveaux sont estimés pour la période péri-pubertaire à l'aide des modèles PBPK chez les femmes de la génération 1951-1960, correspondant à la cohorte de naissance des femmes de plus de 50 ans ayant connu les expositions aux PCB les plus élevées durant leur puberté.

Plusieurs mécanismes biologiques pourraient expliquer l'association inverse observée entre le cancer du sein et l'exposition aux PCB. Ces résultats doivent être confirmés par des études tenant compte des fenêtres de susceptibilité de la glande mammaire et constituent une piste intéressante à approfondir.

Abstract

Breast cancer is the most frequent cancer in women. Its incidence is only partially explained by well-established risk factors as reproductive, hormonal or genetic factors. It has been suggested that endocrine disrupting chemicals such as persistent organochlorine pollutants also play a role in breast cancer. The objectives of this study were: to assess exposure levels to DDE (main metabolite of DDT) and to polychlorobiphenyls (PCBs), and to explore their determinants; to estimate PCB-153 levels during the puberty using physiologically-based pharmacokinetic (PBPK) models, as this period of life constitutes a critical exposure window with increased susceptibility to carcinogens; to study the associations between breast cancer risk and separately DDE, PCB-153 measured at the time of diagnosis, and PCB-153 levels estimated during puberty.

The analyses were based on data from the CECILE study, a population-based case-control study including 1055 controls and 1080 breast cancer cases who gave a blood specimen. The cases were diagnosed from February 2005 to March 2008 in two French administrative areas (Ille-et-Vilaine and Côte d'Or). *p,p'*-DDE and PCB-153 serum levels were measured. PBPK modeling allowed simulating PCB-153 lifetime toxicokinetic profiles and estimating exposure levels during puberty. These PBPK models were based on blood measurements at the time of recruitment in the study, on individual characteristics elicited from the questionnaire (weight, height, pregnancies, breastfeeding) and on the curve of environmental contamination by PCBs estimated since the 1930's.

The levels of biological contamination were lower than those previously reported in Western populations in earlier periods. The main predictive factors of *p,p'*-DDE and PCB-153 serum levels included age; dietary habits; weight and its variations; pregnancies and breastfeeding; and residence area. We did not observe any association between *p,p'*-DDE levels and the risk of breast cancer, but an inverse association was observed for estrogen receptor-negative breast cancers. We also observed an inverse association of breast cancer with PCB-153 among women above 50 years. This inverse association was reinforced when considering PCB-153 levels estimated during peripubertal period from PBPK models, particularly among women born in 1951-1960, a birth cohort with peak exposure to PCB-153 during puberty.

Biological mechanisms explaining the observed inverse association between breast cancer and PCB exposure are considered. These findings should be confirmed by further studies.

Productions scientifiques issues du travail de thèse

Publications

Bachelet D, Verner M-A, Guihenneuc-Jouyaux C, Charlier C, Charbonneau M, Haddad S, Guénel P. 2010. *Assessment of exposure to persistent organochlorine compounds in epidemiological studies on breast cancer: a literature review and perspectives for the CECILE study*. Acta Clinica Belgica, Supplementum, 65(1):49-57.

Bachelet D, Truong T, Verner MA, Arveux P, Kerbrat P, Charlier C, et al. 2011. *Determinants of serum concentrations of 1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethylene and polychlorinated biphenyls among French women in the CECILE study*. Environ Res 111: 861-870.

Verner MA, **Bachelet D**, McDougall R, Charbonneau M, Guenel P, Haddad S. 2011. *A Case Study Addressing the Reliability of Polychlorinated Biphenyl Levels Measured at the Time of Breast Cancer Diagnosis in Representing Early-Life Exposure*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 20: 281-286.

Bachelet D., Verner M.-A., Charlier C., Charbonneau M., Haddad S., Arveux P., Kerbrat P., Guénel P. *PCB-153 serum levels in French women and breast cancer risk including a PBPK modeling approach* (en préparation)

Communications orales

Bachelet D, Verner M-A, Guihenneuc-Jouyaux C, Charlier C, Arveux P, Kerbrat P, Charbonneau M, Haddad S, Guénel P. *Internal doses of PCB153 estimated during etiologically relevant periods of life are inversely related to breast cancer*. 22th conference of the ISEE. août 2010, Séoul.

Guénel P, **Bachelet D**, Cordina E, Villeneuve S, Anger A, Mahboub S. *Facteurs de risque environnementaux et professionnels des cancers du sein : l'étude CECILE*. Colloque ANR Santé-Environnement Santé-Travail. 9-11 décembre 2009, Paris.

Guénel P, **Bachelet D** Polluants organochlorés persistants et cancer du sein. *4èmes journées internationales de toxicologie*. 15 octobre 2009, Liège.

Communications affichées

Bachelet D, Charlier C, Kerbrat P, Arveux P, Guihenneuc-Jouyaux C, Guénel P. *Individual determinants of serum levels of 1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethylene (DDE) and polychlorinated biphenyls (PCBs) among French women*, 21th conference of the ISEE. août 2009, Dublin.

Bachelet D, Guénel P. *Déterminants des concentrations sanguines de pesticides organochlorés (DDT) et de polychlorobiphényles (PCB) chez les femmes d'Ille-et-Vilaine et de Côte d'Or (étude CECILE)*. Colloque "Alertes sanitaires en Bourgogne et Franche-Comté. Anticipation, veille, intervention". 19 novembre 2009, Dole.

Table des matières

REMERCIEMENT	1
RESUME	3
ABSTRACT	4
PRODUCTIONS SCIENTIFIQUES ISSUES DU TRAVAIL DE THÈSE	5
TABLE DES MATIERES	7
LISTE DES TABLEAUX	11
LISTE DES FIGURES	13
LISTE DES ABREVIATIONS	15
INTRODUCTION	17
I. CANCER DU SEIN : ÉTAT DES CONNAISSANCES. ANATOMIE. ÉPIDÉMIOLOGIE	19
1. <i>Anatomie du sein et histologie du cancer du sein</i>	19
Anatomie du sein	19
Histologie du cancer du sein.....	20
2. <i>Épidémiologie descriptive</i>	20
Incidence et ses variations.....	20
Études chez les migrants	22
3. <i>Facteurs de risque reconnus/suspectés</i>	22
Facteurs hormonaux et reproductifs.....	22
Facteurs anthropométriques.....	24
Facteurs liés au mode de vie	25
Maladies bénignes du sein	26
Hérédité.....	26
Part expliquée par les facteurs reconnus	27
4. <i>Facteurs de risque environnementaux</i>	28
Introduction	28
Radiations ionisantes.....	28
Travail posté et travail de nuit.....	29
Champs électromagnétiques (CEM)	29
Tabac Passif.....	29
Perturbateurs endocriniens.....	30
II. PERTURBATEURS ENDOCRINIENS	30
1. <i>Définition générale</i>	30
Définition	30
Historique	32
Utilisation.....	32
Mécanismes d'action	32
Fenêtres de susceptibilité.....	33
Exemple du diéthylstilbestrol (DES).....	34
Définition des composés organochlorés	34
2. <i>Le DDT et le DDE</i>	35
Définition, production, utilisation	35
Exposition des populations.....	36
Déterminants des niveaux d'exposition	37
Liens avec le cancer du sein.....	38

3.	<i>Les PCB</i>	40
	Définition, production, utilisation	40
	Exposition des populations.....	41
	Déterminants des niveaux d'exposition	41
	Liens avec le cancer du sein.....	42
4.	<i>Modèles PBPK : prise en compte des périodes de susceptibilité</i>	44
	Interprétation des résultats épidémiologiques	44
	Apport des modèles pharmacocinétiques à base physiologique (PBPK)	45
III.	OBJECTIFS.....	46
MATÉRIEL & MÉTHODE.....		47
I.	ÉTUDE CECILE. RECUEIL DES DONNÉES	49
1.	<i>Recrutement des cas et des témoins</i>	49
2.	<i>Recueil des données</i>	51
	Questionnaire	51
	Échantillons biologiques	51
II.	DÉFINITION DES VARIABLES UTILISÉES DANS LES ANALYSES.....	52
1.	<i>Variables du questionnaire</i>	52
	Variables prédictives des niveaux de composés organochlorés	52
	Facteurs de risque reconnus de cancer du sein	53
2.	<i>Variables liées aux prélèvements sanguins</i>	54
	Dosages.....	54
	Variables d'intérêt	55
	Imputation des valeurs sous la limite de détection (LD)	56
III.	LES MODÈLES PBPK.....	57
1.	<i>Choix du congénère PCB-153</i>	58
2.	<i>Description du modèle PBPK</i>	58
3.	<i>Modélisation PBPK appliquée aux données de CECILE</i>	59
	Caractéristiques individuelles prises en compte dans la modélisation	59
	Tendance de la contamination environnementale	60
	Simulations	61
	Aires sous la courbe (AUC).....	62
IV.	ANALYSES STATISTIQUES.....	62
1.	<i>Déterminants des niveaux d'exposition</i>	62
	Sélection des sujets	62
	Analyses descriptives.....	62
	Analyses univariées.....	63
	Analyses multivariées	63
2.	<i>Profils toxicocinétiques d'exposition au PCB-153 vie-entière</i>	65
3.	<i>Association avec le cancer du sein</i>	67
	Niveaux de p,p'-DDE et de PCB-153 mesurés au moment du recrutement.....	67
	Niveaux de PCB-153 – mesurés au moment du recrutement – et –estimés à la	
	période péri-pubertaire –, par cohorte de naissance.....	69
RÉSULTATS.....		71
I.	DESCRIPTION DE L'ÉCHANTILLON	73
1.	<i>Comparaison des sujets avec et sans prélèvement sanguin</i>	73
2.	<i>Caractéristiques histologiques des cas de cancer</i>	75
3.	<i>Facteurs de risque « classiques » du cancer du sein</i>	75
II.	MESURE DES NIVEAUX SANGUINS D'ORGANOCHLORÉS AU MOMENT DU RECRUTEMENT	77
1.	<i>Seuils de détection et corrélations entre organochlorés</i>	77
2.	<i>Niveaux de contamination par le p,p'-DDE et les PCB totaux et leurs déterminants</i>	79

p,p'-DDE	79
PCB totaux	82
III. PROFILS TOXICOCINÉTIQUES D'EXPOSITION AU PCB-153 VIE-ENTIÈRE	86
1. <i>Exemple de profils toxicocinétiques</i>	86
2. <i>Corrélations de l'AUC 11_20 avec l'AUC aux autres décades et avec les niveaux mesurés au moment du recrutement</i>	87
3. <i>Variables influençant les profils toxicocinétiques</i>	88
4. <i>Niveaux de PCB-153 estimés entre 11 et 20 ans et cohorte de naissance</i>	90
IV. ASSOCIATION ENTRE CANCER DU SEIN ET NIVEAUX SANGUINS DES ORGANOCHLORÉS	94
1. <i>Cancer du sein et niveaux de p,p'-DDE mesurés au moment du recrutement</i>	94
2. <i>Cancer du sein et niveaux de PCB-153 mesurés au moment du recrutement</i>	96
3. <i>Cancer du sein par cohorte de naissance en fonction des niveaux de PCB-153 mesurés au recrutement</i>	98
4. <i>Cancer du sein par cohorte de naissance en fonction des niveaux de PCB 153 estimés à la décade 11-20 ans</i>	100
DISCUSSION	101
I. SYNTHÈSE DES PRINCIPAUX RÉSULTATS	103
II. NIVEAUX D'EXPOSITION AUX COMPOSÉS ORGANOCHLORÉS ET LEURS DÉTERMINANTS	104
1. <i>Validité de l'étude</i>	104
Nombre de sujets	104
Erreurs de classement	105
2. <i>Niveaux mesurés (comparaisons géographiques, temporelles)</i>	106
3. <i>Déterminants des niveaux sanguins de composés organochlorés</i>	107
III. ESTIMATION DU PROFIL D'EXPOSITION VIE-ENTIÈRE AU PCB-153 ET CIBLAGE DE LA PÉRIODE PÉRI-PUBERTAIRE À PARTIR DES MODÈLES PBPK	112
1. <i>Proposition d'une nouvelle approche pour cibler la période péri-pubertaire</i>	112
2. <i>Variables influençant les profils toxicocinétiques</i>	113
3. <i>Impact de l'imputation des valeurs de PCB-153 sous la limite de détection</i>	114
4. <i>Associations entre l'AUC 11_20 et l'âge : un effet génération</i>	114
5. <i>Validité de la courbe de contamination environnementale et limite de l'approche PBPK</i>	115
IV. RÔLE DES COMPOSÉS ORGANOCHLORÉS DANS LE CANCER DU SEIN	117
1. <i>Validité de l'étude</i>	117
Puissance statistique	117
Sélection	117
Erreurs de classement	118
Confusion	119
2. <i>Comparaison de nos résultats avec ceux de la littérature</i>	119
p,p'-DDE	119
PCB-153	120
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	123
BIBLIOGRAPHIE	127
ANNEXE I – DESCRIPTION DES ETUDES SUR LES DETERMINANTS DES NIVEAUX BIOLOGIQUES DE DDT/DDE ET PCB	139
ANNEXE II – DESCRIPTION DES ETUDES SUR L'EXPOSITION DDT/DDE, PCB ET RISQUE DE CANCER DU SEIN	151
ANNEXE III – TABLEAUX SUPPLEMENTAIRES	167
ANNEXE IV – PUBLICATIONS	173

Liste des Tableaux

Tableau 1 – Liste sélective de perturbateurs endocriniens	31
Tableau 2 – Taux de participation des cas et des témoins par département et pourcentages de sujets ayant accepté le prélèvement sanguin	50
Tableau 3 – Limites de détection (LD) en µg/L des différents composés organochlorés dosés dans l'étude CECILE.....	55
Tableau 4 – Comparaison de la répartition des sujets de l'étude CECILE dans son intégralité avec celle des sujets de notre échantillon ayant accepté le prélèvement selon certaines caractéristiques	74
Tableau 5 – Descriptif des cas de cancer du sein avec prélèvement sanguin sur le type morphologique (in situ vs infiltrant) et le statut des récepteurs hormonaux	75
Tableau 6 – Odds ratios associés aux facteurs de risque classiques du cancer du sein	76
Tableau 7 – Limites de détection (LD) en µg/L et distribution des concentrations sériques d'organochlorés ajustées sur les lipides (en ng/g de lipides) mesurés chez les femmes témoins de l'étude CECILE en fonction du groupe d'âge	78
Tableau 8 – Coefficients de corrélation partielle de Spearman ajustés sur l'âge entre les composés <i>p,p'</i> -DDE, PCB-138, PCB-153, PCB-180 et PCB totaux mesurés chez 1055 femmes témoins de l'étude CECILE	78
Tableau 9 – Moyennes géométriques (MG) et écart-types géométriques (ETG) des niveaux de <i>p,p'</i> -DDE en ng/g de lipides en fonction de la catégorie des différents déterminants chez les femmes témoins de l'étude CECILE.....	80
Tableau 10 – Odds ratios obtenus à partir de la régression ordinaire multivariée, associés avec les déterminants des niveaux de <i>p,p'</i> -DDE chez les femmes témoins de l'étude CECILE	82
Tableau 11 – Moyennes géométriques (MG) et écart-types géométriques (ETG) des niveaux de PCB totaux en ng/g de lipides en fonction de la catégorie des différents déterminants chez les femmes témoins de l'étude CECILE.....	83
Tableau 12 – Odds ratios obtenus à partir de la régression ordinaire multivariée, associés avec les déterminants des niveaux de PCB totaux chez les femmes témoins de l'étude CECILE.....	85
Tableau 13 – Coefficients de corrélation partiels de Spearman ajustés sur l'âge entre les niveaux de PCB-153 estimés à différentes décades de la vie chez les femmes témoins de CECILE	87
Tableau 14 – Coefficients de corrélation partiels de Spearman ajustés sur l'âge entre les niveaux de PCB-153 mesurés au moment du recrutement et les niveaux estimés à différentes décades de la vie chez les femmes témoins de CECILE	88
Tableau 15 – Pourcentages de variance expliquée de l'AUC 11_20 par différents facteurs de variation des niveaux de PCB présentés par cohorte de naissance chez les femmes témoins de CECILE.....	89
Tableau 16 – Description par cohorte de naissance des niveaux de PCB-153 en ng/g de lipides mesurés au moment du recrutement et des niveaux estimés à différentes décades de la vie chez les femmes témoins de l'étude CECILE.....	93
Tableau 17 – Odds ratios liés au cancer du sein associé aux niveaux de <i>p,p'</i> -DDE mesurés au moment du recrutement chez toutes les femmes de l'étude CECILE, et selon le groupe d'âge, le département et le statut des récepteurs hormonaux.....	95
Tableau 18 – Odds ratios liés au cancer du sein associé aux niveaux de PCB-153 mesurés au moment du recrutement chez toutes les femmes de l'étude CECILE, et selon le groupe d'âge, le département et le statut des récepteurs hormonaux.....	97

Tableau 19 – Odds ratios liés au cancer du sein associé aux niveaux de PCB-153 mesurés au moment du recrutement par cohorte de naissance chez les femmes de l'étude CECILE	99
Tableau 20 – Odds ratios liés au cancer du sein associé aux niveaux de PCB-153 à la période d'âge 11-20 ans estimés à partir des modèles PBPK selon la cohorte de naissance chez les femmes de l'étude CECILE.....	100

Liste des Figures

Figure 1 – Coupe du sein et de la paroi thoracique antérieure	19
Figure 2 - Taux d'incidence standardisés des cancers du sein de la femme dans le monde (2008)....	21
Figure 3 – Développement mammaire pendant la puberté, la grossesse et l'allaitement.....	33
Figure 4 – <i>p,p'</i> -dichlorodiphényltrichloroéthane (<i>p,p'</i> -DDT).....	36
Figure 5 - Concentrations sanguines médianes de DDT/DDE en ng/g de lipides par année moyenne d'échantillonnage rapportées dans différentes études épidémiologiques	37
Figure 6 – Odds ratios et leur intervalle de confiance à 95 % rapportés dans des études épidémiologiques sur le lien entre l'exposition au DDT/DDE et le risque de cancer du sein	39
Figure 7 – Structure chimique des PCB	41
Figure 8 – Odds ratios et leur intervalle de confiance à 95 % rapportés dans des études épidémiologiques sur le lien entre l'exposition au PCB et le risque de cancer du sein	43
Figure 9 – Représentation conceptuelle du modèle PBPK.....	59
Figure 10 - Tendence temporelle des niveaux de contamination environnementale basée sur des données de production de PCB (○) et des estimations de dose quotidienne (Δ).....	61
Figure 11 - Exemple de profil toxicocinétique d'exposition au PCB-153 de deux femmes A et B, témoins de l'étude CECILE, âgées de 67 ans à la date du recrutement et ayant eu des événements de vie différents	86
Figure 12 - Nuage de points des niveaux de PCB-153 estimés pour la période d'âge 11-20 ans (logAUC11_20) en fonction de l'année de naissance chez les témoins de l'étude CECILE.....	91
Figure 13 - Profils toxicocinétiques vie-entière moyens de PCB-153 des témoins de l'étude CECILE en fonction de la cohorte de naissance	92
Figure 14 – Fonction spline cubique restreinte à 5 nœuds des niveaux de PCB-153 mesurés au recrutement modélisant le risque (OR) de cancer du sein	98
Figure 15 – Comparaison de la courbe de contamination environnementale construite pour cette étude avec celle estimée dans le cadre d'une autre étude	116

Liste des abréviations

AUC	Aire sous la courbe (<i>Area Under the Curve</i>)
CIRC	Centre International de Recherche sur le Cancer
DDE	Dichlorodiphényldichloroéthylène
DDT	Dichlorodiphényltrichloroéthane
HCB	Hexachlorobenzène
IC 95 %	Intervalle de confiance à 95 %
IMC	Indice de Masse Corporelle
InVS	Institut national de Veille Sanitaire
LD	Limite de détection
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
OR	Odds ratio
PBPK	Pharmacocinétique à base physiologique (<i>Physiologically-Based Pharmacokinetic</i>)
PCB	Polychlorobiphényle
<i>p,p'</i>-DDE	1,1-dichloro-2,2-bis(<i>p</i> -chlorophényl)éthylène
p_{tendance}	Degré de significativité du test de tendance
<i>p</i>-value	Degré de significativité des tests
RE	Récepteur œstrogène
RP	Récepteur progestérone
RR	Risque relatif
TEB	Bourgeon terminal (<i>Terminal End Bud</i>)
THM	Traitement hormonal de la ménopause

INTRODUCTION

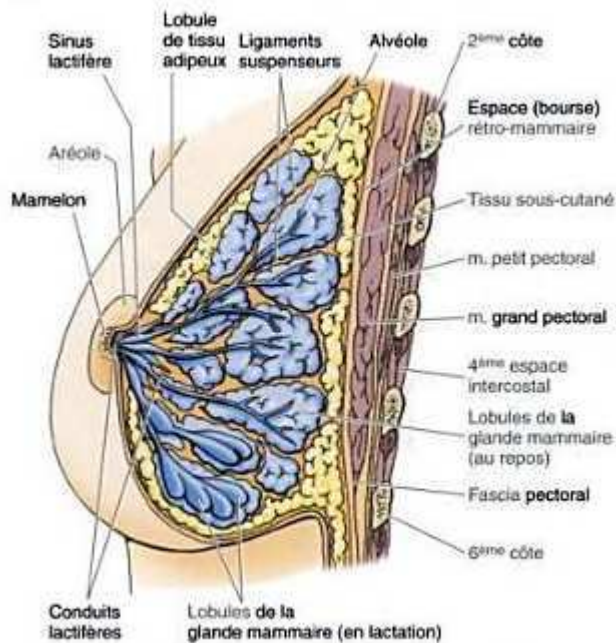
I. Cancer du sein : état des connaissances. Anatomie. Épidémiologie

1. Anatomie du sein et histologie du cancer du sein

Anatomie du sein

Le sein est une glande hémisphérique recouvrant les muscles pectoraux entre les seconde et sixième côtes. La structure interne de base du sein est constituée d'une vingtaine de lobes, chacun contenant vingt à quarante lobules. Chaque lobule est lui-même composé d'alvéoles, lieux de synthèse et de sécrétion du lait. Des canaux drainent séparément chacun des lobes et débouchent à la surface du mamelon par des pores indépendants (Daly-Schweitzer N. 2008). Ce réseau de conduits lactifères est présent à l'état rudimentaire chez les individus des deux sexes, de l'âge embryonnaire à l'âge adulte mais seules les femmes développent la partie glandulaire sous l'influence hormonale à partir de la puberté, le long des cycles et pendant la grossesse et l'allaitement (Figure 1).

Figure 1 – Coupe du sein et de la paroi thoracique antérieure



Source : Anatomie Médicale : aspects fondamentaux et applications cliniques p.74 (Moore and Dalley A.F. 2001)

Histologie du cancer du sein

Les tumeurs malignes de la glande mammaire se développent à partir des unités canalo-lobulaires. Suivant le niveau d'infiltration de la tumeur, les carcinomes sont classés en deux grandes catégories selon la Classification Internationale des Maladies pour l'Oncologie (CIM-O) publiée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) : les carcinomes *in situ* qui correspondent à une prolifération de cellules malignes sans rupture de la membrane basale (15 à 20% des cancers du sein) et les carcinomes infiltrants (Platet et al. 2004). On distingue également plusieurs types histologiques : les carcinomes intracanaux (atteinte des canaux lactifères) et lobulaires (atteinte des alvéoles) sont les plus fréquents. D'autres types histologiques plus rares tels que les carcinomes papillaires, médullaires, mucineux sont rencontrés. La présence de récepteurs hormonaux permet aussi de caractériser la tumeur : récepteurs œstrogène (RE+ / RE-) ou récepteurs progestérone (RP+ / RP-) notamment.

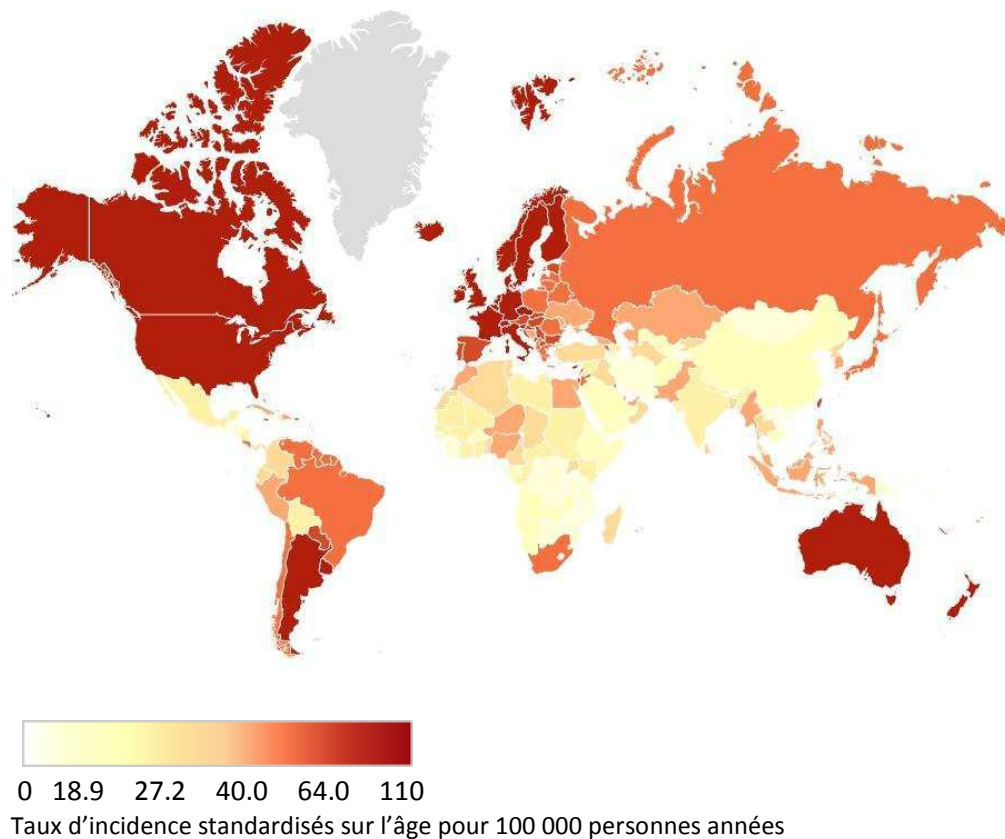
2. Épidémiologie descriptive

Incidence et ses variations

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez la femme. L'incidence à travers le monde est d'environ 1,15 million de nouveaux cas par an et ce cancer implique 410 000 décès par an (Parkin et al. 2005). En France, il représente un tiers des cancers féminins avec un taux d'incidence standardisé sur l'âge en 2005 de 101,5 pour 100 000 femmes-année contribuant à environ 50 000 nouveaux cas chaque année (Belot et al. 2008).

Dans le monde, les taux d'incidence de cancer du sein les plus élevés ont été enregistrés en Amérique du Nord, dans le Nord et l'Ouest de l'Europe, ainsi qu'en Australie. Les taux les plus faibles sont observés en Afrique, en Amérique du Sud et en Asie (Figure 2). Il existe également des variations géographiques au niveau européen avec des taux plus élevés en Europe de l'Ouest (Ferlay et al. 2007).

Figure 2 - Taux d'incidence standardisés des cancers du sein de la femme dans le monde (2008)



Source : *GLOBOCAN 2008, International Agency for Research on Cancer*

De 1973 à 1997, l'incidence des cancers du sein a augmenté partout dans le monde, mais de façon différente selon les régions. Aux États-Unis, les taux ont augmenté dans les années 1980 puis ont diminué dans les années 1990. Un déclin de l'incidence a été observé en 2003 suite à la diminution d'utilisation des traitements hormonaux de la ménopause (THM) (Ravdin et al. 2007). En Chine, les taux d'incidence ont connu une forte augmentation depuis les années 1970, en parallèle de l'industrialisation et de l'évolution du mode de vie (Jin et al. 1999 ; Seow et al. 1996).

En France, l'incidence du cancer du sein a augmenté de manière constante : le taux d'incidence standardisé à la population mondiale a presque doublé entre 1980 et 2005 passant de 56,8 à 101,5 cas pour 100 000. Toutefois, cette évolution (en moyenne de +2,4 % par an entre 1980 et 2005) s'est légèrement ralentie entre 2000 et 2005 (+2,1 % par an) (Belot et al. 2008). Les données médico-administratives décrivent une diminution de l'incidence du cancer du sein sur la période récente en

France en parallèle avec une baisse de la prescription des THM (Daubisse-Marliac et al. 2011). Selon l'hypothèse d'une stabilisation de l'évolution sur la période récente, le taux d'incidence standardisé sur la population mondiale est estimé à 100 cas pour 100 000 femmes en 2010 (HCL et al. 2010).

Études chez les migrants

Les migrantes en provenance de pays ayant des taux d'incidence faibles vers des pays industrialisés acquièrent rapidement les taux d'incidence du pays d'accueil. Par exemple, les femmes asiatiques ayant immigré aux États-Unis, ont connu une augmentation de l'incidence de 80 % après avoir vécu aux États-Unis pendant plus de 10 ans (Stanford et al. 1995 ; Ziegler et al. 1993). De plus, les filles de femmes ayant migré d'un pays à faible incidence vers un pays à forte incidence de cancer du sein acquièrent le risque de cancer du pays d'accueil (Buell 1973 ; Stanford et al. 1995).

3. Facteurs de risque reconnus/suspectés

À la suite de très nombreuses études, certains aspects de la vie hormonale et reproductive, et des facteurs génétiques ont été clairement identifiés comme facteurs de risque des cancers du sein.

Facteurs hormonaux et reproductifs

Le cancer du sein est un cancer hormono-dépendant. Les stéroïdes sexuels, en particulier les œstrogènes, jouent un rôle important dans le cancer du sein chez les femmes pré- et post-ménopausées (Hankinson and Eliassen 2007).

Les données expérimentales montrent que les œstrogènes jouent un rôle dans le développement et la croissance du cancer du sein (Clemons and Goss 2001) par des mécanismes qui n'ont pas complètement été élucidés. Les œstrogènes peuvent induire des dommages sur l'ADN (Nandi et al. 1995). Les œstrogènes peuvent également exercer des effets prolifératifs directs et indirects sur les cellules cancéreuses (Lupulescu 1995).

Les facteurs de risque reconnus du cancer du sein, décrits ci-dessous, sont souvent liés à une augmentation de la durée d'exposition aux œstrogènes.

Âge à la puberté, Âge à la ménopause

L'âge à la puberté et l'âge à la ménopause jalonnent respectivement le début et la fin de l'exposition des femmes aux hormones ovariennes endogènes (Li 2010). Un âge tardif à la puberté est un facteur protecteur reconnu du cancer du sein (Kelsey et al. 1993). D'après une analyse poolée des résultats de 21 études, le risque de cancer est diminué de 9 % pour chaque année supplémentaire avant la puberté chez les femmes pré-ménopausée et de 4 % chez les femmes post-ménopausées (Clavel-Chapelon and Gerber 2002).

Un âge tardif à la ménopause est également un facteur de risque reconnu du cancer du sein (Kelsey et al. 1993). Chaque année supplémentaire avant la ménopause augmente le risque d'environ 3 % (Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer 1997).

Parité et âge au premier enfant

De façon générale, les femmes multipares ont un risque plus faible de cancer du sein que les femmes nullipares (Kelsey et al. 1993). La parité diminue à long terme le risque de cancer du sein (Albrektsen et al. 2005). De plus, l'âge au premier enfant est associé au risque de cancer du sein, indépendamment de la parité. Chaque année retardant l'âge au premier enfant augmente le risque de 5 % et de 3 % chez les femmes en pré- et en post-ménopause respectivement (Clavel-Chapelon and Gerber 2002).

L'effet protecteur de la parité résulte de la différenciation des cellules de la glande mammaire induite par la grossesse. Ces cellules deviennent alors moins sensibles aux actions des cancérogènes (Henderson and Bernstein 1991). Plus l'âge au premier enfant est précoce, plus les femmes bénéficient de la période de protection induite par la différenciation des cellules épithéliales glandulaires.

Allaitement

D'après une analyse poolée de données individuelles obtenues à partir de 47 études cas-témoins (nichées dans des cohortes ou rétrospectives) dans 30 pays, l'allaitement entraîne une

diminution du risque de cancer (Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer 2002). Le risque relatif de cancer du sein décroît de 4,3 % par année d'allaitement. L'allaitement pourrait rendre les cellules plus résistantes aux cancérogènes du fait d'une différenciation complète des cellules épithéliales et pourrait réduire la durée d'exposition aux œstrogènes grâce à la prolongation de période d'anovulation et au report du rétablissement des cycles menstruels (Kelsey et al. 1993).

Contraceptifs oraux

D'après une analyse poolée de données individuelles obtenues à partir de 54 études cas-témoins, les contraceptifs oraux représentent un facteur de risque modéré du cancer du sein, avec un risque relatif de 1,24 pour les utilisatrices actuelles par rapport aux femmes n'ayant jamais pris de contraceptifs (Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer 1996). Cet excès de risque disparaît dans les dix ans suivant l'arrêt de l'utilisation.

Traitement hormonal de la ménopause (THM)

L'étude Million Women Study (MWS) initiée en 1996 a permis de suivre plus d'un million de femmes âgées de 50 à 64 ans au Royaume-Uni. Les premiers résultats obtenus en 2003 ont montré que la prise actuelle de traitement à base d'une combinaison œstroprogestative doublait le risque de cancer (Million Women Study Collaborators and Beral 2003). Ce risque augmente avec la durée du traitement.

Facteurs anthropométriques

La taille est associée à une augmentation modérée du risque de cancer du sein (Friedenreich 2001). La taille pourrait refléter l'apport énergétique nutritionnel dans l'enfance, des prédispositions génétiques, des expositions prénatales et des niveaux élevés des facteurs de croissance (IGF-1 *Insuline-like Growth Factor-1*).

Le poids et l'indice de masse corporelle (IMC) sont inversement associés avec le risque de cancer du sein chez les femmes pré-ménopausées (Friedenreich 2001). Après la ménopause, un poids ou un IMC plus élevés sont associés à une augmentation du risque (Lahmann et al. 2004a ;

Lahmann et al. 2004b). Avant la ménopause, les femmes en surpoids ont un plus faible nombre d'ovulations et une diminution du taux sanguin d'hormones. À la ménopause, la production d'œstrogènes dans les ovaires est stoppée, mais elle se poursuit dans les tissus adipeux. Une femme ménopausée avec un IMC élevé a donc une production accrue d'œstrogènes (Carroll 1998).

Facteurs liés au mode de vie

Nutrition

Peu de facteurs alimentaires sont clairement associés au cancer du sein dans les études épidémiologiques. Des études ont été menées sur l'apport en graisses, la consommation de fruits et légumes, l'apport en glucides, en vitamines anti-oxydantes (A, C, E et bêta-carotène), les consommations journalières de vitamine D, de soja et d'isoflavones, de thé vert, de café (Michels et al. 2007) mais les résultats de ces études ne sont pas totalement convergents.

L'alcool est le seul facteur de risque alimentaire clairement associé au risque de cancer du sein. Les études montrent une association linéaire modérée du risque de cancer du sein avec une augmentation de la consommation d'alcool. Une étude basée sur la cohorte EPIC (European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition) a trouvé une augmentation de 3 % (IC 95 % : 1-5) du risque de cancer du sein par verre d'alcool (10 g d'éthanol) par jour parmi 274 688 femmes dont 4 285 étaient des cas incidents de cancer du sein (Tjonneland et al. 2007).

Activité physique

Les femmes pratiquant une activité physique régulière ont un risque diminué de cancer du sein (Vainio et al. 2002). Une revue d'études publiées incluant 19 cohortes et 29 études cas-témoins rapporte l'existence d'un effet protecteur de l'activité physique sur le risque de cancer du sein en post-ménopause (Monninkhof et al. 2007). Cette diminution de risque peut-être expliquée par des modifications hormonales et par une amélioration de la fonction immunitaire (McTiernan 2008).

Tabac

Jusqu'en 2002, la plupart des études sur le lien entre la consommation de tabac et le risque de cancer du sein ne montrent pas d'association (Hankinson and Hunter 2002). Cependant des études récentes ont suggéré une augmentation du risque chez les fumeuses, en particulier si l'exposition est longue ou débute avant la première grossesse, laissant penser que l'effet du tabac pourrait varier au cours de la vie et selon le début de l'exposition (Expertise collective Inserm 2008). Une étude a réalisé une analyse poolée de 20 études ayant mesuré à la fois l'exposition au tabac actif et au tabac passif. Un risque relatif « poolé » de 1,46 (IC 95 % : 1,15-1,85) est observé pour les femmes ayant fumé comparées aux femmes n'ayant jamais fumé et n'ayant pas été exposées de façon passive (Johnson 2005). La difficulté pour les études observationnelles à mesurer l'effet du tabac sur le risque de cancer du sein pourrait être dû au fait que plusieurs actions biologiques du tabac s'opposent. Fumer pourrait augmenter le risque par l'exposition à des cancérogènes connus, tels que le benzopyrène, contenus dans le tabac. À l'opposé, fumer pourrait réduire le risque par un effet anti-œstrogénique ou une altération du métabolisme hormonal.

Maladies bénignes du sein

Des antécédents personnels de maladies bénignes du sein sont associés à un risque accru de cancer du sein (Bodian CA, 1993). Les lésions bénignes non-prolifératives et les lésions prolifératives sans atypie, c'est-à-dire sans anomalie cellulaire, sont associées à une faible augmentation de risque de cancer du sein, tandis que les lésions prolifératives avec atypie multiplient le risque par 4 (Dupont and Page 1987). Les maladies bénignes du sein peuvent être considérées comme des facteurs de risque des cancers du sein ou comme des lésions précancéreuses.

Hérédité

Les femmes ayant un, deux ou trois parents du premier degré atteints d'un cancer du sein ont un risque multiplié respectivement par 2, 3 ou 4 par rapport aux femmes sans antécédents familiaux

(Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer 2001). Deux types de gènes sont associés au risque de cancer du sein :

- **les gènes à forte pénétrance.** Les mutations sur les gènes BRCA1 et BRCA2, rares dans la population, entraînent des risques de cancer très élevés chez les femmes qui en sont porteuses (Ford et al. 1998). D'autres mutations sur les gènes ATM, BRIP1, CHEK2, PALB2 et RAD51C entraînent des risques élevés (Hindorff et al. 2011). Globalement, ces formes héréditaires de cancer représentent moins de 5 % de l'ensemble des cancers du sein (Narod 2002).

- **les variants à faible pénétrance.** Les études d'association sur le génome entier ont permis d'identifier des polymorphismes génétiques relativement fréquents en population (> 1 %) qui ont été associés avec le risque de cancer du sein avec des odds ratios inférieurs à 1,5. Une quinzaine de ces variants été mis en évidence jusqu'à présent (Ahmed et al. 2009 ; Easton et al. 2007 ; Long et al. 2010 ; Thomas et al. 2009).

Part expliquée par les facteurs reconnus

Les facteurs de risque du cancer du sein peuvent être classés en trois groupes : facteurs hormonaux et reproductifs ; facteurs héréditaires ; facteurs environnementaux ou liés au mode de vie.

Des auteurs ont estimé qu'aux États-Unis moins de la moitié des cancers du sein serait liée aux principaux facteurs de risque reconnus (âge tardif à la première grossesse, nulliparité, antécédents familiaux de cancer du sein) (Madigan et al. 1995). D'après des études portant sur des cohortes de jumeaux, 73 % des cas de cancer du sein sont attribuables à des facteurs non héréditaires (Lichtenstein et al. 2000). Enfin, une étude montre que 21 % de l'ensemble des décès par cancer du sein dans le monde peuvent être attribués à la consommation d'alcool, au surpoids et à l'obésité, et à l'absence d'exercice physique (Danaei et al. 2005).

En conclusion, ces éléments suggèrent que d'autres facteurs de risque de cancer du sein, plus rarement étudiés comme les facteurs environnementaux, pourraient jouer un rôle dans l'apparition de la maladie.

4. Facteurs de risque environnementaux

Introduction

Par facteurs environnementaux, nous entendons les expositions environnementales que les personnes subissent de façon passive, et qui sont dues à des pollutions ou des caractéristiques du monde extérieur (Laden and Hunter 1998).

Les expositions environnementales ont été relativement peu étudiées comme facteurs de risque potentiels de cancer du sein, mais elles constituent des candidats possibles comme en témoignent l'augmentation de l'incidence dans le monde et ses variations géographiques, les études de migrantes montrant l'acquisition rapide des taux d'incidence du pays d'accueil, et enfin la faible part expliquée par les facteurs reconnus de cancer du sein. Les principales expositions environnementales pouvant jouer un rôle dans le cancer du sein sont détaillées ci-dessous.

Radiations ionisantes

Les radiations ionisantes constituent la seule exposition environnementale dont les effets dans la cancérogénèse mammaire sont bien établis. Une relation linéaire dose-réponse a été observée de façon constante, avec des risques relatifs de 6,4 pour une exposition supérieure à 4 Gray (John and Kelsey 1993). L'âge à l'exposition influence le risque comme cela a été montré à partir d'études réalisées chez les survivants des bombes atomiques au Japon (Tokunaga et al. 1994). En 2000, le CIRC (Centre International de Recherche sur le Cancer) a classé les radiations ionisantes dans le groupe 1, c'est-à-dire cancérogènes pour l'homme sur la base de preuves suffisantes chez l'homme (IARC (International Agency for Research on Cancer) 2000).

Travail posté et travail de nuit

Le travail posté correspond au travail de nuit ou à horaires décalés. Il a été classé dans le groupe 2A (probablement cancérigène) par le CIRC, sur la base de preuves limitées chez l'homme et suffisantes chez l'animal (IARC (International Agency for Research on Cancer) 2010).

Les horaires de travail atypiques, et plus particulièrement le travail de nuit, provoquent des perturbations de l'horloge biologique interne qui régule l'alternance des périodes de veille et de sommeil, entraînant des modifications du système hormonal, et une baisse des défenses immunitaires. Ces perturbations ont des répercussions sur la différenciation cellulaire et les mécanismes d'apoptose, et pourraient entraîner un risque accru de cancer (Fu and Lee 2003 ; Straif et al. 2007).

Champs électromagnétiques (CEM)

L'hypothèse du rôle de l'exposition aux CEM dans le cancer du sein avait été évoquée sur la base d'un lien avec la sécrétion d'œstrogènes entraînée par la suppression du pic nocturne de mélatonine chez les sujets résidant à proximité de lignes haute tension (IARC (International Agency for Research on Cancer) 2002). Aucune association claire n'a été montrée dans les études épidémiologiques avec le cancer du sein chez la femme (Laden and Hunter 1998).

Tabac Passif

D'après une analyse poolée réalisée en 2005 de 20 études ayant mesuré à la fois l'exposition au tabac actif et au tabac passif (Johnson 2005), les femmes exposées au tabac passif ont un risque augmenté de cancer du sein, avec un risque relatif « poolé » de 1,27 (IC 95 % 1,11 - 1,45).

Étant donnée la différence des niveaux d'exposition, il peut sembler paradoxal que le risque associé au tabac passif soit presque aussi élevé que le risque associé au tabac actif. D'une part, des biais de sélection, confusion ou d'information sont possibles. D'autre part, une étude a montré que les taux d'adduits de l'ADN étaient plus élevés chez les sujets exposés au tabac passif que chez ceux exposés au tabac actif, suggérant que le tabac passif agit différemment du tabac actif (Vineis et al.

1994). L'effet anti-oestrogénique du tabac pourrait ne s'exercer que si l'exposition est suffisamment élevée, impliquant que seuls les effets néfastes du tabac (exposition à des cancérogènes) se manifestent chez les femmes exposées au tabac passif.

En résumé, l'exposition au tabac passif est un facteur de risque de cancer du sein, avec un niveau de risque assez faible, légèrement inférieur au niveau associé au tabac actif (Expertise collective Inserm 2008).

Perturbateurs endocriniens

Les perturbateurs endocriniens sont constitués d'une grande variété de composés chimiques pouvant interférer avec la fonction endocrinienne normale. **Ces polluants environnementaux font l'objet de la deuxième partie de cette introduction.**

II. Perturbateurs endocriniens

1. Définition générale

Définition

Un perturbateur endocrinien est défini comme « une substance étrangère à l'organisme qui produit des effets délétères sur l'organisme ou sur sa descendance, à la suite d'une modification de la fonction hormonale » (Cravedi et al. 2007). Des substances très diverses possèdent des propriétés de perturbation endocrinienne comme le montre le Tableau 1.

Tableau 1 – Liste sélective de perturbateurs endocriniens

Compound	Exposures/uses
Pesticides	
Atrazine	Selective herbicide
Chlordane	Insecticide, acaricide, veterinary pharmaceutical
Chlorpyrifos	Insecticide, acaricide
Cypermethrin	Insecticide
2,4-Dichlorophenoxyacetic acid	Herbicide
DDT (and associated compounds)	Contact insecticide
Dieldrin, aldrin, endrin	Formerly as insecticide
Lindane	Insecticide
Malathion	Insecticide
Methoxychlor	Insecticide, veterinary pharmaceutical
Pentachlorophenol	Insecticide for termite control, wood preservative
Permethrin, sumithrin	Insecticide
Toxaphene	Insecticide
Tributyl tin (chloride)	Biocide, rodent repellent
Vinclozolin	Agricultural fungicide
Persistent non pesticide OCs and PAHs	
PAHs	Compounds present in industrial air pollutants, smoke from coal or coke-burners, tobacco tar, some foods
Polybrominated biphenyls	Formerly as flame retardant
Polybrominated diphenyl ethers	Flame retardants
PCB (Aroclor 1254)	No longer produced commercially—since 1974, in closed electrical capacitors and transformers; before 1972, in transformers and other electrical equipment, carbonless copy paper
Dioxins and furans	Produced during incineration, paper manufacturing, and production of chlorine aromatics; impurity in some herbicides
Phenols and alkylphenols	
Bisphenol A	Polycarbonate and polyester–styrene resins
4-tert-Butylphenol	Intermediate in the manufacturing of varnish and lacquer resins, soap antioxidant
Nonylphenol polyethoxylate, 4-nonylphenol, 4-octylphenol	Surfactant, detergent, defoaming agent, some pesticide formulations, degradation product of alkylphenol ethoxylated antioxidant in some plastics
o-Phenylphenol	Disinfectant fungicide, in the rubber industry
Phthalates	
bis(2-Ethylhexyl) phthalate, butyl-	Commonly used plasticizer for polyvinyl chloride benzyl phthalate polymers
Di-n-butyl phthalate, diethyl phthalate	Personal care products such as nail polish, perfume, hair spray, plasticizers, inks, adhesives, other uses
Parabens	
Butyl, ethyl, methyl, propyl paraben	Pharmaceutical aid (antifungal), preservative in foods; in creams, lotions, ointments, other cosmetics
Other organics	
Amsonic acid	In manufacturing of dyes, bleaching agents, optical brighteners or fluorescent whitening agents
Styrene	Manufacturing plastics, synthetic rubber, resins; insulator
Vinyl acetate	Used in the production of a wide range of polymers, including polyvinyl acetate, polyvinyl alcohol; widely used in production of adhesives, paints, food packaging
Metals	
Cadmium, lead	Batteries, plastic stabilizers, pigments
Mercury	Thermometers, dentistry, pharmaceuticals, agricultural chemicals, antifouling paints, many other uses
Phytoestrogens	
Genistein, coumestrol, zearalenone	Soy, grains, grain molds

Data from Budavari (1996), Harris et al. (1997), IARC (1998), Illinois Environmental Protection Agency (1997), Routledge et al. (1998), Smith and Quinn (1992), Soto et al. (1995), and SRI International (1995).

Source : (Brody and Rudel 2003)

Historique

La question de la perturbation endocrinienne liée à des substances présentes dans l'environnement a émergé dans les années 1960 aux États-Unis (Carson 1962). En 1991 a eu lieu la conférence de Wingspread dans le Wisconsin aux États-Unis au cours de laquelle des effets délétères sur la santé animale ont été mis en parallèle avec la contamination de l'environnement par des polluants tels que les PCB, le DDT. Ces effets incluent des dysfonctionnements de la fonction thyroïdienne, un déclin de la fertilité, une féminisation des mâles et une masculinisation des femelles chez les oiseaux et les poissons notamment (Colborn et al. 1993 ; Soto and Sonnenschein 2010).

Dans les années 1990 ont été publiées plusieurs études chez l'humain sur le déclin de la qualité du sperme, l'augmentation de certaines anomalies du développement du tractus génital, ainsi que sur l'augmentation de l'incidence de tumeurs hormono-dépendantes comme le léiomyome utérin, le cancer des testicules et le cancer du sein (Auger et al. 1995 ; Skakkebaek et al. 2001 ; Soto and Sonnenschein 2010 ; Toppari et al. 1996).

Utilisation

De nombreux perturbateurs endocriniens sont présents dans l'environnement quotidien. Ils peuvent être de synthèse (substances chimiques à usage agricole ou industriel, médicaments humains ou vétérinaires, molécules utilisées dans les plastiques ou les produits cosmétiques) ou naturels comme les phytoestrogènes. Ils peuvent être présents aussi bien dans l'eau, l'air, le sol, les objets domestiques ou la chaîne alimentaire (Brody and Rudel 2008 ; Fenichel and Brucker-Davis 2008).

Mécanismes d'action

La majorité des études portant sur les mécanismes d'action des perturbateurs endocriniens portent sur la liaison des substances aux récepteurs nucléaires des hormones stéroïdes (récepteurs œstrogènes RE et androgène AR), entraînant des effets (anti)-œstrogéniques ou (anti)-androgéniques (Expertise collective Inserm 2011 ; Schug et al. 2011). Les effets de perturbation

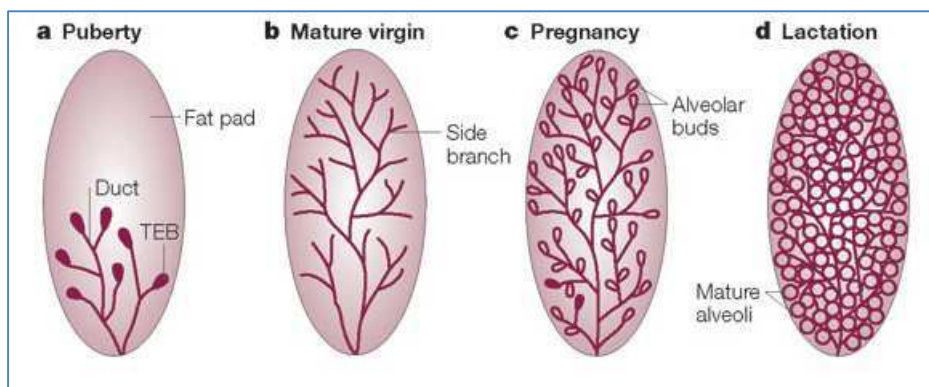
endocrinienne peuvent en réalité survenir par de multiples modes d'action. Ainsi selon la définition de l'Agence de Protection Environnementale aux États-Unis (EPA), un perturbateur endocrinien peut exercer ses effets en interférant avec la production, le transport, la liaison, le métabolisme, ou l'élimination des hormones (Kavlock et al. 1996).

Du fait de leurs effets sur la fonction endocrinienne et les hormones stéroïdes, les perturbateurs endocriniens ont été suspectés de contribuer au risque de cancer du sein (Davis et al. 1993).

Fenêtres de susceptibilité

Chez la femme, le sein est un organe qui n'est pas complètement développé à la naissance. Il subit des changements successifs en taille, forme, et fonction en lien avec la croissance infantile, la puberté, les grossesses, l'allaitement et la régression post-ménopausale (Russo and Russo 2004). Les différentes étapes peuvent être divisées en deux phases distinctes : la phase développementale et la phase de différenciation. La phase développementale inclut les premières étapes de la morphogénèse de la glande, de l'épithélium du mamelon à la formation des lobules au stade prénatal. Dans la formation des lobules à la puberté, le développement et la différenciation des bourgeons terminaux (Terminal End Buds ou TEB en anglais) ont lieu simultanément. La différenciation finale se fait par des stimuli hormonaux induits au moment de la grossesse et de l'allaitement (Russo and Russo 1996). Les étapes du développement mammaire sont schématisées sur la Figure 3.

Figure 3 – Développement mammaire pendant la puberté, la grossesse et l'allaitement



Source (Hennighausen and Robinson 2005)

Il a été montré expérimentalement chez l'animal que l'exposition à des perturbateurs endocriniens peut ralentir ou au contraire accélérer la différenciation des TEB survenant en période péri-pubertaire (Fenton 2006). La vulnérabilité des cellules mammaires aux cancérogènes présents durant cette période serait accrue ou diminuée en fonction du degré de différenciation. Des perturbations du développement de la glande mammaire à certaines périodes critiques du développement pourraient ainsi être à l'origine d'effets délétères à long terme, et entraîner des troubles de l'allaitement, et/ou influencer le risque de cancer du sein (Rudel et al. 2011).

Ces considérations soulignent l'importance dans les études épidémiologiques de tenir compte de la chronologie des expositions en fonction des périodes critiques du développement mammaire, comme la période périnatale, la période péri-pubertaire, et les périodes de grossesse et d'allaitement (Brody and Rudel 2008 ; Wolff et al. 1996).

Exemple du diéthylstilbestrol (DES)

Le diéthylstilbestrol (DES) est un diphénol de synthèse aux propriétés œstrogéniques puissantes. Synthétisé en 1938, il fut par la suite commercialisé en tant que médicament sous le nom de Distilbène en France. Il a été prescrit aux femmes pour éviter les complications de grossesse (Hoover et al. 2011). Dans les décennies qui ont suivi les premières prescriptions, des anomalies génitales ont été rapportées chez les enfants nés de mères ayant pris du DES pendant leur grossesse. Chez les filles, on a observé des malformations génitales, des risques augmentés de cancer du vagin, et de nombreux cas de stérilité (Barnes et al. 1980 ; Herbst et al. 1972). Concernant le cancer du sein, l'exposition au DES pendant la grossesse a été associée à une augmentation du risque chez la mère et chez la fille (Clemons and Goss 2001 ; Titus-Ernstoff et al. 2001). L'exemple du DES est typique d'une exposition in utero entraînant un risque de cancer du sein à long terme.

Définition des composés organochlorés

Parmi les perturbateurs endocriniens, nous nous intéressons dans ce travail de thèse aux composés organochlorés. Ils constituent une large famille de composés organiques de synthèse,

comportant au moins un atome de chlore. Ils sont utilisés entre autres comme insecticides (DDT, aldrine, dieldrine, toxaphène, chlordane, heptachlore), fongicides (hexachlorobenzène, captan) ou herbicides (chlorbufam, mécoprop, dichlorprop), isolants (polychlorobiphényles), solvants, produits de combustion (dioxines) ou réfrigérants (chlorofluorocarbones).

Ces composés sont des polluants **ubiquitaires et persistants dans l'environnement** avec des demi-vies de plusieurs années. Ils contaminent la chaîne alimentaire qui constitue la principale source de l'exposition humaine. Ils sont lipophiles et s'accumulent dans les tissus gras qui constituent le principal lieu de stockage chez l'homme. Ils sont également détectés dans le sang, du fait d'un équilibre entre compartiments sanguins et adipeux (Rusiecki et al. 2005 ; Stellman et al. 1998). La forte corrélation entre les niveaux mesurés dans chacun de ces compartiments permet d'utiliser les dosages sanguins comme mesures d'exposition de l'organisme.

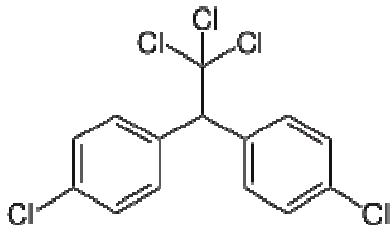
Nous nous intéressons ici à des composés particulièrement persistants dans l'environnement et les tissus biologiques et dont les effets sur la santé humaine ont été les plus étudiés : **le DDT et les PCB.**

2. Le DDT et le DDE

Définition, production, utilisation

Le DDT ($C_{14}H_9Cl_5$) ou dichlorodiphényltrichloroéthane (Figure 4) est un insecticide utilisé à partir de 1939 pour contrôler le vecteur de la malaria. Au cours des années 1960, il a été utilisé largement en agriculture. Il a été interdit en France en 1971 et d'après l'EFSA (Autorité Européenne de Sécurité des Aliments), les quantités de DDT utilisées en Europe sont négligeables depuis le milieu des années 1980 (EFSA 2006). Le DDT technique est un mélange de différents isomères : 85 % de *p,p'*-DDT, 15 % de *o,p'*-DDT, traces de *o,o'*-DDT.

Figure 4 – *p,p'*-dichlorodiphényltrichloroéthane (*p,p'*-DDT)

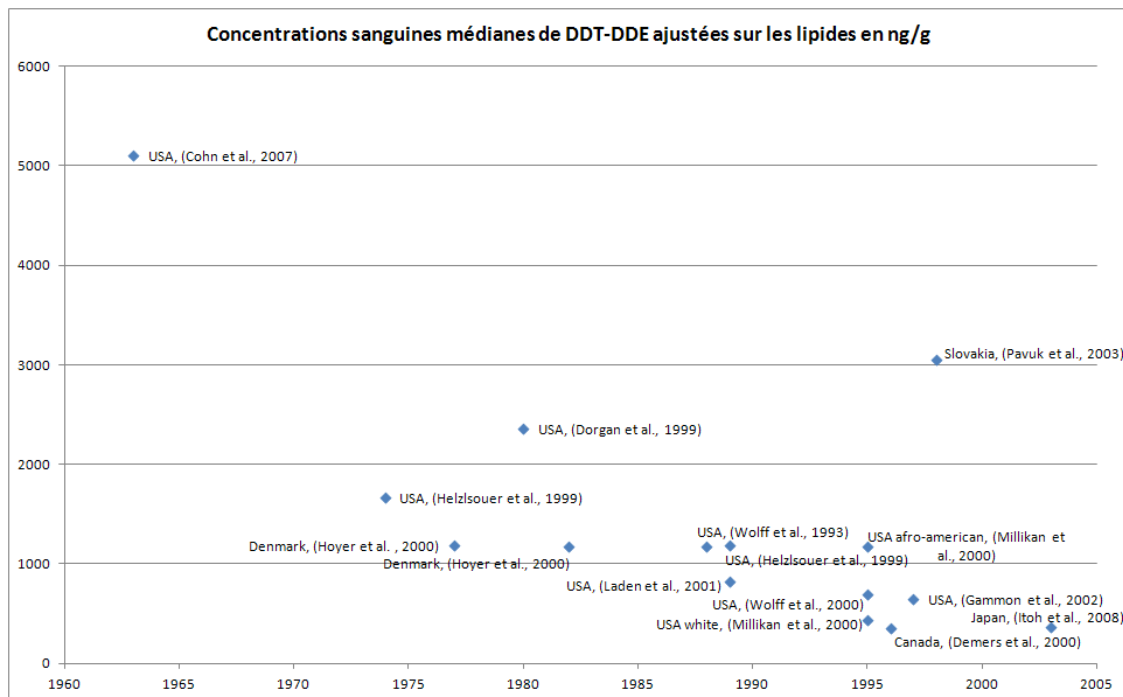


Le DDE (dichlorodiphényldichloroéthylène) est le principal métabolite du DDT (INERIS 2007), provenant de la dégradation du DDT par les organismes vivants. Il est plus persistant dans l'environnement et dans les systèmes biologiques. L'isomère *p,p'*-DDE représente le principal biomarqueur d'exposition au DDT utilisé dans les études biologiques. La demi-vie biologique du *p,p'*-DDT chez l'homme est de 4,2 à 5,6 ans (Smith 1999) et celle du *p,p'*-DDE est de 8,6 ans (Wolff et al. 2000b).

Exposition des populations

Actuellement, le *p,p'*-DDE est détecté dans le sérum des sujets en population générale. Aux États-Unis, d'après l'étude NHANES (National Health And Nutrition Examination Survey) conduite en 2003-2004, les femmes ont des niveaux moyens de 241 ng/g de lipides (Centers for Disease Control and Prevention 2009). En France, d'après l'étude ENNS (Étude Nationale Nutrition Santé) menée par l'Institut national de Veille Sanitaire (InVS) sur 400 adultes de la population générale de 18 à 74 ans en 2006-2007, les niveaux moyens sont de 120 ng/g de lipides. Les niveaux sanguins chez l'homme ont cependant atteint des seuils beaucoup plus élevés dans les années 1960-1970 à l'époque où le DDT était encore largement utilisé comme on peut le lire sur la Figure 5.

Figure 5 - Concentrations sanguines médianes de DDT/DDE en ng/g de lipides par année moyenne d'échantillonnage rapportées dans différentes études épidémiologiques



Déterminants des niveaux d'exposition

Plusieurs études ont identifié des facteurs individuels influençant les concentrations sanguines de *p,p'*-DDE (Glynn et al. 2007 ; Glynn et al. 2003 ; Hagmar et al. 2006 ; James et al. 2002 ; Laden et al. 1999 ; Moysich et al. 2002a ; Sarcinelli et al. 2003 ; Schildkraut et al. 1999 ; Vo et al. 2008 ; Wolff et al. 2005a ; Wolff et al. 2005b). L'âge est le facteur le plus prédictif des concentrations, puisque le *p,p'*-DDE se bio-accumule dans les tissus adipeux au cours du temps. Des études ont également observé que les niveaux sanguins de *p,p'*-DDE augmentent avec la consommation de poisson (Glynn et al. 2007 ; Sarcinelli et al. 2003), et de produits laitiers (Moysich et al. 2002a).

Les caractéristiques individuelles influençant la toxicocinétique du *p,p'*-DDE sont également des déterminants des concentrations dans les tissus humains. Selon les études, l'IMC est associé avec soit une augmentation (Glynn et al. 2003 ; Wolff et al. 2005a) soit une diminution (James et al. 2002) des niveaux de DDT/DDE. Les niveaux de *p,p'*-DDE diminuent avec le nombre d'enfants allaités et la durée de chaque allaitement, l'allaitement représentant la première voie d'excrétion (Rogan et al.

1986). Enfin, le lieu de résidence est également un facteur prédictif des niveaux de *p,p'*-DDE dans plusieurs études (Glynn et al. 2003 ; Laden et al. 1999).

Une description des études publiées sur les déterminants des niveaux de *p,p'*-DDE se trouve en Annexe I.

Liens avec le cancer du sein

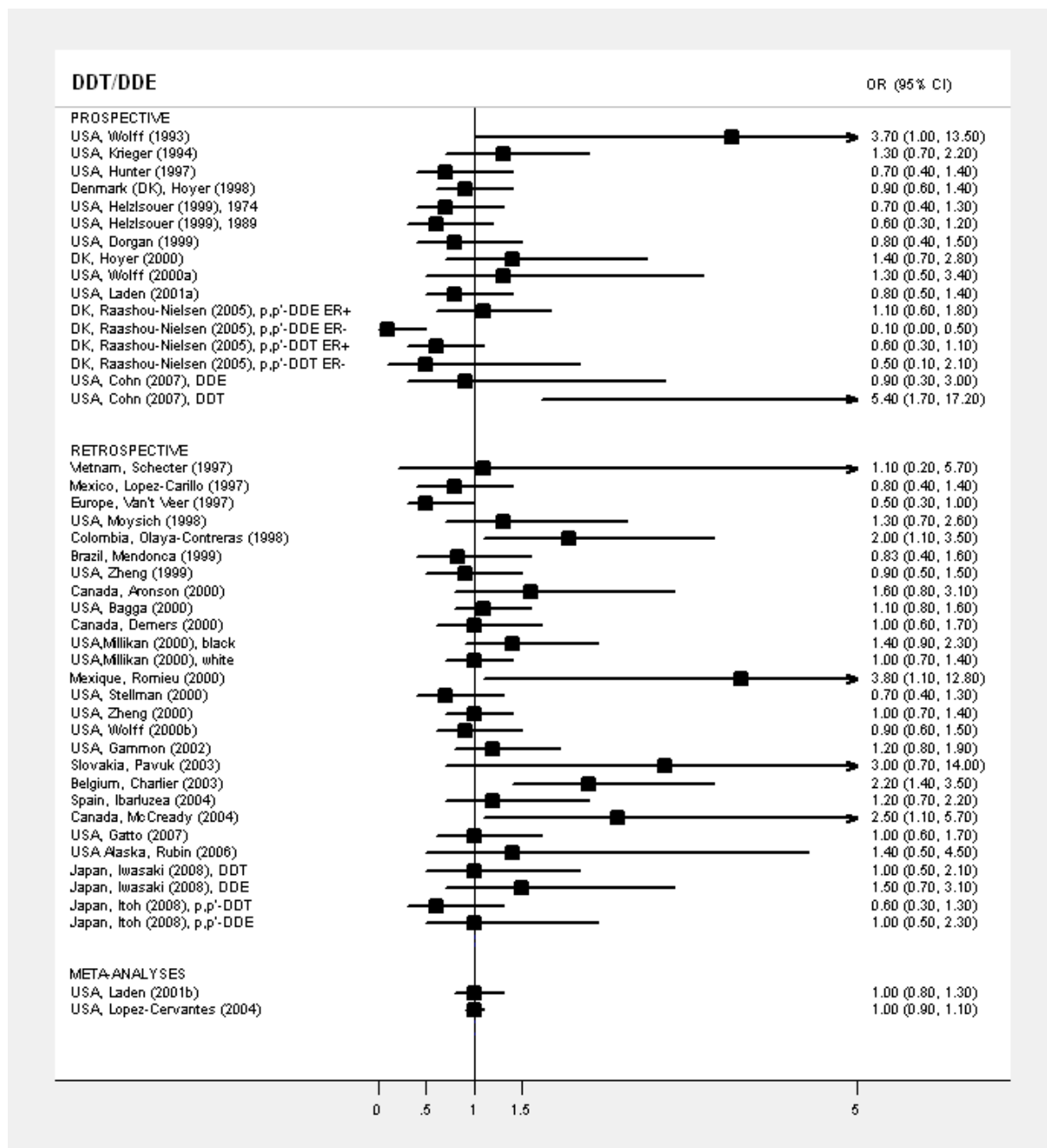
Le CIRC a classé le DDT et ses composés associés dans le groupe 2B, c'est-à-dire possiblement cancérigène pour l'homme sur la base de preuves inadéquates chez l'homme et de preuves suffisantes dans les études expérimentales chez l'animal (IARC (International Agency for Research on Cancer) 1991).

En 1993 a été publiée la première étude prospective montrant une association entre les niveaux sanguins de DDE mesurés chez des new-yorkaises et le risque de cancer du sein (OR = 3,7 ; IC 95 % 1,0 - 13,5 en comparant le 5^{ème} au 1^{er} quintile de la distribution du DDE) (Wolff et al. 1993).

Les études réalisées par la suite n'ont cependant pas permis de mettre en évidence une augmentation aussi nette du risque de cancer du sein avec les niveaux de DDE ou de DDT (Figure 6).

Quelques exceptions sont cependant à noter : deux études cas-témoins effectuées l'une en Colombie (Olaya-Contreras et al. 1998) et l'autre au Mexique (Romieu et al. 2000) montrent des associations statistiquement significatives avec les taux de DDE sériques. Ce résultat est intéressant sachant que le DDT a encore été utilisé récemment dans ces pays pour la lutte anti-moustique et pour l'agriculture expliquant l'existence de niveaux de contamination élevés parmi les sujets étudiés. Il faut toutefois noter que d'autres études conduites dans des pays où le DDT est d'utilisation récente ne confirment pas l'association entre l'exposition à cet insecticide et le cancer du sein (Lopez-Carrillo et al. 1997 ; Mendonca et al. 1999 ; Schechter et al. 1997).

Figure 6 – Odds ratios et leur intervalle de confiance à 95 % rapportés dans des études épidémiologiques sur le lien entre l'exposition au DDT/DDE et le risque de cancer du sein



PROSP., études prospectives RETROSP., études rétrospectives SERUM, études basées sur des mesures dans le sérum
ADIP. TISSUE, études basées sur des mesures dans les tissus adipeux

Les études de Krieger et coll. (1994) et de Cohn et coll. (2007) aux États-Unis méritent également une attention particulière sachant que les prélèvements sanguins ont été effectués avant l'interdiction du DDT aux États-Unis (Cohn et al. 2007 ; Krieger et al. 1994) et portent sur des sujets dont les taux sériques sont plus élevés que dans les études ultérieures. L'étude de Krieger et coll.

(1994) ne rapporte pas d'association globale entre le DDE et le cancer du sein (Krieger et al. 1994). L'odds ratio était sensiblement augmenté chez les femmes afro-américaines en comparant le tertile d'exposition le plus élevé au tertile d'exposition le plus faible (OR = 3,85 ; IC 95 % 0,93 - 16,05). Cohn et coll. (2007) ont montré que des niveaux élevés de *p,p'*-DDT multipliaient par 5 le risque de cancer du sein à l'âge adulte chez les femmes âgées de moins de 14 ans en 1945, c'est-à-dire chez celles qui étaient en période pubertaire lorsque l'utilisation massive de DDT a débuté aux États-Unis (Cohn et al. 2007).

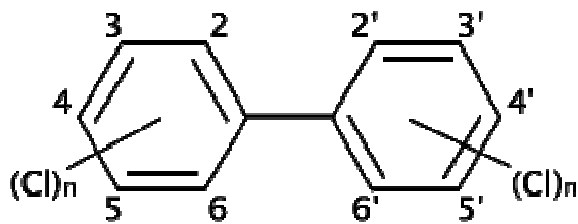
Certains auteurs ont cherché à stratifier leurs analyses sur le statut ménopausique (Aronson et al. 2000 ; Helzlsouer et al. 1999 ; Lopez-Carrillo et al. 1997 ; Romieu et al. 2000 ; Schechter et al. 1997), le statut des récepteurs œstrogène (Dewailly et al. 1994 ; Gatto et al. 2007 ; Helzlsouer et al. 1999 ; Hunter et al. 1997) ou encore sur certains polymorphismes de gènes impliqués dans le métabolisme de xénobiotiques (Helzlsouer et al. 1999) mais n'ont pas retrouvé d'association significative entre les concentrations en DDE et le risque de cancer du sein. Une description des articles publiés de 1993 à 2010 sur le lien entre les niveaux de DDE/DDT et le risque de cancer du sein se trouve en Annexe II.

3. Les PCB

Définition, production, utilisation

Les polychlorobiphényles (PCB) sont des molécules de biphényle dans lesquelles des atomes de chlore remplacent des atomes d'hydrogène (Figure 7). Elles ont été largement utilisées dans l'industrie pour leur propriété isolante, leur stabilité chimique et physique dans les plastifiants, revêtements de surface, encres, adhésifs, retardateurs de flamme, huiles de coupe, peintures, papiers duplicateurs et fluides diélectriques dans les transformateurs et condensateurs (WHO (World Health Organization) 2003). La production industrielle des PCB a cessé en 1987 en France.

Figure 7 – Structure chimique des PCB



Il existe 209 congénères de PCB différents. Certains sont de type dioxine, *dioxin-like* en anglais (PCB-DL). Ils comprennent à la fois les congénères non-ortho substitués (ou coplanaires) et les congénères mono-ortho substitués. Parmi les PCB *non dioxin-like* (PCB-NDL), certains PCB particulièrement rémanents, nommés PCB-indicateurs sont utilisés comme traceurs des PCB (EFSA (European Food Safety Agency) 2005). Ces PCB ont des demi-vies de plusieurs décennies (Milbrath et al. 2009).

Exposition des populations

En raison de l'utilisation et de la dégradation de matériels contenant des PCB, la pollution environnementale persiste et les PCB sont toujours détectables dans le sérum humain (AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments) 2005). En France, la dose journalière de PCB-NDL est estimée à environ 7,7 ng/kg de poids corporel par jour pour un adulte moyen sur la période 2002-2006 (Arnich et al. 2009). Une étude montre que la population adulte des États-Unis avait une concentration moyenne de PCB totaux de 134,4 ng/g de lipides (somme de 35 congénères de PCB) sur la période 2003-2004 (Patterson, Jr. et al. 2009).

Déterminants des niveaux d'exposition

Les facteurs individuels influençant les concentrations sanguines de PCB sont globalement les mêmes que ceux influençant le *p,p'*-DDE. L'âge est également le facteur le plus prédictif des concentrations (Agudo et al. 2009 ; James et al. 2002 ; Laden et al. 1999 ; Sala et al. 1999 ; Sandanger et al. 2007 ; Sweeney et al. 2001 ; Wolff et al. 2005a). Des études ont montré que les niveaux sanguins de PCB augmentent avec la consommation de poisson (Agudo et al. 2009 ; Laden et al.

1999 ; Moysich et al. 2002a ; Sala et al. 1999 ; Sweeney et al. 2001 ; Wolff et al. 2005a), de produits laitiers (Agudo et al. 2009) et d'œufs (Laden et al. 1999).

Les niveaux de PCB sont associés à l'IMC (Agudo et al. 2009 ; Glynn et al. 2003 ; James et al. 2002 ; Sala et al. 1999 ; Sandanger et al. 2007 ; Sweeney et al. 2001 ; Wolff et al. 2005a) et à ses variations (Chevrier et al. 2000 ; Sandanger et al. 2007 ; Wolff et al. 2005a). Le lien avec l'allaitement a également été montré dans différentes études (Inoue et al. 2006 ; Moysich et al. 2002a ; Rogan et al. 1986 ; Vo et al. 2008). Enfin, le lieu de résidence est un facteur prédictif des niveaux de PCB dans plusieurs études (Agudo et al. 2009 ; Glynn et al. 2003 ; Inoue et al. 2006 ; Laden et al. 1999).

Une description d'études sur les déterminants des niveaux de PCB se trouve en Annexe I.

Liens avec le cancer du sein

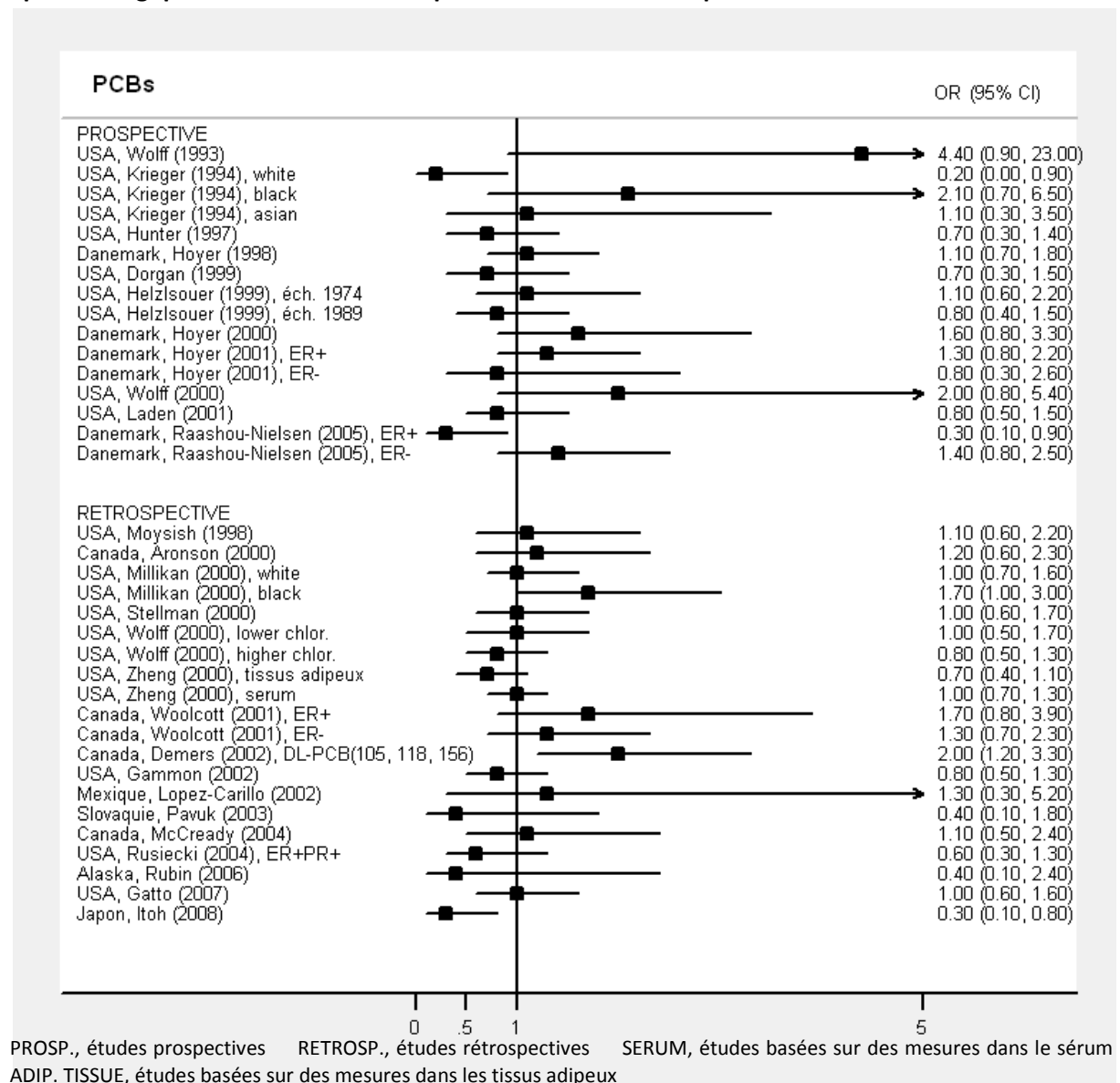
Les PCB sont considérés comme probablement carcinogènes pour l'homme (Groupe 2A) par le CIRC sur la base de preuves suffisantes chez l'animal et limitées chez l'homme (IARC (International Agency for Research on Cancer) 1987).

Chacun des 209 congénères peut avoir ses effets propres en fonction de sa structure. Certains auteurs ont étudié les congénères indépendamment les uns des autres (Demers et al. 2002 ; Lucena et al. 2001 ; Zheng et al. 2000b), d'autres ont étudié les PCB totaux en sommant les concentrations des différents congénères de PCB mesurés (Hoyer et al. 2000 ; Rubin et al. 2006), d'autres ont utilisé une classification proposée par Wolff (Zheng et al. 2000b) qui regroupe les congénères en fonction de leur potentiel œstrogénique, de leur persistance dans les tissus biologiques, de leur immunotoxicité et de leur capacité à induire certaines enzymes du métabolisme (CYP1A , CYP2B, ...) (Wolff et al. 1997). La plupart des études ne trouvent pas d'association entre les niveaux de PCB et le risque de cancer du sein (Figure 8).

Toutefois des associations positives ont été mises en évidence dans des sous-populations telles que les Afro-Américaines (Millikan et al. 2000), les femmes n'ayant jamais allaité (Moysich et

al. 1998) ou avec des congénères spécifiques : PCB-28 (Lucena et al. 2001), PCB-105 et PCB-118 chez les femmes pré-ménopausées (Aronson et al. 2000), ou encore la somme de congénères mono-ortho-substitués (PCB-105, -118, et -156) (Demers et al. 2002). Des associations négatives sont également retrouvées dans des sous-populations telles que les femmes blanches (Krieger et al. 1994), avec les cas de cancer de type négatif pour les récepteurs œstrogène (Raaschou-Nielsen et al. 2005). Enfin, une étude japonaise récente observe un risque diminué de cancer du sein associé avec la somme de 41 congénères de PCB (Itoh et al. 2008). Une description des articles publiés de 1993 à 2010 sur le lien entre les niveaux de PCB et le risque de cancer du sein se trouve en Annexe II.

Figure 8 – Odds ratios et leur intervalle de confiance à 95 % rapportés dans des études épidémiologiques sur le lien entre l'exposition au PCB et le risque de cancer du sein



De façon intéressante, certaines études trouvent que les niveaux de PCB sont associés avec le risque de cancer du sein chez les femmes porteuses d'un polymorphisme particulier du gène codant le cytochrome CYP1A1, une enzyme impliquée dans le métabolisme des PCB et d'autres xénobiotiques (Laden et al. 2002 ; Li et al. 2005 ; Moysich et al. 1999 ; Zhang et al. 2004).

4. Modèles PBPK : prise en compte des périodes de susceptibilité

Interprétation des résultats épidémiologiques

Dans les études prospectives, des échantillons biologiques (sang ou biopsie de tissu adipeux) ont été prélevés à l'inclusion des sujets sains dans la cohorte. Les concentrations de composés organochlorés des femmes diagnostiquées avec un cancer du sein au cours du suivi ont été ensuite comparées à celles de femmes non malades. Les niveaux de composés organochlorés sont donc ceux qui existaient plusieurs mois ou plusieurs années avant l'apparition du cancer.

Dans les études cas-témoins, les organochlorés sont mesurés dans des tissus biologiques (sang ou graisses) prélevés au moment du diagnostic de cancer pour les cas et leurs témoins appariés.

La plupart des études épidémiologiques se basent implicitement sur l'hypothèse que les niveaux mesurés au moment du diagnostic (études cas-témoins) ou quelques années auparavant (études de cohorte ou études cas-témoins nichées dans la cohorte), constituent un marqueur valide d'exposition cumulée au cours des années passées du fait de la longue demi-vie des composés organochlorés. Cependant cette hypothèse pourrait être inadéquate puisque, comme nous l'avons vu plus haut, les niveaux mesurés de composés organochlorés reflètent également des différences individuelles au niveau du métabolisme et des événements-clés tels que les grossesses, les périodes d'allaitement ou encore les variations de poids qui affectent la toxicocinétique vie-entière des composés chez les femmes (Wolff et al. 2005a ; Wolff et al. 2007).

Ce constat est d'autant plus important que, comme nous l'avons décrit précédemment, les modèles de cancérogénèse soulignent l'importance que peuvent avoir les expositions précoces, notamment au cours de périodes de susceptibilité accrue de la glande mammaire aux cancérogènes.

Apport des modèles pharmacocinétiques à base physiologique (PBPK)

Verner et coll. ont développé un modèle pharmacocinétique physiologique, dit modèle PBPK pour *Physiologically Based Pharmacokinetic* en anglais, adapté aux études épidémiologiques (Verner et al. 2008a) avec pour objectif d'estimer un profil d'exposition vie-entière à un polluant organique persistant au niveau sanguin et/ou tissulaire.

Les modèles PBPK sont un outil de la toxicologie permettant de décrire les processus physiologiques, biochimiques, et physico-chimiques qui gouvernent l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion des xénobiotiques. Ils peuvent ainsi être utilisés pour simuler leur cinétique dans le sang et les tissus. La plupart de ces processus dépendent de plusieurs paramètres physiologiques tels que le volume, la composition des organes et la perfusion sanguine. Les fonctions mathématiques décrivant ces processus s'appuient sur des données mesurées en population et sont écrites de façon à permettre l'incorporation de différents profils de poids et de taille corporels. Dans le cas de composés organochlorés, tels que les PCB, il est également important de prendre en compte l'histoire reproductive des femmes, puisque ces composés sont excrétés de façon extensive lors de l'allaitement.

En se basant sur les paramètres physiologiques et sur les concentrations mesurées au moment du recrutement dans l'enquête épidémiologique, le modèle PBPK permet ainsi de caractériser de façon rétrospective le profil toxicocinétique vie-entière de l'exposition interne au composé d'intérêt.

III. Objectifs

Ce travail de thèse vise à étudier les déterminants des niveaux de contamination biologique par des composés organochlorés et leur rôle dans le cancer du sein. Les analyses sont réalisées à partir des données recueillies dans le cadre de l'étude cas-témoins CECILE dans deux départements (Côte d'Or et Ille-et-Vilaine). Plus spécifiquement, ce travail de thèse a pour objectifs :

- d'évaluer les niveaux sanguins de 1,1-dichloro-2,2-bis(*p*-chlorophényl)éthylène (*p,p'*-DDE), le principal métabolite du DDT, et des polychlorobiphényles totaux (PCB) chez les femmes de Côte d'Or et d'Ille-et-Vilaine et d'identifier les principaux facteurs de variation de ces niveaux sanguins. Nous étudierons en particulier le rôle joué par la consommation de certains aliments, et par des paramètres anthropométriques et sociodémographiques susceptibles d'influencer les niveaux sériques chez les femmes témoins de l'étude CECILE.
- de définir les profils d'exposition au PCB-153 vie-entière pour chacune des femmes de l'étude CECILE ayant un prélèvement sanguin à partir d'une modélisation PBPK afin d'estimer les expositions en période péri-pubertaire, l'une des périodes clés du développement mammaire, définie ici comme étant la période 11-20 ans.
- d'analyser le lien entre le risque de cancer du sein et les niveaux de composés organochlorés.

Dans cette partie du travail de thèse, nous étudierons ce lien avec les concentrations :

- de *p,p'*-DDE, puis de PCB-153 mesurées à la date de référence (date de diagnostic pour les cas et date d'inclusion pour les témoins)
- de PCB-153 estimées à la période péri-pubertaire à l'aide des modèles PBPK.

MATÉRIEL & MÉTHODE

I. Étude CECILE. Recueil des données

1. Recrutement des cas et des témoins

L'étude épidémiologique CECILE (Cancers du sein : Étude épidémiologique en Côte d'or et en Ille-et-Vilaine sur l'Environnement) est une étude cas-témoins en population générale dont l'objectif principal est d'étudier les facteurs de risque environnementaux et professionnels du cancer du sein. Cette étude a été menée sur une base populationnelle dans deux départements français : la Côte d'Or et l'Ille-et-Vilaine.

Les cas sont des femmes âgées de 25 à 75 ans ayant eu un cancer du sein confirmé histologiquement durant la période d'étude (2005-2008) et domiciliées dans l'un des deux départements. Le recrutement a eu lieu dans les centres de lutte contre le cancer de Rennes (Centre Eugène Marquis) et de Dijon (Centre Georges-François Leclerc), et dans les autres centres hospitaliers publics ou privés ayant un recrutement de cancer du sein (notamment le Centre Hospitalier Saint-Grégoire et l'Hôpital de Saint-Malo en Ille-et-Vilaine, Clinique du Parc en Côte d'Or). Les patientes atteintes d'un cancer du sein étaient éligibles si le diagnostic avait été effectué entre le 1^{er} avril 2005 et le 28 février 2008 pour la Côte d'Or et entre le 1^{er} février 2005 et le 30 mars 2008 pour l'Ille-et-Vilaine. Le signalement des nouveaux cas était assuré par recherche active des nouveaux cas de cancer dans les centres hospitaliers participants en lien avec les Réunions de Concertation Pluridisciplinaires (RCP) permettant d'identifier les nouveaux cas durant la période de recrutement. Parmi les 1603 cas éligibles, 1232 femmes ont été incluses dans l'étude (taux de participation 77 %). Parmi ces 1232 cas de cancer du sein, 1080 ont accepté un prélèvement sanguin.

Les témoins sont des femmes de même âge que les cas (25 à 75 ans) résidant en Ille-et-Vilaine ou en Côte d'Or, et n'ayant jamais eu de cancer du sein au moment de leur inclusion dans l'étude. Les témoins étaient contactées en première intention en composant un numéro de téléphone sélectionné aléatoirement sur l'annuaire téléphonique du département. La technique utilisée permettait de toucher l'ensemble des foyers du département, y compris ceux dont le numéro était inscrit sur liste rouge (en incrémentant de 1 le numéro de téléphone sélectionné sur l'annuaire). Si le foyer contacté comportait une femme satisfaisant aux critères d'éligibilité, il lui était proposé de participer à l'étude en recevant une enquêtrice à domicile. Pour la sélection des témoins, des quotas par âge ont été utilisés de façon à ce que la distribution par âge des témoins reflète celle des cas (appariement par fréquence sur l'âge par tranches de 10 ans). Des quotas par catégorie socio-professionnelle (CSP) ont également été utilisés de façon à refléter la distribution par CSP des femmes de même âge de l'ensemble du département et à contrôler les problèmes de sélection. Parmi les 1770 témoins éligibles ayant accepté de participer après un premier contact par téléphone, 1317 femmes ont été incluses (taux de participation de 75 %). Parmi celles-ci, 1055 ont accepté un prélèvement sanguin.

Au final, nous disposions de 2135 femmes dont 1080 cas et 1055 témoins avec prélèvement sanguin. Les taux de participation par département étaient équivalents (Tableau 2).

Tableau 2 – Taux de participation des cas et des témoins par département et pourcentages de sujets ayant accepté le prélèvement sanguin

Département	CAS				TÉMOINS			
	Eligibles	Inclus	Taux de participation	Dosés (% des part.)	Eligibles	Inclus	Taux de participation	Dosés (% des part.)
Côte d'Or	548	391	73 %	319 (82)	628	456	73 %	368 (81)
Ille-et-Vilaine	1055	841	80 %	761 (90)	1142	861	75 %	687 (80)
TOTAL	1603	1232	77 %	1080 (88)	1770	1317	74 %	1055 (80)

part., participants

2. Recueil des données

Questionnaire

Chacune des femmes était interrogée à l'aide d'un questionnaire standardisé au cours d'un entretien en face à face de 60 à 90 minutes avec une enquêtrice infirmière spécialement formée.

Des informations détaillées ont été collectées sur les **facteurs hormonaux et reproductifs** : âge aux premières règles, régularité des menstruations, prise de contraceptifs, date des dernières règles, hystérectomie, ovariectomie, date et issue de chaque grossesse, allaitement, prise de traitement hormonal de la ménopause (THM).

Des **données anthropométriques** permettaient de renseigner la taille un an avant l'entretien et à 20 ans, ainsi que les poids à chaque décade (20, 30, 40, 50, 60 et 70 ans) et le poids un an avant l'entretien.

Le questionnaire comportait également des renseignements sur les **antécédents médicaux personnels et familiaux de cancer**, la **consommation d'alcool**, la **consommation de tabac active et passive**. Un **historique résidentiel détaillé** et un **historique complet des activités professionnelles ont été obtenus**. Enfin, les **habitudes alimentaires** ont été enregistrées à partir d'un questionnaire simplifié recensant les fréquences actuelles de consommation de viandes, poissons, crustacés, œufs et produits laitiers. Un auto-questionnaire de fréquence de consommation des aliments comportant un plus grand nombre d'items a été obtenu par ailleurs.

Échantillons biologiques

À l'issue de l'entretien, les participantes ont été sollicitées pour un prélèvement sanguin de 30 mL permettant de constituer une banque d'ADN et une sérothèque. En cas de refus, un prélèvement de cellules buccales a été pratiqué à l'aide de brossettes afin d'obtenir de l'ADN.

II. Définition des variables utilisées dans les analyses

1. Variables du questionnaire

Variables prédictrices des niveaux de composés organochlorés

Nous présentons une liste des variables utilisées dans les analyses sur les déterminants des niveaux sanguins de *p,p'*-DDE et de PCB, et une description de leur discrétisation pour les analyses univariées :

- L'**âge** est calculé comme le délai entre la date de prélèvement et la date de naissance. L'âge a été découpé en classes de 10 ans.
- Les **consommations alimentaires** ont été analysées sous forme de fréquences mensuelles de consommation de viande, de poisson de mer, de poisson d'eau douce, de crustacés, d'œufs et de produits laitiers. Les fréquences ont été catégorisées en quantiles pour la consommation de poisson de mer, de viande et de produits laitiers et en deux classes pour les consommations de poisson d'eau douce, de crustacés et d'œufs (<2 fois mois par mois, ≥2 fois par mois) de façon à séparer les consommateurs occasionnels des consommateurs réguliers.
- L'**IMC actuel** a été découpé en 4 classes en utilisant les seuils définis par l'OMS.
- Le **gain d'IMC sur les dix dernières années** a été discrétisé en utilisant une classe pour la perte de poids, puis en utilisant la médiane sur l'ensemble des sujets (1,33 kg/m²) pour créer deux classes de gain de poids.
- L'**allaitement** correspondant à la durée cumulée d'allaitement en semaines a été discrétisé en trois classes (<12 semaines, 12 à 52 semaines, >52 semaines).
- La **parité** est discrétisée en trois classes : 0, [1-2], ≥3 grossesses à terme.
- Le **niveau d'éducation** a été divisé en deux classes : <baccalauréat, ≥baccalauréat.

- La **consommation d'alcool** actuelle est prise en compte en calculant le nombre de verres d'alcool consommé en moyenne par semaine. Cette consommation a été discrétisée en trois classes : non buveuse, ≤ 2 verres par semaine, > 2 verres par semaine.
- La **consommation de tabac** est estimée en paquets-années. Un paquet-année correspond à la consommation d'un paquet de cigarettes par jour pendant une année. Les périodes d'arrêt ont été prises en compte dans la création de cette variable. Cette variable a été discrétisée en trois classes : non fumeuse, $< 8,4$ paquets-années, $\geq 8,4$ paquets-années.
- Le **département** d'Ille-et-Vilaine ou Côte d'Or correspond au lieu de résidence des femmes au moment de l'inclusion.

Facteurs de risque reconnus de cancer du sein

Les variables suivantes ont été utilisées pour être évaluées individuellement en tant que facteurs de risque du cancer du sein, et en tant que variables d'ajustement dans l'évaluation du lien entre composés organochlorés et cancer du sein.

- Le **niveau d'éducation** a été divisé en quatre classes : primaire, collège, lycée et supérieur.
- L'**âge aux premières règles** a été découpé en 3 classes : avant 14 ans, 14 ans, après 14 ans.
- La **parité** a été découpée en 5 classes : 0, 1, 2, 3 et ≥ 4 grossesses à terme.
- L'**âge à la première grossesse à terme** a été découpé en 4 classes : avant 22 ans, entre 22 et 24 ans, entre 25 et 27 ans, et après 27 ans.
- L'**allaitement** correspond à la durée cumulée d'allaitement en semaines. La variable a été découpée en 4 classes : jamais allaité, < 26 semaines, 26-52 semaines, > 52 semaines.
- L'**IMC actuel** a été découpé en 4 classes en utilisant les seuils définis par l'OMS.
- La **prise actuelle de traitement hormonal de la ménopause (THM)** est décrite à partir d'une variable binaire distinguant les femmes prenant un traitement quel qu'il soit (œstrogénique, progestatif ou les deux), des femmes n'en prenant pas au moment de l'enquête.
- Un **antécédent de maladie bénigne du sein** découpé en une variable binaire (oui/non).

- L'**antécédent familial de cancer du sein** est défini comme le diagnostic de cancer du sein chez au moins un membre de la famille au premier degré (mère, fille, sœur). La variable est découpée en une variable binaire (oui/non).

2. Variables liées aux prélèvements sanguins

Dosages

Des dosages sanguins de résidus ont été effectués pour :

- des **pesticides organochlorés** à longue demi-vie : *p,p'*-DDT, *o,p'*-DDT, et leurs métabolites *p,p'*-DDE et *o,p'*-DDE, l'hexachlorobenzène (HCB), l'insecticide lindane, l'insecticide heptachlore, sa molécule de dégradation heptachlore-époxyde ;
- les **polychlorobiphényles indicateurs** PCB-28, -52, -101, -118, -153, -138, -180.

Les prélèvements sanguins ont été aliquotés en plasma et buffy-coat et congelés à -80°C. Les échantillons sanguins ont été envoyés en huit lots au laboratoire de toxicologie du centre hospitalo-universitaire de Liège en Belgique où les dosages ont été effectués. Les résidus sériques de composés organochlorés ont été identifiés et quantifiés par chromatographie en phase gazeuse et par un spectromètre de masse à attachement d'ions. La préparation des échantillons a inclus une extraction liquide-liquide, suivie d'une extraction sur phase solide. L'éluat est évaporé à sec, reconstitué et ensuite injecté dans le chromatographe à gaz. Les standards de référence des pesticides ont été obtenus par les laboratoires Cambridge Isotope Laboratories (Andover, États-Unis).

La limite de détection (LD) correspond à la plus petite quantité mesurable au dessous de laquelle la présence d'un composé ne peut être détectée. Les limites de détection pour les dosages effectués à partir des prélèvements sanguins dans notre échantillon sont présentées dans le Tableau

3.

Tableau 3 – Limites de détection (LD) en µg/L des différents composés organochlorés dosés dans l'étude CECILE

Composé organochloré	LD (µg/L)
o,p'-DDT	0,12
p,p'-DDT	0,64
o,p'-DDE	0,03
p,p'-DDE	0,51
HCB	0,39
Lindane	0,48
Heptachlore	0,52
Heptachlore epoxyde	0,88
PCB-28	0,38
PCB-52	0,07
PCB101	0,07
PCB 118	0,45
PCB 138	0,66
PCB 153	0,50
PCB 180	0,72

Variables d'intérêt

Les niveaux sériques de chaque composé organochloré dosé : *p,p'*-DDT, *o,p'*-DDT, *p,p'*-DDE, *o,p'*-DDE, hexachlorobenzène (HCB), lindane, heptachlore, heptachlore-époxyde et les PCB-28, -52, -101, -118, -138, -153, -180 sont décrits.

L'étude des déterminants a été effectuée pour le *p,p'*-DDE et les PCB-118, -138, -153 et -180, Les autres organochlorés ainsi que les PCB -28, -52, -101 n'étant détectés chez aucune femme ou chez un petit nombre d'entre elles, n'ont pas été considérés. Nous avons construit la variable « PCB totaux » comme la somme des 4 congénères étudiés : PCB-118, -138, -153 et -180. Lorsqu'un de ces congénères n'était pas détecté, nous avons considéré que sa valeur était égale à sa LD divisée par 2. Lorsqu'aucun des congénères 118, 138, 153 et 180 n'était détecté chez une femme, celle-ci se voyait attribuer la valeur 1,165 correspondant à la somme des LD de chacun des 4 congénères divisée par deux.

Afin de standardiser les mesures sanguines de *p,p'*-DDE et des congénères de PCB qui dépendent des niveaux de cholestérol et de triglycérides, les valeurs mesurées de ces composés organochlorés sont divisées par les lipides totaux. Ces lipides totaux sont eux-mêmes calculés à partir

de la méthode d'Akins (Akins et al. 1989) d'après les recommandations de Phillips et coll. (Phillips et al. 1989) pour prendre en compte le fait que les prélèvements n'ont pas été pratiqués au même moment de la journée chez toutes les femmes :

$$\text{lipides totaux (g/L)} = \text{triglycérides (g/L)} + 2,27 \times \text{cholestérol (g/L)} + 0,623$$

Imputation des valeurs sous la limite de détection (LD)

Pour l'estimation des profils toxicocinétiques ainsi que pour certaines analyses statistiques, il était nécessaire de quantifier l'exposition au PCB-153 pour les femmes ayant des valeurs sous la LD. Nous avons adapté une méthode d'imputation à nos données décrite ici.

Lorsque les niveaux de PCB-153 étaient sous la LD ($n = 898$ femmes, 42% de l'échantillon), des valeurs ont été générées aléatoirement à partir de la loi log-normale, car la distribution empirique des valeurs observées s'approche graphiquement d'une loi log-normale.

Pour générer ces valeurs, nous avons également tenu compte pour chaque femme des variables les plus prédictives des niveaux de PCB-153 d'après notre étude sur les déterminants des niveaux d'exposition aux PCB.

Dans chaque groupe, nous avons estimé la moyenne μ et la variance σ de la distribution à partir des quantiles. Soit Y la variable correspondant au logarithme de la concentration de PCB-153. Y est donc une variable gaussienne.

Posons Y^* tel que $Y^* = Y \mid Y < s$ où s est le logarithme de la LD de Y . Alors Y^* est la « partie » non observée de Y .

Posons Y^+ tel que $Y^+ = Y \mid Y \geq s$. Alors Y^+ est la « partie » observée de Y .

Soient F et F^* les fonctions de répartition respectives de Y et Y^* .

Pour $y^* < s$, on a $F^*(y^*) = P(Y^* \leq y^*)$

$$F^*(y^*) = P[(Y|Y < s) \leq y^*]$$

D'où :

$$F^*(y^*) = \frac{P(Y \leq y^*, Y < s)}{P(Y < s)}$$

$$F^*(y^*) = \frac{P(Y \leq y^*)}{F(s)}$$

Soit Φ la fonction de répartition de la loi normale centrée réduite.

On a donc

$$F^*(y^*) = \frac{\Phi\left(\frac{y^* - \mu}{\sigma}\right)}{\Phi\left(\frac{s - \mu}{\sigma}\right)} \quad (1)$$

L'objectif est de simuler aléatoirement y^* selon la fonction de répartition F^* déterminée par l'équation (1). Pour cela, on détermine la fonction réciproque F^{*-1} de F^* par :

$$F^*(y^*) = \frac{\Phi\left(\frac{y^* - \mu}{\sigma}\right)}{\Phi\left(\frac{s - \mu}{\sigma}\right)} = p \in [0,1]$$

$$F^{*-1}(p) = \sigma \times \Phi^{-1}\left(p \times \Phi\left(\frac{s - \mu}{\sigma}\right)\right) + \mu = y^* \in [0, s]$$

On montre que si p est la réalisation d'une variable distribuée selon une loi uniforme sur $[0,1]$

alors $y^* = \sigma \times \Phi^{-1}\left(p \times \Phi\left(\frac{s - \mu}{\sigma}\right)\right) + \mu$ est la réalisation d'une variable aléatoire de la loi F^* .

Cette méthode nous a permis d'estimer une valeur de PCB-153 pour chaque femme ayant une concentration non détectable par dosage en tenant compte de facteurs prédictifs des niveaux de PCB et de la répartition log-normale des valeurs de PCB-153 détectées.

III. Les modèles PBPK

Ayant l'objectif d'appliquer des modèles PBPK à nos données, nous avons mis en place une coopération avec des chercheurs toxicologues de l'Université du Québec à Montréal au Canada.

Pour chaque femme de l'étude CECILE, des profils toxicocinétiques vie-entière de PCB-153 ont été simulés à partir du modèle PBPK décrit plus en détail dans une publication de nos collaborateurs (Verner et al. 2008a). Nous avons choisi d'appliquer ces modèles au PCB-153 car leur toxicocinétique est moins complexe à modéliser que celle du *p,p'*-DDE qui est lui-même le principal métabolite de DDT.

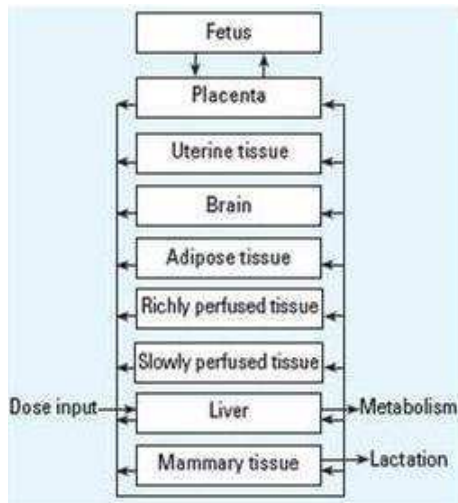
1. Choix du congénère PCB-153

Le PCB-153 est le congénère le plus détecté dans les données de l'étude CECILE, ainsi que dans les autres études publiées. Il a une demi-vie généralement estimée à plusieurs décades mais dont l'estimation varie selon les études (Ritter et al. 2010). Ce congénère est corrélé aux autres congénères et à la somme des congénères (Covaci et al. 2002). Il a été proposé comme PCB indicateur de l'exposition globale aux PCB (Gladen et al. 1999).

2. Description du modèle PBPK

Les modèles PBPK sont une représentation mathématique des processus physiologiques, biochimiques, et physico-chimiques qui gouvernent l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion des xénobiotiques dans l'organisme. Dans notre cas, le modèle permet de décrire la circulation des résidus de PCB dans neuf compartiments du corps humain (le tissu adipeux, le foie, le cerveau, le tissu mammaire, l'utérus, le placenta, le fœtus et les tissus richement et pauvrement perfusés), ainsi que l'excrétion par le métabolisme et l'allaitement (Figure 9).

Figure 9 – Représentation conceptuelle du modèle PBPK



Source : (Verner et al. 2008a)

La cinétique des PCB est décrite par des équations différentielles qui intègrent l'information sur le contenu en lipides de l'organe, son volume, le débit sanguin et le coefficient de partage octanol/eau qui est une mesure de la solubilité différentielle de composés chimiques dans deux solvants. Le métabolisme est supposé limité au foie et défini comme la clairance intrinsèque calculée à partir de la demi-vie estimée d'après la littérature. La perte via l'allaitement est modélisée comme une excrétion du tissu mammaire en fonction de l'excrétion du lait maternel et du coefficient de partage sang/lait.

3. Modélisation PBPK appliquée aux données de CECILE

Caractéristiques individuelles prises en compte dans la modélisation

La modélisation PBPK intègre pour chaque femme son profil pondéral (rapporté dans le questionnaire pour chaque décade à partir de l'âge de 20 ans), la taille, l'âge aux grossesses, la durée de chaque période d'allaitement, la date de naissance et l'âge au moment de l'enquête.

La valeur de PCB-153 mesurée au moment de l'entretien est également prise en compte dans la modélisation PBPK appliquée aux femmes de l'étude CECILE. Afin de pouvoir imputer des valeurs sous la limite de détection en tenant compte de l'âge des sujets et de leur variation de poids au cours

du temps (paramètres déterminants des niveaux d'organochlorés), huit groupes de sujets ont été constitués par une combinaison de l'âge (4 catégories : ≤ 44 ans,]44-50[, [50-60], > 60 ans) et du gain de poids sur les dix dernières années (2 catégories : $< 0,8$ kg/m², $\geq 0,8$ kg/m² ; 0,8 étant le gain de poids médian). La procédure d'imputation décrite page 56 a été appliquée au sein de chacun de ces groupes.

Tendance de la contamination environnementale

Afin de déterminer la dose quotidienne de PCB-153 ingérée, à intégrer dans le modèle, nous avons établi la courbe des tendances temporelles de la contamination environnementale par les PCB. Nous avons rassemblé les données de contamination de 1930 à 2008 à partir d'une recherche documentaire sur Internet en privilégiant les données françaises, ou à défaut les données européennes. Les données les plus pertinentes et comparables dans le temps sont les données de production des PCB en tonnes par an pour les pays membres de l'OCDE (OCDE (Organisation for Economic Cooperation and Development) 1982) et des estimations de l'apport journalier par voie alimentaire (Baars et al. 2004). Nous avons standardisé ces données ponctuelles par une division par le maximum atteint pour chacun des facteurs afin de les faire varier entre 0 et 1.

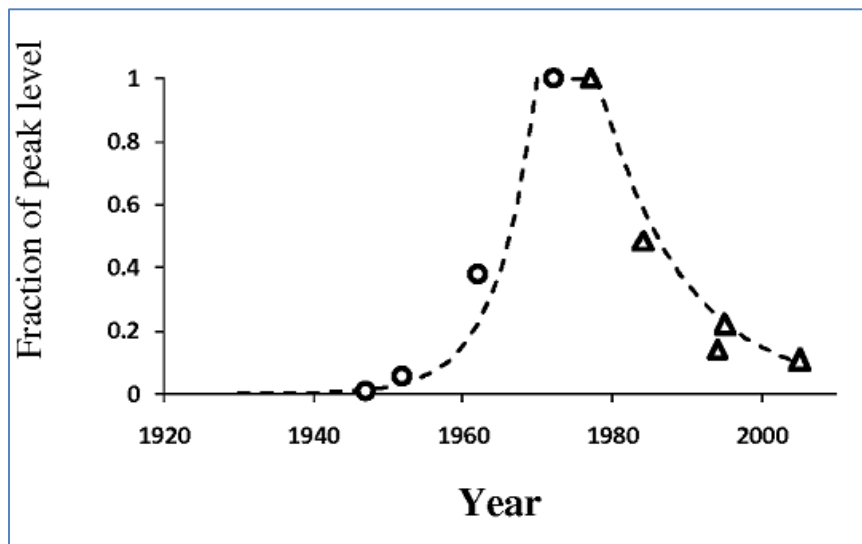
La courbe de contamination environnementale est définie comme étant une fonction dépendante du temps F variant entre 0 et 1, différente selon l'intervalle de temps considéré. F vaut 1 sur la période 1970-1977 correspondant au pic de contamination environnemental. F est croissante pour la période 1930-1970 et décroissante pour la période 1977-2007, estimée de façon à s'ajuster aux données standardisées de production et d'apport journalier alimentaire par une fonction exponentielle par la méthode des moindres carrés (Figure 10).

La dose quotidienne à un temps t correspond au produit de la fonction F variant entre 0 et 1 par une dose maximale atteinte imposée dans le modèle. Cette dose maximale est calculée de façon à faire coïncider les profils toxicocinétiques avec la mesure de PCB-153 réalisée au moment de l'étude de 2005 à 2008 de la manière suivante :

- Une première simulation de profil toxicocinétique est effectuée en fixant arbitrairement une dose maximale (DM_1). Nous obtenons alors un niveau de PCB-153 estimé pour la date de recrutement ($PCB-153_{estimé}$)
- La dose maximale atteinte imposée dans le modèle définitif (DM_2) est calculée par une règle de trois en se basant sur DM_1 , $PCB153_{estimé}$ et le PCB-153 mesuré au recrutement ($PCB153_{mesuré}$)

$$\text{On a } DM_2 = \frac{DM_1 \times PCB153_{mesuré}}{PCB153_{estimé}}$$

Figure 10 - Tendence temporelle des niveaux de contamination environnementale basée sur des données de production de PCB (○) et des estimations de dose quotidienne (Δ)



Source : (Verner et al. 2011)

Simulations

Les données de la littérature sur la demi-vie du PCB-153 sont nombreuses et pas toujours concordantes (Ritter et al. 2010 ; Shirai and Kissel 1996). Nous avons fixé la demi-vie à 30 ans dans les modèles présentés ici. Toutefois, des analyses de sensibilité ont été pratiquées en fixant la demi-vie à 10 ans. Les résultats des analyses sur les corrélations entre les niveaux mesurés à partir de l'échantillon sanguin et les niveaux estimés aux différentes décades à partir des modèles PBPK, ainsi que les analyses sur les liens entre niveaux estimés de PCB-153 à différentes décades et risque de cancer du sein ne varient pas en fonction de la demi-vie estimée.

Aires sous la courbe (AUC)

À partir des profils toxicocinétiques vie-entière, nous avons calculé les aires sous la courbe des concentrations sanguines de PCB-153 ajustées sur les lipides en fonction du temps (AUC pour *Area Under the Curve* en anglais) pour chaque décade de vie. L'AUC peut être considérée comme un proxy de l'exposition subie sur une période donnée. Nous n'avons pas considéré l'AUC pour la première décade (0 à 10 ans) car les niveaux sur cette période dépendent fortement du fait d'avoir été allaité ou pas à la naissance et de la durée de cet allaitement (Barr et al. 2006), information qui n'a pas été recueillie dans le questionnaire de CECILE. Cette information a été recueillie dans un second temps auprès d'un sous-ensemble de femmes, mais n'a pu être utilisée dans nos analyses.

IV. Analyses statistiques

1. Déterminants des niveaux d'exposition

Sélection des sujets

Pour l'analyse des niveaux d'exposition aux composés organochlorés et de leurs déterminants, nous avons inclus les 1055 témoins de l'étude cas-témoins CECILE ayant accepté le dosage sanguin. Ces femmes témoins issues de la population générale ont été sélectionnées de manière à être représentatives de la population générale féminine de même âge des deux départements Ille-et-Vilaine et Côte d'Or en termes de catégorie socio-professionnelle.

Analyses descriptives

Nous avons calculé le pourcentage de femmes au-dessus de la LD, la médiane, les 75^{ème} et 90^{ème} percentiles pour chaque composé organochloré dosé dans le cadre de l'étude CECILE chez les témoins en fonction du groupe d'âge (<50 ans versus ≥ 50 ans).

Analyses univariées

L'étude des déterminants des niveaux de p,p' -DDE et de PCB a également été menée séparément en fonction de l'âge des femmes (<50 ans versus ≥ 50 ans) car les déterminants des niveaux sanguins de composés organochlorés différaient en fonction du groupe d'âge.

Dans les analyses univariées, nous avons calculé les moyennes géométriques de p,p' -DDE et de PCB totaux pour chaque classe des déterminants potentiels. Pour le calcul de ces moyennes géométriques, les valeurs sous la LD sont remplacées par la limite de détection divisée par 2 (LD/2), car il a été démontré que c'est une alternative possible lorsque les données suivent une distribution dissymétrique (Hornung and Reed 1990), ce qui est notre cas puisque les valeurs de p,p' -DDE et de PCB totaux suivent une distribution log-normale.

Des tests de tendance ont été effectués pour chaque facteur déterminant en le considérant sous forme quantitative dans un modèle de régression linéaire où la variable à expliquer est le niveau de composé organochloré mesuré. La variable quantitative a été calculée en lui assignant la médiane de chaque classe de la variable déterminant discrétisée.

Analyses multivariées

Afin de pouvoir identifier les variables permettant de prédire de façon indépendante les niveaux de composés organochlorés, des analyses multivariées ont été conduites.

Trois stratégies ont été envisagées afin de pouvoir réaliser les analyses multivariées en tenant compte des valeurs sous la LD. Nous avons considéré des méthodes d'imputation suivies d'une régression linéaire. Nous avons étudié la régression de Tobit, qui est une méthode de régression linéaire pour données censurées à gauche. Enfin, nous nous sommes intéressés à la régression polytomique nous permettant de classer toutes les valeurs sous la LD dans la première classe. Nous avons comparé les valeurs prédites par ces différents modèles de régression aux valeurs observées en calculant des erreurs quadratiques moyennes. La régression polytomique permettait d'obtenir les

meilleures prédictions. De plus, elle ne nécessitait pas, contrairement aux deux autres méthodes, de faire l'hypothèse d'un lien (log-)linéaire entre les variables potentiellement prédictives des niveaux de composés organochlorés et les composés organochlorés eux-mêmes. Ce travail a été détaillé dans mon mémoire de Master 2.

Nous ne détaillons donc ici que les résultats obtenus par la régression polytomique. **La régression polytomique ordinale avec un modèle à logit cumulatifs** est une extension de la régression logistique usuelle, dans laquelle la variable à expliquer Y , en l'occurrence ici les niveaux de p,p' -DDE d'une part et de PCB d'autre part, est une variable ordinale et les variables explicatives X_i sont les différents déterminants potentiels. Le principe de cette régression est de calculer le logit de la probabilité cumulée d'être au-delà du niveau k de la variable Y .

On a :

$$\text{Logit}(P(Y \geq k | X)) = \ln\left(\frac{P(Y \geq k | X)}{P(Y < k | X)}\right)$$

Le coefficient de régression β_i pour une variation Δ_i de X_i est calculé de la façon suivante : $\Delta_i \beta_i = \text{logit}(P(Y \geq k | X_i + \Delta_i)) - \text{logit}(P(Y \geq k | X_i))$. L'odds ratio $OR_i = \exp(\Delta_i \beta_i)$ est le rapport de la cote cumulée à $X_i + \Delta_i$ divisé par la cote cumulée à X_i :

$$OR_i = \frac{P(Y \geq k | X_i + \Delta_i) / P(Y < k | X_i + \Delta_i)}{P(Y \geq k | X_i) / P(Y < k | X_i)}$$

Nous avons fixé la variation Δ_i pour chaque déterminant X_i comme étant l'intervalle interquartile (Q3-Q1) de X_i , excepté pour la consommation de poisson d'eau douce, de crustacés et d'œufs où la variation Δ_i a été fixée à deux fois par mois car ces variables ne présentaient pas suffisamment de variation dans les réponses aux questionnaires, la plupart des femmes ayant des consommations très proches.

Nous avons vérifié que la linéarité du lien entre les différents déterminants potentiels et les niveaux de composés organochlorés n'était pas rejetée par des tests de rapport de vraisemblance comparant un modèle où les déterminants sont inclus sous la forme de variables indicatrices à un

modèle où les déterminants sont inclus sous la forme d'une variable ordinale. Ces tests étant tous non significatifs au seuil $\alpha = 5 \%$, les déterminants potentiels ont été inclus dans le modèle multivarié en tant que variables quantitatives.

Concernant la standardisation sur les lipides des niveaux de *p,p'*-DDE d'une part et de PCB d'autre part, plutôt que de diviser les niveaux bruts par les lipides totaux, nous avons ajusté les modèles multivariés sur les variables triglycérides et cholestérol car une étude récente a montré que l'ajustement produit moins de biais que la division des niveaux par les lipides totaux (Schisterman et al. 2005).

La discrétisation des niveaux de *p,p'*-DDE s'est faite en utilisant la LD (0,51 $\mu\text{g/L}$) et la limite de quantification (0,90 $\mu\text{g/L}$) comme seuils pour les deux premières classes et la médiane des valeurs supérieures à la limite de quantification (2,08 $\mu\text{g/L}$) comme point de césure entre la troisième et la quatrième classe.

Concernant la discrétisation des PCB totaux, la première classe correspond aux femmes dont aucun congénère de PCB n'a été détecté. Les trois classes supplémentaires ont été découpées à partir des tertiles de la distribution des PCB totaux chez les femmes ayant au moins un congénère de détecté (points de césure à 1,64 $\mu\text{g/L}$ et à 2,44 $\mu\text{g/L}$).

Des analyses de sensibilité portant sur **l'ensemble des cas et des témoins** ont été conduites. Les résultats sont présentés en Annexe III.

2. Profils toxicocinétiques d'exposition au PCB-153 vie-entière

Nous avons effectué une analyse descriptive des profils toxicocinétiques de PCB-153 **chez les témoins de l'étude CECILE** en nous intéressant principalement à l'aire sous la courbe (AUC) pour la décade 11-20 ans (AUC 11_20) qui nous permet d'estimer les niveaux d'exposition au PCB-153 pour

cette période. Cet intervalle d'âge correspond à la période péri-pubertaire qui, comme nous l'avons vu dans l'introduction, est une période de croissance exponentielle de la glande mammaire avec l'apparition de bourgeons terminaux particulièrement sensibles à l'effet de cancérogènes.

Nous avons étudié la corrélation de cette estimation à 11-20 ans avec l'estimation aux différentes décades de la vie des femmes (21-30 ans, 31-40 ans, 41-50 ans) par le calcul de coefficients de corrélation de Spearman ajustés sur l'âge. Nous avons également étudié les corrélations de ces estimations aux différentes décades avec les niveaux de PCB-153 mesurés au moment du recrutement. Ainsi, nous avons calculé des coefficients de corrélation de Spearman entre les niveaux mesurés et les niveaux estimés aux différentes décades, ajustés sur l'âge au diagnostic discrétisé en classes de cinq ans. Ces analyses ont été stratifiées sur l'âge, la durée d'allaitement cumulée et l'IMC.

L'impact des caractéristiques individuelles sur l'AUC 11_20 ans a été estimé à partir de modèles de régressions linéaires. Nous avons étudié successivement l'influence du niveau de PCB-153 mesuré au recrutement, de l'âge au recrutement, de l'IMC à 20 ans, du changement d'IMC entre 20 ans et la date de recrutement (obtenu par la différence de l'IMC actuel moins l'IMC à 20 ans), de la parité, de la durée cumulée d'allaitement, de la consommation de poisson de mer. Pour chaque facteur séparément, nous avons calculé le coefficient de détermination R^2 qui correspond au pourcentage de variance expliquée de l'AUC 11_20.

Les associations avec l'âge au recrutement traduisent en réalité l'impact de l'année de naissance des femmes puisque la contamination environnementale par les PCB a évolué au cours du temps. Nous nous sommes donc également intéressés aux niveaux moyens de PCB-153 aux différentes décades de la vie des femmes en fonction de cohortes de naissance (1930-1940 ; 1941-1950 ; 1951-1960 ; 1961-1981). Pour chaque cohorte, nous avons calculé les niveaux moyens de PCB-153 mesurés au moment du recrutement et les niveaux estimés par les AUC pour les différentes décades de la vie des femmes à partir des profils toxicocinétiques.

3. Association avec le cancer du sein

Niveaux de p,p'-DDE et de PCB-153 mesurés au moment du recrutement

La variable correspondant à la mesure des niveaux de **p,p'-DDE** a été catégorisée en quatre classes, en utilisant la LD comme seuil supérieur pour la première classe et les tertiles chez les témoins ayant des valeurs au-dessus de la LD pour séparer les trois classes supérieures.

Sur l'ensemble des femmes, ainsi que pour chacun des groupes d'âge (<50 ans, ≥50 ans), la variable correspondant à la mesure des niveaux de **PCB-153** a été catégorisée en quatre classes, en utilisant la LD comme seuil supérieur pour la première classe et les tertiles chez les témoins ayant des valeurs au-dessus de la LD pour séparer les trois classes supérieures.

Les mêmes analyses multivariées ont été conduites séparément pour les composés p,p'-DDE et PCB-153. Des odds ratios et leur intervalle de confiance à 95 % ont été calculés pour chaque classe de composé à partir d'une régression logistique non conditionnelle avec ajustement sur l'âge découpé en classes de 5 ans et le département pour tenir compte de l'appariement des cas et des témoins sur ces variables. Les analyses ont également été ajustées sur les variables catégorielles suivantes, associées avec le cancer du sein et/ou avec le niveau de composé :

- niveau d'éducation (variable binaire en fonction du niveau « baccalauréat ») ;
- âge aux premières règles, parité, âge au premier enfant, durée cumulée d'allaitement, IMC, THM, antécédent de maladies bénignes du sein, antécédent familial de cancer du sein. La catégorisation de ces variables a été décrite précédemment page 53. Seules les classes de la parité ont été regroupées en (0 ; 1-2 ; ≥3 grossesses à terme) pour cet ajustement ;
- les triglycérides et le cholestérol en continu, les niveaux de composés n'étant pas standardisés sur les lipides ;
- la date de référence (date d'inclusion pour les témoins et date de diagnostic pour les cas) découpée en 5 classes de 6 mois car les niveaux de composés sont inversement corrélés avec

cette date (coefficient de corrélation de Spearman $\rho = -0,171$ pour le p,p' -DDE et $\rho = -0.079$ pour le PCB-153).

Les analyses ont également été stratifiées sur :

- le groupe d'âge : <50 ans versus ≥ 50 ans ;
- le département. Pour le PCB-153, cette stratification sur le département a également été effectuée pour les femmes de 50 ans et plus.

Enfin, nous avons appliqué un modèle de régression polytomique pour pouvoir distinguer les cas de cancer en fonction de l'expression de récepteurs hormonaux (RE+RP+, RE+RP-, RE-RP-).

À titre exploratoire, nous avons modélisé le risque de cancer du sein en fonction du niveau sanguin de PCB-153 par une **fonction spline cubique restreinte à 5 nœuds** chez les femmes de 50 ans et plus chez lesquelles les résultats des analyses précédentes indiquaient une tendance. Pour cette modélisation, nous avons utilisé les valeurs de PCB-153 en continu, avec des valeurs imputées par la procédure décrite page 56 pour les valeurs sous la limite de détection.

Le principe général des fonctions splines cubiques restreintes est de découper la variable d'exposition continue, ici le PCB-153, en $(k+1)$ intervalles où k est le nombre de nœuds de la fonction spline. Ici nous avons choisi arbitrairement de fixer k à 5. Au sein de chaque intervalle, la relation entre le cancer du sein et l'exposition au PCB-153 est modélisée par un polynôme de degré 3 (fonction spline **cubique**). Les polynômes sont choisis de sorte que la courbe totale soit continue, et dérivable 2 fois. Les fonctions splines ayant tendance à être sensibles aux valeurs observées excentriques dans le premier et le dernier intervalles, nous utilisons ici une fonction spline cubique **restreinte** : nous imposons la contrainte pour la fonction d'être linéaire pour les deux intervalles extrêmes. Pour la représentation graphique de la fonction par une courbe, nous avons fixé arbitrairement la valeur de référence au 25^{ème} percentile de la distribution du PCB-153.

Niveaux de PCB-153 – mesurés au moment du recrutement – et –estimés à la période péri-pubertaire –, par cohorte de naissance

Pour chaque cohorte de naissance (1930-1940, 1941-1950, 1951-1960, 1961-1981), des odds ratios et leur intervalle de confiance à 95% ont été calculés séparément pour les niveaux de PCB-153 mesurés au moment du recrutement, puis pour les niveaux estimés sur la période d'âge 11-20 ans (AUC 11_20) à partir des modèles PBPK.

Pour ces analyses, les niveaux mesurés au moment du recrutement ont été catégorisés en quatre classes par cohorte de naissance, en utilisant la LD comme seuil supérieur pour la première classe et les tertiles chez les témoins ayant des valeurs au-dessus de la LD pour séparer les trois classes supérieures. Le modèle de régression logistique utilisé est le même que dans les analyses précédentes, avec les mêmes ajustements.

Concernant les niveaux estimés sur la période d'âge 11-20 ans, l'AUC 11_20 a été divisée en trois catégories. Les aires sous la courbe sont fortement dépendantes de l'année de naissance de chaque femme en raison de l'évolution temporelle de la contamination environnementale. La catégorisation a donc été faite pour chaque année de naissance à partir des tertiles de la distribution des AUC chez les femmes témoins sur la période d'âge 11-20 ans.

Le modèle de régression logistique est ajusté sur l'âge en classes de 5 ans, le département, le niveau d'éducation, l'âge à la puberté, l'âge à la première grossesse à terme, la parité, la durée cumulée d'allaitement, l'IMC, le THM, les antécédents de maladies bénignes du sein et les antécédents familiaux de cancer du sein.

RÉSULTATS

I. Description de l'échantillon

1. Comparaison des sujets avec et sans prélèvement sanguin

Seules les femmes de l'étude CECILE avec prélèvement sanguin et dosage de composés organochlorés sont incluses dans l'analyse, soit 1080 cas et 1055 témoins. Le Tableau 4 permet de comparer l'ensemble des femmes de CECILE avec notre échantillon de femmes ayant accepté le prélèvement sanguin.

Les cas de cancer (88 %) ont plus souvent accepté le prélèvement que les témoins (80 %), et les cas d'Ille-et-Vilaine (90 %) davantage que les cas de Côte d'Or (80 %). Parmi les témoins, les femmes ayant un niveau d'éducation supérieur ou égal au baccalauréat ont davantage accepté le prélèvement que les femmes ayant un niveau d'éducation inférieur. Les femmes obèses ($IMC > 30 \text{ kg/m}^2$) ont légèrement plus refusé la prise de sang que les femmes non obèses. En revanche, l'âge et la parité ne sont pas associés au prélèvement sanguin.

Tableau 4 – Comparaison de la répartition des sujets de l'étude CECILE dans son intégralité avec celle des sujets de notre échantillon ayant accepté le prélèvement selon certaines caractéristiques

		CAS					TÉMOINS				
		CECILE (N = 1232)		Dosés (n = 1080)		<i>p-value</i> ⁽¹⁾	CECILE (N = 1317)		Dosés (n = 1055)		<i>p-value</i> ⁽¹⁾
		eff.	%	eff.	%		eff.	%	eff.	%	
Âge	[25-35[43	3	40	4	0,12	47	4	37	4	0,81
	[35-45[182	15	161	15		185	14	148	14	
	[45-55[376	31	336	31		395	30	321	30	
	[55-65[361	29	319	30		374	28	303	29	
	≥65	270	22	224	21		316	24	246	23	
Département	Côte d'Or	391	32	319	30	<0,0001	456	35	368	35	0,69
	Ille-et-Vilaine	841	68	761	70		861	65	687	65	
Niveau d'éducation	< baccalauréat	688	56	600	56	0,59	786	60	612	58	0,009
	≥ baccalauréat	544	44	480	44		529	40	443	42	
IMC	maigreur	44	4	38	4	0,02	35	3	24	2	0,007
	normal	715	58	643	60		724	55	590	56	
	surpoids	311	25	268	25		360	27	297	28	
	obésité	159	13	129	12		196	15	142	13	
Parité	0	136	11	118	11	0,89	88	7	73	7	0,32
	1-2	677	55	596	55		635	48	498	47	
	3+	419	34	366	34		594	45	484	46	

eff., effectif

⁽¹⁾ Tests du chi² effectué en comparant la répartition des sujets dosés aux sujets non dosés

2. Caractéristiques histologiques des cas de cancer

D'après le Tableau 5, 89 % des cas de notre échantillon sont des carcinomes infiltrants. Environ deux-tiers des cas ont des récepteurs œstrogène (RE) et progestérone (RP) positifs.

Tableau 5 – Descriptif des cas de cancer du sein avec prélèvement sanguin sur le type morphologique (in situ vs infiltrant) et le statut des récepteurs hormonaux

		Cas (N = 1080)	
		effectif	(%)
Type morphologique	In situ	123	(11)
	Infiltrants	957	(89)
Statut des récepteurs hormonaux	RE+RP+	686	(64)
	RE+RP-	143	(13)
	RE-RP+	10	(1)
	RE-RP-	151	(14)
	Indéterminé	90	(8)

RE, récepteurs œstrogène RP, récepteurs progestérone

3. Facteurs de risque « classiques » du cancer du sein

Le Tableau 6 présente les odds ratios associés aux facteurs de risque reconnus de cancer du sein. Les femmes ayant un niveau d'étude universitaire ont un risque de cancer du sein légèrement augmenté (OR = 1,3 ; IC 95% 1,1-1,7). Cet odds ratio diminue après ajustement sur les facteurs de risque reproductifs (âge à la première grossesse, parité, durée de l'allaitement, prise de THM) (OR = 1,2 ; IC 95% 0,9-1,5). De façon concordante avec la littérature, nous observons une diminution du odds ratio avec un âge tardif aux premières règles, la parité, la durée de l'allaitement et une augmentation avec un âge tardif à la première grossesse, la prise de THM, des antécédents familiaux de cancer du sein et des antécédents personnels de maladie bénigne du sein, même si toutes les associations ne sont pas ici statistiquement significatives. Nous observons une diminution du risque de cancer du sein avec une augmentation de l'IMC chez les femmes en pré-ménopause (moins de 50 ans), mais pas d'association apparente chez les femmes en post-ménopause.

Tableau 6 – Odds ratios associés aux facteurs de risque classiques du cancer du sein

		Cas (N = 1080)		Témoins (N = 1055)		OR ^a	IC 95 %
		n	%	n	%		
Niveau d'éducation	Primaire	238	22	229	22	1,2	[0,9;1,5]
	Collège	384	36	408	39	1,0	Référence
	Lycée	145	13	169	16	1,0	[0,7;1,3]
	Supérieur	313	29	249	24	1,3	[1,1;1,7]
Âge aux premières règles (années)	<14	698	65	652	62	1,0	Référence
	14	199	18	204	19	0,9	[0,7;1,1]
	≥15	183	17	199	19	0,9	[0,7;1,1]
Parité	0	118	11	72	7	1,0	Référence
	1	171	16	134	13	0,8	[0,5;1,1]
	2	429	40	373	35	0,7	[0,5;0,9]
	3	259	24	324	31	0,5	[0,3;0,6]
	≥4	103	10	152	14	0,4	[0,3;0,6]
Âge à la première grossesse à terme (années)	<22	229	21	284	27	0,8	[0,6;1,0]
	[22-24]	279	26	297	28	1,0	Référence
	[25-27]	214	20	235	22	1,0	[0,8;1,3]
	>27	240	22	167	16	1,6	[1,2;2,1]
Durée d'allaitement chez les pères (semaines)	jamais allaité	471	44	458	43	1,0	Référence
	<26	357	33	370	35	1,0	[0,8;1,2]
	[26-52]	83	8	95	9	1,0	[0,7;1,3]
	>52	43	4	57	5	0,8	[0,5;1,2]
IMC (kg/m ²)	<50 ans						
	<18,5	23	2	8	1	2,5	[1,1;5,8]
	[18,5-25[248	23	231	22	1,0	Référence
	[25-35[52	5	80	8	0,6	[0,4;0,9]
	≥35	19	2	38	4	0,5	[0,3;0,9]
	≥50 ans						
	<18,5	15	1	16	2	0,9	[0,4;1,9]
	[18,5-25[394	36	358	34	1,0	Référence
	[25-35[216	20	217	21	0,9	[0,7;1,2]
	≥35	113	10	107	10	1,0	[0,7;1,3]
THM (prise actuelle)	Non	914	85	904	86	1,0	Référence
	Oui	112	10	96	9	1,1	[0,8;1,4]
Antécédent familial de cancer du sein au premier degré	Non	891	83	953	90	1,0	Référence
	Oui	189	18	102	10	2,0	[1,5;2,6]
Antécédent de maladie bénigne du sein	Non	647	60	743	70	1,0	Référence
	Oui	431	40	311	29	1,5	[1,3;1,8]

^a OR ajustés sur l'âge en classes de 5 ans et le département

II. Mesure des niveaux sanguins d'organochlorés au moment du recrutement

Dans cette partie, nous décrivons les niveaux de contamination par les organochlorés des femmes de notre étude, ainsi que les facteurs de variation de ces niveaux (appelés ci-dessous facteurs déterminants ou prédicteurs des niveaux sanguins). **Les résultats sont présentés ici chez les femmes témoins uniquement, représentatives des femmes de même âge dans chacun des départements.**

1. Seuils de détection et corrélations entre organochlorés

Le Tableau 7 indique la limite de détection (LD) de chaque organochloré et présente chez les femmes témoins la distribution des niveaux mesurés par groupe d'âge. Les deux isomères *o,p'*-DDT et *p,p'*-DDT, l'*o,p'*-DDE, le lindane, l'heptachlore, les PCB -25, -52 et -101 n'ont été détectés chez aucune femme. Quatre femmes ont des niveaux détectables d'hexachlorobenzène (un fongicide), dont deux sont des femmes d'agriculteur. Sur l'ensemble des témoins, la médiane du niveau de *p,p'*-DDE est de 85 ng/g de lipides et celle des PCB totaux est de 240 ng/g de lipides. De manière générale, les niveaux sont plus élevés chez les femmes de plus de 50 ans.

Tableau 7 – Limites de détection (LD) en µg/L et distribution des concentrations sériques d'organochlorés ajustées sur les lipides (en ng/g de lipides) mesurés chez les femmes témoins de l'étude CECILE en fonction du groupe d'âge

	LD (µg/L)	< 50 ans (N = 357)				≥ 50 ans (N = 698)			
		déTECTÉS n (%)	médiane (ng/g lip.)	75 ^{ème} perc.	90 ^{ème} perc.	déTECTÉS n (%)	médiane (ng/g lip.)	75 ^{ème} perc.	90 ^{ème} perc.
<i>o,p'</i> -DDT	0,12	0 (0)				0 (0)			
<i>p,p'</i> -DDT	0,64	0 (0)				0 (0)			
<i>o,p'</i> -DDE	0,03	0 (0)				0 (0)			
<i>p,p'</i> -DDE	0,51	135 (38)	<LD	131,4	209,0	432 (62)	105,9	196,5	345,3
HCB	0,39	1				3			
lindane	0,48	0 (0)				0 (0)			
heptachlor	0,52	0 (0)				0 (0)			
heptachlor époxyde	0,88	0 (0)				0 (0)			
PCB-28	0,38	0 (0)				0 (0)			
PCB-52	0,07	0 (0)				0 (0)			
PCB-101	0,07	0 (0)				0 (0)			
PCB-118	0,45	0 (0)				4 (1)	<LD	<LD	<LD
PCB-138	0,66	25 (7)	<LD	<LD	<LD	182 (26)	<LD	79,1	155,7
PCB-153	0,50	128 (36)	<LD	103,0	163,8	496 (71)	106,3	162,3	240,8
PCB-180	0,72	45 (13)	<LD	<LD	134,2	194 (28)	<LD	100,1	173,3
PCB totaux ^a		136 (38)	<LD	282,0	392,4	504 (72)	252,8	381,5	598,1

perc., percentile

^a Les PCB totaux sont la somme des congénères PCB-118, PCB-138, PCB-153 et PCB-180

Les niveaux de PCB totaux sont très corrélés aux niveaux de PCB-153 ($\rho = 0,925$), qui est le congénère le plus détecté (Tableau 8). Le coefficient de corrélation entre le *p,p'*-DDE et les PCB totaux vaut 0,546.

Tableau 8 – Coefficients de corrélation partielle de Spearman ajustés sur l'âge entre les composés *p,p'*-DDE, PCB-138, PCB-153, PCB-180 et PCB totaux mesurés chez 1055 femmes témoins de l'étude CECILE

	<i>p,p'</i> -DDE	PCB-138	PCB-153	PCB-180	PCB totaux
<i>p,p'</i> -DDE	1	0,464	0,557	0,364	0,546
PCB-138		1	0,575	0,735	0,744
PCB-153			1	0,579	0,925
PCB-180				1	0,780
PCB totaux					1

Les valeurs sous la LD ont été remplacées par LD/2

Tous les coefficients de corrélation sont statistiquement significatifs au seuil $p < 0,0001$

Dans la suite des analyses, nous nous intéresserons exclusivement aux composés détectés chez un nombre suffisant de femmes, c'est-à-dire au *p,p'*-DDE et aux PCB totaux.

2. Niveaux de contamination par le *p,p'*-DDE et les PCB totaux et leurs déterminants

p,p'-DDE

Analyses univariées (Tableau 9)

Les concentrations de *p,p'*-DDE augmentent régulièrement avec l'âge, de 51,9 ng/g de lipides chez les femmes de moins de trente ans à 131,3 ng/g chez les femmes âgées de plus de 70 ans. Le gain d'IMC sur les dix dernières années et la consommation d'alcool sont associés à de plus faibles niveaux de *p,p'*-DDE chez les femmes de moins de 50 ans.

Tableau 9 – Moyennes géométriques (MG) et écart-types géométriques (ETG) des niveaux de p,p' -DDE en ng/g de lipides en fonction de la catégorie des différents déterminants chez les femmes témoins de l'étude CECILE

		< 50 ans (N = 357)				≥ 50 ans (N = 698)				
		n	MG ^a	ETG	p_{tendance}	n	MG ^a	ETG	p_{tendance}	
Âge (années)	<30	11	51,9	1,47	0,04	50-59	319	93,2	2,34	0,004
	30-39	104	68,6	2,05		60-69	280	102,1	2,70	
	40-49	242	77,3	2,12		≥70	99	131,3	2,63	
Poisson de mer (fois par semaine)	<1	89	72,8	2,06	0,29	127	97,0	2,52	0,91	
	1	148	72,1	2,13		208	104,3	2,66		
	2	82	72,5	1,92		219	102,3	2,58		
	>2	38	86,9	2,33		144	100,2	2,34		
Poisson d'eau douce (fois par mois)	<2	318	74,0	2,11	0,87	636	100,3	2,51	0,30	
	≥2	39	72,5	1,92		62	114,2	2,79		
Crustacés (fois par mois)	<2	203	73,1	2,09	0,78	386	107,1	2,57	0,09	
	≥2	154	74,7	2,09		312	95,0	2,49		
Viande (fois par semaine)	≤3	46	80,7	2,52	0,19	129	105,2	2,60	0,49	
	4-6	130	76,1	2,09		302	102,6	2,61		
	7	66	72,5	2,06		97	98,6	2,47		
	>7	115	69,5	1,93		170	98,5	2,41		
Œufs (fois par mois)	<2	45	68,1	1,97	0,44	109	89,5	2,49	0,12	
	≥2	312	74,6	2,10		589	103,9	2,55		
Produits laitiers (fois par jour)	<1	48	82,9	2,16	0,74	162	103,0	2,50	0,53	
	1	76	69,0	2,03		125	101,5	2,60		
	2	100	82,8	2,28		185	105,2	2,49		
	>2	133	67,4	1,92		226	97,5	2,59		
IMC (kg/m ²)	<18,5	8	98,3	3,07	0,70	16	62,0	2,29	0,14	
	18,5-24,9	232	71,6	2,11		358	97,3	2,52		
	25,0-29,9	80	75,4	1,91		217	112,8	2,46		
	≥30	36	77,4	2,12		106	104,4	2,73		
Gain d'IMC sur les 10 dernières années (kg/m ²)	<0	60	88,5	2,27	0,02	99	115,8	2,57	0,42	
	0-1,32	145	76,7	2,16		278	102,2	2,56		
	≥1,33	144	66,5	1,91		276	97,9	2,52		
Allaitement (semaines)	<12	242	74,8	2,18	0,35	512	100,6	2,53	0,18	
	12-52	90	74,1	1,92		143	97,9	2,52		
	>52	25	63,8	1,77		43	127,7	2,66		
Parité (enfants)	0	31	68,4	2,65	0,63	42	82,5	2,43	0,37	
	1-2	179	77,0	2,04		319	104,4	2,58		
	≥3	147	70,4	2,01		337	101,9	2,51		
Niveau d'éducation	≥ bac	154	77,1	2,08	0,33	458	104,0	2,61	0,33	
	< bac	203	71,4	2,09		240	96,8	2,40		
Alcool (verres par semaine)	0	69	74,1	2,18	0,02	151	104,7	2,52	0,78	
	≤ 2	179	80,6	2,10		350	99,1	2,56		
	>2	109	63,7	1,96		197	103,3	2,53		
Tabac (paquets-années)	0	155	77,9	2,22	0,17	490	102,5	2,55	0,75	
	<8,4	95	73,6	1,92		109	98,8	2,38		
	≥8,4	107	68,4	2,04		98	98,6	2,70		
Département ^b	21	122	80,1	2,21	0,13	246	107,5	2,52	0,23	
	35	235	70,7	2,02		452	98,3	2,55		

MG, moyenne géométrique ETG, écart-type géométrique bac., baccalauréat

^a Les valeurs sous la LD ont été remplacées par LD/2

^b 21 : Côte d'Or ; 35 : Ille-et-Vilaine

Analyses multivariées (Tableau 10)

Dans les analyses multivariées à l'aide d'un modèle de régression polytomique ordinale à logit cumulatifs, l'effet de chaque déterminant sur les concentrations de p,p' -DDE peut être testé de façon indépendante des autres facteurs.

Chez les femmes de moins de 50 ans, l'odds ratio (OR) pour une augmentation de 10 ans d'âge est de 2,36 : en d'autres termes, lorsque l'âge augmente de dix ans, la probabilité d'être dans une classe de p,p' -DDE égale ou supérieure, par rapport à la probabilité d'être dans une classe inférieure, est multipliée par 2,36. La concentration sanguine de p,p' -DDE augmente avec la consommation de poisson de mer (OR = 1,24 pour chaque prise supplémentaire d'une fois par semaine) mais décroît avec la consommation de produits laitiers (OR = 0,76 pour chaque prise supplémentaire d'une fois par jour). La consommation d'alcool n'est plus significativement associée au niveau de p,p' -DDE dans les analyses multivariées et nous observons une association inverse à la limite de la significativité avec la consommation de tabac (OR = 0,88 par augmentation de 5 paquets-années).

Chez les femmes de plus de 50 ans, une augmentation de la consommation de crustacés de deux fois par mois est associée à un OR de 0,91. Les niveaux de p,p' -DDE sont associés positivement avec l'IMC (OR = 1,39 pour chaque augmentation de 6 kg/m²) et une association inverse est suggérée avec le gain d'IMC sur les dix dernières années (OR = 0,91 pour chaque augmentation de 2 kg/m²), bien que cette association n'atteigne pas le seuil de la significativité ($p = 0,11$).

Aucune association n'est détectée entre les niveaux de p,p' -DDE et l'allaitement, la parité, le niveau d'éducation et le département.

Dans le Tableau A1 présenté en Annexe III, les résultats des analyses conduites sur **l'ensemble des cas et des témoins** sont proches des résultats du tableau 10 conduites chez les témoins seuls. Chez les femmes de moins de 50 ans, le gain de puissance nous permet d'observer

que les niveaux de p,p' -DDE sont associés positivement avec l'IMC et négativement avec le gain d'IMC sur les dix dernières années. Chez les femmes de plus de 50 ans, les mêmes associations sont observées.

Tableau 10 – Odds ratios obtenus à partir de la régression ordinaire multivariée, associés avec les déterminants des niveaux de p,p' -DDE chez les femmes témoins de l'étude CECILE

	variation Δ ou catégorie ^a	< 50 ans (N = 348)		≥ 50 ans (N = 653)	
		OR ^b	IC 95 %	OR ^b	IC 95 %
Âge	10 ans	2,36	[1,49-3,75]	1,08	[0,98-1,19]
Poisson de mer	une fois par semaine	1,24	[1,00-1,52]	1,09	[0,97-1,24]
Poisson d'eau douce	deux fois par mois	1,05	[0,75-1,48]	1,05	[0,85-1,31]
Crustacés	deux fois par mois	1,02	[0,88-1,20]	0,91	[0,83-0,99]
Viande	trois fois par semaine	1,06	[0,83-1,35]	0,96	[0,82-1,13]
Œufs	deux fois par mois	0,97	[0,87-1,08]	1,04	[0,95-1,14]
Produits laitiers	une fois par jour	0,76	[0,57-1,01]	0,98	[0,83-1,16]
IMC	6 kg/m ²	1,18	[0,85-1,65]	1,39	[1,13-1,70]
Gain d'IMC sur les 10 dernières années	2 kg/m ²	0,89	[0,74-1,07]	0,91	[0,81-1,02]
Allaitement	10 semaines	1,01	[0,93-1,10]	1,00	[0,94-1,06]
Parité	1 enfant	0,96	[0,77-1,19]	1,08	[0,97-1,22]
Niveau d'éducation	bac. vs sans bac. (réf.)	0,78	[0,48-1,26]	1,12	[0,81-1,54]
Alcool	4 verres par semaine	0,79	[0,60-1,04]	1,04	[0,97-1,12]
Tabac	5 paquet-années	0,88	[0,78-1,01]	0,99	[0,93-1,06]
Département	Côte d'Or vs Ille-et-Vilaine (réf.)	0,90	[0,54-1,52]	1,21	[0,88-1,68]

bac., baccalauréat ; réf., référence

^a Pour les variables quantitatives, la variation Δ représente l'intervalle interquartile (Q3-Q1) ; pour les fréquences de consommation de poisson d'eau douce, de crustacés et d'œufs, la variation Δ était fixée à "deux fois par mois". Pour les variables catégorielles, les ORs ont été calculés en utilisant "sans baccalauréat" comme catégorie de référence pour le niveau d'éducation et l'"Ille-et-Vilaine" comme catégorie de référence pour le département

^b OR: odds ratio. La probabilité d'être dans une classe supérieure de p,p' -DDE est multipliée par la valeur de l'OR pour chaque augmentation Δ de la variable déterminant

PCB totaux

Analyses univariées (Tableau 11)

Les concentrations sanguines de PCB totaux augmentent avec l'âge de 213,2 ng/g de lipides chez les femmes de moins de 30 ans à 325,0 ng/g chez les femmes de plus de 70 ans.

Chez les femmes de moins de 50 ans, les niveaux de PCB totaux décroissent nettement avec l'IMC et le gain d'IMC sur les dix dernières années, ainsi qu'avec la fréquence de consommation de viande. Les femmes résidant en Côte d'Or ont des niveaux de PCB qui sont en moyenne plus élevés

de 12 % que les femmes vivant en Ille-et-Vilaine. **Chez les femmes âgées de plus de 50 ans**, les niveaux de PCB décroissent également avec l'IMC et le gain d'IMC sur les 10 dernières années.

Tableau 11 – Moyennes géométriques (MG) et écart-types géométriques (ETG) des niveaux de PCB totaux en ng/g de lipides en fonction de la catégorie des différents déterminants chez les femmes témoins de l'étude CECILE

		< 50 ans (N = 357)				≥ 50 ans (N = 698)				
		n	MG ^a	ETG	ρ _{tendance}	n	MG ^a	ETG	ρ _{tendance}	
Âge (années)	<30	11	213,2	1,14	0,21	50-59	319	259,4	1,54	<0,0001
	30-39	104	239,2	1,41		60-69	280	293,1	1,77	
	40-49	242	246,5	1,44		≥70	99	325,0	1,71	
Poisson de mer (fois par semaine)	<1	89	241,7	1,45	0,30	127	269,9	1,60	0,20	
	1	148	237,2	1,40		208	277,9	1,72		
	2	82	253,5	1,48		219	285,1	1,66		
	>2	38	249,2	1,37		144	290,8	1,69		
Poisson d'eau douce (fois par mois)	<2	318	242,2	1,43	0,51	636	280,1	1,67	0,50	
	≥2	39	252,1	1,37		62	293,2	1,67		
Crustacés (fois par mois)	<2	203	244,6	1,44	0,74	386	287,0	1,67	0,25	
	≥2	154	241,6	1,41		312	274,4	1,67		
Viande (fois par semaine)	≤3	46	250,2	1,47	0,04	129	278,8	1,64	0,72	
	4-6	130	253,7	1,49		302	286,3	1,69		
	7	66	245,9	1,43		97	283,0	1,69		
	>7	115	227,9	1,32		170	273,3	1,65		
Œufs (fois par mois)	<2	45	228,0	1,44	0,19	109	281,5	1,62	0,99	
	≥2	312	245,5	1,42		589	281,2	1,68		
Produits laitiers (fois par jour)	<1	48	236,6	1,36	0,90	162	301,1	1,67	0,12	
	1	76	239,7	1,44		125	277,4	1,71		
	2	100	264,0	1,47		185	283,1	1,69		
	>2	133	233,0	1,39		226	269,3	1,63		
IMC (kg/m ²)	<18,5	8	269,2	1,65	0,006	16	378,4	1,82	0,01	
	18,5-24,9	232	250,8	1,44		358	292,8	1,65		
	25,0-29,9	80	230,0	1,32		217	272,3	1,64		
	≥30	36	219,6	1,48		106	253,8	1,74		
Gain d'IMC sur les 10 dernières années (kg/m ²)	<0	60	264,9	1,41	0,001	99	314,5	1,7	0,001	
	0-1,32	145	251,7	1,49		278	296,7	1,68		
	≥1,33	144	226,7	1,35		276	262,1	1,64		
Allaitement (semaines)	<12	242	242,7	1,44	0,33	512	279,9	1,67	0,44	
	12-52	90	252,5	1,44		143	280,8	1,66		
	>52	25	217,3	1,24		43	299,6	1,72		
Parité (enfants)	0	31	221,4	1,34	0,49	42	270,6	1,52	0,44	
	1-2	179	247,8	1,45		319	278,5	1,67		
	≥3	147	241,8	1,41		337	285,7	1,69		
Niveau d'éducation	baccalauréat	154	243,2	1,40	0,99	458	286,1	1,70	0,22	
	<baccalauréat	203	243,3	1,44		240	272,2	1,61		
Alcool (verres par semaine)	0	69	238,2	1,43	0,87	151	275,0	1,65	0,09	
	≤ 2	179	246,4	1,45		350	275,7	1,64		
	>2	109	241,3	1,39		197	296,4	1,73		
Tabac (paquets-années)	0	155	243,5	1,40	0,09	490	286,9	1,69	0,14	
	<8,4	95	259,9	1,46		109	274,6	1,55		
	≥8,4	107	229,0	1,41		98	261,9	1,70		
Département	Côte d'Or	122	264,9	1,47	0,001	246	289,7	1,66	0,26	
	Ille-et-Vilaine	235	232,7	1,39		452	276,8	1,67		

MG, moyenne géométrique ETG, écart-type géométrique

^a Les valeurs sous la LD ont été remplacées par LD/2

Analyses multivariées (Tableau 12)

Chez les femmes de moins de 50 ans, l'âge a un effet important sur les concentrations de PCB totaux (OR = 3,21 pour une augmentation de 10 ans d'âge). Les niveaux de PCB sont négativement associés avec la consommation de produits laitiers (OR = 0,71 pour une augmentation de la consommation d'une fois par jour). Il existe une tendance à la diminution des PCB avec le gain d'IMC sur les dix dernières années (OR = 0,82 pour une augmentation de l'IMC de 2 kg/m² sur les dix dernières années) ainsi qu'avec la durée de l'allaitement (OR = 0,90 pour une augmentation de 10 semaines d'allaitement).

Chez les femmes de plus de 50 ans, les concentrations de PCB totaux sont également influencées par l'âge (OR = 1,29 pour chaque augmentation de 10 ans d'âge). Les niveaux de PCB sont associés positivement à la consommation de poisson de mer (OR = 1,16 pour une augmentation d'une fois par semaine), et négativement avec l'IMC (OR = 0,82 pour une augmentation de l'IMC de 2 kg/m²). Les concentrations de PCB augmentent légèrement avec la consommation d'alcool (OR = 1,09 pour une augmentation de la consommation de 4 verres par semaine).

Quelque soit le groupe d'âge des femmes, nous n'observons aucune association avec la parité, le niveau d'éducation, la consommation de tabac. Les femmes de Côte d'Or ont des niveaux de PCB totaux plus élevés que les femmes d'Ille-et-Vilaine.

Dans le Tableau A2 présenté en Annexe III, les résultats des analyses conduites sur **l'ensemble des cas et des témoins** sont identiques. Chez les femmes de moins de 50 ans, les PCB apparaissent associés positivement avec la consommation de poisson de mer, et négativement, avec l'allaitement et le gain d'IMC sur les dix dernières années. Chez les femmes de 50 ans et plus, l'association avec l'alcool apparaît moins marquée.

Tableau 12 – Odds ratios obtenus à partir de la régression ordinale multivariée, associés avec les déterminants des niveaux de PCB totaux chez les femmes témoins de l'étude CECILE

	variation Δ ou catégorie ^a	< 50 ans (N = 348)		≥ 50 ans (N = 653)	
		OR ^b	95% IC	OR ^b	95% IC
Âge	10 ans	3,21	[1,91-5,40]	1,29	[1,13-1,46]
Poisson de mer	une fois par sem.	1,15	[0,93-1,42]	1,16	[1,02-1,32]
Poisson d'eau douce	deux fois par mois	1,16	[0,83-1,61]	1,01	[0,81-1,26]
Crustacés	deux fois par mois	1,04	[0,89-1,23]	0,93	[0,86-1,01]
Viande	trois fois par semaine	0,80	[0,62-1,04]	0,99	[0,84-1,16]
Œufs	deux fois par mois	1,03	[0,92-1,14]	0,98	[0,89-1,08]
Produits laitiers	une fois par jour	0,71	[0,53-0,96]	0,95	[0,80-1,13]
IMC	6 kg/m ²	0,75	[0,52-1,09]	0,82	[0,67-1,00]
Gain d'IMC sur les 10 dernières années	2 kg/m ²	0,82	[0,67-1,01]	0,88	[0,79-0,99]
Allaitement	10 semaines	0,90	[0,80-1,01]	0,99	[0,93-1,06]
Parité	1 enfant	1,14	[0,90-1,44]	1,05	[0,93-1,18]
Niveau d'éducation	bac. vs sans bac. (réf.)	0,72	[0,44-1,19]	0,96	[0,70-1,33]
Alcool	4 verres par semaine	0,94	[0,78-1,12]	1,09	[1,01-1,18]
Tabac	5 paquet-années	0,93	[0,73-1,20]	0,97	[0,91-1,03]
Département	Côte d'Or vs Ille-et-Vilaine (réf.)	1,79	[1,06-3,01]	1,42	[1,02-1,97]

bac., baccalauréat ; réf., référence

^a Pour les variables quantitatives, la variation Δ représente l'intervalle interquartile (Q3-Q1) ; pour les fréquences de consommation de poisson d'eau douce, de crustacés et d'œufs, la variation Δ était fixée à "deux fois par mois". Pour les variables catégorielles, les ORs ont été calculés en utilisant "sans baccalauréat" comme catégorie de référence pour le niveau d'éducation et l'"Ille-et-Vilaine" comme catégorie de référence pour le département

^b OR: odds ratio. La probabilité d'être dans une classe supérieure de PCB totaux est multipliée par la valeur de l'OR pour chaque augmentation Δ de la variable déterminant

En conclusion, les niveaux de PCB totaux dépendent de l'âge des femmes, de leur consommation de poisson de mer, de leur IMC et de ses variations au cours du temps, et chez les femmes les plus jeunes de la durée de l'allaitement. Ces résultats indiquent l'importance de prendre en compte ces facteurs pour estimer les niveaux internes de contamination aux PCB à des périodes antérieures de la vie lors de l'utilisation des modèles PBPK.

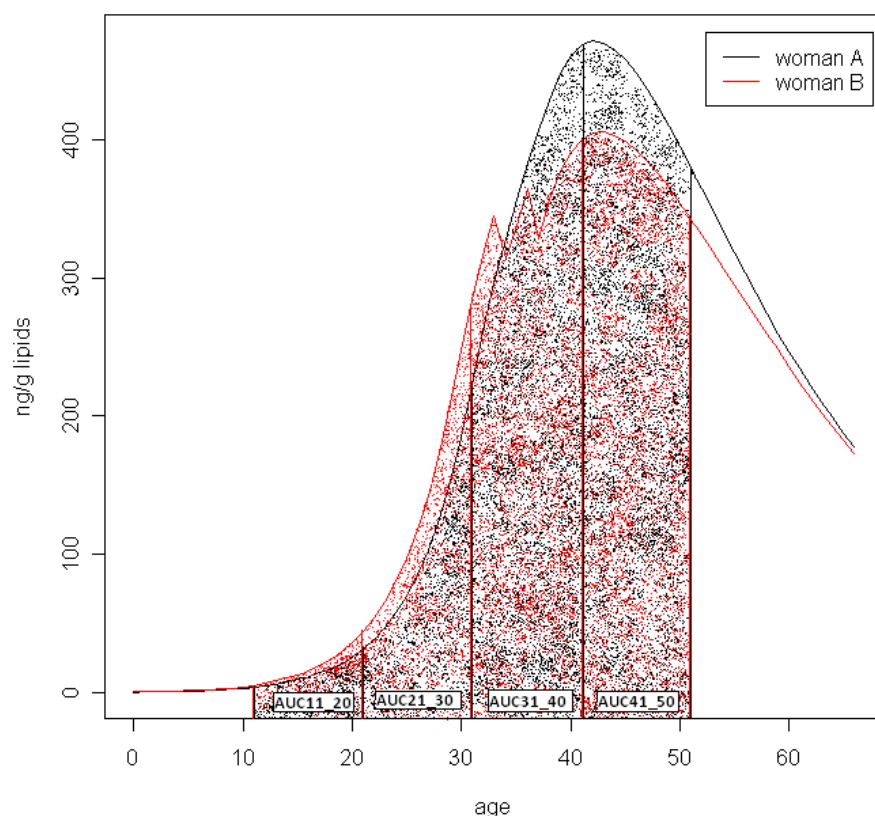
III. Profils toxicocinétiques d'exposition au PCB-153 vie-entière

1. Exemple de profils toxicocinétiques

Les modèles PBPK nous ont permis pour chaque femme de simuler des profils toxicocinétiques à partir desquels nous avons estimé les niveaux de contamination par le PCB-153 vie entière à partir des niveaux mesurés à la date du recrutement dans l'étude. Ces simulations PBPK ont été effectuées par l'équipe canadienne.

La Figure 11 montre un exemple de profils toxicocinétiques de deux femmes témoins de l'étude CECILE ayant des valeurs de PCB-153 identiques à la date de recrutement.

Figure 11 - Exemple de profil toxicocinétique d'exposition au PCB-153 de deux femmes A et B, témoins de l'étude CECILE, âgées de 67 ans à la date du recrutement et ayant eu des événements de vie différents



Femme A : née en 1938, 67 ans au moment du recrutement, pas d'enfant, de taille 1m54, de poids 46 kg à l'âge de 20 ans sans grosses fluctuations jusqu'à 48 kg à l'âge de 66 ans

Femme B : née en 1939, 67 ans au moment du recrutement, première naissance à 35 ans suivi d'une période de 3 mois d'allaitement, deuxième naissance à 38 ans suivi également de 3 mois d'allaitement, de taille 1m62, 52 kg à l'âge de 20 ans augmentant progressivement pour atteindre 96 kg à l'âge de 66 ans

L'exemple de ces deux femmes montre que des niveaux sensiblement équivalents au moment du recrutement peuvent refléter des profils toxicocinétiques vie-entière différents.

Ces profils permettent d'estimer l'exposition à différentes périodes de la vie des femmes en calculant l'aire sous la courbe (AUC). Les aires sous la courbe AUC 11_20, AUC 21_30, AUC 31_40, AUC 41_50 correspondent à l'exposition cumulée au PCB-153 sur les périodes d'âge de 11 à 20 ans, 21 à 30 ans, 31 à 40 ans, 41 à 50 ans respectivement.

Dans le cadre de notre étude, nous nous sommes plus spécifiquement intéressés à la **période péri-pubertaire définie par la décade 11-20 ans**.

Ainsi, dans l'exemple ci-dessus, la femme B ayant eu deux grossesses et des changements de poids significatifs a un niveau de contamination plus élevé au cours de la période 11-20 ans mais plus faible au cours de la période 41-50 ans que la femme A n'ayant eu ni grossesse, ni changement de poids.

2. Corrélations de l'AUC 11_20 avec l'AUC aux autres décades et avec les niveaux mesurés au moment du recrutement

Les niveaux estimés à partir de l'AUC 11_20 sont très corrélés avec les niveaux estimés pour les autres décades (Tableau 13). Seul l'AUC 11_20 sera pris en compte par la suite dans l'analyse des associations avec le cancer du sein.

Tableau 13 – Coefficients de corrélation partiels de Spearman ajustés sur l'âge entre les niveaux de PCB-153 estimés à différentes décades de la vie chez les femmes témoins de CECILE

	AUC 21_30	AUC 31_40	AUC 41_50
AUC 11_20	0,938	0,887	0,884
	n = 1043	n = 940	n = 697

Tous les coefficients de corrélation sont statistiquement significatifs au seuil $p < 0,0001$

D'après le Tableau 14 sur l'ensemble des femmes témoins, les coefficients de corrélation partielle de Spearman ajustés sur l'âge entre les niveaux mesurés au moment du recrutement et les

AUC aux différentes décades décroissent de 0,972 pour la période 41-50 ans (la plus proche de la prise de sang) à 0,768 pour la période 11-20 ans (la plus éloignée).

La stratification sur la durée d'allaitement montre que les femmes qui ont allaité plus d'un an ont des coefficients de corrélation plus faibles ($\rho = 0,665$ pour l'AUC 11_20 ans), traduisant le rôle de l'allaitement dans l'excrétion des composés organochlorés. En revanche, la stratification sur l'IMC n'influence pas de façon marquée les coefficients de corrélation observés.

Tableau 14 – Coefficients de corrélation partiels de Spearman ajustés sur l'âge entre les niveaux de PCB-153 mesurés au moment du recrutement et les niveaux estimés à différentes décades de la vie chez les femmes témoins de CECILE

	Niveaux d'exposition estimés à partir des modèles PBPK							
	AUC 11_20		AUC 21_30		AUC 31_40		AUC 41_50	
	n	ρ	n	ρ	n	ρ	n	ρ
Âge								
< 40	114	0,891	103	0,913				
40-50	243	0,901	243	0,922	243	0,968		
50-60	318	0,879	318	0,942	318	0,966	318	0,985
> 60	379	0,856	379	0,862	379	0,921	379	0,966
Allaitement cumulé (mois)								
0	529	0,785	521	0,778	481	0,884	377	0,970
< 3	221	0,782	221	0,820	195	0,912	133	0,972
3-12	243	0,763	241	0,744	212	0,914	151	0,977
> 12	58	0,665	58	0,574	50	0,813	35	0,952
IMC (kg/m²)								
< 20	24	0,774	24	0,785	20	0,935	16	0,966
20-25	589	0,747	582	0,755	513	0,900	358	0,974
25-30	297	0,770	295	0,771	274	0,860	217	0,965
> 30	144	0,842	142	0,797	133	0,882	106	0,962
TOUTES	1054	0,768	1043	0,763	940	0,889	697	0,972

3. Variables influençant les profils toxicocinétiques

Dans l'analyse des déterminants des concentrations de PCB, nous avons vu que certaines caractéristiques anthropométriques ou liées à la vie reproductive influencent les niveaux mesurés. Nous avons voulu voir dans quelle mesure ces caractéristiques ont un impact sur les niveaux de PCB-153 estimés à partir des modèles PBPK à la période 11-20 ans. Dans le

Tableau 15 sont présentés par cohorte de naissance les pourcentages de variance expliquée de l'AUC 11_20 par les différents facteurs intégrés dans la modélisation PBPK.

Tableau 15 – Pourcentages de variance expliquée de l'AUC 11_20 par différents facteurs de variation des niveaux de PCB présentés par cohorte de naissance chez les femmes témoins de CECILE

Cohorte de naissance	Variabiles	Pourcentage de variance expliquée (R ²)
1930-1940 (N = 168)	Âge au recrutement	30,4
	PCB-153 mesuré au recrutement	53,6
	IMC à 20 ans	0,8
	Changement d'IMC depuis l'âge de 20 ans	0,2
	Allaitement	0,2
	Parité	0,6
	Consommation de poisson de mer	0,2
	TOUTES	79,1
1941-1950 (N = 268)	Âge au recrutement	34,4
	PCB-153 mesuré au recrutement	36,2
	IMC à 20 ans	0,0
	Changement d'IMC depuis l'âge de 20 ans	0,0
	Allaitement	0,7
	Parité	0,2
	Consommation de poisson de mer	0,0
	TOUTES	78,1
1951-1960 (N = 294)	Âge au recrutement	29,5
	PCB-153 mesuré au recrutement	49,9
	IMC à 20 ans	1,1
	Changement d'IMC depuis l'âge de 20 ans	1,0
	Allaitement	0,0
	Parité	0,0
	Consommation de poisson de mer	0,0
	TOUTES	80,6
1961-1970 (N = 173)	Âge au recrutement	0,3
	PCB-153 mesuré au recrutement	62,0
	IMC à 20 ans	1,8
	Changement d'IMC depuis l'âge de 20 ans	0,1
	Allaitement	0,1
	Parité	2,2
	Consommation de poisson de mer	0,5
	TOUTES	71,7
1971-1981 (N = 69)	Âge au recrutement	3,5
	PCB-153 mesuré au recrutement	74,0
	IMC à 20 ans	3,1
	Changement d'IMC depuis l'âge de 20 ans	0,4
	Allaitement	0,0
	Parité	1,5
	Consommation de poisson de mer	0,5
	TOUTES	78,9

Le niveau de PCB-153 mesuré au recrutement explique de 36 à 74 % de la variance de l'AUC 11_20. Cette valeur est d'autant plus élevée que la cohorte de naissance considérée est plus récente.

L'âge des femmes au moment du recrutement explique de 0,3 à 34 % de la variance de l'AUC 11_20, avec des pourcentages plus élevés pour les cohortes de naissance les plus anciennes.

L'IMC à 20 ans explique de 0 à 3 % de la variance de l'AUC 11_20. Le changement d'IMC depuis l'âge de 20 ans jusqu'au recrutement explique de 0 à 1% de la variance de l'AUC 11_20, indiquant que les variations de poids étaient insuffisantes pour influencer de façon marquée les niveaux de PCB-153.

L'allaitement explique moins de 1 % de la variance de l'AUC 11_20. L'allaitement est la principale source d'excrétion des PCB. Ce résultat traduit le fait que les femmes de notre échantillon ont peu allaité en moyenne.

La parité explique moins de 3 % de la variance dans les générations récentes, et un pourcentage plus faible ou nulle dans les générations les plus anciennes.

Enfin, la consommation de poisson actuelle a un impact faible ou nul sur les niveaux estimés à la période d'âge 11-20 ans. La consommation de poisson de mer est celle déclarée au moment de l'enquête et n'est pas intégrée dans les modèles PBPK.

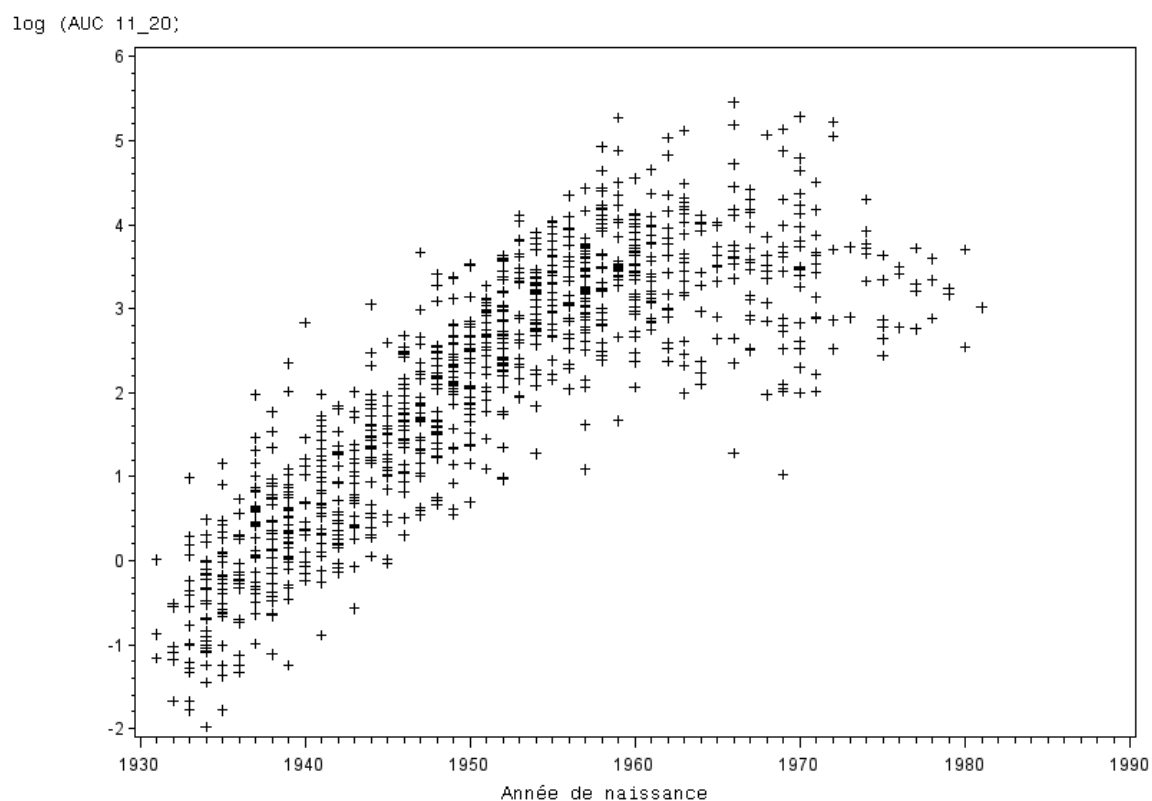
Au total, l'ensemble de ces variables explique de 72 à 81 % de la variance des niveaux d'exposition au PCB-153 estimés pour la période d'âge 11-20 ans. Ces résultats sont dus pour l'essentiel à l'âge au recrutement et aux niveaux de PCB-153 mesurés.

4. Niveaux de PCB-153 estimés entre 11 et 20 ans et cohorte de naissance

La corrélation entre l'âge au recrutement et les niveaux de PCB-153 estimés pour la période d'âge 11-20 ans (AUC 11_20) est très élevée (coefficient de corrélation de Spearman $\rho = -0,862$). La

Figure 12 montre en effet que l'AUC 11_20 varie fortement en fonction de l'année de naissance. Cette observation est liée aux fortes variations de la contamination environnementale au cours du temps (augmentation exponentielle dans les années 50, pic dans les années 70, puis décroissance rapide) entraînant des différences très importantes de la contamination des femmes à l'âge de 11-20 ans selon leur année de naissance (cf. courbe de contamination environnementale Figure 10 page 61).

Figure 12 - Nuage de points des niveaux de PCB-153 estimés pour la période d'âge 11-20 ans (logAUC11_20) en fonction de l'année de naissance chez les témoins de l'étude CECILE



La Figure 13 et le Tableau 16 décrivent les niveaux moyens de PCB-153 estimés par les AUC aux différentes décades de la vie parmi les témoins de l'étude CECILE **en fonction de leur cohorte de naissance.**

Les femmes nées dans les années 1930 ont commencé à être exposées dans les années 1950 lorsque la contamination des PCB dans l'environnement a pris de l'ampleur, c'est-à-dire lorsqu'elles

ont atteint l'âge de 20 ans. Les femmes nées à partir de 1950 ont été exposées dès leur naissance et ont eu des niveaux plus élevés que leurs aînées durant leur enfance et adolescence.

Les femmes nées avant les années 1950, exposées plus tardivement au cours de leur vie, ont vécu la contamination sur toute sa durée (phase croissante, pic et phase décroissante). Leur niveau de contamination par le PCB-153 à l'âge de 40 ou 50 ans a donc atteint en moyenne des niveaux plus élevés que chez les femmes nées après 1950.

Figure 13 - Profils toxicocinétiques vie-entière moyens de PCB-153 des témoins de l'étude CECILE en fonction de la cohorte de naissance

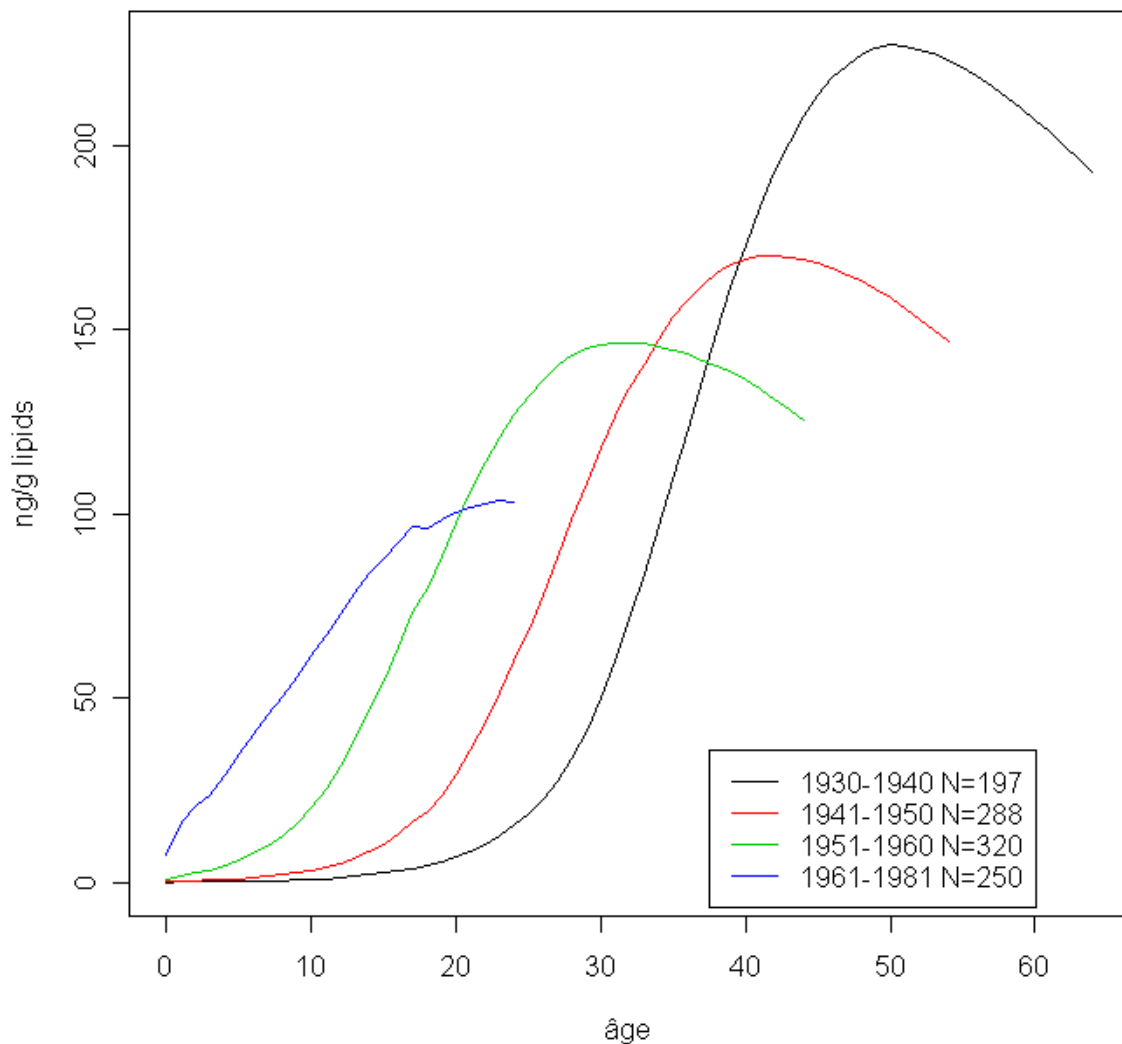


Tableau 16 – Description par cohorte de naissance des niveaux de PCB-153 en ng/g de lipides mesurés au moment du recrutement et des niveaux estimés à différentes décades de la vie chez les femmes témoins de l'étude CECILE

Cohorte de naissance	Âge atteint	Méthode de mesure	N	Médiane (ng/g de lipides)	Min	Max
1930-1940	11-20 ans	estimés à partir des modèles PBPK	212	2,0	0,3	34,2
	21-30 ans	estimés à partir des modèles PBPK	212	15,6	2,2	276,4
	31-40 ans	estimés à partir des modèles PBPK	212	82,6	12,5	1174,7
	41-50 ans	estimés à partir des modèles PBPK	212	161,6	30,2	1805,9
	65-75 ans	dosés à partir du prélèvement sanguin ^a	212	134,5	27,1	1218,3
1941-1950	11-20 ans	estimés à partir des modèles PBPK	304	9,0	0,8	78,9
	21-30 ans	estimés à partir des modèles PBPK	304	54,5	6,6	466,9
	31-40 ans	estimés à partir des modèles PBPK	304	124,0	20,5	919,6
	41-50 ans	estimés à partir des modèles PBPK	304	131,8	20,1	956,9
	55-66 ans	dosés à partir du prélèvement sanguin ^a	304	92,7	17,4	621,1
1951-1960	11-20 ans	estimés à partir des modèles PBPK	323	48,1	5,3	392,7
	21-30 ans	estimés à partir des modèles PBPK	323	111,7	11,2	649,9
	31-40 ans	estimés à partir des modèles PBPK	323	123,7	10,8	591,7
	41-50 ans	estimés à partir des modèles PBPK	181	119,2	15,4	339,8
	45-56 ans	dosés à partir du prélèvement sanguin ^a	323	90,3	11,3	496,8
1961-1970	11-20 ans	estimés à partir des modèles PBPK	165	67,2	5,6	468,8
	21-30 ans	estimés à partir des modèles PBPK	165	83,0	7,3	504,8
	31-40 ans	estimés à partir des modèles PBPK	101	82,2	7,0	405,1
	35-46 ans	dosés à partir du prélèvement sanguin ^a	165	62,6	4,2	292,2
1971-1980	11-20 ans	estimés à partir des modèles PBPK	49	56,4	15,1	372,9
	21-30 ans	estimés à partir des modèles PBPK	39	64,5	15,8	331,9
	25-36 ans	dosés à partir du prélèvement sanguin ^a	49	51,0	13,4	286,2

^a les valeurs sous la LD ont été imputées à partir de la loi lognormale

IV. Association entre cancer du sein et niveaux sanguins des organochlorés

1. Cancer du sein et niveaux de *p,p'*-DDE mesurés au moment du recrutement

Les odds ratios de cancer du sein estimés à partir des niveaux sériques de *p,p'*-DDE mesurés chez les cas et les témoins au moment du recrutement dans l'étude CECILE sont présentés dans le Tableau 17.

Les odds ratios ne montrent pas de tendance significative avec les niveaux de *p,p'*-DDE ($p_{\text{tendance}} = 0,46$). On peut noter toutefois que l'odds ratio comparant la troisième à la première catégorie de *p,p'*-DDE est significativement inférieur à 1 (OR = 0,73 ; IC 95 % 0,56 – 0,95).

Les analyses stratifiées par âge ne montrent pas d'association nette entre le cancer du sein et le *p,p'*-DDE chez les femmes de « moins de 50 ans » et chez les femmes de « 50 ans et plus ». La diminution de l'OR dans la troisième catégorie de *p,p'*-DDE est restreinte aux femmes de moins de 50 ans.

La stratification sur le département montre une diminution des OR dans la catégorie d'exposition maximum en Côte d'Or, et dans la catégorie d'exposition intermédiaire en Ile-et-Vilaine.

Une association inverse est observée pour les cancers du sein à récepteurs hormonaux négatif (RE-RP-), mais pas pour les cancers du sein à récepteurs hormonaux positifs (RE+RP+) ou mixtes (RE+RP-).

Tableau 17 – Odds ratios liés au cancer du sein associé aux niveaux de *p,p'*-DDE mesurés au moment du recrutement chez toutes les femmes de l'étude CECILE, et selon le groupe d'âge, le département et le statut des récepteurs hormonaux

	<i>p,p'</i> -DDE (µg/L)	cas	témoins	OR ^a	IC 95%	p _{tendance}
TOUTES	<LD	509	480	1	Référence	0,46
	[0,51-0,84[177	181	0,94	[0,73;1,22]	
	[0,84-1,42[157	191	0,73	[0,56;0,95]	
	≥1,42	212	188	0,93	[0,71;1,21]	
GROUPE d'ÂGE						
Moins de 50 ans	<LD	218	215	1	Référence	0,79
	[0,51-0,84[53	52	1,05	[0,66;1,67]	
	[0,84-1,42[30	56	0,48	[0,28;0,83]	
	≥1,42	39	28	1,37	[0,77;2,45]	
50 ans et plus	<LD	291	265	1	Référence	0,31
	[0,51-0,84[124	129	0,89	[0,64;1,22]	
	[0,84-1,42[127	135	0,83	[0,60;1,14]	
	≥1,42	173	160	0,85	[0,63;1,15]	
DÉPARTEMENT						
Côte d'Or	<LD	147	152	1	Référence	0,07
	[0,51-0,84[52	75	0,68	[0,42;1,08]	
	[0,84-1,42[52	64	0,73	[0,44;1,19]	
	≥1,42	63	77	0,62	[0,39;1,00]	
Ille-et-Vilaine	<LD	362	328	1	Référence	0,78
	[0,51-0,84[125	106	1,11	[0,81;1,53]	
	[0,84-1,42[105	127	0,74	[0,54;1,03]	
	≥1,42	149	111	1,10	[0,79;1,52]	
RÉCEPTEURS HORMONAUX						
RE+RP+	<LD	298	480	1	Référence	0,68
	[0,51-0,84[113	181	1,01	[0,75;1,35]	
	[0,84-1,42[114	191	0,87	[0,65;1,18]	
	≥1,42	147	188	1,08	[0,81;1,45]	
RE+RP-	<LD	60	480	1	Référence	0,92
	[0,51-0,84[26	181	1,39	[0,82;2,35]	
	[0,84-1,42[18	191	0,62	[0,34;1,13]	
	≥1,42	35	188	1,11	[0,66;1,85]	
RE-RP-	<LD	94	480	1	Référence	0,04
	[0,51-0,84[20	181	0,65	[0,42;1,15]	
	[0,84-1,42[13	191	0,38	[0,21;0,71]	
	≥1,42	20	188	0,61	[0,33;0,99]	

^a OR ajustés sur âge, département, cholestérol et triglycérides, niveau d'éducation, âge à la puberté, parité, âge à la première grossesse à terme, IMC, THM, antécédent familial de cancer du sein, antécédent de maladie bénigne du sein, allaitement et date de référence

2. Cancer du sein et niveaux de PCB-153 mesurés au moment du recrutement

Les odds ratios estimés à partir des niveaux sériques de PCB-153 mesurés au moment du recrutement dans l'enquête CECILE sont présentés dans le Tableau 18.

Sur l'ensemble des femmes, nous observons une association inverse à la limite de la significativité entre les niveaux sériques de PCB-153 et le risque de cancer du sein (OR = 0,76 ; IC 95 % 0,57 – 1,02 en comparant la quatrième à la première catégorie de PCB-153, $p_{\text{tendance}} = 0,08$).

Les analyses stratifiées sur l'âge (« moins de 50 ans » versus « 50 ans et plus ») montrent que cette association inverse n'est observée que chez les femmes de 50 ans et plus (OR = 0,69 ; IC 95 % 0,49 – 0,97 en comparant la quatrième à la première catégorie de PCB-153, $p_{\text{tendance}} = 0,02$).

La stratification sur le département montre que l'association inverse est présente en Côte d'Or et en Ille-et-Vilaine, avec une tendance plus marquée en Côte d'Or ($p_{\text{tendance}} = 0,01$).

L'association inverse ne diffère pas en fonction de l'expression des récepteurs hormonaux des cancers du sein.

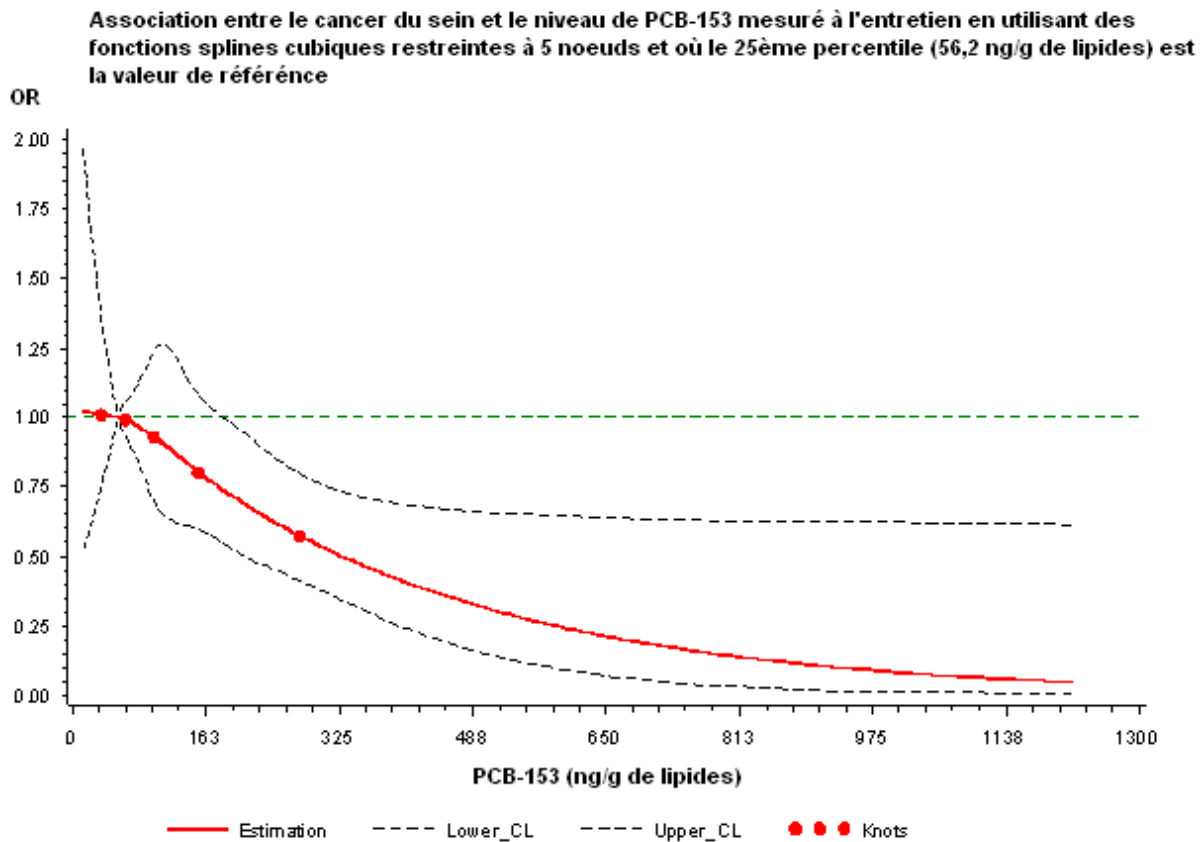
La Figure 14 fournit une représentation continue de l'association entre les niveaux de PCB-153 mesurés au recrutement et le risque de cancer du sein chez les femmes de plus de 50 ans par la courbe d'une fonction spline cubique restreinte à 5 nœuds et où la valeur de référence est le 25^{ème} percentile. Cette figure permet de confirmer la tendance observée sur les quatre catégories d'exposition.

Tableau 18 – Odds ratios liés au cancer du sein associé aux niveaux de PCB-153 mesurés au moment du recrutement chez toutes les femmes de l'étude CECILE, et selon le groupe d'âge, le département et le statut des récepteurs hormonaux

	PCB-153 (µg/L)	cas	témoins	OR ^a	IC 95%	p tendance
TOUTES	<LD	453	424	1	Référence	0,08
	[0,50 -0,72[230	202	1,15	[0,89;1,48]	
	[0,72-1,06[196	203	0,89	[0,68;1,16]	
	≥1,06	176	211	0,76	[0,57;1,02]	
GROUPE d'ÂGE						
Moins de 50 ans	<LD	207	223	1	Référence	0,55
	[0,50-0,65[46	40	1,46	[0,87; 2,44]	
	[0,65-0,91[46	45	1,12	[0,67; 1,87]	
	≥0,91	41	43	1,11	[0,63; 1,93]	
50 ans et plus	<LD	246	201	1	Référence	0,02
	[0,50-0,76[181	157	1,02	[0,75;1,39]	
	[0,76-1,10[149	164	0,78	[0,57;1,07]	
	≥1,10	139	167	0,69	[0,49;0,97]	
DÉPARTEMENT						
Côte d'Or	<LD	124	120	1	Référence	0,01
	[0,50 -0,72[68	80	0,70	[0,44;1,12]	
	[0,72-1,06[63	78	0,67	[0,41;1,08]	
	≥1,06	59	90	0,49	[0,29;0,82]	
Ille-et-Vilaine	<LD	329	304	1	Référence	0,52
	[0,50 -0,72[162	122	1,44	[1,05;1,96]	
	[0,72-1,06[133	125	1,01	[0,73; 1,4]	
	≥1,06	117	121	0,91	[0,64; 1,3]	
DÉPARTEMENT chez les 50 ans et plus						
Côte d'Or / ≥50 ans	<LD	67	60	1	Référence	0,03
	[0,50-0,76[56	55	0,78	[0,44;1,39]	
	[0,76-1,10[52	63	0,67	[0,38; 1,2]	
	≥1,10	46	68	0,52	[0,28;0,97]	
Ille-et-Vilaine / ≥50 ans	<LD	179	141	1	Référence	0,12
	[0,50-0,76[125	102	1,10	[0,76;1,59]	
	[0,76-1,10[97	101	0,82	[0,55;1,21]	
	≥1,10	93	99	0,75	[0,5;1,14]	
RÉCEPTEURS HORMONAUX						
RE+RP+	<LD	277	424	1	Référence	0,21
	[0,50 -0,72[155	202	1,22	[0,93;1,62]	
	[0,72-1,06[124	203	0,90	[0,67;1,22]	
	≥1,06	116	211	0,81	[0,59;1,11]	
RE+RP-	<LD	57	424	1	Référence	0,13
	[0,50 -0,72[30	202	1,21	[0,72;2,03]	
	[0,72-1,06[27	203	0,87	[0,51;1,50]	
	≥1,06	25	211	0,66	[0,37;1,19]	
RE-RP-	<LD	77	424	1	Référence	0,27
	[0,5 -0,72[26	202	0,97	[0,58;1,61]	
	[0,72-1,06[26	203	0,94	[0,55;1,58]	
	≥1,06	18	211	0,65	[0,35;1,20]	

^a OR ajustés sur âge, département, cholestérol et triglycérides, niveau d'éducation, âge à la puberté, parité, âge à la première grossesse à terme, IMC, THM, antécédent familial de cancer du sein, antécédent de maladie bénigne du sein, allaitement, date de référence

Figure 14 – Fonction spline cubique restreinte à 5 nœuds des niveaux de PCB-153 mesurés au recrutement modélisant le risque (OR) de cancer du sein



Nous avons également étudié l'association entre cancer du sein et niveaux de PCB-153 au recrutement en tenant compte de la consommation de poisson de mer. L'association inverse n'était pas modifiée par la prise en compte de ce facteur : les OR pour les différentes catégories de PCB-153 sont les mêmes au centième près après ajustement sur la consommation de poisson de mer.

3. Cancer du sein par cohorte de naissance en fonction des niveaux de PCB-153 mesurés au recrutement

Nous avons montré l'existence d'un effet génération dans les niveaux de PCB lié aux variations très importantes de la contamination environnementales aux PCB au cours du XX^{ème} siècle (courbe

en V renversé). Cette observation nous amène à pratiquer des analyses stratifiées en fonction de la cohorte de naissance.

Après stratification sur la cohorte de naissance (Tableau 19), une association inverse entre le risque de cancer du sein et les niveaux mesurés de PCB-153 au recrutement est observée pour les générations nées avant 1960 (femmes de 50 ans et plus au moment du recrutement). Il n'existe pas de différences marquées entre les générations 1930-40, 1941-50, et 1951-60. Nous n'observons pas d'association des niveaux de PCB-153 mesurés au recrutement avec le risque de cancer du sein chez les femmes nées après 1960. Ces résultats sont cohérents avec l'analyse stratifiée sur le groupe d'âge (« moins de 50 ans » versus « 50 ans et plus »).

Tableau 19 – Odds ratios liés au cancer du sein associé aux niveaux de PCB-153 mesurés au moment du recrutement par cohorte de naissance chez les femmes de l'étude CECILE

Cohorte de naissance	PCB-153 (µg/L)	Cas	Témoins	OR ^a	IC 95 %	P _{tendance}
1930-1940	<LOD	48	34	1	Référence	0,03
	[0,50-0,85[71	56	0,98	[0,53;1,83]	
	[0,85-1,28[49	58	0,60	[0,32;1,13]	
	≥1,28	45	59	0,55	[0,28;1,07]	
1941-1950	<LOD	107	102	1	Référence	0,28
	[0,50-0,76[80	63	1,44	[0,89;2,33]	
	[0,76-1,10[62	67	1,00	[0,62;1,64]	
	≥1,10	51	69	0,76	[0,44;1,30]	
1951-1960	<LOD	158	138	1	Référence	0,02
	[0,50-0,69[72	61	1,09	[0,69;1,72]	
	[0,69-0,98[51	61	0,67	[0,41;1,09]	
	≥0,98	53	63	0,58	[0,35;0,95]	
1961-1981	<LOD	140	150	1	Référence	0,17
	[0,50-0,61[16	18	1,37	[0,61;3,08]	
	[0,61-0,85[25	20	1,46	[0,69;3,09]	
	≥0,85	27	21	1,56	[0,72;3,39]	

^aOR : odds ratios ajustés sur âge, département, âge à la puberté, âge à la première grossesse à terme, parité, durée cumulée d'allaitement, niveau d'éducation, IMC, THM, antécédent de maladies bénignes du sein, antécédent de cancer familial du sein, date de référence, triglycéride, cholestérol.

4. Cancer du sein par cohorte de naissance en fonction des niveaux de PCB-153 estimés à la décade 11-20 ans

Du fait des très fortes corrélations entre l'année de naissance et les niveaux de PCB-153 estimés par l'AUC 11_20 (cf. page 90), une analyse regroupant l'ensemble des cohortes de naissance n'est pas possible pour étudier le risque de cancer du sein en fonction du niveau de PCB-153 estimé à l'âge de 11_20 ans. Seules les analyses stratifiées par cohorte de naissance ont donc été réalisées.

Le Tableau 20 montre que le PCB-153 estimé à l'âge de 11-20 ans est associé négativement au cancer du sein de façon nette pour la seule génération 1951-60 ($p_{\text{tendance}} = 0,001$). À l'inverse des résultats basés sur le PCB-153 mesuré au recrutement montrés dans le paragraphe précédent, cette association n'apparaît pas de façon marquée pour la génération 1930-40 ($p_{\text{tendance}} = 0,20$), et pour la génération 1941-50 ($p_{\text{tendance}} = 0,57$). On peut noter que les femmes nées dans la décade 1951-60 chez lesquelles l'association est observée ont atteint leur puberté au cours de la période 1962-1980, c'est-à-dire au cours de la phase croissante et maximale de la contamination environnementale.

Tableau 20 – Odds ratios liés au cancer du sein associé aux niveaux de PCB-153 à la période d'âge 11-20 ans estimés à partir des modèles PBPK selon la cohorte de naissance chez les femmes de l'étude CECILE

Cohorte de naissance	Période	Tertiles	Médiane des témoins (ng/g de lipides)	Cas	Témoins	OR ^a	IC 95 %	P _{tendance}
1930-1940	1941-1960	T1	1,0	92	72	1	Référence	0,20
		T2	2,3	64	69	0,72	[0,44;1,19]	
		T3	4,2	57	66	0,71	[0,41;1,22]	
1941-1950	1952-1970	T1	4,4	102	104	1	Référence	0,57
		T2	9,8	97	99	1,14	[0,74;1,75]	
		T3	18,6	101	98	1,15	[0,74;1,79]	
1951-1960	1962-1980	T1	24,8	147	112	1	Référence	0,001
		T2	50,7	118	108	0,81	[0,55;1,21]	
		T3	85,9	69	103	0,47	[0,31;0,74]	
1961-1981	1972-2001	T1	34,4	72	76	1	Référence	0,33
		T2	69,3	74	69	1,30	[0,77;2,19]	
		T3	131,0	62	64	1,36	[0,75;2,45]	

^aOR : odds ratios ajustés sur âge, département, âge à la puberté, âge à la première grossesse à terme, parité, durée cumulée d'allaitement, niveau d'éducation, IMC, THM, antécédent de maladies bénignes du sein, antécédent de cancer familial du sein, date de référence

DISCUSSION

I. Synthèse des principaux résultats

Ce travail de thèse a tout d'abord permis d'étudier la prévalence de l'exposition aux composés organochlorés, et plus particulièrement au *p,p'*-DDE, principal métabolite du DDT, et aux PCB à partir d'un échantillon de 1055 femmes âgées de 25 à 75 ans issues de la population générale de Côte d'Or et d'Ille-et-Vilaine. L'exposition a été mesurée entre 2005 et 2008 à partir de prélèvements sanguins effectués chez les femmes recrutées comme témoins dans l'étude CECILE. Les niveaux moyens observés sont plus faibles que les niveaux rapportés précédemment dans des populations occidentales en raison du déclin général de la contamination environnementale. Les principaux facteurs prédictifs de ces niveaux sériques incluent l'âge, les habitudes alimentaires, le poids et ses variations au cours du temps, les grossesses et l'allaitement, ainsi que le lieu de résidence.

Dans un second temps, nous avons étudié les associations entre les niveaux de composés organochlorés (*p,p'*-DDE et PCB-153) mesurés chez les cas et les témoins de l'étude CECILE et le cancer du sein. Nous n'observons pas d'association entre les niveaux de *p,p'*-DDE et les cancers du sein dans leur ensemble. Une association inverse apparaît entre le *p,p'*-DDE et les cancers du sein de type négatif pour les récepteurs hormonaux (RE- et RP-). Nous observons également une association inverse entre les niveaux sanguins de PCB-153 mesurés lors du recrutement dans l'étude et le cancer du sein. Cette association inverse n'est présente que chez les femmes de 50 ans et plus, mais n'apparaît pas chez les femmes de moins de 50 ans.

Nous avons enfin étudié l'association entre le cancer du sein et le niveau d'exposition au PCB-153 estimé au cours de la puberté, période au cours de laquelle les cellules mammaires sont particulièrement sensibles aux agents de l'environnement. Pour estimer l'exposition passée de chacune des femmes de l'étude CECILE à la période péri-pubertaire (11-20 ans), nous avons mis en œuvre des modèles PBPK permettant cette rétro-estimation à partir d'une modélisation basée (i) sur les concentrations de PCB-153 mesurées dans le prélèvement sanguin réalisé à l'inclusion, (ii) les paramètres individuels de variation des niveaux de PCB-153 (poids, taille, grossesses, allaitement...)

connus d'après le questionnaire, et (iii) la courbe de contamination environnementale par les PCB survenue dans la deuxième moitié du XX^{ème} siècle, élaborée à partir de données disponibles dans la littérature. Cette méthode d'estimation des expositions n'avait jamais été utilisée auparavant dans ce contexte. L'exposition au PCB-153 estimée à l'âge de 11-20 ans dépend fortement de l'année de naissance des femmes, du fait de la forme particulière de la courbe de contamination environnementale, et nous a amené à pratiquer des analyses par cohorte de naissance. Nous observons une association inverse entre le cancer du sein et le PCB-153 estimé à la période péri-pubertaire particulièrement marquée chez les femmes nées dans les années 1951-1960. Ces femmes sont celles qui ont vécu leur puberté lors de la phase de croissance exponentielle de la contamination environnementale (1960-1980) et sont parmi celles dont l'exposition estimée au PCB-153 à la puberté était la plus élevée.

II. Niveaux d'exposition aux composés organochlorés et leurs déterminants

1. Validité de l'étude

Nombre de sujets

L'analyse des niveaux de contamination biologique par les composés organochlorés et de leurs déterminants est basée sur les dosages de *p,p'*-DDE et de PCB effectués à partir de prélèvements sanguins chez 1055 femmes âgées de 25 à 75 ans issues de la population générale de Côte d'Or et d'Ille-et-Vilaine. Ce large échantillon de sujets peut être considéré comme représentatif des femmes de même âge dans chacun des deux départements.

Les analyses principales de l'étude sur les déterminants des niveaux d'organochlorés ont été effectuées sur l'échantillon des témoins seuls avec l'idée que la relation entre les déterminants étudiés et les niveaux d'exposition aux organochlorés pouvait être modifiée par l'existence du cancer. Dans les analyses de sensibilité présentées en Annexe III, nous avons inclus les cas et les

témoins. La plupart des associations observées chez les témoins seuls sont retrouvées dans cet échantillon avec des estimations plus précises du fait d'une meilleure puissance statistique.

Des analyses stratifiées sur le groupe d'âge (moins de 50 ans, 50 ans et plus) utilisé comme proxy du statut ménopausique ont été réalisées. Le statut ménopausique peut en effet influencer le métabolisme ou les paramètres de stockage des organochlorés dans les tissus adipeux (Poehlman et al. 1995), et peut par conséquent modifier les associations avec les facteurs étudiés. De plus, certains facteurs prédictifs tels que la parité ou l'allaitement peuvent avoir des effets à court terme sur les niveaux d'organochlorés des femmes en âge de reproduction qui pourraient n'être détectables que chez les femmes en pré-ménopause.

Erreurs de classement

Questionnaire

L'auto-déclaration du poids à différentes périodes de la vie peut avoir conduit à des erreurs de classement non différentielles. Une étude a montré que chez 100 femmes âgées de 71 à 76 ans la corrélation entre le poids à 20 ans déclaré et le poids à 20 ans mesuré était de 0,64 (coefficient de corrélation de Spearman) (Must et al. 1993). Ces résultats permettent de conclure, d'après les auteurs que l'auto-déclaration à un âge avancé du poids à 20 ans constitue une information raisonnablement valide.

Les erreurs de classements dûes à cette auto-déclaration du poids ainsi qu'à l'utilisation d'un sont vraisemblablement non différentielles car indépendantes des niveaux d'organochlorés mesurés. D'autres informations telles que la parité ou l'allaitement sont moins sujettes à des déclarations erronées lors du recueil de données par questionnaire.

Dosages

Les dosages de composés organochlorés ont été réalisés selon une procédure opératoire standard décrite dans le paragraphe « *Dosages* » de la partie II.2 page 54. Cependant, les valeurs sont entachées d'une certaine marge d'erreur inhérente aux procédés de laboratoire. La

catégorisation des variables d'exposition dans nos analyses aussi bien sur les déterminants des composés organochlorés que sur l'association avec le cancer du sein permet d'atténuer ces erreurs de mesure.

Valeurs sous la limite de détection

Un pourcentage élevé de valeurs de *p,p'*-DDE et de PCB se situe sous la LD. Comme cela a été décrit dans le paragraphe « *Analyses multivariées* » de la partie IV.1 page 63, nous avons utilisé plusieurs stratégies pour prendre en compte ces valeurs dans l'analyse des déterminants des composés organochlorés. Quelle que soit la stratégie d'analyse employée (régression linéaire multiple après imputation, régression de Tobit ou régression polytomique), les résultats étaient convergents. Nous avons choisi la régression polytomique requérant le moins d'hypothèses sur la distribution des concentrations chez les femmes de notre échantillon.

2. Niveaux mesurés (comparaisons géographiques, temporelles)

***p,p'*-DDE**

La concentration médiane de *p,p'*-DDE de 85 ng/g de lipides observée chez les témoins dans notre étude en 2005-2007 est très en deçà de la valeur de 5100 ng/g de lipides observée parmi des femmes américaines sur la période 1959-1967 (Cohn et al. 2007), période à laquelle le DDT était encore largement utilisé aux États-Unis. L'étude NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey) conduite aux États-Unis en 2003-2004 rapportait une moyenne géométrique de 241 ng/g de lipides chez les femmes recrutées par un échantillonnage représentatif de la population des États-Unis basé sur l'âge et l'ethnie (Centers for Disease Control and Prevention 2009). La concentration dans notre échantillon est du même ordre de grandeur que celle relevée dans l'étude ENNS (Étude Nationale Nutrition Santé) menée par l'Institut national de Veille Sanitaire (InVS) sur 400 adultes de la population générale de 18 à 74 ans en 2006-2007 avec des niveaux moyens de 120 ng/g de lipides. Au total, nous constatons une chute importante de la contamination dans les tissus biologiques qui

est concordante avec la chute des niveaux dans l'environnement observée depuis les années 1970 lorsque l'utilisation du DDT a été interdite dans la plupart des pays occidentaux (UNEP (United Nations Environment Programme Chemicals) 2002).

PCB

L'analyse des PCB totaux consiste dans notre étude en la somme de 4 congénères (PCB -118,-138,-153 et -180) parmi les 7 congénères indicateurs utilisés couramment pour surveiller l'exposition en Europe (EFSA (European Food Safety Agency) 2005). Les trois autres congénères mesurés PCB -28, -52, et -101 n'ont été détectés chez aucune femme de notre échantillon. Le PCB-153 était le congénère le plus fréquemment détecté, avec une concentration médiane de 88 ng/g de lipides. D'autres études ont rapporté des concentrations sériques moyennes de 182,6 ng/g de lipides en Espagne dans les années 1990 (Agudo et al. 2009), de 41 ng/g de lipides au Royaume-Uni en 2003 (Thomas et al. 2006), de 155 ng/g de lipides en France en 2003 (Marchand et al. 2004), indiquant l'existence de variations géographiques et temporelles en Europe. L'étude ENNS menée par l'InVS sur 386 adultes de la population générale de 18 à 74 ans en 2006-2007, a relevé des niveaux moyens de 110 ng/g de lipides, proches des niveaux observés dans notre étude. Dans l'étude nationale de santé et de nutrition conduite aux États-Unis en 2003-2004 (NHANES), la concentration moyenne était de 19,7 ng/g de lipides chez les femmes à partir de 12 ans (Centers for Disease Control and Prevention 2009). Ces données sont parcellaires mais semblent montrer un niveau de contamination plus élevé en Europe qu'aux États-Unis.

3. Déterminants des niveaux sanguins de composés organochlorés

***p,p'*-DDE**

Nous avons observé que les concentrations de *p,p'*-DDE augmentent linéairement avec l'âge, et sont 2,5 fois plus élevées chez les femmes de plus de 70 ans que chez les femmes de moins de 30 ans. En plus de l'effet de l'âge dû à la bioaccumulation des composés organochlorés au cours du

temps (Glynn et al. 2003), cette tendance peut également refléter un effet de la cohorte de naissance, puisque les expositions dûes à la contamination alimentaire ont augmenté jusqu'à l'interdiction du DDT dans les années 1970, et ont diminué ensuite. Ainsi, les expositions moyennes annuelles des femmes nées après cette date ont été moins importantes.

L'alimentation est la principale voie d'absorption du DDT et de ses produits dérivés (ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) 2000). D'après l'agence européenne de sécurité alimentaire (EFSA (European Food Safety Agency) 2005), le poisson est l'aliment le plus contaminé. L'apport alimentaire en DDT et ses composés dérivés a commencé à décliner à la fin des années 1960 aux États-Unis (Wolff et al. 2005a). En Europe, la contamination des poissons (UNEP (United Nations Environment Programme Chemicals) 2002) et de la viande (Glynn et al. 2009 ; Glynn et al. 2000) a également décliné au cours du temps. L'augmentation des concentrations sériques de *p,p'*-DDE associé à la fréquence de consommation de poisson de mer chez les femmes les plus jeunes dans notre étude suggère que la contamination des poissons par le *p,p'*-DDE persiste en France.

Nous avons observé que les niveaux de *p,p'*-DDE augmentent avec l'IMC. Ce résultat contraste avec les résultats d'études antérieures conduites dans les années 1960 qui rapportent que les niveaux de *p,p'*-DDE décroissent lorsque l'IMC augmente (James et al. 2002), mais est en accord avec les études plus récentes menées depuis les années 1990 (Glynn et al. 2007 ; Glynn et al. 2003 ; Laden et al. 1999 ; Wolff et al. 2005a). Ces divergences entre les études sont expliquées par le modèle proposé par Wolff et coll. (Wolff et al. 2007) qui postule que :

- (i) durant les années 1960, lorsque l'apport et l'absorption de DDT étaient élevés, l'association inverse entre niveaux de *p,p'*-DDE et l'IMC résultait d'un état d'équilibre entre absorption et élimination et de la dilution du DDE/DDT dans les tissus adipeux.
- (ii) au cours des périodes plus récentes, l'apport en DDT/DDE est devenu de plus en plus faible du fait de la décroissance de la contamination environnementale, et a entraîné une décroissance progressive des niveaux biologiques. Les résidus de DDT/DDE stockés dans les

tissus adipeux étant relargués lentement, la charge corporelle totale en p,p' -DDE a décliné moins vite chez les femmes ayant un IMC élevé que chez les autres, résultant finalement au cours du temps en une association positive entre le p,p' -DDE et l'IMC.

Nous avons observé que, à poids égal, le gain d'IMC au cours des dix dernières années est lié à des concentrations plus faibles de p,p' -DDE chez les femmes de moins de 50 ans. Cette association suggérée est expliquée par une dilution plus importante des organochlorés dans les graisses lorsque le poids augmente. De façon concordante, la perte de poids au cours des 10 dernières années résulte en une augmentation des niveaux sériques de p,p' -DDE en raison du relargage des organochlorés du tissu adipeux dans la circulation sanguine (Pelletier et al. 2002).

L'allaitement, en tant que première voie d'excrétion des organochlorés (Rogan et al. 1986 ; Vo et al. 2008), entraîne une décroissance des niveaux de p,p' -DDE. Dans notre échantillon, la durée cumulée d'allaitement n'était pas associée aux niveaux sériques de p,p' -DDE. On peut faire l'hypothèse que la diminution de la concentration en p,p' -DDE ne serait apparente que sur une période à court terme après l'allaitement, mais que celui-ci ne serait pas un bon marqueur des niveaux de p,p' -DDE sur le long terme.

Nos résultats indiquent également la possibilité d'une association inverse entre le p,p' -DDE et la consommation de tabac. Le tabac pourrait induire des enzymes impliquées dans le métabolisme des composés organochlorés (Ayotte et al. 2005), conduisant à l'association inverse observée. La consommation d'alcool et le département ne sont pas prédictifs des niveaux de p,p' -DDE.

PCB

Les niveaux de PCB observés sont très fortement associés à l'âge. Le niveau sanguin moyen de PCB totaux est 1,5 fois plus élevé chez les femmes de plus de 70 ans que chez les femmes de moins de 30 ans. Comme pour le p,p' -DDE, ce résultat peut être interprété comme reflétant à la fois de la bioaccumulation avec l'âge, et un effet génération, les cohortes de naissance d'avant 1960 ayant vécu au cours de périodes où la contamination environnementale était maximale.

L'alimentation constitue la source principale de PCB. Le poisson, la viande et les produits laitiers sont les produits les plus contaminés (AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments) 2007). L'apport alimentaire quotidien de 6 congénères de PCB indicateurs « non dioxin-like » (PCB -28, -52, -101, -138, -153 et -180) en France était de 7.7 ng/kg de poids corporel par jour en 2002-2006 (Arnich et al. 2009). Nous avons observé que la consommation de poisson de mer chez les femmes de plus de 50 ans était associée aux niveaux de PCB. Des niveaux élevés de PCB ont également été rapportés chez les pêcheurs ou les Amérindiens de la région des Grands Lacs aux États-Unis ayant de fortes consommations de poissons contaminés (Hanrahan et al. 1999 ; Schaeffer et al. 2006) ou chez les consommateurs de poissons gras de la mer baltique en Suède et en Lettonie (Sjodin et al. 2000). Des études antérieures basées sur un questionnaire de fréquence alimentaire pour évaluer la consommation de poisson ont également rapporté une association avec les niveaux sanguins de PCB (Agudo et al. 2009 ; Glynn et al. 2003 ; Laden et al. 1999 ; Moysich et al. 2002b ; Paris-Pombo et al. 2003 ; Sarcinelli et al. 2003). Nos résultats en rapport avec la consommation de poissons indiquent une persistance de la contamination par les PCB en France, et fait écho à des rapports récents sur la contamination environnementale des sédiments des rivières et des poissons (Babut and Miege 2007 ; Meunier 2008).

Comme pour le *p,p'*-DDE, l'association inverse avec la consommation de produits laitiers est intrigante. Elle a déjà été rapportée dans une étude récente au Danemark (Brauner et al. 2011). Les femmes ayant une consommation de produits laitiers plus élevée ont peut-être un profil alimentaire particulier induisant une plus faible contamination par les organochlorés.

Dans notre échantillon, les concentrations de PCB totaux diminuent lorsque l'IMC augmente, cette tendance étant significative chez les femmes de 50 ans et plus. Ce résultat est cohérent avec un effet de dilution des résidus de PCB dans le tissu adipeux chez les femmes ayant un IMC élevé, et contraste avec l'association dans le sens opposé observée pour le *p,p'*-DDE. Comme expliqué précédemment (Wolff et al. 2007), les personnes en surpoids éliminent les organochlorés plus lentement, et retiennent les résidus d'organochlorés sur des périodes plus longues après le déclin ou

l'arrêt de l'exposition. L'association positive rapportée entre le *p,p'*-DDE et l'IMC peut être vue comme la conséquence du déclin de l'exposition environnementale au DDT/DDE. Au contraire, l'association négative entre PCB totaux et IMC suggère que l'absorption des PCB provenant de sources environnementales subsiste. Cette observation est concordante avec la persistance de la contamination environnementale par les PCB en France.

À poids actuel constant, les analyses multivariées ont montré que le gain de poids au cours des dix dernières années était associé à des niveaux faibles de PCB, et la perte de poids à des niveaux élevés. Ces résultats sont cohérents avec un effet de dilution (gain de poids) ou de concentration (perte de poids) des résidus de PCB dans les tissus adipeux (Hue et al. 2006 ; Lim et al. 2010 ; Pelletier et al. 2002).

Les niveaux de PCB étaient associés négativement à la durée de l'allaitement chez les femmes de moins de 50 ans, mais cette association n'est pas apparente chez les femmes plus âgées. L'association négative reflète l'excrétion des PCB au cours de l'allaitement (Jensen 1983) et confirme les résultats d'études antérieures (Moysich et al. 2002b ; Vo et al. 2008). La diminution des niveaux sanguins de PCB peut n'être apparente que pour un temps limité, expliquant ainsi l'absence d'association chez les femmes de plus de 50 ans.

Les femmes vivant en Côte d'Or ont des niveaux plus élevés que les femmes d'Ille-et-Vilaine. Cette différence est statistiquement significative dans les modèles multivariés pour les deux groupes d'âge. Malgré l'interdiction de la production de PCB en France depuis 1987, la pollution des rivières telles que le Rhône par les PCB reste une préoccupation majeure (Babut and Miege 2007 ; Meunier 2008). De façon intéressante, des mesures de sédiments fluviaux sont comprises dans un intervalle de 0 à 10 µg/kg de poids sec en Ille-et-Vilaine, alors que des concentrations au-delà de 401 µg/kg ont été observées en Côte d'Or dans une étude menée en 2000-2005 (Ministère de l'écologie 2007), suggérant que les différences des niveaux sanguins des femmes puissent refléter des différences de contamination environnementales entre ces deux départements.

Nous observons une légère association positive entre les concentrations de PCB et la consommation d'alcool chez les femmes plus âgées. Les niveaux de PCB ne varient pas en fonction de l'éducation ou de la consommation de tabac, comme d'autres études l'avaient déjà rapporté (Apostoli et al. 2005 ; Sala et al. 1999 ; Sandanger et al. 2007).

Cette analyse des niveaux et des déterminants des niveaux de *p,p'*-DDE et de PCB-153 a fait l'objet d'un article publié dans *Environmental Research* (Annexe IV).

III. Estimation du profil d'exposition vie-entière au PCB-153 et ciblage de la période péri-pubertaire à partir des modèles PBPK

1. Proposition d'une nouvelle approche pour cibler la période péri-pubertaire

À la suite de l'analyse sur les déterminants des niveaux de PCB-153, nous avons fait l'hypothèse que les niveaux mesurés au moment du recrutement pourraient ne pas refléter de façon appropriée l'exposition antérieure survenue au cours de périodes clés du développement mammaire, en particulier la période péri-pubertaire, les plus pertinentes pour étudier le rôle des expositions environnementales dans le cancer du sein. La modélisation PBPK nous est apparue comme une méthode intéressante pour estimer les profils toxicocinétiques individuels vie-entière en tenant compte des mesures effectuées au moment du recrutement des cas et des témoins, des variations de la contamination environnementale survenues au cours de la deuxième moitié du XX^{ème} siècle, des antécédents reproductifs et des variations de poids connus et datés au niveau individuel grâce au questionnaire. La description de cette approche utilisant les modèles PBPK a fait l'objet d'un article (cf. Annexe IV).

L'exemple décrit dans la Figure 11 page 86 montre que deux femmes de même âge ayant des niveaux de PCB identiques au moment du recrutement, mais des historiques d'allaitement et de poids différents, n'ont vraisemblablement pas eu un profil de contamination identique au cours de la vie. Nous avons toutefois constaté dans nos données que les estimations des niveaux de PCB-153 aux

différentes décades de la vie des femmes, et notamment à la période 11-20 ans, sont très corrélées avec les niveaux mesurés au moment du recrutement. Cette étude des corrélations a fait l'objet d'un article écrit en collaboration avec l'équipe canadienne (cf. Annexe IV).

2. Variables influençant les profils toxicocinétiques

Les modèles PBPK intègrent différentes caractéristiques individuelles telles que l'année de naissance, les périodes de début et de fin d'allaitement, la taille, les variations de poids au cours du temps et enfin le niveau de PCB-153 mesuré au moment du recrutement. Verner et al. ont montré comment ces facteurs influencent les profils à partir de simulations (Verner et al. 2008a). Nous avons étudié à partir des données de l'étude CECILE l'impact de ces facteurs et l'avons quantifié par des pourcentages de variance expliquée.

Il ressort que les niveaux de PCB-153 estimés au cours de la période péri-pubertaire dépendent largement du niveau de PCB-153 mesuré au moment du recrutement, mais également de l'âge. Ces niveaux sont également liés à l'IMC et à ses variations au cours du temps, aux grossesses et aux périodes d'allaitement, de façon modeste mais non négligeable (jusqu'à 6,4 % de variance expliquée de l'aire sous la courbe pour la période 11-20 ans par l'ensemble de ces facteurs).

L'impact de l'IMC et de ses variations au cours du temps, des grossesses et des périodes d'allaitement sur la variance de l'AUC_11_20 **dans nos données** est modeste. Dans notre échantillon, les femmes ont peu allaité (23 % des témoins ont allaité de façon cumulée de 3 mois à un an et moins de 1 % des témoins a allaité plus d'un an).

En conclusion, la modélisation PBPK et le fait d'estimer les niveaux d'exposition à des périodes antérieures dans la vie des femmes pourrait avoir un impact plus important dans une population dans laquelle les femmes auraient beaucoup allaité au cours de leur vie (allaitement cumulé vie-entière supérieur à un an). Dans ce cas, les corrélations entre les niveaux mesurés au recrutement et les niveaux estimés à 11-20 ans seraient certainement moins élevées.

3. Impact de l'imputation des valeurs de PCB-153 sous la limite de détection

Sur l'ensemble des 2135 femmes, 42 % ont des valeurs de PCB-153 sous la limite de détection. Comme nous l'avons vu, ce pourcentage diminue fortement avec l'âge, avec 78 % des valeurs sous la LD chez les femmes de moins de 40 ans, contre 25 % chez les plus de 60 ans. Afin d'obtenir des profils toxicocinétiques pour ces femmes, les valeurs sous la LD ont été imputées à partir de la distribution des valeurs observées et de la loi-lognormale (voir paragraphe « Imputation des valeurs sous la limite de détection (LD) » page 56). Ces imputations ont pu avoir un impact dans l'estimation des odds ratios mesurant, pour chaque cohorte de naissance, l'association entre le cancer du sein et les niveaux de PCB-153 estimés à la période péri-pubertaire (AUC 11_20). Toutefois cet impact devrait être limité pour plusieurs raisons : (1) le classement des AUC 11_20 en tertiles a limité cet impact car la forte corrélation entre les niveaux de PCB-153 mesurés et les niveaux estimés à 11-20 ans implique que 69 % des femmes ayant des valeurs sous la limite de détection au moment du recrutement sont classées dans le premier tertile pour l'AUC 11_20 (classe de référence). Ce pourcentage varie en fonction de la cohorte de naissance puisque chez les femmes plus jeunes, le pourcentage élevé de valeurs sous la LD ne permet pas que toutes les femmes soient classées dans un unique tertile (cf. Tableau A3 en ANNEXE III) ; (2) des analyses de sensibilité ont été conduites pour estimer les odds ratios après exclusion des femmes chez lesquelles le PCB-153 n'était pas détecté (cf. Tableau A4 en ANNEXE III). Dans ces analyses de sensibilité sans les valeurs sous la LD, nous observons toujours l'association inverse entre les niveaux estimés à la période péri-pubertaire et le cancer du sein chez les femmes nées dans les années 1950.

4. Associations entre l'AUC 11_20 et l'âge : un effet génération

Nous observons un effet important de l'année de naissance sur les niveaux d'exposition au PCB-153 estimés au cours de la décade 11-20 ans. Cet effet génération a également été décrit dans une étude utilisant un modèle mécanistique dépendant du temps (CoZMoMAN) intégrant à la fois l'impact environnemental du contaminant et sa bioaccumulation dans la chaîne alimentaire (Breivik

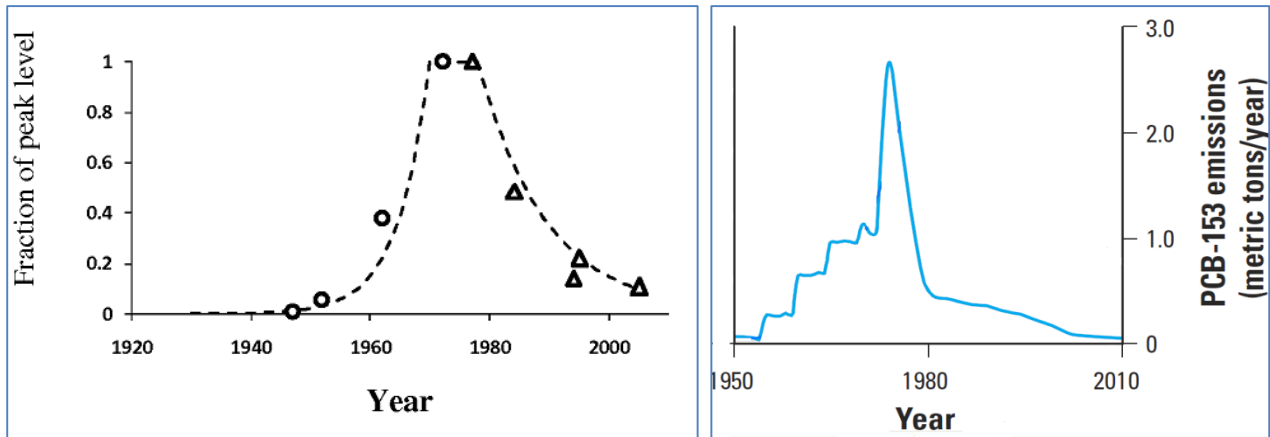
et al. 2010 ; Quinn et al. 2011). La tendance non monotone de la contamination explique l'effet génération puisque les femmes nées à partir des années 1930 n'ont pas toutes subi les mêmes niveaux d'exposition aux mêmes âges. D'après le profil de contamination environnementale estimé dans le cadre de notre étude, aussi bien que d'après les profils décrits par Quinn et coll., les niveaux de PCB-153 à la période péri-pubertaire ont été plus importants pour les femmes nées à partir des années 1950 que pour les femmes des générations précédentes.

Dans l'analyse du risque de cancer du sein basée sur l'AUC 11-20 ans, nous avons stratifié par cohorte de naissance de 10 années. Cette stratification permet de tenir compte de l'effet génération et d'obtenir des niveaux homogènes d'exposition au PCB-153 au sein de chaque strate.

5. Validité de la courbe de contamination environnementale et limite de l'approche PBPK

La courbe de la tendance temporelle de la contamination environnementale aux PCB représente l'apport moyen en PCB dans la population au cours du temps. Elle possède un impact important dans l'évaluation des niveaux de contamination au cours du temps estimés pour chaque femme de notre étude. Nous avons construit cette courbe à partir de données sur la production des PCB et de l'apport quotidien estimé au cours du temps (Baars et al. 2004 ; OCDE (Organisation for Economic Cooperation and Development) 1982). L'étude de Quinn et coll. citée précédemment à propos de l'effet génération s'est basée également sur des estimations de variations temporelles de la contamination environnementale par le PCB-153 (Quinn et al. 2011). Faisant suite à plusieurs études sur les liens entre les émissions environnementales et les niveaux de contamination humains, ces estimations se basent sur l'hypothèse que 5 % des importations annuelles pendant la période de production et d'importation des PCB sont émises dans l'atmosphère (Breivik et al. 2007 ; Breivik et al. 2010). La courbe établie par ces auteurs est concordante avec celle que nous avons construite, et qui décrit l'augmentation exponentielle de la contamination environnementale jusque dans les années 1970 suivie d'une décroissance rapide à partir des années 1980 (Figure 15).

Figure 15 – Comparaison de la courbe de contamination environnementale construite pour cette étude avec celle estimée dans le cadre d'une autre étude



Source : (Verner et al. 2011)

Source : (Quinn et al. 2011)

L'inconvénient majeur de la courbe de contamination environnementale est de ne pas tenir compte des variations de l'apport quotidien en PCB, principalement liées aux habitudes alimentaires variables d'un individu à l'autre et d'une période à l'autre chez un même individu. Seules les consommations alimentaires actuelles, traduisant les apports récents en PCB, étaient connues chez les femmes de notre étude, et n'ont pas été prises en compte dans les modèles PBPK.

De même, les paramètres liés au métabolisme des PCB dans le modèle PBPK ont été estimés sans prendre en compte la variabilité génétique interindividuelle pouvant entraîner des différences au niveau du métabolisme des PCB.

Il serait intéressant de pouvoir valider le modèle PBPK utilisé à partir de mesures répétées de PCB-153 à plusieurs années d'intervalle chez des femmes. L'équipe canadienne a pu dans un premier temps valider sa modélisation PBPK chez des enfants par la comparaison de niveaux de polluants organiques persistants mesurés dans le sérum à l'âge de 6 mois avec les niveaux prédits par la modélisation PBPK intégrant notamment le niveau sanguin de la mère (Verner et al. 2008b).

IV. Rôle des composés organochlorés dans le cancer du sein

1. Validité de l'étude

Puissance statistique

Nous disposons de mesures de composés organochlorés chez 1080 cas et 1055 témoins. À notre connaissance, ces effectifs sont supérieurs à ceux des études antérieures sur le lien entre les niveaux de contamination biologiques par les composés organochlorés et le cancer du sein.

À titre indicatif, cette étude est de taille suffisante pour détecter un odds ratio de **1,35 (ou de 0,74 pour une association inverse)** avec une prévalence de l'exposition des témoins de 20 %, une puissance à 80 % et une erreur de première espèce de 5 % (test bilatéral) (Bouyer et al. 1995).

Sélection

Les cas de cancer du sein ont été sélectionnés sur une base populationnelle dans les principaux centres hospitaliers publics ou privés de Côte d'Or et d'Ille-et-Vilaine ayant un recrutement de cancer du sein au cours de la période d'étude afin d'assurer un recrutement aussi exhaustif que possible. Ce mode de recrutement présente l'avantage de ne pas dépendre du recrutement d'un seul centre hospitalier et de ne pas entraîner a priori la constitution d'un échantillon sélectionné de cas de cancer. Le nombre de cas identifiés était proche du nombre de cas attendus, basés sur les taux d'incidence de cancer du sein en France (Belot A et al, 2008) et sur la répartition par âge de la population. Le taux de participation des cas identifiés était proche de 80 %.

Un biais de survie aurait pu survenir si le décès précoce de certaines patientes les avait empêchées de participer à l'étude. Un tel biais pourrait influencer les résultats de l'étude si le décès des patientes non incluses était lié au niveau des organochlorés. Ce biais de survie ne peut être complètement écarté même s'il nous semble peu probable du fait du taux de participation élevé des cas et du délai relativement court (quelques semaines au maximum) entre le diagnostic de cancer du sein et l'inclusion dans l'étude.

Les témoins, issus de la même population source que les cas, ont été identifiés par téléphone avec l'aide d'un institut de sondage (CSA) en composant des numéros de téléphone tirés au sort dans l'annuaire téléphonique où les numéros sur liste rouge avaient été préalablement reconstitués. L'utilisation de quotas par catégorie socioprofessionnelle a permis d'obtenir un groupe témoin dont la répartition par CSP était similaire à celle de la population des femmes de même âge dans chaque département, de façon à contrôler les biais de sélection. Près de 80 % des témoins ayant accepté de participer en première intention lors du premier entretien par téléphone ont participé à l'entretien en face-à-face réalisé par une enquêtrice à domicile, et ont été inclus dans l'étude.

Certaines des participantes à l'étude CECILE n'ont pas eu de prélèvement sanguin, et en l'absence de dosage des composés organochlorés, n'ont pas été incluses dans les analyses présentées ici. Par rapport à l'ensemble des femmes de l'étude CECILE, notre échantillon d'analyse comporte ainsi un pourcentage plus faible de femmes ayant des valeurs extrêmes de l'IMC et un pourcentage plus élevé de témoins ayant un niveau d'éducation élevé. Toutefois, le niveau d'éducation n'est pas associé aux niveaux de *p,p'*-DDE ni de PCB dans nos analyses sur les déterminants des niveaux d'organochlorés, et des ajustements sur le niveau d'éducation ont été pratiqués sans influencer de façon notable les odds ratios de cancer du sein liés à l'exposition au *p,p'*-DDE, ni aux PCB.

Erreurs de classement

Les données ont été recueillies à l'aide d'un questionnaire standardisé lors d'entretiens effectués dans les mêmes conditions et avec les mêmes enquêtrices pour les cas et les témoins. Les questions étaient basées sur des éléments facilement mémorisables (nombre et issue de chaque grossesse, antécédents médicaux, histoire familiale de cancers, etc.) et les sujets n'étaient pas informés des objectifs de recherche de l'étude afin de ne pas influencer leur réponse. Par ailleurs, les mesures de biomarqueurs d'exposition en laboratoire ont été réalisées sans connaissance du statut cas-témoins des sujets, écartant la possibilité d'erreurs de classement différentiels.

Confusion

L'un des avantages de notre étude était de disposer d'informations détaillées sur les facteurs de risque reconnus de cancer du sein dont certains auraient pu jouer un rôle de confusion dans nos analyses. Des ajustements sur les facteurs de risque bien établis de cancer du sein ont été pratiqués systématiquement, écartant la possibilité d'effets de confusion majeurs liés à ces facteurs de risque.

2. Comparaison de nos résultats avec ceux de la littérature

p,p'-DDE

Globalement, nous n'observons pas d'association entre les niveaux de *p,p'*-DDE et le cancer du sein. En revanche, nous avons mis en évidence une association inverse entre les niveaux de *p,p'*-DDE et les cancers du sein de type négatif pour les récepteurs hormonaux (RE-RP-).

La plupart des études ne montrent pas d'association nette entre les concentrations sériques de DDT/DDE et le cancer du sein. Ce résultat a été confirmé par deux méta-analyses (Laden et al. 2001a ; Lopez-Cervantes et al. 2004). L'association inverse que nous avons observée avec les cancers du sein de type RE-négatif a également été rapportée dans une étude danoise où les composés organochlorés ont été mesurés dans les tissus adipeux (Raaschou-Nielsen et al. 2005). Dans cette étude, il est souligné que la mesure est effectuée plusieurs dizaines d'années après l'interdiction du DDT. La mesure pratiquée pourrait refléter à la fois l'exposition passée mais également la capacité des individus à métaboliser ces composés et donc à être exposés à des métabolites toxiques. L'hypothèse d'un effet préventif direct du DDT sur le cancer du sein est aussi évoquée. Les auteurs de cette étude ont également émis l'hypothèse que les composés organochlorés pourraient influencer des changements dans le phénotype cellulaire et retarder le passage des cellules cancéreuses du phénotype RE+ vers RE-, pouvant expliquer un déficit de cas de cancer RE négatifs. Nos résultats tendent à confirmer cette hypothèse, mais nécessitent d'être répliqués.

PCB-153

Nous observons une association inverse significative entre le cancer du sein et l'exposition à des niveaux élevés de PCB-153 mesurés au moment de l'enquête chez les femmes de plus de 50 ans. Cette association inverse est observée de façon nette en Côte d'Or, mais elle est également présente dans cette tranche d'âge en Ile-et-Vilaine bien que de façon non significative.

En nous basant sur l'exposition au PCB-153 estimée au cours de la période pubertaire (11-20 ans), nous observons que l'association inverse avec le cancer du sein est particulièrement marquée pour la génération des femmes nées entre 1951 et 1960 chez lesquelles la puberté a coïncidé avec la période de croissance exponentielle de la contamination environnementale par les PCB (1962-1980). De façon intéressante, on peut constater que sur l'ensemble des femmes nées avant 1960 (dont la plupart ont 50 ans ou plus lors de leur recrutement dans l'étude), la cohorte de naissance 1951-60 est celle dont les niveaux d'exposition estimés de PCB-153 au cours de la puberté ont été les plus élevés.

La plupart des études épidémiologiques antérieures n'ont pas montré d'association entre les niveaux de PCB mesurés dans le sang ou le tissu adipeux et le cancer du sein (Aronson et al. 2000 ; Dorgan et al. 1999 ; Helzlsouer et al. 1999 ; Hunter et al. 1997 ; Laden et al. 2001b ; Moysich et al. 1998 ; Stellman et al. 2000 ; Wolff et al. 2000a ; Wolff et al. 2000b ; Woolcott et al. 2001 ; Zheng et al. 2000a ; Zheng et al. 2000b). Il faut toutefois nuancer ces résultats globalement négatifs, les études n'étant pas toutes concordantes sur ce point, et des associations inverses entre PCB et cancer du sein ayant déjà été rapportées par certaines d'entre elles. Une étude prospective incluant 300 sujets, réalisée à partir de prélèvements sanguins effectués entre 1964 et 1971 à l'époque où la contamination environnementale était la plus élevée, montre ainsi une association inverse avec les niveaux de PCB dosés dans le sérum des femmes blanches, mais pas d'association chez les femmes noires ou asiatiques (Krieger et al. 1994). Plus récemment, une étude cas-témoins en milieu hospitalier réalisée au Japon et incluant 405 cas et 403 témoins a montré que les PCB totaux calculés

à partir de la somme de 41 congénères dosés dans le sérum étaient inversement associés au risque de cancer du sein avec un OR = 0,33 (IC 95 % 0,14-0,78) (Itoh et al. 2008). Enfin d'autres études rétrospectives, de taille variable, ont mis en évidence des associations négatives, quoique non significatives, entre les niveaux de PCB et le cancer du sein avec des OR variant entre 0,3 et 0,8 chez les femmes les plus fortement exposées (Gammon et al. 2002 ; Pavuk et al. 2003 ; Rubin et al. 2006 ; Rusiecki et al. 2004).

Plusieurs mécanismes biologiques peuvent être avancés pour expliquer la relation inverse entre PCB et cancer du sein observée dans notre étude et dans certaines études antérieures :

- **Perturbation endocrinienne** : la période péri-pubertaire correspond à une période de croissance exponentielle de la glande mammaire avec l'apparition de bourgeons terminaux (TEB) destinés à former de futures ramifications au sein de la glande mammaire, qui sont particulièrement sensibles à l'effet de cancérogènes environnementaux (Fenton 2006). L'exposition à des perturbateurs endocriniens ralentissant la différenciation des TEB, pourraient augmenter la sensibilité de la glande mammaire à l'action des cancérogènes et entraîner un risque accru de cancer du sein. Inversement, les expositions environnementales à des perturbateurs endocriniens à l'origine d'une différenciation accélérée des bourgeons terminaux pourraient conférer une protection accrue contre le cancer du sein. Ainsi l'association inverse observée dans notre étude entre l'exposition aux PCB au cours de la période 11-20 ans et le cancer du sein serait liée à ce phénomène de différenciation accélérée des bourgeons terminaux.

- **Effets anti-œstrogéniques** : le PCB-153 est le congénère de PCB le plus fréquemment détecté en raison de sa longue demi-vie (Ritter et al. 2010). Certaines études ont mis en avant ses propriétés anti-œstrogéniques qu'il partage avec d'autres PCB fortement chlorés (Bonefeld-Jorgensen et al. 2001 ; Pliskova et al. 2005). Les PCBs non coplanaires tels que le PCB-153 pourraient avoir des effets anti-œstrogéniques en bloquant les récepteurs œstrogènes ou en diminuant la concentration d'œstrogènes par induction des enzymes du métabolisme tels que le CYP3A4 (Pliskova et al. 2005).

Le PCB-153 en tant que PCB « indicateur » est par ailleurs fortement corrélé à d'autres PCB. Holford et coll. ont par exemple observé une association inverse entre les niveaux de PCB-153 mesurés dans les tissus adipeux et le risque de cancer du sein qu'ils ont interprétée comme étant la conséquence d'un artefact causé par la colinéarité avec d'autres congénères de PCB, tel que le PCB-156 décrit comme « dioxin-like » et anti-œstrogénique (Holford et al. 2000). Il est également fortement corrélé avec les dioxines et furanes (Gladen et al. 1999). Une précédente étude en France avait rapporté un risque diminué de cancer du sein chez les femmes de plus de 60 ans ayant les niveaux les plus élevés d'exposition à la dioxine, quantifiée en fonction de la distance de l'adresse résidentielle au plus proche incinérateur de déchets (OR = 0,31, IC 95 % 0,08-0,89) (Viel et al. 2008). Au total, le PCB-153 peut être considéré comme le **marqueur d'une contamination complexe** associant de multiples polluants persistants tels que les dioxines, dont les effets anti-œstrogéniques ont été montrés (Pliskova et al. 2005 ; Safe et al. 1998).

- Enfin d'autres mécanismes biologiques pourraient expliquer l'association inverse entre les niveaux de PCB-153 et le cancer du sein. Les dioxines telles que la 2,3,7,8-TCDD et certains PCB « dioxin-like » sont des ligands des récepteurs aryl hydrocarbure (AhR) (Denison and Nagy 2003). La participation des AhR dans d'autres « pathways » que le métabolisme des xénoœstrogènes et notamment dans la physiologie cellulaire est toujours discutée (Barouki et al. 2007 ; Puga et al. 2009). Une étude récente a montré que les AhR inhibent de multiples aspects du processus métastatique des cellules cancéreuses mammaires indépendamment de leur statut en récepteurs œstrogène, progestérone ou HER2 (Hall et al. 2010).

CONCLUSION et PERSPECTIVES

Le travail présenté ici a permis d'obtenir des résultats originaux basés sur des approches innovantes tenant compte des fenêtres de susceptibilité de la glande mammaire à l'action de polluants organochlorés persistants sur le développement et la différenciation cellulaire. Ces résultats, s'ils étaient confirmés, pourraient avoir des implications importantes pour la compréhension des liens entre exposition à des polluants environnementaux et cancer du sein.

Notre travail a tout d'abord permis de faire le point sur la contamination actuelle par des polluants organochlorés persistants de femmes résidant dans deux départements français. Nous avons montré que ces polluants sont toujours détectables dans les tissus biologiques plusieurs dizaines d'années après leur interdiction, même si les niveaux de contamination observés sont plus faibles que ceux qui ont été rapportés au cours de périodes précédentes, du fait du déclin de la contamination environnementale. Les niveaux mesurés de DDT/DDE ou de PCB sont influencés par l'alimentation qui constitue la source d'absorption principale, mais également par l'historique reproductif et des caractéristiques anthropométriques qui interviennent de façon plus ou moins complexe dans le métabolisme des organochlorés. Le sens des associations observées entre les niveaux d'organochlorés et l'indice de masse corporelle suggère également que la baisse des niveaux de contamination biologique et environnementale est à un stade plus avancé pour le DDE que pour les PCB, qui font toujours l'objet de pollutions accidentelles. Ces résultats montrent que les polluants organochlorés persistants, comme d'autres perturbateurs endocriniens, continuent de représenter un problème de santé publique. C'est pourquoi il nous a semblé important d'approfondir les résultats des études antérieures visant à étudier le lien entre l'exposition à ces composés et le cancer du sein.

Une importante originalité du travail présenté réside dans l'utilisation de modèles PBPK, adaptés ici à un contexte épidémiologique, qui nous ont permis d'obtenir une estimation des niveaux de PCB survenus au moment de la puberté. Dans nos données, les niveaux de PCB-153 estimés au moment de la puberté sont toutefois très corrélés avec les niveaux mesurés, indiquant une capacité

relativement réduite de la modélisation PBPK à estimer avec précision les niveaux d'exposition survenus dans le passé. Une limite importante des modèles utilisés ici réside dans l'utilisation d'une courbe de contamination environnementale représentant l'absorption moyenne de PCB au cours du temps qui ne tient pas compte de la variabilité inter-individuelle, liée aux profils alimentaires différents et à leurs changements au cours du temps chez un même individu. Au total, la modélisation PBPK constitue un outil intéressant en épidémiologie environnementale permettant de cibler les fenêtres d'exposition d'intérêt, mais sa marge de manœuvre est fortement contrainte par la possibilité dans les études épidémiologiques d'obtenir des données historisées sur les paramètres d'intérêt. Tout en ayant conscience de ces contraintes, l'utilisation de modèles PBPK étendue à d'autres composés persistants susceptibles de jouer un rôle dans le cancer du sein tels que les dioxines pourrait être envisagée.

Notre analyse suggère de façon inattendue l'existence d'une association inverse entre les niveaux de composés organochlorés et le cancer du sein. Elle montre également que cette association est particulièrement importante chez les femmes dont les niveaux d'exposition au PCB-153 au cours de la puberté étaient les plus élevés. Ce résultat est intrigant mais constitue un phénomène plausible, étayé par des arguments expérimentaux. Il est potentiellement important pour la compréhension des liens entre organochlorés et cancer du sein, mais doit être confirmé par la réalisation d'autres études épidémiologiques approfondies.

Bibliographie

- AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments). 2005. Dioxines, furanes et PCB de type dioxine: Evaluation de l'exposition de la population française. Maison-Alfort : AFSSA. 57 p.
- AFSSA. 2007. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'établissement de teneurs maximales pertinentes en polychlorobiphényles qui ne sont pas de type dioxine (PCB « non dioxin-like », PCB-NDL) dans divers aliments. Maison-Alfort : AFSSA.
- Agudo A, Goni F, Etxeandia A, Vives A, Millan E, Lopez R, et al. 2009. Polychlorinated biphenyls in Spanish adults: determinants of serum concentrations. *Environ Res* 109: 620-628.
- Ahmed S, Thomas G, Ghousaini M, Healey CS, Humphreys MK, Platte R, et al. 2009. Newly discovered breast cancer susceptibility loci on 3p24 and 17q23.2. *Nat Genet* 41: 585-590.
- Akins JR, Waldrep K, Bernert JT, Jr. 1989. The estimation of total serum lipids by a completely enzymatic 'summation' method. *Clin Chim Acta* 184: 219-226.
- Albrektsen G, Heuch I, Hansen S, Kvale G. 2005. Breast cancer risk by age at birth, time since birth and time intervals between births: exploring interaction effects. *Br J Cancer* 92: 167-175.
- Apostoli P, Magoni M, Bergonzi R, Carasi S, Indelicato A, Scarcella C, et al. 2005. Assessment of reference values for polychlorinated biphenyl concentration in human blood. *Chemosphere* 61: 413-421.
- Arnich N, Tard A, Leblanc JC, Le BB, Narbonne JF, Maximilien R. 2009. Dietary intake of non-dioxin-like PCBs (NDL-PCBs) in France, impact of maximum levels in some foodstuffs. *Regul Toxicol Pharmacol* 54: 287-293.
- Aronson KJ, Miller AB, Woolcott CG, Sterns EE, McCready DR, Lickley LA, et al. 2000. Breast adipose tissue concentrations of polychlorinated biphenyls and other organochlorines and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 9: 55-63.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 2000. Toxicological profile for polychlorinated biphenyls (PCBs). Atlanta: Agency for Toxic Substances and Disease Registry.
- Auger J, Kunstmann JM, Czyglik F, Jouannet P. 1995. Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. *N Engl J Med* 332: 281-285.
- Ayotte P, Dewailly E, Lambert GH, Perkins SL, Poon R, Feeley M, et al. 2005. Biomarker measurements in a coastal fish-eating population environmentally exposed to organochlorines. *Environ Health Perspect* 113: 1318-1324.
- Baars AJ, Bakker MI, Baumann RA, Boon PE, Freijer JI, Hoogenboom LA, et al. 2004. Dioxins, dioxin-like PCBs and non-dioxin-like PCBs in foodstuffs: occurrence and dietary intake in The Netherlands. *Toxicol Lett* 151: 51-61.
- Babut M, Miege C. 2007. Contamination des poissons et des sédiments du Rhône par les polychlorobiphényles. Synthèse des données recueillies en 2005-2006. Lyon: CEMAGREF. 39p.
- Barnes AB, Colton T, Gundersen J, Noller KL, Tilley BC, Strama T, et al. 1980. Fertility and outcome of pregnancy in women exposed in utero to diethylstilbestrol. *N Engl J Med* 302: 609-613.
- Barouki R, Coumoul X, Fernandez-Salguero PM. 2007. The aryl hydrocarbon receptor, more than a xenobiotic-interacting protein. *FEBS Lett* 581: 3608-3615.
- Barr DB, Weihe P, Davis MD, Needham LL, Grandjean P. 2006. Serum polychlorinated biphenyl and organochlorine insecticide concentrations in a Faroese birth cohort. *Chemosphere* 62: 1167-1182.
- Belot A, Grosclaude P, Bossard N, Jouglu E, Benhamou E, Delafosse P, et al. 2008. Cancer incidence and mortality in France over the period 1980-2005. *Rev Epidemiol Sante Publique* 56: 159-175.

Bonefeld-Jorgensen EC, Andersen HR, Rasmussen TH, Vinggaard AM. 2001. Effect of highly bioaccumulated polychlorinated biphenyl congeners on estrogen and androgen receptor activity. *Toxicology* 158: 141-153.

Bouyer J, Hémon D, Cordier S, Derriennic F, Stücker I, Stengel B, et al. 1995. *Epidémiologie. Principes et méthodes quantitatives*. Paris: Les éditions Inserm.

Brauner EV, Raaschou-Nielsen O, Gaudreau E, Leblanc A, Tjonneland A, Overvad K, et al. 2011. Predictors of polychlorinated biphenyl concentrations in adipose tissue in a general Danish population. *Environ Sci Technol* 45: 679-685.

Breivik K, Czub G, McLachlan MS, Wania F. 2010. Towards an understanding of the link between environmental emissions and human body burdens of PCBs using CoZMoMAN. *Environ Int* 36: 85-91.

Breivik K, Sweetman A, Pacyna JM, Jones KC. 2007. Towards a global historical emission inventory for selected PCB congeners--a mass balance approach 3. An update. *Sci Total Environ* 377: 296-307.

Brody JG, Rudel RA. 2003. Environmental pollutants and breast cancer. *Environ Health Perspect* 111: 1007-1019.

Buell P. 1973. Changing incidence of breast cancer in Japanese-American women. *J Natl Cancer Inst* 51: 1479-1483.

Carroll KK. 1998. Obesity as a risk factor for certain types of cancer. *Lipids* 33: 1055-1059.

Carson R. 1962. *Silent spring*. Boston: Houghton Mifflin.

Centers for Disease Control and Prevention. 2009. *Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals*. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention.

Chevrier J, Dewailly E, Ayotte P, Mauriege P, Despres JP, Tremblay A. 2000. Body weight loss increases plasma and adipose tissue concentrations of potentially toxic pollutants in obese individuals. *Int J Obes Relat Metab Disord* 24: 1272-1278.

Clavel-Chapelon F, Gerber M. 2002. Reproductive factors and breast cancer risk. Do they differ according to age at diagnosis? *Breast Cancer Res Treat* 72: 107-115.

Clemons M, Goss P. 2001. Estrogen and the risk of breast cancer. *N Engl J Med* 344: 276-285.

Cohn BA, Wolff MS, Cirillo PM, Sholtz RI. 2007. DDT and breast cancer in young women: new data on the significance of age at exposure. *Environ Health Perspect* 115: 1406-1414.

Colborn T, vom Saal FS, Soto AM. 1993. Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environ Health Perspect* 101: 378-384.

Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. 1996. Breast cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data on 53 297 women with breast cancer and 100 239 women without breast cancer from 54 epidemiological studies. *Lancet* 347: 1713-1727.

Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. 1997. Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52,705 women with breast cancer and 108,411 women without breast cancer. *Lancet* 350: 1047-1059.

Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. 2001. Familial breast cancer: collaborative reanalysis of individual data from 52 epidemiological studies including 58,209 women with breast cancer and 101,986 women without the disease. *Lancet* 358: 1389-1399.

Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. 2002. Breast cancer and breastfeeding: collaborative reanalysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries, including 50302 women with breast cancer and 96973 women without the disease. *Lancet* 360: 187-195.

Covaci A, Koppen G, Van CR, Schepens P, Winneke G, Van LN, et al. 2002. Persistent organochlorine pollutants in human serum of 50-65 years old women in the Flanders Environmental and Health Study (FLEHS). Part 2: Correlations among PCBs, PCDD/PCDFs and the use of predictive markers. *Chemosphere* 48: 827-832.

- Cravedi JP, Zalko D, Savouret JF, Menuet A, Jegou B. 2007. [The concept of endocrine disruption and human health]. *Med Sci (Paris)* 23: 198-204.
- Daly-Schveitzer N. 2008. *Cancérologie Clinique*. Paris: Masson. p. 101-146.
- Danaei G, Vander HS, Lopez AD, Murray CJ, Ezzati M. 2005. Causes of cancer in the world: comparative risk assessment of nine behavioural and environmental risk factors. *Lancet* 366: 1784-1793.
- Daubisse-Marliac L, Delafosse P, Boitard JB, Poncet F, Grosclaude P, Colonna M. 2011. Breast cancer incidence and time trend in France from 1990 to 2007: a population-based study from two French cancer registries. *Ann Oncol* 22: 329-334.
- Davis DL, Bradlow HL, Wolff M, Woodruff T, Hoel DG, nton-Culver H. 1993. Medical hypothesis: xenoestrogens as preventable causes of breast cancer. *Environ Health Perspect* 101: 372-377.
- Demers A, Ayotte P, Brisson J, Dodin S, Robert J, Dewailly E. 2002. Plasma concentrations of polychlorinated biphenyls and the risk of breast cancer: a congener-specific analysis. *Am J Epidemiol* 155: 629-635.
- Denison MS, Nagy SR. 2003. Activation of the aryl hydrocarbon receptor by structurally diverse exogenous and endogenous chemicals. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 43: 309-334.
- Dewailly E, Dodin S, Verreault R, Ayotte P, Sauve L, Morin J, et al. 1994. High organochlorine body burden in women with estrogen receptor-positive breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 86: 232-234.
- Dorgan JF, Brock JW, Rothman N, Needham LL, Miller R, Stephenson HE, Jr., et al. 1999. Serum organochlorine pesticides and PCBs and breast cancer risk: results from a prospective analysis (USA). *Cancer Causes Control* 10: 1-11.
- Dupont WD, Page DL. 1987. Breast cancer risk associated with proliferative disease, age at first birth, and a family history of breast cancer. *Am J Epidemiol* 125: 769-779.
- Easton DF, Pooley KA, Dunning AM, Pharoah PD, Thompson D, Ballinger DG, et al. 2007. Genome-wide association study identifies novel breast cancer susceptibility loci. *Nature* 447: 1087-1093.
- EFSA (European Food Safety Agency). 2005. Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to the presence of non dioxin-like polychlorinated biphenyls (PCB) in feed and food. *The EFSA Journal* 284: 1-137.
- EFSA. 2006. Avis du groupe scientifique CONTAM concernant le DDT en tant que substance indésirable dans l'alimentation animale. *The EFSA Journal*. 69p.
- Expertise collective Inserm. 2008. *Cancer et environnement*. Paris: Les éditions Inserm.
- Expertise collective Inserm. 2011. *Reproduction et environnement. Synthèse*. Paris: Les éditions Inserm.
- Fenichel P, Brucker-Davis F. 2008. [Environmental endocrine disruptors and breast cancer: new risk factors?]. *Gynecol Obstet Fertil* 36: 969-977.
- Fenton SE. 2006. Endocrine-disrupting compounds and mammary gland development: early exposure and later life consequences. *Endocrinology* 147: S18-S24.
- Ferlay J, Autier P, Boniol M, Heanue M, Colombet M, Boyle P. 2007. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. *Ann Oncol* 18: 581-592.
- Ford D, Easton DF, Stratton M, Narod S, Goldgar D, Devilee P, et al. 1998. Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families. The Breast Cancer Linkage Consortium. *Am J Hum Genet* 62: 676-689.
- Friedenreich CM. 2001. Review of anthropometric factors and breast cancer risk. *Eur J Cancer Prev* 10: 15-32.
- Fu L, Lee CC. 2003. The circadian clock: pacemaker and tumour suppressor. *Nat Rev Cancer* 3: 350-361.

Gammon MD, Wolff MS, Neugut AI, Eng SM, Teitelbaum SL, Britton JA, et al. 2002. Environmental toxins and breast cancer on Long Island. II. Organochlorine compound levels in blood. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 11: 686-697.

Gatto NM, Longnecker MP, Press MF, Sullivan-Halley J, Kean-Cowdin R, Bernstein L. 2007. Serum organochlorines and breast cancer: a case-control study among African-American women. *Cancer Causes Control* 18: 29-39.

Gladen BC, Longnecker MP, Schechter AJ. 1999. Correlations among polychlorinated biphenyls, dioxins, and furans in humans. *Am J Ind Med* 35: 15-20.

Glynn A, Aune M, Darnerud PO, Cnattingius S, Bjerselius R, Becker W, et al. 2007. Determinants of serum concentrations of organochlorine compounds in Swedish pregnant women: a cross-sectional study. *Environ Health* 6: 2.

Glynn A, Aune M, Nilsson I, Darnerud PO, Ankarberg EH, Bignert A, et al. 2009. Declining levels of PCB, HCB and p,p'-DDE in adipose tissue from food producing bovines and swine in Sweden 1991-2004. *Chemosphere* 74: 1457-1462.

Glynn AW, Granath F, Aune M, Atuma S, Darnerud PO, Bjerselius R, et al. 2003. Organochlorines in Swedish women: determinants of serum concentrations. *Environ Health Perspect* 111: 349-355.

Glynn AW, Wernroth L, Atuma S, Linder CE, Aune M, Nilsson I, et al. 2000. PCB and chlorinated pesticide concentrations in swine and bovine adipose tissue in Sweden 1991-1997: spatial and temporal trends. *Sci Total Environ* 246: 195-206.

Hagmar L, Wallin E, Vessby B, Jonsson BA, Bergman A, Rylander L. 2006. Intra-individual variations and time trends 1991-2001 in human serum levels of PCB, DDE and hexachlorobenzene. *Chemosphere* 64: 1507-1513.

Hall JM, Barhoover MA, Kazmin D, McDonnell DP, Greenlee WF, Thomas RS. 2010. Activation of the aryl-hydrocarbon receptor inhibits invasive and metastatic features of human breast cancer cells and promotes breast cancer cell differentiation. *Mol Endocrinol* 24: 359-369.

Hankinson SE, Eliassen AH. 2007. Endogenous estrogen, testosterone and progesterone levels in relation to breast cancer risk. *J Steroid Biochem Mol Biol* 106: 24-30.

Hankinson SE, Hunter DJ. 2002. Breast Cancer. In: *Textbook of Cancer Epidemiology*. New York: Oxford University Press. p. 301-339.

Hanrahan LP, Falk C, Anderson HA, Draheim L, Kanarek MS, Olson J. 1999. Serum PCB and DDE levels of frequent Great Lakes sport fish consumers-a first look. The Great Lakes Consortium. *Environ Res* 80: S26-S37.

HCL, InVS, INCa, Francim, Inserm. 2010. Projections de l'incidence et de la mortalité par cancer en France en 2010. Rapport technique. Accessible: http://www.invs.sante.fr/applications/cancers/projections2010/rapport_projections_nationales_cancer_2010.pdf (visité le 18 novembre 2011).

Helzlsouer KJ, Alberg AJ, Huang HY, Hoffman SC, Strickland PT, Brock JW, et al. 1999. Serum concentrations of organochlorine compounds and the subsequent development of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 8: 525-532.

Henderson BE, Bernstein L. 1991. The international variation in breast cancer rates: an epidemiological assessment. *Breast Cancer Res Treat* 18 Suppl 1: S11-S17.

Hennighausen L, Robinson GW. 2005. Information networks in the mammary gland. *Nat Rev Mol Cell Biol* 6: 715-725.

Herbst AL, Kurman RJ, Scully RE. 1972. Vaginal and cervical abnormalities after exposure to stilbestrol in utero. *Obstet Gynecol* 40: 287-298.

Hindorff LA, Gillanders EM, Manolio TA. 2011. Genetic architecture of cancer and other complex diseases: lessons learned and future directions. *Carcinogenesis* 32: 945-954.

Holford TR, Zheng T, Mayne ST, Zahm SH, Tessari JD, Boyle P. 2000. Joint effects of nine polychlorinated biphenyl (PCB) congeners on breast cancer risk. *Int J Epidemiol* 29: 975-982.

Hoover RN, Hyer M, Pfeiffer RM, Adam E, Bond B, Cheville AL, et al. 2011. Adverse health outcomes in women exposed in utero to diethylstilbestrol. *N Engl J Med* 365: 1304-1314.

Hornung RW, Reed LD. 1990. Estimation of average concentration in the presence of nondetectable values. *Appl Occup Environ Hyg* 5: 46-51.

Hoyer AP, Jorgensen T, Grandjean P, Hartvig HB. 2000. Repeated measurements of organochlorine exposure and breast cancer risk (Denmark). *Cancer Causes Control* 11: 177-184.

Hue O, Marcotte J, Berrigan F, Simoneau M, Dore J, Marceau P, et al. 2006. Increased plasma levels of toxic pollutants accompanying weight loss induced by hypocaloric diet or by bariatric surgery. *Obes Surg* 16: 1145-1154.

Hunter DJ, Hankinson SE, Laden F, Colditz GA, Manson JE, Willett WC, et al. 1997. Plasma organochlorine levels and the risk of breast cancer. *N Engl J Med* 337: 1253-1258.

IARC (International Agency for Research on Cancer). 1987. Polychlorinated biphenyls. IARC Monogr Eval Carcinog Risk Hum Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Updating of IARC Monographs 1 to 42, Supplement 7: 321-325.

IARC. 1991. Occupational Exposures in Insecticide Application, and Some Pesticides. Lyon: IARC Monogr Eval Carcinog Risk Hum 53.

IARC. 2000. Ionizing Radiation, Part 1: X- and Gamma- Radiation, and Neutrons. Lyon: IARC Monogr Eval Carcinog Risk Hum 75.

IARC. 2002. Non ionizing radiations. Lyon: IARC Monogr Eval Carcinog Risk Hum 80.

IARC. 2010. Shiftwork. Lyon: IARC Monogr Eval Carcinog Risk Hum 98.

INERIS. 2007. Données technico-économiques sur les substances chimiques en France : DDT. Accessible: <http://www.ineris.fr/substances/fr/substance/726> (visité le 18 novembre 2011).

Inoue K, Harada K, Takenaka K, Uehara S, Kono M, Shimizu T, et al. 2006. Levels and concentration ratios of polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in serum and breast milk in Japanese mothers. *Environ Health Perspect* 114: 1179-1185.

Itoh H, Iwasaki M, Hanaoka T, Kasuga Y, Yokoyama S, Onuma H, et al. 2008. Serum organochlorines and breast cancer risk in Japanese women: a case-control study. *Cancer Causes Control*.

James RA, Hertz-Picciotto I, Willman E, Keller JA, Charles MJ. 2002. Determinants of serum polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides measured in women from the child health and development study cohort, 1963-1967. *Environ Health Perspect* 110: 617-624.

Jensen AA. 1983. Chemical contaminants in human milk. *Residue Rev* 89: 1-128.

Jin F, Devesa SS, Chow WH, Zheng W, Ji BT, Fraumeni JF, Jr., et al. 1999. Cancer incidence trends in urban shanghai, 1972-1994: an update. *Int J Cancer* 83: 435-440.

John EM, Kelsey JL. 1993. Radiation and other environmental exposures and breast cancer. *Epidemiol Rev* 15: 157-162.

Johnson KC. 2005. Accumulating evidence on passive and active smoking and breast cancer risk. *Int J Cancer* 117: 619-628.

Kavlock RJ, Daston GP, DeRosa C, Fenner-Crisp P, Gray LE, Kaattari S, et al. 1996. Research needs for the risk assessment of health and environmental effects of endocrine disruptors: a report of the U.S. EPA-sponsored workshop. *Environ Health Perspect* 104 Suppl 4: 715-740.

- Kelsey JL, Gammon MD, John EM. 1993. Reproductive factors and breast cancer. *Epidemiol Rev* 15: 36-47.
- Krieger N, Wolff MS, Hiatt RA, Rivera M, Vogelmann J, Orentreich N. 1994. Breast cancer and serum organochlorines: a prospective study among white, black, and Asian women. *J Natl Cancer Inst* 86: 589-599.
- Laden F, Collman G, Iwamoto K, Alberg AJ, Berkowitz GS, Freudenheim JL, et al. 2001a. 1,1-Dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethylene and polychlorinated biphenyls and breast cancer: combined analysis of five U.S. studies. *J Natl Cancer Inst* 93: 768-776.
- Laden F, Hankinson SE, Wolff MS, Colditz GA, Willett WC, Speizer FE, et al. 2001b. Plasma organochlorine levels and the risk of breast cancer: an extended follow-up in the Nurses' Health Study. *Int J Cancer* 91: 568-574.
- Laden F, Hunter DJ. 1998. Environmental risk factors and female breast cancer. *Annu Rev Public Health* 19: 101-123.
- Laden F, Ishibe N, Hankinson SE, Wolff MS, Gertig DM, Hunter DJ, et al. 2002. Polychlorinated biphenyls, cytochrome P450 1A1, and breast cancer risk in the Nurses' Health Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 11: 1560-1565.
- Laden F, Neas LM, Spiegelman D, Hankinson SE, Willett WC, Ireland K, et al. 1999. Predictors of plasma concentrations of DDE and PCBs in a group of U.S. women. *Environ Health Perspect* 107: 75-81.
- Lahmann PH, Hoffmann K, Allen N, van Gils CH, Khaw KT, Tehard B, et al. 2004a. Body size and breast cancer risk: findings from the European Prospective Investigation into Cancer And Nutrition (EPIC). *Int J Cancer* 111: 762-771.
- Lahmann PH, Lissner L, Berglund G. 2004b. Breast cancer risk in overweight postmenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 13: 1414.
- Li CI. 2010. *Breast Cancer Epidemiology*. New York:Springer Science.
- Li Y, Millikan RC, Bell DA, Cui L, Tse CK, Newman B, et al. 2005. Polychlorinated biphenyls, cytochrome P450 1A1 (CYP1A1) polymorphisms, and breast cancer risk among African American women and white women in North Carolina: a population-based case-control study. *Breast Cancer Res* 7: R12-R18.
- Lichtenstein P, Holm NV, Verkasalo PK, Iliadou A, Kaprio J, Koskenvuo M, et al. 2000. Environmental and heritable factors in the causation of cancer--analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark, and Finland. *N Engl J Med* 343: 78-85.
- Lim JS, Son HK, Park SK, Jacobs DR, Jr., Lee DH. 2010. Inverse associations between long-term weight change and serum concentrations of persistent organic pollutants. *Int J Obes (Lond)*.
- Long J, Shu XO, Cai Q, Gao YT, Zheng Y, Li G, et al. 2010. Evaluation of breast cancer susceptibility loci in Chinese women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 19: 2357-2365.
- Lopez-Carrillo L, Blair A, Lopez-Cervantes M, Cebrian M, Rueda C, Reyes R, et al. 1997. Dichlorodiphenyltrichloroethane serum levels and breast cancer risk: a case-control study from Mexico. *Cancer Res* 57: 3728-3732.
- Lopez-Cervantes M, Torres-Sanchez L, Tobias A, Lopez-Carrillo L. 2004. Dichlorodiphenyldichloroethane burden and breast cancer risk: a meta-analysis of the epidemiologic evidence. *Environ Health Perspect* 112: 207-214.
- Lucena RA, Allam MF, Costabeber IH, Villarejo ML, Navajas RF. 2001. Breast cancer risk factors: PCB congeners. *Eur J Cancer Prev* 10: 117-119.
- Lupulescu A. 1995. Estrogen use and cancer incidence: a review. *Cancer Invest* 13: 287-295.

- Madigan MP, Ziegler RG, Benichou J, Byrne C, Hoover RN. 1995. Proportion of breast cancer cases in the United States explained by well-established risk factors. *J Natl Cancer Inst* 87: 1681-1685.
- Marchand P, Matayron G, Venisseau A, Le Bizec B, André F. 2004. Investigation of PCDD, PCDF, PCB dioxin-like and marker PCB in blood: results for French donors from pooled blood after validation of the method with 10 mL samples. Berlin: 24th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs.
- McTiernan A. 2008. Mechanisms linking physical activity with cancer. *Nat Rev Cancer* 8: 205-211.
- Mendonca GA, Eluf-Neto J, Ndrada-Serpa MJ, Carmo PA, Barreto HH, Inomata ON, et al. 1999. Organochlorines and breast cancer: a case-control study in Brazil. *Int J Cancer* 83: 596-600.
- Meunier P. 2008. Le Rhône et les PCB : une pollution au long cours. Assemblée nationale : la commission des affaires économique, de l'environnement et du territoire. 135p.
- Michels KB, Mohllajee AP, Roset-Bahmanyar E, Beehler GP, Moysich KB. 2007. Diet and breast cancer: a review of the prospective observational studies. *Cancer* 109: 2712-2749.
- Milbrath MO, Wenger Y, Chang CW, Emond C, Garabrant D, Gillespie BW, et al. 2009. Apparent half-lives of dioxins, furans, and polychlorinated biphenyls as a function of age, body fat, smoking status, and breast-feeding. *Environ Health Perspect* 117: 417-425.
- Millikan R, DeVoto E, Duell EJ, Tse CK, Savitz DA, Beach J, et al. 2000. Dichlorodiphenyldichloroethene, polychlorinated biphenyls, and breast cancer among African-American and white women in North Carolina. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 9: 1233-1240.
- Million Women Study Collaborators, Beral V. 2003. Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet* 362: 419-427.
- Ministère de l'écologie, du développement et de l'aménagement durables. 2007. PCB ou PolyChloroBiphényles : l'état des lieux, le plan national d'actions. Accessible : http://www.developpement-durable.gouv.fr/IMG/pdf/DGALN_pcb_etat_des_lieux_oct_2007.pdf (visité le 18 novembre 2011).
- Monninkhof EM, Elias SG, Vleems FA, van dT, I, Schuit AJ, Voskuil DW, et al. 2007. Physical activity and breast cancer: a systematic review. *Epidemiology* 18: 137-157.
- Moore KL, Dalley A.F. 2001. Anatomie médicale : aspects fondamentaux et applications cliniques. In: (De Boeck, ed), 73-78.
- Moysich KB, Ambrosone CB, Mendola P, Kostyniak PJ, Greizerstein HB, Vena JE, et al. 2002. Exposures associated with serum organochlorine levels among postmenopausal women from western New York State. *Am J Ind Med* 41: 102-110.
- Moysich KB, Ambrosone CB, Vena JE, Shields PG, Mendola P, Kostyniak P, et al. 1998. Environmental organochlorine exposure and postmenopausal breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 7: 181-188.
- Moysich KB, Shields PG, Freudenheim JL, Schisterman EF, Vena JE, Kostyniak P, et al. 1999. Polychlorinated biphenyls, cytochrome P4501A1 polymorphism, and postmenopausal breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 8: 41-44.
- Must A, Willett WC, Dietz WH. 1993. Remote recall of childhood height, weight, and body build by elderly subjects. *Am J Epidemiol* 138: 56-64.
- Nandi S, Guzman RC, Yang J. 1995. Hormones and mammary carcinogenesis in mice, rats, and humans: a unifying hypothesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92: 3650-3657.
- Narod SA. 2002. Modifiers of risk of hereditary breast and ovarian cancer. *Nat Rev Cancer* 2: 113-123.
- OCDE (Organisation for Economic Cooperation and Development). 1982. Rapport sur la mise en application par les pays membres de la décision du conseil sur la protection de l'environnement par le contrôle des diphenyles polychlorés. Paris: OCDE.

- Olaya-Contreras P, Rodriguez-Villamil J, Posso-Valencia HJ, Cortez JE. 1998. Organochlorine exposure and breast cancer risk in Colombian women. *Cad Saude Publica* 14 Suppl 3: 125-132.
- Paris-Pombo A, Aronson KJ, Woolcott CG, King WD. 2003. Dietary predictors of concentrations of polychlorinated biphenyls in breast adipose tissue of women living in Ontario, Canada. *Arch Environ Health* 58: 48-54.
- Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. 2005. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 55: 74-108.
- Patterson DG, Jr., Wong LY, Turner WE, Caudill SP, Dipietro ES, McClure PC, et al. 2009. Levels in the U.S. population of those persistent organic pollutants (2003-2004) included in the Stockholm Convention or in other long range transboundary air pollution agreements. *Environ Sci Technol* 43: 1211-1218.
- Pavuk M, Cerhan JR, Lynch CF, Kocan A, Petrik J, Chovancova J. 2003. Case-control study of PCBs, other organochlorines and breast cancer in Eastern Slovakia. *J Expo Anal Environ Epidemiol* 13: 267-275.
- Pelletier C, Despres JP, Tremblay A. 2002. Plasma organochlorine concentrations in endurance athletes and obese individuals. *Med Sci Sports Exerc* 34: 1971-1975.
- Phillips DL, Pirkle JL, Burse VW, Bernert JT, Jr., Henderson LO, Needham LL. 1989. Chlorinated hydrocarbon levels in human serum: effects of fasting and feeding. *Arch Environ Contam Toxicol* 18: 495-500.
- Platet N, Cathiard AM, Gleizes M, Garcia M. 2004. Estrogens and their receptors in breast cancer progression: a dual role in cancer proliferation and invasion. *Crit Rev Oncol Hematol* 51: 55-67.
- Pliskova M, Vondracek J, Canton RF, Nera J, Kocan A, Petrik J, et al. 2005. Impact of polychlorinated biphenyls contamination on estrogenic activity in human male serum. *Environ Health Perspect* 113: 1277-1284.
- Poehlman ET, Toth MJ, Gardner AW. 1995. Changes in energy balance and body composition at menopause: a controlled longitudinal study. *Ann Intern Med* 123: 673-675.
- Puga A, Ma C, Marlowe JL. 2009. The aryl hydrocarbon receptor cross-talks with multiple signal transduction pathways. *Biochem Pharmacol* 77: 713-722.
- Quinn CL, Wania F, Czub G, Breivik K. 2011. Investigating intergenerational differences in human PCB exposure due to variable emissions and reproductive behaviors. *Environ Health Perspect* 119: 641-646.
- Raaschou-Nielsen O, Pavuk M, Leblanc A, Dumas P, Philippe WJ, Olsen A, et al. 2005. Adipose organochlorine concentrations and risk of breast cancer among postmenopausal Danish women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 14: 67-74.
- Ravdin PM, Cronin KA, Howlader N, Berg CD, Chlebowski RT, Feuer EJ, et al. 2007. The decrease in breast-cancer incidence in 2003 in the United States 665. *N Engl J Med* 356: 1670-1674.
- Ritter R, Scheringer M, Macleod M, Moeckel C, Jones KC, Hungerbuehler K. 2010. Intrinsic Human Elimination Half-Lives of Polychlorinated Biphenyls Derived from the Temporal Evolution of Cross-Sectional Biomonitoring Data from the UK Population. *Environ Health Perspect* 119: 225-231.
- Rogan WJ, Gladen BC, McKinney JD, Carreras N, Hardy P, Thullen J, et al. 1986. Polychlorinated biphenyls (PCBs) and dichlorodiphenyl dichloroethene (DDE) in human milk: effects of maternal factors and previous lactation. *Am J Public Health* 76: 172-177.
- Romieu I, Hernandez-Avila M, Lazcano-Ponce E, Weber JP, Dewailly E. 2000. Breast cancer, lactation history, and serum organochlorines. *Am J Epidemiol* 152: 363-370.
- Rubin CH, Lanier A, Kieszak S, Brock JW, Koller KR, Strosnider H, et al. 2006. Breast cancer among Alaska Native women potentially exposed to environmental organochlorine chemicals. *Int J Circumpolar Health* 65: 18-27.

- Rudel RA, Fenton SE, Ackerman JM, Euling SY, Makris SL. 2011. Environmental exposures and mammary gland development: state of the science, public health implications, and research recommendations. *Environ Health Perspect* 119: 1053-1061.
- Rusiecki JA, Holford TR, Zahm SH, Zheng T. 2004. Polychlorinated biphenyls and breast cancer risk by combined estrogen and progesterone receptor status. *Eur J Epidemiol* 19: 793-801.
- Rusiecki JA, Matthews A, Sturgeon S, Sinha R, Pellizzari E, Zheng T, et al. 2005. A correlation study of organochlorine levels in serum, breast adipose tissue, and gluteal adipose tissue among breast cancer cases in India. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 14: 1113-1124.
- Russo IH, Russo J. 1996. Mammary gland neoplasia in long-term rodent studies. *Environ Health Perspect* 104: 938-967.
- Russo J, Russo IH. 2004. Development of the human breast. *Maturitas* 49: 2-15.
- Safe S, Wang F, Porter W, Duan R, McDougal A. 1998. Ah receptor agonists as endocrine disruptors: antiestrogenic activity and mechanisms. *Toxicol Lett* 102-103: 343-347.
- Sala M, Sunyer J, Otero R, Santiago-Silva M, Camps C, Grimalt J. 1999. Organochlorine in the serum of inhabitants living near an electrochemical factory. *Occup Environ Med* 56: 152-158.
- Sandanger TM, Sinotte M, Dumas P, Marchand M, Sandau CD, Pereg D, et al. 2007. Plasma concentrations of selected organobromine compounds and polychlorinated biphenyls in postmenopausal women of Quebec, Canada. *Environ Health Perspect* 115: 1429-1434.
- Sarcinelli PN, Pereira AC, Mesquita SA, Oliveira-Silva JJ, Meyer A, Menezes MA, et al. 2003. Dietary and reproductive determinants of plasma organochlorine levels in pregnant women in Rio de Janeiro. *Environ Res* 91: 143-150.
- Schaeffer DJ, Dellinger JA, Needham LL, Hansen LG. 2006. Serum PCB profiles in Native Americans from Wisconsin based on region, diet, age, and gender: Implications for epidemiology studies. *Sci Total Environ* 357: 74-87.
- Schechter A, Toniolo P, Dai LC, Thuy LT, Wolff MS. 1997. Blood levels of DDT and breast cancer risk among women living in the north of Vietnam. *Arch Environ Contam Toxicol* 33: 453-456.
- Schildkraut JM, Demark-Wahnefried W, DeVoto E, Hughes C, Laseter JL, Newman B. 1999. Environmental contaminants and body fat distribution. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 8: 179-183.
- Schisterman EF, Whitcomb BW, Louis GM, Louis TA. 2005. Lipid adjustment in the analysis of environmental contaminants and human health risks. *Environ Health Perspect* 113: 853-857.
- Schug TT, Janesick A, Blumberg B, Heindel JJ. 2011. Endocrine disrupting chemicals and disease susceptibility. *J Steroid Biochem Mol Biol*.
- Seow A, Duffy SW, McGee MA, Lee J, Lee HP. 1996. Breast cancer in Singapore: trends in incidence 1968-1992. *Int J Epidemiol* 25: 40-45.
- Shirai JH, Kissel JC. 1996. Uncertainty in estimated half-lives of PCBs in humans: impact on exposure assessment. *Sci Total Environ* 187: 199-210.
- Sjodin A, Hagmar L, Klasson-Wehler E, Bjork J, Bergman A. 2000. Influence of the consumption of fatty Baltic Sea fish on plasma levels of halogenated environmental contaminants in Latvian and Swedish men. *Environ Health Perspect* 108: 1035-1041.
- Skakkebaek NE, Rajpert-De ME, Main KM. 2001. Testicular dysgenesis syndrome: an increasingly common developmental disorder with environmental aspects. *Hum Reprod* 16: 972-978.
- Smith D. 1999. Worldwide trends in DDT levels in human breast milk. *Int J Epidemiol* 28: 179-188.
- Soto AM, Sonnenschein C. 2010. Environmental causes of cancer: endocrine disruptors as carcinogens. *Nat Rev Endocrinol* 6: 363-370.

Stanford JL, Herrinton LJ, Schwartz SM, Weiss NS. 1995. Breast cancer incidence in Asian migrants to the United States and their descendants. *Epidemiology* 6: 181-183.

Stellman SD, Djordjevic MV, Britton JA, Muscat JE, Citron ML, Kemeny M, et al. 2000. Breast cancer risk in relation to adipose concentrations of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in Long Island, New York. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 9: 1241-1249.

Stellman SD, Djordjevic MV, Muscat JE, Gong L, Bernstein D, Citron ML, et al. 1998. Relative abundance of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in adipose tissue and serum of women in Long Island, New York. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 7: 489-496.

Straif K, Baan R, Grosse Y, Secretan B, El GF, Bouvard V, et al. 2007. Carcinogenicity of shift-work, painting, and fire-fighting. *Lancet Oncol* 8: 1065-1066.

Sweeney AM, Symanski E, Burau KD, Kim YJ, Humphrey HE, Smithci MA. 2001. Changes in serum PBB and PCB levels over time among women of varying ages at exposure. *Environ Res* 86: 128-139.

Thomas G, Jacobs KB, Kraft P, Yeager M, Wacholder S, Cox DG, et al. 2009. A multistage genome-wide association study in breast cancer identifies two new risk alleles at 1p11.2 and 14q24.1 (RAD51L1). *Nat Genet* 41: 579-584.

Thomas GO, Wilkinson M, Hodson S, Jones KC. 2006. Organohalogen chemicals in human blood from the United Kingdom. *Environ Pollut* 141: 30-41.

Titus-Ernstoff L, Hatch EE, Hoover RN, Palmer J, Greenberg ER, Ricker W, et al. 2001. Long-term cancer risk in women given diethylstilbestrol (DES) during pregnancy. *Br J Cancer* 84: 126-133.

Tjonneland A, Christensen J, Olsen A, Stripp C, Thomsen BL, Overvad K, et al. 2007. Alcohol intake and breast cancer risk: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Cancer Causes Control* 18: 361-373.

Tokunaga M, Land CE, Tokuoka S, Nishimori I, Soda M, Akiba S. 1994. Incidence of female breast cancer among atomic bomb survivors, 1950-1985. *Radiat Res* 138: 209-223.

Toppiari J, Larsen JC, Christiansen P, Giwercman A, Grandjean P, Guillette LJ, Jr., et al. 1996. Male reproductive health and environmental xenoestrogens. *Environ Health Perspect* 104 Suppl 4: 741-803.

UNEP (United Nations Environment Programme Chemicals). 2002. Regionally based assessment of persistent toxic substances, mediterranean regional report. Geneva: United Nation Environment Programme.

Vainio H, Kaaks R, Bianchini F. 2002. Weight control and physical activity in cancer prevention: international evaluation of the evidence. *Eur J Cancer Prev* 11 Suppl 2: S94-100.

Verner MA, Ayotte P, Muckel G, Charbonneau M, Haddad S. 2008a. A physiologically-based pharmacokinetic model for the assessment of infant exposure to persistent organic pollutants in epidemiologic studies. *Environ Health Perspect* 117: 481-487.

Verner MA, Charbonneau M, Lopez-Carrillo L, Haddad S. 2008b. Physiologically based pharmacokinetic modeling of persistent organic pollutants for lifetime exposure assessment: a new tool in breast cancer epidemiologic studies. *Environ Health Perspect* 116: 886-892.

Verner MA, Bachelet D, McDougall R, Charbonneau M, Guenel P, Haddad S. 2011. A Case Study Addressing the Reliability of Polychlorinated Biphenyl Levels Measured at the Time of Breast Cancer Diagnosis in Representing Early-Life Exposure. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 20: 281-286.

Viel JF, Clement MC, Hagi M, Grandjean S, Challier B, Danzon A. 2008. Dioxin emissions from a municipal solid waste incinerator and risk of invasive breast cancer: a population-based case-control study with GIS-derived exposure. *Int J Health Geogr* 7: 4.

Vineis P, Bartsch H, Caporaso N, Harrington AM, Kadlubar FF, Landi MT, et al. 1994. Genetically based N-acetyltransferase metabolic polymorphism and low-level environmental exposure to carcinogens. *Nature* 369: 154-156.

- Vo TT, Gladen BC, Cooper GS, Baird DD, Daniels JL, Gammon MD, et al. 2008. Dichlorodiphenyldichloroethane and polychlorinated biphenyls: intraindividual changes, correlations, and predictors in healthy women from the southeastern United States. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 17: 2729-2736.
- WHO (World Health Organization). 2003. Polychlorinated biphenyls: human health aspects. Geneva: World Health Organization.
- Wolff MS, Anderson HA, Britton JA, Rothman N. 2007. Pharmacokinetic variability and modern epidemiology--the example of dichlorodiphenyltrichloroethane, body mass index, and birth cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 16: 1925-1930.
- Wolff MS, Berkowitz GS, Brower S, Senie R, Bleiweiss IJ, Tartter P, et al. 2000a. Organochlorine exposures and breast cancer risk in New York City women. *Environ Res* 84: 151-161.
- Wolff MS, Britton JA, Teitelbaum SL, Eng S, Deych E, Ireland K, et al. 2005a. Improving organochlorine biomarker models for cancer research. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 14: 2224-2236.
- Wolff MS, Camann D, Gammon M, Stellman SD. 1997. Proposed PCB congener groupings for epidemiological studies. *Environ Health Perspect* 105: 13-14.
- Wolff MS, Collman GW, Barrett JC, Huff J. 1996. Breast cancer and environmental risk factors: epidemiological and experimental findings. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 36: 573-596.
- Wolff MS, Deych E, Ojo F, Berkowitz GS. 2005b. Predictors of organochlorines in New York City pregnant women, 1998-2001. *Environ Res* 97: 170-177.
- Wolff MS, Toniolo PG, Lee EW, Rivera M, Dubin N. 1993. Blood levels of organochlorine residues and risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 85: 648-652.
- Wolff MS, Zeleniuch-Jacquotte A, Dubin N, Toniolo P. 2000b. Risk of breast cancer and organochlorine exposure. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 9: 271-277.
- Woolcott CG, Aronson KJ, Hanna WM, SenGupta SK, McCready DR, Sterns EE, et al. 2001. Organochlorines and breast cancer risk by receptor status, tumor size, and grade (Canada). *Cancer Causes Control* 12: 395-404.
- Zhang Y, Wise JP, Holford TR, Xie H, Boyle P, Zahm SH, et al. 2004. Serum polychlorinated biphenyls, cytochrome P-450 1A1 polymorphisms, and risk of breast cancer in Connecticut women. *Am J Epidemiol* 160: 1177-1183.
- Zheng T, Holford TR, Mayne ST, Tessari J, Ward B, Carter D, et al. 2000a. Risk of female breast cancer associated with serum polychlorinated biphenyls and 1,1-dichloro-2,2'-bis(p-chlorophenyl)ethylene. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 9: 167-174.
- Zheng T, Holford TR, Tessari J, Mayne ST, Owens PH, Ward B, et al. 2000b. Breast cancer risk associated with congeners of polychlorinated biphenyls. *Am J Epidemiol* 152: 50-58.
- Ziegler RG, Hoover RN, Pike MC, Hildesheim A, Nomura AM, West DW, et al. 1993. Migration patterns and breast cancer risk in Asian-American women. *J Natl Cancer Inst* 85: 1819-1827.

Annexe I – Description des études sur les déterminants des niveaux biologiques de DDT/DDE et PCB

Revue de la littérature : déterminants des niveaux de DDT/DDE et de PCB

Référence	Lieu	Type d'étude	Nombres de participants	Age	Valeurs de l'exposition	Année de collection de l'échantillon	Variables prédictrices	Méthodes	Commentaires
Rogan (1986) DDE PCB	U.S.A. Caroline du Nord	transversale sang /lait sang cordon ombilical placenta	906 femmes venant d'accoucher et leurs enfants	16 à 41 ans	médiane 9,69 µg/L 6,98µg/L	1978-1982	âge, race, cigarettes, conso de poisson, allaitement âge, race, allaitement, alcool, nombre d'enfants	Analyses univariées, comparaisons de moyennes/médianes ou pourcentages sans test statistique	Étude de référence pour le lien entre allaitement et CO. Ils montrent un déclin des niveaux de CO au cours du temps dans le lait maternel
Schildkraut (1999) DDE	U.S.A Caroline du Nord	cas-témoins Carolina BC study sang	99 témoins	âge moyen : 57ans	moyenne 10,5 µg/L	1993-N.C.	ethnie, IMC, allaitement	Régression linéaire multiple (analyse de covariance)	Stratification sur l'éthnie (noires vs blanches). Autres variables analysées: perte de poids, gain de poids l'année précédente
Sala (1999) PCB (somme) DDE	Espagne	transversale sang	608 sujets. 359 femmes 249 hommes	>14 ans	moyenne 4,3 ng/ml 9,61ng/ml	1994	age,IMC, conso de poissons age, IMC	ANOVA et Régression linéaire multiple	Etude réalisée sur les habitants d'une ville ayant une usine électrochimique (HCB) Autres variables étudiées : alcool, tabac, perte de poids.
Laden (1999) DDE PCB	USA	Cohorte : Nurses' Health Study cohort sang	240 témoins Validation sur les 240 cas	30 ans à 55 ans	moyenne 7,09ng/ml 5,22ng/ml	1976	âge region, allaitement âge, région, parité, conso de poissons et œufs	régression linéaire multiple	Aliments testés aussi mais pas associés au DDE R ² =0,21 pour DDE et R ² =0,17 pour PCB
Chevrier (2000) DDE PCB153	Canada, Québec	Essai en deux phases sang+tissus adipeux	39 obèses (21 femmes + 18 hommes) 57 femmes IMC normal	moy : 43 ans	Seulement pour les obèses (phase1) : av:2,45-ap:2,81µg/l av:0,31-ap:0,36µg/l	1995-1997	Perte de poids	Analyses univariées (ANOVA) + corrélations	Chez les IMC normales : mesure des CO. Dans une première phase, les sujets obèses suivent un régime. Le taux CO est mesuré avant et après. Dans une deuxième phase, certains obèses suivent un 2ème traitement (activité+diète), puis nouvelle mesure des CO.

Revue de la littérature : déterminants des niveaux de DDT/DDE et de PCB (suite)

Référence	Lieu	Type d'étude	Nombres de participants	Age	Valeurs de l'exposition	Année de collection de l'échantillon	Variables prédictrices	Méthodes	Commentaires
Sweeney (2000) PBB PCB	U.S.A. Michigan	2 cohortes: the PBB cohort et the PCB Silo cohort sang	1762 femmes	15 à 44 ans	(Chez les >17ans) moy init: 8 ng/ml moy init: 7,6 ng/ml	1974-1994 pour PBB 1978-1990 pour PCB	âge au moment de l'inclusion dans la cohorte, manger de la nourriture de ferme, lait âge à l'inclusion, IMC, conso de poissons	étude du lien entre les changements de niveaux et variables prédictrices par régression logistique multiple	Analyses des changements: association avec âge à l'inclusion, le niveau initial, l'IMC. Le tabac, l'alcool et l'allaitement (oui/non) ont également été analysés mais pas d'association rapportée.
Hanaoka (2001) DDT+DDE	Japon (milieu rural)	enquête transversale sang	41sujets 14 hommes 27 femmes	moy : 60 ans	hommes:7,6ng/ml femmes: 5,6 ng/ml total : 6,3 ng/ml	1999	Rien	régression linéaire multiple. Présentation les moyennes moindres carrés par quartile de CO	sexe, âge, IMC, et l'apport énergétique ont été évalués, ainsi que plusieurs aliments séparément (viande, poisson, légumes, fruits, riz, thé et lait) mais aucune des variables n'est significativement prédictrice.
James (2002) DDE PCB	USA Californie: San Fransisco Bay	Child health dvpmt Study sang	399 femmes enceintes à l'époque du prélèvement	femmes enceintes de <20 ans à >30 ans	médiane 5878ng/g 616 ng/g	1963-1967 pdt expo	ethnie, lieu de naissance, IMC (-), date de prélèvement, age(seulement pour PCB)	Régression linéaire multiple Des percent change sont présentés	ajustement effectué sur la durée depuis le début de la grossesse au moment du prélèvement. Pas de tableaux des analyses multivariées, juste présentation graphes des percent change. Différents congénères de PCB étudiés séparément et isomères DDT DDE également.
Moysish (2002) DDE PCB	USA New York	cas-témoins sang	192 témoins	moy : 63,2 ans	moyenne 10,77ng/g 4,12 ng/g	1986-1991	âge, parité, prod laitiers âge,parité,allaitement, poisson	régression linéaire multiple + coefficients de corrélations	R ² =0,13 pour DDE et R ² =0,12 pour PCB
Glynn (2003) DDE PCB	Suède	cas-témoins sang	205 témoins	54-75 ans	médiane 497 ng/g PCB153 : 223 ng/g	1996-1997	âge, IMC âge, IMC, région et conso de poisson	percent changes obtenus à partir de l'analyse de covariance	autres variables étudiées : diabète

Revue de la littérature : déterminants des niveaux de DDT/DDE et de PCB (suite)

Référence	Lieu	Type d'étude	Nombres de participants	Age	Valeurs de l'exposition	Année de collection de l'échantillon	Variables prédictrices	Méthodes	Commentaires
Soliman (2003) DDE Sum DDT-DDE-DDD	Egypte	cas-témoins sang	69 cas cancer du sein 53 témoins femmes pré-ménopausées	18 à 50 ans	moyenne cas:12,7/tem:16,6ng/ml cas:13,4/tem:17,3ng/ml	N.C.	allaitement	regression tree-based method	Autres variables étudiées : âge, rural/urbain, age au premier enfant, âge à la puberté, nombre d'avortements, IMC Dans cette étude, l'étude des déterminants est couplée à l'étude cas témoins cancer du sein
Sarcinelli (2003) DDE	Brésil	transversale sang	64 femmes enceintes	16-49 ans moy : 23 ans	moyenne 1,77ng/ml	1997-1998	parité, consommation de poissons	MG par catégories de variables potentiellement prédictrices (p ANOVA)+ régression linéaire multiple seulement avec variables significatives dans les analyses univariées	autres variables étudiées : age, âge à la ménopause, parité, IMC, conso de porc, poulet, autres aliments : produits laitiers, légumes, riz... R ² =0,28
Gaffney (2005) DDE PCB somme	USA vers Washington	transversale sang	1374 adultes 794 hommes 580 femmes	15-90 ans moy : 53,1	moyenne 3023,5 ng/g 771,5 ng/g	1974	sexe, âge, tabac actuel, eau (minérale/robinet)	régression linéaire multiple	Pas d'info sur poids et taille, allaitement. Principale variable explorée : lieu de résidence et distance par rapport à un site pollué. Utilisation de régression OLS.
Wolff (2005) DDE PCB	USA New York Long Island	cohorte sang	194 femmes enceintes	moy : 25 ans	médiane 0,64µg/l - 111 ng/g 0,79 µg/l - 151 ng/g	1998-2001	pays de naissance, âge (au carré), cholestérol âge, IMC, achat de poissons frais	régression logistique multiple. 3ème tertile CO vs les deux autres	Trans-nonachlor étudié également Niveaux faibles, découpage en catégories de DDE et PCB
Wolff (2005) DDE PCB	USA New York Long Island	cas cancer sein-témoins LIBCSP sang	1102 cas + 1141 témoins	<30ans à >70 ans	médiane 663 ng/g 372 ng/g	1996-1997	âge, ethnie, IMC actuel, gain de poids, allaitement âge, ethnie, IMC actuel, gain de poids	régression linéaire multiple manual stepwise fashion	R ² =0,33 pour DDE et R ² =0,30 pour PCB

Revue de la littérature : déterminants des niveaux de DDT/DDE et de PCB (suite)

Référence	Lieu	Type d'étude	Nombres de participants	Age	Valeurs de l'exposition	Année de collection de l'échantillon	Variables prédictrices	Méthodes	Commentaires
Hagmar (2006) DDE PCB	Suède	enquête transversale Time trends sang	39 hommes	moy : 42 ans 23-69 ans	N.C.	1991 et 2001	variables prédictrices du changement de CO : changement IMC changement IMC	regression linéaire multiple	HCB a aussi été étudié. A retenir : Il y a eu une décroissance intra-individuelle des niveaux sanguins de DDE et PCB dans les années 90 : PCB153 (34%), DDE (55%) et HCB (53%)
Inoue (2006) PCB	Japon	enquête transversale sang et lait maternelle	100 femmes allaitant	20-49 ans	MG somme 13 congénères 37,52ng/g	N.C.	allaitement	stepwise multiple regression	PBDE étudié aussi (déterminant : lieu) Création d'une matrice QSAR (quantitative Structure-activity Relationship) autres var étudiées : parité, CSP, utilisation d'électroménager, ameublement, conso de poissons, tabac, alcool
Lee (2006) DDE PCB	Chine	cas-témoins Shangai BC study sang	250 témoins	moy : 48,6 ans	médiane 309 ng/g ?	avant 2000	âge(+), fresh bean (-)	coefficients de corrélations et régression linéaire multiple (backward algorithm)	Beaucoup d'aliments testés. Variable créée : somme des CO
Petrik (2006) PCB somme DDE	Slovaquie	transversale sang	2047 adultes 434 enfants 836 sexe masculin 1711 sexe F	17ans à >60 ans	médiane 1892ng/g 2521ng/g	2001	sexe, région, âge	analyse de variance	Comparaison de deux régions. Les niveaux ont baissé de 30% par rapport à 1998 (Graphiques intéressants)
Glynn (2007) DDE PCB	Suède	transversale sang	953 femmes enceintes	moy : 28 ans	moyenne 88 ng/g PCB153: 59ng/g	1996-1999	âge, année d'échantillonnage, IMC avant la grossesse, gain de poids, allaitement, région, poisson	régression linéaire multiple et présentation des percent changes	Autres variables étudiées: niveau d'éducation, tabac, alcool, ,,,

Revue de la littérature : déterminants des niveaux de DDT/DDE et de PCB (suite et fin)

Référence	Lieu	Type d'étude	Nombres de participants	Age	Valeurs de l'exposition	Année de collection de l'échantillon	Variables prédictrices	Méthodes	Commentaires
Sandanger (2007) PCB	Canada Québec	transversale sang	110 femmes ménopausées	48 à 76 ans moy: 58,3	MG PCB153: 41,7ng/g Somme PCB: 204ng/g	2003-2004	âge, IMC, IMCgain18	régression linéaire multiple	Autres variables étudiées : niveau d'étude, alcool, tabac, conso de viande, allaitement et parité. PCB 153 utilisé comme surrogat des autres PCBs
Vo (2008) DDE PCB	Etats-Unis (Sud)	Cohorte : Changements intraindividuels sang	123 femmes	19-37 ans moy : 29 ans	médianes 2003: 1,2 - 1978: 8,5µg/l 2003: 0,7 - 1978: 1,5µg/l	1978-1982 et 2003-2004	teneur initiale, allaitement, IMC, changement de 'body fat'	régression linéaire multiple pour prédire le changement au cours du temps	autres variables étudiées : âge, nombre d'enfants <u>Concl</u> : Le fait de tenir compte de variables prédictrices permet d'améliorer la corrélation entre les mesures faites à deux temps distincts.
Agudo (2009) PCBs (118, 138, 153 et 180)	Espagne	Cohorte EPIC sang	953 hommes et femmes	moy : 49 ans	4 congénères: 459ng/g lip PCB153 : 186 ng/g lip	1992-1996	sexe, âge, régions, IMC, consommation de poisson, produits laitiers	analyses univariées par analyse de variance et régression linéaire + régression multiple linéaire stepwise pour les aliments MG mutuellement ajustées sur l'ensemble des variables.	Estimation des niveaux moyens en Espagne. autres variables étudiées : allaitement, niveau d'éducation, activité physique, viande, crustacés, huile+graisse Comparaison des niveaux avec d'autres études.
Bräuner (2011) PCB (99, 118, 138, 153, 156, 170, 180, 183, 187, and 201)	Danemark	Cohorte Tissus adipeux	245 sujets 126 hommes 119 femmes	hommes moy : 57 ans femmes moy : 56 ans	médianes (ng/g lip.) mono-ortho h: 67, f:69 di-ortho h:828, f:723 tri-ortho h:110, f:91	déc 93 à mai 97	allaitement (-), IMC(-), fruits/légumes/prod. laitiers (-), lieu de résidence, âge (+), cons. de poisson (+)	régression linéaire multiple (modèles univariés et multivariés)	Analyses distinctes pour les sommes de PCB ayant les mêmes structures (mono/di/tri ortho substitués). Les prédicteurs semblent différer pour les mono-ortho substitués

CO, composé organochloré ; conso., consommation ; MG, moyenne géométrique ; moy., moyenne ; N.C., non communiqué

Annexe II – Description des études sur l'exposition DDT/DDE, PCB et risque de cancer du sein

Revue de la littérature : DDT/DDE, PCB et risque de cancer du sein

Référence	Stratégie congénères PCBs	Lieu	Type d'étude	Nombres de participants	Valeurs de l'exposition	Année de collection de l'échantillon	OR (95% CI)	Commentaires
Wolff (1993) DDE PCB	Aroclor 1260 congénères les plus fortement chlorés	Etats-Unis New-York University	Cas-témoins nichée dans cohorte Women's Health Study, sérum	58 cas 171 témoins	<i>Moyennes</i> cas 11,0; tém 7,7 ng/mL cas 8,0; tém 6,7 ng/mL	1985-1991	3,68 [1,01-13,5] 4,35 [0,9-23,0]	Pas d'ajustement sur les lipides. Analyse multivariée ajustée sur atcdt familial, mois d'allaitement, âge 1ère grossesse
Krieger (1994) DDE PCB	Aroclor 1260 congénères les plus fortement chlorés	Etats-Unis, baie de San Francisco	Cas-témoins nichée dans cohorte, sérum	150cas 150 témoins	<i>Moyennes</i> cas 43,3; tém 43,1 µg/L cas 4,4; tém 4,8 µg/L	1964-1971	1,33 [0,68-2,62] 0,94 [0,48-1,84]	Pas d'ajustement sur les lipides Stratification sur l'éthnie (blanches, noires, asiatiques). Les niveaux de DDE sont plus élevées chez les femmes noires
Hunter (1997) DDE PCB	somme des congénères les plus fortement chlorés	Etats-Unis Long Island (NY)	Cas témoins nichée dans cohorte NHS Nurses' Health Study	240 cas 240 témoins	<i>Médianes</i> cas 4,71; tém 5,35 ng/mL cas 4,49; tém 4,68 ng/mL	1989-1990	Quintiles 0,72 [0,37-1,40] 0,66 [0,32-1,37]	Analyse multivariée ajustée sur les facteurs de confusion.
Hoyer (1998) Dieldrin DDT/DDE PCB (total)	28 congénères, somme des congénères	Danemark	Cas témoins nichée dans cohorte, sérum	240 cas 477 témoins	<i>Moyennes non ajustées sur lipides :</i> cas 10,2; tém 10,5 ng/mL cas 8,6; tém 8,7 ng/mL	1976	Quartiles 2,05 [1,17-3,57] 0,84 [0,49-1,45] 1,11 [0,70-1,77]	Facteurs de confusion : nombre grossesses et poids.
Moysish (1998) DDE PCB	56 PCB peaks représentant 73 congénères 3 groupes: peu/modérément/fortement chlorés	USA	cas-témoins, sérum	262 cas 319 témoins postménopause	<i>Moy arithm. ajustées sur âge</i> cas:11,5-tém:10,8ng/g lip cas: 4,3-tem:4,1ng/g lip	1986-1991	1,34 [0,71-2,55] 1,14 [0,61-2,15] jamais allaité: 2,87 [1,01-7,29]	Femmes post-ménopausées. Analyses stratifiées sur a allaité/ jamais allaité

Revue de la littérature : DDT/DDE, PCB et risque de cancer du sein (suite)

Référence	Stratégie congénères PCBs	Lieu	Type d'étude	Nombres de participants	Valeurs de l'exposition	Année de collection de l'échantillon	OR (95% CI)	Commentaires
Olaya-Contreras (1998) DDE		Colombie, Bogota	cas-témoins hospitaliers, sérum	153 cas 153 témoins	<i>Moy arithm (ng/ml)</i> cas 3,30; tém 2,50	juillet 1995 - février 1996	Tertiles 1,95 [1,10-3,52]	Ajustement sur les FdR reconnus. Stratification sur le statut ménopausique. DDT utilisé en Colombie jusque 1986 en agriculture et est restreint seulement depuis 1994 pour la Malaria
Dorgan (1999) DDE PCB	27 congénères de PCB	USA Columbia Missouri	Cas-témoins nichée dans cohorte, sérum	105 cas 208 témoins	<i>Médiane</i> tém: 2355 ng/g lipid tém: 370 ng/g lipid	1977-1987	0,8 [0,4-1,5] 0,7 [0,3-1,5]	facteurs de confusion pris en compte: taille, poids, IMC, parité, âge aux 1ères règles, statut ménopausal, THM, atcd fam, éducation, tabac. Analyses séparées pour PCB118 et 138
Helzlsouer (1999) DDE PCB	PCB totaux	USA Washington county	cas-témoins nichée dans cohorte	340 cas, 340 témoins 235 en 1974, 105 en 1989	<i>Médianes (ng/g lip)</i> 1974 cas:1463,9; tém: 1668,4 1989 cas:1119,2; tém: 1181,7 1974 cas:595,4; tém: 607,3 1989 cas:252,0; tém: 270,3	1974 ou 1985 ou les deux	1974 : 0,73[0,40-1,32] 1989 : 0,58[0,29-1,17] 1974 : 1,12[0,59-2,15] 1989 : 0,76[0,38-1,51]	revue des études publiées. 2 mesures sanguines mais pas forcément sur les mêmes sujets
Aronson (2000) DDE DDT PCB (aroclor 1260)	aroclor 1260 10 congénères séparément	Toronto	cas-témoins hospitaliers tissus adipeux	217 cas 213 témoins	<i>MG (ng/g lip)</i> cas 693; tém 596 cas 22; tém 19 cas 940; tém 870	juillet 1995-juin 1997	Quartiles 1,62 [0,84-3,11] 1,18 [0,61-2,29] 1,15 [0,58-2,25]	Pas d'ajustement sur certains FdR reconnus (âge aux premières règles, parité, âge à la 1ère grossesse à terme). Stratification sur le statut ménopausique. Analyse d'autres OC : HCB, oxychlordan, mirex, béta-HCH
Demers (2000) DDE PCB-153	PCB-153	Canada, ville de Québec	cas-témoins hospitaliers (hosp) et population générale (pop) sérum	315 cas 219 tém hosp 307 tém pop	<i>Médianes (ng/g lip)</i> cas 386; tém hosp 337; tém pop 352 cas 55; tém hosp 50; tém pop 51	oct 1994-mars 1997	Quintiles hosp 1,36 [0,71-2,63] pop 1,00 [0,60-1,67] hosp 1,07 [0,54-2,12] pop 1,28 [0,74-2,19]	Analyses supplémentaires sur l'agressivité des cancers. Ajustements sur les FdR reconnus.
Hoyer(2000) DDE DDT PCB(118+138+153+180)	PCB-118+138+153+180 et sép.	Danemark, Copenhague	cas-témoins nichée dans cohorte sérum 2 prélèvements en 1976-78 et en 1981-83	155 cas 274 témoins	<i>Médianes (ng/g lip) (cas+tém)</i> 1976-78 : 1197; 81-83 : 979 1976-78 : 144; 81-83 : 45 1976-78 : 1102; 81-83 : 1168	1976-1978 puis 1981-1983	Quartiles 1,4 [0,7-2,8] 3,6 [1,1-12,2] 1,6 [0,8-3,3]	OR calculés pour la moyenne des niveaux mesurés aux 2 temps. Les OR sont également présentés pour les niveaux mesurés en 1976-78. L'asso avec le DDT n'est pas retrouvée avec niv 1976-78. Ajustement sur les FdR reconnus sélectionnés par une procédure stepwise backward

Revue de la littérature : DDT/DDE, PCB et risque de cancer du sein (suite)

Référence	Stratégie congénères PCBs	Lieu	Type d'étude	Nombres de participants	Valeurs de l'exposition	Année de collection de l'échantillon	OR (95% CI)	Commentaires
Millikan (2000) DDE PCB	35 congénères de PCB mesurés. Somme / PCB-118+138+153+180 / 2 groupes : faiblement ou fortement chlorés	USA, Caroline du Nord sérum	cas-témoins population générale, sérum	748 cas 659 témoins	<i>Médianes (ng/g lip)</i> blanches : cas 400; tém 430 noires : cas 1310; tém 1170 blanches : cas 330; tém 350 noires : cas 450; tém 430	mai 1993- déc1996	Tertile 3 vs tertile 1 blanches: 0,98[0,67-1,43] noires:1,41[0,87-2,29] blanches:1,03[0,68-1,56] noires:1,74[1,00-3,01]	Les analyses sont ajustées sur âge, âge au carré, ethnique, statut ménopausique, IMC, parité/allaitement, THM, revenus. Les analyses ont également été stratifiées sur parité/allaitement et IMC. L'IMC modifie la relation avec le DDE chez les noires : les plus minces ont un OR=3,84[0,98-15,1] en comparant T3 avec T1
Romieu (2000) DDE		Mexique Mexico	Cas témoins sérum	120 cas 126 témoins	<i>Moy ajustées sur les lipides</i> cas 3,84;tém 2,51 µg/g lipids <i>Médianes</i> cas 2,62;tém 2,0 µg/g lipids	1990-1995	3,81 [1,14-12,8]	Prise en compte de la corrélation entre DDE et DDT par utilisation des résidus de régression linéaire Stratification sur le statut ménopause des femmes
Stellman (2000) DDE PCB (sum 14 cong)	14 congénères: 74,99, 118, 138,146,153, 156,167,170,172, 178,180,183,187. Chacun séparément et somme	USA New York Long Island	cas témoins hosp adipose tissue	232 cas 323 témoins	<i>Médianes</i> cas 419,2; tem 374,1 ng/g cas 294,7; tém 254,1	oct 94-oct 96	0,74 [0,44-1,25] 1,01 [0,60-1,69]	étude des corrélations des CO avec âge, éducation, IMC, parité, âge 1er enfant, allaitement. OR ajustés sur âge, IMC, ethnique, hôpital. OR stratifiés par RE
Wolff (2000) DDE PCB	pas précisé. Mesure des PCB totaux directement	USA, New York	cas-témoins nichée dans cohorte NYU Women's Health Study sérum	148 cas 295 témoins	<i>MG(ng/g lip)</i> cas 977; tém 1097 cas 683; tém 663	1985-1991	Quartiles 1,30[0,51-3,35] 2,02[0,76-5,37]	Ajustement sur les FdR reconnus. Stratification sur les récepteurs hormonaux. Estimation des demi-vies des composés.
Wolff (2000) DDE DDT PCB low chlor. PCB highly chlor.	PCB faiblement chlorés : 28, 66, 74, 99, 101. PCB fortement chlorés : 118, 153, 141, 138, 183, 187, 167, 174, 177, 156, 180, 170, 201, 203	USA, New York	cas témoins hosp tissus adipeux	175 cas 181 témoins BBD 175 témoins autre	<i>MG(ng/g lip)</i> cas 610; tém 660 cas 30; tém 28 cas 110; tém 110 cas 600; tém 620	sept 1994 - fév 1996	Tertiles 0,93 [0,56-1,5] 1,34[0,82-2,2] 0,96[0,53-1,7] 0,78[0,45-1,3]	Niveaux sanguins présentés selon l'ethnie. Ajustements sur l'âge, l'âge ² , le statut ménopausique, l'ethnie, donc pas sur les FdR reconnus. Une analyse des déterminants des niveaux est également effectuée.

Revue de la littérature : DDT/DDE, PCB et risque de cancer du sein (suite)

Référence	Stratégie congénères PCBs	Lieu	Type d'étude	Nombres de participants	Valeurs de l'exposition	Année de collection de l'échantillon	OR (95% CI)	Commentaires
Zheng (2000) DDE PCB	congène 74,118,138, 153,156,170,180, 183,187 somme	USA Connecticut	cas-témoins hospitaliers+pop générale sérum	475 cas (326+149) 502 témoins= 347 hosp+155 pop gen	MG cas: 460; tem: 456 ng/g aj lip cas: 733; tem: 748 ng/g aj lip	1995-1997	0,96 [0,67-1,36] 1,07 [0,60-1,93]	Prise en compte du statut ménopause, parité/allaitement, RH, stades, trtmt Analyses suivant groupes congénères PCB de Wolff
Zheng (2000) "cong" PCB 187 PCB 74, 118, 138, 156, 170 PCB153,180,183	cong 74,118,138, 153,156,170,180, 183,187 (les plus abondants) individuellement + groupes Wolff	USA Connecticut (Nouvelle-Angleterre)	Cas-témoins hospitaliers tissus adipeux mammaires	304 cas 186 témoins	Moy géom de la som des PCBs cas : 478,6 ppb ajusté lip témoins : 494,1 ppb ajusté lip	1994-97	tert 3 vs tert 1 0,9 [0,4-1,8] 0,8 [0,4-1,6] 0,9 [0,4-2,0]	Distinction des PCBs oetrogéniques (PCB 187), antioestrogéniques-dioxin like (PCB 74, 118, 138, 156, 170), phenobarbital (PCB153, 180, 183)
Hoyer (2001) DDE PCB (somme 28 congénères)	28 congénères, somme des congénères	Danemark Copenhage	cas-témoins nichée dans cohorte Copenhagen City Herat Study sérum	230 cas 477 témoins 161 cas ont RE disponibles	Médiane cas: 1129,75 ppb lip aj cas: 1076,04 ppb lip aj	1976-1978	RE+:0,9[0,6-1,5] RE-:0,6 [0,2-1,7] RE+:1,3[0,8-2,2] RE- 0,8[0,3-2,6]	Analyse de la survie en plus. Ajustement Prise en compte du poids, parité, staut ménopausal, THM, tabac, alcool, revenus, éducation. Régression logistique conditionnelle backward stepwise.
Laden (2001) DDE PCB	Aroclor 1260 et PCB-118, 138, 153, 180 individuellement	Etats-Unis Long Island (NY)	Cas témoins nichée dans cohorte NHS Nurses' Health Study	381 cas 381 témoins	Médianes (ng/g lip) cas 768; tém 817 cas 544; tém 543	1989-1990	Quintiles 0,82 [0,49-1,37] 0,84 [0,47-1,52]	Femmes post-ménopausées. Il s'agit du follow-up de l'étude de Hunter 1998. Stratifications sur l'IMC, l'allaitement, la région qui ne modifient pas les résultats.
Laden (2001) Méta-analyse DDE PCB		Etats-Unis	Analyse combinée de 5 études cas-témoins : 3 rétrospective et 2 prospective	1400 cas 1642 témoins	Médianes ajustées sur les lipides tém : de 0,53 à 0,67 ug/g tém : de 0,41 à 1,67 ug/g	de 1986 à 1997	0,99 [0,77-1,27] 0,94 [0,73-1,21]	Ajustement et non-ajustement sur les lipides. Analyse multivariée ajustée sur IMC, hormone thérapie, var combiné parité/allaitement. Stratification sur la parité, l'allaitement et IMC. Somme des cong PCB 118, 138, 153 et 180.

Revue de la littérature : DDT/DDE, PCB et risque de cancer du sein (suite)

Référence	Stratégie congénères PCBs	Lieu	Type d'étude	Nombres de participants	Valeurs de l'exposition	Année de collection de l'échantillon	OR (95% CI)	Commentaires
Woolcott (2001) DDE DDT PCB	Aroclor 1260 et PCB-99, 138, 153, 156, 170, 180, 183, 187 individuellement	Canada, Kingston et Toronto	cas-témoins hospitaliers tissus adipeux	201 cas 213 témoins	<i>Moy géométriques (ng/g lip)</i> ER+ cas 638; tém 596 ER- cas 906 ER+ cas 21,3; tém 19,3 ER- cas 23,5 ER+ cas 920; tém 870 ER- cas 1020	1995-1997	Tertiles 1,1 [0,6-1,9] 2,4 [1,0-5,4] 1,3[0,7-2,3] 1,7[0,8-3,9]	Analyses ajustées selon l'âge, lieu, statut ménopausique, durée d'allaitement, THM, ethnie, atcdt familial, IMC, consommation de graisses. Analyse selon les caractéristiques de la tumeur. Les OR sont également calculés par PR, taille de la tumeur, grade.
Demers (2002) PCB 118 PCB 138 PCB 153 PCB 156 PCB 180	autres cong mesurés non détectés. Analysés indiv + mono-ortho-cong (dioxin-like) avec poids	Canada (Québec)	Cas-témoins en milieu hospitalier+pop. générale, sérum	315 cas 219 témoins hosp. 307 témoins pop. gén.	<i>Méd ajustées sur les lip.</i> cas 15,8;tém 14,3 µg/kg cas 37,2;tém 35,5 µg/kg cas 55,0;tém 50,7 µg/kg cas 8,2;tém 7,6 µg/kg cas 32,1;tém 30,2 µg/kg	oct 1994- mars 1997	Quartiles 1,60 [1,01-2,53] 1,18 [0,75-1,85] 1,22 [0,78-1,92] 1,80 [1,11-2,94] 1,17 [0,70-1,93]	D'autres PCBs ont été analysés (PCB 99, PCB 170, PCB 183 et PCB 187) mais pas d'asso significative avec le cancer du sein. Stratification ménopause. Analyse de la somme des mono-orthoPCBs(dioxin-like): asso significative avec risque de BC (OR=2,02 [1,24;3,28] chez ttes les femmes)
Gammon (2002) Dieldrin DDT DDE PCB	24 congénères 4PCB=118+138+153+180. autres pas présentés	USA Long Island (NY)	Cas témoins, sérum	646 cas 429 témoins	<i>médianes</i> cas 20,4; tém 21,3 ng/g cas 69,0; tém 69,3 ng/g cas 672,0; tém 645,7 ng/g cas 386,7; tém 391,7 ng/g	1996-1997	1,37 [0,69-2,72] 1,15 [0,74-1,79] 1,20 [0,76-1,90] 0,83 [0,54-1,29]	Ajustement sur les lipides. Analyse multivariée ajustée sur les facteurs de confusion Pour PCB, risques similaires non élevés pour 118, 138, 153, 180 indiv.
Pavuk (2003) DDE DDT PCB	Somme de 15 congénères et groupes de Wolff	Slovaquie	Cas témoins. Cas identifiés rétrospectivement, témoins issus d'une étude transversale. Sérum	24 cas 88 témoins	<i>médianes (ng/g lip.)</i> cas 5745,0; tém 3226,5 cas 155,1; tém 106,7 cas 2585,5; tém 2681,8	cas: 1999 tém: 1998	Tertiles 3,04 [0,65;14,3] 1,19 [0,27;5,53] 0,42 [0,10;1,82]	Les niveaux sont élevés dans cette étude. Les analyses des PCBs ont été faites par groupe de Wolff (oestrogéniques, anti-oestrogéniques, inducteurs d'enzymes). Cela ne modifie pas les résultats. Chez les cas, les dosages ont été effectués jusqu'à un an après le diagnostic de cancer.
Lopez-Cervantes (2004) Méta-analyse pp'DDE		Mexique	22 études			études publiées de 1993 à 2001	0,97 [0,87-1,09]	

Revue de la littérature : DDT/DDE, PCB et risque de cancer du sein (suite)

Référence	Stratégie congénères PCBs	Lieu	Type d'étude	Nombres de participants	Valeurs de l'exposition	Année de collection de l'échantillon	OR (95% CI)	Commentaires
Gatto (2007) DDE PCB	4-16 peaks Aroclors 1242 et 1260 (fortement chlorés)	USA Population afro-américaine	Cas témoins, sérum	355 cas 327 témoins	moyenne cas 1,40; tém 1,25 µg/g cas 0,31; tém 0,31 µg/g	de juillet 1995 à juillet 1998	1,02 [0,61-1,72] 1,01 [0,63-1,63]	Ajustement sur les lipides. Stratification sur l'IMC, l'allaitement, la parité, le statut ménopausal et le statut récepteur tumoral. Interaction significative entre statut RE et DDE
Charlier (2003) DDT		Belgique	Cas-témoins, sérum	159 cas 250 témoins	moyenne cas : 3,94 ; tém 1,83 ppb=µg/l	Sept 1999 à fév 2000	5,64 [1,81-17,65]	Pas d'ajustement sur les facteurs reconnus de cancer du sein. Ajustement sur l'allaitement Pas de différence significative en fonction de RE
McCready (2004) DDE DDT PCB	aroclor 1260 et 10 congénères individuellement	Canada, Toronto	cas-témoins hospitaliers tissus adipeux	70 cas 69 témoins	MG (ng/g lip) cas 1242; tém 616 cas 47; tém 19 cas 1070; tém 920	1995-1997	2 catégories d'expo 2,48 [1,08-5,71] 2,33 [0,97;5,61] 1,06 [0,48;2,37]	Des analyses génétiques ont également été réalisées. Ajustement sur l'âge, le statut ménopausique, IMC, allaitement, graisse, alcool.
Raaschou-Nielsen (2005) pp'DDE pp'DDT PCB	cong: 118,138,153,156,170,18 0,183,187,201. ana spé + sum	Danemark	Cas-témoins nichée dans la cohorte, tissus adipeux	407 cas 408 témoins	médianes en µg/kg lipids cas 476,7; tém 507,1 cas 20,8 ; tém 20,0 PCB153 : cas 265,9;tém 266,6	de 1993 à 1997	0,7 [0,5-1,2] 0,6 [0,3-1,0] 1,1 [0,7-1,7]	Analyse multivariée ajustée sur les facteurs de confusion. Découpage des expositions en quantiles. Femmes post-ménopausées. Association inverse avec cancer du sein statut RE-
Rubin (2006) DDE PCBs(28 congénères)	28 congénères de PCB totaux=somme	USA (Alaska)	cas-témoins rétrospective	63 cas 63 témoins	MG non lip ajustées cas 8,67;tém 7,36ppb=µg/L cas 4,55;tém 6,10µg/L	de 1981 à 1987	Tertiles 1,43 [0,46-4,47] 0,42 [0,07-2,38]	Ajustement sur ethnicité, atcdts familiaux, parité.
Cohn (2007) op'DDT pp'DDT op'DDE pp'DDE		USA (California)	Cas témoins, nichée dans la cohorte Sérum	129 cas 129 témoins	moy / médiane ? Pas précisé cas et témoins : 1,4 µg/g cas et témoins : 5,3 µg/g	de 1959 à 1967	0,3 [0,1-0,7] 5,4 [1,7-17,2] 0,9 [0,3-3,0]	Seule analyse faite à partir d'échantillons collectés à l'époque de diffusion de DDT. Analyse faite sur des femmes de moins de 50 ans. Evaluation de l'association avec l'âge pendant l'exposition.

Revue de la littérature : DDT/DDE, PCB et risque de cancer du sein (suite et fin)

Référence	Stratégie congénères PCBs	Lieu	Type d'étude	Nombres de participants	Valeurs de l'exposition	Année de collection de l'échantillon	OR (95% CI)	Commentaires
Iwasaki (2008) pp'DDT pp'DDE		Japon	Cas témoins, nichée dans la cohorte Sérum	139 cas 278 témoins	médianes cas:1,10 tém:1,12ng/ml cas:7,04 tém:6,08ng/ml	de 1990 à 1995	0,99 [0,47;2,08] 1,48 [0,70;3,13]	Correction pour les lipides faite aussi montrée mais résus non différents. Stratification ménopause. Analyse en fonction récepteurs RE
Itoh (2008) o,p'-DDT p,p'-DDT p,p'-DDE PCB (somme 41 congénères)	41 congénères. Totaux=somme	Japon	Cas témoins en milieu hospitalier Sérum	405 cas 403 témoins	médianes (ajust lip) cas:1,5 tém:1,6ng/g cas:9,3 tém:9,9ng/g cas:360 tém:370ng/g cas:170 tém:180ng/g	de 2001 à 2005	Quartiles 0,67 [0,30-1,52] 0,58 [0,27-1,25] 1,02 [0,46-2,26] 0,33 [0,14-0,78]	Analyses multivariées ajustées sur les facteurs de confusions (dont conso de légumes et poissons) Découpage des expos en quartiles Stratification ménopause et RE/RP

atcdt., antécédents ; arithm., arithmétique ; FdR, facteur de risque ; moy., moyenne ; MG., moyenne géométrique ; RE, récepteurs œstrogène ; RP, récepteurs progestérone ; tém., témoins ; THM, traitement hormonal de la ménopause ;

Annexe III – Tableaux supplémentaires

Tableau A 1 – Odds ratios obtenus à partir de la régression ordinale multivariée, associés avec les déterminants des niveaux de <i>p,p'</i> -DDE chez l'ensemble des femmes de l'étude CECILE (cas et témoins).....	169
Tableau A 2 – Odds ratios obtenus à partir de la régression ordinale multivariée, associés avec les déterminants des niveaux de PCB chez l'ensemble des femmes de l'étude CECILE (cas et témoins)	170
Tableau A 3 – Répartition des sujets en tertiles d'AUC 11_20 en fonction de leur répartition en catégories de PCB-153 mesuré au recrutement par cohorte de naissance.....	171
Tableau A 4 – Odds ratios liés au cancer du sein associé aux niveaux de PCB-153 à la période d'âge 11-20 ans estimés à partir des modèles PBPK selon la cohorte de naissance chez les femmes de l'étude CECILE ayant des valeurs de PCB-153 au dessus de la limite de détection au moment du recrutement	172

Tableau A 1 – Odds ratios obtenus à partir de la régression ordinale multivariée, associés avec les déterminants des niveaux de p,p' -DDE chez l'ensemble des femmes de l'étude CECILE (cas et témoins)

	variation Δ ou catégorie ^a	< 50 ans (N = 701)		≥ 50 ans (N = 1734)	
		OR ^b	IC 95 %	OR ^b	IC 95 %
Âge	10 ans	1,77	[1,28-2,43]	1,14	[1,06-1,22]
Poisson de mer	une fois par semaine	1,05	[0,90-1,22]	1,06	[0,97-1,15]
Poisson d'eau douce	deux fois par mois	0,90	[0,71-1,15]	1,11	[0,97-1,27]
Crustacés	deux fois par mois	1,09	[0,80-1,47]	0,96	[0,90-1,02]
Viande	trois fois par semaine	0,95	[0,80-1,13]	0,98	[0,87-1,09]
Œufs	deux fois par mois	0,98	[0,90-1,07]	1,03	[0,96-1,10]
Produits laitiers	une fois par jour	0,91	[0,74-1,11]	1,00	[0,88-1,12]
IMC	6 kg/m ²	1,47	[1,13-1,92]	1,41	[1,23-1,63]
Gain d'IMC sur les 10 dernières années	2 kg/m ²	0,81	[0,70-1,93]	0,87	[0,81-0,95]
Allaitement	10 semaines	1,02	[0,96-1,09]	1,02	[0,98-1,06]
Parité	1 enfant	0,88	[0,75-1,03]	1,06	[0,98-1,15]
Niveau d'éducation	bac. vs sans bac. (réf.)	0,67	[0,48-0,95]	1,10	[0,88-1,37]
Alcool	4 verres par semaine	0,95	[0,84-1,07]	0,99	[0,94-1,04]
Tabac	5 paquet-années	0,92	[0,84-1,01]	0,98	[0,94-1,02]
Département	Côte d'Or vs Ille-et-Vilaine (réf.)	0,98	[0,68-1,42]	1,13	[0,90-1,43]
Statut cas-témoins	Cas vs témoins (réf.)	0,94	[0,67-1,31]	0,96	[0,78-1,18]

bac., baccalauréat ; réf., référence

^a Pour les variables quantitatives, la variation Δ représente l'intervalle interquartile (Q3-Q1); pour les fréquences de consommation de poisson d'eau douce, de crustacés et d'œufs, la variation Δ était fixée à "deux fois par mois". Pour les variables catégorielles, les ORs ont été calculés en utilisant "sans baccalauréat" comme catégorie de référence pour le niveau d'éducation, l'"Ille-et-Vilaine" comme catégorie de référence pour le département et les « témoins » comme catégorie de référence pour le statut cas-témoins

^b OR: odds ratio. La probabilité d'être dans une classe supérieure de p,p' -DDE est multipliée par la valeur de l'OR pour chaque augmentation Δ de la variable déterminant

Tableau A 2 – Odds ratios obtenus à partir de la régression ordinale multivariée, associés avec les déterminants des niveaux de PCB chez l'ensemble des femmes de l'étude CECILE (cas et témoins)

	variation Δ ou catégorie ^a	< 50 ans (N = 701)		≥ 50 ans (N = 1734)	
		OR ^b	IC 95 %	OR ^b	IC 95 %
Âge	10 ans	2,74	[1,95-3,87]	1,31	[1,22-1,40]
Poisson de mer	une fois par semaine	1,18	[1,01-1,38]	1,12	[1,03-1,22]
Poisson d'eau douce	deux fois par mois	1,05	[0,83-1,32]	1,00	[0,87-1,16]
Crustacés	deux fois par mois	1,02	[0,91-1,14]	0,96	[0,91-1,02]
Viande	trois fois par semaine	0,88	[0,74-1,05]	1,02	[0,91-1,13]
Œufs	deux fois par mois	1,04	[0,96-1,13]	1,00	[0,94-1,07]
Produits laitiers	une fois par jour	0,89	[0,73-1,08]	0,99	[0,88-1,12]
IMC	6 kg/m ²	0,93	[0,70-1,23]	0,86	[0,75-0,99]
Gain d'IMC sur les 10 dernières années	2 kg/m ²	0,84	[0,72-0,98]	0,87	[0,80-0,95]
Allaitement	10 semaines	0,88	[0,81-0,96]	0,98	[0,93-1,02]
Parité	1 enfant	1,06	[0,91-1,25]	1,05	[0,97-1,14]
Niveau d'éducation	bac. vs sans bac. (réf.)	0,83	[0,59-1,18]	0,94	[0,75-1,17]
Alcool	4 verres par semaine	1,01	[0,90-1,12]	1,03	[0,97-1,08]
Tabac	5 paquet-années	0,93	[0,85-1,03]	0,99	[0,95-1,04]
Département	Côte d'Or vs Ille-et-Vilaine (réf.)	1,43	[0,99-2,06]	1,40	[1,11-1,76]
Statut cas-témoins	Cas vs témoins (réf.)	1,21	[0,86-1,70]	0,79	[0,64-0,97]

bac., baccalauréat ; réf., référence

^a Pour les variables quantitatives, la variation Δ représente l'intervalle interquartile (Q3-Q1); pour les fréquences de consommation de poisson d'eau douce, de crustacés et d'œufs, la variation Δ était fixée à "deux fois par mois". Pour les variables catégorielles, les ORs ont été calculés en utilisant "sans baccalauréat" comme catégorie de référence pour le niveau d'éducation, l'"Ille-et-Vilaine" comme catégorie de référence pour le département et les « témoins » comme catégorie de référence pour le statut cas-témoins

^b OR: odds ratio. La probabilité d'être dans une classe supérieure de PCB est multipliée par la valeur de l'OR pour chaque augmentation Δ de la variable déterminant

Tableau A 3 – Répartition des sujets en tertiles d'AUC 11_20 en fonction de leur répartition en catégories de PCB-153 mesuré au recrutement par cohorte de naissance

Cohorte de naissance	Tertile de l'AUC 11_20	Catégories de PCB-153 mesuré au recrutement ($\mu\text{g/L}$)			
		<LD	0,50-0,84	0,85-1,27	$\geq 1,28$
1930-1940		<LD	0,50-0,84	0,85-1,27	$\geq 1,28$
	T1	82	75	10	1
	T2	4	54	67	13
	T3	0	3	32	93
1941-1950		<LD	0,50-0,75	0,76-1,09	$\geq 1,10$
	T1	163	45	2	0
	T2	51	84	60	9
	T3	1	18	70	112
1951-1960		<LD	0,50-0,68	0,69-0,98	$\geq 0,98$
	T1	226	28	8	0
	T2	67	86	57	17
	T3	7	19	47	99
1961-1981		<LD	0,50-0,60	0,61-0,84	$\geq 0,85$
	T1	148	1	0	1
	T2	112	17	16	3
	T3	36	17	29	44

Tableau A 4 – Odds ratios liés au cancer du sein associé aux niveaux de PCB-153 à la période d'âge 11-20 ans selon la cohorte de naissance chez les femmes de l'étude CECILE ayant des valeurs de PCB-153 au dessus de la limite de détection au moment du recrutement

Cohorte de naissance	Période	Tertiles	Médiane des témoins (ng/g de lipides)		Cas	Témoins	OR ^a	IC 95 %	p _{tendance}
1930-1940	1941-1960	T1	1,4		73	62	1	Référence	0,06
		T2	2,1		50	57	0,73	[0,41;1,30]	
		T3	3,9		42	54	0,54	[0,29;1,02]	
1941-1950	1952-1970	T1	8,9		71	70	1	Référence	0,58
		T2	11,5		50	66	0,77	[0,44;1,36]	
		T3	20,2		72	63	1,08	[0,63;1,87]	
1951-1960	1962-1980	T1	42,2		89	65	1	Référence	0,06
		T2	69,6		44	62	0,55	[0,31;0,97]	
		T3	98,1		43	58	0,60	[0,33;1,09]	
1961-1981	1972-2001	T1	86,1		22	24	1	Référence	0,18
		T2	129,4		13	19	0,63	[0,16;2,52]	
		T3	177,2		33	16	2,17	[0,64;7,41]	

^aOR : odds ratios ajustés sur âge, département, âge à la puberté, âge à la première grossesse à terme, parité, durée cumulée d'allaitement, niveau d'éducation, IMC, THM, antécédent de maladies bénignes du sein, antécédent de cancer familial du sein, date de référence

Annexe IV – Publications

Environmental and industrial toxicology

ASSESSMENT OF EXPOSURE TO PERSISTENT ORGANOCHLORINE COMPOUNDS IN EPIDEMIOLOGICAL STUDIES ON BREAST CANCER: A LITERATURE REVIEW AND PERSPECTIVES FOR THE CECILE STUDY

D. Bachelet^{1,2}, M.-A. Verner³, C. Guihenneuc-Jouyau^{4,5}, C. Charlier⁶,
M. Charbonneau⁷, S. Haddad³, P. Guénel^{1,2}

Key words: exposure assessment, organochlorine compounds, epidemiologic studies, physiologically-based pharmacokinetic models

ABSTRACT

Breast cancer is the most frequent neoplastic disease in women representing 50,000 new cases each year in France. The well-established risk factors,

as those related to the reproductive history, cannot account for all cases of breast cancer. Other environmental or lifestyle factors need to be explored in depth. Persistent organochlorine compounds (OCs) have attracted attention because of their endocrine disrupting properties that make them possible risk factors for breast cancer, but most epidemiological studies did not report an association between OC concentrations in blood or adipose tissue and breast cancer risk. In these studies, OC levels were measured in biological samples obtained at the time of cancer diagnosis or only a few years before.

In this paper, we review the studies on dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) and polychlorobiphenyl (PCB) exposures in relation to breast cancer. We discuss the relevance of OC biological measurements as lifelong exposure indicators, and we describe a new method for assessing exposure to OCs in epidemiological studies.

Most studies were carried out recently and reported OC concentrations that were lower by several orders of magnitude than those reported during the 1960's and 1970's. We make the assumption that these OC levels were not reliable indicators, as they were not measured during etiologically relevant periods in a woman's lifetime, i.e. during the prenatal period, the puberty or the period before a first full-term pregnancy, which are regarded as key periods of vulnerability of mammary

- ¹ INSERM
(Institut National de Santé et de Recherche Médicale)
U754-IFR69, Villejuif, France
- ² Université Paris-Sud, Villejuif, France
- ³ Département des sciences biologiques,
Université du Québec à Montréal,
Montréal, Québec, Canada
- ⁴ INSERM U780, Villejuif, France
- ⁵ Université Paris Descartes,
Lab. MAP5, CNRS UMR 8145,
Paris, France
- ⁶ Laboratoire de toxicologie clinique,
CHU Sart Tilman,
Université de Liège,
Liège, Belgique
- ⁷ INRS-Institut Armand-Frappier,
Université du Québec, Laval,
Québec, Canada

Address for Correspondence:

Pascal Guénel
INSERM U754
16 avenue Paul Vaillant-Couturier
94 807 Villejuif CEDEX
France
Tel.: 0033-145595027
Fax: 0033-145595151
E-mail: pascal.guenel@inserm.fr

gland cells to carcinogens. This may have resulted in non differential exposure misclassification and hence in the absence of an observed association between OC levels and breast cancer in most epidemiological studies.

Physiologically-based pharmacokinetic (PBPK) models allow estimating persistent organic pollutant lifetime toxicokinetics profiles retrospectively in women, by taking into account individual differences in metabolism and key events that affect OC kinetics such as lactation and weight variations. PBPK models will be applied to the participants of a large French population-based case-control study including 1080 cases and 1055 controls.

Exposure misclassification could have prevented from observing an association between exposure to OCs and breast cancer risk. PBPK models could be used as a novel way of assessing exposure to OC and to investigate the impact of internal exposure at different time windows on breast cancer incidence.

BACKGROUND

Breast cancer is the most frequent neoplastic disease in women representing 50,000 new cases each year in France (1). Moreover, the incidence of the disease has increased regularly over the last decades in most countries and the spread of screening programs does not entirely explain that increase (2). The established risk factors, as those related to hormonal and reproductive factors in women (early menarche, parity, late age at first birth, etc.), obesity in menopausal women or hormone replacement therapy, cannot account for all cases of breast cancer (3). Genetic factors which confer an extremely high risk in mutation carriers, particularly the BRCA1 and BRCA2 genes, are involved in only 5% of all breast cancer cases (4). DNA microarrays used to screen the whole human genome have permitted to identify new alleles related to human breast cancer, but these alleles are associated with a weak relative risk and can explain only a small part of the genetic component of breast cancer (5). These data suggest that other factors, particularly environmental or lifestyle factors, as well as gene-environment interactions may also play a role in breast cancer etiology (6).

The role of environmental factors in breast cancer has been a matter of concern in recent years, as many

environmental pollutants may contribute to breast cancer risk by damaging DNA or by promoting tumor growth. A recent review has identified 216 potential mammary carcinogens in animals (7). Additionally, *in vitro* assays have identified approximately 250 chemicals that mimic or interfere with estrogen metabolism, stimulating the growth of mammary gland cells (8). These chemicals could similarly affect human breast tissue.

Organochlorine compounds (OCs) have attracted particular attention because of their environmental impact and their long half-life in biological tissues. The insecticide dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) and the family of polychlorobiphenyls (PCBs) are the chemicals that have been the most frequently studied in relation to breast cancer. Despite the ban of DDT in France and other European countries in the 1980s (9) and the restriction of PCBs use in the same period (10), they bioaccumulated along the food chain and remain ubiquitous in the environment.

DDT was first used worldwide in 1939 as a control vector of malaria. In the 1960s, it was widely used as an insecticide in agriculture in Western countries. Diet, particularly meat, fish and dairy products, represents today the main source of exposure of the population (11). OCs are detectable in adipose tissues, the primary place where they are stored, but can also be detected in blood (12). While DDT has an estimated half-life of about 4 years in human, the half-life of DDE (1,1-dichloro-2,2-bis(4-chlorophenyl)ethene), the principal metabolite of DDT, is much longer, accounting for its greater concentration in humans (13). For this reason, DDE is used as the main biomarker of exposure to DDT in epidemiological studies.

PCBs include 209 congeners. They were first synthesized in the 1930s. They are particularly stable chemicals and were used in a wide range of applications, including dielectric fluids in transformers and capacitors, heat transfer fluids, and lubricants (10). Review of the literature reveals uncertainty in the estimated half-lives of PCBs (14).

OCs have been suspected to play a role in breast cancer. Several epidemiological studies have investigated breast cancer risk in relation to OCs concentrations measured in blood or in adipose tissue. In this article, we review the studies of DDT/DDE and PCBs in relation to breast cancer. We discuss the relevance of using exposure biomarkers as lifelong exposure indicators, and we describe an innovative method for assessing exposure to OCs that we plan to apply for the first time in a large population-based case-control study on breast cancer.

EPIDEMIOLOGICAL STUDIES ON OCS AND BREAST CANCER RISK

Epidemiological studies on OC concentrations in biological tissues in relation to breast cancer risk include prospective cohort studies and population- or hospital-based case-control studies. In prospective cohort studies, tissue samples of cohort members are collected at initiation of follow-up in healthy women. At the end of follow-up, OC concentrations of women diagnosed with breast cancer are compared to those of controls selected in the cohort among disease-free women (nested case-control study). OC levels are thus

measured in biological samples collected a few years or months before the diagnosis of cancer. In population- or hospital based case-control studies, OC are measured in biological samples that are contemporary to the date of diagnosis.

Figure 1 presents the findings of the studies published since 1993 separately for nested case-control studies and for population- or hospital based case-control studies. It shows the odds ratios (ORs) of breast cancer and the 95% confidence interval for the highest versus the lowest exposure percentile of DDE and PCB concentrations measured in the blood or in adipose tissue.

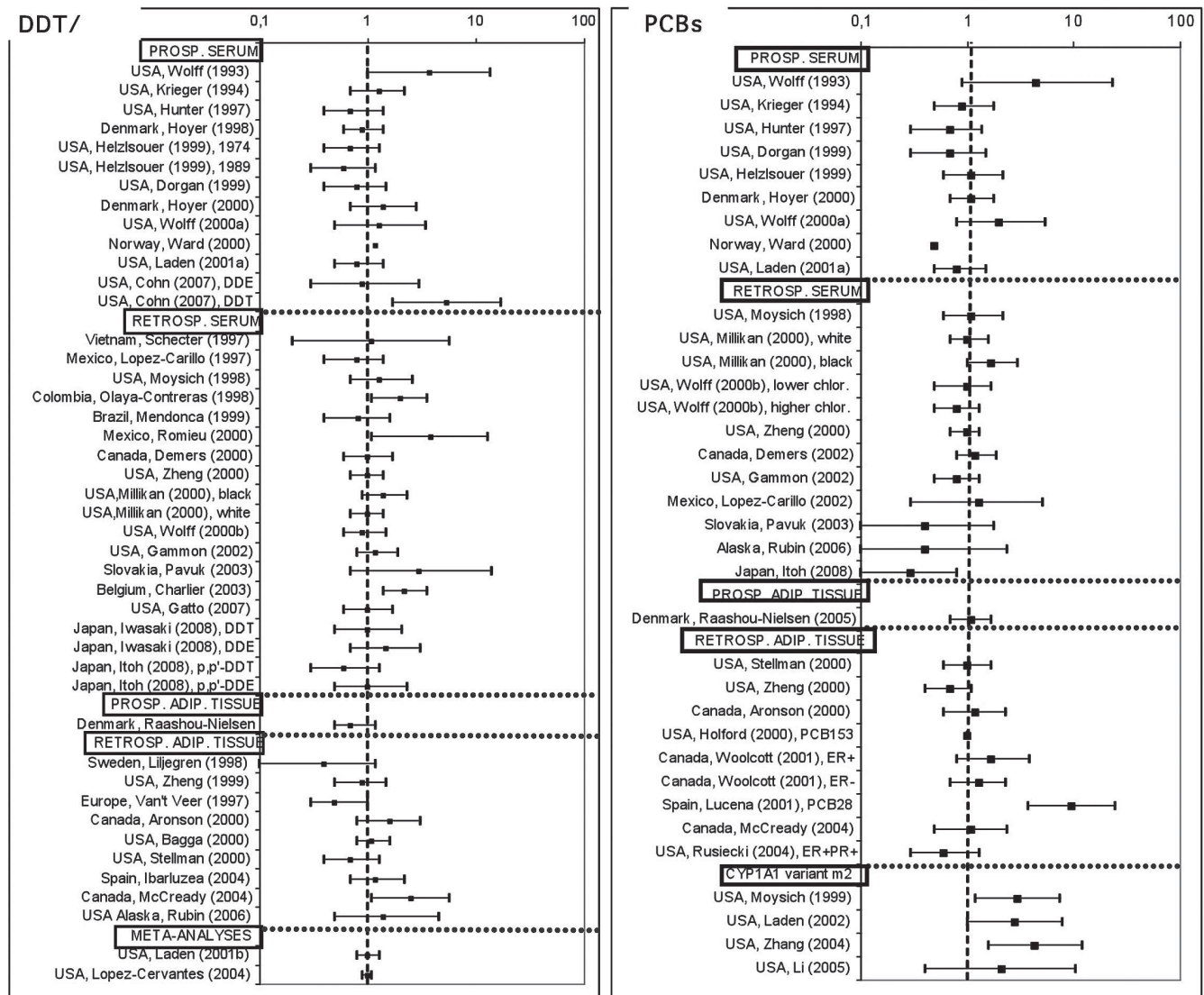


Figure 1: Studies on breast cancer and DDT or PCBs measurements in serum or adipose tissue. OR with 95% confidence interval for DDE/DDT (left) and PCB (right).

PROSP. SERUM: prospective cohort study. Measurements made in serum. RETROSP. SERUM: population- or hospital-based case-control study. Measurements made in serum. PROSP. ADIP. TISSUE: cohort study. Measurements made in adipose tissue. RETROSP. ADIP. TISSUE: population- or hospital-based case-control study. Measurements made in adipose tissue. CYP1A1 variant m2: epidemiological study with stratification on according to polymorphism CYP1A1. ORs in the variant m2 strata.

DDT/DDE: In the early 1990's, Wolff et al. (15) conducted a case-control study nested within the cohort of New York University women and reported a 4-fold increased risk of breast cancer for women in the highest DDE exposure quintile as compared to the women in the lowest quintile (OR=3.68 [1.01-13.50]). Other studies reported an association between DDE/DDT and breast cancer (16,17,18,19), particularly in Colombia (18) and Mexico (19) where DDT was still in use at the time of blood collection as a control vector of malaria or dengue. However, most studies conducted subsequently, did not report an association between OCs concentrations and breast cancer. No association was seen overall or in strata defined by menopausal status, estrogen or progesterone receptor status, or polymorphisms in genes involved in the metabolism of xenobiotics (20,21,22,23,24,25,26,27,28). Meta-analyses (25,26) confirmed the absence of association with a pooled OR of 0.99 [0.77-1.27] in one study (25) and of 0.97 [0.87-1.09] in another (26).

PCBs: There is currently no evidence of an association between PCBs and breast cancer risk. With a few

exceptions where breast cancer was positively (29) or negatively (23) associated with PCBs, studies did not report statistically significant associations of breast cancer with total PCBs, or groups of PCB congeners defined by their chemical activity. Results for individual PCB congeners were inconsistent (30,31). However, four studies (32,33,34,35) reported that PCB levels were associated with breast cancer risk in women carrying a particular polymorphism of the gene encoding the CYP1A1, an enzyme involved in the metabolism of PCBs and other xenobiotics. This possible interaction between PCBs and CYP1A1 is of interest and needs to be replicated in larger studies.

RELEVANCE OF OC MEASUREMENTS IN EPIDEMIOLOGICAL STUDIES

Limitations of OC measurements

The lipid-adjusted levels of DDE in blood reported in epidemiological studies are shown in Figure 2. DDE levels measured in biological media collected since

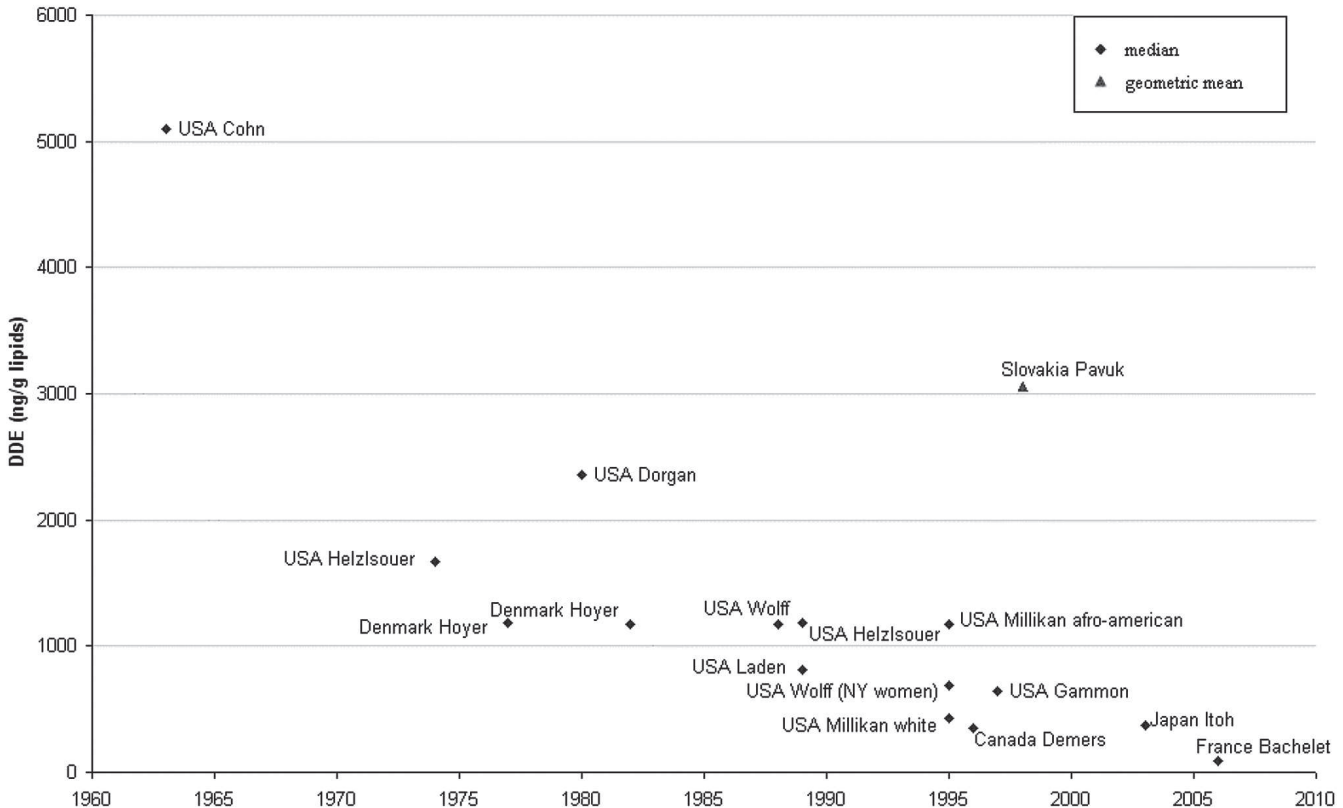


Figure 2: Median DDE concentrations in blood reported in epidemiological studies by mean year of blood draw. Values shown are median or geometric means depending on what was given in the original article.

Only studies that reported lipid-adjusted levels in blood samples were included. Organochlorine levels are not age-adjusted, so some differences by study population could be due to age differences.

the late 1980's are lower by several orders of magnitude than those observed during the 1960's or 1970's. Figure 2 shows that DDE levels were approximately 8 times lower in 1997 (20) than in 1963 (17). These figures demonstrate that current values of OC concentrations cannot be taken as a measure of cumulative exposure over lifetime.

In contrast, epidemiological studies have implicitly assumed that the biological measures of OCs reflect historical lifelong exposures. We believe that this assumption is inadequate, because it has been demonstrated that OC measurements also reflect individual differences in metabolism and key events that affect OC kinetics in the entire lifespan of the women, such as lactation and weight variations (36). In particular the concentrations of OCs observed in recent studies do not simply reflect concentrations earlier in life, but also a potentially large number of events that could affect the current body burden of OCs. As a consequence, the pharmacokinetic variability is a possible cause of non differential exposure misclassification in epidemiological studies, which usually bias the odds ratio toward unity. This limitation may explain that no association of OC measures with breast cancer was observed in the epidemiological studies carried out so far.

Periods of vulnerability

Additionally, measuring OCs in biological sample collected at inclusion in the study do not allow the assessment of internal exposure during critical time windows of a woman's lifetime. Carcinogenesis models highlight the importance of exposure assessment at different critical periods of the mammary gland development where increased susceptibility to carcinogens may occur, such as the perinatal period, the puberty, or the full time-span before the first full-term pregnancy (37). This is exemplified by studies on breast cancer incidence among Japanese atomic bomb survivors exposed to radiations showing that exposure at a lower age has a higher impact on cancer development than exposure at later-life stages (38). A recent study (17) reported that exposure to DDT early in life may increase the risk of breast cancer. High levels of serum DDT were associated with a statistically significant 5-fold increased risk of breast cancer among women who were born after 1931. These women were under 14 years of age in 1945, when DDT came into widespread use, and mostly under 20 years when DDT use peaked.

A NEW APPROACH

Physiologically-based pharmacokinetic modeling of OCs

Verner et al., 2008 (39) developed a physiologically-based pharmacokinetic (PBPK) model that allows characterizing retrospectively the lifetime toxicokinetic profile of internal exposure to persistent organic pollutants. This model permits to characterize OC flow between nine compartments of the human body which represent organs (i.e., adipose tissue, liver, brain, mammary tissue, uterus, placenta, foetus) or lumps of organs (i.e., richly and poorly perfused tissues), as well as excretion through metabolism and lactation. The kinetics of OC is described using mass balance differential equations that integrate information on organ/blood lipid content, organ volume, blood flow to organ, and the log octanol:water (Kow) partition coefficient. Metabolism is assumed to be limited to the liver compartment and defined as an intrinsic clearance calculated with half-life values found in the literature. Loss via lactation is modeled as an extraction from the mammary tissue following breast milk excretion and blood:milk partition coefficient. The dose is set as a direct input in the liver compartment as OCs are assumed to be fully absorbed from the intestinal tract and to undergo first-pass metabolism. Oral dose can be either estimated from information gathered in questionnaires or by an optimization process to match a sampled blood level. The model integrates individualized information on subjects' physiologic profile (i.e., body weight and height as a function of age) and history (i.e., age at pregnancies and duration of breastfeeding periods) to evaluate organ/blood OC levels for any hypothesized period of susceptibility.

Although this model was not validated for women on a period spanning several years, they recently validated the mother-infant transfer of OC through breast milk, a major route of excretion that impacts OC toxicokinetics in women (40).

The CECILE case-control study

The CECILE study is a population-based case-control study that aimed at investigating environmental risk factors of breast cancer. It was conducted in well-defined geographic areas in France (*départements* of Ille-et-Vilaine and Côte d'Or). The cases were women residing in these areas and were diagnosed with invasive or in situ breast cancer during the study period (2005-2007). Histologically confirmed cancer cases

aged between 25 and 75 years at diagnosis were included.

The controls were randomly selected among women of the same age as the cases residing in the same areas, and who never had a breast cancer at the time of inclusion in the study. They were recruited by telephone using a random digit dialing method. If the household included a woman meeting the inclusion criteria, she was invited to take part in the study within the limit of quotas by age and socioeconomic status (SES). To avoid selection bias, the distribution by socioeconomic status (SES) of the control group had to reflect the SES distribution of the study area as a whole, as documented by the population census. After selection, controls were contacted rapidly for an in-person interview and blood draw.

An in-person interview of the cases and the controls was conducted by nurses using a structured questionnaire. Detailed information on hormonal and reproductive factors (age at menarche, reproductive history, menopausal status, contraceptive use, etc.), anthropometric data, personal medical history, family history of cancer, hobbies, residential history, detailed occupational activities and dietary habits were obtained. A blood sample was requested at the end of the interview, and 2135 women (1080 cases and 1055 controls) accepted to give blood. Plasma concentra-

tions of pesticide residues (p,p'-DDT, p,p'-DDE) and PCBs (PCB congeners 28, 52, 101, 118, 153, 138, 180) were measured in these blood samples. The analyses included a measure of total cholesterol and triglycerides in order to standardize OC levels on total lipids. The measurements were carried out in the toxicology laboratory of the Sart-Tilman University Hospital in Liège, Belgium.

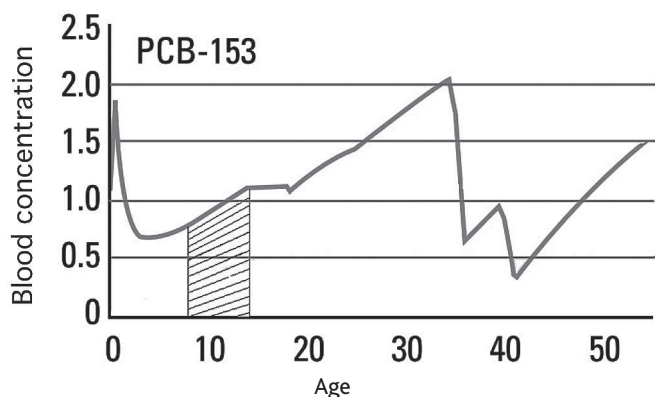
Applying the PBPK models in the CECILE study

The lifelong exposure profile of each participant in the CECILE study is being assessed retrospectively for PCB 153 using the values of PCB 153 measured at the time of sampling. In a first step, PCB 153 was used as it is highly correlated to other PCB congeners.

Information collected in the questionnaire, such as body weight at every decade of life, height, age at deliveries and breastfeeding periods, are integrated in the PBPK modeling to extrapolate individualized physiologic profiles. Information on food contamination by PCBs during different calendar periods was collected from environmental databases and from the scientific literature, and is also integrated in the models.

The uncertainty regarding biological parameters in the PBPK models, as lipid and water fractions, intrinsic clearance, fraction of lipids in breast milk, is taken into account using Monte Carlo analyses. An example of toxicokinetic profile is shown in Figure 3. Areas under the curve (AUC) for different periods will be used as exposure proxy for the PCBs.

Associations between internal exposure and incidence of breast cancer will be tested with hierarchical models of regression using a Bayesian approach to take into account the variability obtained with the Monte Carlo simulations. As an example, Figure 3 shows the AUC for the period between the age of 8 and the age of 14 (AUC8-14). AUC8-14 will be used as an indicator of internal exposure during puberty, a critical exposure window of in breast cancer etiology.



Area under the curve between 8 and 14 (AUC8-14), representing the estimated cumulative exposure between 8 and 14 years old.

Figure 3: Example of a toxicokinetic profile obtained from the PBPK models.

This subject is 55 years old at the time of blood draw. She was breast-fed for 6 months in childhood, was exposed to 18.7 ng/kg/day PCB-153, and had two pregnancies at 35 and 40 years of age followed by 12-month lactation periods.

CONCLUSION

There is a biological plausibility that OCs play a role in breast cancer etiology. However, most epidemiological studies reported no association between OC levels in blood or adipose tissues and breast cancer risk.

Exposure misclassification could have prevented from observing an association between exposure to OCs and breast cancer. We suggest that exposure as-

assessment could be improved by using PBPK models in epidemiological studies.

These PBPK models can be used as a novel way for assessing exposure to OC and investigating the impact of internal exposure during different time windows on the incidence of breast cancer. In this approach, exposure misclassification could be minimized. PBPK models should also allow the study of OC exposure during critical time windows connected to the periods of vulnerability of mammary gland cells to carcinogens.

ACKNOWLEDGEMENTS

The CECILE study was financially supported by grants from the French National Institute of Cancer (INCa : appel à projet 2009 "SHS, Santé publique, Épidémiologie"), the Fondation de France, the French Agency for Environmental and Occupational Health Safety (AFSSET), the French National Research Agency (ANR : 2005 "Santé environnement-santé travail") and the Région Ile-de-France.

We are indebted to Pr. Pierre Kerbrat, Pr. Pierre Fumoleau, Dr. Patrick Arvieux, Dr. Thierry Altweg, Dr. Cécile Bendavid-Athias, Dr. Jérôme Blanchot, Dr. Fabrice Foucher, Dr. Daniel Gedouin, Dr. Brigitte Laguerre, Dr. Claudia Lefeuvre, Pr. Jean Leveque, Dr. Laurent Miglianico, Dr. Sophie Rouquette, Dr. Jean Vialard and Dr. Bernard Weyl.

REFERENCES

- Belot A, Grosclaude P, Bossard N et al. Cancer incidence and mortality in France over the period 1980-2005. *Rev. Epidemiol. Sante Publique* 2008; 56: 159-175.
- Johnson A, Shekhdar J. Breast cancer incidence: what do the figures mean? *J.Eval.Clin Pract.* 2005; 11: 27-31.
- Rockhill B, Weinberg CR, Newman B. Population attributable fraction estimation for established breast cancer risk factors: considering the issues of high prevalence and unmodifiability. *Am.J.Epidemiol.* 1998; 147: 826-833.
- Narod SA. Modifiers of risk of hereditary breast and ovarian cancer. *Nat.Rev.Cancer* 2002; 2: 113-123.
- Easton DF, Pooley KA, Dunning AM et al. Genome-wide association study identifies novel breast cancer susceptibility loci. *Nature* 2007; 447: 1087-1093.
- Brody JG, Rudel RA. Environmental pollutants and breast cancer. *Environ.Health Perspect.* 2003; 111: 1007-1019.
- Rudel RA, Attfield KR, Schifano JN, Brody JG. Chemicals causing mammary gland tumors in animals signal new directions for epidemiology, chemicals testing, and risk assessment for breast cancer prevention. *Cancer* 2007; 109: 2635-2666.
- Soto AM, Sonnenschein C, Chung KL et al. The E-SCREEN assay as a tool to identify estrogens: an update on estrogenic environmental pollutants. *Environ.Health Perspect.* 1995; 103 Suppl 7:113-22: 113-122.
- EFSA. Avis du groupe scientifique CONTAM concernant le DDT en tant que substance indésirable dans l'alimentation animale. 2006; 433: 1-69.
- WHO. Polychlorinated biphenyls: human health aspects. 2003;
- Kutz FW, Wood PH, Bottimore DP. Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in human adipose tissue. *Rev. Environ Contam Toxicol.* 1991; 120: 1-82.
- Rusiecki JA, Matthews A, Sturgeon S et al. A correlation study of organochlorine levels in serum, breast adipose tissue, and gluteal adipose tissue among breast cancer cases in India. *Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev.* 2005; 14: 1113-1124.
- Longnecker MP, Rogan WJ, Lucier G. The human health effects of DDT (dichlorodiphenyltrichloroethane) and PCBS (polychlorinated biphenyls) and an overview of organochlorines in public health. *Annu.Rev.Public Health* 1997; 18: 211-244.
- Shirai JH, Kissel JC. Uncertainty in estimated half-lives of PCBS in humans: impact on exposure assessment. *Sci.Total Environ.* 1996; 187: 199-210.
- Wolff MS, Toniolo PG, Lee EW, Rivera M, Dubin N. Blood levels of organochlorine residues and risk of breast cancer. *J Natl. Cancer Inst.* 1993; 85: 648-652.
- Charlier C, Albert A, Herman P et al. Breast cancer and serum organochlorine residues. *Occup.Environ.Med.* 2003; 60: 348-351.
- Cohn BA, Wolff MS, Cirillo PM, Sholtz RI. DDT and breast cancer in young women: new data on the significance of age at exposure. *Environ.Health Perspect.* 2007; 115: 1406-1414.
- Olaya-Contreras P, Rodriguez-Villamil J, Posso-Valencia HJ, Cortez JE. Organochlorine exposure and breast cancer risk in Colombian women. *Cad.Saude Publica* 1998; 14 Suppl 3: 125-132.
- Romieu I, Hernandez-Avila M, Lazcano-Ponce E, Weber JP, Dewailly E. Breast cancer, lactation history, and serum organochlorines. *Am.J.Epidemiol.* 2000; 152: 363-370.
- Gammon MD, Wolff MS, Neugut AI et al. Environmental toxins and breast cancer on Long Island. II. Organochlorine compound levels in blood. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002; 11: 686-697.
- Gatto NM, Longnecker MP, Press MF et al. Serum organochlorines and breast cancer: a case-control study among African-American women. *Cancer Causes Control* 2007; 18: 29-39.
- Hoyer AP, Grandjean P, Jorgensen T, Brock JW, Hartvig HB. Organochlorine exposure and risk of breast cancer. *Lancet* 1998; 352: 1816-1820.
- Itoh H, Iwasaki M, Hanaoka T et al. Serum organochlorines and breast cancer risk in Japanese women: a case-control study. *Cancer Causes Control* 2008;
- Iwasaki M, Inoue M, Sasazuki S et al. Plasma organochlorine levels and subsequent risk of breast cancer among Japanese women: A nested case-control study. *Sci.Total Environ.* 2008;
- Laden F, Collman G, Iwamoto K et al. 1,1-Dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethylene and polychlorinated biphenyls and breast cancer: combined analysis of five U.S. studies. *J.Natl. Cancer Inst.* 2001; 93: 768-776.
- Lopez-Cervantes M, Torres-Sanchez L, Tobias A, Lopez-Carrillo L. Dichlorodiphenyldichloroethane burden and breast cancer risk: a meta-analysis of the epidemiologic evidence. *Environ.Health Perspect.* 2004; 112: 207-214.
- Raaschou-Nielsen O, Pavuk M, Leblanc A et al. Adipose organochlorine concentrations and risk of breast cancer among post-

- menopausal Danish women. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2005; 14: 67-74.
28. Rubin CH, Lanier A, Kieszak S et al. Breast cancer among Alaska Native women potentially exposed to environmental organochlorine chemicals. *Int. J. Circumpolar. Health* 2006; 65: 18-27.
 29. Lucena RA, Allam MF, Costabeber IH, Villarejo ML, Navajas RF. Breast cancer risk factors: PCB congeners. *Eur. J. Cancer Prev.* 2001; 10: 117-119.
 30. Demers A, Ayotte P, Brisson J et al. Plasma concentrations of polychlorinated biphenyls and the risk of breast cancer: a congener-specific analysis. *Am. J. Epidemiol.* 2002; 155: 629-635.
 31. Holford TR, Zheng T, Mayne ST et al. Joint effects of nine polychlorinated biphenyl (PCB) congeners on breast cancer risk. *Int. J. Epidemiol.* 2000; 29: 975-982.
 32. Laden F, Ishibe N, Hankinson SE et al. Polychlorinated biphenyls, cytochrome P450 1A1, and breast cancer risk in the Nurses' Health Study. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2002; 11: 1560-1565.
 33. Li Y, Millikan RC, Bell DA et al. Polychlorinated biphenyls, cytochrome P450 1A1 (CYP1A1) polymorphisms, and breast cancer risk among African American women and white women in North Carolina: a population-based case-control study. *Breast Cancer Res.* 2005; 7: R12-R18.
 34. Moysich KB, Shields PG, Freudenheim JL et al. Polychlorinated biphenyls, cytochrome P4501A1 polymorphism, and postmenopausal breast cancer risk. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 1999; 8: 41-44.
 35. Zhang Y, Wise JP, Holford TR et al. Serum polychlorinated biphenyls, cytochrome P-450 1A1 polymorphisms, and risk of breast cancer in Connecticut women. *Am. J. Epidemiol.* 2004; 160: 1177-1183.
 36. Wolff MS, Britton JA, Teitelbaum SL et al. Improving Organochlorine Biomarker Models for Cancer Research. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 2005; 14(9):
 37. Trichopoulos D, Lagiou P, Adami HO. Towards an integrated model for breast cancer etiology: the crucial role of the number of mammary tissue-specific stem cells. *Breast Cancer Res.* 2005; 7: 13-17.
 38. Tokunaga M, Land CE, Tokuoka S et al. Incidence of female breast cancer among atomic bomb survivors, 1950-1985. *Radiat. Res.* 1994; 138: 209-223.
 39. Verner MA, Charbonneau M, Lopez-Carrillo L, Haddad S. Physiologically based pharmacokinetic modeling of persistent organic pollutants for lifetime exposure assessment: a new tool in breast cancer epidemiologic studies. *Environ. Health Perspect.* 2008; 116: 886-892.
 40. Verner MA, Ayotte P, Muckel G, Charbonneau M, Haddad S. A physiologically-based pharmacokinetic model for the assessment of infant exposure to persistent organic pollutants in epidemiologic studies. *Environ Health Perspect* 2008; doi:10.1289/ehp.0800047:
 41. Mendonca GA, Eluf-Neto J, Ndrada-Serpa MJ et al. Organochlorines and breast cancer: a case-control study in Brazil. *Int. J. Cancer* 1999; 83: 596-600.
 42. Aronson KJ, Miller AB, Woolcott CG et al. Breast adipose tissue concentrations of polychlorinated biphenyls and other organochlorines and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2000; 9: 55-63.
 43. McCready D, Aronson KJ, Chu W et al. Breast tissue organochlorine levels and metabolic genotypes in relation to breast cancer risk Canada. *Cancer Causes Control* 2004; 15: 399-418.
 44. Woolcott CG, Aronson KJ, Hanna WM et al. Organochlorines and breast cancer risk by receptor status, tumor size, and grade (Canada). *Cancer Causes Control* 2001; 12: 395-404.
 45. Hoyer AP, Jorgensen T, Grandjean P, Hartvig HB. Repeated measurements of organochlorine exposure and breast cancer risk (Denmark). *Cancer Causes Control* 2000; 11: 177-184.
 46. Van't VP, Lobbezoo IE, Martin-Moreno JM et al. DDT (dichophane) and postmenopausal breast cancer in Europe: case-control study. *BMJ* 1997; 315: 81-85.
 47. Lopez-Carrillo L, Blair A, Lopez-Cervantes M et al. Dichlorodiphenyltrichloroethane serum levels and breast cancer risk: a case-control study from Mexico. *Cancer Res.* 1997; 57: 3728-3732.
 48. Ward EM, Schulte P, Grajewski B et al. Serum organochlorine levels and breast cancer: a nested case-control study of Norwegian women. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2000; 9: 1357-1367.
 49. Pavuk M, Cerhan JR, Lynch CF et al. Case-control study of PCBs, other organochlorines and breast cancer in Eastern Slovakia. *J. Expo. Anal. Environ. Epidemiol.* 2003; 13: 267-275.
 50. Ibarluzea J, Fernandez LM, Santa-Marina L. Breast cancer risk and the combined effect of environmental estrogens. *Cancer Causes Control* 2004; 15: 591-600.
 51. Liljegren G, Hardell L, Lindstrom G, Dahl P, Magnuson A. Case-control study on breast cancer and adipose tissue concentrations of congener specific polychlorinated biphenyls, DDE and hexachlorobenzene. *Eur. J. Cancer Prev.* 1998; 7: 135-140.
 52. Bagga D, Anders KH, Wang HJ, Roberts E, Glaspy JA. Organochlorine pesticide content of breast adipose tissue from women with breast cancer and control subjects. *J. Natl. Cancer Inst.* 2000; 92: 750-753.
 53. Dorgan JF, Brock JW, Rothman N et al. Serum organochlorine pesticides and PCBs and breast cancer risk: results from a prospective analysis (USA). *Cancer Causes Control* 1999; 10: 1-11.
 54. Helzlsouer KJ, Alberg AJ, Huang HY et al. Serum concentrations of organochlorine compounds and the subsequent development of breast cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 1999; 8: 525-532.
 55. Hunter DJ, Hankinson SE, Laden F et al. Plasma organochlorine levels and the risk of breast cancer. *N. Engl. J. Med.* 1997; 337: 1253-1258.
 56. Krieger N, Wolff MS, Hiatt RA et al. Breast cancer and serum organochlorines: a prospective study among white, black, and Asian women. *J Natl. Cancer Inst.* 1994; 86: 589-599.
 57. Laden F, Hankinson SE, Wolff MS et al. Plasma organochlorine levels and the risk of breast cancer: an extended follow-up in the Nurses' Health Study. *Int. J. Cancer* 2001; 91: 568-574.
 58. Millikan R, DeVoto E, Duell EJ et al. Dichlorodiphenyldichloroethene, polychlorinated biphenyls, and breast cancer among African-American and white women in North Carolina. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2000; 9: 1233-1240.
 59. Moysich KB, Ambrosone CB, Vena JE et al. Environmental organochlorine exposure and postmenopausal breast cancer risk. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 1998; 7: 181-188.
 60. Stellman SD, Djordjevic MV, Britton JA et al. Breast cancer risk in relation to adipose concentrations of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in Long Island, New York. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2000; 9: 1241-1249.
 61. Wolff MS, Zeleniuch-Jacquotte A, Dubin N, Toniolo P. Risk of breast cancer and organochlorine exposure. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 9: 271-277.
 62. Wolff MS, Berkowitz GS, Brower S et al. Organochlorine exposures and breast cancer risk in New York City women. *Environ. Res.* 2000; 84: 151-161.

63. Zheng T, Holford TR, Mayne ST et al. DDE and DDT in breast adipose tissue and risk of female breast cancer. *Am.J.Epidemiol.* 1999; 150: 453-458.
64. Zheng T, Holford TR, Tessari J et al. Breast cancer risk associated with congeners of polychlorinated biphenyls. *Am.J.Epidemiol.* 2000; 152: 50-58.
65. Schecter A, Toniolo P, Dai LC, Thuy LT, Wolff MS. Blood levels of DDT and breast cancer risk among women living in the north of Vietnam. *Arch.Environ.Contam Toxicol.* 1997; 33: 453-456.



Determinants of serum concentrations of 1,1-dichloro-2,2-bis(*p*-chlorophenyl)ethylene and polychlorinated biphenyls among French women in the CECILE study

Delphine Bachelet^{a,b}, Thérèse Truong^{a,b}, Marc-André Verner^c, Patrick Arveux^d, Pierre Kerbrat^e, Corinne Charlier^f, Chantal Guihenneuc-Jouyaux^{a,g}, Pascal Guénel^{a,b,h,*}

^a Inserm, CESP Center for Research in Epidemiology and Population Health, U 1018, Villejuif, France

^b University Paris-Sud, Inserm UMRS 1018, Villejuif, France

^c TOXEN, Université du Québec à Montréal, Canada

^d Department of Medical Information, Centre Georges-François Leclerc, Dijon, France

^e Department of Medical Oncology, Centre Eugène Marquis, Rennes, France

^f Department of Toxicology, University of Liège, CHU Sart Tilman, Liège, Belgium

^g University Paris Descartes, Lab MAP5, CNRS UMR 8145, Paris, France

^h Institut de Veille Sanitaire (InVS), Saint-Maurice, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 5 October 2010

Received in revised form

31 May 2011

Accepted 1 June 2011

Keywords:

Polychlorinated biphenyls

1,1-dichloro-2,2-bis(*p*-chlorophenyl)ethylene

Serum

Dietary patterns

Body mass index

ABSTRACT

Background: Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) and polychlorinated biphenyls (PCBs) are persistent organochlorine compounds bioaccumulating in human tissues. Body burden of organochlorines may be influenced by individual characteristics such as age, weight variations, breastfeeding, dietary habits and place of residence.

Objectives: To assess the current serum concentrations of 1,1-dichloro-2,2-bis(*p*-chlorophenyl)ethylene (*p,p'*-DDE), the main DDT breakdown product, and of PCBs in women from two French administrative areas (Ille-et-Vilaine and Côte d'Or). To identify determinants of the current serum levels among individual characteristics related to intake, metabolism, and excretion of organochlorines.

Methods: We measured serum *p,p'*-DDE and PCB levels in 1055 general population women who were recruited in 2005–2007 to serve as controls in a case-control study on breast cancer. Associations between organochlorine levels and age, current body mass index (BMI), BMI change during the last 10 years, dietary habits, breastfeeding history, residence area and education were assessed in multivariate analyses.

Results: Median concentrations of *p,p'*-DDE and total PCBs were 85 and 240 ng/g lipid, respectively. Based on multivariate analyses, the main predictors of high *p,p'*-DDE levels included age and frequent consumption of saltwater fish in women below 50 years, and high BMI in older women. Total PCB levels increased markedly with age. Among older women, other important predictors of high PCB levels included frequent consumption of saltwater fish and low BMI. Our results are also suggestive of an inverse association between PCB levels and BMI gain during the last ten years. Women in Côte d'Or had significantly higher PCB levels than women in Ille-et-Vilaine.

Conclusion: The patterns of associations between determinants and serum organochlorine concentrations suggest that human PCB contamination is still ongoing in France. The most important predictors of serum *p,p'*-DDE and PCB concentrations among French women include age, body mass index, dietary habits, and place of residence.

© 2011 Elsevier Inc. All rights reserved.

Abbreviations: BMI, Body mass index; DDE, Dichlorodiphenyldichloroethylene; DDT, Dichlorodiphenyltrichloroethane; HCB, Hexachlorobenzene; *o,p'*-DDE, 1,1-dichloro-2-(*o*-chlorophenyl)-2-(*p*-chlorophenyl)ethylene; *o,p'*-DDT, 1,1,1-trichloro-2-(*o*-chlorophenyl)-2-(*p*-chlorophenyl)ethane; OR, Odds ratio; PCB, Polychlorinated biphenyl; *p,p'*-DDE, 1,1-dichloro-2,2-bis(*p*-chlorophenyl)ethylene; *p,p'*-DDT, 1,1,1-trichloro-2,2-bis(*p*-chlorophenyl)ethane

* Correspondence to: CESP–Inserm UMRS 1018, 16 avenue Paul Vaillant-Couturier, 94807 Villejuif cedex, France. Fax: 33 145595151.

E-mail address: pascal.guenel@inserm.fr (P. Guénel).

1. Introduction

Residues of organochlorine such as dichlorodiphenyldichloroethylene (DDE), the main degradation product of dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT), and polychlorinated biphenyls (PCBs) are persistent environmental contaminants representing a potential threat to human health through contamination of the food chain (EFSA, 2005, 2006). DDT was first used worldwide in 1939

Table 1
Limits of detection (LOD) and distribution of serum concentrations of organochlorines measured among French control women of the CECILE study.

	Women < 50 years (n=357)				Women ≥ 50 years (n=698)				All women (n=1055)				
	Detected	Median	75th perc.	90th perc.	Detected	Median	75th perc.	90th perc.	Detected	Median	75th perc.	90th perc.	
	LOD (µg/L)	n (%)	(ng/g lipid)		n (%)	(ng/g lipid)			n (%)	(ng/g lipid)			
<i>o,p'</i> -DDT	0.12	0 (0)			0 (0)				0 (0)				
<i>p,p'</i> -DDT	0.64	0 (0)			0 (0)				0 (0)				
<i>o,p'</i> -DDE	0.03	0 (0)			0 (0)				0 (0)				
<i>p,p'</i> -DDE	0.51	135 (38)	< LOD	131.4	209	432 (62)	105.9	196.5	345.3	567 (54)	84.8	172.9	295.7
HCB	0.39	1 (0.3)			3 (0.4)				4 (0.4)				
Lindane	0.48	0 (0)			0 (0)				0 (0)				
Heptachlor	0.52	0 (0)			0 (0)				0 (0)				
Heptachlor-epoxyde	0.88	0 (0)			0 (0)				0 (0)				
PCB-28	0.38	0 (0)			0 (0)				0 (0)				
PCB-52	0.07	0 (0)			0 (0)				0 (0)				
PCB-101	0.07	0 (0)			0 (0)				0 (0)				
PCB-118	0.45	0 (0)			4 (0.6)	< LOD	< LOD		4 (0.4)	< LOD	< LOD	< LOD	
PCB-138	0.66	25 (7)	< LOD	< LOD	< LOD	182 (26)	< LOD	79.1	155.7	207 (20)	< LOD	< LOD	136.3
PCB-153	0.50	128 (36)	< LOD	103.0	163.8	496 (71)	106.3	162.3	240.8	624 (59)	88.4	146.5	217.6
PCB-180	0.72	45 (13)	< LOD	< LOD	134.2	194 (28)	< LOD	100.1	173.3	239 (23)	< LOD	162.2	162.2
Total PCB ^a		136 (38)	< LOD	282.0	392.4	504 (72)	252.8	381.5	598.1	640 (61)	239.9	348.5	529.8

perc.: percentile.

^a Total PCBs is the sum of PCB-118, PCB-138, PCB-153 and PCB-180.

for malaria vector control, and as an insecticide in agriculture after World War II. Following its ban in France (Venant and Richou-Bac, 1981) and in most European countries in the 1970s, drastic reduction of DDT residues in human biological tissues has been observed. However, its degradation product DDE still contaminates food of animal origin (EFSA, 2006). PCBs have been synthesized since the 1930s to serve as dielectric fluids in transformers and capacitors, heat transfer fluids and lubricants (WHO, 2003) until their industrial production ceased in 1987 in France (AFSSA, 2007). Due to the use and degradation of PCB-containing materials beyond that date, environmental pollution by PCBs has persisted, as for example in the Rhône River in France (Babut and Miegue, 2007).

Because of their endocrine disrupting properties, organochlorine compounds have been suspected to cause adverse effects on human reproduction or neoplastic diseases (Longnecker et al., 1997). DDT was classified as possibly carcinogenic to humans (group 2B) by the International Agency for Research on Cancer (IARC, 1991). PCBs were classified as probably carcinogenic to humans (group 2A) on the basis of sufficient evidence in experimental animals (IARC, 1987). It is therefore of crucial importance to control the contamination levels of human populations by these chemicals. Many studies were conducted to assess DDT/DDE and PCB body burden in humans, and to identify individual determinants that may influence organochlorine concentrations in serum (Agudo et al., 2009; Glynn et al., 2007, 2003; James et al., 2002; Laden et al., 1999; Moysich et al., 2002; Sweeney et al., 2001; Wolff et al., 2005a, 2005b). Age was found to be a strong predictor of body burden of organochlorines as these compounds bioaccumulate in adipose tissues over time. Food items frequently contaminated by organochlorine compound residues include fish, shellfish, meat, dairy products and eggs (ATSDR, 2000, 2002). DDE levels in human tissues increased with frequent consumption of fish (Sarcinelli et al., 2003) and dairy products (Moysich et al., 2002). PCB levels were found to be associated with the consumption of fish (Agudo et al., 2009; Glynn et al., 2003; Laden et al., 1999; Moysich et al., 2002; Sweeney et al., 2001) and eggs (Laden et al., 1999). The individual characteristics influencing the toxicokinetics of organochlorines are also predictors of concentrations in human tissues. Body mass index (BMI) was

associated with organochlorine concentrations, but this association was either positive (Glynn et al., 2003; Wolff et al., 2005a) or negative (Agudo et al., 2009; James et al., 2002; Sweeney et al., 2001) depending on the study. It was also shown that organochlorine levels declined with breastfeeding and with the number of children nursed, as lactation represents a route of excretion (Rogan et al., 1986). The place of residence was predictive of organochlorine levels in several studies, possibly in relation to varying contamination levels of local foodstuff (Agudo et al., 2009; Glynn et al., 2003; Laden et al., 1999).

In these studies, blood samples used to measure organochlorine residues were collected in 2001 or before. Because of the decreasing trends of *p,p'*-DDE and PCB body burdens over time, new surveys based on more recent blood samples are warranted for surveillance purposes. The objective of the present study was to assess serum organochlorine levels in 1055 women recruited in the general population of two administrative areas in France in 2005–2007 and to characterize the determinants of current *p,p'*-DDE and PCB levels.

2. Material and Methods

2.1. Study population

The study was conducted among control women recruited for a population-based case-control study on breast cancer using serum samples collected between February 2005 and June 2007. The women resided in *Ille-et-Vilaine* and *Côte d'Or*, two administrative areas (*départements*) located in the Western and Eastern part of France, respectively. In the present analysis, we included the 1055 healthy controls age-matched to breast cancer patients recruited among general population women. Controls were selected using a random-digit dialing procedure and quotas by socioeconomic status to reflect the distribution by socioeconomic status of the general female population in each study area. This control group was deemed to be representative of the general population of women in each age strata with regard to serum levels of organochlorines.

2.2. Data collection

All subjects responded to a questionnaire during in-person interviews. We obtained information on socio-demographic characteristics, age at first and last menstruations, age at each full-term pregnancy, duration of breastfeeding, family history of cancer, alcohol drinking, tobacco smoking, history of previous diseases, residential and occupational history, weight and height one year before the interview,

and weight by decade of life since the age of 20. Recent dietary habits were elicited using a food-frequency questionnaire to assess consumption frequency of meat (red meat, pork meat, or poultry), fish (saltwater or freshwater fish), shellfish, eggs and dairy products. We calculated BMI (weight in kilograms/squared height in centimeters), and BMI changes during the last 10 years (current BMI minus BMI during the previous decade of life). Blood draw (30 ml) was obtained from all women at the end of the interview. All subjects signed an informed consent. The study protocol was approved by a local Ethics Committee (CCPPRB Kremlin-Bicêtre, France) in 2005.

2.3. Serum assays

Blood samples were divided into serum and buffy-coat and then stored at -80°C in the Saints-Pères Biological Resources Center (Paris, France). Measurements were carried out at the Toxicology Department of the Sart-Tilman University Hospital (Liège, Belgium) using 2 ml plasma samples.

Serum organochlorine residues were identified and quantified using a gas chromatographic analyzer coupled to an ion trap mass spectrometer detector. Measurements were made for 1,1,1-trichloro-2-(*o*-chlorophenyl)-2-(*p*-chlorophenyl)ethane (*o,p'*-DDT), 1,1,1-trichloro-2,2-bis(*p*-chlorophenyl)ethane (*p,p'*-DDT), 1,1-dichloro-2-(*o*-chlorophenyl)-2-(*p*-chlorophenyl)ethylene (*o,p'*-DDE), 1,1-dichloro-2,2-bis(*p*-chlorophenyl)ethylene (*p,p'*-DDE), hexachlorobenzene (HCB), lindane, heptachlor, heptachlor epoxyde, dieldrin and PCBs 28, 52, 101, 118, 153, 138 and 180 (International Union of Pure and Applied Chemistry) with limits of detection shown in Table 1. Sample preparation included a liquid-liquid extraction followed by a solid phase extraction (Bond Elut Certify). The eluate was evaporated to dryness, reconstituted, and then injected into the gas chromatograph. All solvents were pesticide grade quality. Reference standards of all pesticides were obtained from Cambridge Isotope Laboratories (Andover, MA, USA).

We restricted the analyses to the most frequently detected compounds, *p,p'*-DDE (the main breakdown product of DDT) and total PCBs defined as the sum of the 4 most frequent PCB congeners (PCB 118, 138, 153 and 180). When calculating total PCBs, values below the limit of detection of individual PCBs were replaced by the limit of detection divided by two.

2.4. Statistical analysis

The analyses were conducted separately for women less than 50 years and women above 50 years since the determinants of organochlorine levels differed between these age groups.

The following potential determinants of organochlorine concentrations were investigated: age at blood draw; BMI; BMI gain during the last 10 years; parity; total duration of breastfeeding; and consumption frequency of selected food items (saltwater fish, freshwater fish, shellfish, meat; eggs and dairy products). These variables were considered *a priori* as possible predictors of organochlorine levels based on a literature review. We also included level of education, alcohol drinking (in number of glasses per week), tobacco smoking (in pack-years) and place of residence.

Because of the skewed distribution of *p,p'*-DDE and PCB concentrations, the data were log-transformed. Values below the limit of detection were estimated as the limit of detection divided by two. We expressed the results of organochlorine concentrations in ng/g lipid. Total lipids in $\mu\text{g/L}$ were calculated as triglycerides ($\mu\text{g/L}$) + $2.27 \times \text{cholesterol}$ ($\mu\text{g/L}$) + 0.623 (Phillips et al., 1989).

In the univariate analyses, we calculated the geometric means of *p,p'*-DDE and total PCB concentrations in each class of the determinants. For rarely consumed food items such as freshwater fish or shellfish, as well as for eggs, we defined a group of never or occasional consumers (once a month or less) and a group of regular consumers (2 times per month or more). Consumption frequencies of other food items such as saltwater fish, meat and dairy products were divided into quartiles. Tests for trend were assessed by fitting a regression model using a quantitative variable corresponding to the median value of the organochlorine concentration in each category of the determinant.

To identify the variables that independently predict organochlorine levels in multivariate analyses, a log-linear model could not be used because of the high proportion of values below the detection limit. Instead, we conducted multivariate analyses using the cumulative logit model (Agresti, 2002), where organochlorine levels were treated as categorical ordinal variables. This model is an extension of the usual logistic regression analysis, and can be used when the outcome parameter (i.e. *p,p'*-DDE or PCB levels) is a multilevel ordinal variable Y depending on predictor variables X_i . It describes the odds of a cumulative probability, i.e. the probability of Y to be above or equal to a category k divided by the probability of Y to be below category k . In the model, the regression coefficient β_i for a Δ_i variation in X_i is calculated as follows: $\Delta_i\beta_i = \text{logit}(P(Y \geq k | X_i + \Delta_i)) - \text{logit}(P(Y \geq k | X_i))$. The odds ratio $\text{OR}_i = \exp(\Delta_i\beta_i)$ is the ratio of the odds of the cumulative probabilities at $X_i + \Delta_i$ divided by the odds of the probabilities at X_i .

In the present analysis, the Δ_i variation in X_i was chosen as the interquartile range of X_i (Q3–Q1), except for freshwater fish, shellfish and eggs, where Δ_i variation in consumption frequency was set at “twice per month”. Potential determinants of serum organochlorine levels were included as quantitative continuous variables in the model, as statistical tests did not indicate departure from linearity. Total lipid measurement was also included in the regression model,

as the adjustment produces less bias than the standardization of *p,p'*-DDE and PCB values (Schisterman et al., 2005). The lipid-unadjusted *p,p'*-DDE concentration was included in the model as an ordinal categorical variable in four classes using the limit of detection (0.51 $\mu\text{g/L}$) and the limit of quantification (0.90 $\mu\text{g/L}$) as the first two cut-off points and the median of the values above the limit of quantification as the third cut-off point (2.08 $\mu\text{g/L}$). The lipid-unadjusted PCB levels were divided in four classes. The lower class included women who had no PCB congener detected. Tertiles of the total PCB distribution among women with at least one PCB congener above the limit of detection were used to define the three upper categories (cut-off points at 1.64 and 2.44 $\mu\text{g/L}$).

3. Results

Table 1 shows the percentage of measurements above the limit of detection and the concentration distribution of each organochlorine. The median values of *p,p'*-DDE and total PCBs were 85 and 240 ng/g lipid, respectively. Higher values were observed in women above 50 years of age than in younger women. Organochlorine compounds detected in none or only a few serum samples were discarded from further analyses. It can be seen in Table 2 that total PCBs were strongly correlated with PCB-153 ($r=0.925$), the most frequently detected congener. The correlation between *p,p'*-DDE and total PCBs was 0.546.

3.1. *p,p'*-DDE

In the univariate analyses (Table 3), *p,p'*-DDE increased regularly with age. Concentrations ranged from 51.9 ng/g lipid in women below 30 years to 131.3 ng/g lipid in women aged 70 years or older. BMI gain during the last 10 years and alcohol consumption were associated with decreased *p,p'*-DDE levels in women less than 50 years old.

In the multivariate analysis (Table 4), we tested the independent effect of each predictor variable on the *p,p'*-DDE concentrations. The OR for an increment of 10 years of age was 2.36 in women below 50 years (i.e. the probability of being in a higher *p,p'*-DDE category is multiplied by 2.36 for each increase of 10 years of age). In these women, the *p,p'*-DDE concentration increased with consumption of saltwater fish (OR=1.24 for each increment of once per week) but decreased with consumption of dairy products (OR=0.76 for each increment of once per day). Alcohol consumption was not significantly associated with *p,p'*-DDE in the multivariate analysis and a borderline significant inverse association was found between tobacco consumption and *p,p'*-DDE (OR=0.88 per 5 pack-years).

Among older women, an increase of shellfish consumption of twice per month was associated with an OR of 0.91. *p,p'*-DDE levels were positively associated with BMI (OR=1.39 for each increment of 6 kg/m^2), and there was some indication of an inverse association of *p,p'*-DDE with BMI gain during the last 10 years (OR=0.91 per increment of 2 kg/m^2), although it did not reach the level of statistical significance ($p=0.11$).

Table 2

Spearman partial correlation coefficients adjusted for age between *p,p'*-DDE, PCB138, PCB153, PCB180 and total PCBs measured in 1055 women from the CECILE study ^a.

	<i>p,p'</i> -DDE	PCB138	PCB153	PCB180	Total PCBs
<i>p,p'</i> -DDE	1	0.464	0.557	0.364	0.546
PCB138		1	0.575	0.735	0.744
PCB153			1	0.579	0.925
PCB180				1	0.780
Total PCBs					1

All correlation coefficients were statistically significant at $p < 0.0001$.

^a Values below the limit of detection are replaced by the limit of detection divided by two.

Table 3
Geometric means (GM) and geometric standard deviation (GSD) of *p,p'*-DDE levels by category of organochlorine determinants among women of the CECILE study.

Women < 50 years (n=357)					Women ≥ 50 years (n=698)				
	n	GM ^a	GSD	p-trend		n	GM ^a	GSD	p-trend
Age (years)									
< 30	11	51.9	1.47	0.04	50–59	319	93.2	2.34	0.004
30–39	104	68.6	2.05		60–69	280	102.1	2.70	
40–49	242	77.3	2.12		≥ 70	99	131.3	2.63	
Saltwater fish (times per week)									
< 1	89	72.8	2.06	0.29		127	97.0	2.52	0.91
1	148	72.1	2.13			208	104.3	2.66	
2	82	72.5	1.92			219	102.3	2.58	
> 2	38	86.9	2.33			144	100.2	2.34	
Freshwater fish (times per month)									
< 2	318	74.0	2.11	0.87		636	100.3	2.51	0.30
≥ 2	39	72.5	1.92			62	114.2	2.79	
Shellfish(times per month)									
< 2	203	73.1	2.09	0.78		386	107.1	2.57	0.09
≥ 2	154	74.7	2.09			312	95.0	2.49	
Meat (times per week)									
≤ 3	46	80.7	2.52	0.19		129	105.2	2.60	0.49
4–6	130	76.1	2.09			302	102.6	2.61	
7	66	72.5	2.06			97	98.6	2.47	
> 7	115	69.5	1.93			170	98.5	2.41	
Eggs (times per month)									
< 2	45	68.1	1.97	0.44		109	89.5	2.49	0.12
≥ 2	312	74.6	2.10			589	103.9	2.55	
Dairy products (times per day)									
< 1	48	82.9	2.16	0.74		162	103.0	2.50	0.53
1	76	69.0	2.03			125	101.5	2.60	
2	100	82.8	2.28			185	105.2	2.49	
> 2	133	67.4	1.92			226	97.5	2.59	
BMI (kg/m²)									
< 18.5	8	98.3	3.07	0.70		16	62.0	2.29	0.14
18.5–24.9	232	71.6	2.11			358	97.3	2.52	
25.0–29.9	80	75.4	1.91			217	112.8	2.46	
≥ 30	36	77.4	2.12			106	104.4	2.73	
BMI gain during last 10 years (kg/m²)									
< 0	60	88.5	2.27	0.02		99	115.8	2.57	0.42
0–1.32	145	76.7	2.16			278	102.2	2.56	
≥ 1.33	144	66.5	1.91			276	97.9	2.52	
Breastfeeding (weeks)									
< 12	242	74.8	2.18	0.35		512	100.6	2.53	0.18
12–52	90	74.1	1.92			143	97.9	2.52	
> 52	25	63.8	1.77			43	127.7	2.66	
Parity (children)									
0	31	68.4	2.65	0.63		42	82.5	2.43	0.37
1–2	179	77.0	2.04			319	104.4	2.58	
≥ 3	147	70.4	2.01			337	101.9	2.51	
Education level									
Graduate	154	77.1	2.08	0.33		458	104.0	2.61	0.33
Not graduate	203	71.4	2.09			240	96.8	2.40	
Alcohol drinking (glasses per week)									
0	69	74.1	2.18	0.02		151	104.7	2.52	0.78
≤ 2	179	80.6	2.10			350	99.1	2.56	
> 2	109	63.7	1.96			197	103.3	2.53	
Tobacco smoking (pack-years)									
0	155	77.9	2.22	0.17		490	102.5	2.55	0.75
< 8.4	95	73.6	1.92			109	98.8	2.38	
≥ 8.4	107	68.4	2.04			98	98.6	2.70	
Study area (département)									
Côte d'Or	122	80.1	2.21	0.13		246	107.5	2.52	0.23
Ille-et-Vilaine	235	70.7	2.02			452	98.3	2.55	

GM, geometric mean GSD, geometric standard deviation.

^a Values below the limit of detection are replaced by the limit of detection divided by two.

Table 4Odds ratios from multivariate ordinal regression associated with determinants of *p,p'*-DDE levels among women of the CECILE study.

	Δ variation or category ^a	Women < 50 years (n=348)		Women ≥ 50 years (n=653)	
		OR ^b	95% IC	OR ^b	95% IC
Age	10 years	2.36	[1.49–3.75]	1.08	[0.98–1.19]
Saltwater fish	Once per week	1.24	[1.00–1.52]	1.09	[0.97–1.24]
Freshwater fish	Twice per month	1.05	[0.75–1.48]	1.05	[0.85–1.31]
Shellfish	Twice per month	1.02	[0.88–1.20]	0.91	[0.83–0.99]
Meat	3 times per week	1.06	[0.83–1.35]	0.96	[0.82–1.13]
Eggs	Twice per month	0.97	[0.87–1.08]	1.04	[0.95–1.14]
Dairy products	Once per day	0.76	[0.57–1.01]	0.98	[0.83–1.16]
BMI	6 kg/m ²	1.18	[0.85–1.65]	1.39	[1.13–1.70]
BMI gain during last 10 years	2 kg/m ²	0.89	[0.74–1.07]	0.91	[0.81–1.02]
Breastfeeding	10 weeks	1.01	[0.93–1.10]	1.00	[0.94–1.06]
Parity	1 child	0.96	[0.77–1.19]	1.08	[0.97–1.22]
Education level	Graduate vs. not graduate (ref)	0.78	[0.48–1.26]	1.12	[0.81–1.54]
Alcohol drinking	4 glasses/week	0.79	[0.60–1.04]	1.04	[0.97–1.12]
Tobacco smoking	5 pack-years	0.88	[0.78–1.01]	0.99	[0.93–1.06]
Study area	Côte d'Or vs Ille-et-Vilaine (ref)	0.90	[0.54–1.52]	1.21	[0.88–1.68]

^a For quantitative variables the Δ variation represents the interquartile range (Q3–Q1); for consumption frequency of freshwater fish, shellfish and eggs, the Δ variation was set at “twice per month”. For categorical variables the ORs are calculated using “not graduate” as a reference category for education level and “Ille-et-Vilaine” as a reference category for study area.

^b OR: odds ratio. The probability of being in a higher *p,p'*-DDE category is multiplied by the OR for each increase of Δ of the determinant variable.

No association was detected between *p,p'*-DDE levels and breastfeeding, parity, education and study area.

3.2. PCBs

Total PCB concentrations rose with age from 213.2 ng/g lipid in women aged less than 30 years to 325.0 ng/g lipid in women aged 70 years and more (Table 5). Among women aged less than 50 years, total PCBs levels decreased with frequency of meat consumption, BMI and BMI gain during the last 10 years. Women residing in Côte d'Or had 12% higher levels of PCBs than women residing in Ille-et-Vilaine. Among older women, PCBs also decreased with BMI and BMI gain during the last 10 years.

Among women below 50 years, the multivariate analysis showed that age had a strong effect on PCB concentrations (OR=3.21 for an increase of 10 years of age) (Table 6). In this age group, PCB levels were negatively associated with consumption of dairy products (OR=0.71 for an increase of once per day). There was also some indication of a decreasing trend of PCBs with BMI gain during the last 10 years (OR=0.82 per increment of 2 kg/m²). An inverse association with the duration of breastfeeding was also suggested (OR=0.90 for an increase of 10 weeks of breastfeeding).

Among older women, PCB concentrations were also influenced by age (OR=1.29 for each increase of 10 years of age). Total PCB concentrations were associated with increasing frequency of saltwater fish consumption (OR=1.16 for an increase of once per week). They were negatively associated with BMI (OR=0.82 for an increase of 6 kg/m²) and with BMI gain during the last 10 years (OR=0.88 for each increment of 2 kg/m²). PCB levels increased slightly with alcohol consumption (OR=1.09 for each increase of 4 glasses per week).

Whatever the age group, no association was observed with parity, education or tobacco smoking. Women in Côte d'Or had higher PCB concentrations than women in Ille-et-Vilaine.

4. Discussion

We studied serum levels of *p,p'*-DDE and PCBs measured in 2005–2007 and their determinants in a large sample of French women. As a result of the general decline of the contamination by organochlorine compounds in the environment, the levels were

lower than those formerly reported in Western populations. Predictors of serum organochlorine concentrations included age, dietary consumption of certain food items as well as factors influencing organochlorine toxicokinetics such as BMI.

4.1. Study strengths and limitations

This study was based on measurements of *p,p'*-DDE and PCBs in 1055 healthy women recruited to serve as controls in a case-control study on breast cancer. This large sample of French women recruited in two areas in Western and Eastern France can be regarded as representative of women of the same age with regard to organochlorine levels.

We conducted stratified analyses by age group (< 50 years; ≥ 50 years) used as a proxy for menopausal status. Menopausal status may influence the metabolism or storage parameters of organochlorine compounds in fat (Poehlman et al., 1995), and may modify the associations with the determinants of interest. Furthermore, determinants like parity or breastfeeding may have short-term effects on organochlorine levels in women of reproductive age that could be more likely detected among pre-menopausal women.

The use of the self-reported weight history or of a food-frequency questionnaire may have led to measurement errors. However, misclassification errors were non-differential, as reporting weight history or consumption of specific food items did not depend on organochlorine levels, and were unlikely to result in false positive associations between organochlorine levels and their determinants. Other questionnaire information such as parity or breastfeeding was less prone to reporting errors.

The use of a multivariate model to assess the role of each determinant on organochlorine levels, while controlling for the influence of the others, is an important strength of the study. The cumulative logit model allowed assessing the independent effects of variables that may be correlated with each other, such as current BMI and weight gain during the last 10 years, or parity and breastfeeding. It also allowed grouping women below the limit of detection for measuring organochlorine in a separate category without assumption about the distribution of values below that limit. Other approaches were considered, such as imputation methods and Tobit regression (Lubin et al., 2004), but implied further assumptions about distribution of organochlorine concentrations and were not used.

Table 5
Geometric means (GM) and geometric standard deviation (GSD) of PCB levels by category of organochlorine determinants among women of the CECILE study.

Women < 50 years (n=357)					Women ≥ 50 years (n=698)				
	n	GM ^a	GSD	p-trend		n	GM ^a	GSD	p-trend
Age (years)									
< 30	11	213.2	1.14	0.21	50–59	319	259.4	1.54	< 0.0001
30–39	104	239.2	1.41		60–69	280	293.1	1.77	
40–49	242	246.5	1.44		≥ 70	99	325.0	1.71	
Saltwater fish (times per week)									
< 1	89	241.7	1.45	0.30		127	269.9	1.60	0.20
1	148	237.2	1.40			208	277.9	1.72	
2	82	253.5	1.48			219	285.1	1.66	
> 2	38	249.2	1.37			144	290.8	1.69	
Freshwater fish (times per month)									
< 2	318	242.2	1.43	0.51		636	280.1	1.67	0.50
≥ 2	39	252.1	1.37			62	293.2	1.67	
Shellfish (times per month)									
< 2	203	244.6	1.44	0.74		386	287.0	1.67	0.25
≥ 2	154	241.6	1.41			312	274.4	1.67	
Meat (times per week)									
≤ 3	46	250.2	1.47	0.04		129	278.8	1.64	0.72
4–6	130	253.7	1.49			302	286.3	1.69	
7	66	245.9	1.43			97	283.0	1.69	
> 7	115	227.9	1.32			170	273.3	1.65	
Eggs (times per month)									
< 2	45	228.0	1.44	0.19		109	281.5	1.62	0.99
≥ 2	312	245.5	1.42			589	281.2	1.68	
Dairy products (times per day)									
< 1	48	236.6	1.36	0.90		162	301.1	1.67	0.12
1	76	239.7	1.44			125	277.4	1.71	
2	100	264.0	1.47			185	283.1	1.69	
> 2	133	233.0	1.39			226	269.3	1.63	
BMI (kg/m²)									
< 18.5	8	269.2	1.65	0.006		16	378.4	1.82	0.01
18.5–24.9	232	250.8	1.44			358	292.8	1.65	
25.0–29.9	80	230.0	1.32			217	272.3	1.64	
≥ 30	36	219.6	1.48			106	253.8	1.74	
BMI gain during last 10 years (kg/m²)									
< 0	60	264.9	1.41	0.001		99	314.5	1.7	0.001
0–1.32	145	251.7	1.49			278	296.7	1.68	
≥ 1.33	144	226.7	1.35			276	262.1	1.64	
Breastfeeding (weeks)									
< 12	242	242.7	1.44	0.33		512	279.9	1.67	0.44
12–52	90	252.5	1.44			143	280.8	1.66	
> 52	25	217.3	1.24			43	299.6	1.72	
Parity (children)									
0	31	221.4	1.34	0.49		42	270.6	1.52	0.44
1–2	179	247.8	1.45			319	278.5	1.67	
≥ 3	147	241.8	1.41			337	285.7	1.69	
Education level									
Graduate	154	243.2	1.40	0.99		458	286.1	1.70	0.22
Not graduate	203	243.3	1.44			240	272.2	1.61	
Alcohol drinking (glasses per week)									
0	69	238.2	1.43	0.87		151	275.0	1.65	0.09
≤ 2	179	246.4	1.45			350	275.7	1.64	
> 2	109	241.3	1.39			197	296.4	1.73	
Tobacco smoking (pack-years)									
0	155	243.5	1.40	0.09		490	286.9	1.69	0.14
< 8.4	95	259.9	1.46			109	274.6	1.55	
≥ 8.4	107	229.0	1.41			98	261.9	1.70	
Study area (département)									
Côte d'Or	122	264.9	1.47	0.001		246	289.7	1.66	0.26
Ille-et-Vilaine	235	232.7	1.39			452	276.8	1.67	

GM, geometric mean; GSD, geometric standard deviation.

^a Values below the limit of detection are replaced by the limit of detection divided by two.

Table 6
OR from multivariate ordinal regression associated with determinants of PCB levels among women of the CECILE study.

	Δ variation or category ^a	Women < 50 years (n=348)		Women ≥ 50 years (n=653)	
		OR ^b	95% IC	OR ^b	95% IC
Age	10 years	3.21	[1.91–5.40]	1.29	[1.13–1.46]
Saltwater fish	Once per week	1.15	[0.93–1.42]	1.16	[1.02–1.32]
Freshwater fish	Twice per month	1.16	[0.83–1.61]	1.01	[0.81–1.26]
Shellfish	Twice per month	1.04	[0.89–1.23]	0.93	[0.86–1.01]
Meat	3 times per week	0.80	[0.62–1.04]	0.99	[0.84–1.16]
Eggs	Twice per month	1.03	[0.92–1.14]	0.98	[0.89–1.08]
Dairy products	Once per day	0.71	[0.53–0.96]	0.95	[0.80–1.13]
BMI	6 kg/m ²	0.75	[0.52–1.09]	0.82	[0.67–1.00]
BMI gain during last 10 years	2 kg/m ²	0.82	[0.67–1.01]	0.88	[0.79–0.99]
Breastfeeding	10 weeks	0.90	[0.80–1.01]	0.99	[0.93–1.06]
Parity	1 child	1.14	[0.90–1.44]	1.05	[0.93–1.18]
Education level	Graduate vs. not graduate (ref)	0.72	[0.44–1.19]	0.96	[0.70–1.33]
Alcohol drinking	4 glasses/week	0.94	[0.78–1.12]	1.09	[1.01–1.18]
Tobacco smoking	5 pack-years	0.93	[0.73–1.20]	0.97	[0.91–1.03]
Study area	Côte d'Or vs Ille-et-Vilaine (ref)	1.79	[1.06–3.01]	1.42	[1.02–1.97]

^a For quantitative variables the Δ variation represents the interquartile range (Q3–Q1); for consumption frequency of freshwater fish, shellfish and eggs, the Δ variation was set at “twice per month”. For categorical variables the ORs are calculated using “not graduate” as a reference category for education level and “Ille-et-Vilaine” as a reference category for study area.

^b OR: odds ratio. The probability of being in a higher PCB category is multiplied by the OR for each increase of Δ of the determinant variable.

4.2. Determinants of serum *p,p'*-DDE levels

The median *p,p'*-DDE serum concentration of 85 ng/g lipid observed in our study is far below the median value of 5100 ng/g lipid among US women in 1959–1967 (Cohn et al., 2007), a period when DDT was still in use. Two more recent US studies conducted in 1996–1997 reported decreased values of approximately 650 ng/g lipid (Gammon et al., 2002; Wolff et al., 2005a), and the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) conducted in 2003–2004 reported a geometric mean of *p,p'*-DDE serum concentration among US women of 241 ng/g lipid (Centers for Disease Control and Prevention, 2009), a higher value than in the present investigation conducted in 2005–2007. A previous survey in France in 1978 reported mean DDE of 1170 ng/g in adipose tissues (Anger et al., 1978). The dramatic decrease of the contamination in biological tissues is in line with the decreasing levels in the environment observed since the 1970s when the use of DDT was banned in most Western countries.

We found that current *p,p'*-DDE concentrations increased linearly with age, and were 2.5 times higher in women > 70 years than in women ≤ 30 years. Besides the effect of age related to bioaccumulation of organochlorine compounds over the lifetime (Glynn et al., 2003), this trend may also reflect a birth cohort effect, as exposures due to contaminated foodstuff peaked until the ban of DDT in the 1970s, and decreased afterwards.

Diet is the main route of absorption of DDT and its breakdown products (ATSDR, 2002). According to the European Food Safety Agency, fish is the most highly contaminated foodstuff. Total dietary intake of DDT and its related compounds began to decline in the late 1960s in the USA (Wolff et al., 2005a). In Europe, the contamination of fish (UNEP, 2002) and meat (Glynn et al., 2000) also decreased over time. The increase of the serum concentrations of *p,p'*-DDE in relation to frequency of saltwater fish consumption among younger women in our study suggests that contamination of fish by *p,p'*-DDE is still ongoing in France. The inverse association with the dairy products among younger women was unexpected but it was not confirmed in further analysis where breast cancer cases of our case-control study were combined to the controls (data not shown), and may be chance finding.

We found that serum *p,p'*-DDE levels increased with increasing BMI. This result contrasts with early studies conducted in the 1960s reporting that *p,p'*-DDE levels decreased when BMI increased (James

et al., 2002), but is in line with more recent studies conducted since the 1990s (Glynn et al., 2003, 2007; Laden et al., 1999; Wolff et al., 2005a). Discrepancies between studies may be explained by the toxicokinetic model proposed by Wolff et al. (2007) where it is postulated that (i) during the 1960s, when DDT uptake and absorption was high, DDT/DDE dilution in adipose tissues resulted in an inverse association between *p,p'*-DDE levels and BMI; and (ii) in more recent periods, intake of DDT/DDE tended to be negligible as the environmental contamination by DDT/DDE decreased and as these compounds were gradually removed from the diet. Because DDT/DDE body burden trapped in adipose tissues is released slowly, *p,p'*-DDE concentrations decreased more rapidly in normal weight than in overweight women, finally resulting in a positive association between *p,p'*-DDE and BMI.

We also observed that the serum concentrations of *p,p'*-DDE were lower in women with higher BMI gain during the last 10 years among younger women. This decreasing trend did not reach statistical significance in multivariate analyses. This suggested association could be explained by a greater dilution of organochlorines in body fat as weight increases over time. Accordingly, weight loss during the last 10 years resulted in increased serum *p,p'*-DDE levels due to release of organochlorines from body fat into the bloodstream (Pelletier et al., 2002).

Breastfeeding is the primary route of organochlorine excretion (Rogan et al., 1986; Vo et al., 2008) and is thus expected to decrease the body burden of *p,p'*-DDE. In our sample, breastfeeding did not modify serum *p,p'*-DDE levels. It can be postulated that the decrease in *p,p'*-DDE concentrations is apparent only during a short-term period after breastfeeding. Hence history of breastfeeding may not be a good predictor of serum levels several years after lactation.

There was also some indication of an inverse association with tobacco smoking. Tobacco smoke may induce enzymes involved in the metabolism of organochlorine compounds (Ayotte et al., 2005) that may have led to the observed negative association. Alcohol drinking and residence area were not found to be predictive of *p,p'*-DDE levels.

4.3. Determinants of serum PCB concentrations

The analyses were based on total PCBs consisting of the sum of 4 congeners (118, 138, 153 and 180) among the 7 PCB congeners

usually monitored to assess exposure in Europe (EFSA, 2005). PCBs 28, 52, and 101 were detected in none of the women. PCB-153 was by far the main congener detected, with a median concentration of 88 ng/g lipid. Other exposure surveys reported median serum concentrations of PCB-153 of 182.6 ng/g lipid (Agudo et al., 2009) in Spain in the 1990s, 41 ng/g lipid in UK in 2003 (Thomas et al., 2006), 155 ng/g lipid in France in 2003 (Marchand et al., 2004) indicating variations by time and place within Europe. The mean concentration of PCB-153 was 19.7 ng/g lipid in 2003–2004 in US women from the National Health and Nutrition Examination Survey (Centers for Disease Control and Prevention, 2009). Although the mean age of NHANES women was lower than in the present investigation, these values point to a higher level of contamination of French women by PCB-153.

Age was strongly predictive of PCB levels. The mean serum level of total PCBs was 1.5 times higher in women aged 70 years and more than in women below 30 years old. This result can be interpreted as an effect of the age itself, i.e. accumulation over time of PCBs in women's adipose tissues, and as a birth cohort effect since women born before 1960 used to live in a period of high environmental exposure and had higher PCB uptake during childhood, adolescence and early adulthood than younger women.

Diet is the most important source of PCB intake, with fish, meat and dairy products being the most contaminated foodstuffs (AFSSA, 2007). It was reported that the daily dietary intake of 6 non-dioxin-like PCB congeners (28, 52, 101, 138, 153, and 180) in France was 7.7 ng/kg body weight per day in 2002–2006 (Arnich et al., 2009). We found that among older women frequent consumers of saltwater fish had increased PCB levels. Previous studies reported elevated PCB levels in populations exposed to contaminated fish, such as sport-caught fish consumers or Native Americans in reservations in the Great Lakes region (Hanrahan et al., 1999; Schaeffer et al., 2006) or consumers of fatty fish of the Baltic sea in Sweden and Latvia (Sjodin et al., 2000). Other studies using a food-frequency questionnaire to assess fish consumption also reported an association with serum PCB levels (Agudo et al., 2009; Glynn et al., 2003; Laden et al., 1999; Moysich et al., 2002; Paris-Pombo et al., 2003; Sarcinelli et al., 2003). Our findings of increased PCB levels among frequent fish consumers raise concerns about the persistence of dietary contamination by PCBs in France, and bring to mind recent reports on environmental contamination by PCBs of fish and sediments in French rivers (Babut and Miege, 2007; Meunier, 2008). As for *p,p'*-DDE, the inverse association between PCBs and dairy product among younger women is intriguing, but already reported in another recent study in Denmark (Brauner et al., 2011). Women with a higher consumption of dairy products may have a specific dietary pattern with less contamination by organochlorine.

We found that total PCB concentrations decreased as the BMI increased, and the trend was statistically significant in women aged 50 years and more. The greater dilution in fat of PCB body burden in overweight women as compared to leaner women, may explain this finding. It contrasts with the association in the opposite direction observed for *p,p'*-DDE in our study. As explained earlier (Wolff et al., 2007), overweight persons eliminate organochlorines more slowly than normal weight individuals, and retain PCB body burden for longer periods after the decline or cessation of exposure. The positive association reported between *p,p'*-DDE and BMI can thus be seen as a consequence of the decline of environmental exposure to DDT/DDE. On the contrary, the negative association of total PCBs with BMI suggests that the absorption of PCBs from environmental sources is still ongoing. This observation is consistent with persistent environmental contaminations by PCBs in France.

Weight gain during the last 10 years was associated with decreased PCB levels, and weight loss was associated with increased

levels. The effect of weight variation was independent of the effect of current BMI in the multivariate model among older women. These findings are consistent with a dilution (weight gain) or concentration (weight loss) of PCB body burden in adipose tissues (Hue et al., 2006; Lim et al., 2010; Pelletier et al., 2002).

PCB levels were negatively associated with duration of breastfeeding among women below 50 years, although at the limit of statistical significance ($p=0.07$), but this association was not apparent in older women. A negative association may reflect the excretion of PCB during lactation (Jensen, 1983) and confirms reports from previous studies (Moysich et al., 2002; Vo et al., 2008). The reduction of serum PCB levels may only be apparent for a limited time after cessation of breastfeeding, thus explaining the absence of an association in women older than 50 years.

Women living in *Côte d'Or*, an area located in Eastern France, had higher serum PCB concentrations than women in *Ille-et-Vilaine* in the Western part of the country. The difference was statistically significant in the multivariate models for both age groups. Despite the ban of PCB production and use since 1987, the pollution of rivers by PCBs of industrial origin is still a matter of concern in France, as observed for the Rhône river (Babut and Miege, 2007; Meunier, 2008). Interestingly, measurements of PCBs in fluvial sediments ranged from 0 to 10 µg/kg dry weight in *Ille-et-Vilaine*, whereas concentrations above 401 µg/kg were observed in *Côte d'Or* in a survey carried out in 2000–2005 (Ministère de l'écologie, 2007), suggesting that differences in serum levels between women in these areas may reflect differences in environmental contamination.

Unexpectedly, we observed a slight positive association between PCB concentrations and alcohol consumption among older women, whereas PCB levels did not vary according to education or tobacco consumption, as reported by others (Apostoli et al., 2005; Sala et al., 1999; Sandanger et al., 2007).

4.4. Conclusion

Due to decline of DDT and PCBs in the environment, mean levels of organochlorines reported in this study were low in comparison with previous investigations. However, DDE and PCBs remain widespread environmental contaminants with fish being a persistent source of human exposure. The patterns of associations of BMI with organochlorine suggest that the downward trend of body burden and environmental contamination is in a more advanced stage for DDE than for PCBs. Our data show that DDT/DDE and PCB levels measured in 2005–2007 in French women are influenced by age, saltwater fish consumption, BMI and place of residence and suggest a role of breastfeeding history and variations in BMI over time. Epidemiological studies on the relation between organochlorine exposure and breast cancer risk have often used serum concentrations of organochlorine measured close to the time of cancer diagnosis as a proxy for cumulative lifelong exposure. Our findings, however, indicate that organochlorine levels of a woman may also reflect time-varying characteristics that need to be closely scrutinized in these studies.

Conflicts of interest

None to declare. The funding sources had no involvement in the study (design, analysis, interpretation, writing, decision to submit the paper).

Acknowledgments and grant information

The CECILE study was supported by grants from the French National Institute of Cancer (INCa), the Fondation de France, the French Agency for Environmental and Occupational Health Safety

(AFSSET), the French National Research Agency (ANR), the Health Environment Toxicology program (SenT) of Région Ile-de-France, the Ligue contre le Cancer (Région Grand Ouest).

References

- AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments), 2007. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'établissement de teneurs maximales pertinentes en polychlorobiphényles qui ne sont pas de type dioxine (PCB « non dioxin-like », PCB-NDL) dans divers aliments. Saisine n°2006-SA-0305. Maisons-Alfort, France.
- Agresti, A., 2002. Logit models for multinomial responses, *Categorical Data Analysis* second ed. John Wiley & Sons, pp. 267–313.
- Agudo, A., Goni, F., Etxeandia, A., Vives, A., Millan, E., Lopez, R., et al., 2009. Polychlorinated biphenyls in Spanish adults: determinants of serum concentrations. *Environ. Res.* 109, 620–628.
- Anger, J.P., Anger, F., Chauvel, Y., Curtes, J.P., Hollenbeck, V.F., Michaux, P., 1978. Impregnation of human adipose tissues by organochlorines in Ille-et-Vilaine. *France Bull. Med. Leg. Toxicol* 21, 233–245.
- Apostoli, P., Magoni, M., Bergonzi, R., Carasi, S., Indelicato, A., Scarcella, C., et al., 2005. Assessment of reference values for polychlorinated biphenyl concentration in human blood. *Chemosphere* 61, 413–421.
- Arnich, N., Tard, A., Leblanc, J.C., Le, B.B., Narbonne, J.F., Maximilien, R., 2009. Dietary intake of non-dioxin-like PCBs (NDL-PCBs) in France, impact of maximum levels in some foodstuffs. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 54, 287–293.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), 2000. Toxicological Profile for Polychlorinated Biphenyls (PCBs). Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, GA, USA.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), 2002. Toxicological Profile for DDT, DDE, and DDD. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, GA, USA, pp. 225–284.
- Ayotte, P., Dewailly, E., Lambert, G.H., Perkins, S.L., Poon, R., Feeley, M., et al., 2005. Biomarker measurements in a coastal fish-eating population environmentally exposed to organochlorines. *Environ. Health Perspect.* 113, 1318–1324.
- Babut, M., Miegé, C., 2007. Contamination des Poissons et des Sédiments du Rhône par les Polychlorobiphényles. Synthèse des Données Recueillies en 2005–2006. Lyon, France, CEMAGREF. 39p (in French).
- Brauner, E.V., Raaschou-Nielsen, O., Gaudreux, E., Leblanc, A., Tjonneland, A., Overvad, K., Sorensen, M., 2011. Predictors of polychlorinated biphenyl concentrations in adipose tissue in a general Danish population. *Environ. Sci. Technol.* 45, 679–685.
- Centers for Disease Control and Prevention, 2009. Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals. Atlanta, Centers for Disease Control and Prevention.
- Cohn, B.A., Wolff, M.S., Cirillo, P.M., Sholtz, R.I., 2007. DDT and breast cancer in young women: new data on the significance of age at exposure. *Environ. Health Perspect.* 115, 1406–1414.
- EFSA (European Food Safety Agency), 2005. Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to the presence of non dioxin-like polychlorinated biphenyls (PCB) in feed and food. *EFSA J.* 284, 1–137.
- EFSA (European Food Safety Agency), 2006. Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to DDT as an undesirable substance in animal feed. *EFSA J.* 433, 1–69.
- Gammon, M.D., Wolff, M.S., Neugut, A.I., Eng, S.M., Teitelbaum, S.L., Britton, J.A., et al., 2002. Environmental toxins and breast cancer on Long Island. II. Organochlorine compound levels in blood. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 11, 686–697.
- Glynn, A., Aune, M., Darnerud, P.O., Cnattingius, S., Bjerselius, R., Becker, W., et al., 2007. Determinants of serum concentrations of organochlorine compounds in Swedish pregnant women: a cross-sectional study. *Environ. Health* 6, 2.
- Glynn, A.W., Granath, F., Aune, M., Atuma, S., Darnerud, P.O., Bjerselius, R., et al., 2003. Organochlorines in Swedish women: determinants of serum concentrations. *Environ. Health Perspect.* 111, 349–355.
- Glynn, A.W., Wernroth, L., Atuma, S., Linder, C.E., Aune, M., Nilsson, I., et al., 2000. PCB and chlorinated pesticide concentrations in swine and bovine adipose tissue in Sweden 1991–1997: spatial and temporal trends. *Sci. Total Environ* 246, 195–206.
- Hanrahan, L.P., Falk, C., Anderson, H.A., Draheim, L., Kanarek, M.S., Olson, J., 1999. Serum PCB and DDE levels of frequent Great Lakes sport fish consumers—a first look. *The Great Lakes consortium. Environ. Res.* 80, S26–S37.
- Hue, O., Marcotte, J., Berrigan, F., Simoneau, M., Dore, J., Marceau, P., et al., 2006. Increased plasma levels of toxic pollutants accompanying weight loss induced by hypocaloric diet or by bariatric surgery. *Obes. Surg.* 16, 1145–1154.
- IARC (International Agency for Research on Cancer), 1987. Polychlorinated biphenyls. IARC Monographs on Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Updating of IARC Monographs 1 to 42, Supplement 7, Lyon, France, pp. 321–325.
- IARC (International Agency for Research on Cancer), 1991. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Occupational Exposures in Insecticide Application, and Some Pesticides. vol. 53, Lyon, France.
- James, R.A., Hertz-Picciotto, I., Willman, E., Keller, J.A., Charles, M.J., 2002. Determinants of serum polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides measured in women from the child health and development study cohort, 1963–1967. *Environ. Health Perspect.* 110, 617–624.
- Jensen, A.A., 1983. Chemical contaminants in human milk. *Residue Rev* 89, 1–128.
- Laden, F., Neas, L.M., Spiegelman, D., Hankinson, S.E., Willett, W.C., Ireland, K., et al., 1999. Predictors of plasma concentrations of DDE and PCBs in a group of U.S. women. *Environ. Health Perspect.* 107, 75–81.
- Lim, J.S., Son, H.K., Park, S.K., Jacobs Jr., D.R., Lee, D.H., 2010. Inverse associations between long-term weight change and serum concentrations of persistent organic pollutants. *Int. J. Obes. (Lond)*.
- Longnecker, M.P., Rogan, W.J., Lucier, G., 1997. The human health effects of DDT (dichlorodiphenyltrichloroethane) and PCBs (polychlorinated biphenyls) and an overview of organochlorines in public health. *Annu. Rev. Public Health* 18, 211–244.
- Lubin, J.H., Colt, J.S., Camann, D., Davis, S., Cerhan, J.R., Severson, R.K., Bernstein, L., Hartge, P., 2004. Epidemiologic evaluation of measurement data in the presence of detection limits. *Environ. Health Perspect.* 112, 1691–1696.
- Marchand, P., Matayron, G., Venisseau, A., Le Bizec, B., André, F., 2004. Investigation of PCDD, PCDF, PCB dioxin-like and marker PCB in blood: results for French donors from pooled blood after validation of the method with 10 mL samples. In: *Proceedings of the 24th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs*.
- Meunier, P., 2008. Le Rhône et les PCB: une pollution au long cours. *French Assemblée Nationale : Commission des Affaires Economiques, de l'Environnement et du Territoire.* (in French). 135p. Available: <<http://www.assemblee-nationale.fr/13/rap-info/i0998.asp>> (accessed 12 May 2011).
- Ministère de l'écologie, 2007. PCB ou PolyChloroBiphényles: l'état des lieux, le Plan National d'Actions. French Ministère de l'Ecologie, du Développement et de l'Aménagement Durables (in French). Available: <<http://www.developpement-durable.gouv.fr/Documents-lies.html>> (accessed 12 May 2011).
- Moysich, K.B., Ambrosone, C.B., Mendola, P., Kostyniak, P.J., Greizerstein, H.B., Vena, J.E., et al., 2002. Exposures associated with serum organochlorine levels among postmenopausal women from western New York State. *Am. J. Ind. Med.* 41, 102–110.
- Paris-Pombo, A., Aronson, K.J., Woolcott, C.G., King, W.D., 2003. Dietary predictors of concentrations of polychlorinated biphenyls in breast adipose tissue of women living in Ontario, Canada. *Arch. Environ. Health* 58, 48–54.
- Pelletier, C., Despres, J.P., Tremblay, A., 2002. Plasma organochlorine concentrations in endurance athletes and obese individuals. *Med. Sci. Sports Exercise* 34, 1971–1975.
- Phillips, D.L., Pirkle, J.L., Burse, V.W., Bernert Jr., J.T., Henderson, L.O., Needham, L.L., 1989. Chlorinated hydrocarbon levels in human serum: effects of fasting and feeding. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 18, 495–500.
- Poehlman, E.T., Toth, M.J., Gardner, A.W., 1995. Changes in energy balance and body composition at menopause: a controlled longitudinal study. *Ann. Intern. Med.* 123, 673–675.
- Rogan, W.J., Gladen, B.C., McKinney, J.D., Carreras, N., Hardy, P., Thullen, J., et al., 1986. Polychlorinated biphenyls (PCBs) and dichlorodiphenyl dichloroethane (DDE) in human milk: effects of maternal factors and previous lactation. *Am. J. Public Health* 76, 172–177.
- Sala, M., Sunyer, J., Otero, R., Santiago-Silva, M., Camps, C., Grimalt, J., 1999. Organochlorine in the serum of inhabitants living near an electrochemical factory. *Occup. Environ. Med.* 56, 152–158.
- Sandanger, T.M., Sinotte, M., Dumas, P., Marchand, M., Sandau, C.D., Pereg, D., et al., 2007. Plasma concentrations of selected organobromine compounds and polychlorinated biphenyls in postmenopausal women of Quebec, Canada. *Environ. Health Perspect.* 115, 1429–1434.
- Sarcinelli, P.N., Pereira, A.C., Mesquita, S.A., Oliveira-Silva, J.J., Meyer, A., Menezes, M.A., et al., 2003. Dietary and reproductive determinants of plasma organochlorine levels in pregnant women in Rio de Janeiro. *Environ. Res.* 91, 143–150.
- Schaeffer, D.J., Dellinger, J.A., Needham, L.L., Hansen, L.G., 2006. Serum PCB profiles in Native Americans from Wisconsin based on region, diet, age, and gender: implications for epidemiology studies. *Sci. Total Environ.* 357, 74–87.
- Schisterman, E.F., Whitcomb, B.W., Louis, G.M., Louis, T.A., 2005. Lipid adjustment in the analysis of environmental contaminants and human health risks. *Environ. Health Perspect.* 113, 853–857.
- Sjodin, A., Hagmar, L., Klasson-Wehler, E., Bjork, J., Bergman, A., 2000. Influence of the consumption of fatty Baltic Sea fish on plasma levels of halogenated environmental contaminants in Latvian and Swedish men. *Environ. Health Perspect.* 108, 1035–1041.
- Sweeney, A.M., Symanski, E., Burau, K.D., Kim, Y.J., Humphrey, H.E., Smithci, M.A., 2001. Changes in serum PBB and PCB levels over time among women of varying ages at exposure. *Environ. Res.* 86, 128–139.
- Thomas, G.O., Wilkinson, M., Hodson, S., Jones, K.C., 2006. Organohalogen chemicals in human blood from the United Kingdom. *Environ. Pollut.* 141, 30–41.
- UNEP (United Nation Environment Programme), 2002. Regionally Based Assessment of Persistent Toxic Substances, Mediterranean Regional Report. United Nation Environment Programme, Geneva.
- Venant, A., Richou-Bac, L., 1981. Contamination des produits laitiers français par les résidues organo-chlorés. *Le lait* 61, 619–633.
- Vo, T.T., Gladen, B.C., Baird, D.D., Daniels, J.L., Gammon, M.D., et al., 2008. Dichlorodiphenylchloroethane and polychlorinated biphenyls: intraindividual changes, correlations, and predictors in healthy women from the southeastern United States. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 17, 2729–2736.

- WHO (World Health Organization), 2003. Polychlorinated Biphenyls: Human Health Aspects. World Health Organization, Geneva.
- Wolff, M.S., Anderson, H.A., Britton, J.A., Rothman, N., 2007. Pharmacokinetic variability and modern epidemiology—the example of dichlorodiphenyltrichloroethane, body mass index, and birth cohort. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 16, 1925–1930.
- Wolff, M.S., Britton, J.A., Teitelbaum, S.L., Eng, S., Deych, E., Ireland, K., et al., 2005a. Improving organochlorine biomarker models for cancer research. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 14, 2224–2236.
- Wolff, M.S., Deych, E., Ojo, F., Berkowitz, G.S., 2005b. Predictors of organochlorines in New York City pregnant women, 1998–2001. *Environ. Res.* 97, 170–177.

Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention



A Case Study Addressing the Reliability of Polychlorinated Biphenyl Levels Measured at the Time of Breast Cancer Diagnosis in Representing Early-Life Exposure

Marc-André Verner, Delphine Bachelet, Robin McDougall, et al.

Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2011;20:281-286. Published OnlineFirst December 21, 2010.

Updated Version Access the most recent version of this article at:
doi:[10.1158/1055-9965.EPI-10-0992](https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-10-0992)

Cited Articles This article cites 16 articles, 3 of which you can access for free at:
<http://cebp.aacrjournals.org/content/20/2/281.full.html#ref-list-1>

E-mail alerts [Sign up to receive free email-alerts](#) related to this article or journal.

Reprints and Subscriptions To order reprints of this article or to subscribe to the journal, contact the AACR Publications Department at pubs@aacr.org.

Permissions To request permission to re-use all or part of this article, contact the AACR Publications Department at permissions@aacr.org.

Research Article

A Case Study Addressing the Reliability of Polychlorinated Biphenyl Levels Measured at the Time of Breast Cancer Diagnosis in Representing Early-Life Exposure

Marc-André Verner¹, Delphine Bachelet^{2,3}, Robin McDougall⁴, Michel Charbonneau⁵, Pascal Guénel^{2,3,6}, and Sami Haddad⁷

Abstract

Background: To date, breast cancer epidemiologic studies have relied on blood or tissue specimens sampled at the time of diagnosis or a few years prior to assess lifetime exposure to polychlorinated biphenyls (PCB). In this study, we evaluated whether such PCB measurements are indicative of early-life levels by reconstructing lifetime toxicokinetic profiles for women included in the CECILE case-control study, using a physiologically based pharmacokinetic (PBPK) model.

Methods: We simulated lifetime toxicokinetic profiles of PCB-153 for 2,134 French women by incorporating information on body weight history, height, pregnancies, and breast-feeding in the PBPK model. Oral dose was calculated by considering measured blood PCB-153 and the temporal trend of environmental contamination. Area under the concentration versus time curve (AUC) for each decade of life and maximum blood concentration (C_{max}) were compiled and compared with measured levels, using Pearson partial correlation analyses adjusting for age at diagnosis.

Results: When considering all individuals, simulated AUCs correlated with measured PCBs, with coefficients ranging from 0.735 to 0.981. The weakest correlations were obtained with AUCs for the first decades of life. Stratified analyses suggested that breast-feeding reduces the reliability of late-life blood levels in representing lifetime exposure.

Conclusion: Results of this study suggest that PCB levels measured at the time of diagnosis do not fully represent early-life exposures.

Impact: PBPK-derived estimates of early-life levels circumvent the limitations of current approaches in assessing PCB lifetime exposure and may be used to address hypothesized windows of breast vulnerability (e.g., puberty) in this population. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*; 20(2); 281–6. ©2010 AACR.

Introduction

A large number of epidemiologic studies and reviews on polychlorinated biphenyl (PCB) exposure and breast cancer have been published over the last 20 years. Overall, available evidence does not support an association

between exposure to PCBs and breast cancer incidence (1, 2). Most of these studies considered blood PCB levels monitored at the time of diagnosis or a few years prior to be proxies for cumulated lifetime exposure. Given the inter-individual variations in environmental and physiologic parameters affecting PCB toxicokinetics, it is questionable whether these levels provide accurate information on the internal exposure of women during their earlier decades of life.

Several epidemiologic studies raised concerns about organochlorine exposure assessment. When interpreting the results obtained with exposure estimation based on single biological samples, many researchers cautioned readers that although levels at the time of study might be indicative of past exposure, it remains uncertain to which extent these levels allow an appropriate evaluation of PCB carcinogenic potential during hypothesized early-life periods of vulnerability (3–6). A prospective study published by Cohn and colleagues (7) supported such contention as blood 1,1,1-trichloro-2,2-bis(*p*-chlorophenyl)ethane (DDT) measured around 26 years of age

Authors' Affiliations: ¹TOXEN, Université du Québec à Montréal, Montréal, Québec, Canada; ²Inserm, CESP Centre for research in Epidemiology and Population Health, U1018, Environmental epidemiology of cancer Team, Villejuif, France; ³Université Paris-Sud, UMRS 1018, Villejuif, France; ⁴University of Ontario Institute of Technology, Oshawa, Ontario, Canada; ⁵INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Québec, Canada; ⁶Institut de Veille Sanitaire (InVS), Paris, France; and ⁷Département de santé environnementale et santé au travail, IRSPUM, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada

Corresponding Author: Sami Haddad, Département de santé environnementale et santé au travail Université de Montréal C.P. 6128 Succ. Centre-ville, Montréal, Québec, Canada H3C 3J7. Phone: 514-343-6111 (38166). E-mail: sami.haddad@umontreal.ca

doi: 10.1158/1055-9965.EPI-10-0992

©2010 American Association for Cancer Research.

was associated with increased odds of developing breast cancer, although most studies based on DDE levels (DDT metabolite) at later stages reported no association (8). Thus, when taking into account the theory of breast vulnerability during certain time-windows, one might question the value of PCB levels measured in samples taken around the time of cancer diagnosis to address exposure–disease associations.

To overcome the exposure assessment issue, we have previously developed a physiologically based pharmacokinetic (PBPK) model that allows the estimation of lifetime PCB internal levels while taking into account individual information on physiology and reproductive history (9). In the present study, we aimed to assess the appropriateness of blood PCB levels measured at the time of diagnosis in representing earlier exposures by comparing these values to PBPK-derived lifetime toxicokinetic profiles of French women included in a population-based case–control study.

Methods

Population

Data from a total of 2,135 French women included in the CECILE population-based case–control study who accepted to give blood for organochlorine quantification were used. Cases were women diagnosed with invasive or *in situ* breast cancer between February 2005 and June 2007 within the administrative regions of Ile-et-Vilaine and Côte d’Or in France. Controls were matched to breast cancer cases by 5-year age groups through random-digit dialing procedure in the same residence area. One individual with no information on weight was excluded.

PCB quantification

PCB-153 was selected as a proxy for a mixture of PCB congeners because it was detected in blood samples more than twice as frequently than the other congeners, and its levels were correlated to other individual congeners and to the sum of 3 congeners (PCB-138, -153, and -180). Samples were prepared by liquid–liquid extraction followed by a solid-phase extraction. PCB-153 concentration in samples was determined by gas chromatography coupled to an ion trap mass spectrometer detector. The limit of detection (LOD) for PCB-153 was 0.50 µg/L. When levels were below the LOD ($n = 898$, 42% of study participants), values were randomly generated on the basis of the log-normal distribution function and woman’s age and body mass index (BMI) change over the last 10 years, two determinants of PCB-153 levels at the time of diagnosis in this cohort (10). Whole-blood PCB-153 concentration was adjusted on a lipid basis according to the equation in Akins and colleagues (11).

PBPK modeling

PBPK modeling is a pharmacokinetic tool that describes the physiologic, biochemical, and physicochemical pro-

cesses governing the absorption, distribution, metabolism, and excretion of a xenobiotic, thus enabling the simulation of its kinetics blood and tissue. Many of these processes are dependent on several physiologic parameters such as the volume and composition of organs, and the blood perfusion. The mathematical functions describing these processes are derived from population data and are designed to allow the incorporation of different profiles of body weight and height. In the case of organochlorine compounds such as PCBs, it is paramount to take women reproductive history into account, as these chemicals are extensively excreted through breast-feeding. In this study, we simulated individualized lifetime toxicokinetic profiles with a previously published PBPK model (9) modified as detailed in Verner and colleagues (12). This framework integrates women weight profile [reported for each decade of life—missing weights were imputed through multiple linear regression ($n = 212$)], height, age at deliveries, duration of each breast-feeding period, and date of birth. Consumption of breast milk in infancy was not considered, given the dearth of information on maternal levels and duration of breast-feeding. Considering the wide variation in reported PCB-153 half-life values (13), simulations were carried out with half-lives of 10 and 30 years. Simulations were done using the software acslX (Aegis Technologies Group, Inc.). Examples of simulated toxicokinetic profiles are depicted in Figure 1A and B.

Environmental exposure estimation

The daily oral dose estimation included an assessment of temporal trends in environmental levels. Because PCB production started in the 1930s, we considered environmental exposure to be null before that date. Exposure from 1930 until 1970 was characterized using production data, as no daily intake estimations were available for Europe until that time (14). Maximum exposure was assumed during the 1970s, when peak production occurred and peak daily intake estimations were made. We defined the decline in PCB daily intake after 1977, with European data taken from Baars and colleagues (15). These temporal data were transformed into fractions of peak values reached in the 1970s (F , ranging from 0 to 1). The trend in F values is depicted in Figure 1C. To integrate this temporal trend in the PBPK model, we allowed the oral dose input to change over time on the basis of the following equation:

$$\text{Dose} = F \times \text{Maximum daily dose}$$

The maximum daily dose (in the 1970s) was optimized for each woman by iterative simulations to obtain a toxicokinetic profile, with matching simulated and measured blood PCB-153 concentrations at the time of sampling.

Statistical analyses

The area under the lipid-adjusted blood concentration versus time curve (AUC) for each decade, a proxy for

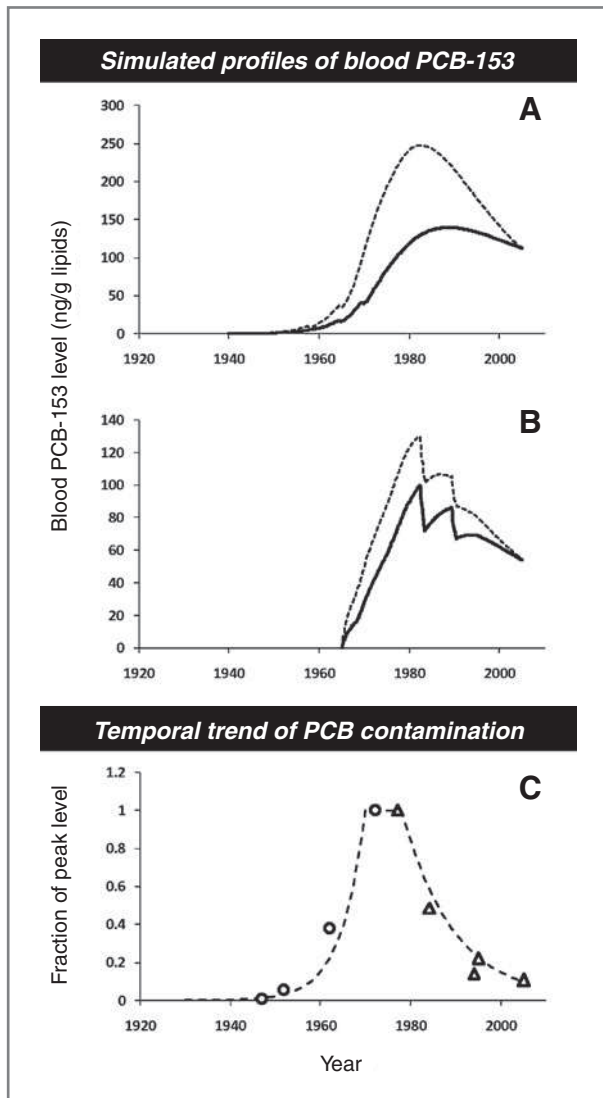


Figure 1. Examples of toxicokinetic profiles for women born in 1940 (A) and 1965 (B) with different weight and breast-feeding profiles. Lifetime blood PCB-153 profiles for half-lives of 10 (dotted line) and 30 years (continuous line) were based on levels at diagnosis, individual characteristics, and the temporal trend in actual environmental contamination levels (C) reported as fractions of peak levels [based on production data (○: ref. 14) and estimated daily intakes (△: ref. 15)].

total internal exposure during a time period, and the maximum blood concentration (C_{max}) were compiled for each of the 2,134 women (see Fig. 1). AUC for the first decade (0–10 years) was not used in this study, as levels during this period are strongly influenced by breast milk consumption in infancy (16), a factor that was not included in our simulations. PBPK-derived exposure estimates were compared with measured blood PCB-153 concentrations through Pearson partial correlation analyses, adjusting for age at cancer diagnosis stratified by 5-year intervals to account for case-control matching procedures in this study. We assessed these correlations

in different age, breast-feeding, and BMI strata. Statistical analyses were done using SPSS for Windows 10.0 (SPSS Inc.).

Results

Women enrolled in this study were on average 55 years old (range = 25–75 years) (Table 1). Breast-feeding was relatively low in this population as 47% of the women never breast-fed, and those who breast-fed did so for an average period of 5.6 months over their lifetime. Only 6% of the women breast-fed for longer than 12 months. Mean BMI was 24.8, and 13% of individuals had a BMI of more than 30. Measured blood PCB-153 levels ranged from less than LOD to 1,218 ng/g lipids.

Blood PCB-153 levels

Median simulated PCB-153 C_{max} (5th–95th percentile) were 244 (68–703) and 126 (38–353) ng/g lipids for half-lives of 10 and 30 years, respectively. The C_{max} value was reached on average 24 and 18 years prior to blood sampling when assuming half-lives of 10 and 30 years. These values were on average 2.8 times higher than blood PCB-153 levels measured at the time of diagnosis when simulations were done with a 10-year half-life and 1.6 times higher when a half-life of 30 years was assumed.

Correlation analyses

Exposure estimates and blood levels were log-transformed prior to analyses. Because correlation coefficients between measured PCB-153 and AUCs displayed a similar pattern regardless of the half-life used in the analyses, results obtained only with a half-life of 30 years are reported. AUCs during contiguous decades were correlated with coefficients of 0.900 between AUC_{10-20} and AUC_{20-30} , 0.666 between AUC_{20-30} and AUC_{30-40} , 0.724 between AUC_{30-40} and AUC_{40-50} , and 0.959 between AUC_{40-50} and AUC_{50-60} . When all the individuals were included in the analyses, Pearson partial correlations between measured blood PCB-153 levels at diagnosis and simulated estimates decreased from 0.981 for AUC_{50-60} (closest to sampling time) to 0.735 for AUC_{10-20} (furthest from sampling time; Table 2). Stratification by age groups did not reveal any apparent discrepancy across correlation coefficients. However, the higher coefficients in these strata when compared with those obtained with the whole data set suggested that a residual effect of age was not accounted for by matching women by 5-year intervals. Stratification based on the duration of breast-feeding revealed that the loss in correlation strength across time is, at least in part, due to breast-feeding, with women who breast-fed for longer than 1 year showing the weakest correlations between measured levels and AUCs before the reproductive period ($r = 0.509$ for $AUC = 10-20$ years). Stratification on BMI did not impact the trend in correlation coefficients. Running correlation analyses solely for women with no missing weight data did not change the results. When only women

Table 1. Demographic characteristics of study participants

Categories	n	%	Mean	SD	Minimum	25th percentile	Median	75th percentile	Maximum
Age, y	2,134		55.0	10.85	25.5	47.3	55.3	63.4	75.0
<40	210	10							
40–50	489	23							
50–60	695	33							
>60	740	34							
Parity									
0	191	9							
1	292	14							
2	802	38							
3+	849	40							
Total breast-feeding, mo	1,005	47	5.6	7.43	0.2	1.4	3.0	7.0	64.7
0	1,129	53							
0–3	444	21							
3–12	437	20							
12+	124	6							
BMI, kg/m ²	2,131		24.8	4.8	14.3	21.3	23.8	27.2	54.7
<20	252	12							
20–25	1,045	49							
25–30	565	26							
>30	272	13							
Height, cm	2,131		161.5	6.2	134	157	161	165	180
Blood PCB-153, ^a ng/g lipids	2,134		84.9	86.7	4.2	56.2	88.3	142.5	1,218.3

^aAfter imputation of PCB-153 levels below the LOD.

with blood levels above the LOD were included in the analyses, correlations were on general slightly weaker, but the impact of breast-feeding on correlation coefficients was diminished. This could be the result of the shorter duration of breast-feeding in this subgroup.

Discussion

We conducted this study to address the reliability of PCB exposure levels measured at the time of breast cancer diagnosis in representing early-life exposure. Results suggested that certain parameters could influence PCB toxicokinetics and hinder the reliability of levels sampled at the time of cancer diagnosis in representing exposure during early life. Among these parameters, the variability in the cumulative duration of breast-feeding was shown to weaken the correspondence between blood PCB measurements and estimated early-life levels even with the low prevalence of breast-feeding in this population. The traditional approach to adjust for breast-feeding in exposure–disease associations is unlikely to prevent exposure misclassification, as it does not account for the timing of breast-feeding periods and their impact on blood/tissue PCB levels during periods which could be etiologically relevant in breast cancer development. This also applies for variations in BMI. Therefore, samples collected at the time of diagnosis or a few years before may not allow the identification of associations

between breast cancer and PCB levels during earlier hypothesized periods of susceptibility such as puberty.

The theory of critical windows of breast vulnerability was put forward in studies of atomic bomb survivors in Japan. These studies showed that women younger than 20 years at the time of exposure to radiations were more likely to develop breast cancer than women exposed during later stages of life (17). Cohn and colleagues (7) also suggested that early chemical insults, as indicated by DDT levels measured during the twenties, can increase breast cancer incidence. If there is a critical period of susceptibility to PCBs during early stages of life such as puberty, results reported herein suggest that studies based on blood levels at the time of diagnosis may not be able to detect exposure–disease associations. The observed discrepancy between levels measured in this study and estimated past levels during hypothesized critical windows could have biased ORs toward the null hypothesis in epidemiologic studies. Assessment of exposure during etiologically relevant periods through pharmacokinetic modeling is expected to decrease exposure misclassification as compared with the simple use of blood PCB levels measured many years after the period of breast vulnerability to carcinogens. Under the assumption of a real link between PCBs and breast cancer, PBPK modeling should thus reinforce the observed association (i.e., the OR) between PCB exposure estimate and disease. Preliminary analyses conducted in the CECILE study point to this direction (manuscript in preparation).

Table 2. Pearson partial correlation coefficients between PCB-153 levels measured at the time of cancer diagnosis and PBPK-derived exposure estimates (adjusted by age at blood sampling)

	PBPK-derived estimates of exposure					
	C_{max}	AUC _{10–20}	AUC _{20–30}	AUC _{30–40}	AUC _{40–50}	AUC _{50–60}
Age at diagnosis						
<40	0.903	0.891	0.902			
40–50	0.937	0.883	0.933	0.972		
50–60	0.965	0.824	0.919	0.960	0.978	
>60	0.972	0.847	0.857	0.912	0.963	0.981
Total breast-feeding, mo						
0	0.971	0.751	0.744	0.867	0.961	0.982
<3	0.976	0.752	0.751	0.884	0.969	0.981
3–12	0.932	0.743	0.751	0.892	0.967	0.984
>12	0.837	0.509	0.564	0.786	0.948	0.960
BMI, kg/m ²						
<20	0.965	0.770	0.799	0.917	0.981	0.989
20–25	0.948	0.715	0.726	0.880	0.967	0.981
25–30	0.959	0.775	0.747	0.848	0.960	0.985
>30	0.943	0.747	0.751	0.873	0.955	0.973
All	0.951	0.735	0.736	0.870	0.963	0.981

Because the reported correlation analyses were based on PBPK model simulations rather than serial blood PCB-153 measurements, some limitations of this study ought to be mentioned. First, many factors such as changes in dietary habits or place of residence were not included in the model and could have altered the extent of environmental exposure. Also, the PBPK model as a whole was not validated on repeated PCB measurements. Be that as it may, this approach incorporating breast-feeding history and weight/height profiles allows the reconstruction of lifetime PCB levels considering validated population-derived physiologic parameters relevant to PCB toxicokinetics. Given the scarcity of studies with repeated PCB measurements, the PBPK model presented herein offers a unique opportunity to evaluate the adequacy of PCB levels measured at the time of cancer diagnosis to study exposure–disease associations.

In conclusion, this study suggests that epidemiologic studies based on PCB levels measured at the time of diagnosis or a few years before might have underestimated associations that are specific to early-life periods of vulnerability. These results imply that future studies on PCBs and other lipophilic, persistent organic pollutants will need to further evaluate the temporal variability in internal levels, particularly when studying diseases with early windows of susceptibility. Although prospective

studies on diseases with long latency periods are methodologically challenging, serial blood/tissue sampling would help understand the impact of different physiologic and lifestyle factors on the toxicokinetics of these compounds. On the basis of these data, statistical or pharmacokinetic models could be developed and calibrated to facilitate the back-estimation of levels during different periods of exposure.

Disclosure of Potential Conflicts of Interest

No potential conflicts of interest were disclosed.

Grant Support

The CECILE study was supported by grants from the French National Institute of Cancer (INCa, 2009), Fondation de France, the French Agency for Environmental and Occupational Health Safety (AFSSET), the French National Research Agency (ANR), Région Ile-de-France, the League Against Cancer (Ligue contre le Cancer – Grand Ouest). M-A. Verner is recipient of a Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC) doctoral scholarship.

The costs of publication of this article were defrayed in part by the payment of page charges. This article must therefore be hereby marked *advertisement* in accordance with 18 U.S.C. Section 1734 solely to indicate this fact.

Received September 17, 2010; revised November 19, 2010; accepted December 6, 2010; published OnlineFirst December 21, 2010.

References

- Negri E, Bosetti C, Fattore E, La Vecchia C. Environmental exposure to polychlorinated biphenyls (PCBs) and breast cancer: a systematic review of the epidemiological evidence. *Eur J Cancer Prev* 2003;12: 509–16.
- Golden R, Kimbrough R. Weight of evidence evaluation of potential human cancer risks from exposure to polychlorinated biphenyls: an update based on studies published since 2003. *Crit Rev Toxicol* 2009;39:299–331.

3. Brody JG, Rudel RA. Environmental pollutants and breast cancer. *Environ Health Perspect* 2003;111:1007–19.
4. Laden F, Collman G, Iwamoto K, Alberg AJ, Berkowitz GS, Freudenheim JL, et al. 1,1-Dichloro-2,2-bis(*p*-chlorophenyl)ethylene and polychlorinated biphenyls and breast cancer: combined analysis of five U.S. studies. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93:768–76.
5. Raaschou-Nielsen O, Pavuk M, Leblanc A, Dumas P, Weber JP, Olsen A, et al. Adipose organochlorine concentrations and risk of breast cancer among postmenopausal Danish women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:67–74.
6. Wolff MS, Zeleniuch-Jacquotte A, Dubin N, Toniolo P. Risk of breast cancer and organochlorine exposure. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000;9:271–7.
7. Cohn BA, Wolff MS, Cirillo PM, Sholtz RI. DDT and breast cancer in young women: new data on the significance of age at exposure. *Environ Health Perspect* 2007;115:1406–14.
8. Lopez-Cervantes M, Torres-Sanchez L, Tobias A, Lopez-Carrillo L. Dichlorodiphenyldichloroethane burden and breast cancer risk: a meta-analysis of the epidemiologic evidence. *Environ Health Perspect* 2004;112:207–14.
9. Verner MA, Charbonneau M, Lopez-Carrillo L, Haddad S. Physiologically based pharmacokinetic modeling of persistent organic pollutants for lifetime exposure assessment: a new tool in breast cancer epidemiologic studies. *Environ Health Perspect* 2008;116:886–92.
10. Bachelet D, Charlier C, Kerbrat P, Arveux P, Guihenneuc-Jouyaux C, Guénel P. Individual determinants of serum levels of 1,1-dichloro-2,2-bis(*p*-chlorophenyl)ethylene (DDE) and polychlorinated biphenyls (PCBs) among French Women [abstract]. *Epidemiology* 2009;20:S136–S7.
11. Akins JR, Waldrep K, Bernert JT Jr. The estimation of total serum lipids by a completely enzymatic 'summation' method. *Clin Chim Acta* 1989;184:219–26.
12. Verner MA, Ayotte P, Muckle G, Charbonneau M, Haddad S. A physiologically based pharmacokinetic model for the assessment of infant exposure to persistent organic pollutants in epidemiologic studies. *Environ Health Perspect* 2009;117:481–7.
13. Shirai JH, Kissel JC. Uncertainty in estimated half-lives of PCBs in humans: impact on exposure assessment. *Sci Total Environ* 1996; 187:199–210.
14. Organisation for Economic Co-operation and Development. Rapport sur la mise en application par les pays membres de la décision du conseil sur la protection de l'environnement par le contrôle des diphényles polychlorés. Paris: Organisation for Economic Co-operation and Development; 1982.
15. Baars AJ, Bakker MI, Baumann RA, Boon PE, Freijer JI, Hoogenboom LAP, et al. Dioxins, dioxin-like PCBs and non-dioxin-like PCBs in foodstuffs: occurrence and dietary intake in The Netherlands. *Toxicol Lett* 2004;151:51–61.
16. Barr DB, Weihe P, Davis MD, Needham LL, Grandjean P. Serum polychlorinated biphenyl and organochlorine insecticide concentrations in a Faroese birth cohort. *Chemosphere* 2006;62:1167–82.
17. Wakeford R. The cancer epidemiology of radiation. *Oncogene* 2004; 23:6404–28.