UNIVERSITE BRETAGNE LOIRE

Oniris
ÉCOLE NATIONALE
VÉTÉRINAIRE, AGROALIMENTAIRE ET DE L'ALIMENTATION
SANTÉ ET ALIMENTATION AU CŒUR DE LA VIE

Thèse de Doctorat

Stéphane PLOTEAU

Mémoire présenté en vue de l'obtention du
grade de Docteur d'Oniris - École Nationale Vétérinaire Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes-Atlantique
sous *le sceau de l'Université Bretagne Loire*

École doctorale : Biologie Santé

Discipline : Santé Publique
Spécialité : Epidémiologie, Analyse des risques, Recherche clinique
Unité de recherche : ***Laboratoire d'Etude des Résidus et Contaminants dans les Aliments*** (LABERCA), USC INRA 1329

Soutenue le 7 octobre 2016
Thèse N° :

Etude du lien entre l'exposition aux polluants organiques persistants et l'endométriose

JURY

Rapporteurs :	**Bernard JEGOU**, Directeur de recherches, INSERM, Rennes **Xavier COUMOUL**, Professeur, Université Paris Descartes
Examinateurs :	**Emile DARAÏ,** PU-PH, APHP, Hôpital Tenon, Paris **Xavier FRITEL**, PU-PH, CHU Poitiers
Directeur de Thèse :	**Bruno LE BIZEC**, Professeur, Oniris-LABERCA, Nantes
Co-directeur de Thèse :	**Jean-Philippe ANTIGNAC**, Ingénieur de recherche, INRA, Oniris-LABERCA, Nantes

Remerciements,

A mes rapporteurs, Monsieur Bernard Jegou, et Monsieur Xavier Coumoul.

Pour avoir accepté de juger ce travail.

Veuillez recevoir toute ma gratitude et mon plus profond respect.

A Monsieur Emile Daraï et Monsieur Xavier Fritel.

Pour avoir accepté de participer au jury de cette thèse.

Votre expertise dans le domaine de l'endométriose et votre expérience de clinicien vous permettent de porter sur ce travail un regard critique qui m'est cher. Veuillez recevoir toute ma gratitude et mon plus profond respect.

A Monsieur Bruno Le Bizec.

Pour m'avoir proposé et avoir dirigé ce travail doctoral.

Tu m'as ouvert les portes du laboratoire et m'as donné l'opportunité de pouvoir mener ce travail à bien. Reçois ici le témoignage de toute ma gratitude et de mon plus profond respect.

A Monsieur Jean-Philippe Antignac.

Pour avoir co-dirigé cette thèse.

Ce travail n'aurait jamais vu le jour sans ton expertise et tes précieux conseils. Je te remercie pour ta rigueur, ton dynamisme et ton honnêteté dont j'ai beaucoup appris au cours de ce travail doctoral. Sois assuré de ma très grande reconnaissance.

Je tiens à remercier également toutes les personnes qui m'ont permis de mener à bien ce travail :

Cette thèse est le fruit d'une collaboration entre le LABERCA et le CHU de Nantes. Je tiens à remercier tous les membres du service de Gynécologie-Obstétrique du CHU de Nantes et plus largement du pôle Mère-Enfant qui m'ont encouragé tout au long de ce travail.

Madame Christelle Volteau. Merci pour votre aide dans le domaine de l'épidémiologie de des statistiques et merci pour les cours que vous avez dispensé sur ce sujet.

Monsieur Philippe Marchand du LABERCA pour son expertise analytique et sa connaissance biblique des contaminants.

Monsieur Arnaud Legrand pour ses précieux conseils dans le domaine de la méthodologie de la recherche. Madame Anne Drouard et l'équipe du CIC Mère-Enfant de Nantes pour leur contribution à l'étude ENDOTOX.

Madame Pascale JOLLIET et Monsieur Jean-Michel ROGEZ. Merci de la confiance que vous m'avez accordée en me nommant Maître de conférences des universités. Ce temps universitaire m'a été précieux pour mener à bien ce travail de thèse.

Monsieur Antoine Hamel pour ses encouragements tout au long de cette thèse et son accueil au sein du laboratoire d'Anatomie.

Messieurs Roger Robert, Jean-Jacques Labat, Thibault Riant et Madame Amélie Lévesque pour leurs enseignements et leur accueil au sein de l'équipe du Centre Fédératif de Douleurs Pelvi-Périnéales de Nantes.

Ces remerciements ne seraient pas complets sans une pensée pour ma famille, alors

Merci à mes parents, mes sœurs et beaux-frères, neveux et nièces.

Merci à Agnès pour sa patience de tous les jours,

Et à Mathilde, Augustin, Louis et Anouk qui sont ma plus grande fierté.

LISTE DES ABREVIATIONS

ABP : androgen binding protein
ADN : Acide désoxyribonucléique
AFS : Score de l'American Fertility Society
AhR : Arylhydrocarbon receptor ou Récepteur aux hydrocarbures aromatiques
ARN : Acide ribonucléique
ARNT : Agent de translocation du AhR
BMI : Indice de masse corporelle
CALUX : Chemically activated luciferase gene expression
COX-2 : cyclo-oxygénase 2
CYP : Cytochrome P450
DDE : Dichlorodiphényldichloroéthylène
DDT : Dichlorodiphényltrichloroéthane
DRE : Elément de réponse de la dioxine
E1 : Estrone
E2 : 17β-Estradiol
E3 : Estriol
EE2 : Ethinylestradiol
ER α, β et γ : Récepteur aux estrogènes α, β et γ
ERE : Elément de réponse aux estrogènes
FSH : Hormone Folliculo Stimulante
GC-MS : Gas chromatography-mass spectrometry ou Chromatographie en phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse
GC-HRMS : Gas chromatography/high-resolution mass spectrometry ou Chromatographie en phase Gazeuse–Spectrométrie de Masse à Haute Résolution
GST : Guthation-S-transférase
HCB : Hexachlorobenzène
HSD17B1 : 17β-hysdroxystéroide deshydrogénase 1
HSD3B2 : 3β-hydroxystéroide deshydrogénase 2
IC 95% : Intervalle de confiance à 95%
IL1-β : Interleukine 1 β
ISO : Organisation Internationale de Normalisation
LBD : Ligand binding domain ou domaine de liaison du ligand
LC-MS/MS : Liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry ou Chromatographie liquide couplée à la Spectrométrie de Masse en tandem
LH : Hormone lutéinisante
LOD : Limite de détection
MMP : Matrix metalloproteinase
OC : Pesticides organochlorés
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
OR : Odds Ratio
p-value : Degré de significativité des tests statistiques
p,p'-DDE : 1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophényl)éhylène
PBB : PolyBromoBiphényle
PBDE : PolyBromoDiphénylEther
PCB : PolyChloroBiphényle
PCDD : Polychlorodibenzo-p-dioxine
PCDF : Polychlorodibenzofurane
PE : Perturbateur endocrinien

POP : Polluant Organique Persistant
PR : Récepteur de la Progestérone
PRE : Elément de réponse des progestagènes
RFB : Retardateur de Flamme Bromé
RMN : Résonance magnétique nucléaire
RNs : Récepteurs nucléaires stéroïdiens
RR : Risque relatif
SCC : side-chain cleavage enzyme
SF1 : steroidogenic factor 1
SHBG : sex hormones binding protein
STAR : steroidogenic acute regulatory protein
TCDD : 2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-p-dioxine
TEF : Toxic equivalent factor ou facteur de toxicité équivalent
TEQ : Toxic equivalent ou équivalent toxique
TGFβ : Transforming growth factor β
TNFα : Tumor necrosis factor α
VEGF : Vascular endothelial growth factor
XRE : Elément de réponse aux xénobiotiques

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS 6

1 INTRODUCTION GENERALE 10

2 L'ENDOMETRIOSE ET LE FACTEUR ENVIRONNEMENTAL 14

2.1 L'ENDOMETRIOSE 14

2.1.1 Définition 14

2.1.2 Physiopathologie 14

2.1.2.1 L'endométriose péritonéale 17

2.1.2.2 L'endométriose ovarienne : 19

2.1.2.3 L'endométriose profonde 21

2.1.2.4 Arguments pour une origine rétro-péritonéale 23

2.1.2.5 Origine multifactorielle 24

2.1.3 Diagnostic 25

2.1.3.1 Clinique 25

2.1.3.2 Les examens d'imagerie 26

2.2 LE FACTEUR ENVIRONNEMENTAL DANS L'ENDOMETRIOSE 28

2.2.1 Dioxines et PCB 29

2.2.2 Pesticides organochlorés 31

2.2.3 Retardateurs de flammes bromés 34

2.2.4 Modes d'action des contaminants organiques dans la physiopathologie de l'endométriose. 37

2.2.4.1 La toxicité immunitaire 39

2.2.4.2 Le stress oxydatif 39

2.2.4.3 L'inactivation du point de surveillance de l'ADN 40

2.2.4.4 La modulation épigénétique 40

2.2.4.5 La perturbation endocrinienne 43

2.2.5 Limites et challenges des études en santé environnementale 49

2.2.5.1 Puissance statistique 49

2.2.5.2 Nature du prélèvement biologique 49

2.2.5.3 Population contrôle 50

2.2.5.4 Nombre de marqueurs cibles 50

2.2.5.5 Délai entre exposition et effet 51

2.2.5.6 Prise en compte des facteurs de confusion 52

2.2.6 Conclusion 52

3 METHODOLOGIE 55

3.1 PROTOCOLE CLINIQUE 55

3.2 CARACTERISATION DES NIVEAUX D'EXPOSITION 57

3.3 ANALYSE DES DONNEES 58

4 DISTRIBUTION DES POLLUANTS ORGANIQUES PERSISTANTS DANS LES COMPARTIMENTS DE STOCKAGE (TISSU ADIPEUX SUPERFICIEL ET PROFOND) ET CIRCULANTS (SERUM) 60

4.1 INTRODUCTION 60

4.2 ARTICLE 63

5 ETUDE DU LIEN ENTRE NIVEAUX D'EXPOSITION INTERNE AUX POLLUANTS ORGANIQUES PERSISTANTS ET ENDOMETRIOSE PELVIENNE PROFONDE. 93

5.1 INTRODUCTION 93

5.2 ARTICLE 95

6 CONCLUSION 132

7 ANNEXES 136

Annexe 1 : Flow Chart 136

Annexe 2 : Caractéristiques des études observant une association entre les niveaux d'exposition observés aux dioxines et PCB et l'endométriose *137*
Annexe 3 : Caractéristiques des études n'observant pas d'association entre les niveaux d'exposition observés aux dioxines et PCB et l'endométriose *140*
Annexe 4 : Caractéristiques des études observant une association entre les niveaux d'exposition observés aux pesticides organochlorés et l'endométriose *144*
Annexe 5 : Caractéristiques des études n'observant pas d'association entre les niveaux d'exposition observés aux pesticides organochlorés et l'endométriose *145*
Annexe 6 : Caractéristiques des études cherchant un lien entre les niveaux d'exposition internes aux retardateurs de flammes bromés et l'endométriose *146*
Annexe 7 : Source d'estradiol dans le tissu endométriosique *147*
Annexe 8 : Liste des contaminants organiques persistants recherchés au cours de l'étude *148*

8 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 150

1 INTRODUCTION GENERALE

Les effets de la pollution environnementale sur la santé humaine et animale sont l'objet, depuis plusieurs années, d'une préoccupation grandissante de la part à la fois de la communauté scientifique et des pouvoirs publics en particulier les autorités sanitaires. Ce sujet suscite également une inquiétude croissante chez le grand public. Certaines de ces substances environnementales sont en effet susceptibles de perturber le système endocrinien et pourraient induire des effets délétères sur l'organisme humain, sa descendance et constituer un danger sanitaire encore imparfaitement caractérisé aujourd'hui. De fait, les progrès de l'industrialisation qui ont fortement contribué à améliorer nos conditions de mode de vie, nous exposent régulièrement à plus de 100 000 nouvelles molécules exogènes dont l'innocuité est de plus en plus remise en cause. Ces nouvelles substances viennent par ailleurs s'ajouter à d'autres composés plus historiques mais dont la persistance et le caractère bioaccumulable font qu'ils sont toujours présents aujourd'hui tant dans l'environnement, la chaîne alimentaire et in fine chez l'Homme (Kortenkamp 2007, Zhou et al. 2010).

Les études scientifiques apparues depuis les années 1990 conduisent à rapprocher cette augmentation globale de l'exposition de l'Homme à ces différentes substances expliquant l'augmentation de l'incidence de certaines pathologies au sein des sociétés industrialisées. Il s'agit notamment de troubles touchant les fonctions de reproduction chez le nouveau-né/enfant (cryptorchidie, hypospadias), l'adolescent (puberté précoce) ou l'adulte (cancer du testicule, de l'ovaire, baisse de la qualité spermatique, perturbations des équilibres hormonaux). L'impact sur les fonctions de développement, des dérèglements métaboliques ou encore certains cancers hormono-dépendants (cancer de la prostate, cancer du sein), est également l'objet de travaux très actuels. L'ensemble des facteurs de risque connus de ces

pathologies (facteurs génétiques, mode de vie, alimentation …) ou encore l'amélioration des systèmes de dépistages n'expliquent pas à eux seuls cette augmentation assez rapide de la prévalence. L'implication du facteur environnemental est donc aujourd'hui fortement suspectée et représente un des champs en forte émergence dans le domaine de la santé environnementale. La mise en évidence chez l'homme in vivo d'une association, et surtout ensuite du lien de causalité entre exposition et pathologie, se heurtent toutefois à plusieurs niveaux de difficulté. Nous avons néanmoins souhaité étudier ce lien dans le cas d'une pathologie particulière faisant l'objet de peu d'études malgré une incidence également en forte augmentation et qui touche les fonctions de reproduction chez la femme, à savoir l'endométriose.

Dans un contexte général multi-causal, il existe en effet un faisceau d'arguments suggérant un lien entre les niveaux d'exposition interne à certains contaminants chimiques lipophiles, ou polluants organiques persistants (POPs), et l'endométriose. En effet, plusieurs études suggèrent une association entre l'exposition à certains contaminants organiques et cette pathologie. Des différences d'exposition géographiques et l'augmentation de la prévalence de la maladie dans certaines régions plaident ainsi pour l'existence de ce facteur environnemental (Koninckx et al. 1991, Carpenter et al. 2001). Néanmoins, les études disponibles restent globalement non convergentes, sont souvent difficiles à comparer entre elles, et in fine le niveau de preuve associé reste insuffisant.

Parmi les très nombreux contaminants chimiques existants, la grande classe des polluants organiques persistants (POP) fait l'objet d'une attention particulière en raison de leurs propriétés de bioaccumulation, biomagnification, et toxicologiques avérées. Au-delà des classes de polluants chimiques persistants les plus historiquement connus et étudiés, comme

les dioxines (PCDD/PCDF), les polychlorobiphényles (PCB), ou les pesticides organochlorés (OC), d'autres familles de contaminants environnementaux sont l'objet de préoccupations plus récentes, tant en termes de caractérisation des dangers (toxicologie) que des niveaux d'exposition des populations. C'est notamment le cas des retardateurs de flamme bromés (BFR) incluant les familles des polybromodiphényléthers (PBDE) et polybromobiphényles (PBB), l'hexabromocyclododecanne (HBCD) et le tétrabromobisphénol A (TBBPA). Si l'association entre l'exposition aux contaminants de type dioxines et PCB et l'endométriose a fait l'objet de plusieurs études, les études sur les pesticides organochlorés sont plus rares et celles sur les retardateurs de flammes bromées quasi-inexistantes au commencement de cette thèse.

Nous avons ainsi conçu une étude pilote Cas-Témoin monocentrique dont l'objectif est de décrire et évaluer le possible lien entre les niveaux d'exposition interne en POPs (dioxines, PCB, pesticides organochlorés et retardateurs de flamme bromés), déterminés dans le sérum et le tissu adipeux, et la présence d'endométriose. Cette étude a concerné une centaine de femmes de la région Nantaise, âgées de 18 à 45 ans et hospitalisées entre 2014 et 2015. L'objectif principal visait à comparer le niveau de concentration en polluants chez les cas atteints d'endométriose profonde par rapport aux sujets contrôles, en exploitant notamment des prélèvements de tissu adipeux réalisés au niveau épiploïque. Les objectifs secondaires étaient (1) de compléter les mesures réalisées à partir de tissus adipeux épiploïques par des mesures dans le sérum et dans le tissu adipeux sous-cutané (ou pariétal), afin de préciser, pour certaines des classes de substances considérées, les relations entre les trois compartiments biologiques (comparaison entre les deux types de tissu adipeux et comparaison entre niveaux de stockage versus niveaux circulants), et (2) d'analyser les corrélations entre les niveaux de

concentrations des différents contaminants et les caractéristiques topographiques de l'endométriose (endométriose profonde associée ou non à des localisations ovariennes).

Ce travail est le fruit d'une collaboration étroite entre le service de gynécologie du CHU de Nantes où les patientes ont été prises en charge, et le LABERCA (Laboratoire d'Etude des Résidus et Contaminants dans les Aliments) pour le volet caractérisation de l'exposition interne. La Direction de la Recherche Clinique du CHU a également participé sur le volet d'analyse et de retraitement statistique.

Dans la première partie de ce mémoire, nous présenterons, après un exposé des hypothèses physiopathologiques de l'endométriose, une synthèse de l'état des connaissances actuelles concernant l'endométriose et son lien avec le facteur environnemental. Dans une seconde partie, nous exposerons, sous forme d'un article accepté pour publication dans Environment International, les résultats obtenus concernant la distribution des POP recherchés au sein des trois compartiments biologiques considérés, mettant notamment en évidence l'intérêt d'un rapport entre les concentrations mesurées dans les compartiments de stockage (tissu adipeux) et circulant (sérum) comme nouveau marqueur intégratif d'intérêt. Nous présenterons enfin, sous forme d'un article soumis pour publication dans Human Reproduction, les résultats obtenus quant à l'association entre les niveaux d'exposition observés et l'endométriose dans ses différents phénotypes.

2 L'ENDOMETRIOSE ET LE FACTEUR ENVIRONNEMENTAL

2.1 L'ENDOMETRIOSE

2.1.1 Définition

L'endométriose est une maladie gynécologique hormono-dépendante, inflammatoire, qui se caractérise par la présence de tissu endométrial (glandes et stroma) en dehors de la cavité utérine. Il s'agit d'une maladie fréquente atteignant 5 à 10% des femmes en âge de procréer (Eskenazi et al. 1997, Koninckx 1999, Bulun 2009), dont 35 à 50% présentent des douleurs pelviennes chroniques associées et/ou une infertilité (Goldstein et al. 1980, Eskenazi et al. 1997, Meuleman et al. 2009). A des degrés divers, la symptomatologie est à type de dysménorrhées, dyspareunies, douleurs pelviennes chroniques et/ou infertilité. Certaines études évoquent toutefois une prévalence plus importante, des lésions pouvant être retrouvées de façon fortuite chez des patientes parfaitement asymptomatiques. Les localisations les plus fréquentes des lésions concernent la sphère génitale ce qui inclut le péritoine, les ovaires et les localisations profondes dites sous péritonéales, certainement les plus symptomatiques en terme de douleur et d'altération de la qualité de vie.

2.1.2 Physiopathologie

Il s'agit d'une maladie typiquement plurifactorielle. Plusieurs théories physiopathologiques ont été avancées dans la littérature. La plus largement acceptée a été proposée par Sampson dans les années 1920. Elle évoque le rôle du reflux rétrograde de

cellules endométriales dans la cavité péritonéale par les trompes lors des règles (Sampson 1927). Les cellules endométriales adhèrent ensuite au péritoine et se développent. Cependant cette hypothèse ne permet pas d'expliquer certaines localisations beaucoup plus rares, à distance en dehors de la cavité pelvienne (peau, nœuds lymphatiques, cerveau, œil…) (Bulun 2009). Par ailleurs, d'autres formes de la maladie ne peuvent être expliquées par cette théorie, notamment les formes retrouvées chez des femmes porteuses du syndrome de Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser caractérisées par une aplasie de l'utérus et d'une partie du vagin (Balci et al. 2008).

L'implantation ectopique de cellules endométriales est possible grâce des interactions complexes entre le tissu hôte et les cellules épithéliales endométriales. Plusieurs conditions sont alors nécessaires pour cette implantation : la survie des cellules endométriales, leur adhésions et leur infiltration au niveau du tissu hôte ; elles vont ensuite induire une angiogénèse et une lymphangiogénèse puis proliférer (Nisolle et al. 2007). Cette prolifération est liée aux estrogènes circulants mais également à une production locale d'estradiol au sein des implants endométriosiques en rapport avec une conversion des androgènes en estradiol sous l'effet de l'aromatase (Bulun et al. 2000). Le tissu hôte sera ensuite responsable d'une fibrose secondaire à cette implantation. Ces interactions complexes entre le tissu hôte et les cellules endométriales sont similaires au développement des processus tumoraux (Fidler 2003).

Si aujourd'hui la pathogénie de l'endométriose donne lieu à de multiples interrogations, il est classique d'opposer plusieurs types d'endométriose suivant la localisation des lésions, leur histologie et même leur hypothèse physiopathologique (Nisolle et al. 1997). On distinguera ainsi trois entités que sont l'endométriose péritonéale,

l’endométriose ovarienne et l’endométriose profonde (figure 1). Chacune de ces formes peut exister de façon isolée chez une même patiente ou cohabiter. L’évolution qui conduit aux lésions d’endométrioses symptomatiques demeure mal connue. La découverte fortuite d’une endométriose minime asymptomatique n’a pas de valeur pathologique connue et, chez les patientes non traitées, l’évolution peut être spontanément favorable. La principale classification utilisée pour l’endométriose est celle de l'American Fertility Society (AFS), définie en 1985 et révisée en 1996. Celle-ci est basée sur l’observation, en per opératoire, des implants d’endométriose au niveau du péritoine et/ ou des ovaires. Le stade de l’atteinte endométriosique est fonction de son étendue et de sa profondeur. Les adhérences sont également intégrées à ce score qui tient compte de leur densité. Quatre stades de sévérité croissante sont ainsi définis : minime (stade I), modérée (stade II), moyenne (stade III), et sévère (stade IV). Cette classification ne prend, cependant, pas en compte le caractère évolutif de la maladie.

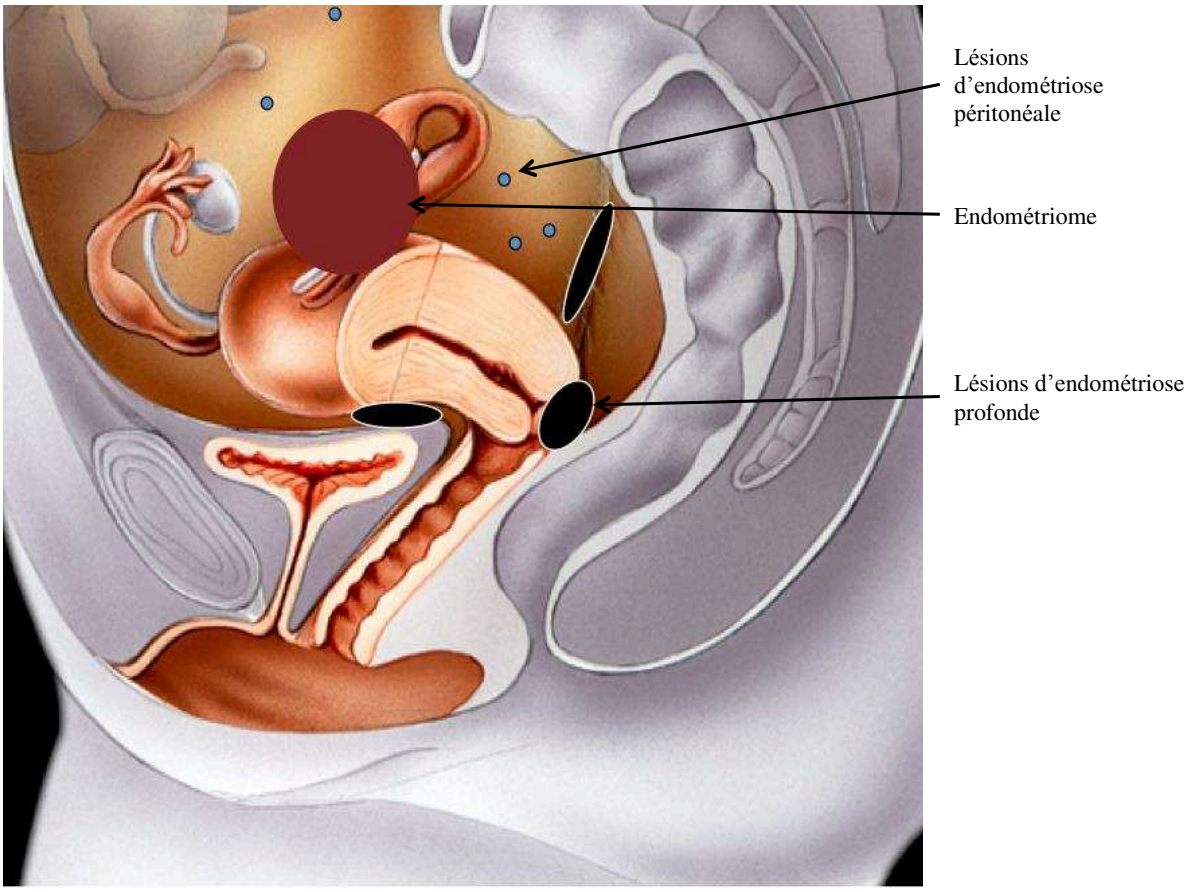


Figure 1 : Différentes localisations pelviennes de l'endométriose

2.1.2.1 L'endométriose péritonéale

Les lésions péritonéales sont les plus fréquentes. Elles sont constituées de stroma et de glandes endométriales. L'une des causes historiquement reconnues de cette forme est le reflux tubaire de cellules endométriales pendant les règles qui s'implantent secondairement au niveau du péritoine (Sampson 1927). Certains modèles in vitro et in vivo ont montré la capacité des cellules endométriales à adhérer au péritoine (Aoki et al. 1994). D'ailleurs, l'interaction entre les cellules stromales et les cellules glandulaires est indispensable à ce phénomène (Beliard et al. 2002).

Si beaucoup de femmes ont un reflux de sang menstruel par les trompes, peu d'entre elles développent la maladie. Des facteurs de susceptibilité individuelle doivent donc intervenir dans le développement de cette maladie (Giudice 2010). Il existe 3 types de lésions péritonéales en fonction de l'évolution de la maladie : les lésions rouges, les lésions noires et les lésions blanches (figure 2) (Nisolle et al. 1993, Brosens 1997, Strehl et al. 2014).

- Les lésions rouges :

Il est actuellement admis que les lésions rouges représentent le premier stade de l'endométriose péritonéale. L'aspect laparoscopique s'apparente à des flammèches rouges, des excréscences glandulaires ou des zones d'hypervascularisation. Des études ont montré de franches similitudes entre les lésions rouges d'endométriose et l'endomètre normal (Nisolle et al. 1997). Un rôle différent peut être attribué aux cellules stromales et aux glandes endometriales : les cellules stromales seraient responsables de la phase d'adhésion de l'endomètre au péritoine. Les cellules épithéliales, quant à elles seraient responsables de la prolifération de la lésion d'endométriose (Nisolle et al. 2000, Nisolle et al. 2000). Certaines cytokines et facteurs de croissance (interleukines 1 et 6, TNF-α, TGF-β) sont indispensables à ces phénomènes d'adhésions (Beliard et al. 2003). Les lésions rouges présentent une vascularisation et une activité proliférative comparables à celles de l'endomètre eutopique. L'endomètre ectopique est hormono-dépendant, ce qui explique la rythmicité de la symptomatologie en fonction du cycle, l'apparition des lésions sous traitement estrogénique, l'involution des implants après la ménopause et leur réactivation par le traitement hormonal substitutif de la ménopause.

- Les lésions noires:

Elles s'accompagnent d'une inflammation et d'une fibrose plus ou moins intense, expliquant alors les images stellaires de rétraction péri-lésionnelle ou encore des adhérences péritonéo-tubo-ovariennes.

- Les lésions blanches :

Par la suite, les lésions deviennent de moins en moins actives prenant l'aspect de cicatrices aboutissant à des séquelles péritonéales blanchâtres.

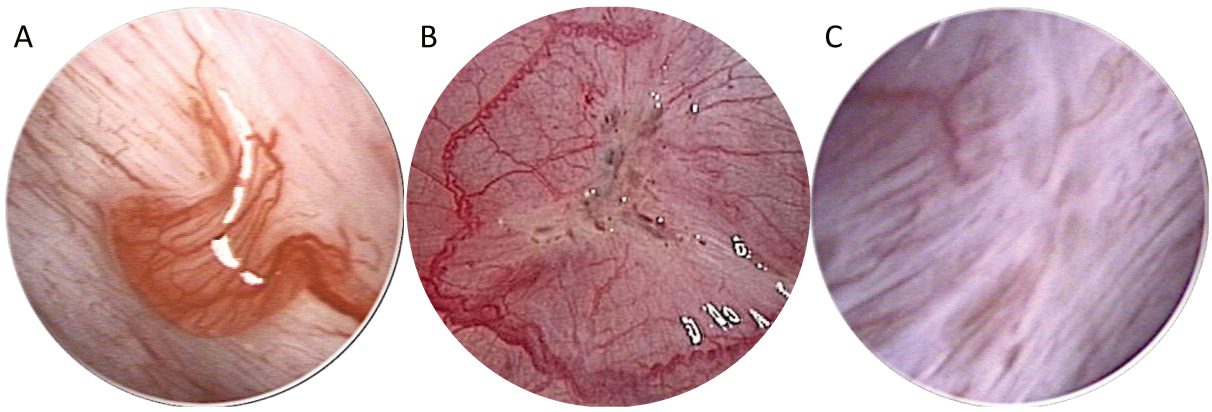


Figure 2 : Différents aspects laparoscopiques de l'endométriose péritonéale (A) rouge, (B) noire, (C) blanche

2.1.2.2 L'endométriose ovarienne :

La prévalence des endométriomes ovariens (kystes ovariens d'endométriose) est de 17 à 44% des patientes souffrant d'endométriose (Jenkins et al. 1986, Redwine 1999, Busacca et al. 2003). Ils sont situés au niveau de l'ovaire gauche dans environ 60% des cas (Vercellini et al. 2002, Ferrero et al. 2005, Leone Roberti Maggiore et al. 2015). Concernant l'endométriose

ovarienne, deux théories sont avancées. L'une d'elles défend le développement des kystes à partir d'implants superficiels se trouvant au niveau des fossettes ovariennes dont les adhérences avec l'ovaire créeraient un espace fermé à l'intérieur duquel s'accumulerait progressivement le sang menstruel (Hughesdon 1957). D'après une théorie plus récente, ces kystes seraient liés à des invaginations du mésothélium situé à la surface de l'ovaire, suivie par une métaplasie coelomique du tissu invaginé (Nisolle et al. 1997). Le revêtement épithélial de la cavité coelomique posséderait un potentiel de métaplasie en tissu endométrial sous l'influence d'une irritation répétée (infectieuse, hormonale ou par le reflux menstruel). Le liquide kystique est décrit comme ayant l'aspect de « chocolat épais » (figure 3).

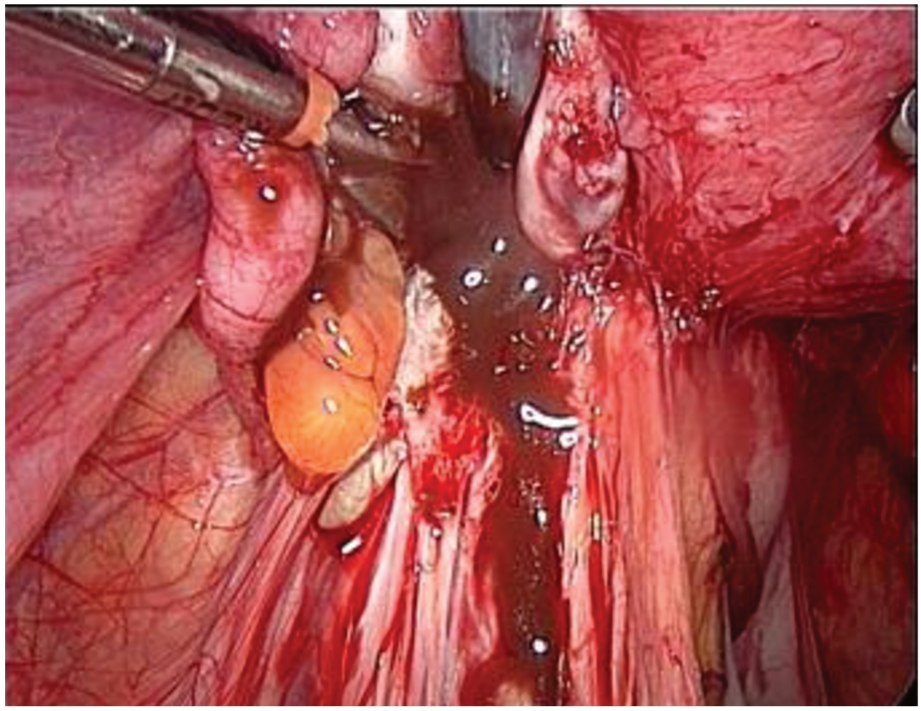


Figure 3 : Aspect laparoscopique du contenu d'un kyste ovarien d'endométriose (endométriome)

2.1.2.3 L'endométriose profonde

Les lésions profondes, sans doute les plus symptomatiques, sont dites sous-péritonéales. Il s'agit de nodules fibreux mal limités constitués à plus de 75% de fibres musculaires lisses avec, en leur sein, des glandes et du stroma endométriale. L'endométriose profonde est définie comme une lésion endométriosique (glandes et stroma) pénétrant dans l'espace rétro-péritonéal et/ou dans la paroi des organes pelviens à une profondeur d'au moins 5 mm (Nisolle et al. 2007).

Ces lésions se trouvent le plus souvent au niveau du compartiment postérieur, cul de sac de Douglas, cloison recto-vaginale, cul de sac vaginal postérieur, ligaments utéro-sacrés, face antérieure et latérale du rectum et du sigmoïde (figure 4). Il est aussi classique, quoique plus rare, de retrouver des lésions profondes au niveau du compartiment antérieur, dôme vésical et cloison vésico-vaginale. La physiopathologie de cette forme profonde est source de controverses. L'origine des lésions est en fait typiquement multifactorielle intriquant des phénomènes immunitaires, embryonnaires, environnementaux et génétiques.

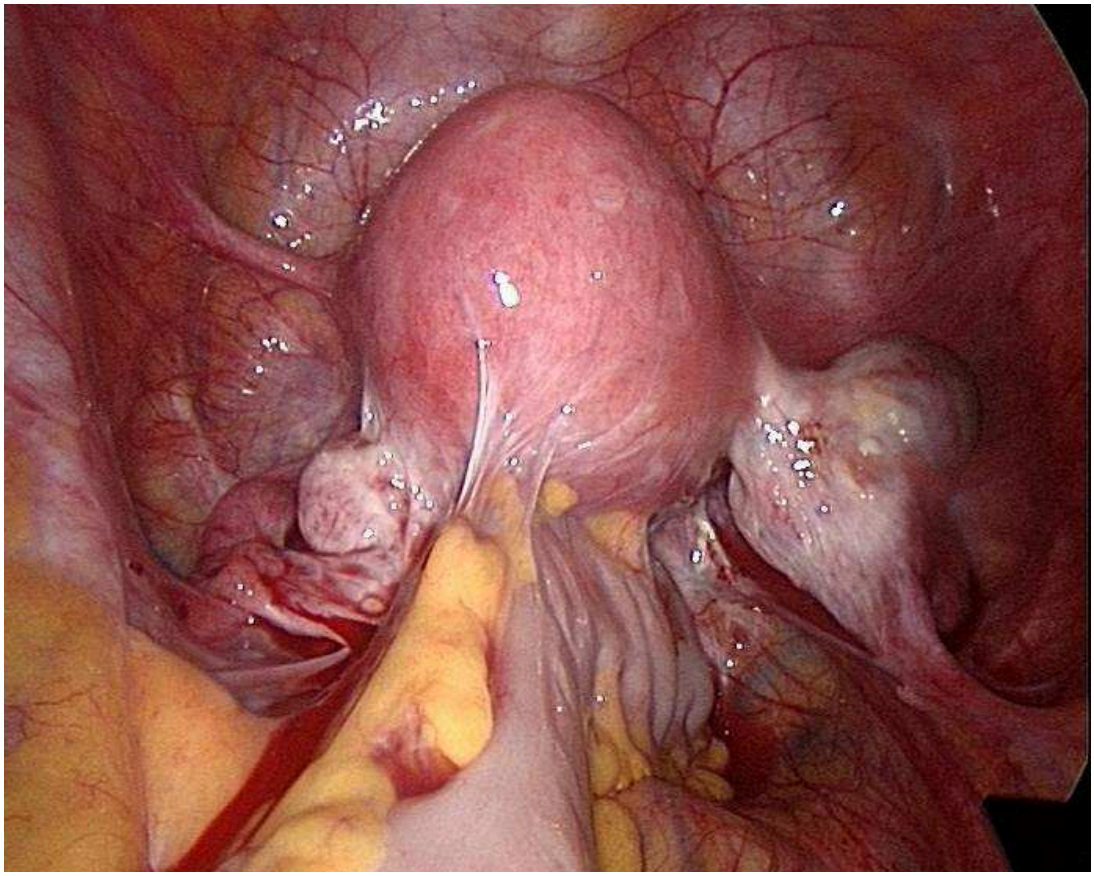


Figure 4 : Aspect laparoscopique d'une endométriose du compartiment postérieur. Adhérences au niveau du compartiment postérieur entre la face antérieure du rectum, du colon sigmoïde et l'isthme utérin

Deux grandes théories sont avancées pour expliquer l'endométriose profonde. D'autres théories ont été évoquées mais elles sont moins consensuelles et communément admises. Histologiquement, les nodules endométriosiques profonds peuvent être considérés comme de l'adénomyose, constitués de muscle lisse avec épithélium glandulaire actif et stroma rares.

- La théorie du « deep infiltrating endometriosis »

Pour Koninckx et Martin, l'endométriose du Douglas peut avoir trois origines différentes : l'infiltration d'une lésion superficielle (lésion conique sans cloisonnement du Douglas), la rétraction du Douglas autour d'une lésion (lésion recouverte d'adhérences denses) et l'adénomyose externe (lésion sphérique du septum rectovaginal) (Koninckx et al. 1992).

- La théorie de la métaplasie de restes müllériens

La Théorie de la Mullerianose ou théorie des restes embryonnaires consiste en l'incorporation de tissu endométrial au cours de l'organogénèse. Cette théorie se base sur le fait que des implants endométriaux ont été retrouvés aux sites habituellement concernés lors d'autopsies fœtales. Les résultats immunocytochimiques montrent une faible différenciation et l'indépendance hormonal de ces lésions et indiquent une relation étroite avec le mésoderme d'origine müllerien (Nisolle et al. 1997, Donnez et al. 2002).

2.1.2.4 Arguments pour une origine rétro-péritonéale

Il apparaît que l'endométriose profonde possède un développement sous-péritonéal, contrairement aux lésions péritonéales et ovariennes qui se développent dans la cavité péritonéale. En effet, les nodules profonds ont une propension marquée à infiltrer les organes voisins et l'espace rétropéritonéal. Ils concernent souvent le compartiment postérieur, la vessie, ou le système digestif (Bulun 2009). Les lésions d'endométriose profonde peuvent infiltrer également des nerfs de l'espace pelvi-sous-péritonéal (Anaf et al. 2002). Par ailleurs ces lésions sous-péritonéales sont isolées dans environ 28% des cas sans endométriose péritonéale ou ovarienne associées. De plus, l'évaluation de l'expression des récepteurs aux l'œstrogènes, à la progestérone et à l'androgène dans des lésions endométriosiques a montré une importante variabilité d'expression en fonction de la localisation mais aussi au sein d'une même lésion (Donnez et al. 1997, Brandenberger et al. 1999, Attia et al. 2000, Xue et al. 2007). En effet, les lésions sous péritonéales profondes ont une faible expression des récepteurs aux estrogènes et à la progestérone, expliquant ainsi la mauvaise réponse au traitement médical.

2.1.2.5 Origine multifactorielle

L'origine des lésions d'endométriose est en fait typiquement multifactorielle intriquant des phénomènes hormonaux, génétiques et environnementaux (Olive et al. 1993, Bulun 2009).

- Facteurs hormonaux

Le développement de l'endométriose est associé à des facteurs hormonaux. L'évolution de la maladie semble en rapport avec une expression aberrante de diverses molécules intervenant dans la croissance et la différenciation cellulaire, comprenant les métalloprotéases, l'aromatase, les facteurs de croissance, certaines oncoproteines (c-myc et c-erbB-2) et les récepteurs stéroïdiens. Ces derniers sont d'une grande importance en raison de l'hormono-dépendance des lésions.

- Facteurs génétiques

La contribution de la composante génétique dans la physiopathologie de l'endométriose est soutenue par un certains nombres d'études (Stefansson et al. 2002, Treloar et al. 2002, Dun et al. 2010, Kopelman et al. 2016). Un antécédent d'endométriose sévère chez une parente du premier degré pourrait ainsi multiplier par 6 le risque de développer la pathologie. Les études familiales ont montré que cette condition se transmet à la descendance selon le mode polygénique et multifactoriel (Nisolle et al. 2003). La présence de certains gènes (gènes suppresseurs de tumeurs) dans des conditions environnementales particulières pourrait favoriser le développement de la pathologie.

- Facteurs environnementaux

Comme nous l'avons expliqué plus haut, l'endométriose présente un caractère hormono-dépendant. Il est donc légitime de soulever l'hypothèse d'un impact des substances ayant la capacité de se lier aux principaux récepteurs nucléaires (dont les récepteurs aux estrogènes et aux hydrocarbures aromatiques polycycliques) et/ou de perturber la nature, la synthèse et la régulation des hormones naturelles. Or, un nombre croissant de contaminants environnementaux est identifié comme pouvant avoir ces propriétés, via un caractère de perturbateurs endocriniens. En l'état actuel des connaissances, la communauté scientifique s'interroge donc sur le rôle éventuel de ces molécules dans la pathogénèse de l'endométriose. Cette question fait l'objet du travail présenté dans cette thèse.

2.1.3 Diagnostic

2.1.3.1 Clinique

Le diagnostic de l'endométriose est fait - ou sinon fortement suspecté - par l'interrogatoire et l'examen clinique. Les lésions d'endométriose peuvent être responsables de symptômes douloureux divers (dysménorrhées, dyspareunie…) mais absolument non spécifiques de la maladie. Le caractère cyclique des symptômes peut être évocateur mais au cours de son évolution, le caractère douloureux dépasse la période des règles et les douleurs deviennent chroniques et non cycliques. Le délai entre le début des symptômes et le diagnostic est très souvent de plusieurs années (Dmowski et al. 1997, Arruda et al. 2003, Husby et al. 2003, Brosens et al. 2013), d'autant plus que certaines formes peuvent apparaître de façon précoce dès l'adolescence (Brosens et al. 2013). L'existence d'une symptomatologie

douloureuse pelvienne sévère et persistante doit conduire à rechercher la maladie. L'analyse sémiologique des symptômes douloureux est très importante pour la prise en charge diagnostique et thérapeutique de la maladie. Ceci est d'autant plus important que si le diagnostic n'est pas porté de façon précoce, la symptomatologie peut s'enrichir de symptômes que l'on a du mal à rapporter à la maladie elle-même. Ces symptômes, ainsi que les discordances entre l'importance de la symptomatologie douloureuse et l'importance des lésions d'endométriose, peuvent-être liée aux phénomènes d'hypersensibilisation qui entretiennent certaines douleurs chroniques.

L'examen physique pelvien est capital pour le diagnostic de lésions d'endométriose sous-péritonéale profonde ou de kystes endométriosiques. Cet examen peut parfois être normal. Sa pertinence est meilleure en période menstruelle. L'examen du cul de sac vaginal postérieur au spéculum, par le toucher vaginal et éventuellement le toucher rectal peut permettre le diagnostic d'endométriose profonde sous-péritonéale.

2.1.3.2 Les examens d'imagerie

Ils doivent être réalisés par des opérateurs experts dans le domaine de la pathologie pelvienne. L'échographie pelvienne par voie endovaginale permet de faire le diagnostic des kystes ovariens d'endométriose (endométriome). Elle doit également s'attacher à explorer le cul de sac vésico utérin, le cul de sac de Douglas et la cloison recto-vaginale où peuvent se situer les nodules profonds.

Pour l'IRM demandée dans le cadre de l'endométriose, il faut un cahier des charges précis pour que l'examen soit performant. Elle permet de réaliser une cartographie précise des

lésions d'endométriose sous-péritonéale profonde et peut donc être prescrite dans le cadre du bilan préopératoire. Elle peut aussi être réalisée en cas d'examen clinique non concluant afin d'éliminer l'endométriose de façon formelle.

L'écho-endoscopie rectale est intéressante en préopératoire dans le cas d'un nodule d'endométriose sous-péritonéale profonde du septum recto-vaginal pour évaluer l'infiltration de la musculeuse rectale en préopératoire.

En cas d'endométriose profonde sous-péritonéale et dans le cadre du bilan pré-opératoire, le colo-scanner peut être proposé afin d'éliminer des localisations digestives non visibles sur l'IRM. Il s'agit de certaines localisations sigmoïdiennes et caeco-appendiculaires. Cet examen permet aussi de vérifier l'intégralité des voies urinaires. Les uretères peuvent souvent être attirés sur la ligne médiane en cas de nodule profond postérieur volumineux ou latéralisé. Elle permettra de mettre en évidence une éventuelle urétéro-hydronéphrose par compression extrinsèque de l'uretère (Donnez et al. 2002).

2.2 LE FACTEUR ENVIRONNEMENTAL DANS L'ENDOMETRIOSE

Une revue systématique a été réalisée à partir de la banque de données « PubMed » entre 1966 et juin 2016. Les différents mots clés suivants ont été utilisés : « endocrine-disrupting chemicals », « organochlorine pesticides », « persistent organochlorine pollutants », « polybrominated diphenyl ethers », « polychlorinated biphenyls », « dioxins », « persistent organic pollutants », couplés avec le mot clé « endometriosis ». Pour être retenues, les études cas-témoins et de cohorte devaient fournir une méthodologie clairement décrite ainsi que des calculs de risque. Les principales caractéristiques de ces différentes études sont présentées en Annexes 2 à 6, incluant le type de l'étude, le design, les effectifs, les éventuels facteurs d'ajustement ou d'appariement, les toxiques mesurés, la nature des prélèvements utilisés pour la caractérisation de l'exposition (sérum, tissu adipeux, liquide péritonéal), les limites et les résultats.

Notre recherche bibliographique a initialement identifié 199 articles. Le processus de sélection est illustré dans l'annexe 1 (Flow Chart). Après élimination des duplicata nous avons retrouvé 151 articles. Les articles non rédigés en anglais, les travaux non originaux, les études sur l'animal et les études portant uniquement sur des contaminants non persistants (phtalates, bisphénols) ont été écartés. Nous avons donc examiné in fine 24 manuscrits. Deux manuscrits ont été écartés, l'un car la méthodologie employée n'était pas décrite de façon satisfaisante (Bois et al. 1994), l'autre car son objectif était de rechercher des facteurs alimentaires pouvant être associés à l'endométriose (Heilier et al. 2007). Les 22 études restantes étaient de type cas-témoins ou cohorte multicentrique. Nous avons ensuite étudié les manuscrits en fonction des contaminants étudiés.

Concernant l'étude des dioxines et des PCB (annexe 2 et 3), 13 études portaient sur l'analyse exclusive des dioxines et PCB dioxine-like (dl-PCB) ou non-dioxine-like (ndl-PCB) (Mayani et al. 1997, Pauwels et al. 2001, Eskenazi et al. 2002, Fierens et al. 2003, De Felip et al. 2004, Heilier et al. 2004, Heilier et al. 2005, Louis et al. 2005, Porpora et al. 2006, Simsa et al. 2010, Trabert et al. 2010, Cai et al. 2011, Martinez-Zamora et al. 2015). Sept associaient l'étude de ces éléments avec d'autres contaminants (Lebel et al. 1998, Tsukino et al. 2005, Reddy et al. 2006, Hoffman et al. 2007, Niskar et al. 2009, Porpora et al. 2009, Buck Louis et al. 2012).

Concernant l'étude des pesticides organochloré (annexe 4 et 5), 2 études portaient sur les pesticides organochlorés seuls (Cooney et al. 2010, Upson et al. 2013), 5 associaient l'étude de certains pesticides organochlorés avec d'autres contaminants (Lebel et al. 1998, Tsukino et al. 2005, Niskar et al. 2009, Porpora et al. 2009, Buck Louis et al. 2012).

Concernant les retardateurs de flammes (annexe 6), nous avons trouvé seulement 2 études qui évaluaient l'implication des RFB, associés à d'autres contaminants (Hoffman et al. 2007, Buck Louis et al. 2012).

2.2.1 Dioxines et PCB

Les dioxines et les polychlorobiphényles (PCBs) sont des hydrocarbures halogénés aromatiques chimiquement stables et lipophiles. La contamination humaine par ces polluants environnementaux se fait surtout par voie alimentaire (Van den Berg et al. 2006). De par leur capacité à se bioaccumuler, en particulier dans les tissus gras, leur niveau de concentration dans les principaux compartiments biologiques augmente avec l'âge. Il diminue au contraire

après l'accouchement et l'allaitement (Uemura et al. 2008). L'exposition à ces contaminants est susceptible d'entrainer des bouleversements immunitaires, endocrines avec un impact notamment sur les fonctions métaboliques, les fonctions de reproduction et de développement (Safe 1990, Arisawa et al. 2005, Van den Berg et al. 2006). La concentration de ces contaminants dans le tissu adipeux ou le sérum est communément exprimée en « Toxic Equivalent (TEQ) », valeur qui agrège les concentrations, pondérées par leurs toxicités relatives, des différents congénères représentant la classe de substance concernée.

Nous avons retrouvé 20 études recherchant une association entre les niveaux d'exposition aux dioxines et/ou PCB et l'endométriose (Annexes 2 et 3). Huit d'entre elles n'ont pas retrouvé de relation significative, toutes réalisées à partir de prélèvements sanguins (Lebel et al. 1998, Pauwels et al. 2001, Eskenazi et al. 2002, Fierens et al. 2003, De Felip et al. 2004, Tsukino et al. 2005, Hoffman et al. 2007, Niskar et al. 2009). Deux études rapportent une association inverse entre les concentrations de contaminants et l'endométriose, l'une à partir de dosages sériques (Trabert et al. 2010), l'autre à partir de dosages réalisés sur tissu adipeux épiploïque (Buck Louis et al. 2012).

Les dix études restantes ont montré un risque d'endométriose significativement plus élevé chez les femmes ayant des concentrations élevées de dioxines et PCB. En dehors de deux études où les dosages ont été réalisés dans le tissu adipeux (Martinez-Zamora et al. 2015) ou le liquide péritonéal (Cai et al. 2011), la grande majorité des autres études a concerné des prélèvements sériques (Mayani et al. 1997, Heilier et al. 2004, Heilier et al. 2005, Louis et al. 2005, Porpora et al. 2006, Reddy et al. 2006, Porpora et al. 2009, Simsa et al. 2010).

Parmi ces 20 études, 5 sont des études de cohorte et aucune d'entre elles ne retrouvent d'association. Deux d'entre elles possèdent un effectif de cas significatifs supérieur à 200 (Trabert et al. 2010, Buck Louis et al. 2012).

Bien que certaines études retrouvent des Odd Ratio ou des Risques Relatifs élevés pour l'endométriose, les intervalles de confiance incluent fréquemment 1. Néanmoins, pour la TCDD et les PCB « dioxin-like », plusieurs études rapportent des Odd Ratio supérieurs à 3 (Mayani et al. 1997, Heilier et al. 2005, Louis et al. 2005, Porpora et al. 2006, Reddy et al. 2006, Simsa et al. 2010, Cai et al. 2011). Un risque relatif supérieur à 3 (3,77 ; 95%CI : 1,12-12,68) est même retrouvé dans le troisième tertile pour l'exposition au PCB anti-estrogénique (congénères 105, 114, 126 et 169 d'après la classification de Cooke et al. 2001) (Louis et al. 2005). Une autre étude retrouve des taux plus élevés de PCB « dioxin-like » mais aussi « non dioxin-like » chez les femmes atteintes par rapport aux contrôles (OR=4,0 ; 95%CI : 1,3-13) (Porpora et al. 2006). Une seule étude donne des résultats en fonction du type d'endométriose et sa localisation, avec des taux plus élevés de contaminants « dioxin-like » en cas d'endométriose profonde (OR=3,3 ; 95%CI : 1,4-7,6) par rapport au patientes présentant de l'endométriose péritonéale (OR=1,9 ; 95%CI : 0,9-3,8) (Heilier et al. 2005). La comparaison de ces différentes études est toutefois difficile en raison d'une disparité en termes d'effectif, de population cible, de méthodologie, et de panel de congénères étudiés.

2.2.2 Pesticides organochlorés

Les pesticides organochlorés (OC) sont des substances dont certaines ont été largement utilisées durant la deuxième moitié du 20ème siècle. Certains d'entre eux dont l'hexachlorobenzène (HCB) ont été utilisés principalement comme agent antimicrobien et

antifongique. Malgré leur interdiction ou restriction d'usage, ils restent détectables dans le sérum et le tissu adipeux car persistant dans l'environnement et accumulés dans l'organisme. Si l'on excepte l'exposition directe occupationnelle, la principale voie d'exposition de l'Homme est la voie alimentaire, en particulier la consommation d'aliments gras, par exemple le poisson et les produits laitiers (Patterson et al. 2009). Les sources plus mineures d'exposition pour la population générale sont la contamination de l'eau potable et de l'air.

Il semble exister un faisceau d'arguments qui évoque une relation de cause à effet entre endométriose et exposition aux contaminants organiques organochlorés. Cette relation à été mise en évidence à la fois chez les primates (Crain et al. 2008), mais aussi dans quelques études réalisées chez la femme. Malgré tout, l'impact de ces substances sur le risque d'endométriose reste non définitivement établi. Les études (peu nombreuses) ayant étudié cette association montrent en effet des résultats souvent équivoques et contradictoires. En dehors d'une étude (Buck Louis et al. 2012), toutes sont basées sur des niveaux d'exposition sériques (Annexes 4 et 5). Parmi les études recherchant ce lien éventuel entre pesticides organochlorés et endométriose, on retrouve deux études de cohortes et toutes deux retrouvent une association positive et significative (Buck Louis et al. 2012, Upson et al. 2013). Le type d'endométriose étudié, sa sévérité et la confirmation chirurgicale de l'absence d'endométriose chez les populations témoins ne sont néanmoins pas renseignés. En effet, concernant le diagnostic de certitude de la maladie, le gold standard reste la visualisation des lésions (Kennedy et al. 2005). Certains covariants ont été pris en compte (le BMI, la parité, l'allaitement), et le nombre de contaminants étudiés est relativement important, incluant les OC les plus communément recherchés. Upson retrouve une association positive avec la présence de β-HCH et de mirex dans le tertile supérieur et ceci surtout pour les localisations ovariennes de l'endométriose (Upson et al. 2013). Buck Louis retrouve la même association

pour le β-HCH dans une cohorte de patientes non opérées et pour lesquelles le diagnostic d'endométriose a été porté sur l'IRM. Il retrouve également une association positive avec le γ-HCH dans une cohorte de patientes opérées avec confirmation per-opératoire du diagnostic (Buck Louis et al. 2012). En dehors du fait qu'il n'y ait pas eu d'appariement à proprement parlé dans ces études, il est probable que la taille de l'effectif soit un biais majeur. Effectivement, dans son étude de cohorte de 127 femmes Buck Louis rapporte un OR ajusté de 1,72 (95% CI : 1,09-2,72) pour le β-HCH (Buck Louis et al. 2012). De la même façon, Upson retrouve sur une population cas de 248 patientes un OR de 2,5 (95% CI : 1,1-5,3) pour le tertile supérieur (Upson et al. 2013). Il retrouve également une association probable entre un risque accru d'endométriose et une concentration sérique de mirex augmentée, OR 1,5 (95% CI : 1,0-2,2). Ce composé n'était pas recherché par Buck Louis. Le mirex a été utilisé dans les années 60 et 70 dans le cadre de d'un programme d'éradication des fourmis rouges de façon massive dans le sud-est des Etats-Unis. Il a été également beaucoup utilisé comme ignifuge. Avec une demi-vie environnementale de plus de 10 ans, le mirex est considéré comme l'un des pesticides les plus stables et persistants (Kearney et al. 1999). Il existe des populations exposées à des concentrations élevées de mirex comme celles qui consomment des poissons contaminés (région des grands lacs, régions arctique) (Kearney et al. 1999, Van Oostdam et al. 2004). L'implication du mirex n'est pas retrouvée par les études cas-témoins de plus petits effectifs. Associé à l'absence d'appariement, la puissance de ces études est probablement trop faible pour trouver une association (Lebel et al. 1998, Kearney et al. 1999, Tsukino et al. 2005).

Le travail d'Upson est le seul à avoir présenté des sous-groupes en fonction de la localisation de l'endométriose et il semble que la concentration sérique en β-HCH soit en rapport avec une augmentation de la prévalence de l'endométriose ovarienne seulement (Upson et al. 2013).

Deux autres études (cas-témoins) retrouvent une association entre pesticides organochlorés et endométriose. Les résultats de Cooney et al. (2010) suggèrent une augmentation du risque pour les pesticides HCB et le trans-nonachlor. Aldrin et β-BHC seraient également associés à un risque accru d'endométriose mais de façon non significative (Cooney et al. 2010). Le nombre de contaminants étudiés dans cette étude est toutefois limité. Porpora et al. (2009), sur une série incluant l'analyse d'une population plus large de contaminants incluant les PCB ont recherché une relation entre l'endométriose et deux OCP (HCB et pp'DDE). Une association a été retrouvée entre le niveau de concentration sérique de pp'DDE et le risque d'endométriose (p=0,01) (Porpora et al. 2009). Malgré des effectifs statistiquement identiques, Lebel et Tsukino n'ont pas retrouvé d'association entre les pesticides organochlorés et la présence d'endométriose (Lebel et al. 1998, Tsukino et al. 2005).

2.2.3 Retardateurs de flammes bromés

Au-delà des classes de polluants chimiques persistants les plus historiquement connus et étudiés, comme les dioxines, les PCB et à un moindre degré les pesticides organochlorés, les retardateurs de flamme bromés (RFB) sont une famille de contaminants plus émergents. Ils sont également lipophiles et bio-accumulables dans le tissu adipeux. La production et l'utilisation de ces substances chimiques ont débuté au milieu du 20ème siècle, afin de limiter l'inflammabilité de certains matériaux combustibles, via une diminution du risque de départ de feu et/ou un freinage du processus de combustion. Il existe aujourd'hui de nombreux types de retardateurs de flamme, agissant soit par voie chimique soit par voie physique, ceux-ci étant incorporés dans les produits et matériaux concernés (textiles, rideaux, vêtements, sièges,

plastiques, mousses, capitonnages, résines, circuits imprimés, câbles, téléviseurs, ordinateurs,…) à des teneurs massiques allant en général de 5 à 20 %. Les retardateurs de flamme bromés représentent 30 % des retardateurs de flamme utilisés au niveau européen. Trois groupes chimiques dominent les usages courants : les polybromodiphényléthers (PBDE), le 1,2,5,6,9,10 hexabromocyclododécane (HBCD) et le tétra-bromo bisphénol A (TBBPA).

La production de certains RFB a été stoppée en Europe durant ces dernières années, en raison de la mise en évidence ou de la suspicion de certains éléments préoccupants pour la santé de l'homme. Ces préoccupations sont liées à de fortes similarités avec les substances précédemment citées (dioxines, PCB) au plan de leurs propriétés physico-chimiques et toxicologiques. La production et l'usage industriel des RFB aboutissent à leur dissémination dans l'environnement, incluant l'air, le sol et l'eau. Ces contaminants peuvent ensuite entrer dans la chaîne alimentaire, où ils sont présents principalement dans les aliments d'origine animale, tel que le poisson, la viande, le lait et les produits dérivés. A l'inverse d'autres POP, leur présence s'est accrue ces dernières décennies dans l'environnement, dans la faune, mais également chez l'Homme (Antignac et al. 2009, Frederiksen et al. 2009).

Les études épidémiologiques sont encore trop peu nombreuses pour conclure à un rôle possible des RFB sur l'altération de la fonction de reproduction dans l'espèce humaine. Néanmoins, certaines suggèrent des résultats préoccupants (augmentation du délai d'obtention d'une grossesse spontanée, perturbation des taux d'hormones LH, cryptorchidie,…) qui doivent être confirmés ou infirmés par de nouveaux travaux (Chao et al. 2007, Harley et al. 2010). Les données de la littérature restent toutefois très lacunaires sur leur possible implication dans la physiopathologie de l'endométriose.

Les travaux concernant la recherche d'un lien entre exposition et endométriose sont présentés en Annexe 6. Seuls deux études se sont intéressées à l'éventuelle association de ces contaminants émergeants avec l'endométriose (Hoffman et al. 2007, Buck Louis et al. 2012). L'une porte sur une exposition accidentelle à l'hexabromodiphényle dans les années 70 (Hoffman et al. 2007). Sur les 943 participantes, 79 souffraient d'endométriose, et sur ces 79 patientes seuls 46 dossiers ont pu être étudiés ; l'endométriose était confirmée par la chirurgie chez seulement 37 d'entre elles. Aucune corrélation n'a été mise en évidence entre l'exposition et la maladie.

L'étude de cohorte de Buck Louis étudiait également, outre les pesticides organochlorés et les PCB, certains retardateurs de flammes (PBDE) (Buck Louis et al. 2012). Les niveaux de PBDE-47 dans le tissu adipeux sont apparus inversement associés au diagnostic d'endométriose dans la cohorte opératoire (AOR = 0,70; 95% CI: 0,55-0,90).

2.2.4 Modes d'action des contaminants organiques dans la physiopathologie de l'endométriose.

Le rôle des contaminants organiques persistants dans la physiopathologie de l'endométriose a fait l'objet de plusieurs travaux notamment en ce qui concerne les dioxines et les PCB (Rier et al. 1993, Heilier et al. 2004). Bien que les mécanismes précis de l'implication de ces polluants dans l'apparition de l'endométriose échappent encore largement à la connaissance, certains modes d'action commencent à être acceptés par la communauté scientifique. Ces contaminants agissent soit comme perturbateurs endocriniens, soit comme toxiques immunitaires ou pro-oxydants. Plusieurs mécanismes impliquant les contaminants organiques peuvent intervenir dans la physiopathologie de l'endométriose (Bulun 2009, Aris et al. 2010). La figure 5 synthétise les différents modes d'action des xénobiotiques et contaminants organiques persistants possiblement impliqués dans la physiopathologie de l'endométriose.

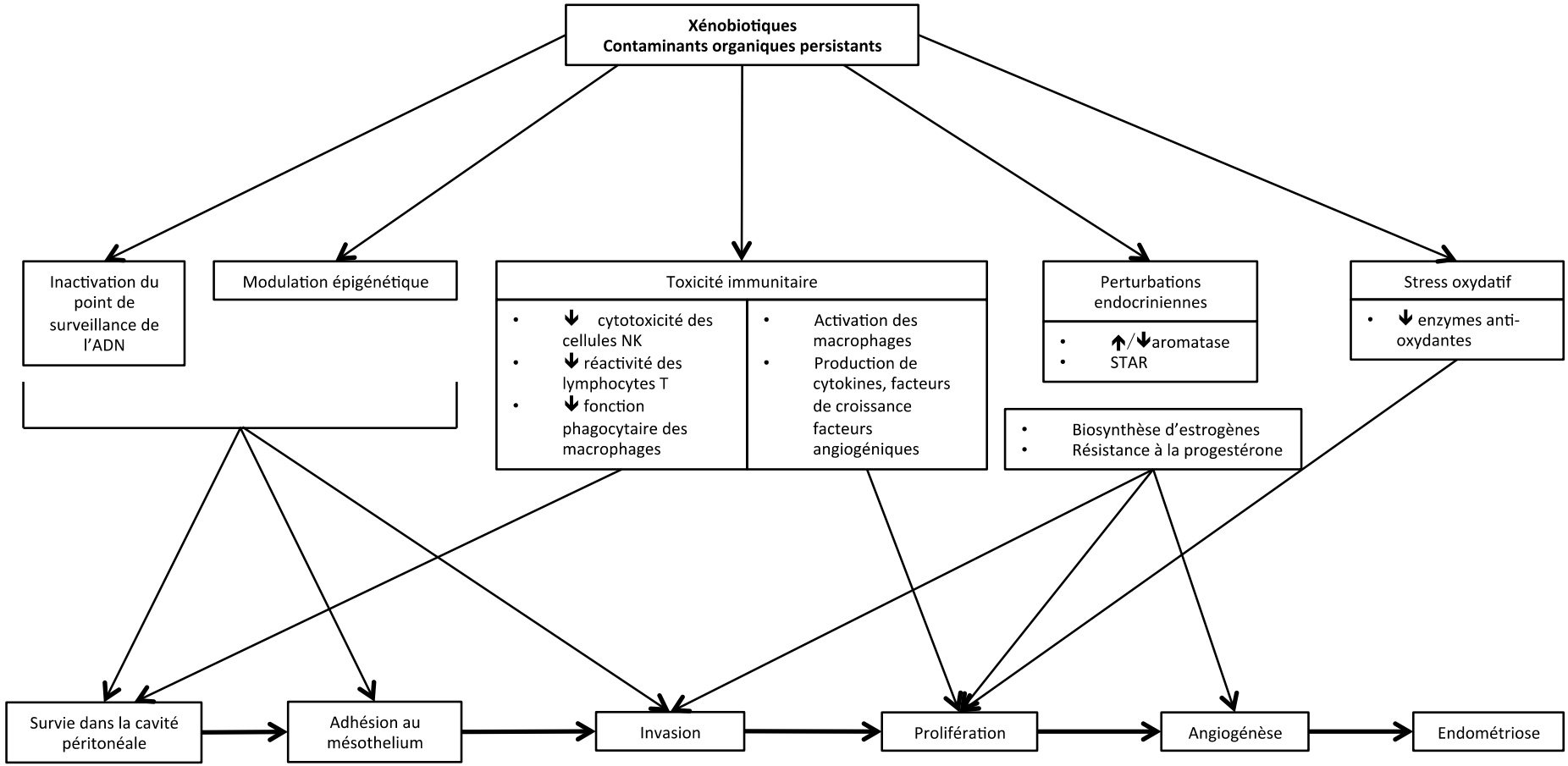


Figure 5: Modes d'action proposés des xénobiotiques et en particulier des contaminants organiques persistants dans la physiopathologie de l'endométriose (d'après Aris, 2010)

2.2.4.1 La toxicité immunitaire

Comme nous l'avons signalé plus haut, l'une des théories qui fait consensus actuellement est celle du reflux de sang menstruel par les trompes. Les cellules endométriales adhèrent ensuite au péritoine pelvien suggérant une altération des processus immunitaires qui habituellement éliminent ces cellules (Berkkanoglu et al. 2003). Dans ce contexte, il a été démontré que certains pesticides organochlorés altèrent la fonction immunitaire normale et interfèrent avec la reconnaissance et la destruction des cellules anormales (Corsini et al. 2008). Ce mécanisme augment l'incidence de certaines tumeurs comme il pourrait être impliqué dans la physiopathologie de l'endométriose en augmentant les capacités de survie des cellules endométriales dans la cavité pelvienne et en favorisant donc leur prolifération.

2.2.4.2 Le stress oxydatif

Le rôle du stress oxydatif dans la physiopathologie de l'endométriose a donné lieu à de multiples publications (Gupta et al. 2006, Turkyilmaz et al. 2016). Il a été montré que la 2,3,7,8-TCDD ainsi que plusieurs pesticides génèrent des radicaux libres et altèrent ainsi les capacités anti-oxydantes. Le pouvoir oxydatif de ces contaminants a été mis en évidence à travers plusieurs études chez l'animal (Astiz et al. 2009, Lushchak et al. 2009). Or chez les femmes atteintes d'endométriose, les macrophages activés par les érythrocytes sénescents ou les cellules endométriales apoptotiques, produisent des formes réactives de l'oxygène et des cytokines qui stimulent la production d'oxyde nitrique (NO). La présence chronique de ces molécules dans le liquide péritonéale pourrait être en cause dans l'infertilité associée à l'endométriose. Elles agissent à tous les stades de la reproduction depuis la maturation des

ovocytes jusqu'à l'implantation en passant par l'altération du péristaltisme tubaire (Leyendecker et al. 1996, Gupta et al. 2006).

2.2.4.3 L'inactivation du point de surveillance de l'ADN

Certains contaminants, par exemple le glyphosate, interfèrent avec la régulation du cycle cellulaire en inactivant le point de surveillance de l'ADN endommagé (Marc et al. 2004). Cette caractéristique, reconnue dans la prolifération des processus tumoraux, pourrait également être impliquée dans la prolifération des cellules endométriales au niveau péritonéale qui fait suite aux phénomènes d'adhésion.

2.2.4.4 La modulation épigénétique

Ce terme correspond aux mécanismes moléculaires qui modulent l'expression du patrimoine génétique en fonction du contexte. Il s'agit donc de changements d'activité des gènes qui sont transmis au fil des divisions cellulaires ou des générations sans faire appel à des mutations de l'ADN, mais sous l'influence de l'environnement au sens large du terme. Les principaux mécanismes impliqués sont, la méthylation-déméthylation de l'ADN au niveau de la région promotrice des gènes, et la modification des protéines d'histones autour desquels l'ADN est enroulé (Alliel et al. 2010). En général, l'hypométhylation est associée à une activité augmentée du gène. Dans l'endométriose, il a été mis en évidence des modifications épigénétiques affectant la transcription des récepteurs nucléaires Steroidogenic factor 1 (SF1) et estrogen receptor β (ER-β). Les promoteurs des ces deux récepteurs nucléaires sont hautement méthylés et donc silencieux dans les cellules stromales endométriales (Bulun 2009). Une hypométhylation de ces promoteurs est donc associée à leur

activation et à une surexpression des récepteurs SF1 et ER-β. Une activation du récepteur SF1 entraîne une production d'estradiol PGE2-dépendante qui agit via le récepteur ER-β pour stimuler l'enzyme COX-2 (figure 6 et 8). Cette stimulation entraîne une surproduction de PGE2. Par ailleurs, le récepteur ER-β inhibe le récepteur à la progestérone causant ainsi une résistance à ce stéroïde. Ce mécanisme pourrait induire une prolifération des cellules endométriales et participer ainsi à la physiopathologie de l'endométriose.

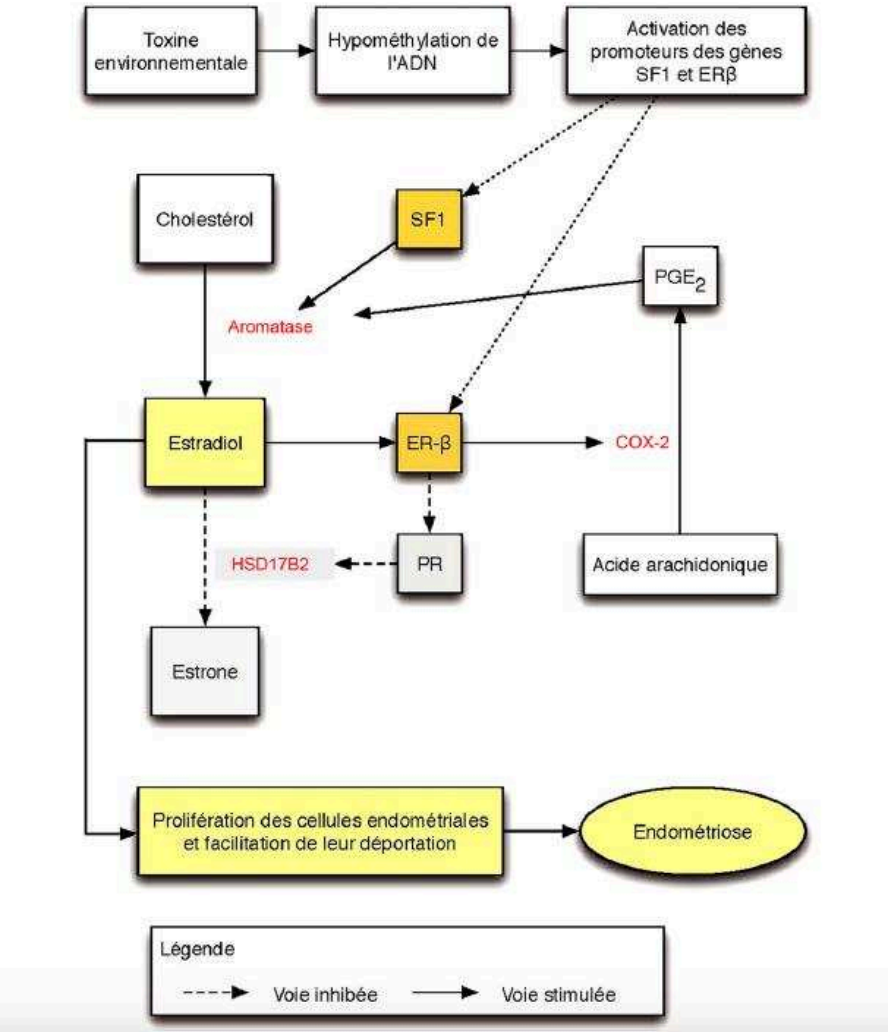


Figure 6: Modulation épigénétique dans le tissu endométriosique.
Les promoteurs des deux récepteurs nucléaires SF1 et RE-β sont normalement hautement méthylés et donc silencieux dans les cellules stromales. Une hypométhylation de ces promoteurs est donc associée à leur activation et à une surexpression pathologique de ces récepteurs nucléaires dans les cellules stromales. SF1 induit la production d'estradiol PGE2-dépendante. RE-β entraine la suppression des récepteurs estrogénique α (RE-α) et des récepteurs à la progestérone (RP) entrainant une résistance à la progestérone et donc une surexpression de l'estradiol. En conséquence, dans le tissu endométriosique, l'estradiol et les PGE2 sont produites de façon exagérée et entraine une survie anormale des cellules endométriales et une inflammation (d'après Aris, 2010)

Par ailleurs, on retrouve également des gènes hyperméthylés dans l'endométriose, notamment les gènes HOXA10 et E-cadhérine. Le promoteur du gène HOXA10 est hyperméthylé dans l'endomètre eutopique des femmes souffrant d'endométriose par rapport aux femmes non atteintes. Ce gène sert de facteur de transcription lors du développement. Il a montré son importance dans la fonction utérine. Il intervient dans la régulation du développement de l'endomètre au cours du cycle menstruel en établissant les conditions nécessaires à l'implantation (il est exprimé surtout lors de la phase sécrétoire) (Taylor et al. 1998). Dans l'endométriose, le promoteur du gène étant hyperméthylé, l'expression de HOXA10 est considérablement réduite dans l'endomètre, induisant alors une altération de la réceptivité utérine (Wu et al. 2005). L'E-cadhérine est une protéine connue comme suppresseur de tumeur dans les cellules épithéliales tumorales. Une diminution de son expression liée à une hyperméthylation de son promoteur a été mise en évidence dans les cellules endométriosiques (Wu et al. 2007, Ballester et al. 2012).

Bulun et al. ont soulevé l'hypothèse d'un lien entre facteur environnemental et épigénétique et que l'endométriose pourrait, en partie, être liée à des altérations épigénétiques altérant l'expression de certains gènes codant pour les facteurs nucléaires SF1 et ER-β (Bulun 2009). D'autres auteurs ont d'ailleurs mis en évidence l'implication de facteurs épigénétiques dans les mécanismes d'action des dioxines (Bruner-Tran et al. 2016).

2.2.4.5 La perturbation endocrinienne

Certains contaminants organiques persistants interfèrent avec la synthèse, l'action ou l'élimination des hormones endogènes et obéissent ainsi à la définition de perturbateurs endocriniens. Par ce biais ils sont impliqués dans la physiopathologie de l'endométriose (Cravedi et al. 2007). Les perturbateurs endocriniens peuvent agir de plusieurs façons :

- effet agoniste : ils miment l'action de l'hormone naturelle.

- effet antagoniste : ils entravent l'action de l'hormone en se liant au récepteur et en empêchant l'émission du signal.

- le plus souvent les perturbateurs endocriniens peuvent induire des effets complexes associant agonisme et antagonisme en fonction du tissu cible, de la dose d'exposition, de la présence de co-facteurs….

Certains de ces effets sont médiés par la liaison à certains récepteurs nucléaires, alors que d'autres n'impliquent pas cette interaction.

2.2.4.5.1 Effets médiés par les récepteurs nucléaires

Ces récepteurs se trouvent essentiellement dans le cytoplasme, les noyaux et les membranes. Suite à la fixation d'un ligand au récepteur, un changement conformationnel se produit au niveau du domaine de fixation et les récepteurs nucléaires exercent leurs activités génomiques en tant que facteurs de transcription qui reconnaissent des séquences d'ADN spécifiques au niveau de promoteurs de leurs gènes cibles (Creusot et al. 2013). Beaucoup de perturbateurs endocriniens environnementaux peuvent se fixer directement aux récepteurs nucléaires et ainsi interférer avec l'effet des hormones endogènes. La majorité des auteurs s'est pour l'instant intéressée à l'interaction des perturbateurs endocriniens avec les récepteurs

des estrogènes et les récepteurs aux hydrocarbures aromatiques (AhR). Les autres récepteurs comme celui des androgènes sont néanmoins l'objet d'un intérêt croissant.

- *Les récepteurs aux estrogènes :*

Ils jouent un rôle clef dans les processus de reproduction, de développement et de physiologie. Les xéno-estrogènes activent le récepteur nucléaire des estrogènes et agissent comme l'estradiol, par une voie classique qui suppose la dimérisation du récepteur α (ERα) ou du récepteur β (Erβ). Ce dimère reconnaît les éléments de réponse localisés sur les promoteurs de gènes cibles et induit leur transcription. Dans la majorité des cas, les xéno-estrogènes ont une affinité pour les deux récepteurs α et β (Kuiper et al. 1998, Gomez et al. 2005, Thongprakaisang et al. 2013). D'autres molécules ont une activité agoniste sur le récepteur α et antagoniste sur le récepteur β. C'est le cas de certains pesticides comme le méthoxychlore ou la chlordécone (le Maire et al. 2010).

- *Le récepteur aux hydrocarbures aromatiques (AhR)*

Parmi les ligands connus (plus de 250) qui se fixent sur le récepteur AhR, on retrouve les hydrocarbures aromatiques polycycliques, les polychlorobiphényles (PCB), les dioxines (PCDD/F), et certains pesticides (Denison et al. 2002). Ce récepteur peut par ailleurs interagir avec le récepteur ER et peut soit l'activer, soit l'inhiber. Bien que le AhR ne soit pas un récepteur nucléaire, son mode d'action reste relativement semblable à ces derniers (Ohtake et al. 2008). Il se localise dans le cytoplasme et une fois lié à un ligand, le complexe recrute une protéine de translocation, le translocateur nucléaire du récepteur des hydrocarbures aromatique (ARNT). Ce complexe ligand-AhR-ARNT agit comme facteur de transcription sur l'élément de réponse aux xénobiotiques (XRE). Cette fixation au XRE va permettre de

recruter l'ARN polymérase favorisant la transcription des gènes cibles, dont beaucoup codent pour des enzymes de détoxification, en ARNm.

Par ailleurs, il a été montré qu'il existe un mode d'activation non conventionnel du récepteur AhR qui en l'absence d'hormone, peut induire des gènes estrogéno-dépendants. Ce récepteur peut former un hétérodimère avec le récepteur ERα et agir ainsi comme co-régulateur pour stimuler la transcription contrôlée normalement par le récepteur ERα.

2.2.4.5.2 Effets non médiés par les récepteurs nucléaires

D'autres modes d'action des perturbateurs endocriniens non médiés par les récepteurs nucléaires ont été identifiés. Ceux-ci peuvent impliquer :

- la biosynthèse hormonale : le cas le plus décrit est celui de l'aromatase (CYP19) qui est responsable de la synthèse d'estrogènes à partir des androgènes. L'aromatase est la cible d'une grande diversité de composés chimiques (Sanderson et al. 2002). Des effets sur la protéine STAR (Walsh et al. 2000) ou la 3β-HSD (Ohno et al. 2002) ont été également rapportés (figure 8).

- le métabolisme hormonal : il est assuré par des enzymes qui interviennent également dans le métabolisme et l'élimination des xénobiotiques (détoxification).

- le transport des hormones endogènes : certains perturbateurs endocriniens peuvent interagir directement avec les protéines chargées de transporter les hormones. C'est le cas du DDT, du lindane, de l'atrazine et de certains retardateurs de flamme bromés (Hamers et al. 2006).

Dans le tissu endométriosique ainsi que dans l'endomètre eutopique des femmes atteintes, il existe une expression importante de l'aromatase, chargée de la conversion de

l'androstènedione et de la testostérone en estrone et estradiol respectivement (figure 7). Cette enzyme est normalement absente dans l'endomètre des femmes non atteintes (Noble et al. 1996). De même, il existe en présence d'endométriose une surexpression aberrante de la 17β-hydroxystéroïde déshydrogénase (17β-HSD) de type 1, enzyme qui convertit l'estrone en 17β-œstradiol, ainsi qu'une altération de l'activité de la 17β-HSD de type 2 qui normalement induit la conversion du 17β-estradiol en estrone (d'activité estrogénique moindre). Ces enzymes sont des cibles pour les contaminants organiques et ces mécanismes pourraient être impliqués dans la physiopathologie de l'endométriose assurant des concentrations locales d'estradiol importantes, condition qui semble importante dans le développement et la progression de la maladie (voir Annexe 7). A titre d'exemple, il a été montré que le glyphosate inhibait l'expression post-transcriptionnelle de la protéine Steroidogenic Acute Regulatory (STAR) responsable du transfert du cholestérol à l'intérieur de la mitochondrie, étape limitante de la stéroidogénèse (Walsh et al. 2000) (figure 8).

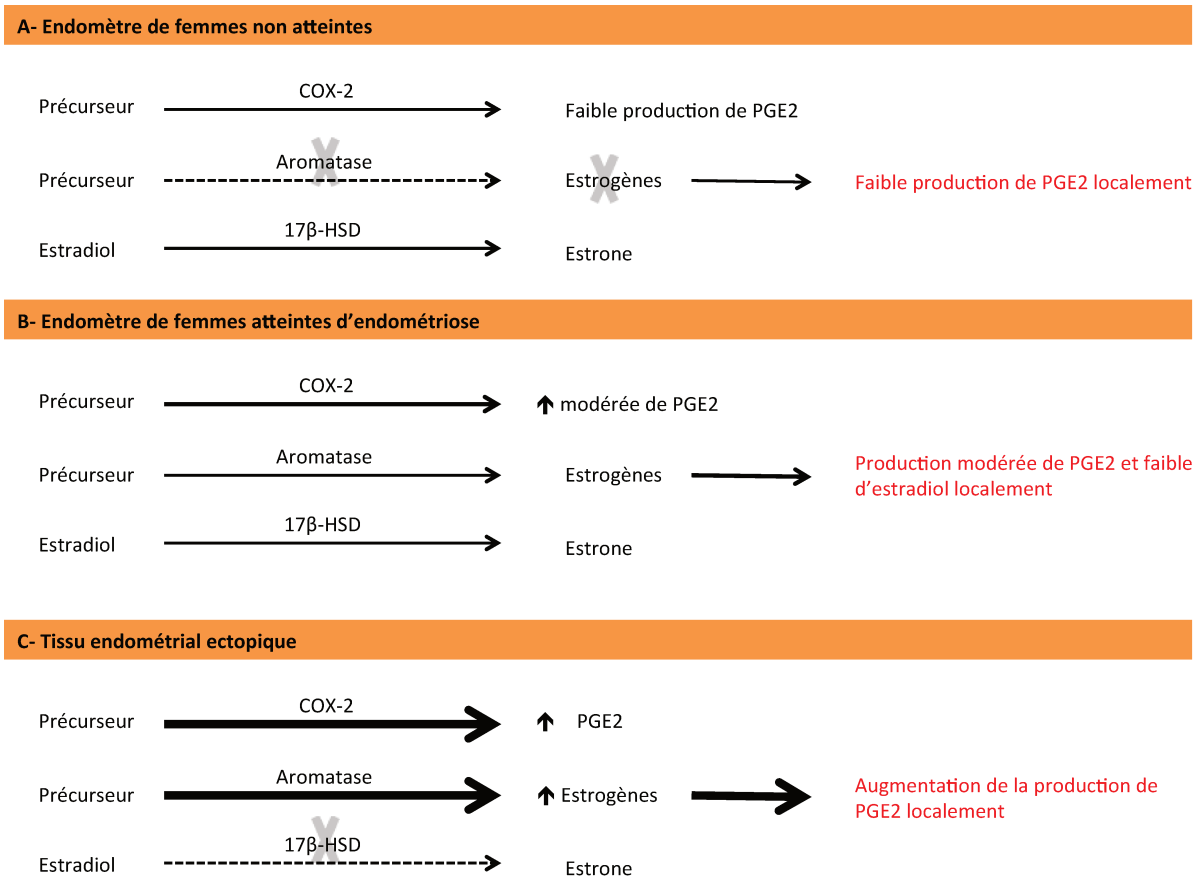


Figure 7: Représentation schématique de l'activité hormonale au sein d'endomètre normal, d'endomètre de femmes atteintes d'endométriose, et de tissu endométrial ectopique.
Dans le tissu endométrial normal **(A)**, l'activité de la cyclo-oxygénase-2 (COX-2) est peu importante et la production de PGE2 est faible. En raison de l'absence d'aromatase, il n'y a pas de production locale d'estrogènes. Pendant la phase lutéale, la 17β-HSD entraîne par ailleurs la conversion d'estradiol en estrone (activité estrogénique moindre). Dans l'endomètre des femmes atteintes d'endométriose **(B)**, l'activité de la COX-2 est légèrement accrue et celle de l'aromatase devient décelable entrainant donc une augmentation modérée du taux de PGE2 et une augmentation modérée de la production d'estradiol localement. Dans le tissu endométrial ectopique **(C)**, on retrouve des niveaux élevés de COX-2 et d'aromatase. Les niveaux élevés de PGE2 qui en résultent sont responsables de dysménorrhées et de douleurs pelviennes chroniques. Les niveaux de production locale d'estradiol sont élevés à cause d'une activité importante des aromatases et l'estradiol n'est par ailleurs pas métabolisée en raison d'une altération de l'activité de la 17β-HSD. Le niveau d'activité enzymatique est symbolisé par l'épaisseur des flèches (d'après Bulun, 2009)

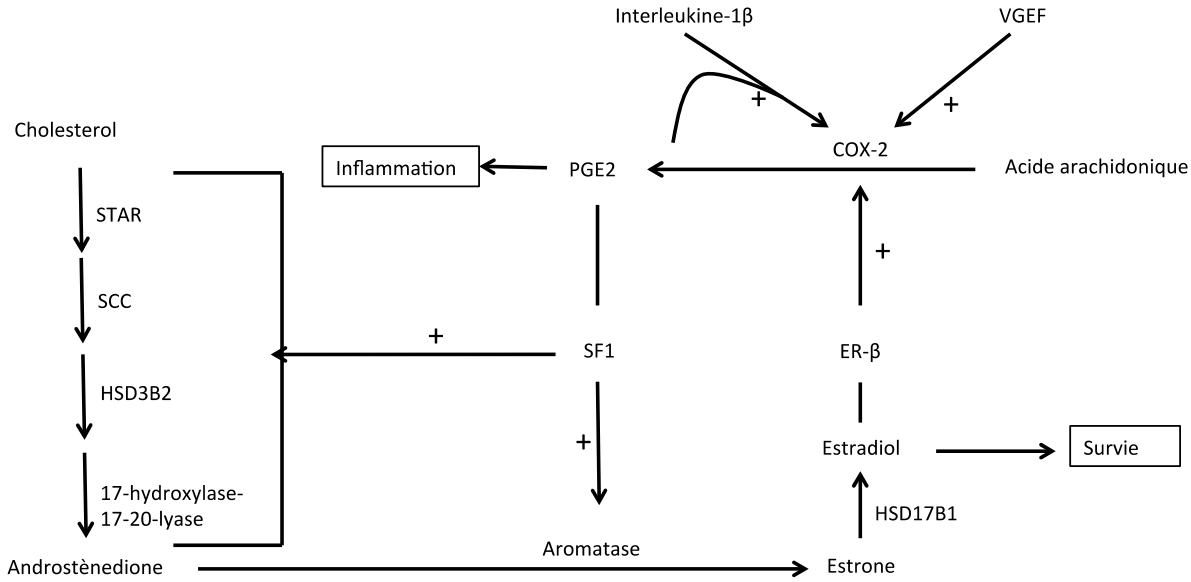


Figure 8 : Processus de régulation hormonale aboutissant à la survie des cellules endométriales et à une inflammation au sein du tissu endométriosique.
De haut niveaux d'estradiol et et de PGE2 sont observés localement dans le tissu endométriosique. Ces niveaux sont entretenus par une auto-régulation liée à des mécanismes de feed-back positif (+) qui impliquent les récepteurs nucléaires SF1 et ERβ, des voies de régulation enzymatique, des cytokines et des facteurs de croissance (d'après Bulun, 2009)

2.2.5 Limites et challenges des études en santé environnementale

2.2.5.1 Puissance statistique

La majorité des études existantes étant de type « cas-témoins », les effectifs considérés sont souvent relativement faibles et donc limitant en terme de puissance statistique. Néanmoins, il est intéressant de noter que malgré des effectifs plus conséquents, aucune étude de cohorte n'a réussi à montrer une association entre l'exposition aux dioxines et PCB et l'endométriose.

Dans notre travail, nous avons choisi de privilégier, au contraire, une stratification plus fine de notre population en termes de sous-phénotype de pathologie plutôt que de travailler sur un effectif plus large mais englobant un ensemble de cas dans la réalité non homogène.

2.2.5.2 Nature du prélèvement biologique

Comme nous l'avons déjà suggéré, il semble que le milieu le plus adéquat pour doser ces contaminants lipophiles soit le tissu adipeux puisque qu'il représente le milieu organique d'accumulation à long terme (Smarr et al. 2016). Or dans la majorité des études, la détermination des niveaux d'exposition interne a été réalisée dans le sérum, matrice associée à un prélèvement moins invasif. La pertinence du sérum vis-à-vis d'une estimation d'exposition représentative, et la problématique de détermination du taux de lipide dans cette matrice (utilisée pour exprimer les résultats d'exposition) qui est plus délicate et sujette à incertitude que dans le cas du tissu adipeux, restent toutefois deux questions de recherche à part entière. Dans le cadre de notre étude, nous avons souhaité adresser la question des relations entre compartiments comme élément de connaissance éventuellement aidant pour

identifier quel serait le plus pertinent et/ou permettre l'évaluation de nouveaux indicateurs d'exposition (stocké/circulant).

2.2.5.3 Population contrôle

Une autre limite importante de ces études est le risque de considérer au sein de la population « témoin » des sujets appartenant en fait à la population « cas » mais non diagnostiqués (Smarr et al. 2016). Pour exemple, l'étude de suivie de cohorte portant sur une exposition accidentelle à la TCDD en 1976 (accident de Seveso) est intéressante de ce point de vu (Eskenazi et al. 2002). La quantité de dioxine rejetée dans l'atmosphère était comprise entre 0,2 et 40 kg. Il n'a pas été réalisé de laparoscopie diagnostique dans le groupe contrôle et par conséquent, il existait un risque de sous-estimer les patientes asymptomatiques. De plus, les patientes qui avaient une symptomatologie clinique pouvant évoquer l'endométriose ont été incluses comme telle sans preuve clinique ou chirurgicale. Même dans certaines études cas-témoins, le groupe contrôle n'a pas toujours eu de laparoscopie diagnostique pour éliminer des lésions asymptomatiques d'endométriose (Heilier et al. 2005). Dans une étude, le groupe témoins incluait même des patientes avec une endométriose de stade 1 (Tsukino et al. 2005). Parfois même, les patientes cas n'ont pas eu de laparoscopie confirmant l'atteinte (Eskenazi et al. 2002).

2.2.5.4 Nombre de marqueurs cibles

D'autre part, dans la majorité des études, le nombre de marqueurs cibles est souvent limité ce qui soulève la question de confusion de facteurs. Effectivement, si une association est montrée avec un polluant X, la relation peut en fait provenir d'une association avec un

polluant Y mais dont la concentration est corrélée elle-même avec le polluant X. Par ailleurs, limiter le nombre de cibles n'est pas favorable à l'évaluation d'effets de mélange. Pour éviter cet écueil, nous avons fait le choix de multiplier le nombre de marqueurs d'intérêt dans chaque famille de polluants persistants ; nous avons atteint d'inclure 80 paramètres chimiques. Un panel aussi large n'a, à notre connaissance, pas encore été couvert dans ce type d'étude ; ce choix et les résultats que nous avons acquis ouvrent la voie à des calculs d'exposition vis-à-vis de mélanges de substances chimiques ; cette phase pourra faire l'objet de travaux dans le prolongement des miens.

2.2.5.5 Délai entre exposition et effet

Par ailleurs, concernant les études ne retrouvant pas d'association entre exposition et maladie, il est possible que les concentrations mesurées lors de la laparoscopie ne soient pas représentatives du degré d'exposition au début de la maladie endométriosique. En effet, il est difficile de mettre en évidence un lien entre exposition et pathologie à partir de données d'exposition faites au moment du diagnostic si la relation s'établit à des stades précoces, puisque la mesure de concentration dans un prélèvement unique à un moment donné ne reflète pas le degré d'exposition antérieur de l'individu.

Le passage entre données de biosurveillance et calcul d'une exposition « vie entière » fait l'objet de Recherche ; cette dernière concerne notamment la modélisation qui doit prendre en compte les équilibres stocké/circulant, l'évolution conjointe avec la courbe de prise ou de perte de poids des sujets. Cet aspect n'aura toutefois pas pu être traité dans le cadre de notre étude.

2.2.5.6 Prise en compte des facteurs de confusion

La méthodologie de prise en compte des facteurs de confusion n'est pas homogène selon les études, elle est même parfois absente. Deux approches sont possibles pour prendre en compte des facteurs de confusion connus :

(1) Disposer de mesures quantitatives individuelles pour ces facteurs et les utiliser pour ajuster les valeurs d'exposition le plus souvent par régression logistique (transformation des données post-acquisition). C'est ce qui a été fait dans la grande majorité des études disponibles, dans lesquelles des ajustements sur certaines variables ont été réalisés, notamment l'âge, le BMI, le taux sérique de lipides, la parité et/ou l'antécédent d'allaitement, le tabagisme, …). Certaines études ne procèdent même pas à cet ajustement ce qui rend difficile la comparaison des études entre elles.

(2) Opérer des appariements en amont (pré-acquisition) pour assurer l'homogénéité des groupes cas et témoins vis-à-vis de ces facteurs, sans avoir la nécessité de transformer ensuite les données d'exposition. C'est l'option que nous avons retenue dans le cadre de notre étude. Cette solution permet, contrairement à la première, de constituer deux groupes homogènes en ce qui concerne les principaux facteurs confondants qui nous intéressent ici, l'âge, le BMI, l'origine géographique et le recours à l'allaitement (Hartge et al. 1984).

2.2.6 Conclusion

L'implication des POPs dans la physiopathologie de l'endométriose reste actuellement difficile à démontrer. Les études existantes aboutissent à des résultats et conclusions non convergents notamment en raison de l'hétérogénéité des lésions d'endométriose décrites, des

méthodologies employées, des profils individuels d'exposition, et des polymorphismes génétiques relatifs à une susceptibilité vis-à-vis de tels facteurs environnementaux. Ces limites et biais que nous avons décrits rendent par ailleurs difficile la comparaison des différentes études entre elles. Celles-ci permettent toutefois d'identifier un certain nombre d'enseignements et de voies alternatives à proposer, qui ont guidé notre projet.

Tout d'abord, en dehors des travaux d'Upson et de Heilier, la topographie de l'endométriose et la stratification de la population « cas » sur la base des différents sous-phénotypes existants pour cette pathologie n'a pas été prise en compte (Heilier et al. 2005, Upson et al. 2013). Or, Donnez et al. ont bien montré que sous le terme endométriose se retrouvent plusieurs entités à la fois différentes par la topographie, l'histologie et la physiopathologie (Nisolle et al. 1997). L'hypothèse peut ainsi être posée que ces différentes présentations cliniques sont probablement liées à différentes causes et donc que le rôle éventuel des POPs n'est probablement pas identique pour chacune d'entre elles. La prise en compte de groupes de sujets plus réduits en termes d'effectif mais plus homogènes en termes de profil clinique, représente un premier changement de paradigme de notre étude comparativement aux études épidémiologiques.

Certains POPs restent ensuite très peu étudiés dans le cadre de la recherche d'un lien éventuel entre exposition et endométriose, c'est notamment le cas des RFB. Les études épidémiologiques sont ainsi encore trop peu nombreuses pour conclure à un rôle possible des RFB sur les fonctions de reproduction chez l'homme et chez la femme. Alors que certaines de ces études reposent sur des échantillonnages cliniques peu détaillés et des effectifs souvent faibles, d'autres études aux effectifs plus élevés suggèrent des résultats préoccupants (augmentation du délai pour concevoir, perturbation des taux d'hormones LH,

cryptorchidie,…) mais qui doivent être confirmés ou infirmés par de nouvelles études (Chao et al. 2007, Harley et al. 2010). Les données de la littérature restent toutefois très lacunaires sur leur possible implication dans la physiopathologie de la maladie endométriosique. La seconde ligne de force de notre étude est ici de proposer une caractérisation de l'exposition plus étendue que dans la plupart des études existantes. En incluant cette classe de substances moins étudiée que sont les RFB à côté des autres familles de POPs plus historiques (dioxines, PCB et OC), notre étude propose ainsi un contour unique en termes de marqueurs d'exposition ouvrant la voie à l'étude d'effets de mélanges encore très rarement abordée bien que reconnue comme nécessaire.

D'autre part, à notre connaissance, seulement deux études ont caractérisé les niveaux d'exposition de ces contaminants dans le tissu adipeux des femmes atteintes d'endométriose (Buck Louis et al. 2012, Martinez-Zamora et al. 2015) alors que compte tenu de leur caractère lipophile et bio-accumulable, ce compartiment biologique est vraisemblablement plus représentatif de l'exposition à long terme des individus (Johnson-Restrepo et al. 2005, Whitcomb et al. 2005) que le sérum. Au-delà d'un choix argumenté entre ces deux compartiments, notre étude s'est proposé d'établir une cartographie des concentrations en POPs retrouvés dans trois compartiments biologiques chez les mêmes sujets. Notre objectif était ainsi non seulement de caractériser les corrélations entre les niveaux déterminés dans le tissu adipeux et le sérum, mais également d'étudier l'influence éventuelle du type de tissu adipeux collecté (superficiel / pariétal versus profond / omental) sur ces niveaux d'exposition mesurés, et enfin d'avoir accès à un nouveau marqueur d'exposition intégratif qui est celui du rapport entre les concentrations déterminées dans les compartiment de stockage (tissu adipeux) et circulant (sérum).

3 METHODOLOGIE

3.1 PROTOCOLE CLINIQUE

Ce travail s'intègre dans le cadre d'une recherche non interventionnelle sur bio-collection, monocentrique (service de gynécologie du CHU de Nantes). Il s'agit d'une étude Cas-Témoins appariés étudiant le lien éventuel entre l'exposition aux polluants organiques persistants et l'endométriose sévère. La bio-collection a été réalisée de manière prospective et l'appariement de façon rétrospective. L'objectif principal est de comparer les niveaux concentrationnels en POPs au sein du tissu adipeux épiploïque de femmes souffrant d'une endométriose profonde versus non atteintes par cette pathologie. L'objectif secondaire est d'établir une cartographie des concentrations en POPs retrouvés dans trois compartiments biologiques chez les mêmes sujets (tissu adipeux épiploïque versus pariétal et sérum) afin de caractériser les variabilités de teneur et/ou de profil en contaminants au sein de ces trois matrices et ensuite à la fois opérer un choix éclairé vers celle la plus pertinente et pouvoir construire un nouveau marqueur intégratif de type rapport stocké versus circulant. Il s'agissait également de rechercher une éventuelle association entre les niveaux de concentrations des différents contaminants et les caractéristiques topographiques (sous-phénotypes) de l'endométriose (endométriose profonde et kystes ovariens endométriosiques ou endométriomes).

L'échantillonnage a été réalisé entre 2013 et 2015 au CHU de Nantes. Les cas (n=68) ont été sélectionnés au sein d'une population de femmes opérées d'endométriose profonde sévère dans le service de gynécologie. Le diagnostic initial a été porté par l'examen clinique. Tous les cas ont bénéficiés d'une IRM et le plus souvent d'un coloscanner. La confirmation des

lésions profondes a été apportée par la chirurgie laparoscopique et l'examen anatomo-pathologique. Les témoins (n=45) ont été sélectionnés au sein d'une population de femmes opérées dans le même service pour une autre raison et chez qui le diagnostic d'endométriose ne pouvait pas être évoqué à l'interrogatoire et sur la base de l'examen clinique. Les patientes ne présentaient pas d'antécédent de douleurs pelviennes chroniques, de dysménorrhées, de dyspareunies ou d'infertilité. La chirurgie permettait de conclure à l'absence de lésions d'endométrioses qu'elles soient de localisation péritonéale, ovarienne ou profonde.

Une partie de ces patientes (2x38) a fait l'objet, de manière rétrospective, d'un appariement cas-témoins. Les critères de cet appariement étaient l'âge (± 5 ans), le BMI (<25,0 kg/m^2, 25,0–29,9 kg/m^2, ≥ 30,0 kg/m^2), l'origine géographique et l'expérience d'allaitement antérieure (en prenant compte la durée totale d'allaitement), quatre facteurs majeurs reconnus comme ayant un impact sur les niveaux d'exposition interne des polluants lipophiles chez la femme.

Chez les patientes cas comme chez les patientes témoins, après recueil du consentement, des prélèvements d'épiploon (environ 2 mL), de graisse pariétale (environ 2 mL) et de sérum (20 ml) ont été réalisés pendant la procédure chirurgicale. Les échantillons ont été, dans les 20 min, congelés à -80°C jusqu'à l'analyse au sein du LABERCA.

Ce protocole a été approuvé par le GNEDS (Groupe Nantais d'Ethique dans le Domaine de la Santé) et enregistré à Clinical Trial sous le numéro NCT02651077. Toutes les patientes ont signé un formulaire de consentement éclairé.

3.2 CARACTERISATION DES NIVEAUX D'EXPOSITION

Les prélèvements effectués, les échantillons (tissus adipeux et sérum) ont été conservés à moins 80°C jusqu'à leur analyse. Les niveaux concentrationnels des différentes substances recherchées (Annexe 8) ont été déterminés par l'Unité Contaminants du LABERCA et décrits en pg ou ng par gramme de lipide selon les conventions en vigueur dans ce domaine de la mesure de contaminants lipophiles. Ces analyses ont été réalisées en aveugle, c'est à dire sans connaissance a priori de l'appartenance aux groupes Cas ou Témoins des patientes considérées, et de façon aléatoire, sans suivre la chronologie des inclusions/collectes.

Les méthodes analytiques utilisées par le LABERCA pour la mesure des différentes familles de contaminants cibles, i.e. retardateurs de flamme bromes (RFB), PCDD/PCDF, (dioxines) polychlorobiphényles (PCB), pesticides organochlorés (POC), sont basées sur des techniques de couplage entre la chromatographie en phase gazeuse ou liquide et la spectrométrie de masse haute résolution ou en tandem (GC-HRMS, GC-MS/MS ou LC-MS/MS) et une quantification selon le principe de la dilution isotopique (étalonnage interne par composés marqués au ^{13}C), qui représente le plus haut standard actuel dans ce domaine. Ces méthodes, déjà en place et historiquement appliquées à large échelle dans le cadre de divers projets de recherche et d'appui aux politiques publiques, sont validées conformément aux critères en vigueur au plan européen, et accréditées selon le référentiel ISO17025. La méthodologie appliquée pour isoler et quantifier les contaminants ciblés a été décrite dans la littérature (Cariou et al. 2005, Antignac et al. 2006, Costera et al. 2006, Antignac et al. 2009, Bichon et al. 2015).

3.3 ANALYSE DES DONNEES

Les statistiques descriptives ont été réalisées avec l'aide des logiciels SAS (v.9.3) et R (v.3.1.0., R Core Team 2014). Des tests paramétriques et non paramétriques ont été réalisés. Les taux de détection ont été de 100% pour la grande majorité des polluants. Pour les quelques congénères pour lesquels le taux de détection était inférieur, les valeurs ont été censurées par la limite de détection de la méthode (LOD).

- Première partie :

Pour l'analyse de la distribution des différents polluants au sein des trois compartiments biologiques, et donc pour évaluer l'équilibre entre compartiments de stockage et compartiment circulant, tous les cas et témoins ont été inclus. Pour l'évaluation du rapport (ratio) sérum/tissu adipeux comme nouveau indicateur d'exposition d'intérêt dans un contexte de recherche de lien de causalité entre exposition et pathologie, des analyses appariées et non appariées ont également été réalisées. Les concentrations des toxiques ont été exprimées en médiane avec concentrations minimales et maximales. La corrélation entre les concentrations de deux milieux biologiques pour un toxique donné (tissu adipeux pariétal/ tissu adipeux omental et tissu adipeux/sérum) a été évaluée à l'aide des coefficients de corrélation de Pearson et de Spearman. La corrélation était considérée comme positive si la p-value était inférieure à 0,05. Par ailleurs nous avons utilisé les pentes des courbes de régression pour évaluer l'équivalence de mesures réalisées dans les deux tissus. Une pente proche de 1 indique une équivalence de mesures entre deux compartiments. Un test des rangs de Wilcoxon pour échantillons appariés a complété ces analyses pour tester si la distribution d'un toxique était identique dans deux milieux biologiques.

- Seconde partie :

Pour la seconde partie de notre travail qui consistait à comparer nos populations cas et témoins, une première analyse (non appariée) incluant tous les patients a été réalisée de façon à profiter de l'effectif total de notre population. Ensuite, nous avons réalisé une analyse cas-témoins appariés de façon à s'affranchir le plus possible des facteurs confondants que sont l'appariement qui a été fait sur l'âge (± 5 ans), le BMI déterminé selon les classes définies par l'OMS (Gray et al. 1991), l'expérience antérieure d'allaitement (en prenant en compte la durée de celui-ci) et l'origine géographique.

Une transformation logarithmique log (x+0,001) a été faite pour normaliser la distribution des données. Nous avons utilisé des modèles de régression logistique non conditionnelle pour estimer les odd ratios (OR) et leur intervalle de confiance à 95% (IC 95%). Un odd ratio égal à 1 indique qu'il n'y a pas de lien entre la variable dépendante (endométriose) et la variable explicative (exposition interne aux contaminants organiques persistants). Un odd ratio significativement supérieur à 1 indique que la variable explicative représente un facteur de risque pour la maladie, alors qu'un odd ratio significativement inférieur à 1 signifie que la variable explicative est un facteur protecteur contre la maladie. Ces résultats doivent toujours être évalués à un risque d'erreur près représenté par le degré de signification p, qui permet de conclure lorsqu'il est inférieur à 5 % ($p < 0,05$). En pratique, l'association est statistiquement significative lorsque l'intervalle de confiance à 95 % de l'odd ratio n'inclut pas la valeur 1.

4 DISTRIBUTION DES POLLUANTS ORGANIQUES PERSISTANTS DANS LES COMPARTIMENTS DE STOCKAGE (TISSU ADIPEUX SUPERFICIEL ET PROFOND) ET CIRCULANTS (SERUM)

4.1 INTRODUCTION

On ne trouve, dans la littérature que peu d'étude évaluant l'équilibre entre les compartiments circulants et adipeux en termes de niveaux d'exposition alors que cet aspect pourrait être un élément majeur de la caractérisation exposition – effet sur la santé. Les rares études traitant du lien entre endométriose et contaminants présents dans le tissu adipeux portent sur la caractérisation de prélèvements épiploïques, argumentant que le tissu adipeux prélevé est au plus près des lésions d'endométriose (Buck Louis et al. 2012, Martinez-Zamora et al. 2015). Mais la pertinence et la représentativité de ce tissu particulier en termes d'exposition interne peut être questionnée. Plus généralement, l'équivalence des différents types de tissus adipeux sur le plan de leurs concentrations en POP reste une question très peu documentée. Celle-ci peut toutefois avoir une importance en termes de comparabilité de différentes sous-populations, si les prélèvements ne sont pas strictement identiques pour les cas et les témoins. Dans le cas présent, un prélèvement pariétal était plus accessible (moins invasif) chez les témoins alors qu'un prélèvement profond était celui collecté lors d'une chirurgie chez les cas. On retrouve également assez peu de travaux sur l'équivalence et la corrélation entre niveaux sériques et niveaux adipeux en termes de concentration de polluants persistants. In fine, le compartiment biologique le plus à même de donner accès à une valeur d'exposition la plus représentative et/ou susceptible de faire apparaitre un lien avec les variables cliniques étudiées reste aujourd'hui une question ouverte.

Le premier volet de notre travail a porté sur cet aspect de corrélation et d'équivalence entre les différents milieux caractérisés (sérum, tissus adipeux pariétal et épiploïque). Les résultats obtenus ont fait l'objet d'un article publié dans le journal Environment International reproduit plus bas.

Les principales conclusions de ce volet sont les suivantes. Pour les substances ciblées, la corrélation entre les concentrations mesurées dans le tissu adipeux pariétal et celles mesurées dans le tissu épiploïque est globalement apparue fortement significative ($p<0,0001$). Par ailleurs, nous avons observé une équivalence des mesures réalisées dans ces deux compartiments. S'agissant de la famille des pesticides, certains ont été systématiquement détectés dans les échantillons de tissu adipeux (HCB, β-HCH, trans-nonachlore, oxychlordane, cis-heptachlore epoxyde, dieldrine p,p'-DDT et p,p'-DDE), les autres ont été l'objet de taux de détection trop bas pour être exploités (α-HCH, γ-HCH, o,p-DDT, o,p-DDD, o,p-DDE, δ-HCH, trans-heptachlore époxyde, cis-nonachlore, heptachlore, methoxychlore, mirex, aldrin, endrin, endrin aldehyde, endrin cetone, α-chlordane, γ-chlordane, α-endosulfan, β-endosulfan, endosulfan-sufate, chlordecone).

Il a été également observé de bonnes corrélations entre les concentrations mesurées dans le tissu adipeux et celles mesurées dans le sérum pour les dioxines, les PCB et les retardateurs de flammes bromés. Alors qu'une équivalence de concentrations a été notée entre les deux compartiments pour les dioxines et les PCB, les concentrations sont plus élevées dans le tissu adipeux que dans le sérum pour la classe des retardateurs de flamme bromés.

Le ratio taux circulants (concentrations sériques) / taux accumulés (concentrations dans le tissu adipeux) est enfin apparu significativement différents dans la population des

femmes porteuses d'endométriose profonde et la population de femmes témoins. C'est le cas notamment pour la somme des PCDDs, le 1,2,3,6,7,8-HxCDF, les PCB peu (n Cl < 6) versus hautement (n Cl ≥ 6) chlorés, le PBDE 99 et le PBB 153. Ces données donnent un aperçu nouveau sur l'équilibre des polluants entre les compartiments de stockage et les compartiments circulants. Ce rapport taux circulants / taux stockés pourrait être considéré comme un indicateur d'exposition en santé publique dans un contexte de recherche de lien de causalité exposition - maladie.

4.2 ARTICLE

Distribution of persistent organic pollutants in serum, omental, and parietal adipose tissue of French women with deep infiltrating endometriosis and circulating *versus* stored ratio as new marker of exposure

Ploteau Stéphane[1,2], Antignac Jean-Philippe[1,3*], Christelle Volteau[4], Marchand Philippe[1], Vénisseau Anaïs[1], Vacher Vincent[1], Bruno Le Bizec[1]

[1] LUNAM Université, Oniris, USC 1329 Laboratoire d'Etude des Résidus et Contaminants dans les Aliments (LABERCA), Nantes, France

[2] Service de gynécologie-obstétrique, CIC FEA, Hôpital Mère Enfant, CHU Hôtel Dieu, Nantes, France

[3] INRA, Nantes, F-44307, France

[4] Plateforme Biométrie, CHU Hôtel Dieu, Nantes, France

Keywords: Persistent Organic Pollutants, Endometriosis, Serum, Adipose tissue, Dioxin, PCB, PBDE, OC

* Corresponding author: J.P. Antignac, Laboratoire d'Etude des Résidus et Contaminants dans les Aliments (LABERCA), Oniris, Atlanpole - La Chantrerie, CS50707, Nantes, F-44307, France, tel : +33 2 40 68 78 80, fax : +33 2 40 68 78 78, email : laberca@oniris-nantes.fr.

Abstract

Several studies have assessed the potential role of environmental chemicals in the onset, growth, and/or physiopathology of endometriosis. However, their contour in terms of considered exposure markers remains limited. The present study aimed to characterize the internal exposure levels of 78 persistent organic pollutants (POPs, including dioxins, polychlorobiphenyls, brominated flame retardants and organochlorine pesticides) in a set of 113 adult French women (45 controls, 68 cases), and to characterize the distribution of these POPs within three biological compartments (omental adipose tissue, parietal adipose tissue, and serum). For all targeted substances, the correlation between the concentrations measured in omental *versus* parietal adipose tissue was found strongly significant ($p<0.0001$). An equivalence of the measures performed in parietal and omental adipose tissue was moreover observed with median levels of 6.4 vs. 7.4 pg/g l.w. for WHO-TEQ_{2005} PCDD/F, 4.5 vs. 4.7 pg/g l.w. for WHO-TEQ_{2005} dl-PCB, 137.1 vs. 147.9 ng/g l.w. for sum of 6 ndl-PCB, and 2.1 vs. 2.0 ng/g l.w. for sum of 7 i-PBDE, respectively. The same observation was made for individual targeted OCs compounds. Significant correlations were also observed between these concentrations determined in adipose tissue and those measured in serum for dioxins (WHO-TEQ_{2005} PCDD/F = 6.1 pg/g l.w), PCBs (WHO-TEQ_{2005} dl-PCB = 3.6 pg/g l.w., sum of 6 ndl-PCB = 81.1 ng/g l.w.), and brominated flame-retardants (sum of 7 i-PBDE = 0.9 ng/g l.w.). The circulating *versus* stored ratio of some exposure markers (Sum PCDDs, 1,2,3,6,7,8-HxCDF, slightly *versus* highly chlorinated PCBs ratio, PBDE 99 and PBB 153) was found statistically different for control and case individuals. These extended exposure data from deep infiltrating endometriosis patients are the first ones available for France and give a new insight about the equilibrium of chemicals between storage and circulating compartments that should be further considered as new indicator of exposure in the context of exposure-health relationship studies.

1. Introduction

Endometriosis is a chronic pelvic disease characterized by the presence of endometrial glands and stroma outside the uterus (Sampson 1927). Symptoms vary widely, including chronic pelvic pain, dysmenorrhea, dyspareunia, dyschesia and sometimes infertility (Eskenazi et al. 2002). In industrialized countries, endometriosis is one of the main gynecologic causes of hospitalization and its prevalence is increasing (Koninckx 1999). The prevalence is estimated to 5 to 10% of reproductive age women among which at least one-third are infertile (de Ziegler et al. 2010, Parazzini et al. 2016, Prescott et al. 2016). Endometriosis appears as a multicausal estrogen-dependent disease. Indeed, suppression of ovarian hormonal production reduces the painful symptoms (Giudice 2010). Several risk factors were evoked, e.g. genetic susceptibility, but which cannot explain the majority of endometriosis cases (Nisolle et al. 1997). Among other factors appeared the hypothesis that exposure to environmental chemicals, in particular those persistent with endocrine disrupting properties, may plausibly play a key role in the endometriosis etiology (Bulun 2009, Upson et al. 2013). These persistent organic pollutants (POPs) include historical substances such as dioxins (PCDD/F), polychlorinated biphenyls (PCB) or organochlorine pesticides (OC), and also brominated flame retardants (BFR) which were very poorly investigated with regard to their possible association with endometriosis.

These contaminants were widely used in the latter half of the 20th century and despite restrictions and interdiction dispositions for some of them, are still present in environmental, food and human matrices (Patterson et al. 2009). Regarding dioxins and dioxin-like PCBs, the main exposure sources include incineration processes and isolating components in electric devices (insulator, capacitors, paints, seal coats), and the main human exposure is by far through food (Van den Berg et al. 2006). It is now demonstrated that lactation is an excretion route for dioxins and PCBs, resulting in decreased maternal levels in women who already breast feeded (Nelson et al. 2006, Sasamoto et al. 2006). Moreover, the body burden of dioxins and PCBs generally increases with age (Uemura et al. 2008). Polybrominated flame retardants are used in many manufactured products (textiles, electronic devices…) to diminish their inflammability, and the main human contamination route is also food exposure for adult. Inhalation (indoor air) and direct contact (textiles, toys…) may be in certain conditions a major route of exposure for infants (Antignac et al. 2009, Frederiksen et al. 2009, Vorkamp et al. 2011). However, breastfeeding contribute significantly to infant exposure (Adgent et al. 2014). Organochlorine pesticides are a main concern for occupational exposure but are also present in the global exposome of the general population (Upson et al. 2013). Most of these POPs interact with nuclear receptors e.g. ER, AR or AhR competing with natural steroids e.g. estradiol or testosterone (Safe 1990, Arisawa et al. 2005, Van den Berg et al. 2006). The reproductive function may thus be affected (Alvarez et al. 2000, Andersen et al. 2002, Chao et al. 2007, Harley et al. 2010).

While brominated flame-retardant were investigated in only two studies related to endometriosis (Hoffman et al. 2007, Buck Louis et al. 2012), several studies have assessed the association between the others POPs internal exposure levels (dioxins, polychlorinated biphenyls, or organochlorine pesticides) and the onset or

growth of endometriosis (Heilier et al. 2005, Louis et al. 2005, Porpora et al. 2009, Buck Louis et al. 2012, Upson et al. 2013, Martinez-Zamora et al. 2015). A causal relationship between endometriosis and organochlorine's pesticides had been hypothesized in an experimental study on female primates (Crain et al. 2008). The monitoring of two large cohort studies supported this assumption especially for hexachlorocyclohexane (Buck Louis et al. 2012, Upson et al. 2013). Studies having investigated the potential relation between POPs internal exposure and endometriosis physiopathology are globally non convergent and eventually fairly conclusive. Heterogeneity in terms of methodology is observed, including size and nature of the studied populations, as well as nature and number of monitored markers of exposure. Confounder factors are not often deeply investigated. Notably, the simultaneous determination of major historical and more emerging POPs including dioxins (PCDD/F), polychlorobiphenyls (PCBs), organochlorine pesticides (OCs), and polybromodiphenylethers (PBDE), has not yet been reported all together in a single study. The biological compartments in which contaminants are investigated are not universal leading to two issues. The first is associated to the difficulty to compare the studies, the second being the non relevance of the tissue/fluid used for the studying a potential exposure-effect relationship. While adipose tissue better reflect the long-term exposition, serum samples are less invasive. Few studies rely on adipose tissue investigation.

More globally, the equilibrium between the storage and circulating biological compartments in terms of POP levels is not questioned by numerous studies that assume a perfect steady state between adipose tissues (e.g. deep versus superficial fat, muscle). Few studies have characterized POPs distribution for same individuals in serum and in adipose tissue considering both deep (omental) and superficial (parietal) adipose tissue (Malarvannan et al. 2013, Yu et al. 2011). It may obviously be an issue if control and case individuals do not authorize sample collection of same nature. Little literature is also available on the serum *versus* adipose tissue relationships with regard to the concentration of POPs, while this may appears as a new integrative indicator of relevance (Pauwels et al. 2000, Whitcomb et al. 2005).

The primary objective of the present study was to characterize the internal exposure levels of an extended range of 78 POPs (i.e. PCDD/F, PCB, PBDE, PBB, HBCD and OCs) in a set of 113 adult French women, as well as the POPs distribution between omental adipose tissue, parietal adipose tissue and serum. The generated data are expected to contribute to risk assessment by providing new and recent internal exposure data for this particular subpopulation. The secondary objective was to assess the ratio between POPs in fat and serum to provide in control and case individuals an additional indicator to support a possible relationship between an exposure to chemicals and a pathology, i.e. endometriosis.

2. Materials and methods

2.1. Population and samples

Data were collected as part of a population-based case–control study of endometriosis (ENDOTOX) performed in the Region Pays-de-Loire between 2013 and 2015. Case individuals (n=68) were adult women with surgical diagnosis of deep infiltrating endometriosis (DIE) first based on clinical examination. For all cases, magnetic resonance imaging (MRI) and surgery were then performed, as well as anatomo-pathological examination, with the objective of removing the lesions and confirming the diagnosis of DIE. Control individuals (n=45) were adult women consulting for other gynecological problem but without endometriosis at the surgery and without any clinical symptoms of the disease like chronic pelvic pain, dysmenorrhea, dyspareunia or history of infertility. For a subset of this population (n=2x38 individuals), cases and controls were paired matched according to age (± 4 years), geographic origin race (caucasian, African, other), BMI (<25.0 kg/m^2, 25.0–29.9 kg/m^2, ≥ 30.0 kg/m^2) and previous experience of breast feeding (duration in months). This studied population's characteristics are reported in Table 1.

For case and control individuals, samples (2 mL) of both omental and parietal adipose tissue were collected during surgery. A blood sample (20 mL) was collected during the day before surgery. This sampling was performed between July 2013 and September 2014. All samples were stored at −80 °C until analysis. The protocol of this study was approved by the Bioethics Committee of the GNEDS (Groupe Nantais d'Ethique dans le Domaine de la Santé) under the clinical trial nb. NCT02651077 and all patients signed an informed consent form. As a very good correlation and equivalence was rapidly demonstrated between internal exposure levels measured in both fat compartments (parietal adipose tissue and omental tissue), the omental tissue sampling and subsequent characterization was not realized for all control individuals. Moreover, the final number of characterized samples for each class of targeted POPs (Tables 2 and 3) was also depending on clinical availability, quality requirements, and other feasibility issues.

2.2 POPs measurements

The methodologies applied to isolate, detect, and quantify the targeted POPs including dioxins (n=17 PCDD/F), polychlorobiphenyls (n=12 dioxin-like + 6 non-dioxin-like PCB), polybromodiphenylethers (n=8 PBDE), polybromobiphenyls (n=3 PBB) and organochlorine pesticides (n=30 OCs) have been described earlier (Antignac et al. 2006, Costera et al., 2006, Cariou et al. 2005, Antignac et al., 2009, Bichon et al., 2015). Briefly, ^{13}C-labeled congeners were added to each sample for quantification according to the isotopic dilution method. Adipose tissue (400-800 mg) and serum (6-8 mL) samples were first submitted to a high pressure and temperature extraction (ASE Dionex, Sunnyvale, CA, USA) or a liquid/liquid extraction with pentane, respectively. For adipose tissue samples resulting extracts were weighed to measure fat content using a gravimetric method. The lipid content for serum samples was determined according to immunoassay (Biolabo, Maizy, France) ; phospholipids (PL), triglycerids (TG), total cholesterol (TC) and free cholesterol (FC) were quantitatively determined. The serum lipid content was calculated according to Atkins et al., 1989.

$$\text{Serum lipid content (g/L)} = 1{,}677*(CT-CL) + CL + TG + PL \qquad \text{(Equation 1)}$$

All extracts were reconstituted in hexane for further sample clean up. Gel permeation chromatography (GPC) was used for isolating OCs, while three purification steps using successively acid silica, florisil®, and celite/carbon columns were applied for other targeted substances. PCDD/F, PCB, PBDE, PBB and OC measurements were performed by gas chromatography (Agilent 7890A) coupled to high-resolution mass spectrometry (GC-HRMS) on double sector instruments (JEOL MS 700D and 800D), operating at 10000 resolution (10% valley) and in the single ion monitoring (SIM) acquisition mode. HBCD isomers were quantified using liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) on triple quadrupole instrument (Agilent 6410). Internal exposure data have been analyzed in a random order whatever they belong to control or case study groups. QA/QC procedures included systematic analysis of blank (n=3) and reference material (n=1) samples in each batch. The trueness of the quantitative data was secured by proficiency tests at national and international levels. Analytical methods were fully validated according to European regulation. The analysis have been done in an ISO 17025:2005 accredited laboratory. Recoveries were in the 80–120% range, and the method's extended uncertainty (2xU) was better than 20%.

2.3. Data analysis

Descriptive statistics (distribution frequencies, comparison between sub-populations based on categorical variables) were performed using SAS (v.9.3) and R (v.3.1.0., R Core Team 2014). Both parametric and non-parametric tests were conducted and the most appropriated test was selected and justified (see results and discussion section). Because of the high analytical method sensitivity, a high majority of the targeted analytes were always detected whatever the samples tested. For few analytes where the detection rate was lower, non-detected values were replaced by limits of detection (LOD) (upper bound approach). To characterize the observed distributions of the measured exposure levels, and the relationships between the three investigated biological compartments, all cases and controls patients were included in the analyses. For the assessment of the fat *versus* serum ratio in control and cases individuals, both unpaired (all individuals) and paired (age, BMI and breastfeeding duration matched control-case pairs) analyses were performed.

3. Results

3.1. POPs levels in serum, omental tissue and parietal adipose tissue

As reported in Table 1, case and control individuals were found comparable in terms of age, body mass index and historic of breastfeeding, which are three main determining factors of the internal exposure level to lipophilic POPs. The lipid content was also found similar for the two groups in adipose tissue but not in serum (0.68±0.2% in controls *versus* 0.52±0.11% in cases respectively, $p<0.001$). The difference remains unexplained. The internal exposure data generated from our entire population (all individuals) where first globally considered for descriptive purpose. The observed concentrations whatever the classes of monitored POPs in

serum, omental tissue and parietal adipose tissue are presented in Tables 2 and 3 (summary) and in Tables S1 and S3 (detailed values).

The observed WHO-TEQ_{2005} PCDD/F value varied from 2.4 to 20.7 pg/g l.w. (median = 7.4 pg/g l.w.) in omental tissue, from 2.2 to 22.3 pg/g l.w. (median = 6.4 pg/g l.w.) in parietal adipose tissue, and from 2.5 to 16.6 pg/g l.w. (median = 6.1 pg/g l.w.) in serum (Figure 1 Up). Regarding dioxin-like PCBs, the observed WHO-TEQ_{2005} dl-PCB value varied from 1.7 to 15.5 pg/g l.w. (median = 4.7 pg/g l.w.) in omental tissue, from 0.6 to 17.6 pg/g l.w. (median = 4.5 pg/g l.w.) in parietal adipose tissue, and from 1.2 to 10.1 pg/g l.w. (median = 3.5 pg/g l.w.) in serum (Figure 1 Middle). Regarding non dioxin-like PCB, the observed sum of 6 ndl-PCB (#28, #52, #101, #138, #153, #180) varied from 35.0 to 632.6 ng/g l.w. (median = 147.9 ng/g l.w.) in omental tissue, from 18.3 to 625.9 ng/g l.w. (median = 137.1 ng/g l.w.) in parietal adipose tissue, and from 21.4 to 223.0 ng/g l.w. (median = 81.1 ng/g l.w.) in serum (Figure 1 Down). Results for individual congener PCB#153 are given in Figure S1. A positive linear correlation between dioxins and PCBs internal exposure levels and age of individuals was observed ($p<0.001$) (Figure 1 Right). These internal exposure levels are comparable to recent published data in Europe (Winneke et al. 2014, Arrebola et al. 2015, Koskenniemi et al. 2015).

The sum of the 7 indicators PBDE (28, 47, 99, 100, 153, 154, 183) varied from 0.8 to 10.8 ng/g l.w. (median = 2 ng/g l.w.) in omental tissue, from 0.7 to 10.6 ng/g l.w. (median = 2.1 ng/g l.w.) in parietal adipose tissue, and from 0.5 to 8.0 ng/g l.w. (median = 1.0 ng/g l.w.) in serum (Figure 2 Up). Results for the particular congeners PBDE 153 and PBB 153 are given in Figure S1. The concentrations of α-HBCD varied from 0.3 to 22.2 ng/g l.w. (median = 0.9 ng/g l.w.) in omental tissue, from 0.15 to 41.7 ng/g l.w. (median = 0.8 ng/g l.w.) in parietal adipose tissue, and from 0.1 to 5.0 ng/g l.w. (median = 0.3 ng/g l.w.) in serum (Figure 2 Down). For these recently forbidden substances, the correlation between the determined internal exposure levels and age of individuals was not significant (Figure 1 Right) as already reported in other studies (Koh et al., 2010). The correlations between PBDE or HBCD concentrations and dioxins and PCB concentrations were not significant. However, indicator PBDEs and DecaBDE or α-HBCD (Data not shown) were found correlated. These results are in agreement with previous observations indicating that brominated flame retardants differ from old lipophilic POPs (dioxins and PCB), regarding industrial uses, source of exposure, and individual and population-based exposure. The measured BFR exposure levels globally appear in the same range than recent data published at European level (Fernandez et al. 2007, Koskenniemi et al. 2015).

The OCs data that have been systematically detected in adipose tissue samples (HCB, β-HCH, oxychlordan, cis-hept-epox, p,p'-DDE and dieldrin, trans-nonachlor, and p,p'-DDT) are reported in Table 3. The other OCs were associated to low detection rates unsuitable for further data analysis (α-HCH, γ-HCH, o,p-DDT, o,p-DDD, o,p-DDE, δ-HCH, trans-hept epox, cis-nonachlor, heptachlor, methoxychlor, mirex, aldrin, endrin, endrin aldehyde, endrin cetone, α-chlordane, γ-chlordane, α-endosulfan, β-endosulfan, endosulfan-sulfate, chlordecone). The observed concentration levels were globally in the ng/g l.w. range for most of the detected substances, with however around 10 and 100 fold higher values for β-HCH/HCB and p,p'-DDE respectively. The OC

contamination profile was indeed dominated by p,p'-DDE (75%), followed by β-HCH (15(%), HCB (8%) and dieldrin (7%), while other compounds were minor contributors (<5%). A positive linear correlation between each OCs levels and age of individuals was observed (p<0.001) (Figure S2); the values globally appeared in the same range than other data recently published in Europe (Arrebola et al. 2015).

3.2. Correlations between exposure levels in omental/parietal adipose tissue and serum

These relationships were first assessed for the global exposure indicators of each subfamily of POPs, i.e. TEQ or sum of main congeners values (Figure 3). Results obtained for particular congeners including PBDE 153, PBB 153, α-HBCD, DDE, HCB and β-HCH are shown in Figures S3 and S4.

Regarding dioxins, the observed WHO-TEQ_{2005} PCDD/F values in omental and parietal adipose tissue revealed a very strong correlation between the two sample types (p<0.001 for spearman or pearson correlation). Moreover, the slopes of the regression curves appeared very close to 1, indicating an equivalence of the measures performed in both tissues. A significant correlation (p<0.001) was also observed between serum and parietal adipose tissue similarly with an equivalence of the measures performed in both compartments (Figure 3, Top). The observed WHO-TEQ_{2005} dl-PCB and sum of 6 ndl-PCB revealed as well a significant correlation (p<0.001) between both adipose tissue subtypes again with an equivalence of the measures performed in both compartments, as well as a correlation between adipose tissue and serum (Figure 3, Middle). Regarding brominated flame-retardants, the sum of 7 indicators PBDE revealed significant correlations (p<0.001) between the three compartments. However the slopes of the regression curves revealed higher concentrations in adipose tissue than in serum (Figure 3, Bottom). Similar results were observed for particular congeners belonging to these POPs families (Figure S3). Regarding organochlorines pesticides, values determined in omental and parietal adipose tissue revealed again a significant correlation (p<0.001) between the two sample subtypes with equivalence of the measures performed in both tissues (Figure S4). A Wilcoxon paired test confirmed the equivalence of the POPs levels determined in parietal and omental adipose tissue at individual level for dioxins (WHO-TEQ_{2005} PCDD/F, p=0.2348), dl-PCB (WHO-TEQ_{2005} dl-PCB, p=0.4693), sum of 6 ndl-PCB (p=0.5143), and sum of 7 indicators PBDE (p=0.8793). The same equivalence was also confirmed for isolated congeners including for instance PBB 153 (p=0.8793), α-HBCD (p=0.7410), HCH (p=0.3176), β-HCB (p=0.9064) or p,p'-DDE (p=0.9219)

3.3. Concentrations ratio between stored and circulating compartments

The correlations between the levels of POPs measured in parietal adipose tissue and serum were assessed separately for control and case individuals with the objective to study potential significant difference between the two sub-groups in terms of slopes for corresponding regression curves. The ratio of concentrations determined in serum *versus* parietal adipose tissue compartments for each sub-population was also calculated and compared both for the main aggregated markers of exposure and each particular congeners.

Regarding dioxins, a significant difference was observed between control and case individuals, with a trend to higher concentrations in serum than in adipose tissue for cases, for 4 markers of exposure i.e. Sum PCDDs ($p<0.001$), 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD ($p<0.001$), OCDD ($p<0.001$) and 1,2,3,6,7,8-HxCDF ($p=0.02$) (Figure 4). Regarding PCBs, the observed WHO-TEQ_{2005} dl-PCB and sum of 6 ndl-PCB values did not revealed significant differences between the two sub-populations in terms of serum *versus* adipose tissue ratio ($p=0.889$ and $p=0.06$). Interestingly however, a significant difference between control and case individuals was observed in terms of highest *versus* lowest chlorinated PCBs relative proportions (138+153+180/28+52+101) ($p<0.001$, Figure S5), suggesting a more important transfer of lowest chlorinated PCBs toward the serum for cases. Regarding brominated flame-retardants, no significant difference between control and case individuals in terms of concentration ratio in serum *versus* adipose tissue was observed for the sum 7 indicator PBDEs. However, a trend toward higher concentrations in adipose tissue compared to serum for cases was noticed for few congeners including PBDE 99 ($p=0.02$), PBB 153 ($p<0.001$) and α-HBCD ($p=0.04$) (Figure S5).

4. Discussion

A descriptive analysis of the internal exposure levels determined for an extended range of POPs in French adult women was realized, with the aim to establish a distribution of these pollutants in three different biological tissues (parietal adipose tissue, omental tissue and serum). For this aspect of the study, the totality of the 113 recruited individuals was considered as a whole.

The correlation between both kinds of adipose tissue was globally found strongly significant for all investigated POP classes (dioxins, PCBs, BFRs and OCs), with equivalence of the measures performed in both tissues. This observation indicates that the considered individuals are in a steady-state situation; in such physiological state, the clinical sampling and further comparison of these two types of adipose tissues can be operated without introducing potential bias even if the sample type is different for control and case individuals. In particular, the collection of parietal adipose tissue appears usually more conceivable in control individuals from practical and ethical points of view while the collection of adipose tissue in the vicinity of the chirurgical act localization is more facilitating for case individuals. These results are in agreement with another study having demonstrated the absence of significant difference in term of concentrations between parietal and omental adipose tissue for a range of PCB, PBDE, HBCD and organochlorine pesticides (Malarvannan et al. 2013). Conversely, another study, performed on a limited number of patients (n=7), showed higher levels of higher chlorinated congeners in deep fat compared to parietal adipose tissue (Yu et al. 2011).

The correlation between the concentrations determined in serum and parietal adipose tissue also appears significant for dioxins, PCBs and OCs, but less obvious for brominated flame retardants for which the ratio between circulating and storage compartment is in favor of the adipose tissue. These data give a unique view concerning the relationships between storage and circulating compartment for POPs, and in particular tend to

reconsider studies related to brominated flame retardants based on blood samples that appear to not perfectly reflect the long-term exposition. If these significant correlations between adipose tissue and serum are in agreement with other published data for dioxins, PCB and organochlorine pesticides (Pauwels et al. 2000), other studies have suggested that the internal exposure levels determined in adipose tissue are better reflecting the individual body-burden and then be the preferred indicator of biological human exposure (Aronson et al. 2000, Allam et al. 2001, Whitcomb et al. 2005).

Another important issue associated to this internal exposure characterization is related to the nature and method of determination of the lipid content for each sample that is used to express the final POPs concentration results. Indeed, if this determination may appear quite harmonized and robust for adipose tissue (gravimetric method), it remains clearly more challenging in serum (enzymatic methods) and potentially affected by different sources of variability such as food intake or individual metabolism polymorphisms. In the present study, a slight but significant difference in terms of lipid content in serum of control *versus* case individuals was observed (around 20% higher in the former). At this stage this observation remains unexplained but interestingly a similar result was reported by Heilier et al. (2005). As a consequence, further work is encouraged to better assess and understand the interactions between POPs and lipid compounds at molecular scale as this may participate to reduce a remaining level of uncertainty associated to serum biomonitoring data and their analysis with regard to clinical outcomes.

A particular focus on the ratio of concentrations measured in circulating *versus* storage biological compartment was also performed. Although rarely investigated in the existing current literature, this aspect may be a missing corner stone within the exposure-effect relationship. It can be indeed hypothesized that the impact of the chemicals is not only depending on the global reservoir of parent substances in adipose tissue but also of individual capabilities to release POPs in serum. . It is as well a matter of different metabolism capabilities between individuals and eventually a different reservoir of (in)active metabolites able to reachtarget tissues/organs and thus different effect (La Merrill et al. 2013). Regarding dioxins, our study found a significant difference between control and case individuals (higher concentrations in serum than in adipose tissue for cases) for the sum of PCDDs as well as for the 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD, OCDD and 1,2,3,6,7,8-HxCDF particular congeners. Regarding PCBs, no significant difference was observed between control and case individuals in terms of serum to adipose tissue ratio either for dl-PCB or ndl-PCB. However, a significant difference between control and case individuals was observed in terms of highest *versus* lowest chlorinated PCBs relative proportions (138+153+180/28+52+101), in favor of a more important proportion of lowest chlorinated congener in serum of affected patients. A comparable trend was reported for PCBs by (Porpora et al. 2006, Porpora et al. 2009) with an increased highest *versus* lowest chlorinated PCBs ratio in serum of case compared to control individuals. If this observation remains at this stage unexplained, it can be mentioned that the degree of halogenation for POPs impacts the transfer rate between adipose tissue and breast milk. This was already reported for PCBs, with a higher transfer for lowest chlorinated congeners (Ounnas et al. 2010). Regarding brominated flame-retardants, no significant difference between control and case individuals in

terms of concentration ratio in serum *versus* adipose tissue was observed for the 7 indicator PBDEs as a sum, but a trend toward higher concentrations in adipose tissue compared to serum for cases was noticed for PBDE 99, PBB 153 and α-HBCD. A same trend was reported for PBDEs by (Buck Louis et al. 2012). All together, these results are still facing some limitations in terms of interpretation but is in favor of further investigations considering circulating *versus* stored POPs pool as a new indicator in environmental health studies.

Some limits have been identified in the present study. No magnetic resonance imaging was conducted for controls. The patients were included because they related no history of chronic pelvic pain or infertility, pelvic examination was normal and there was not endometriosis at the surgery. Nevertheless, we think that anamnesis, pelvic examination and surgery are enough to exclude deep infiltrating endometriosis. It is, however, reasonable to assume that in this group of asymptomatic women, certainly if pelvic examination is normal, the prevalence of active endometriosis must have been low, especially as the surgery is not in favor of endometriosis (Donnez et al. 2002). Our results need also to be confirmed at larger heterogeneous population scale, the number of included individual remaining in the state quite limited.

5. Conclusion

An extended set of 78 persistent organic pollutants including dioxins, PCBs, BFRs and OCs, have been determined for the first time in a French population of 113 control and case adult women with deep infiltrating endometriosis. A unique distribution of these POPs was also established within three biological compartments, namely omental tissue (deep fat), parietal adipose tissue (subcutaneous fat) and serum. The correlation between both kinds of adipose tissue was globally found strongly significant for all investigated POP classes, with high equivalence of the measures performed in either both tissues. The correlation between the concentrations determined in serum and parietal adipose tissue also appears significant for dioxins, PCBs and OCs, but less clear for the brominated flame-retardants for which the ratio between circulating and storage compartment is in favor of the adipose tissue. From this descriptive point of view, the generated knowledge is expected to feed risk assessment and human biomonitoring by providing new and recent internal exposure data at a French level. The concentration ratio between storage (fat) *versus* circulating (serum) compartment was also investigated as a new indicator of exposure. For some particular POPs and/or POPs sub-families, this ratio was found effectively different between control and case individuals. From this more particular and new descriptive point of view, these data are still facing some limitation in terms of interpretation and would need to be confirmed at larger scale, but are proposed as new insight regarding the exposure - disease relationships.

References

Adgent, M.A., Hoffman, K., Goldman, B.D., Sjodin, A., Daniels, J.L., 2014. Brominated flame retardants in breast milk and behavioural and cognitive development at 36 months. Paediatric and perinatal epidemiology 28, 48-57.

Allam, M.F., Lucena, R.A., 2001. Breast cancer and PCBs: true or false association? European journal of cancer prevention : the official journal of the European Cancer Prevention Organisation 10, 539-540.

Alvarez, L., Randi, A., Alvarez, P., Piroli, G., Chamson-Reig, A., Lux-Lantos, V., Kleiman de Pisarev, D., 2000. Reproductive effects of hexachlorobenzene in female rats. Journal of applied toxicology : JAT 20, 81-87.

Andersen, H.R., Vinggaard, A.M., Rasmussen, T.H., Gjermandsen, I.M., Bonefeld-Jorgensen, E.C., 2002. Effects of currently used pesticides in assays for estrogenicity, androgenicity, and aromatase activity in vitro. Toxicology and applied pharmacology 179, 1-12.

Antignac, J.P., Cariou, R., Zalko, D., Berrebi, A., Cravedi, J.P., Maume, D., Marchand, P., Monteau, F., Riu, A., Andre, F., Le Bizec, B., 2009. Exposure assessment of French women and their newborn to brominated flame retardants: determination of tri- to deca- polybromodiphenylethers (PBDE) in maternal adipose tissue, serum, breast milk and cord serum. Environmental pollution 157, 164-173.

Arisawa, K., Takeda, H., Mikasa, H., 2005. Background exposure to PCDDs/PCDFs/PCBs and its potential health effects: a review of epidemiologic studies. The journal of medical investigation : JMI 52, 10-21.

Aronson, K.J., Miller, A.B., Woolcott, C.G., Sterns, E.E., McCready, D.R., Lickley, L.A., Fish, E.B., Hiraki, G.Y., Holloway, C., Ross, T., Hanna, W.M., SenGupta, S.K., Weber, J.P., 2000. Breast adipose tissue concentrations of polychlorinated biphenyls and other organochlorines and breast cancer risk. Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology 9, 55-63.

Arrebola, J.P., Fernandez, M.F., Martin-Olmedo, P., Bonde, J.P., Martin-Rodriguez, J.L., Exposito, J., Rubio-Dominguez, A., Olea, N., 2015. Historical exposure to persistent organic pollutants and risk of incident hypertension. Environmental research 138, 217-223.

Buck Louis, G.M., Chen, Z., Peterson, C.M., Hediger, M.L., Croughan, M.S., Sundaram, R., Stanford, J.B., Varner, M.W., Fujimoto, V.Y., Giudice, L.C., Trumble, A., Parsons, P.J., Kannan, K., 2012. Persistent lipophilic environmental chemicals and endometriosis: the ENDO Study. Environmental health perspectives 120, 811-816.

Bulun, S.E., 2009. Endometriosis. The New England journal of medicine 360, 268-279.

Chao, H.R., Wang, S.L., Lee, W.J., Wang, Y.F., Papke, O., 2007. Levels of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in breast milk from central Taiwan and their relation to infant birth outcome and maternal menstruation effects. Environment international 33, 239-245.

Crain, D.A., Janssen, S.J., Edwards, T.M., Heindel, J., Ho, S.M., Hunt, P., Iguchi, T., Juul, A., McLachlan, J.A., Schwartz, J., Skakkebaek, N., Soto, A.M., Swan, S., Walker, C., Woodruff, T.K., Woodruff, T.J., Giudice, L.C., Guillette, L.J., Jr., 2008. Female reproductive disorders: the roles of endocrine-disrupting compounds and developmental timing. Fertility and sterility 90, 911-940.

de Ziegler, D., Borghese, B., Chapron, C., 2010. Endometriosis and infertility: pathophysiology and management. Lancet 376, 730-738.

Donnez, J., Van Langendonckt, A., Casanas-Roux, F., Van Gossum, J.P., Pirard, C., Jadoul, P., Squifflet, J., Smets, M., 2002. Current thinking on the pathogenesis of endometriosis. Gynecologic and obstetric investigation 54 Suppl 1, 52-58; discussion 59-62.

Eskenazi, B., Mocarelli, P., Warner, M., Samuels, S., Vercellini, P., Olive, D., Needham, L.L., Patterson, D.G., Jr., Brambilla, P., Gavoni, N., Casalini, S., Panazza, S., Turner, W., Gerthoux, P.M., 2002. Serum dioxin concentrations and endometriosis: a cohort study in Seveso, Italy. Environmental health perspectives 110, 629-634.

Fernandez, M.F., Araque, P., Kiviranta, H., Molina-Molina, J.M., Rantakokko, P., Laine, O., Vartiainen, T., Olea, N., 2007. PBDEs and PBBs in the adipose tissue of women from Spain. Chemosphere 66, 377-383.

Frederiksen, M., Thomsen, M., Vorkamp, K., Knudsen, L.E., 2009. Patterns and concentration levels of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in placental tissue of women in Denmark. Chemosphere 76, 1464-1469.

Giudice, L.C., 2010. Clinical practice. Endometriosis. The New England journal of medicine 362, 2389-2398.

Harley, K.G., Marks, A.R., Chevrier, J., Bradman, A., Sjodin, A., Eskenazi, B., 2010. PBDE concentrations in women's serum and fecundability. Environmental health perspectives 118, 699-704.

Heilier, J.F., Nackers, F., Verougstraete, V., Tonglet, R., Lison, D., Donnez, J., 2005. Increased dioxin-like compounds in the serum of women with peritoneal endometriosis and deep endometriotic (adenomyotic) nodules. Fertility and sterility 84, 305-312.

Hoffman, C.S., Small, C.M., Blanck, H.M., Tolbert, P., Rubin, C., Marcus, M., 2007. Endometriosis among women exposed to polybrominated biphenyls. Annals of epidemiology 17, 503-510.

Koskenniemi, J.J., Virtanen, H.E., Kiviranta, H., Damgaard, I.N., Matomaki, J., Thorup, J.M., Hurme, T., Skakkebaek, N.E., Main, K.M., Toppari, J., 2015. Association between levels of persistent organic pollutants in adipose tissue and cryptorchidism in early childhood: a case-control study. Environmental health : a global access science source 14-78 (doi: 10.1186/s12940-015-0065-0).

La Merrill, M., Emond, C., Kim, M.J., Antignac, J.P., Le Bizec, B., Clement, K., Birnbaum, L.S., Barouki, R., 2013. Toxicological function of adipose tissue: focus on persistent organic pollutants. Environmental health perspectives 121, 162-169.

Louis, G.M., Weiner, J.M., Whitcomb, B.W., Sperrazza, R., Schisterman, E.F., Lobdell, D.T., Crickard, K., Greizerstein, H., Kostyniak, P.J., 2005. Environmental PCB exposure and risk of endometriosis. Human reproduction 20, 279-285.

Malarvannan, G., Dirinck, E., Dirtu, A.C., Pereira-Fernandes, A., Neels, H., Jorens, P.G., Gaal, L.V., Blust, R., Covaci, A., 2013. Distribution of persistent organic pollutants in two different fat compartments from obese individuals. Environment international 55, 33-42.

Martinez-Zamora, M.A., Mattioli, L., Parera, J., Abad, E., Coloma, J.L., van Babel, B., Galceran, M.T., Balasch, J., Carmona, F., 2015. Increased levels of dioxin-like substances in adipose tissue in patients with deep infiltrating endometriosis. Human reproduction 30, 1059-1068.

Nelson, E.A., Hui, L.L., Wong, T.W., Hedley, A.J., 2006. Demographic and lifestyle factors associated with dioxin-like activity (CALUX-TEQ) in human breast milk in Hong Kong. Environmental science & technology 40, 1432-1438.

Nisolle, M., Donnez, J., 1997. Peritoneal endometriosis, ovarian endometriosis, and adenomyotic nodules of the rectovaginal septum are three different entities. Fertility and sterility 68, 585-596.

Ounnas, F., Feidt, C., Toussaint, H., Marchand, P., Bizec, B.L., Rychen, G., Jurjanz, S., 2010. Polychlorinated biphenyl and low polybrominated diphenyl ether transfer to milk in lactating goats chronically exposed to contaminated soil. Environmental science & technology 44, 2682-2688.

Parazzini, F., Esposito, G., Tozzi, L., Noli, S., Bianchi, S., 2016. Epidemiology of endometriosis and its comorbidities. European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology in press (doi:10.1016/j.ejogrb.2016.04.021.

Patterson, D.G., Jr., Wong, L.Y., Turner, W.E., Caudill, S.P., Dipietro, E.S., McClure, P.C., Cash, T.P., Osterloh, J.D., Pirkle, J.L., Sampson, E.J., Needham, L.L., 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. Environmental science & technology 43, 1211-1218.

Pauwels, A., Covaci, A., Weyler, J., Delbeke, L., Dhont, M., De Sutter, P., D'Hooghe, T., Schepens, P.J., 2000. Comparison of persistent organic pollutant residues in serum and adipose tissue in a female population in Belgium, 1996-1998. Archives of environmental contamination and toxicology 39, 265-270.

Porpora, M.G., Ingelido, A.M., di Domenico, A., Ferro, A., Crobu, M., Pallante, D., Cardelli, M., Cosmi, E.V., De Felip, E., 2006. Increased levels of polychlorobiphenyls in Italian women with endometriosis. Chemosphere 63, 1361-1367.

Porpora, M.G., Medda, E., Abballe, A., Bolli, S., De Angelis, I., di Domenico, A., Ferro, A., Ingelido, A.M., Maggi, A., Panici, P.B., De Felip, E., 2009. Endometriosis and organochlorinated environmental pollutants: a case-control study on Italian women of reproductive age. Environmental health perspectives 117, 1070-1075.

Prescott, J., Farland, L.V., Tobias, D.K., Gaskins, A.J., Spiegelman, D., Chavarro, J.E., Rich-Edwards, J.W., Barbieri, R.L., Missmer, S.A., 2016. A prospective cohort study of endometriosis and subsequent risk of infertility. Human reproduction 31(7),1475-1482.

Safe, S., 1990. Polychlorinated biphenyls (PCBs), dibenzo-p-dioxins (PCDDs), dibenzofurans (PCDFs), and related compounds: environmental and mechanistic considerations which support the development of toxic equivalency factors (TEFs). Critical reviews in toxicology 21, 51-88.

Sampson, J.A., 1927. Metastatic or Embolic Endometriosis, due to the Menstrual Dissemination of Endometrial Tissue into the Venous Circulation. The American journal of pathology 3, 93-153.

Sasamoto, T., Horii, S., Ibe, A., Takada, N., Shirota, K., 2006. Concentration changes of PCDDs, PCDFs, and dioxin-like PCBs in human breast milk samples as shown by a follow-up survey. Chemosphere 64, 642-649.

Uemura, H., Arisawa, K., Hiyoshi, M., Satoh, H., Sumiyoshi, Y., Morinaga, K., Kodama, K., Suzuki, T., Nagai, M., Suzuki, T., 2008. PCDDs/PCDFs and dioxin-like PCBs: recent body burden levels and their determinants among general inhabitants in Japan. Chemosphere 73, 30-37.

Upson, K., De Roos, A.J., Thompson, M.L., Sathyanarayana, S., Scholes, D., Barr, D.B., Holt, V.L., 2013. Organochlorine pesticides and risk of endometriosis: findings from a population-based case-control study. Environmental health perspectives 121, 1319-1324.

Van den Berg, M., Birnbaum, L.S., Denison, M., De Vito, M., Farland, W., Feeley, M., Fiedler, H., Hakansson, H., Hanberg, A., Haws, L., Rose, M., Safe, S., Schrenk, D., Tohyama, C., Tritscher, A., Tuomisto, J., Tysklind, M., Walker, N., Peterson, R.E., 2006. The 2005 World Health Organization reevaluation of human and Mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds. Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology 93, 223-241.

Vorkamp, K., Thomsen, M., Frederiksen, M., Pedersen, M., Knudsen, L.E., 2011. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in the indoor environment and associations with prenatal exposure. Environment international 37, 1-10.

Whitcomb, B.W., Schisterman, E.F., Buck, G.M., Weiner, J.M., Greizerstein, H., Kostyniak, P.J., 2005. Relative concentrations of organochlorines in adipose tissue and serum among reproductive age women. Environmental toxicology and pharmacology 19, 203-213.

Winneke, G., Ranft, U., Wittsiepe, J., Kasper-Sonnenberg, M., Furst, P., Kramer, U., Seitner, G., Wilhelm, M., 2014. Behavioral sexual dimorphism in school-age children and early developmental exposure to dioxins and PCBs: a follow-up study of the Duisburg Cohort. Environmental health perspectives 122, 292-298.

Yu, G.W., Laseter, J., Mylander, C., 2011. Persistent organic pollutants in serum and several different fat compartments in humans. Journal of environmental and public health 2011, 417980 (doi:10.1155/2011/417980).

Table 1: Studied population characteristics (mean + SD)

Country	All individuals	Controls	Cases	*p*	*p*	[a]
	(n=109)	*(n=43)*	*(n=66)*	*(ANOVA)*	*(Kruskal Wallis)*	
Age (years)	33.6 ± 6.3	32.8 ± 6.4	34.4 ± 6.4	0.2220	0.1506	
BMI	23.9 ± 4.6	24.3 ± 4.6	23.2 ± 4.4	0.2890	0.2688	
Breasfeeding (months)	2.54 ± 10.2	4.14 ± 14.9	1.25 ± 3.12	0.1640	0.2590	
Adipose tissue Lipid content (%) [b]	67.7 ± 12.6	66.0 ± 13.8	69.0 ± 11.6	0.2500	0.4080	
Serum Lipid content (%)	0.57 ± 0.13	0.68 ± 0.12	0.52 ± 0.11	<0.001	<0.001	***

[a]: * p < 0.05; ** p< 0.01; *** p < 0.001 [b]: parietal fat

Table 2: Summary of the chemical exposure levels measured for dioxins (PCDD/F) and dioxin-like polychlorobiphenyls (dl-PCBs) in the analyzed parietal adipose tissue, omental tissue and serum samples (pg/g l.w.). Detailed distributions percentiles are given in supplementary material (Tables S1, S2 and S3).

	Parietal adipose tissue					Omental adipose tissue					Serum				
	Analyzed samples	Detection Rate	Median	Min	Max	Analyzed samples	Detection Rate	Median	Min	Max	Analyzed samples	Detection Rate	Median	Min	Max
2.3.7.8-TCDD	99	100.0	0.69	0.21	2.36	51	100.0	0.75	0.22	2.43	73	85.0	0.74	0.30	1.99
1.2.3.7.8-PeCDD	99	99.0	2.47	0.73	8.80	51	99.0	2.80	0.75	8.60	73	99.0	2.13	0.39	6.87
1.2.3.4.7.8-HxCDD	99	100.0	1.16	0.31	3.50	51	100.0	1.21	0.33	3.52	73	95.0	1.07	0.38	2.35
1.2.3.6.7.8-HxCDD	99	100.0	7.14	2.18	21.41	51	100.0	7.58	2.79	22.62	73	100.0	6.74	1.13	18.73
1.2.3.7.8.9-HxCDD	99	100.0	1.20	0.39	16.20	51	100.0	1.18	0.55	15.89	73	100.0	1.29	0.50	17.91
1.2.3.4.6.7.8-HpCDD	99	100.0	8.53	2.78	107.47	51	100.0	7.90	3.34	93.17	73	100.0	11.36	3.11	114.60
OCDD	99	100.0	62.08	29.62	565.94	51	100.0	61.41	29.08	504.79	73	100.0	95.88	24.59	702.67
2.3.7.8-TCDF	99	100.0	0.30	0.07	1.71	51	100.0	0.27	0.02	1.31	73	75.0	0.49	0.24	1.41
1.2.3.7.8-PeCDF	99	100.0	0.21	0.05	1.36	51	100.0	0.19	0.04	1.29	73	90.0	0.50	0.13	2.21
2.3.4.7.8-PeCDF	99	100.0	5.39	1.20	23.89	51	100.0	6.13	1.15	21.42	73	100.0	5.15	1.63	15.76
1.2.3.4.7.8-HxCDF	99	100.0	1.57	0.58	4.83	51	100.0	1.67	0.57	4.86	73	100.0	2.07	0.79	7.56
1.2.3.6.7.8-HxCDF	99	100.0	1.69	0.57	4.94	51	100.0	1.80	0.54	5.21	73	100.0	2.44	0.88	7.97
1.2.3.7.8.9-HxCDF	99	50.0	0.06	0.02	0.43	51	50.0	0.06	0.02	0.30	73	50.0	0.38	0.08	0.95
2.3.4.6.7.8-HxCDF	99	100.0	0.64	0.17	2.96	51	100.0	0.65	0.22	2.88	73	100.0	0.75	0.25	3.94
1.2.3.4.6.7.8-HpCDF	99	100.0	1.48	0.52	10.31	51	100.0	1.44	0.60	9.91	73	100.0	3.01	0.86	19.00
1.2.3.4.7.8.9-HpCDF	99	90.0	0.13	0.02	0.88	51	90.0	0.12	0.03	1.06	73	85.0	0.70	0.17	2.80
OCDF	99	100.0	0.55	0.18	2.70	51	100.0	0.65	0.24	2.11	73	100.0	2.71	0.76	6.91
WHO-TEQ_{2005} PCDD/F	99	100.0	6.36	2.24	22.27	51	100.0	7.41	2.37	20.70	73	100.0	6.10	2.48	16.59
PCB 77	98	100.0	3.23	1.16	14.31	51	100.0	2.87	0.72	8.73	73	100.0	8.57	5.01	34.85
PCB 81	98	100.0	1.25	0.34	4.29	51	100.0	1.08	0.36	4.34	73	80.0	2.30	0.60	13.33
PCB 126	98	100.0	30.25	6.78	131.14	51	100.0	32.30	8.38	103.02	73	100.0	24.20	6.40	74.99
PCB 169	98	100.0	27.56	5.20	157.41	51	100.0	31.88	6.68	106.91	73	100.0	18.99	4.00	61.35
PCB 105	99	100.0	1812.32	539.95	8028.25	51	100.0	2076.00	654.30	10240.11	73	100.0	1206.71	321.79	3660.65
PCB 114	99	100.0	451.94	98.69	2808.11	51	100.0	540.43	129.76	2643.59	73	100.0	299.93	57.53	1327.02
PCB 118	99	100.0	8344.27	2877.14	31316.51	51	100.0	9506.72	3421.81	34610.15	73	100.0	6443.27	1896.40	20086.66
PCB123	99	100.0	95.46	25.14	379.40	51	100.0	121.57	46.74	393.45	73	100.0	80.44	14.95	229.53
PCB 156	99	100.0	4838.18	757.76	29113.87	51	100.0	5150.81	891.13	22772.58	73	100.0	2891.56	486.28	9709.28
PCB 157	99	100.0	1297.58	170.97	8092.12	51	100.0	1451.21	221.18	6390.30	73	100.0	994.61	190.39	3328.72
PCB 167	99	100.0	1302.85	251.21	5603.27	51	100.0	1455.64	359.94	6221.62	73	100.0	1081.27	287.82	3862.26
PCB 189	99	100.0	750.97	92.73	5299.09	51	100.0	836.58	123.87	3216.85	73	100.0	418.93	54.01	1205.40
WHO-TEQ_{2005} dl-PCB	99	100.0	4.46	0.64	17.62	51	100.0	4.68	1.68	15.53	73	100.0	3.55	1.17	10.09
TOTAL TEQ_{2005}	99	100.0	10.86	3.73	39.88	51	100.0	12.35	4.12	36.23	73	100.0	10.04	4.22	26.68

Table 3: Summary of the chemical exposure levels measured for non dioxin-like polychlorobiphenyls (ndl-PCBs), polybromodiphenylethers (PBDE), hexabromocyclododecane (α-HBCD) and organochlorine pesticides (OCs) in the analyzed parietal adipose tissue, omental tissue and serum samples (ng/g l.w.). Detailed distributions percentiles are given in supplementary material (Tables S1, S2 and S3). (nd:non determined).

	Parietal adipose tissue					Omental adipose tissue					Serum				
	Analyzed samples	Detection Rate	Median	Min	Max	Analyzed samples	Detection Rate	Median	Min	Max	Analyzed samples	Detection Rate	Median	Min	Max
PCB 28	99	100.0	1.01	0.22	4.68	51	100.0	0.88	0.22	3.23	73	100.0	0.92	0.40	11.32
PCB 52	99	100.0	0.16	0.06	1.62	51	100.0	0.19	0.07	1.02	73	100.0	0.23	0.08	10.14
PCB 101	99	100.0	0.37	0.11	1.68	51	100.0	0.39	0.13	1.65	73	100.0	0.32	0.11	8.04
PCB 138	99	100.0	27.62	3.54	93.14	51	100.0	30.48	7.89	118.96	73	100.0	15.63	4.32	45.31
PCB 153	99	100.0	58.90	7.63	222.84	51	100.0	65.79	15.48	263.59	73	100.0	35.50	8.37	98.35
PCB 180	99	100.0	50.89	6.10	327.90	51	100.0	54.93	9.11	247.18	73	100.0	30.11	5.37	77.15
Sum 6 ndl-PCBs	99	100.0	137.06	18.27	625.88	51	100.0	147.88	35.05	632.55	73	100.0	81.09	21.36	222.96
PBDE 28	99	100.0	0.03	0.01	0.43	51	100.0	0.03	0.01	0.54	87	85.0	0.02	0.00	0.28
PBDE 47	99	100.0	0.32	0.05	4.60	51	100.0	0.34	0.08	4.50	87	100.0	0.18	0.01	3.81
PBDE 99	99	100.0	0.09	0.01	2.55	51	100.0	0.08	0.01	2.66	87	85.0	0.04	0.01	1.88
PBDE 100	99	100.0	0.12	0.02	1.76	51	100.0	0.12	0.03	1.31	87	95.0	0.07	0.01	1.00
PBDE 153	99	100.0	1.12	0.33	4.96	51	100.0	1.20	0.46	5.87	87	100.0	0.48	0.24	2.06
PBDE 154	99	99.0	0.03	0.01	0.31	51	99.0	0.02	0.01	0.33	87	20.0	0.02	0.01	0.20
PBDE 183	99	100.0	0.18	0.02	1.78	51	100.0	0.19	0.07	0.94	87	30.0	0.09	0.02	1.05
PBDE 209	99	100.0	1.82	0.55	102.69	51	100.0	2.75	0.80	13.76	87	85.0	0.68	0.08	20.11
Sum 7 i-PBDE	99	100.0	2.10	0.73	10.64	51	100.0	1.97	0.81	10.78	87	100.0	0.95	0.47	8.02
PBB 153	99	100.0	0.21	0.03	8.62	51	100.0	0.24	0.08	7.62	87	30.0	0.11	0.04	2.30
α-HBCD	99	100.0	0.80	0.15	41.71	51	100.0	0.86	0.28	22.24	85	25.0	0.28	0.08	4.99
HCB	93	100.0	9.975	3.25	32.229	51	100.0	11.046	4.596	29.648	nd	nd	nd	nd	nd
b-HCH	93	100.0	15.585	3.821	77.573	51	100.0	16.193	0	80.267	nd	nd	nd	nd	nd
Trans-nonachlor	93	100.0	4.266	0.725	20.611	51	100.0	4.407	1.298	17.65	nd	nd	nd	nd	nd
Oxychlordane	93	100.0	5.096	0.663	25.701	51	100.0	6.219	1.535	22.499	nd	nd	nd	nd	nd
Cis-heptachlor epoxyde	93	100.0	4.396	0.417	14.957	51	100.0	4.979	1.32	14.207	nd	nd	nd	nd	nd
Dieldrin	93	100.0	5.521	1.396	15.63	51	100.0	5.845	1.629	15.166	nd	nd	nd	nd	nd
p,p'-DDT	85	100.0	2.577	0.709	119.383	51	100.0	2.969	0.693	96.737	nd	nd	nd	nd	nd
p,p'-DDE	93	100.0	71.089	11.629	2778.577	51	100.0	80.797	13.291	2604.585	nd	nd	nd	nd	nd

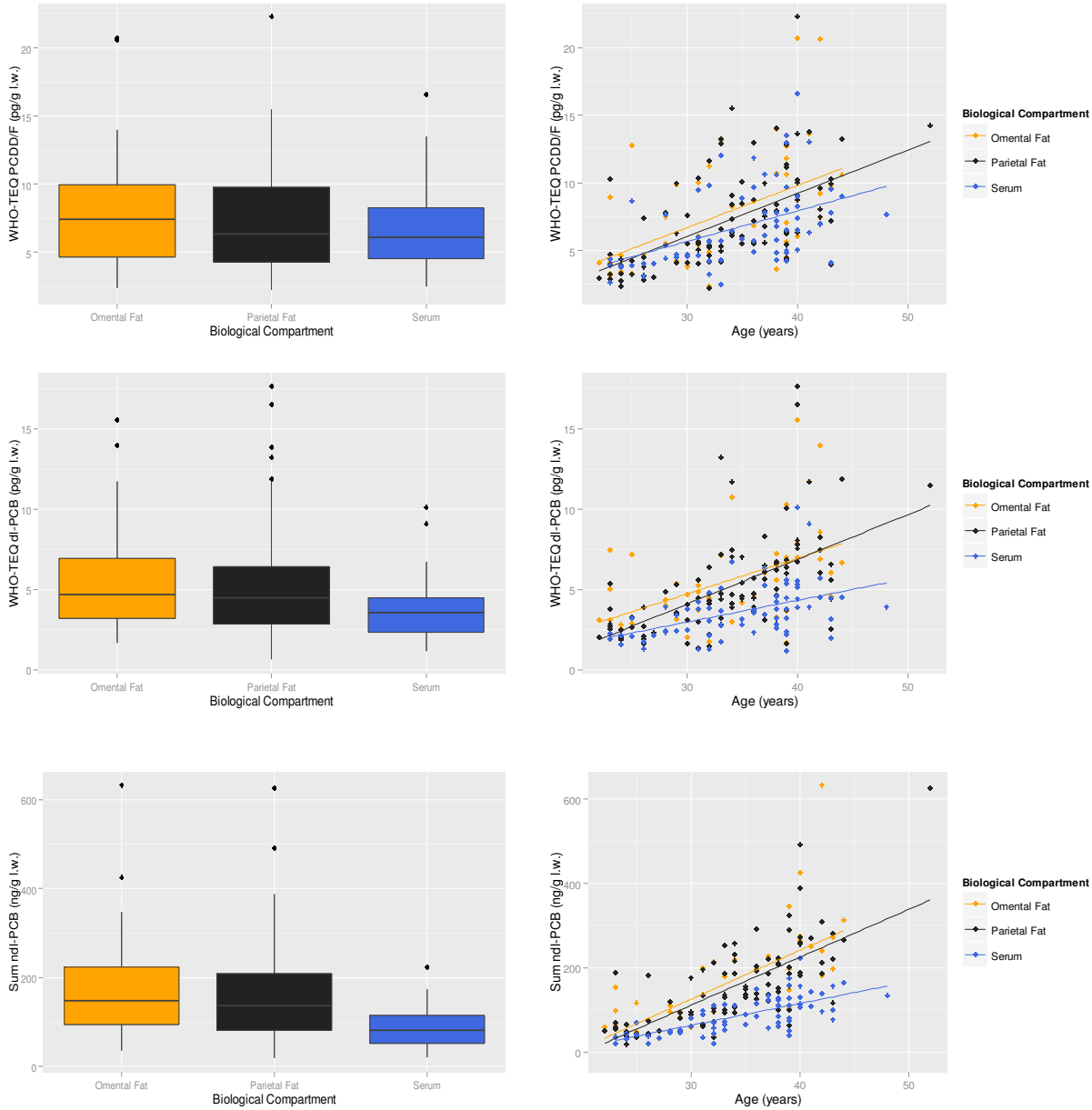


Figure 1: Concentrations of dioxins (Top, WHO-TEQ$_{2005}$), dioxin-like PCBs (Middle, WHO-TEQ$_{2005}$) and non dioxin-like PCBs (Bottom, Sum of 6 congeners 28, 52, 101, 138, 153, 180) measured in the analyzed omental adipose tissue (n=51), parietal adipose tissue (n=99), and serum (n=73) samples from all included individuals (Left, box plots representing Min-p25-p50-p75-Max and atypical values), and correlation between exposure levels and age of individuals (Right).

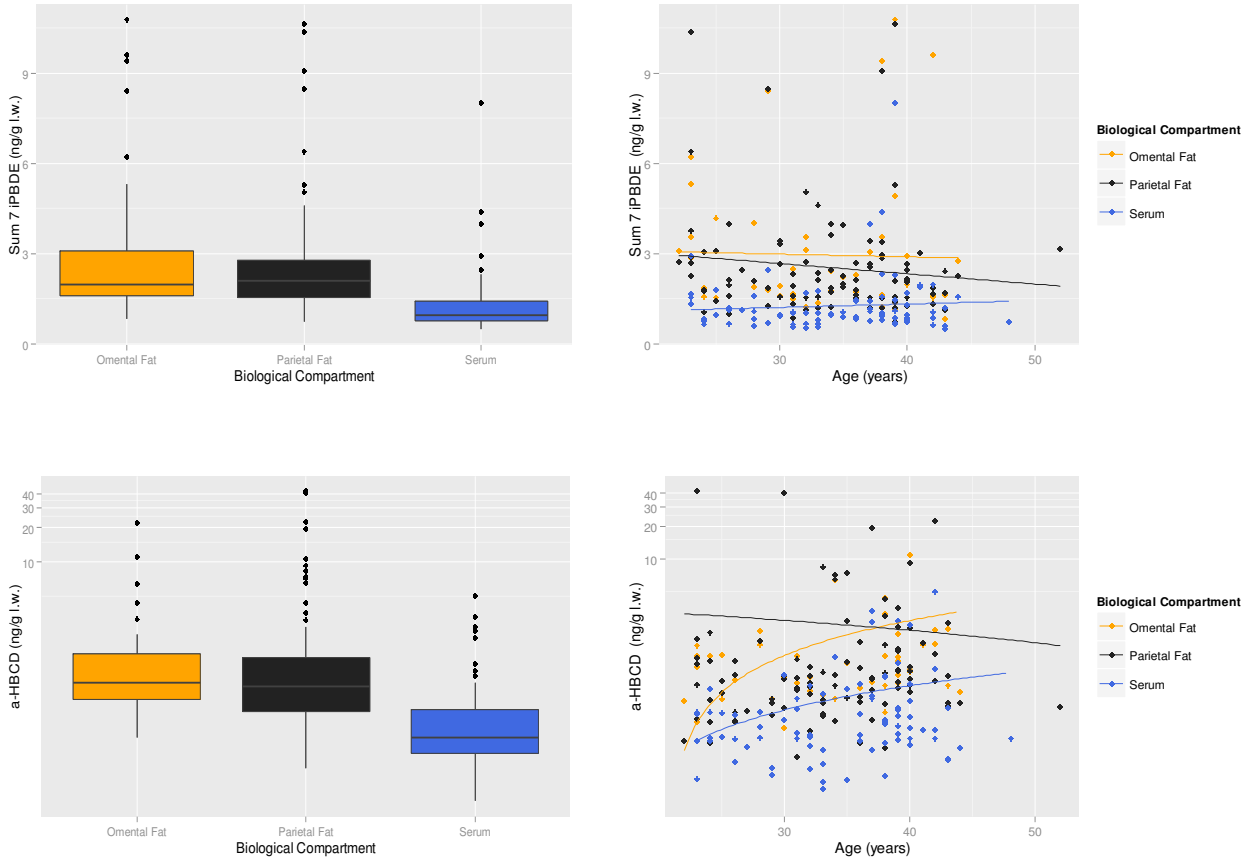


Figure 2: Concentrations of PBDE (Top, Sum of the 7 indicator congeners 28, 47, 99, 100, 153, 154, 183) and α-HBCD (Bottom) measured in the analyzed omental adipose tissue (n=51), parietal adipose tissue (n=99), and serum (n=87) samples from all included individuals (Left, box plots representing Min-p25-p50-p75-Max and atypical values), and correlation between exposure levels and maternal age (Right).

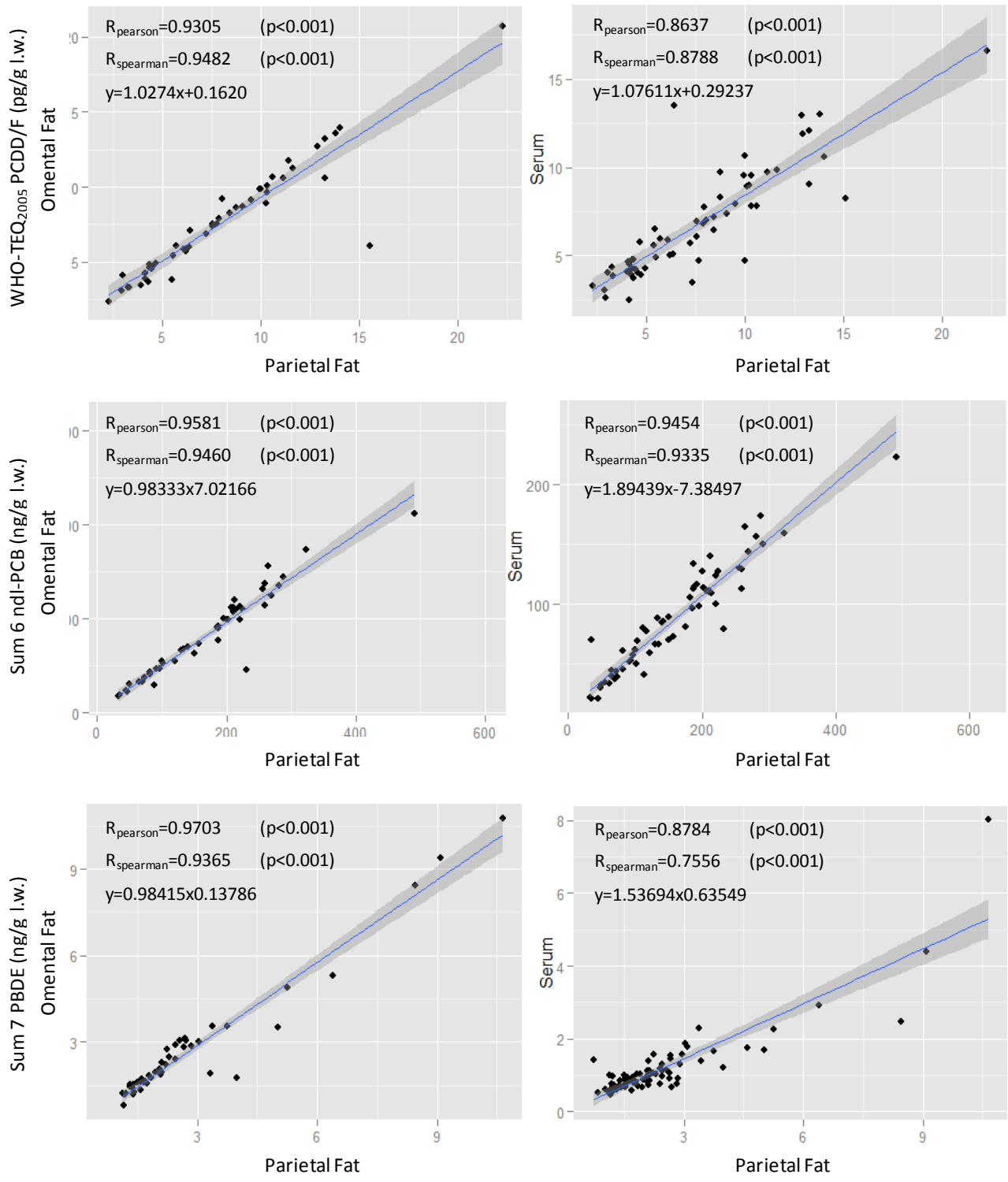


Figure 3: Correlations between the concentrations of PCDD/F (Top), non dioxin-like PCB (Middle, Sum of 6 congeners 28, 52, 101, 138, 153, 180) and PBDE (Bottom, Sum of the 7 indicator congeners 28, 47, 99, 100, 153, 154, 183) measured in parietal adipose tissue *versus* omental tissue (Left) or serum (Right).

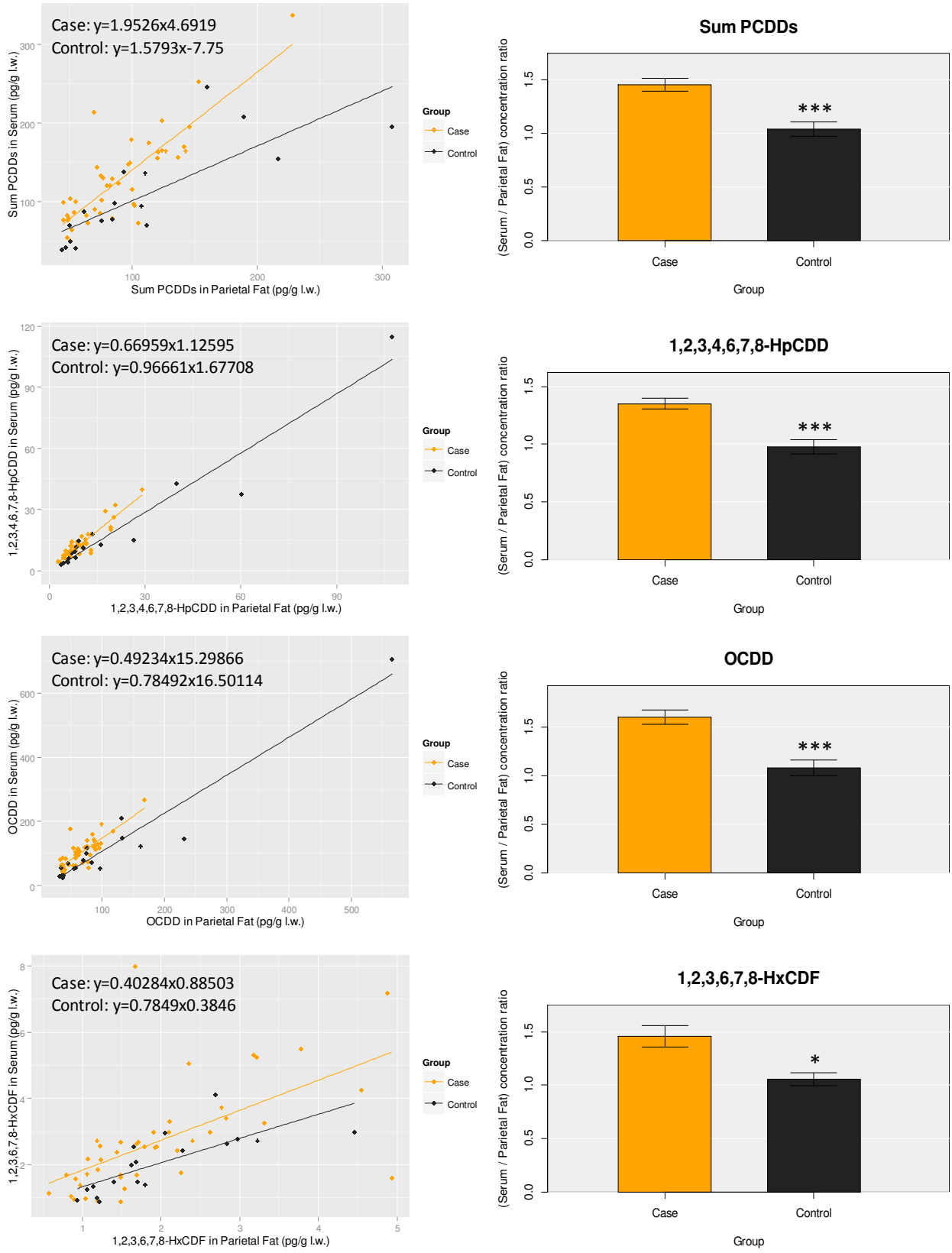


Figure 4: Correlations between the levels of Sum of PCDDs, 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD, OCDD and 1,2,3,6,7,8-HxCDF measured in parietal adipose tissue and serum for cases and controls individuals (Left) and corresponding ratio of serum *versus* parietal adipose tissue concentrations (Right).

Distribution of persistent organic pollutants in serum, omental, and parietal adipose tissue of French women with deep infiltrating endometriosis and circulating *versus* stored ratio as new marker of exposure

Ploteau Stéphane[1,2], Antignac Jean-Philippe[1,3*], Christelle Volteau[4], Marchand Philippe[1], Vénisseau Anaïs[1], Vacher Vincent[1], Bruno Le Bizec[1]

[1] LUNAM Université, Oniris, USC 1329 Laboratoire d'Etude des Résidus et Contaminants dans les Aliments (LABERCA), Nantes, France

[2] Service de gynécologie-obstétrique, Hôpital Mère Enfant, CHU Hôtel Dieu, Nantes, France

[3] INRA, Nantes, F-44307, France

[4] Plateforme Biométrie, CHU Hôtel Dieu, Nantes, France

SUPLEMENTARY MATERIAL

Keywords: Persistent Organic Pollutants, Endometriosis, Serum, Adipose tissue, Dioxin, PCB, PBDE, OC

* Corresponding author: J.P. Antignac, Laboratoire d'Etude des Résidus et Contaminants dans les Aliments (LABERCA), Oniris, Atlanpole - La Chantrerie, CS50707, Nantes, F-44307, France, tel : +33 2 40 68 78 80, fax : +33 2 40 68 78 78, email : laberca@oniris-nantes.fr.

Table S1: Distributions of POP concentrations measured in the analyzed parietal adipose tissue samples from all included individuals.

Parietal Fat_All Indiv.	Unit	n	Mean	Geom. Mean	Std. Dev.	Min	p5	p25	p50	p75	p95	Max
Donor Age	Years	109	33.66	33.05	6.279	22.00	23.00	29.75	34.00	39.00	43.00	52.00
Donor BMI	-	102	23.89	23.51	4.577	17.50	18.90	20.55	22.60	25.73	33.57	39.40
Breastfeeding duration	Months	99	2.54	0.00	10.255	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	12.00	96.00
Fat Content	%	99	67.70	66.27	12.652	28.79	45.74	62.30	70.45	76.55	82.84	91.06
2.3.7.8-TCDD	pg.g l.w.	99	0.77	0.69	0.396	0.21	0.32	0.50	0.69	0.94	1.57	2.36
1.2.3.7.8-PeCDD	pg.g l.w.	99	2.82	2.47	1.49	0.73	1.12	1.66	2.47	3.79	5.46	8.80
1.2.3.4.7.8-HxCDD	pg.g l.w.	99	1.32	1.17	0.673	0.31	0.57	0.79	1.16	1.55	2.67	3.50
1.2.3.6.7.8-HxCDD	pg.g l.w.	99	8.47	7.37	4.56	2.18	3.05	5.11	7.14	10.83	18.26	21.41
1.2.3.7.8.9-HxCDD	pg.g l.w.	99	1.63	1.33	1.688	0.39	0.64	0.90	1.20	1.94	3.53	16.20
1.2.3.4.6.7.8-HpCDD	pg.g l.w.	99	11.93	9.27	12.744	2.78	3.67	5.98	8.53	13.11	26.57	107.47
OCDD	pg.g l.w.	99	76.61	65.43	61.995	29.62	34.37	43.32	62.08	87.75	154.07	565.94
Sum PCDDs	pg.g l.w.	99	103.54	89.49	78.465	41.32	45.51	62.50	84.41	120.59	197.29	709.74
2.3.7.8-TCDF	pg.g l.w.	99	0.40	0.31	0.325	0.07	0.10	0.20	0.30	0.46	0.97	1.71
1.2.3.7.8-PeCDF	pg.g l.w.	99	0.27	0.22	0.216	0.05	0.09	0.15	0.21	0.31	0.62	1.36
2.3.4.7.8-PeCDF	pg.g l.w.	99	6.38	5.51	3.648	1.20	2.16	3.75	5.39	8.05	12.72	23.89
1.2.3.4.7.8-HxCDF	pg.g l.w.	99	1.80	1.64	0.858	0.58	0.85	1.23	1.57	2.13	3.62	4.83
1.2.3.6.7.8-HxCDF	pg.g l.w.	99	1.94	1.74	0.948	0.57	0.84	1.20	1.69	2.50	3.81	4.94
1.2.3.7.8.9-HxCDF	pg.g l.w.	99	0.07	0.06	0.052	0.02	0.03	0.05	0.06	0.09	0.15	0.43
2.3.4.6.7.8-HxCDF	pg.g l.w.	99	0.76	0.65	0.471	0.17	0.26	0.47	0.64	0.90	1.56	2.96
1.2.3.4.6.7.8-HpCDF	pg.g l.w.	99	2.03	1.70	1.505	0.52	0.91	1.12	1.48	2.42	4.51	10.31
1.2.3.4.7.8.9-HpCDF	pg.g l.w.	99	0.16	0.13	0.125	0.02	0.06	0.09	0.13	0.19	0.36	0.88
OCDF	pg.g l.w.	99	0.70	0.58	0.478	0.18	0.26	0.41	0.55	0.81	1.73	2.70
Sum PCDFs	pg.g l.w.	99	14.51	13.13	6.785	4.74	6.23	9.93	13.29	17.29	27.11	38.63
WHO-TEQ_{1998} PCDD/F	pg.g l.w.	99	8.58	7.61	4.351	2.47	3.38	5.08	7.55	11.51	16.15	27.03
WHO-TEQ_{2005} PCDD/F	pg.g l.w.	99	7.32	6.50	3.656	2.24	2.96	4.31	6.36	9.77	13.82	22.27
PCB 77	pg.g l.w.	98	3.83	3.28	2.436	1.16	1.36	2.44	3.23	4.48	8.89	14.31
PCB 81	pg.g l.w.	98	1.46	1.25	0.832	0.34	0.43	0.91	1.25	1.88	2.79	4.29
PCB 126	pg.g l.w.	98	35.83	29.83	24.101	6.78	12.13	18.82	30.25	44.35	91.92	131.14
PCB 169	pg.g l.w.	98	31.32	25.54	22.41	5.20	7.93	15.77	27.56	41.79	56.64	157.41
Sum Coplanar PCBs	pg.g l.w.	98	72.45	63.04	41.373	20.33	27.63	45.45	64.59	89.37	146.41	252.96
PCB 105	pg.g l.w.	99	2286.89	1937.88	1412.22	539.95	832.64	1280.79	1812.32	2743.17	5177.33	8028.25
PCB 114	pg.g l.w.	99	549.63	445.64	402.197	98.69	167.16	266.31	451.94	714.39	1078.77	2808.11
PCB 118	pg.g l.w.	99	9847.20	8436.09	5775.464	2877.14	3130.62	5621.11	8344.27	12557.55	19951.05	31316.51
PCB123	pg.g l.w.	99	114.35	95.99	71.481	25.14	35.03	63.33	95.46	143.23	252.62	379.40
PCB 156	pg.g l.w.	99	5450.98	4382.41	3899.523	757.76	1317.87	2949.44	4838.18	7086.35	10898.21	29113.87
PCB 157	pg.g l.w.	99	1418.50	1123.39	1060.439	170.97	314.63	716.10	1297.58	1815.74	3130.75	8092.12
PCB 167	pg.g l.w.	99	1474.15	1215.89	939.149	251.21	410.96	792.21	1302.85	2007.53	2974.02	5603.27
PCB 189	pg.g l.w.	99	816.78	622.04	662.742	92.73	149.83	387.79	750.97	1097.28	1560.53	5299.09
Sum Non Coplanar PCBs	pg.g l.w.	99	21958.48	18779.61	12915.97	5150.07	7698.10	13364.16	18461.53	28375.06	43865.36	72015.40
WHO-TEQ_{1998} dl-PCB	pg.g l.w.	99	8.89	7.60	5.3	2.27	3.09	5.22	7.82	11.53	18.59	29.55
WHO-TEQ_{2005} dl-PCB	pg.g l.w.	99	5.14	4.34	3.186	0.64	1.63	2.86	4.46	6.42	11.70	17.62
TOTAL TEQ_{1998}	pg.g l.w.	99	17.47	15.34	9.308	4.74	6.88	10.43	15.42	21.89	34.63	56.59
TOTAL TEQ_{2005}	pg.g l.w.	99	12.45	11.01	6.5	3.73	5.05	7.54	10.86	15.67	25.49	39.88
PCB 28	ng.g l.w.	99	1.23	1.04	0.781	0.22	0.45	0.70	1.01	1.52	2.67	4.68
PCB 52	ng.g l.w.	99	0.25	0.19	0.236	0.06	0.07	0.12	0.16	0.30	0.65	1.62
PCB 101	ng.g l.w.	99	0.45	0.37	0.312	0.11	0.14	0.23	0.37	0.59	1.08	1.68
PCB 138	ng.g l.w.	99	30.90	25.77	18.566	3.54	9.78	17.16	27.62	38.77	66.83	93.14
PCB 153	ng.g l.w.	99	65.55	53.91	40.511	7.63	17.99	35.28	58.90	88.81	124.92	222.84
PCB 180	ng.g l.w.	99	56.56	43.49	43.52	6.10	11.12	26.81	50.89	75.61	116.85	327.90
Sum 6 ndl-PCBs	ng.g l.w.	99	154.93	126.65	99.279	18.27	41.77	81.51	137.06	208.84	292.78	625.88
Sum 7 i-PCBs	ng.g l.w.	99	164.78	135.80	103.694	21.17	45.99	88.63	142.41	218.12	311.23	643.40
PBDE 28	ng.g l.w.	99	0.04	0.03	0.051	0.01	0.01	0.02	0.03	0.04	0.11	0.43
PBDE 47	ng.g l.w.	99	0.54	0.34	0.727	0.05	0.09	0.18	0.32	0.55	1.34	4.60
PBDE 99	ng.g l.w.	99	0.16	0.09	0.293	0.01	0.02	0.04	0.09	0.14	0.49	2.55
PBDE 100	ng.g l.w.	99	0.19	0.13	0.248	0.02	0.04	0.07	0.12	0.21	0.40	1.76
PBDE 153	ng.g l.w.	99	1.31	1.16	0.781	0.33	0.58	0.86	1.12	1.47	2.62	4.96
PBDE 154	ng.g l.w.	99	0.04	0.03	0.041	0.01	0.01	0.02	0.03	0.05	0.09	0.31
PBDE 183	ng.g l.w.	99	0.25	0.18	0.238	0.02	0.05	0.11	0.18	0.28	0.66	1.78
PBDE 209	ng.g l.w.	99	3.37	1.96	10.294	0.55	0.72	1.21	1.82	2.82	6.11	102.69
Sum 7 i-PBDE	ng.g l.w.	99	2.53	2.17	1.78	0.73	1.13	1.54	2.10	2.77	5.38	10.64
Sum 8 i-PBDE	ng.g l.w.	99	5.90	4.40	10.479	1.70	2.14	3.02	4.02	5.46	12.50	104.83
PBB 153	ng.g l.w.	99	0.39	0.20	1.066	0.03	0.05	0.11	0.21	0.32	0.63	8.62
α-HBCD	ng.g l.w.	99	2.60	0.99	6.5	0.15	0.26	0.48	0.80	1.45	9.44	41.71
HCB	ng.g l.w.	93	10.91	10.15	4.479	3.25	5.98	8.16	9.98	12.82	17.05	32.23
β-HCH	ng.g l.w.	93	19.05	15.55	13.171	3.82	5.10	9.62	15.59	24.68	44.60	77.57
Trans-nonachlor	ng.g l.w.	93	4.73	3.96	2.997	0.73	1.42	2.63	4.27	6.25	8.17	20.61
Oxychlordane	ng.g l.w.	93	5.52	4.64	3.463	0.66	1.76	3.16	5.10	7.21	10.56	25.70
Cis-heptachlor epoxyde	ng.g l.w.	93	4.86	4.16	2.661	0.42	1.60	3.24	4.40	6.15	9.63	14.96
Dieldrin	ng.g l.w.	93	5.95	5.05	3.391	1.40	1.88	3.17	5.52	7.83	12.75	15.63
p,p'-DDT	ng.g l.w.	85	6.37	2.91	17.132	0.71	1.01	1.69	2.58	3.80	9.47	119.38
p,p'-DDE	ng.g l.w.	93	169.80	80.43	413.092	11.63	24.89	41.63	71.09	123.13	418.25	2778.58

Table S2: Distributions of POP concentrations measured in the analyzed omental tissue samples from all included individuals.

Omental Fat_All indiv	Unit	Mean	Geom. Mean	Std. Dev.	Min	p5	p25	p50	p75	p95	Max
Donor Age	Years	33.74	33.07	6.552	22.00	23.00	29.00	34.50	39.00	42.55	44.00
Donor BMI	-	22.79	22.50	3.95	17.90	18.34	20.40	22.00	24.60	29.96	39.40
Breastfeeding duration	Months	1.35	0.00	3.219	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	10.00	12.00
Fat Content	%	71.95	70.36	12.918	25.81	42.10	68.71	75.52	79.79	84.04	88.17
2.3.7.8-TCDD	pg.g l.w.	0.83	0.73	0.457	0.22	0.36	0.51	0.75	0.96	1.58	2.43
1.2.3.7.8-PeCDD	pg.g l.w.	3.16	2.76	1.692	0.75	1.26	1.90	2.80	4.19	5.99	8.60
1.2.3.4.7.8-HxCDD	pg.g l.w.	1.42	1.24	0.754	0.33	0.55	0.82	1.21	1.79	2.67	3.52
1.2.3.6.7.8-HxCDD	pg.g l.w.	8.91	7.61	5.133	2.79	3.17	4.67	7.58	11.65	19.04	22.62
1.2.3.7.8.9-HxCDD	pg.g l.w.	1.73	1.33	2.181	0.55	0.59	0.91	1.18	1.95	3.60	15.89
1.2.3.4.6.7.8-HpCDD	pg.g l.w.	11.31	8.78	13.05	3.34	3.95	6.14	7.90	11.85	24.25	93.17
OCDD	pg.g l.w.	75.23	63.33	68.282	29.08	32.23	45.81	61.41	81.55	145.91	504.79
Sum PCDDs	pg.g l.w.	102.59	87.54	85.94	41.83	44.65	62.92	79.28	117.80	191.82	633.43
2.3.7.8-TCDF	pg.g l.w.	0.35	0.27	0.259	0.02	0.13	0.17	0.27	0.39	0.94	1.31
1.2.3.7.8-PeCDF	pg.g l.w.	0.25	0.20	0.213	0.04	0.08	0.14	0.19	0.28	0.53	1.29
2.3.4.7.8-PeCDF	pg.g l.w.	6.82	5.83	4.059	1.15	2.65	3.71	6.13	8.19	14.79	21.42
1.2.3.4.7.8-HxCDF	pg.g l.w.	1.82	1.62	0.946	0.57	0.85	1.10	1.67	2.24	3.71	4.86
1.2.3.6.7.8-HxCDF	pg.g l.w.	1.95	1.72	1.04	0.54	0.85	1.22	1.80	2.37	4.06	5.21
1.2.3.7.8.9-HxCDF	pg.g l.w.	0.07	0.06	0.042	0.02	0.04	0.05	0.06	0.08	0.12	0.30
2.3.4.6.7.8-HxCDF	pg.g l.w.	0.76	0.65	0.515	0.22	0.28	0.44	0.65	0.86	1.45	2.88
1.2.3.4.6.7.8-HpCDF	pg.g l.w.	1.81	1.53	1.46	0.60	0.78	1.14	1.44	2.03	3.54	9.91
1.2.3.4.7.8.9-HpCDF	pg.g l.w.	0.15	0.12	0.142	0.03	0.07	0.09	0.12	0.16	0.28	1.06
OCDF	pg.g l.w.	0.77	0.68	0.421	0.24	0.37	0.44	0.65	0.92	1.70	2.11
Sum PCDFs	pg.g l.w.	14.73	13.19	7.372	4.46	6.71	9.64	13.59	17.31	31.54	36.04
WHO-TEQ_{1998} PCDD/F	pg.g l.w.	9.25	8.15	4.855	2.59	3.93	5.44	8.67	11.68	16.36	24.98
WHO-TEQ_{2005} PCDD/F	pg.g l.w.	7.89	6.98	4.082	2.37	3.31	4.69	7.41	9.97	13.78	20.70
PCB 77	pg.g l.w.	3.10	2.79	1.515	0.72	1.37	2.23	2.87	3.74	5.80	8.73
PCB 81	pg.g l.w.	1.30	1.12	0.779	0.36	0.51	0.83	1.08	1.49	2.67	4.34
PCB 126	pg.g l.w.	37.65	32.49	21.672	8.38	14.86	21.82	32.30	47.72	86.32	103.02
PCB 169	pg.g l.w.	33.28	28.12	20.257	6.68	10.99	17.76	31.88	44.33	66.16	106.91
Sum Coplanar PCBs	pg.g l.w.	75.33	67.57	37.538	25.34	31.75	47.94	70.83	92.66	133.68	214.06
PCB 105	pg.g l.w.	2688.70	2274.03	1801.979	654.30	1056.45	1567.94	2076.00	2770.26	6053.59	10240.11
PCB 114	pg.g l.w.	641.55	515.22	493.926	129.76	178.69	304.18	540.43	759.02	1623.74	2643.59
PCB 118	pg.g l.w.	11350.83	9845.61	6662.669	3421.81	4776.89	6824.51	9506.72	12808.80	24715.20	34610.15
PCB123	pg.g l.w.	139.52	121.26	82.48	46.74	56.75	82.96	121.57	151.53	317.36	393.45
PCB 156	pg.g l.w.	5896.69	4777.69	4113.25	891.13	1340.68	2932.69	5150.81	7689.27	13821.57	22772.58
PCB 157	pg.g l.w.	1446.19	1173.30	1010.487	221.18	309.12	728.12	1451.21	1890.99	2712.91	6390.30
PCB 167	pg.g l.w.	1706.58	1419.99	1109.264	359.94	483.30	918.69	1455.64	2165.56	3176.06	6221.62
PCB 189	pg.g l.w.	872.76	679.22	619.296	123.87	164.40	411.75	836.58	1159.31	2045.37	3216.85
Sum Non Coplanar PCBs	pg.g l.w.	24742.84	21408.24	14650.49	8168.64	9092.48	14164.49	23076.44	30778.13	47808.11	82429.37
WHO-TEQ_{1998} dl-PCB	pg.g l.w.	9.61	8.41	5.392	2.65	3.87	5.57	8.44	11.76	17.35	29.78
WHO-TEQ_{2005} dl-PCB	pg.g l.w.	5.51	4.86	2.952	1.68	2.27	3.20	4.68	6.93	11.23	15.53
TOTAL TEQ_{1998}	pg.g l.w.	18.86	16.75	9.778	5.24	7.95	11.57	18.92	23.09	31.76	54.15
TOTAL TEQ_{2005}	pg.g l.w.	13.40	12.01	6.653	4.12	6.01	8.82	12.35	16.00	23.70	36.23
PCB 28	ng.g l.w.	1.11	0.95	0.637	0.22	0.43	0.67	0.88	1.43	2.35	3.23
PCB 52	ng.g l.w.	0.26	0.21	0.198	0.07	0.09	0.12	0.19	0.30	0.67	1.02
PCB 101	ng.g l.w.	0.49	0.40	0.333	0.13	0.16	0.24	0.39	0.60	1.06	1.65
PCB 138	ng.g l.w.	34.15	28.61	21.516	7.89	9.60	18.47	30.48	42.82	70.72	118.96
PCB 153	ng.g l.w.	72.89	60.63	45.978	15.48	21.34	40.29	65.79	94.15	138.89	263.59
PCB 180	ng.g l.w.	61.64	47.87	44.493	9.11	12.34	27.46	54.93	82.59	129.13	247.18
Sum 6 ndl-PCBs	ng.g l.w.	170.54	140.84	109.754	35.05	46.87	93.62	147.88	223.75	329.38	632.55
Sum 7 i-PCBs	ng.g l.w.	181.89	151.66	114.777	40.25	52.44	100.89	160.57	234.44	345.29	667.16
PBDE 28	ng.g l.w.	0.05	0.03	0.083	0.01	0.01	0.02	0.03	0.04	0.16	0.54
PBDE 47	ng.g l.w.	0.66	0.38	0.953	0.08	0.12	0.20	0.34	0.58	2.66	4.50
PBDE 99	ng.g l.w.	0.20	0.09	0.406	0.01	0.02	0.04	0.08	0.15	0.65	2.66
PBDE 100	ng.g l.w.	0.21	0.14	0.246	0.03	0.05	0.08	0.12	0.23	0.76	1.31
PBDE 153	ng.g l.w.	1.50	1.29	0.974	0.46	0.60	0.94	1.20	1.78	2.91	5.87
PBDE 154	ng.g l.w.	0.04	0.03	0.047	0.01	0.01	0.02	0.02	0.04	0.08	0.33
PBDE 183	ng.g l.w.	0.26	0.21	0.19	0.07	0.08	0.14	0.19	0.30	0.66	0.94
PBDE 209	ng.g l.w.	3.43	2.79	2.552	0.80	1.05	1.80	2.75	4.26	7.91	13.76
Sum 7 i-PBDE	ng.g l.w.	2.91	2.38	2.269	0.81	1.20	1.58	1.97	3.09	8.91	10.78
Sum 8 i-PBDE	ng.g l.w.	6.34	5.48	3.825	2.07	2.46	3.68	5.12	7.11	13.89	19.07
PBB 153	ng.g l.w.	0.55	0.28	1.292	0.08	0.09	0.16	0.24	0.38	0.85	7.62
α-HBCD	ng.g l.w.	1.81	1.05	3.386	0.28	0.36	0.61	0.86	1.54	5.37	22.24
HCB	ng.g l.w.	12.11	11.29	4.893	4.60	6.30	9.57	11.05	14.35	19.99	29.65
β-HCH	ng.g l.w.	21.33	0.00	16.205	0.00	5.62	10.22	16.19	26.56	52.64	80.27
Trans-nonachlor	ng.g l.w.	5.11	4.42	2.927	1.30	1.75	3.07	4.41	6.46	9.48	17.65
Oxychlordane	ng.g l.w.	6.37	5.59	3.506	1.54	2.44	3.90	6.22	8.11	10.80	22.50
Cis-heptachlor epoxyde	ng.g l.w.	5.54	4.97	2.649	1.32	2.31	3.76	4.98	6.54	9.89	14.21
Dieldrin	ng.g l.w.	6.23	5.46	3.124	1.63	2.08	3.81	5.85	7.68	11.85	15.17
p,p'-DDT	ng.g l.w.	5.49	3.02	14.395	0.69	1.06	1.88	2.97	4.29	8.45	96.74
p,p'-DDE	ng.g l.w.	159.03	85.68	373.917	13.29	26.05	46.34	80.80	128.76	320.33	2604.59

Table S3: Distributions of POP concentrations measured in the analyzed serum samples from all included individuals.

Serum_All Indiv.	Unit	n	Mean	Geom. Mean	Std. Dev.	Min	p5	p25	p50	p75	p95	Max
Donor Age	Years	109	34.42	33.84	6.153	23.00	24.00	30.00	36.00	39.00	42.90	48.00
Donor BMI	-	102	23.54	23.14	4.668	17.30	18.70	20.40	22.20	25.10	34.20	39.40
Breastfeeding duration	Months	86	2.91	0.00	11.094	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	12.00	96.00
Fat Content	%	87	0.57	0.55	0.136	0.09	0.38	0.49	0.54	0.65	0.80	0.92
2.3.7.8-TCDD	pg.g l.w.	73	0.82	0.75	0.369	0.30	0.42	0.56	0.74	0.95	1.68	1.99
1.2.3.7.8-PeCDD	pg.g l.w.	73	2.35	2.02	1.32	0.39	0.71	1.42	2.13	3.09	4.80	6.87
1.2.3.4.7.8-HxCDD	pg.g l.w.	73	1.15	1.07	0.441	0.38	0.51	0.85	1.07	1.38	1.97	2.35
1.2.3.6.7.8-HxCDD	pg.g l.w.	73	7.48	6.57	3.875	1.13	2.98	4.69	6.74	9.81	15.14	18.73
1.2.3.7.8.9-HxCDD	pg.g l.w.	73	1.83	1.45	2.107	0.50	0.64	1.00	1.29	1.88	3.45	17.91
1.2.3.4.6.7.8-HpCDD	pg.g l.w.	73	14.16	11.20	14.391	3.11	4.11	8.23	11.36	14.40	34.08	114.60
OCDD	pg.g l.w.	73	106.79	90.93	83.982	24.59	36.23	62.64	95.88	124.35	182.94	702.67
Sum PCDDs	pg.g l.w.	73	134.58	116.24	101.452	39.42	49.31	82.85	115.36	162.45	226.44	851.91
2.3.7.8-TCDF	pg.g l.w.	73	0.53	0.48	0.258	0.24	0.26	0.33	0.49	0.64	1.05	1.41
1.2.3.7.8-PeCDF	pg.g l.w.	73	0.56	0.50	0.323	0.13	0.24	0.35	0.50	0.68	1.07	2.21
2.3.4.7.8-PeCDF	pg.g l.w.	73	5.44	4.80	2.787	1.63	1.94	3.24	5.15	6.97	10.19	15.76
1.2.3.4.7.8-HxCDF	pg.g l.w.	73	2.18	1.96	1.123	0.79	0.91	1.44	2.07	2.44	4.07	7.56
1.2.3.6.7.8-HxCDF	pg.g l.w.	73	2.55	2.25	1.372	0.88	0.93	1.61	2.44	2.97	5.26	7.97
1.2.3.7.8.9-HxCDF	pg.g l.w.	73	0.44	0.39	0.211	0.08	0.16	0.28	0.38	0.56	0.85	0.95
2.3.4.6.7.8-HxCDF	pg.g l.w.	73	0.87	0.77	0.536	0.25	0.38	0.55	0.75	0.98	1.72	3.94
1.2.3.4.6.7.8-HpCDF	pg.g l.w.	73	3.62	3.12	2.605	0.86	1.60	2.27	3.01	3.96	7.40	19.00
1.2.3.4.7.8.9-HpCDF	pg.g l.w.	73	0.87	0.73	0.561	0.17	0.31	0.52	0.70	0.97	1.96	2.80
OCDF	pg.g l.w.	73	2.83	2.59	1.217	0.76	1.39	1.88	2.71	3.53	5.01	6.91
Sum PCDFs	pg.g l.w.	73	19.91	18.65	8.113	9.66	10.97	14.49	18.48	23.37	34.14	59.35
WHO-TEQ_{1998} PCDD/F	pg.g l.w.	73	7.82	7.18	3.375	2.99	3.92	5.16	7.11	9.43	14.77	19.75
WHO-TEQ_{2005} PCDD/F	pg.g l.w.	73	6.75	6.21	2.865	2.48	3.39	4.52	6.10	8.26	12.42	16.59
PCB 77	pg.g l.w.	73	9.49	8.95	4.006	5.01	5.75	7.16	8.57	10.78	14.29	34.85
PCB 81	pg.g l.w.	73	2.58	2.23	1.709	0.60	1.01	1.50	2.30	3.18	4.58	13.33
PCB 126	pg.g l.w.	73	25.74	22.93	13.009	6.40	10.71	17.00	24.20	31.64	45.52	74.99
PCB 169	pg.g l.w.	73	19.72	17.32	9.918	4.00	6.30	11.72	18.99	26.78	32.88	61.35
Sum Coplanar PCBs	pg.g l.w.	73	57.53	53.79	22.18	25.83	29.75	39.48	56.44	69.64	90.23	147.17
PCB 105	pg.g l.w.	73	1387.60	1227.62	706.688	321.79	552.27	904.00	1206.71	1663.37	2979.18	3660.65
PCB 114	pg.g l.w.	73	330.49	273.50	217.48	57.53	92.28	180.84	299.93	431.52	735.65	1327.02
PCB 118	pg.g l.w.	73	6949.35	6123.55	3607.395	1896.40	2413.81	4400.17	6443.27	8801.79	12159.28	20086.66
PCB123	pg.g l.w.	73	82.30	70.53	45.268	14.95	28.21	52.35	80.44	104.77	169.49	229.53
PCB 156	pg.g l.w.	73	3134.20	2625.70	1805.243	486.28	846.35	1756.28	2891.56	4177.69	5723.49	9709.28
PCB 157	pg.g l.w.	73	1111.63	929.80	633.769	190.39	280.99	609.84	994.61	1525.59	2115.44	3328.72
PCB 167	pg.g l.w.	73	1199.18	1037.54	644.322	287.82	368.78	724.30	1081.27	1548.78	2282.77	3862.26
PCB 189	pg.g l.w.	73	438.20	365.02	239.365	54.01	104.35	238.59	418.93	602.32	784.20	1205.40
Sum Non Coplanar PCBs	pg.g l.w.	73	14632.96	12971.00	7269.403	4016.16	5475.96	9422.58	13435.85	19286.98	25243.38	43384.90
WHO-TEQ_{1998} dl-PCB	pg.g l.w.	73	5.96	5.37	2.771	1.83	2.36	3.83	5.45	7.67	9.66	17.30
WHO-TEQ_{2005} dl-PCB	pg.g l.w.	73	3.61	3.27	1.657	1.17	1.48	2.34	3.55	4.49	5.94	10.09
TOTAL TEQ_{1998}	pg.g l.w.	73	13.78	12.65	5.835	5.25	6.52	9.16	13.08	17.33	23.17	37.05
TOTAL TEQ_{2005}	pg.g l.w.	73	10.35	9.57	4.227	4.22	5.19	7.18	10.04	12.69	17.19	26.68
PCB 28	ng.g l.w.	73	1.22	1.03	1.282	0.40	0.52	0.75	0.92	1.34	1.97	11.32
PCB 52	ng.g l.w.	73	0.41	0.24	1.166	0.08	0.10	0.15	0.23	0.34	0.58	10.14
PCB 101	ng.g l.w.	73	0.49	0.34	0.926	0.11	0.15	0.20	0.32	0.44	0.95	8.04
PCB 138	ng.g l.w.	73	17.43	15.34	8.746	4.32	6.03	10.69	15.63	22.76	33.23	45.31
PCB 153	ng.g l.w.	73	37.26	32.53	18.509	8.37	13.91	21.39	35.50	50.76	67.04	98.35
PCB 180	ng.g l.w.	73	31.31	26.16	17.167	5.37	8.51	16.34	30.11	42.99	58.50	77.15
Sum 6 ndl-PCBs	ng.g l.w.	73	88.11	77.13	43.105	21.36	31.81	51.02	81.09	114.56	158.32	222.96
Sum 7 i-PCBs	ng.g l.w.	73	95.06	83.70	45.768	23.62	34.65	55.42	87.30	124.04	168.28	243.04
PBDE 28	ng.g l.w.	87	0.02	0.02	0.033	0.00	0.01	0.01	0.02	0.02	0.04	0.28
PBDE 47	ng.g l.w.	87	0.31	0.18	0.491	0.01	0.05	0.10	0.18	0.30	0.72	3.81
PBDE 99	ng.g l.w.	87	0.09	0.05	0.213	0.01	0.01	0.02	0.04	0.07	0.25	1.88
PBDE 100	ng.g l.w.	87	0.10	0.07	0.127	0.01	0.02	0.04	0.07	0.11	0.25	1.00
PBDE 153	ng.g l.w.	87	0.57	0.51	0.297	0.24	0.29	0.39	0.48	0.63	1.12	2.06
PBDE 154	ng.g l.w.	87	0.02	0.02	0.025	0.01	0.01	0.01	0.02	0.03	0.04	0.20
PBDE 183	ng.g l.w.	87	0.12	0.09	0.129	0.02	0.03	0.06	0.09	0.14	0.22	1.05
PBDE 209	ng.g l.w.	87	1.24	0.66	2.605	0.08	0.15	0.36	0.68	1.12	3.06	20.11
Sum 7 i-PBDE	ng.g l.w.	87	1.23	1.05	0.995	0.47	0.57	0.75	0.95	1.40	2.42	8.02
Sum 8 i-PBDE	ng.g l.w.	87	2.47	1.93	2.765	0.70	0.86	1.36	1.89	2.35	6.85	20.95
PBB 153	ng.g l.w.	87	0.18	0.12	0.312	0.04	0.05	0.08	0.11	0.16	0.29	2.30
α-HBCD	ng.g l.w.	85	0.54	0.34	0.772	0.08	0.10	0.20	0.28	0.50	2.40	4.99
HCB	ng.g l.w.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
β-HCH	ng.g l.w.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Trans-nonachlor	ng.g l.w.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Oxychlordane	ng.g l.w.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cis-heptachlor epoxyde	ng.g l.w.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dieldrin	ng.g l.w.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
p,p'-DDT	ng.g l.w.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
p,p'-DDE	ng.g l.w.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

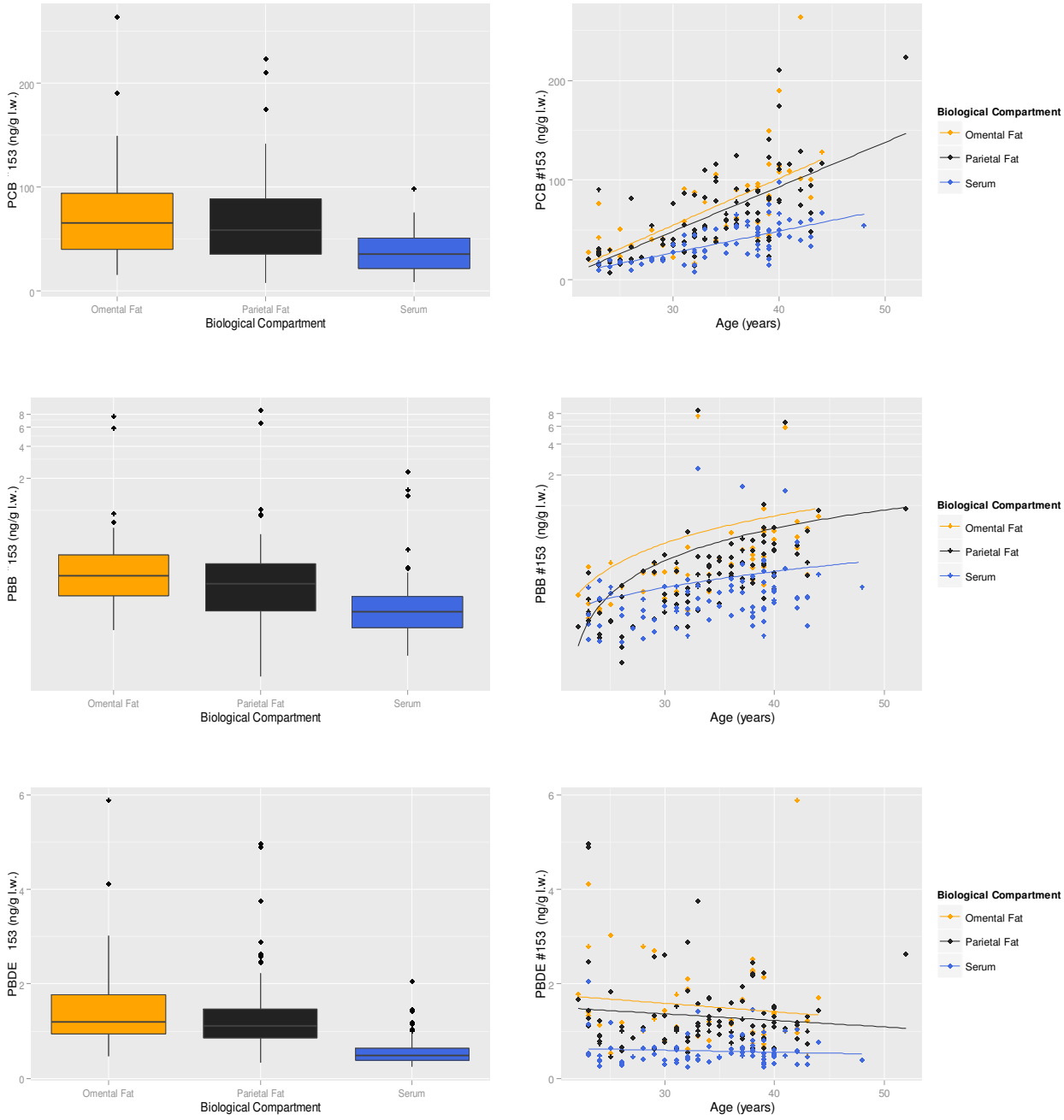


Figure S1: Concentrations of PCB 153 (Top), PBB 153 (Middle) and PBDE 153 (Bottom) measured in the analyzed omental adipose tissue (n=51), parietal adipose tissue (n=99), and serum samples (n=73) from all included individuals (Left, box plots representing Min-p25-p50-p75-Max and atypical values), and correlation between exposure levels and age of individuals (Right).

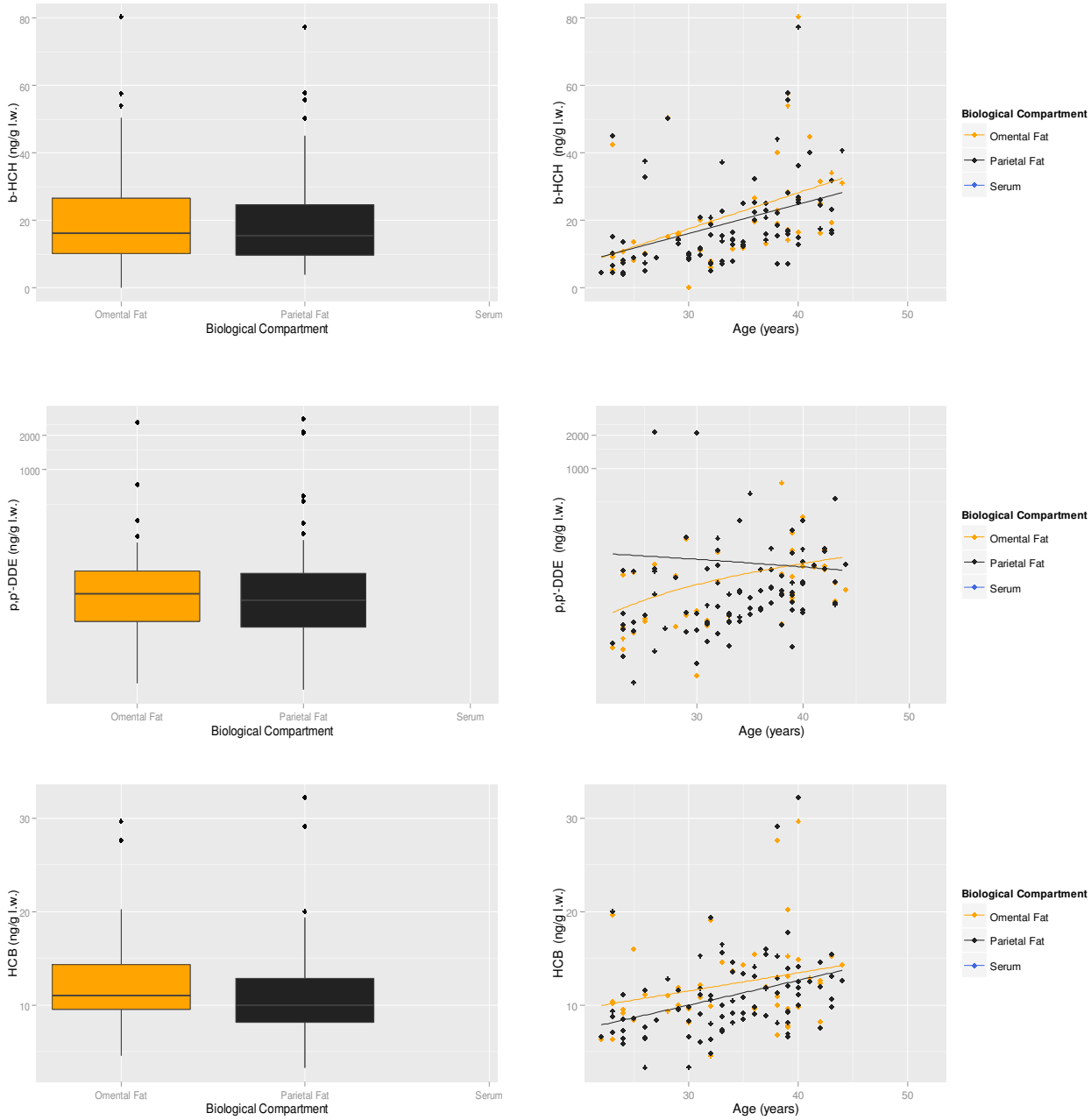


Figure S2: Concentrations of β-HCH (Top), p,p'-DDE (Middle) and HCB (Bottom) measured in the analyzed omental (n=51) and parietal (n=93) adipose tissue samples from all included individuals (Left, box plots representing Min-p25-p50-p75-Max and atypical values), and correlation between exposure levels and age of individuals (Right).

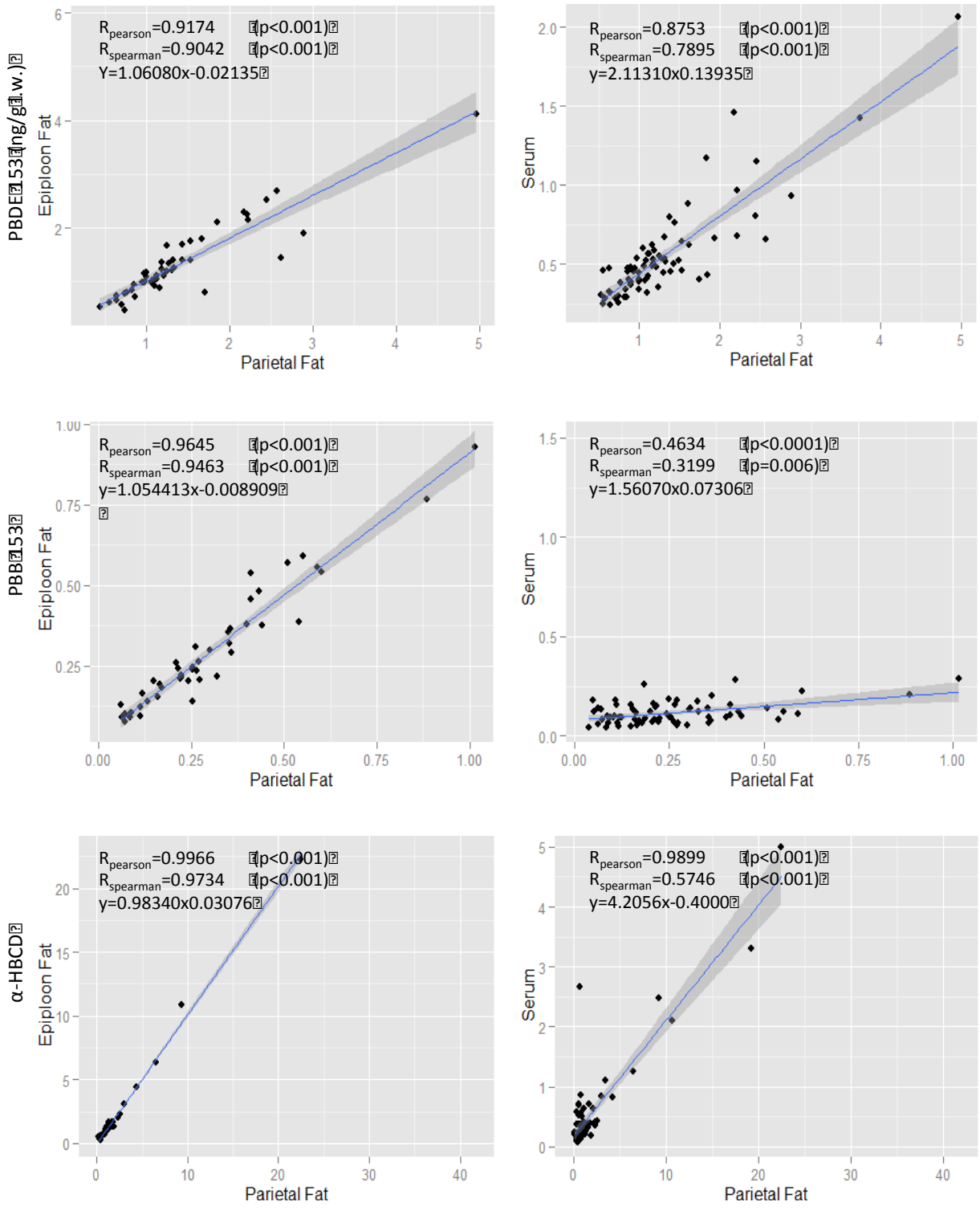


Figure S3: Correlations between the concentrations of PBDE 153 (Top), PBB 153 (Middle) and α-HBCD (Bottom) measured in parietal adipose tissue *versus* omental tissue (Left) or serum (Right).

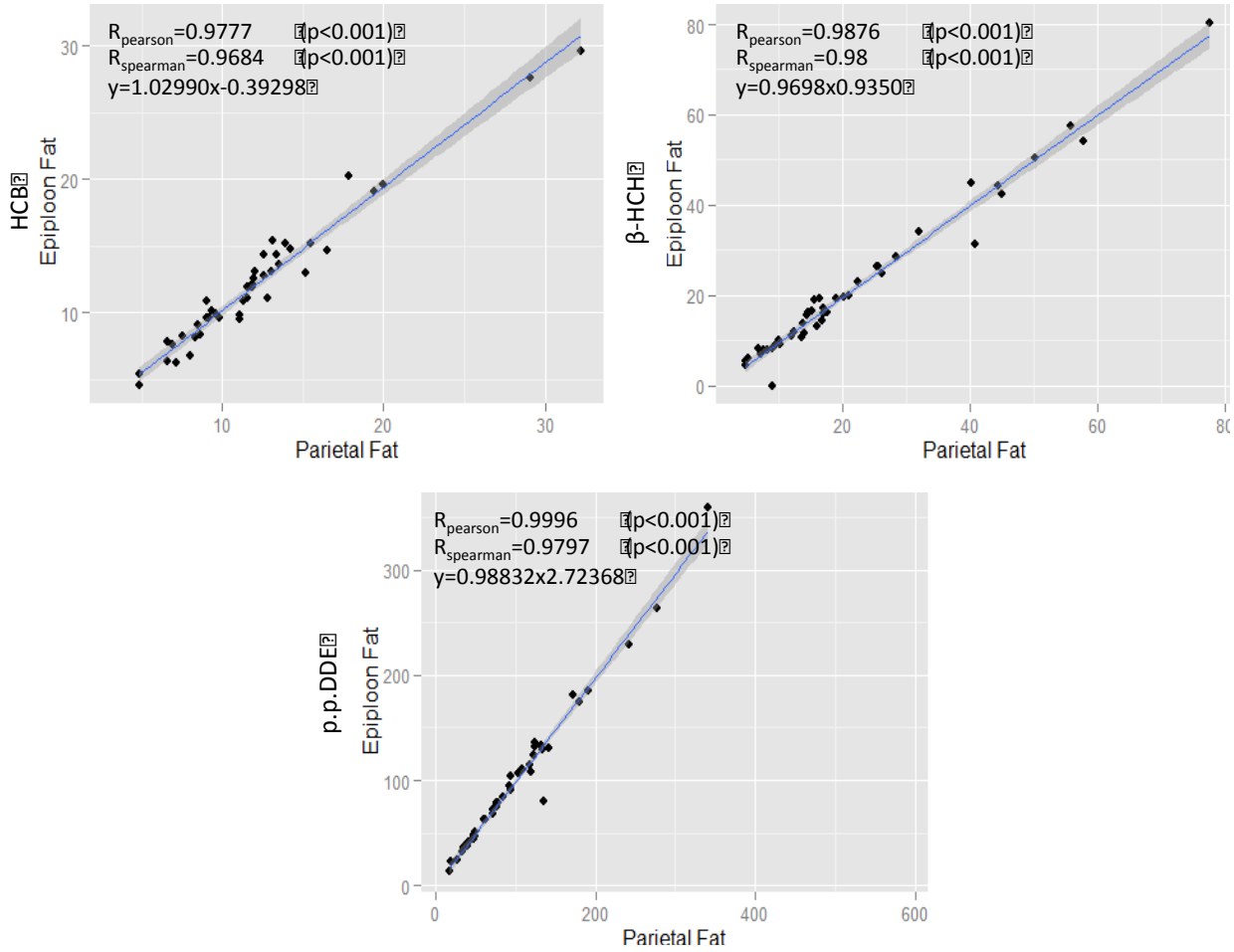


Figure S4: Correlations between the concentrations of HCB (Top, Left), β-HCH (Top, Right) and p,p'-DDE (Bottom) measured in parietal adipose tissue *versus* omental tissue.

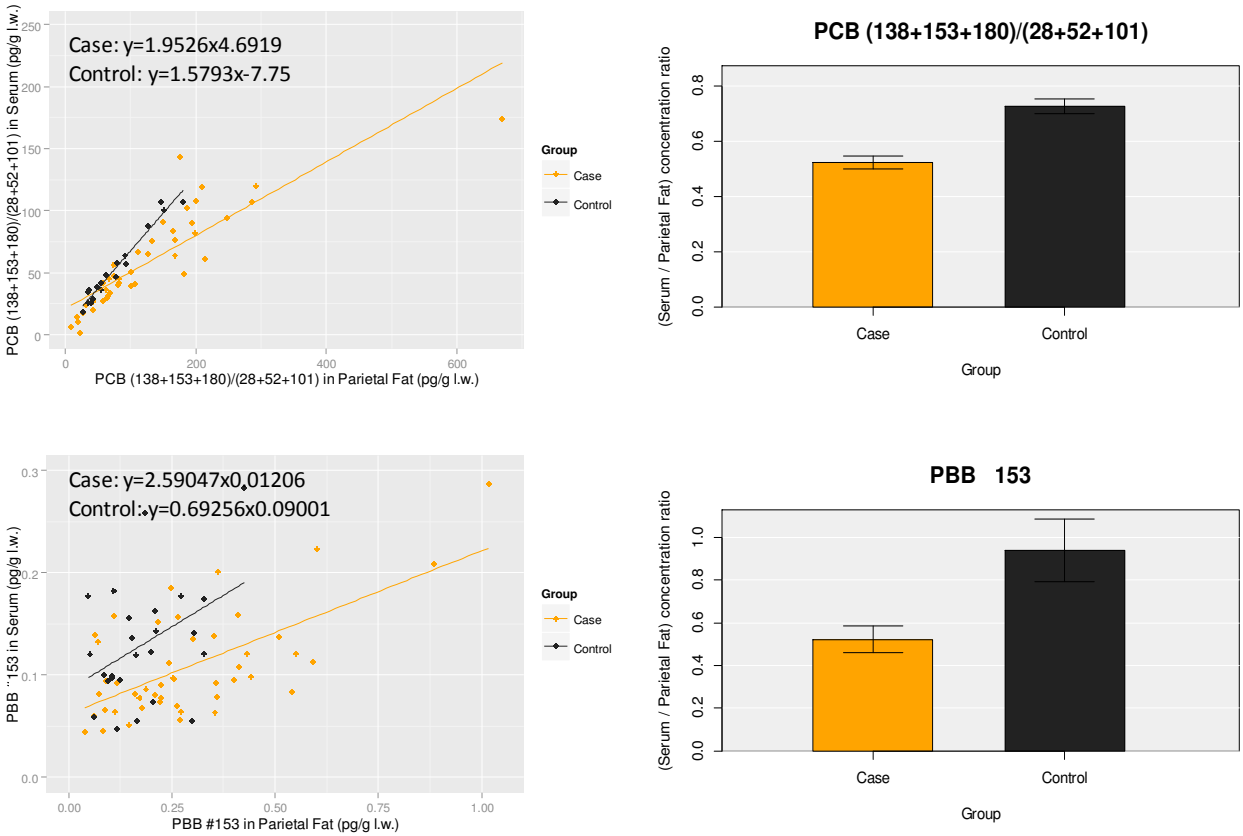


Figure S5: Correlations between the levels of two POPs exposure markers measured in parietal adipose tissue and serum for cases and controls individuals (Left) and corresponding ratio of serum *versus* parietal adipose tissue concentrations (Right).

5 ETUDE DU LIEN ENTRE NIVEAUX D'EXPOSITION INTERNE AUX POLLUANTS ORGANIQUES PERSISTANTS ET ENDOMETRIOSE PELVIENNE PROFONDE.

5.1 INTRODUCTION

Comme nous l'avons vu plus haut, un certain nombre d'études a recherché un éventuel rôle des contaminants organiques persistants dans la physiopathologie de l'endométriose. Les conclusions de ces études épidémiologiques restent toutefois non convergentes. Leur hétérogénéité en termes de lésions décrites, de méthodologie et d'effectifs contribue à ce constat, de même que l'étendue limitée des marqueurs d'exposition considérés.

Nous avons donc conduit une étude cas-témoins à partir de notre bio-collection de 113 patientes réunissant 68 cas de patientes présentant une endométriose profonde et 45 patientes témoins. Les cas ont été recrutés sur la base de l'examen clinique, l'IRM et la preuve anatomo-pathologique de l'endométriose profonde. Les patientes contrôles ont été prises en charge pour d'autres pathologies gynécologiques bénignes, et n'avaient aucun symptôme pouvant évoquer une endométriose (douleur pelvienne chronique, dysménorrhées, dyspareunie, infertilité). Deux approches d'analyse ont été suivies, la première non appariée avec le bénéfice d'un effectif important de patientes, et la seconde après appariement d'un sous-ensemble de nos sujets selon l'âge, le BMI, l'origine géographique et l'expérience antérieure d'allaitement. Trente huit paires contrôles-cas appariées ont ainsi été obtenues. Contrairement aux études disponibles, nous avons privilégié par ailleurs une stratification plus fine de notre population de cas en tenant compte de la localisation des lésions et donc du sous-phénotype de la pathologie.

Ce volet de notre travail a fait l'objet d'un article reproduit plus bas et soumis pour publication dans le journal Human Reproduction. Les principales conclusions de cet article montrent que certains contaminants (dioxines, PCB « dioxin-like », retardateurs de flammes bromés et pesticides organochlorés) sont apparus significativement associés à l'endométriose profonde. Une stratification plus fine de notre population de cas, comparant les patientes présentant ou non une atteinte ovarienne, a montré par ailleurs un lien d'autant plus significatif lorsque l'endométriose profonde était associée à des endométriomes.

5.2 ARTICLE

Associations between internal exposure levels of Persistent Organic Pollutants in adipose tissue and deep infiltrating endometriosis with and without ovarian endometrioma

Running title
Persistent Organic Pollutants and endometriosis

Authors
Ploteau, Stéphane[1,2]; Cano-Sancho, German[1,3*]; Volteau, Christelle[4]; Legrand, Arnaud [2]; Vénisseau, Anaïs[1]; Vaccher, Vincent[1]; Marchand, Philippe[1]; Le Bizec, Bruno[1]; Antignac, Jean-Philippe[1,3]

Affiliations

[1] LUNAM Université, Oniris, USC 1329 Laboratoire d'Etude des Résidus et Contaminants dans les Aliments (LABERCA), Nantes, France

[2] Service de gynécologie-obstétrique, CIC FEA, Hôpital Mère Enfant, CHU Hôtel Dieu, Nantes, France

[3] INRA Centre Angers-Nantes, Nantes, F-44307, France

[4] Plateforme Biométrie, CHU Hôtel Dieu, Nantes, France

*Corresponding author. LUNAM Université, Oniris, USC 1329 Laboratoire d'Etude des Résidus et Contaminants dans les Aliments (LABERCA), Route de Gachet - La Chantrerie - BP 50707 - 44307 - NANTES CEDEX 3 Nantes, France. Email : laberca@oniris-nantes.fr

Human Reproduction extended abstract basic study manuscript

Title

Associations between internal exposure levels of Persistent Organic Pollutants in adipose tissue and deep infiltrating endometriosis with or without ovarian endometrioma

Abstract

Study question: Is deep infiltrating endometriosis (DIE) with or without ovarian endometrioma associated with higher internal exposure levels to Persistent Organic Pollutants (POPs)?

Summary answer: There is a positive association between the internal exposure levels of some congeners of each principal families of POPs and DIE that appears more specifically related to the presence of ovarian endometrioma.

What is known already: The published epidemiological studies, where the associations between POPs and endometriosis were investigated, are globally non convergent in their observations and the overall conclusions remain elusive. Most studies are based on seric (i.e. circulating) markers and their heterogeneity in terms of populations, outcome ascertainment and considered confounders are pointed out as possible explicative reasons for such inconsistencies.

Study design, size, duration: This is a case-control study including 99 French women among which 68 cases presented DIE with or without ovarian endometrioma, and 45 were controls recruited in the Region Pays-de-Loire, Western France between 2013 and 2015.

Participants/Materials, setting, and methods: Case individuals were adult women with surgical diagnosis of DIE and ovarian endometrioma based on clinical examination, magnetic resonance imaging, and anatomo-pathological examination. Control individuals were adult women consulting for other gynecological problem but without endometriosis at the surgery and without any clinical symptoms of the disease like chronic pelvic pain, dysmenorrhea, dyspareunia or history of infertility. For case and control individuals, samples of

subcutaneous fat, omental fat and serum were collected during surgery. Targeted pollutants (76 historical or more emerging POPs including dioxins, polychlorobiphenyls (PCB), polybrominated diphenyl ethers (PBDEs), polybrominated biphenyls (PBBs), hexabromocyclododecanes (HBCDs) and organochlorine pesticides (OCPs) were quantified by chromatography coupled to mass spectrometry (GC-HRMS or LC-MS/MS). Odds ratios (ORs) and 95% confidence intervals were estimated from binomial and multinomial logistic regression adjusting for age and BMI.

Main results and role of chance: Significant associations were observed between DIE and adipose tissue levels of 1.2.3.7.8 – PeCDD, OCDF, PCB 105, 114, 118 and 123, PBDE 183, PBB 153, and several OCPs (including trans-nonachlor, cis-heptachlor, dieldrin, β−HCH and HCB). The largest associations were observed for OCDF followed by cis-heptachlor epoxyde, exhibiting adjusted ORs (95% confidence intervals) of 5.42 (2.73-12.85) and 5.36 (2.44-14.84) per 1-SD increase, respectively. Comparison between both case's subgroups, DIE only and DIE with ovarian endometrioma, suggests that POPs from adipose tissue are most associated with DIE with ovarian endometriosis. The significant associations between DIE and POPs in adipose tissue were not achieved using serum levels of POPs in the logistic models, and the overall associations were statistically non-significant for most pollutants yet some dioxins exhibited significant associations with DIE with ovarian endometriosis.

Limitations, reasons for caution: No magnetic resonance imaging was realized for controls in addition to the normal pelvic examination and verified absence of history of chronic pelvic pain or infertility and endometriosis at the surgery. Our results also need to be confirmed at larger population scale.

Wider implications of the findings: For the first time this study is documenting the internal exposure levels of POPs including dioxins, PCBs, PBDEs, PBBs, HBCD and OCPs in a French population of 99 control and case adult women with DIE with and without ovarian endometriosis. The results reveal a positive association between adipose tissue levels of several POPs and the presence of DIE and ovarian endometriosis. Moreover, the stratified analysis suggests that POPs may be more strongly associated with DIE concurrent with

ovarian endometriosis than DIE only. These data have to be completed to further investigate the extent of the clinical impact and consequences in terms of public health.

Study fundings/Competing interest(s): None of the authors has any competing interest to declare.

Trial registration number: NCT02651077

Introduction

Endometriosis is a chronic pelvic disease characterized by the presence of endometrial glands and stroma outside the uterus, including non-specific symptoms such as chronic pelvic pain, dysmenorrhea, dyspareunia, dyschesia and sometimes infertility (Eskenazi, et al., 2002, Sampson, 1927). In industrialized countries, endometriosis is one of the main gynaecologic causes of hospitalization and its prevalence seems to increase (Bulun, 2009, Koninckx, 1999). The prevalence is estimated to be 5-10% of reproductive age women and at least one-third of these are infertile (de Ziegler, et al., 2010, Prescott, et al., 2016).

Despite the lack of consensus about the disease definition, it can be considered as three different phenotypes according to the location of the lesions, namely peritoneal, ovarian and deep infiltrating endometriosis (DIE) which are not exclusive (Nisolle and Donnez, 1997, Zondervan, et al., 2002). These forms are often associated but without demonstrated evidence of common origin. For peritoneal endometriosis the theory of the transplantation is admitted by most of the authors (Fritel, 2007, Sampson, 1927), so that active and young lesions are red and inflammatory, and become progressively pigmented (typical lesions) with fibrosis that increases until becoming whitish (Brosens, 1997). Regarding DIE, different aetiologies have been described including the infiltration of a superficial lesion of the peritoneum covering Douglas' pouch, the retraction of the Douglas around a lesion (tick adhesions covering the lesion) and external adenomyosis (spherical lesion of the rectovaginal septum) (Koninckx and Martin, 1992). For Donnez, DIE appears like adenomyotic lesion and could results from the metaplasia of Müllerian components located in the retrocervical area or the rectovaginal septum (Donnez, et al., 2003). In case of ovarian endometriosis (OvE), it was hypothesized that the lesions could result from the celomic metaplasia of invaginated epithelial inclusions (Donnez, et al., 2002). Differences in the pattern of CYP450 aromatase (CYP19) expression were also evidenced between ovarian, peritoneal and DIE tissues strengthening the theory of distinct clinical sub-phenotypes (Heilier, et al., 2006).

Endometriosis appears as a multi-causal disease, estrogen-dependent and responsive to the suppression of ovarian hormonal production which reduces the painful symptoms (Giudice, 2010). Exposure to environmental chemicals, in particular those persistent organic pollutants (POPs) with endocrine disrupting properties, have been proposed to play a role in

the endometriosis risk (Bulun, 2009, Upson, et al., 2013). On this regard, a growing number of epidemiological studies have evaluated the association between POPs and endometriosis, mostly focusing on dioxins, polychlorinated biphenyls (PCBs), or organochlorine pesticides (OCPs) (Buck Louis, et al., 2012, Heilier, et al., 2005, Louis, et al., 2005, Martinez-Zamora, et al., 2015, Porpora, et al., 2009, Upson, et al., 2013), while brominated flame-retardants (BFRs) have been rarely investigated (Buck Louis, et al., 2012, Hoffman, et al., 2007). The results from these studies remain globally non convergent and scarcely conclusive (Bruner-Tran and Osteen, 2010, Heilier, et al., 2008). The heterogeneity in terms of methodological design, size and nature of the populations studied, biological sampling, confounding variables controlled in the models, as well as, the nature and limited number of investigated pollutants may contribute to explain this situation (Smarr, et al., 2016). On the other hand, most epidemiological studies did not consider the dissimilar entities of endometriosis characterized by specific etiopathogenesis, which may present specific patterns of associations with POPs (Heilier, et al., 2005). Globally the body of experimental evidence from animal models supports the causal association between POPs and endometriosis (Birnbaum and Cummings, 2002, Rier, 2002). For instance, chronic exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) and PCBs has been positively associated with endometriosis risk in rhesus monkeys (Rier, et al., 1993, Rier, et al., 2001) and rodents (Birnbaum and Cummings, 2002, Nayyar, et al., 2007). A relevant number of POPs are agonists of the aryl hydrocarbon receptor (AhR) and/or estrogen receptor which are required for the angiogenic and inflammatory signalling pathways involved in the endometriosis etiopathology (Smarr, et al., 2016). Hence, the causal relationship between exposure to POPs and endometriosis risk appears to be biologically plausible (Birnbaum and Cummings, 2002, Crain, et al., 2008, Han and O'Malley, 2014).

According to the hypothesis of several existing sub-phenotypes of endometriosis, and to further explore the possible relationship between this disease and the environmental exposure to POPs, we conducted a case-control study aiming to compare adipose tissue and serum concentrations of an extended range of POPs in different sub-groups of our collection. The objective of the present study was to study a potential association between the internal exposure to POPs and the presence of deep infiltrating endometriosis with and without ovarian endometrioma.

Materials and methods

Population and samples

Data were collected as part of a case–control study (ENDOTOX) performed in the Region Pays-de-Loire between 2013 and 2015 on a French population (Ploteau, et al., 2016). Case individuals (n=55) were adult women, 18 to 45 years old, with surgical diagnosis of DIE first based on clinical examination, of which 26 cases presented also ovarian endometrioma. For all cases, magnetic resonance imaging (MRI) and surgery were then performed, as well as anatomo-pathological examination, with the objective of removing the lesions and confirming the diagnosis of DIE. Among the cases of DIE, 6 were not unambiguously classified and were excluded from the stratification analysis. Control individuals (n=44) were adult women of similar age, consulting for other gynecological problem but without endometriosis at the surgery and without any clinical symptoms of the disease like chronic pelvic pain, dysmenorrhea, dyspareunia or history of infertility. Detailed information was collected regarding diagnosis, anthropometric variables, and other factors potentially associated with exposure to POPs including age, body mass index (BMI), frequency and duration of breast-feeding. For both cases and controls, the exclusion criteria were: history of cancer, suspected malignancy, autoimmune diseases, and any other chronic condition. For case and control individuals, sample (2 mL) of parietal adipose tissue (subcutaneous fat) and deep adipose tissue (omental fat) were collected during surgery. A serum sample (20 mL) was also collected the day before surgery. This sampling was performed between July 2013 and September 2014. All samples were stored at −80°C until analysis.

Ethical approval

The protocol of this study was approved by the Bioethics Committee of the GNEDS (Groupe Nantais d'Ethique dans le Domaine de la Santé) and all patients signed an informed consent form.

Chemical analysis

The methodologies applied to isolate, detect, and quantify the targeted POPs including dioxins (n=17 PCDD/F), polychlorobiphenyls (n=12 dioxin-like + 6 non-dioxin-like PCB), polybromodiphenylethers (n=8 PBDE), polybromobiphenyls (n=3 PBB) and organochlorine

pesticides (n=30 OCPs) have been described elsewhere (Antignac, et al., 2009, Antignac, et al., 2006, Bichon, et al., 2015, Cariou, et al., 2005, Costera, et al., 2006, Ploteau, et al., 2016).

Briefly, ^{13}C-labeled congeners were added to each sample for quantification according to the isotopic dilution method. Fat and serum samples were first submitted to a high pressure and temperature extraction (ASE Dionex, Sunnyvale, CA, USA) or a liquid/liquid extraction with pentane, respectively. Resulting extracts were weighed to measure fat content (gravimetric method for fat, enzymatic determination for serum) and reconstituted in hexane for further sample clean up. Gel permeation chromatography (GPC) was used for isolating OCPs, while three purification steps using successively acid silica, Florisil®, and celite/carbon columns were applied for other targeted substances. PCDD/F, PCB, PBDE, PBB and OCP measurements were performed by gas chromatography (Agilent 7890A) coupled to high-resolution mass spectrometry (GC-HRMS) on double sector instruments (JEOL MS 700D and 800D) after electron impact ionization (70 eV), operating at 10000 resolution (10% valley) and in the single ion monitoring (SIM) acquisition mode. HBCD isomers were quantified using liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) on a triple quadrupole instrument (Agilent 6410) using electrospray ionization and selective reaction monitoring as acquisition technique. All these methods were fully validated according to European regulation. The analyses have been done in an ISO 17025:2005 accredited laboratory. Recoveries were in the 80–120% range, and the method's extended uncertainty (2xU) was lower than 20%.

Statistical analysis

Distributions of population's characteristics were inspected and summarized with means and standard deviations (SD), while the medians and ranges of minimum and maximum values were used to summarize the pollutants' concentrations. Those chemicals with percentages of detection below 50% were excluded from the statistical analysis. For a high majority of targeted substances, the detection rates were 100% and management of left-censored data was not required. For few analytes whose detection rates were lower, the non-detected values were replaced by limits of detection (upper bound approach). The statistical comparison of concentrations levels between groups was performed by means of Kruskall-Wallis test with post-hoc Dunn's Multiple Comparison test adjusting the statistical

significance with the Benjamini-Hochberg method (Hochberg and Benjamini, 1990), establishing the statistical significance at p values <0.05.

Crude ORs, adjusted ORs (aORs) and corresponding 95% confidence intervals (CI) were calculated for each chemical using unconditional logistic regression. The chemical concentrations were first log-transformed and then rescaled by their standard deviations so that OR could be interpreted per 1-SD change in the log-transformed chemical concentration. The selection of covariates included in the adjusted model was performed on the basis of the reported associations in the literature and the clinical available information from each participant. On this regard we build a directed acyclic graph (DAG) to depict the causal associations between persistent organic pollutants and endometriosis (Figure S1), considering both measured and unmeasured variables (Gaskins and Schisterman, 2009, Hernan, et al., 2002). We initially considered the participant's age (years), BMI (kg/m^2) and breast-feeding duration (months) as potential covariates, however the final model included the age and BMI since no substantial modification of the estimates was regarded including breast-feeding (<10% modification of estimates). An exploratory analysis of interactions was performed for each model including the corresponding interaction terms; however the results elucidated non-statistically significance. Complementarily, for a subset of this population (n=2x38 individuals), cases and controls were paired matched according to age (± 4 years), BMI (<25.0 kg/m^2, 25.0–29.9 kg/m^2, ≥30.0 kg/m^2) and breastfeeding history (duration in months), and the associations were explored with conditional logistic regression. The associations between pollutants and the different endometriosis entities were explored using binomial logistic regressions with paired endometriosis entities and using multinomial logistic regression considering the controls, DIE with and without ovarian endometriosis as three outcomes. The Benjamini-Hochberg algorithm was applied to correct the p-values for multiple analysis testing and confirm the robustness of associations. All the statistical analyses were performed using SAS© (v.9.3) and R (v.3.3.1.) software.

Results

The studied population's characteristics are summarized in Table I. Case and control individuals were found comparable in terms of age, BMI and breastfeeding history, which are four main determining factors of the internal exposure level to lipophilic POPs (Figure S1). The lipid content in adipose tissue was also found similar for the two groups (0.68±0.2% in controls *versus* 0.52±0.11% in cases respectively, $p<0.001$) but interestingly not in serum.

Adipose tissue study

Distributions of POPs levels determined in parietal adipose tissue from cases and controls individuals are summarized in tables II and III, and illustrated in Figures 1 and 2. Due to the high correlation and equivalence between individual levels of POPs in parietal and omental adipose tissue we only performed the statistical models using parietal fat (Ploteau, et al., 2016). The results revealed that the general trend was that samples from adipose tissue from individuals with endometriosis had higher levels of POPs than controls. However, statistically significantly higher levels were only observed for few dioxins (1,2,3,7,8-PCDD and OCDF), PCB (105, 114, 118, 123, 169), PBB 153 and OCPs (α-HBCD, β-HCH, cis-heptachlor epoxyde, oxychlordan, trans-nonachlor, dieldrin, HCB, p,p'-DDT).

The selection of POPs significantly associated with endometriosis is represented in the Table IV by means of crude and adjusted ORs (95% CI) computed from the logistic regression. One extended pattern among these estimates was that adjusted models (with age and BMI) resulted in larger estimates with few exceptions. The sub-group of dl-PCBs and OCPs appeared to be the most relevant in terms of congeners associated with total endometriosis. Nonetheless, the largest associations were observed for OCDF followed by cis-heptachlor epoxyde, exhibiting ORs (95% CI) of 5.42 (2.73-12.85) and 5.36 (2.44-14.84) per 1-SD increase, respectively. The results from the matched study are presented in table SIV showing similar trends, with significant associations for several PCBs (105, 118, 123), PBB 153 and OCPs (cis-heptachlor epoxyde, oxychlordan, trans-nonachlor, dieldrin and HCB). We further hypothesized that such associations could be more highly associated with ovarian endometriosis, for that reason we performed a sensitivity analysis, comparing this population subgroup with control population (Table IV) but also comparing with cases of DIE as reference group (Table SIII). The results from this analysis showed the magnitude of the associations increased substantially for all chemicals, extending the number of significantly

associated dioxins and PCBs congeners (Table IV). It was especially noteworthy the increase of magnitude of the association between ovarian endometriosis with PBB 153 and oxychlordane showing aOR (95 %CI) of 8.26 (2.27-44.41) and 5.82 (1.84-27.69) for 1-SD increase, respectively. In the contrary case, the associations converged towards the null when the analysis was limited to the sub-group of cases only with DIE compared to the controls (Table SIII). After the Benjamini-Hochberg adjustment to correct for multiple analyses testing the significance remained for most of compounds in the unadjusted model of ovarian endometriosis while the adjusted models appeared to be more sensitive to the correction, and few POPs remained statistically significant for total endometriosis (Table IV).

When we performed a multinomial logistic regression to explore the associations considering together three phenotypes (controls, only DIE and DIE with ovarian endometrioma) in the model, we regarded similar results and confirmed that the associations increased among the subgroup of cases with ovarian endometriosis for most pollutants (Figure S2).

Serum study

Distributions of POPs levels determined in serum from women with endometriosis and controls are presented in tables SI and SII. The results showed that the general trend was that cases of endometriosis exhibited higher levels of dioxins and dl-PCBs compared to the controls, however only four congeners where statistically different (2.3.4.7.8-PeCDF, PCB 77, PCB 114, PCB 123). This trend was similarly observed for the rest of compounds (Table SII) where only PBDE 99 appeared to be significantly higher in the cases. Surprisingly, the levels of PBDE 209 were significantly higher among the controls when compared with the cases of endometriosis. The significant associations between serum biomarkers and endometriosis are presented in Table SV, with crude and adjusted ORs (95% CI) computed from the logistic regression. Overall, diminished associations were observed compared to the ones observed in adipose tissue for all pollutants with a substantial reduction of compounds significantly associated with both total endometriosis and ovarian endometriosis. Adjusting the models with age and BMI resulted in larger estimates, as observed with the results from adipose tissue. The largest associations with total and ovarian endometriosis were observed for PCB77, showing aOR (95% CI) of 10.35(2.62-65.28) and 15.27 (2.38-208.37) for 1-SD increase, respectively (Table S4).

Discussion

Our study shows that internal exposure levels of several dioxins, PCBs, BFRs and OCPs in adipose tissue are higher in individuals presenting DIE compared to controls. For the first time using adipose tissue, a stratification of the case population based on endometriosis sub-phenotype revealed that this association appears more related with ovarian endometriosis than total cases of endometriosis or only DIE. Furthermore, exposure levels of POPs in adipose tissue appeared to be stronger predictors of endometriosis than serum levels.

As far as we know, this study is one of the few studies that used adipose tissue as a biomarker of exposure to POPs to assess associations with endometriosis. With only two exceptions (Buck Louis, et al., 2012, Martinez-Zamora, et al., 2015), most of the previously published studies implemented serum as a biomarker of exposure to POPs. The extended use of serum in the epidemiological studies may rely on the easy access to the samples and the extended analytical/clinical protocols (Angerer, et al., 2007). However, the circulating levels of POPs are assumed to be in steady state with all organs in the organism, but especially with fat, the main storage compartment for lipophilic compounds. This situation is affected by multiple factors such us homeostatic mechanisms involved in the energy balance but also multiple pathogenic factors (Lopez, et al., 2014). Hence the use of adipose tissue may be a preferable matrix for biomonitoring POPs, more stable individual levels and also reflecting longer times of exposure (Kohlmeier and Kohlmeier, 1995). Furthermore, the potential implications of lipid standardization of circulating lipids resulting in biased estimates have been discussed previously (Gaskins and Schisterman, 2009, Schisterman, et al., 2005). Considering the little knowledge about the relationship and cross-talk between circulating/stored POPs and lipids in the endometriosis context, the misuse and misinterpretation of the exposure biomarkers may be enriching the inconsistencies of results throughout epidemiological findings.

To the best of our knowledge, this is the first time that OCDF in parietal fat appears significantly associated with endometriosis showing an OR (95%CI) of 5.42(2.73-12.85) per 1-SD increase. The only two previous studies relying their observation on adipose tissue samples showed dissimilar associations between dioxin and dioxin-like compounds and endometriosis. In agreement with our results, Martinez-Zamora et al. found that the TEQ

and concentrations of both dioxins and PCBs were significantly higher in patients with DIE in comparison with the control group ($p<0.05$), mainly due to the significantly higher values (both TEQ and individual concentrations) of the two most toxic dioxins i.e. 2,3,7,8-TCDD and 1,2,3,7,8-PeCDD ($p<0.01$ for each compound) (Martinez-Zamora, et al., 2015). These authors remarkably found positive associations between DIE and internal levels exposure of PCB 114 and PCB 156 which is are accordance with our findings. Conversely, Buck Louis et al. have reported significant inverse relation between endometriosis and the congeners PCB 156 and PCB 74 (Buck Louis, et al., 2012), while reported positive associations with PCB 28, 151 and 201. The authors also regarded inconsistent results across cohorts and biological media used their own study, highlighting the importance of such factors in the estimates (Buck Louis, et al., 2012). Despite the different designs and methodological approaches, the overall results from studies using serum levels of PCDD, PCDF and PCBs are far to be consistent with ten studies reporting some positive associations (Heilier, et al., 2004, Heilier, et al., 2005, Louis, et al., 2005, Mayani, et al., 1997, Porpora, et al., 2006, Porpora, et al., 2009, Reddy, et al., 2006, Simsa, et al., 2010) while six studies reported null associations (De Felip, et al., 2004, Eskenazi, et al., 2002, Fierens, et al., 2003, Lebel, et al., 1998, Pauwels, et al., 2001, Tsukino, et al., 2005).

We found a positive association between OCPs in adipose tissue and endometriosis that persisted even after the correction for multiple comparisons, but similar association was not observed in serum. The positive associations concerned cis-heptachlor epoxyde, oxychlordan, trans-nonachlor, dieldrin, HCB and β-HCH, in opposition to the null association reported in a study using levels of OCPs from (omental) fat (Buck Louis, et al., 2012). The associations between serum levels of OCPs and endometriosis in the published literature are not consistent. While there are some arguments in favour of a causal relationship between endometriosis and OCPs in primates (Crain, et al., 2008) as well as in women (Buck Louis, et al., 2012, Cooney, et al., 2010, Upson, et al., 2013), four studies did not found significant results (Lebel, et al., 1998, Niskar, et al., 2009, Porpora, et al., 2009, Tsukino, et al., 2005). In agreement with our study, β-HCH and HCB have previously appeared to be the most concerning chemical species among the positive findings (Buck Louis, et al., 2012, Cooney, et al., 2010, Upson, et al., 2013). In turn HCB has been previously reported to target ovaries

and periovarian fat to accumulate in female rats (Foster, et al., 1993) while experimental exposure of rats to HCH resulted in impaired ovarian function (Foster, et al., 1995) .

Apart from dioxins, PCBs and OCPs for which association with endometriosis was several times suggested, we highlighted, for the first time, significant association between levels of BFRs PBB 153 and PBDE 183 from adipose tissue with OR (95%CI) of 2.31 (1.31-3.73) and 1.64 (1.05-2.71) for 1-SD increase, respectively. Polybrominated flame retardants, like PBB 153, are used in many manufactured products and the main human contamination route is also food exposure for adult, while the major exposure route for infants is breastfeeding and air/dust inhalation (Adgent, et al., 2014, Antignac, et al., 2009, Frederiksen, et al., 2009, Vorkamp, et al., 2011). The role of BFRs in the physiopathology of endometriosis remains largely unexplored and only two additional studies were identified from the published literature with this scope; one large prospective study focusing on PBB 153 in serum (Hoffman, et al., 2007) and the other on PBDEs in serum and omental fat (Buck Louis, et al., 2012). While the former study did not found significant associations with PBB 153 in serum (Hoffman, et al., 2007), the later study reported large variation among estimates related with the matrix type, cohort origin or PBDE congener (Buck Louis, et al., 2012).

An originality of our study is to check separately DIE with and without ovarian endometriosis with the aim to reveal a potential association between internal exposure levels and ovarian endometriosis. Both, the stratified logistic models and the multinomial logistic regressions, suggested a higher risk of ovarian endometriosis for all pollutants studied, in adipose tissue but also in serum (Table IV, SIII, SV and Figure S2). The sensitivity analysis also revealed that for some pollutants the stratification may be critical to elucidate significant associations (e.g. 2.3.7.8 TCDD), failing to null associations when considered the pooled entities of total DIE or restricting the models to DIE only (Table IV and Figure S2). To date, only few authors have explored the association with POPs considering endometriosis looking at different sub-types. On the one hand, one study performed a sub-group analysis considering ovarian endometriosis and total endometriosis (Upson, et al., 2013), and on the other, a couple of studies explored the different patterns of associations between peritoneal endometriosis and DIE with POPs (Heilier, et al., 2004, Heilier, et al., 2005). Interestingly Upson et al. also found an association of ovarian endometriosis with β-HCH in serum, but also a similar trend than our results for the rest of chemicals with higher ORs for the ovarian endometriosis sub-

group than total endometriosis (Upson, et al., 2013). Furthermore, the levels of dioxin-like compounds were found to be higher in serum among patients with DIE, compared to patients with peritoneal endometriosis (Heilier, et al., 2004, Heilier, et al., 2005). These data suggest, as well, that DIE and ovarian endometriosis are considered as distinct clinical entities with specific histopathogenesis (Nisolle and Donnez, 1997). The critical role of ovary on steroidogenesis and the affinity of pollutants on hormonal receptors highly expressed in the ovary (Sanderson, 2006) may be hypothesized to explain such differential effects. For instance, the local overexpression of the key regulator of steroidogenesis and endometriosis CYP19 was more highly correlated with ovarian endometriosis than the other phenotypes, exhibiting 8-fold higher expression compared with peritoneal endometriosis (Heilier, et al., 2006). In any case, further mechanistic research is stressed to better understand the relationship between steroidogenesis, the endometriosis phenotypes and the different pollutant sub-groups in relevant models for humans.

Limitations

Considering that neither magnetic resonance imaging nor surgical evaluation was realized for controls, some risk of diagnosis misclassification of controls may affect the results. The absence of surgery and sometimes pelvic examination in the control's population with the risk of missing some patients with endometriosis constitutes an important limit of the studies available in the literature. Even in some case-control studies, the control group did not systematically receive a laparoscopy to rule out endometriosis (Heilier, et al., 2005) or included both women with a normal pelvis and women with minimal endometriosis (Tsukino, et al., 2005). Furthermore, in some studies, not all cases with endometriosis received a laparoscopy to confirm the presence of the disease (Eskenazi, et al., 2002). All of these studies were marked by important methodological limitations with respect to sample size and definition of control groups. Our controls had undergone rigorous anamnesis to exclude any history of chronic pain or infertility and surgery to confirm the absence of all forms of endometriosis. These patients were included because they related no history of chronic pelvic pain or infertility, pelvic examination was normal and there was not endometriosis at the surgery. Nevertheless, we think that anamnesis, pelvic examination and surgery are reliable to exclude DIE and little risk of misclassification bias would be expected (Zondervan, et al., 2002). It is, however, reasonable to assume that in this group of

asymptomatic women, certainly if pelvic examination is normal, the prevalence of active endometriosis must have been low, especially as the surgery is not in favour of endometriosis (Donnez, et al., 2002).

Observational studies are intrinsically subjected to confounding bias, thus we cannot completely rule out that some confounding factor not considered in this study may threaten the reliability of the results (Jepsen, et al., 2004). On this regard we established a conceptual framework to identify the causal relationship of measured and unmeasured variables with the exposure and outcome by means of DAGs (Hernan, et al., 2002). The exploratory analysis of variables concluded with AGE and BMI as main confounding variables; while breastfeeding did not modify the estimates and thus, excluded from the final model. Previous studies considering other potential confounding variables not measured in the present study, such us income, education, cigarette smoking, alcohol or OC' use did elucidate any evidence of significant relation with endometriosis (Heilier, et al., 2007, Heilier, et al., 2005, Hoffman, et al., 2007, Niskar, et al., 2009, Pauwels, et al., 2001, Porpora, et al., 2009, Trabert, et al., 2010, Tsukino, et al., 2005). A recent study has synthesized the evidence from epidemiological studies with regard to risk factors and co-morbidities of endometriosis, and found no evidence for an association with the socio-economic status, weight, personal habits (physical activity, diet, smoking) and oral contraceptive use (Parazzini, et al., 2016). Others authors have confirmed that tobacco is not associated with an increasing risk of endometriosis using a large meta-analysis (Bravi, et al., 2014). A recent meta-analysis provided evidence for a positive association between alcohol consumption and endometriosis risk (Parazzini, et al., 2013), but in the context of endometriosis, one study did not report substantial modification of estimates after adjusting for alcohol with BMI (Pauwels, et al., 2001). Overall, we did not suspect of potential sources of confounding bias that may affect our results.

Strengths

The present study has several strengths among which the relatively large population recruited for the study (i.e. 99 participants) including only patients with surgically confirmed DIE, being this study among the most powerful case-controls published in the literature reporting associations between POPs and endometriosis. With few exceptions, a vast majority of the case-control studies we have reviewed were rather limited in terms of

statistical power. The population size permitted the sensitivity analysis to explore the risk profiles of major endometriosis entities and also to perform a matched comparison between case and control individuals. Hence we believe that our study is the first to analyze a wide range of POPs in adipose tissue in patients with DIE and ovarian endometriosis. Our results also need confirmation in a larger population to increase the statistical power yet our preliminary results are highly suggestive that considering the different endometriosis entities maybe critical.

We provided a wide picture considering a large list of potential pollutants involved in the pathogenesis of endometriosis, becoming one of the most comprehensive in terms of number and variety of investigated pollutants, reported to date. We included in the selection up to 76 chemicals considering dioxins (PCDD/Fs, dl-PCBs), ndl-PCBs, OCPs and BFRs, representing a major part of the human exposome fraction related to environmental persistent pollutants. Additionally, the samples were analyzed with sensitive analytical procedures resulting in a very limited number of left-censored observations requiring imputations. The multiple hypothesis tests performed for the large array of pollutants was accounted in the correction of statistical significance for multiple comparisons using the Benjamini-Hochberg algorithm (Hochberg and Benjamini, 1990), after which the significance still persisted in most cases supporting the associations' robustness.

Despite the interval between the exposure and the onset of the disease has not been accurately determined, based on experimental data with primates exposed to TCDD it was estimated around 7 – 10 years (Rier, et al., 1993) . Hence, the use of adipose tissue appears to be preferable matrix for persistent pollutants with long half-lives over serum because it may better reflect the mid-term exposure profiles. Furthermore, serum levels of POPs are highly affected by inter- and intra- physiological conditions of participants perturbing the steady state commonly presumed for lipid-normalization of exposures. Moreover, this study is one of the few studies using both matrices collected from the same participant, providing very valuable insights on the relevance and applicability of each biomarker in the context of the endometriosis.

Future directions

In general, the methodological heterogeneity of the epidemiological body of evidence represents a limit itself, making the direct comparison or integration of results difficult or

not possible in many cases, preventing any attempt to deliver robust conclusions. It is notably striking the case for the dioxins and PCB's congeners, where different biological matrices, exposure and outcome assessment methodologies, as well as, statistical models were implemented, fuelling the sources of inconsistencies. In a recent publication, a list of interesting suggestions were given in order to strengthen the quality of future works stressing the improvement of: 1) selection of study population, 2) choice of more representative biologic matrices, 3) sampling to optimize the timing of exposure and disease and 4) ascertainment of presence and absence of endometriosis (Smarr, et al., 2016). We also strongly encourage the consideration of independent phenotypes in future studies, with major focus on ovarian endometrioma, to better understand the relationship between POPs and the disease.

Conclusions

To sum up, an extended set of persistent organic pollutants including dioxins, PCBs, BFRs and OCPs, have been investigated for the first time in a French population of 99 control and case adult women with DIE concurrent or not with ovarian endometriosis. We showed that patients with DIE have higher concentrations of several POPs (notably OCDF, PCB 118, PCB 123, PBB 153 and several OCPs including cis-heptachlor epoxyde, oxychlordan, trans-nonachlor, dieldrin and HCB) in adipose tissue compared with controls without DIE, thus, suggesting a potential role of these POPs in the pathogenesis of this illness. Above all, for the very first time, we have highlighted that POPs are more associated with ovarian endometriosis than DIE only or total DIE. These findings suggest that ovarian endometriosis and DIE are not supported by the same physiopathological determinisms and future studies should consider the different phenotypes into account.

Acknowledgements

We acknowledge the participants who voluntarily enrolled in the study and we also thank the Centre Hospitalier Universitaire de Nantes for financial support (non-interventional research collaboration contract number RC13_0380).

Author's roles

SP, BLB and JPA designed the study; SP and AL performed the clinical evaluations; AV, VV, PM and BLB performed the chemical analyses; SP, GCS, CV and JPA analyzed the data; SP, GCS and JPA wrote the manuscript.

Funding

This study was supported by the Centre Hospitalier Universitaire de Nantes (non-interventional research collaboration contract number RC13_0380).

Conflict of interest

None declared

References

Adgent MA, Hoffman K, Goldman BD, Sjodin A, Daniels JL. Brominated flame retardants in breast milk and behavioural and cognitive development at 36 months. Paediatr Perinat Epidemiol 2014; 28: 48-57.

Angerer J, Ewers U, Wilhelm M. Human biomonitoring: state of the art. Int J Hyg Environ Health 2007; 210: 201-228.

Antignac JP, Cariou R, Zalko D, Berrebi A, Cravedi JP, Maume D, Marchand P, Monteau F, Riu A, Andre F et al. Exposure assessment of French women and their newborn to brominated flame retardants: determination of tri- to deca- polybromodiphenylethers (PBDE) in maternal adipose tissue, serum, breast milk and cord serum. Environ Pollut 2009; 157: 164-173.

Antignac JP, Marchand P, Gade C, Matayron G, Qannari el M, Le Bizec B, Andre F. Studying variations in the PCDD/PCDF profile across various food products using multivariate statistical analysis. Anal Bioanal Chem 2006; 384: 271-279.

Bichon E, Guiffard I, Venisseau A, Marchand P, Antignac JP, Le Bizec B. Ultra-trace quantification method for chlordecone in human fluids and tissues. J Chromatogr A 2015; 1408: 169-177.

Birnbaum LS, Cummings AM. Dioxins and endometriosis: a plausible hypothesis. Environ Health Perspect 2002; 110: 15-21.

Bravi F, Parazzini F, Cipriani S, Chiaffarino F, Ricci E, Chiantera V, Vigano P, La Vecchia C. Tobacco smoking and risk of endometriosis: a systematic review and meta-analysis. BMJ Open 2014; 4: e006325.

Brosens IA. Endometriosis--a disease because it is characterized by bleeding. Am J Obstet Gynecol 1997; 176: 263-267.

Bruner-Tran KL, Osteen KG. Dioxin-like PCBs and endometriosis. Syst Biol Reprod Med 2010; 56: 132-146.

Buck Louis GM, Chen Z, Peterson CM, Hediger ML, Croughan MS, Sundaram R, Stanford JB, Varner MW, Fujimoto VY, Giudice LC et al. Persistent lipophilic environmental chemicals and endometriosis: the ENDO Study. Environ Health Perspect 2012; 120: 811-816.

Bulun SE. Endometriosis. N Engl J Med 2009; 360: 268-279.

Cariou R, Antignac JP, Marchand P, Berrebi A, Zalko D, Andre F, Le Bizec B. New multiresidue analytical method dedicated to trace level measurement of brominated flame retardants in human biological matrices. J Chromatogr A 2005; 1100: 144-152.

Cooney MA, Buck Louis GM, Hediger ML, Vexler A, Kostyniak PJ. Organochlorine pesticides and endometriosis. Reprod Toxicol 2010; 30: 365-369.

Costera A, Feidt C, Marchand P, Le Bizec B, Rychen G. PCDD/F and PCB transfer to milk in goats exposed to a long-term intake of contaminated hay. Chemosphere 2006; 64: 650-657.

Crain DA, Janssen SJ, Edwards TM, Heindel J, Ho SM, Hunt P, Iguchi T, Juul A, McLachlan JA, Schwartz J et al. Female reproductive disorders: the roles of endocrine-disrupting compounds and developmental timing. Fertil Steril 2008; 90: 911-940.

De Felip E, Porpora MG, di Domenico A, Ingelido AM, Cardelli M, Cosmi EV, Donnez J. Dioxin-like compounds and endometriosis: a study on Italian and Belgian women of reproductive age. Toxicol Lett 2004; 150: 203-209.

de Ziegler D, Borghese B, Chapron C. Endometriosis and infertility: pathophysiology and management. Lancet 2010; 376: 730-738.

Donnez J, Smets M, Jadoul P, Pirard C, Squifflet J. Laparoscopic management of peritoneal endometriosis, endometriotic cysts, and rectovaginal adenomyosis. Ann N Y Acad Sci 2003; 997: 274-281.
Donnez J, Van Langendonckt A, Casanas-Roux F, Van Gossum JP, Pirard C, Jadoul P, Squifflet J, Smets M. Current thinking on the pathogenesis of endometriosis. Gynecol Obstet Invest 2002; 54 Suppl 1: 52-58; discussion 59-62.
Eskenazi B, Mocarelli P, Warner M, Samuels S, Vercellini P, Olive D, Needham LL, Patterson DG, Jr., Brambilla P, Gavoni N et al. Serum dioxin concentrations and endometriosis: a cohort study in Seveso, Italy. Environ Health Perspect 2002; 110: 629-634.
Fierens S, Mairesse H, Heilier JF, De Burbure C, Focant JF, Eppe G, De Pauw E, Bernard A. Dioxin/polychlorinated biphenyl body burden, diabetes and endometriosis: findings in a population-based study in Belgium. Biomarkers 2003; 8: 529-534.
Foster WG, Mertineit C, Yagminas A, McMahon A, Lecavalier P. The effects of hexachlorobenzene on circulating levels of adrenal steroids in the ovariectomized rat. J Biochem Toxicol 1995; 10: 129-135.
Foster WG, Pentick JA, McMahon A, Lecavalier PR. Body distribution and endocrine toxicity of hexachlorobenzene (HCB) in the female rat. J Appl Toxicol 1993; 13: 79-83.
Frederiksen M, Thomsen M, Vorkamp K, Knudsen LE. Patterns and concentration levels of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in placental tissue of women in Denmark. Chemosphere 2009; 76: 1464-1469.
Fritel X. [Endometriosis anatomoclinical entities]. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris) 2007; 36: 113-118.
Gaskins AJ, Schisterman EF. The effect of lipid adjustment on the analysis of environmental contaminants and the outcome of human health risks. Methods Mol Biol 2009; 580: 371-381.
Giudice LC. Clinical practice. Endometriosis. N Engl J Med 2010; 362: 2389-2398.
Han SJ, O'Malley BW. The dynamics of nuclear receptors and nuclear receptor coregulators in the pathogenesis of endometriosis. Hum Reprod Update 2014; 20: 467-484.
Heilier JF, Donnez J, Lison D. Organochlorines and endometriosis: a mini-review. Chemosphere 2008; 71: 203-210.
Heilier JF, Donnez J, Nackers F, Rousseau R, Verougstraete V, Rosenkranz K, Donnez O, Grandjean F, Lison D, Tonglet R. Environmental and host-associated risk factors in endometriosis and deep endometriotic nodules: a matched case-control study. Environ Res 2007; 103: 121-129.
Heilier JF, Donnez O, Van Kerckhove V, Lison D, Donnez J. Expression of aromatase (P450 aromatase/CYP19) in peritoneal and ovarian endometriotic tissues and deep endometriotic (adenomyotic) nodules of the rectovaginal septum. Fertil Steril 2006; 85: 1516-1518.
Heilier JF, Ha AT, Lison D, Donnez J, Tonglet R, Nackers F. Increased serum polychlorobiphenyl levels in Belgian women with adenomyotic nodules of the rectovaginal septum. Fertil Steril 2004; 81: 456-458.
Heilier JF, Nackers F, Verougstraete V, Tonglet R, Lison D, Donnez J. Increased dioxin-like compounds in the serum of women with peritoneal endometriosis and deep endometriotic (adenomyotic) nodules. Fertil Steril 2005; 84: 305-312.
Hernan MA, Hernandez-Diaz S, Werler MM, Mitchell AA. Causal knowledge as a prerequisite for confounding evaluation: an application to birth defects epidemiology. Am J Epidemiol 2002; 155: 176-184.

Hochberg Y, Benjamini Y. More powerful procedures for multiple significance testing. Stat Med 1990; 9: 811-818.
Hoffman CS, Small CM, Blanck HM, Tolbert P, Rubin C, Marcus M. Endometriosis among women exposed to polybrominated biphenyls. Ann Epidemiol 2007; 17: 503-510.
Jepsen P, Johnsen SP, Gillman MW, Sørensen HT. Interpretation of observational studies. Heart 2004; 90: 956-960.
Kohlmeier L, Kohlmeier M. Adipose tissue as a medium for epidemiologic exposure assessment. Environ Health Perspect 1995; 103 Suppl 3: 99-106.
Koninckx PR. The physiopathology of endometriosis: pollution and dioxin. Gynecol Obstet Invest 1999; 47 Suppl 1: 47-49; discussion 50.
Koninckx PR, Martin DC. Deep endometriosis: a consequence of infiltration or retraction or possibly adenomyosis externa? Fertil Steril 1992; 58: 924-928.
Lebel G, Dodin S, Ayotte P, Marcoux S, Ferron LA, Dewailly E. Organochlorine exposure and the risk of endometriosis. Fertil Steril 1998; 69: 221-228.
Lopez T, Pumarega JA, Pollack AZ, Lee DH, Richiardi L, Jacobs DR, Jr., Schisterman EF, Porta M. Adjusting serum concentrations of organochlorine compounds by lipids and symptoms: a causal framework for the association with K-ras mutations in pancreatic cancer. Chemosphere 2014; 114: 219-225.
Louis GM, Weiner JM, Whitcomb BW, Sperrazza R, Schisterman EF, Lobdell DT, Crickard K, Greizerstein H, Kostyniak PJ. Environmental PCB exposure and risk of endometriosis. Hum Reprod 2005; 20: 279-285.
Martinez-Zamora MA, Mattioli L, Parera J, Abad E, Coloma JL, van Babel B, Galceran MT, Balasch J, Carmona F. Increased levels of dioxin-like substances in adipose tissue in patients with deep infiltrating endometriosis. Hum Reprod 2015; 30: 1059-1068.
Mayani A, Barel S, Soback S, Almagor M. Dioxin concentrations in women with endometriosis. Hum Reprod 1997; 12: 373-375.
Nayyar T, Bruner-Tran KL, Piestrzeniewicz-Ulanska D, Osteen KG. Developmental exposure of mice to TCDD elicits a similar uterine phenotype in adult animals as observed in women with endometriosis. Reprod Toxicol 2007; 23: 326-336.
Niskar AS, Needham LL, Rubin C, Turner WE, Martin CA, Patterson DG, Jr., Hasty L, Wong LY, Marcus M. Serum dioxins, polychlorinated biphenyls, and endometriosis: a case-control study in Atlanta. Chemosphere 2009; 74: 944-949.
Nisolle M, Donnez J. Peritoneal endometriosis, ovarian endometriosis, and adenomyotic nodules of the rectovaginal septum are three different entities. Fertil Steril 1997; 68: 585-596.
Parazzini F, Cipriani S, Bravi F, Pelucchi C, Chiaffarino F, Ricci E, Vigano P. A metaanalysis on alcohol consumption and risk of endometriosis. Am J Obstet Gynecol 2013; 209: 106.e101-110.
Parazzini F, Esposito G, Tozzi L, Noli S, Bianchi S. Epidemiology of endometriosis and its comorbidities. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2016.
Pauwels A, Schepens PJ, D'Hooghe T, Delbeke L, Dhont M, Brouwer A, Weyler J. The risk of endometriosis and exposure to dioxins and polychlorinated biphenyls: a case-control study of infertile women. Hum Reprod 2001; 16: 2050-2055.
Ploteau S, Antignac JP, Volteau C, Marchand P, Venisseau A, Vacher V, Le Bizec B. Distribution of persistent organic pollutants in serum, omental, and parietal adipose tissue of French women with deep infiltrating endometriosis and circulating versus stored ratio as new marker of exposure. Environ Int 2016.

Porpora MG, Ingelido AM, di Domenico A, Ferro A, Crobu M, Pallante D, Cardelli M, Cosmi EV, De Felip E. Increased levels of polychlorobiphenyls in Italian women with endometriosis. Chemosphere 2006; 63: 1361-1367.
Porpora MG, Medda E, Abballe A, Bolli S, De Angelis I, di Domenico A, Ferro A, Ingelido AM, Maggi A, Panici PB et al. Endometriosis and organochlorinated environmental pollutants: a case-control study on Italian women of reproductive age. Environ Health Perspect 2009; 117: 1070-1075.
Prescott J, Farland LV, Tobias DK, Gaskins AJ, Spiegelman D, Chavarro JE, Rich-Edwards JW, Barbieri RL, Missmer SA. A prospective cohort study of endometriosis and subsequent risk of infertility. Hum Reprod 2016; 31: 1475-1482.
Reddy BS, Rozati R, Reddy S, Kodampur S, Reddy P, Reddy R. High plasma concentrations of polychlorinated biphenyls and phthalate esters in women with endometriosis: a prospective case control study. Fertil Steril 2006; 85: 775-779.
Rier SE. The potential role of exposure to environmental toxicants in the pathophysiology of endometriosis. Ann N Y Acad Sci 2002; 955: 201-212; discussion 230-202, 396-406.
Rier SE, Martin DC, Bowman RE, Dmowski WP, Becker JL. Endometriosis in rhesus monkeys (Macaca mulatta) following chronic exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. Fundam Appl Toxicol 1993; 21: 433-441.
Rier SE, Turner WE, Martin DC, Morris R, Lucier GW, Clark GC. Serum levels of TCDD and dioxin-like chemicals in Rhesus monkeys chronically exposed to dioxin: correlation of increased serum PCB levels with endometriosis. Toxicol Sci 2001; 59: 147-159.
Sampson JA. Metastatic or Embolic Endometriosis, due to the Menstrual Dissemination of Endometrial Tissue into the Venous Circulation. Am J Pathol 1927; 3: 93-110.143.
Sanderson JT. The steroid hormone biosynthesis pathway as a target for endocrine-disrupting chemicals. Toxicol Sci 2006; 94: 3-21.
Schisterman EF, Whitcomb BW, Louis GM, Louis TA. Lipid adjustment in the analysis of environmental contaminants and human health risks. Environ Health Perspect 2005; 113: 853-857.
Simsa P, Mihalyi A, Schoeters G, Koppen G, Kyama CM, Den Hond EM, Fulop V, D'Hooghe TM. Increased exposure to dioxin-like compounds is associated with endometriosis in a case-control study in women. Reprod Biomed Online 2010; 20: 681-688.
Smarr MM, Kannan K, Buck Louis GM. Endocrine disrupting chemicals and endometriosis. Fertil Steril 2016; 106: 959-966.
Trabert B, De Roos AJ, Schwartz SM, Peters U, Scholes D, Barr DB, Holt VL. Non-dioxin-like polychlorinated biphenyls and risk of endometriosis. Environ Health Perspect 2010; 118: 1280-1285.
Tsukino H, Hanaoka T, Sasaki H, Motoyama H, Hiroshima M, Tanaka T, Kabuto M, Niskar AS, Rubin C, Patterson DG, Jr. et al. Associations between serum levels of selected organochlorine compounds and endometriosis in infertile Japanese women. Environ Res 2005; 99: 118-125.
Upson K, De Roos AJ, Thompson ML, Sathyanarayana S, Scholes D, Barr DB, Holt VL. Organochlorine pesticides and risk of endometriosis: findings from a population-based case-control study. Environ Health Perspect 2013; 121: 1319-1324.
Vorkamp K, Thomsen M, Frederiksen M, Pedersen M, Knudsen LE. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in the indoor environment and associations with prenatal exposure. Environ Int 2011; 37: 1-10.

Zondervan KT, Cardon LR, Kennedy SH. What makes a good case-control study? Design issues for complex traits such as endometriosis. Hum Reprod 2002; 17: 1415-1423.

Table I. Study population characteristics (mean ± standard deviation) from the adipose tissue and serum study including controls, cases of deep infiltrating endometriosis without ovarian endometrioma (DIE only) and DIE with ovarian endometrioma (DIE+OvE).

Adipose Tissue Study	Controls	Cases	
		DIE only	DIE+OvE
	(n = 44)	(n = 24)	(n = 25)
Age (years)	32.7±6.4	32.7±6.4	36.7±4.7*^
BMI (Kg/m2)	24.3±4.6	23.5±4.1	23.8±5.2
Breast-feeding (months)	21.8±11.8	22.5±11.4	21.2±13.6
Lipid content (%)	66.1±13.8	70.6±9.8	68.2±12.3
Serum Study	Controls	Cases	
		DIE only	DIE+OvE
	(n = 26)	(n = 23)	(n = 25)
Age (years)	33.9±5.9	32.8±6.5	36.0±5.4
BMI (Kg/m2)	24.7±5.2	23.2±3.9	23.5±5.1
Breast-feeding (months)	6.1±19.2	2.5±4.4	0.4±1.2
Lipid content (%)	0.7±0.1	0.5±0.1***	0.5±0.1***

*p<0.05,**p<0.01,***p<0.001, Mann-Whitney-Wilcoxon Test for comparison between cases of endometriosis and controls

Table II. Summary of the chemical exposure levels measured for dioxins (PCDD/F) and dioxin-like polychlorobiphenyls (dl-PCBs) in the analyzed adipose tissue in controls, cases of deep infiltrating endometriosis without ovarian endometrioma (DIE only) and DIE with ovarian endometrioma (DIE+OvE). Results represented by the Median [min-max], units in pg/g lipid weight. The groups were compared statistically with Kruskal-Wallis test and post-hoc Dunn's Multiple Comparison test, adjusting the statistical significance with the Benjamini-Hochberg method.

	Controls	**Cases**	
		DIE only	**DIE+OvE**
	(n = 44)	**(n = 24)**	**(n = 25)**
2.3.7.8 - TCDD	0.61 [0.29-1.70]	0.66 [0.21-1.46]	0.85 [0.33-2.36]*
1.2.3.7.8 - PeCDD	2.05 [0.89-5.84]	2.28 [0.73-6.34]	3.79 [1.42-8.80]**^
1.2.3.4.7.8 - HxCDD	1.00 [0.31-2.88]	0.91 [0.49-2.60]	1.44 [0.71-3.50]*^
1.2.3.6.7.8 - HxCDD	6.19 [2.18-15.99]	6.45 [2.83-19.02]	9.44 [3.88-21.41]*^
1.2.3.7.8.9 - HxCDD	1.17 [0.39-16.20]	1.02 [0.65-3.61]	1.42 [0.51-4.19]
1.2.3.4.6.7.8- HpCDD	8.24 [2.97-107.47]	7.31 [3.41-20.67]	9.64 [2.78-29.06]
OCDD	61.07 [29.62-565.93]	59.42 [32.22-117.94]	62.08 [34.65-175.14]
2.3.7.8 - TCDF	0.32 [0.08-1.55]	0.25 [0.08-0.84]	0.30 [0.10-1.27]
1.2.3.7.8 - PeCDF	0.20 [0.08-0.98]	0.17 [0.09-1.13]	0.23 [0.06-0.61]
2.3.4.7.8 - PeCDF	5.00 [2.04-15.01]	4.80 [1.20-15.49]	7.70 [2.77-23.89]*^
1.2.3.4.7.8 - HxCDF	1.49 [0.77-4.37]	1.37 [0.58-3.60]	1.74 [0.79-4.30]^
1.2.3.6.7.8 - HxCDF	1.65 [0.73-4.45]	1.46 [0.57-4.88]	2.11 [0.80-4.55]^
1.2.3.7.8.9 - HxCDF	0.05 [0.03-0.24]	0.06 [0.02-0.16]	0.06 [0.02-0.43]
2.3.4.6.7.8 - HxCDF	0.63 [0.16-1.59]	0.59 [0.20-2.95]	0.68 [0.23-1.79]
1.2.3.4.6.7.8 -HpCDF	1.54 [0.61-6.99]	1.42 [0.88-3.11]	1.50 [0.52-4.49]
1.2.3.4.7.8.9 -HpCDF	0.12 [0.02-0.73]	0.12 [0.04-0.26]	0.14 [0.05-0.47]
OCDF	0.42 [0.18-1.14]	0.59 [0.32-2.26]***	0.77 [0.33-2.70]***
WHO-TEQ_{2005} PCDD/F	5.53 [2.34-15.12]	5.80 [2.24-14.01]	8.75 [4.07-22.27]*^
PCB 77	3.70 [1.16-11.72]	2.46 [1.33-5.49]**	3.22 [1.16-14.31]
PCB 81	1.41 [0.62-4.01]	1.06 [0.34-3.37]	1.25 [0.34-4.19]
PCB 126	26.91 [6.78-111.30]	31.80 [8.23-47.59]	34.02 [7.09-114.74]
PCB 169	22.28 [6.62-157.41]	19.73 [5.20-58.15]	41.36 [13.58-132.66]**^
PCB 105	1557.56 [594.22-4663.52]	1823.78 [559.61-5221.35]	2277.34 [539.95-6878.39]**
PCB 114	375.13 [98.69-1986.26]	479.86 [111.90-991.16]	710.18 [211.66-2808.11]**^
PCB 118	6325.76 [2877.14-19793.07]	7787.06 [3152.47-18343.99]	10840.94 [2912.83-31316.51]**

PCB123	80.33 [25.14-263.49]	99.46 [28.02-225.99]	133.16 [28.12-379.40]**
PCB 156	4045.20 [917.08-29113.87]	3805.51 [757.76-9086.97]	6478.85 [1319.71-17967.10]*^
PCB 157	1133.12 [200.66-8092.12]	1002.23 [170.97-2380.14]	1651.21 [311.01-4359.87]*^
PCB 167	1051.10 [251.21-4805.91]	1171.94 [300.21-2245.08]	1749.29 [342.34-5603.27]**^
PCB 189	670.11 [92.73-5299.09]	480.18 [127.94-1550.18]	1048.27 [102.25-2702.75]*^
WHO-TEQ_{2005} PCBs	3.87 [1.61-13.85]	4.27 [0.64-7.15]	5.16 [1.35-17.62]*^
WHO-TEQ_{2005} Total	9.88 [4.20-28.97]	8.94 [3.73-20.63]	14.36 [5.42-39.88]**^

*Significance represented by *p<0.05,**p<0.01,***p<0.001 for paired comparisons between cases groups and controls, and ^p<0.05, ^^ p<0.01, ^^^p<0.001 for comparisons between both cases groups.*

Table III. Summary of the chemical exposure levels measured for non dioxin-like polychlorobiphenyls (ndl-PCBs), polybromodiphenylethers (PBDEs), hexabromocyclododecane (HBCD) and organochlorine pesticides (OCPs) in the analyzed adipose tissue from controls, cases of deep infiltrating endometriosis without ovarian endometrioma (DIE only) and DIE with ovarian endometrioma (DIE+OvE). Results represented by the Median [min-max], units in ng/g lipid weight. The groups were compared with Kruskal-Wallis test and post-hoc Dunn's Multiple Comparison test, adjusting the statistical significance with the Benjamini-Hochberg method.

	Controls	**Cases**	
		DIE only	**DIE+OvE**
	(n = 44)	**(n = 24)**	**(n = 25)**
PCB 28	1.10 [0.44-3.82]	0.91 [0.22-3.28]	1.09 [0.22-2.66]
PCB 52	0.15 [0.06-1.62]	0.16 [0.08-0.64]	0.19 [0.06-1.26]
PCB 101	0.37 [0.11-1.08]	0.35 [0.14-1.42]	0.42 [0.12-1.50]
PCB 138	25.35 [3.54-72.46]	23.35 [6.98-59.38]	38.75 [9.24-93.14]**^
PCB 153	51.30 [7.63-222.84]	48.87 [14.04-122.73]	84.97 [15.64-210.00]**^
PCB 180	44.15 [6.10-327.90]	34.02 [9.00-116.81]	70.39 [8.96-185.84]*^
PBDE 28	0.03 [0.01-0.12]	0.03 [0.01-0.23]	0.02 [0.01-0.43]
PBDE 47	0.32 [0.05-2.61]	0.32 [0.10-4.21]	0.26 [0.08-4.60]
PBDE 99	0.09 [0.02-0.61]	0.08 [0.02-1.07]	0.06 [0.01-2.55]
PBDE 100	0.12 [0.02-1.76]	0.13 [0.06-0.97]	0.11 [0.03-1.37]
PBDE 153	1.07 [0.33-4.90]	1.19 [0.56-2.57]	1.10 [0.63-2.89]
PBDE 154	0.03 [0.01-0.22]	0.03 [0.01-0.12]	0.03 [0.01-0.31]
PBDE 183	0.16 [0.02-1.78]	0.24 [0.11-0.86]*	0.19 [0.04-0.79]
PBDE209	1.74 [0.71-13.69]	1.66 [0.55-9.45]	2.18 [0.70-102.69]
PBB 153	0.15 [0.03-0.92]	0.18 [0.04-8.62]	0.27 [0.06-6.57]***^
α-HBCD	0.70 [0.20-41.71]	0.85 [0.19-3.02]	1.02 [0.15-9.31]
Hexachlorobenzene	8.81 [3.25-15.99]	11.33 [4.86-29.09]	12.29 [6.06-32.23]*
β-HCH	14.33 [3.82-37.72]	13.62 [4.65-44.29]	21.61 [7.08-77.57]**^^
Trans-nonachlor	3.19 [0.72-8.21]	4.19 [1.32-7.57]	6.04 [1.87-20.61]***^
Oxychlordane	3.59 [0.66-11.68]	4.45 [1.74-9.72]	7.01 [2.59-25.70]***^
Cis-heptachlor epoxyde	3.79 [0.42-9.77]	4.75 [1.76-8.81]**	5.38 [2.54-14.96]**
Dieldrin	4.16 [1.40-11.82]	6.12 [1.86-15.61]*	6.69 [2.31-15.63]*
p,p'-DDT	2.24 [0.82-119.38]	3.29 [1.27-8.48]	2.57 [1.11-7.15]
p,p'-DDE	52.88 [11.63-2778.58]	88.31 [19.98-276.43]	76.30 [27.11-340.62]

*Significance represented by *p<0.05,**p<0.01,***p<0.001 for paired comparisons between cases and controls; and ^p<0.05, ^^ p<0.01, ^^^p<0.001 for comparisons between both cases groups*

Note: PBB 52, PBB 101, β–HBCD, γ–HBCD, pentachlorobenzene, α-HCH, γ-HCH, δ-HCH, α-chlordane, γ-chlordane, cis-nonachlor, heptachlor, trans-heptachlor epoxyde, aldrin, endrin, endrin cetone, endrin aldehyde, α-endosulfan, β-endosulfan, endosulfan sulfate, o,p'-DDT, o,p'-DDE, p,p'-DDD, o,p'-DDD, methoxychlor, mirex, chlordecone presented >50% of undetected samples and excluded from the statistical analysis

Table IV. Crude and adjusted associations between biomarkers of exposure to persistent pollutants in adipose tissue with endometriosis: total cases of deep infiltrating endometriosis (DIE) vs controls and DIE with ovarian endometrioma (DIE+OvE) vs controls. Only pollutants with statistically significant associations are shown and results are represented as crude odds ratios (OR) and adjusted odds ratios (aOR) with the 95% confidence intervals (CI), estimated from binomial logistic regression. The covariates included in the adjusted models were age (years) and BMI (Kg/m^2). The concentrations of pollutants in parietal fat were log transformed and rescaled by their SD for analysis.

POPs in adipose tissue	***DIE vs controls (n=99)***		***DIE+OvE vs controls (n=69)***	
	Crude model	***Adjusted model***	***Crude model***	***Adjusted model***
2.3.7.8 - TCDD	1.44 (0.96-2.22)	1.65 (0.95-3.02)	2.09 (1.23-3.85)* (#)	2.31 (1.12-5.22)*
1.2.3.7.8 - PeCDD	1.76 (1.16-2.78)*	2.20 (1.23-4.25)*	2.85 (1.60-5.60)*** (#)	3.56 (1.60-9.51)**
1.2.3.4.7.8 - HxCDD	1.46 (0.97-2.25)	1.60 (0.92-2.90)	2.19 (1.27-4.09)** (#)	2.22 (1.06-5.26)*
1.2.3.6.7.8 - HxCDD	1.40 (0.94-2.15)	1.55 (0.91-2.74)	2.31 (1.33-4.32)** (#)	2.35 (1.16-5.25)*
2.3.4.7.8 - PeCDF	1.41 (0.94-2.17)	1.41 (0.82-2.51)	2.16 (1.26-4.03)** (#)	2.21 (1.06-5.16)*
1.2.3.4.7.8 - HxCDF	1.23 (0.82-1.86)	1.25 (0.79-2.04)	1.71 (1.03-2.98)	1.92 (1.03-3.79)*
1.2.3.4.7.8.9 -HpCDF	1.18 (0.79-1.79)	1.33 (0.87-2.11)	1.41 (0.85-2.46)	2.09 (1.15-4.18)*
OCDF	4.72 (2.54-10.06)*** (##)	5.42 (2.73-12.85)*** (###)	5.40 (2.56-14.16)*** (##)	6.98 (2.94-22.27)*** (#)
WHO-TEQ$_{2005}$ PCDD/F	1.51 (1.00-2.32)	1.73 (1.00-3.15)	2.37 (1.36-4.49)** (#)	2.73 (1.29-6.56)*
PCB 77	0.61 (0.39-0.93)*	0.67 (0.41-1.04)	0.81 (0.48-1.33)	1.06 (0.58-1.90)
PCB 169	1.44 (0.96-2.22)	1.36 (0.72-2.64)	2.42 (1.36-4.87)** (#)	2.69 (1.07-7.88)*
PCB 105	1.74 (1.14-2.76)*	2.09 (1.24-3.77)**	2.16 (1.26-3.96)** (#)	2.48 (1.25-5.42)*
PCB 114	1.71 (1.12-2.70)*	1.89 (1.04-3.69)*	2.81 (1.54-5.73)** (#)	3.27 (1.34-9.93)*
PCB 118	1.84 (1.20-2.94)** (#)	2.30 (1.31-4.36)**	2.51 (1.43-4.80)** (#)	2.93 (1.38-7.07)**
PCB123	1.90 (1.24-3.05)** (#)	2.47 (1.42-4.66)**	2.29 (1.32-4.30)** (#)	2.78 (1.35-6.46)*
PCB 156	1.30 (0.87-1.98)	1.10 (0.55-2.22)	2.14 (1.22-4.15)* (#)	1.93 (0.74-5.55)
PCB 157	1.15 (0.77-1.73)	0.88 (0.45-1.69)	1.80 (1.06-3.33)*	1.49 (0.59-3.99)
PCB 167	1.51 (1.00-2.33)*	1.77 (0.94-3.53)	2.44 (1.36-4.93)** (#)	2.81 (1.13-8.19)*
PCB 189	1.25 (0.83-1.88)	0.96 (0.44-2.08)	2.00 (1.14-3.92)*	1.78 (0.59-5.85)
WHO-TEQ$_{2005}$ dl-PCBs	1.29 (0.86-1.97)	1.70 (0.93-3.28)	1.88 (1.12-3.39)* (#)	2.15 (1.01-5.15)
Total WHO-TEQ$_{2005}$	1.48 (0.98-2.27)	1.82 (1.02-3.45)*	2.29 (1.32-4.34)** (#)	2.86 (1.29-7.38)*
PCB 138	1.51 (1.00-2.33)*	1.65 (0.93-3.09)	2.41 (1.34-4.81)** (#)	2.35 (1.06-5.97)*
PCB 153	1.48 (0.99-2.28)	1.66 (0.88-3.29)	2.53 (1.39-5.19)** (#)	2. 94(1.17-8.67)*
PCB 180	1.26 (0.85-1.91)	1.12 (0.52-2.43)	2.06 (1.17-4.04)* (#)	2.23 (0.76-7.29)
PBDE 183	1.38 (0.92-2.14)	1.64 (1.05-2.71)*	1.04 (0.63-1.71)	1.29 (0.76-2.30)
PBB 153	2.13 (1.31-3.73)** (#)	3.91 (1.60-11.60)**	3.46 (1.74-8.12)** (#)	8.26 (2.27-44.41)**
Hexachlorobenzene	2.10 (1.31-3.63)**	2.06 (1.20-3.91)*	2.49 (1.32-5.40)* (#)	2.09 (0.93-5.38)
β-HCH	1.58 (1.03-2.51)*	1.58 (0.94-2.80)	3.07 (1.61-6.79)** (#)	3.64 (1.52-11.15)**
Trans-nonachlor	2.18 (1.37-3.68)** (#)	2.21 (1.24-4.28)*	4.26 (1.97-11.70)** (#)	3.66 (1.40-12.71)*
Oxychlordane	2.66 (1.59-4.89)*** (##)	3.22 (1.60-7.70)**	6.29 (2.49-21.56)*** (#)	5.82 (1.84-27.69)**
Cis-heptachlor epoxyde	3.19 (1.80-6.41)*** (##)	5.36 (2.44-14.84)***	3.85 (1.79-10.13)** (#)	9.49 (2.62-57.74)**
Dieldrin	1.98 (1.27-3.22)** (#)	2.71 (1.57-5.11)***	1.95 (1.12-3.64)*	2.92 (1.30-7.94)*

*(*) Unadjusted statistical significance *p<0.05,**p<0.01,***p<0.001*

(#) Adjusted significance for multiple comparison test using the Benjamini-Hochberg algorithm ((#)p<0.05,(##)p<0.01, (###)p<0.001

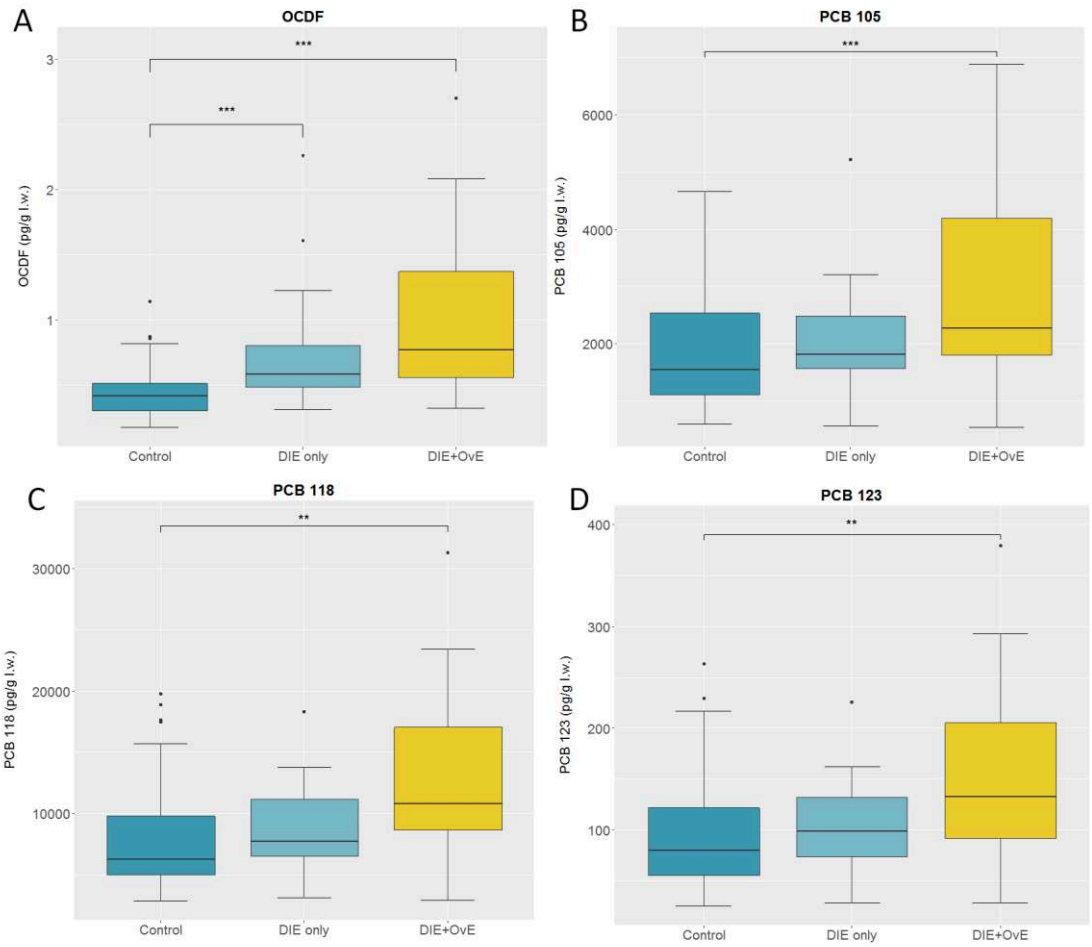


Figure 1: Box-plots representing the concentrations of OCDF (A), PCB 105 (B), PCB 118 (C) and PCB 123 (D) measured in the analyzed adipose tissue, from individual controls (Control), cases of deep infiltrating endometriosis without ovarian endometrioma (DIE) and cases of DIE with ovarian endometrioma (DIE+OvE). The groups were compared with Kruskal-Wallis test and post-hoc Dunn's Multiple Comparison test adjusting the statistical significance with the Benjamini-Hochberg method (*p<0.05,**p<0.01,***p<0.001)

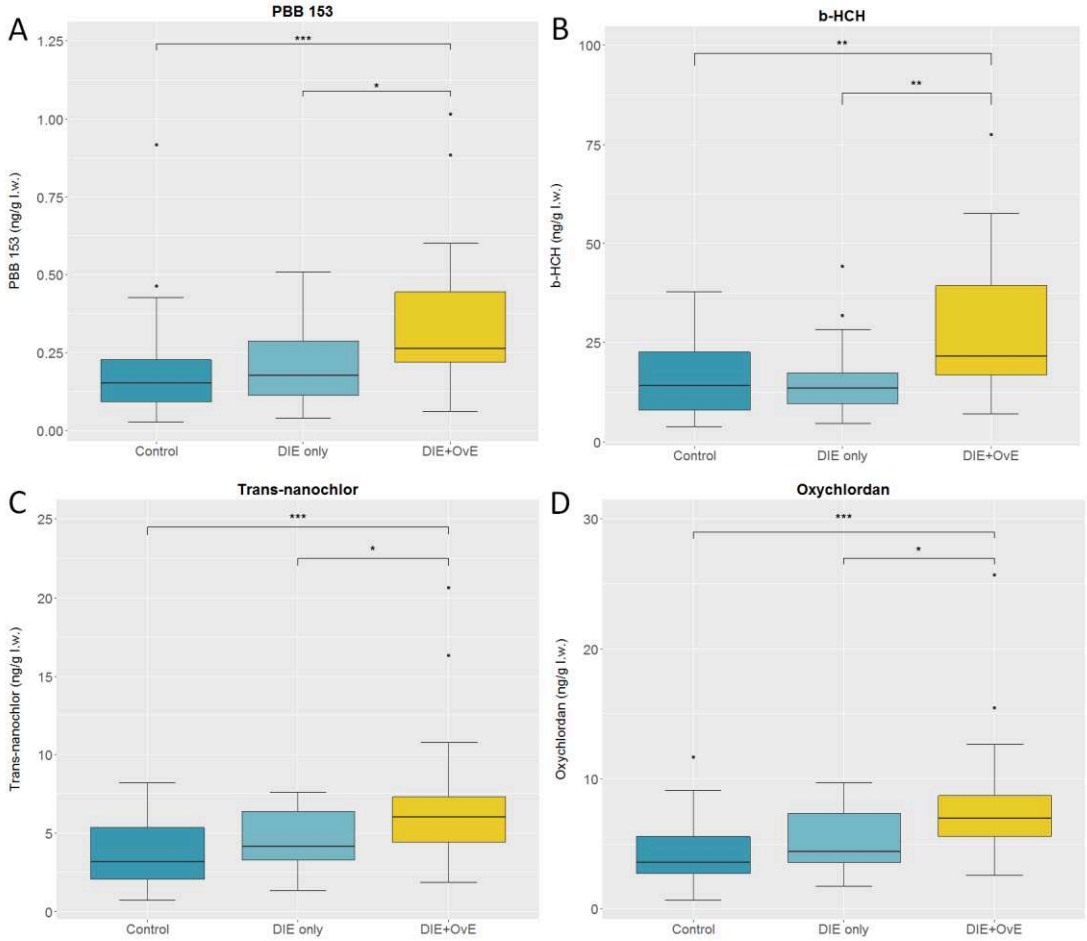


Figure 2: Box-plots representing the concentrations of PCB 153 (A), b-HCH (B), trans-nanochlor (C) and oxychlordan (D) measured in the analyzed adipose tissue, from individual controls (Control), cases of deep infiltrating endometriosis without ovarian endometrioma (DIE) and cases of DIE with ovarian endometrioma (DIE+OvE). The groups were compared with Kruskal-Wallis test and post-hoc Dunn's Multiple Comparison test adjusting the statistical significance with the Benjamini-Hochberg method (*p<0.05,**p<0.01,***p<0.001).

SUPPLEMENTARY MATERIALS

Table SI. Summary of the chemical exposure levels measured for dioxins (PCDD/F) and dioxin-like polychlorobiphenyls (dl-PCBs) in serum from controls and cases of deep infiltrating endometriosis without ovarian endometrioma (DIE only) and cases of DIE with ovarian endometrioma (DIE+OvE). Median [min-max] (pg/g l.w.).

	Controls	**Cases**	
	(n = 26)	**DIE only (n = 23)**	**DIE+OvE (n = 25)**
2.3.7.8 - TCDD	0.75 [0.43-1.68]	0.65 [0.43-1.48]	0.76 [0.30-1.98]
1.2.3.7.8 - PeCDD	2.13 [0.39-4.00]	1.76 [0.61-4.18]	2.84 [1.17-6.87]
1.2.3.4.7.8 - HxCDD	1.07 [0.72-2.06]	1.01 [0.49-2.01]	1.08 [0.38-2.35]
1.2.3.6.7.8 - HxCDD	5.54 [2.45-12.69]	5.53 [1.13-18.73]	8.51 [4.22-18.17]
1.2.3.7.8.9 - HxCDD	1.35 [0.64-17.91]	1.16 [0.50-4.12]	1.55 [0.56-4.42]
1.2.3.4.6.7.8- HpCDD	11.16 [3.11-114.60]	10.48 [3.99-31.96]	11.70 [3.77-39.95]
OCDD	72.38 [24.59-702.67]	89.89 [38.56-191.99]	106.09 [46.41-267.37]
C2.3.7.8 - TCDF	0.43 [0.26-0.88]	0.49 [0.24-1.39]	0.59 [0.26-1.41]
1.2.3.7.8 - PeCDF	0.56 [0.26-0.93]	0.42 [0.13-1.34]	0.57 [0.17-2.21]
2.3.4.7.8 - PeCDF	3.85 [1.63-10.12]	4.62 [1.78-13.42]	6.24 [2.18-15.76]*
1.2.3.4.7.8 - HxCDF	1.72 [0.89-3.58]	1.74 [0.79-5.82]	2.05 [1.09-7.56]
1.2.3.6.7.8 - HxCDF	1.98 [0.88-4.12]	2.26 [0.89-7.18]	2.82 [1.26-7.97]*
1.2.3.7.8.9 - HxCDF	0.49 [0.08-0.95]	0.36 [0.11-0.94]	0.39 [0.11-0.88]
2.3.4.6.7.8 - HxCDF	0.62 [0.25-1.87]	0.72 [0.39-2.42]	0.82 [0.29-3.94]
1.2.3.4.6.7.8 -HpCDF	2.76 [1.16-6.11]	2.95 [2.16-10.50]	2.98 [0.85-19.00]
1.2.3.4.7.8.9 -HpCDF	0.74 [0.16-2.39]	0.71 [0.28-1.67]	0.61 [0.33-2.80]
OCDF	2.76 [1.05-3.70]	2.50 [1.35-4.93]	2.83 [0.76-6.91]
WHO-TEQ_{2005} PCDD/F	5.61 [2.48-10.66]	5.43 [2.63-12.06]	7.59 [3.93-16.59]
PCB 77	7.49 [5.01-11.55]	10.07 [6.78-15.56]**	9.08 [5.22-34.85]*
PCB 81	2.59 [1.20-6.25]	2.38 [0.60-13.33]	1.92 [0.89-5.07]
PCB 126	18.99 [10.71-45.97]	27.79 [6.40-37.68]	24.00 [7.85-74.99]
PCB 169	12.81 [6.20-32.33]	16.79 [4.00-33.71]	21.62 [5.69-61.35]
PCB 105	1084.54 [441.59-3031.49]	1192.74 [369.13-3023.08]	1273.72 [321.79-3660.65]
PCB 114	221.02 [66.35-794.38]	299.29 [57.53-531.77]	365.98 [133.79-1327.02]
PCB 118	5032.96 [2046.20-18275.70]	6127.04 [1983.83-12829.80]	6719.10 [1896.40-20086.66]
PCB123	48.96 [16.02-229.53]	74.48 [14.95-150.97]	90.37 [18.69-219.82]
PCB 156	2530.36 [980.12-5338.00]	2407.11 [486.28-5341.04]	3325.96 [592.57-9709.28]
PCB 157	786.12 [261.11-1911.89]	813.68 [190.39-2159.63]	1359.60 [315.31-3328.72]
PCB 167	938.28 [344.92-2566.53]	1072.37 [287.82-2083.91]	1335.71 [361.26-3862.26]
PCB 189	385.42 [109.79-696.90]	325.45 [54.01-710.39]	492.52 [84.57-1205.40]
WHO-TEQ_{2005} PCBs	2.50 [1.57-6.33]	3.76 [1.17-5.23]	3.66 [1.24-10.09]
WHO-TEQ_{2005} Total	9.74 [4.22-16.99]	9.09 [4.39-17.14]	12.20 [5.87-26.68]

p<0.05,p<0.01,***p<0.001, level of significance estimated from Mann-Whitney-Wilcoxon test for comparisons between cases of endometriosis and controls*

Table SII. Summary of the chemical exposure levels measured for non dioxin-like polychlorobiphenyls (ndl-PCBs), polybromodiphenylethers (PBDE), hexabromocyclododecane (HBCD) and organochlorine pesticides (OCPs) in serum from controls and cases of deep infiltrating endometriosis without ovarian endometrioma (DIE only) and cases of DIE with ovarian endometrioma (DIE+OvE). Median [min-max] (ng/g l.w.).

	Controls	Cases	
		DIE only	DIE+OvE
	(n = 26)	(n = 23)	(n = 25)
PCB 28	0.86 [0.49-2.36]	0.96 [0.40-2.73]	0.93 [0.51-11.32]
PCB 52	0.27 [0.08-0.65]	0.27 [0.11-0.56]	0.23 [0.13-10.14]
PCB 101	0.32 [0.11-0.83]	0.34 [0.14-1.02]	0.31 [0.15-8.04]
PCB 138	14.84 [5.66-30.66]	13.83 [4.32-37.16]	21.31 [6.54-45.30]
PCB 153	31.39 [13.17-66.92]	27.50 [8.37-75.75]	46.24 [14.96-98.35]
PCB 180	30.11 [8.37-60.19]	22.60 [5.37-57.37]	36.41 [11.92-77.15]
PBDE 28	0.01 [0.01-0.04]	0.02 [0.00-0.13]	0.02 [0.01-0.28]
PBDE 47	0.16 [0.01-0.70]	0.21 [0.07-2.42]	0.21 [0.03-3.81]
PBDE 99	0.03 [0.01-0.48]	0.05 [0.01-0.57]*	0.05 [0.01-1.88]
PBDE 100	0.07 [0.01-0.17]	0.09 [0.02-0.43]	0.07 [0.03-1.00]
PBDE 153	0.46 [0.25-1.42]	0.48 [0.26-1.46]	0.49 [0.24-1.17]
PBDE 154	0.02 [0.01-0.04]	0.02 [0.01-0.04]	0.02 [0.01-0.14]
PBDE 183	0.09 [0.02-0.28]	0.11 [0.02-0.40]	0.09 [0.03-0.60]
PBDE209	0.97 [0.20-2.00]	0.38 [0.08-2.67]**	0.58 [0.08-20.11]
PBB 153	0.12 [0.05-0.28]	0.09 [0.04-2.30]	0.11 [0.06-1.37]
??HBCD	0.25 [0.09-3.31]	0.22 [0.08-0.86]	0.37 [0.10-2.66]

p<0.05,p<0.01,***p<0.001, level of significance estimated from Mann-Whitney-Wilcoxon test for comparisons between cases of endometriosis and controls*

Note: PBB 52, PBB 101, β–HBCD, γ–HBCD, hexachlorobenzene, pentachlorobenzene, α-HCH, β–HCH, γ-HCH, δ-HCH, α-chlordane, γ-chlordane, cis-nonachlor, trans-nonachlor, oxychlordane, *heptachlor,* cis-Heptachlor epoxyde, *trans-heptachlor epoxyde, aldrin,* dieldrin, *endrin, endrin cetone, endrin aldehyde, α-endosulfan, β-endosulfan, endosulfan sulfate,* p,p'-DDT, p,p'-DDE, *o,p'-DDT, o,p'-DDE, p,p'-DDD, o,p'-DDD, methoxychlor, mirex, chlordecone presented >50% of undetected samples and excluded from the statistical analysis.*

Table SIII. Crude and adjusted associations between biomarkers of exposure to persistent pollutants in adipose tissue and endometriosis sub-groups: 'cases with deep infiltrating endometriosis without ovarian endometrioma (DIE only) vs controls' and 'cases with DIE with ovarian endometrioma (DIE+OvE) vs DIE only'. Only the pollutants with statistically significant associations are shown and results are represented as odds ratios (OR) with the 95% confidence intervals (CI), estimated with unadjusted and adjusted logistic regression. The covariates included in the adjusted models were age (years) and body mass index (Kg/m^2). The concentrations of pollutants in adipose tissue were log transformed and rescaled by their SD for analysis.

POPs in adipose tissue	*DIE only vs control* (n=68)		*DIE+OvE vs DIE only* (n= 49)	
	Crude model	**Adjusted model**	***Crude model***	**Adjusted model**
2.3.7.8 - TCDD	1.10 (0.69-1.77)	1.65 (0.95-3.02)	1.83 (1.04-3.49)*	1.60 (0.76-3.60)
1.2.3.7.8 - PeCDD	1.28 (0.80-2.10)	2.20 (1.23-4.25)*	2.02 (1.13-3.90)*	1.82 (0.87-4.16)
1.2.3.4.7.8 - HxCDD	1.11 (0.69-1.78)	1.60 (0.92-2.90)	1.85 (1.06-3.45)*	1.43 (0.68-3.10)
1.2.3.6.7.8 - HxCDD	1.01 (0.63-1.62)	1.55 (0.91-2.74)	2.08 (1.17-4.01)*	1.54 (0.75-3.27)
2.3.4.7.8 - PeCDF	1.05 (0.65-1.69)	1.41 (0.82-2.51)	2.04 (1.13-4.10)*	2.00 (0.92-4.90)
OCDF	3.56 (1.92-7.58)***(#)	5.42 (2.73-12.85)***(##)	1.48 (0.86-2.65)	2.02 (1.04-4.40)
WHO-TEQ_{2005} PCDD/F	1.11 (0.69-1.78)	1.73 (1.00-3.15)	2.00 (1.13-3.85)*	1.78 (0.86-3.96)
PCB 77	0.43 (0.23-0.74)**	0.67 (0.41-1.04)	1.64 (0.94-3.11)	1.95 (1.02-4.16)
PCB 81	0.59 (0.34-0.96)*	0.77 (0.48-1.21)	1.24 (0.72-2.18)	1.29 (0.69-2.52)
PCB 169	1.04 (0.64-1.67)	1.36 (0.72-2.64)	2.24 (1.21-4.67)*	2.60 (1.04-7.70)
PCB 105	1.45 (0.90-2.41)	2.09 (1.24-3.77)**	1.53 (0.88-2.81)	1.42 (0.73-2.95)
PCB 114	1.22 (0.76-1.99)	1.89 (1.04-3.69)*	2.29 (1.25-4.74)*	2.37 (1.01-6.68)
PCB 118	1.44 (0.90-2.38)	2.30 (1.31-4.36)**	1.79 (1.02-3.39)	1.66 (0.81-3.71)
PCB123	1.63 (1.01-2.77)	2.47 (1.42-4.66)**(#)	1.44 (0.83-2.62)	1.24 (0.61-2.62)
PCB 156	0.94 (0.59-1.51)	1.10 (0.55-2.22)	2.29 (1.24-4.79)*	2.44 (0.88-8.17)
PCB 157	0.85 (0.52-1.35)	0.88 (0.45-1.69)	2.22 (1.20-4.61)*	2.30 (0.90-6.98)
PCB 167	1.13 (0.71-1.83)	1.77 (0.94-3.53)	2.01 (1.12-4.02)*	1.67 (0.70-4.43)
PCB 189	0.92 (0.57-1.48)	0.96 (0.44-2.08)	2.10 (1.16-4.24)*	2.16 (0.73-7.37)
Total WHO-TEQ_{2005}	1.09 (0.68-1.75)	1.82 (1.02-3.45)*	2.04 (1.14-3.98)*	1.79 (0.83-4.27)
PCB 138	1.13 (0.71-1.83)	1.65 (0.93-3.09)	1.98 (1.11-3.84)*	1.67 (0.73-4.09)
PCB 153	1.08 (0.67-1.74)	1.66 (0.88-3.29)	2.22 (1.22-4.50)*	2.18 (0.85-6.33)
PCB 180	0.93 (0.58-1.48)	1.12 (0.52-2.43)	2.20 (1.21-4.50)*	2.47 (0.81-8.73)
PBDE 183	1.81 (1.09-3.23)*	1.64 (1.05-2.71)*	0.54 (0.28-0.95)*	0.63 (0.32-1.18)
PBDE209	1.05 (0.65-1.68)	1.29 (0.84-2.13)	1.43 (0.82-2.75)	2.49 (1.16-6.80)*
PBB 153	1.53 (0.94-2.71)	3.91 (1.60-11.60)**	1.74 (0.97-3.59)	1.52 (0.73-4.04)
Hexachlorobenzene	1.91 (1.13-3.52)*	2.06 (1.20-3.91)*	1.22 (0.70-2.21)	1.16 (0.61-2.31)
β-HCH	1.08 (0.67-1.75)	1.58 (0.94-2.80)	2.80 (1.45-6.25)**	2.51 (1.15-6.31)*
Trans-nonachlor	1.59 (0.97-2.74)	2.21 (1.24-4.28)*	2.52 (1.29-5.89)*	2.70 (1.12-8.11)*
Oxychlordane	1.85 (1.09-3.42)*	3.22 (1.60-7.70)**(#)	2.74 (1.39-6.42)**	2.74 (1.09-8.46)*
Cis-heptachlor epoxyde	3.01 (1.54-6.96)**	5.36 (2.44-14.84)***(##)	1.45 (0.83-2.69)	1.45 (0.75-3.04)
Dieldrin	2.00 (1.20-3.57)*	2.71 (1.57-5.11)***(#)	1.00 (0.57-1.76)	0.86 (0.44-1.66)

*(*) Unadjusted statistical significance *p<0.05,**p<0.01,***p<0.001*

(#) Adjusted significance for multiple comparison test using the Benjamini-Hochberg algorithm (#)p<0.05,(##)p<0.01, (###)p<0.001

Table SIV. Associations between POPs in adipose tissue with endometriosis from the matching study: total cases of deep infiltrating endometriosis (Total DIE) vs controls. Only pollutants with statistically significant associations are shown. Results are represented as odds ratios (OR) with the 95% confidence intervals (CI), estimated with conditional logistic regression from the matched case-control study. The matching variables were age (years), body mass index (Kg/m^2) and breastfeeding history (months).

POPs in adipose tissue	Total DIE vs control (n=72)
OCDF	39.58 (2.17-723.24)*
PCB 105	2.25 (1.09-4.66)*
PCB 118	2.44 (1.11-5.36)*
PCB123	2.67 (1.20-5.92)*
PBB 153	3.33 (1.20-9.25)*
HCB	1.98 (1.04-3.78)*
Trans-nonachlor	2.23 (1.06-4.72)*
Oxychlordane	3.05 (1.31-7.07)**
Cis-heptachlor epoxyde	4.12 (1.48-11.48)**
Dieldrin	2.69 (1.23-5.84)*

*(*) Unadjusted statistical significance: *p<0.05,**p<0.01,***p<0.001*

Table SV. Crude and adjusted associations between POPs in serum with endometriosis: total cases of deep infiltrating endometriosis (Total DIE) vs controls and cases with DIE with ovarian endometrioma (DIE+OvE) vs controls. Only pollutants with statistically significant associations are shown. Results are represented as odds ratios (OR) with the 95% confidence intervals (CI), estimated from unadjusted and adjusted logistic regression. The covariates included in the adjusted models were age (years) and body mass index (Kg/m^2). The concentrations of pollutants in serum were log transformed and rescaled by their SD for analysis.

POPs in serum	*Total DIE vs control (n=88)*		*DIE+OvE vs control (n=52)*	
	Crude model	*Adjusted model*	*Crude model*	*Adjusted model*
1.2.3.6.7.8 - HxCDD	1.44 (0.82-2.80)	2.60 (1.08-8.07)	2.06 (1.03-4.78)	3.33 (1.26-11.62)*
C2.3.7.8 - TCDF	1.74 (0.94-3.77)	2.11 (1.02-5.40)	1.90 (0.94-4.61)	3.38 (1.26-12.53)*
2.3.4.7.8 - PeCDF	1.95 (1.04-4.19)	2.26 (1.01-6.22)	2.88 (1.32-7.73)*	3.52 (1.32-12.73)*
1.2.3.6.7.8 - HxCDF	2.08 (1.06-4.92)	2.48 (1.11-7.06)	3.11 (1.31-9.91)*	3.64 (1.37-14.19)*
OCDF	1.50 (0.86-2.88)	2.22 (1.12-5.34)*	1.74 (0.89-3.96)	3.24 (1.33-10.99)*
WHO-TEQ$_{2005}$ PCDD/F	1.38 (0.80-2.63)	1.78 (0.88-4.29)	2.10 (1.05-4.88)	2.77 (1.17-8.45)*
PCB 77	4.37 (1.55-15.94)*	10.38 (2.62-65.38)**	4.33 (1.24-21.82)*	15.27 (2.38-208.37)*

*(*) Unadjusted statistical significance: *p<0.05,**p<0.01,***p<0.001*

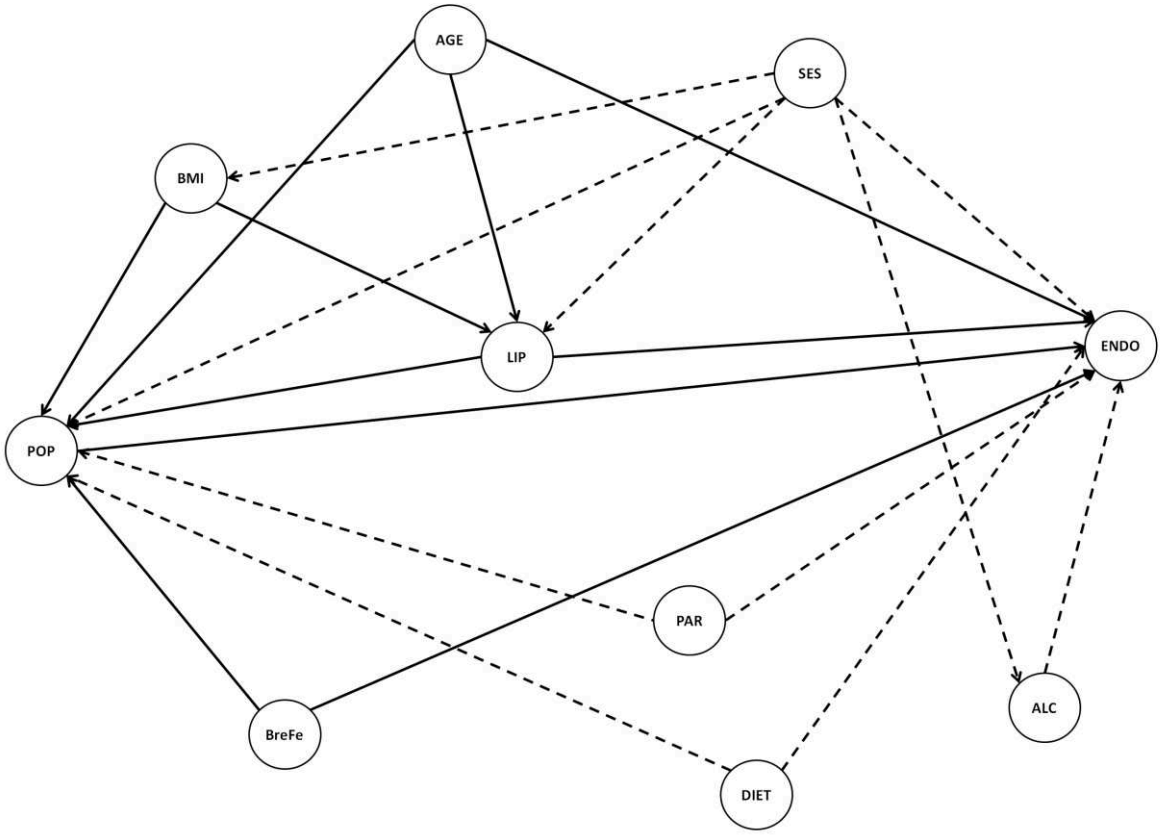


FIGURE S1. Proposed directed acyclic graph for the relationship between persistent organic pollutants and endometriosis**.** Abbreviations: ALC, alcohol; BreFe, breastfeeding; ENDO, endometriosis; LIP, lipids; PAR, parity; POP, persistent organic pollutants; SES, socio-economic status. Solid lines represented the relationship with measured variables and dashed lines the relationship with unmeasured variables.

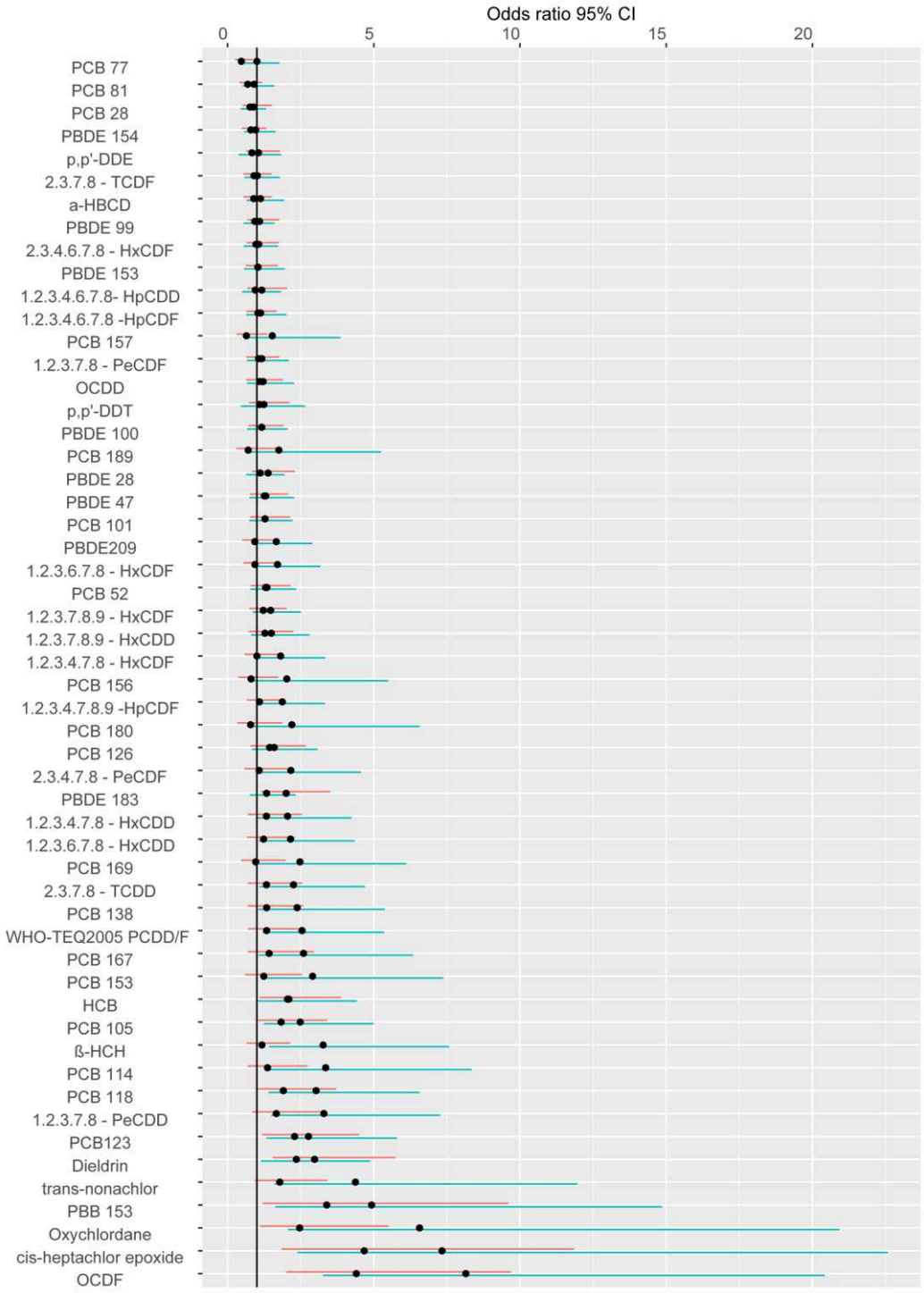


Figure S2. Forest plot representing the associations between POPs from adipose tissue and DIE only (red) and DIE with ovarian endometriosis (green). Results represent the odds ratios (black dots) with the 95% confidence intervals, adjusted for BMI and age estimated from multinomial logistic regression.

6 CONCLUSION

L'implication des POPs dans la physiopathologie de l'endométriose reste actuellement difficile à démontrer, les études disponibles aboutissant souvent à des résultats non convergents le plus souvent en raison de différences méthodologiques significatives qui rendent leur comparaison difficile (hétérogénéité des lésions d'endométriose décrites, méthodologies employées, profils individuels d'exposition…). Cette constatation a permis toutefois d'identifier un certain nombre d'enseignements qui ont guidé notre projet.

Effectivement, l'examen de la littérature scientifique du domaine nous fait constater que notre travail offre certaines spécificités qui la démarquent d'autres et notamment pour ce qui concerne le mode de sélection des cas (diagnostic chirurgical de l'endométriose profonde avec preuve anatomopathologique et stratification en deux groupes liée à la présence ou non d'endométriomes), la méthodologie (étude cas-témoins avec appariement sur les principaux facteurs confondants et caractérisation des contaminants sur le tissu adipeux et le sérum) et le large éventail de substances chimiques investiguées.

La distribution de ces différents polluants au sein de trois compartiments biologiques a tout d'abord été caractérisée et a permis la prise en compte, encore très rare, de l'équilibre entre compartiments de stockage et compartiment circulant, ce rapport apparaissant comme un indicateur d'intérêt dans un contexte de recherche de lien de causalité entre exposition aux substances chimiques et pathologie chez l'homme.

La comparaison entre les cas et les témoins nous a également permis de mettre en évidence une association significative entre certains contaminants et l'endométriose profonde.

La stratification plus fine de notre population de cas nous a montré un lien d'autant plus significatif lorsque l'endométriose profonde était associée à des endométriomes. Cette donnée est originale puisqu'aucune autre étude ne présentait de mesure d'exposition interne dans le tissu adipeux avec une stratification en sous-groupes de la population « cas » concerné par des endométriomes. Les mécanismes sous-jacents de cette association restent toutefois à élucider mais notre travail pourrait suggérer une implication des contaminants dans l'altération de la fertilité liée à l'endométriose, ces kystes ayant un impact remarquable sur le fonctionnement ovarien et la réserve ovarienne.

A terme, la compréhension des mécanismes qui permettent à ces contaminants de promouvoir l'apparition et/ou le développement de l'endométriose sera primordiale afin de mettre en place des stratégies préventives pouvant réduire l'impact de l'exposition à ces substances toxiques.

En terme de perspectives, une étude plus précise des modes d'action connus et communs à différentes substances pourrait servir de base à l'élaboration de marqueurs regroupant plusieurs composés avec une cohérence sur le plan toxicologique pour tenter de faire ressortir un lien qui n'apparaitrait pas avec chaque composé pris individuellement. Une approche purement guidée par les données (dite data driven) consistant à construire et tester différentes associations de contaminants est une voie évoquée aujourd'hui comme levier permettant d'accéder à ces effets de mélange (i.e. additivité, synergisme, antagonisme), qui pourrait être engagée sur la base de notre tableau de données d'exposition. L'inclusion des contaminants non persistants notamment de type phtalates et bisphénols pourrait être également considérées dans des travaux futurs.

Par ailleurs, il serait intéressant et utile de pousser plus loin la recherche non seulement des composés parents mais des éventuels métabolites de polluants organiques persistants biologiquement actifs (par exemple hydroxylés) pour compléter encore plus finement la liste de marqueurs d'exposition spécifiques avec des formes le cas échéant peut-être plus directement associées à l'effet observé.

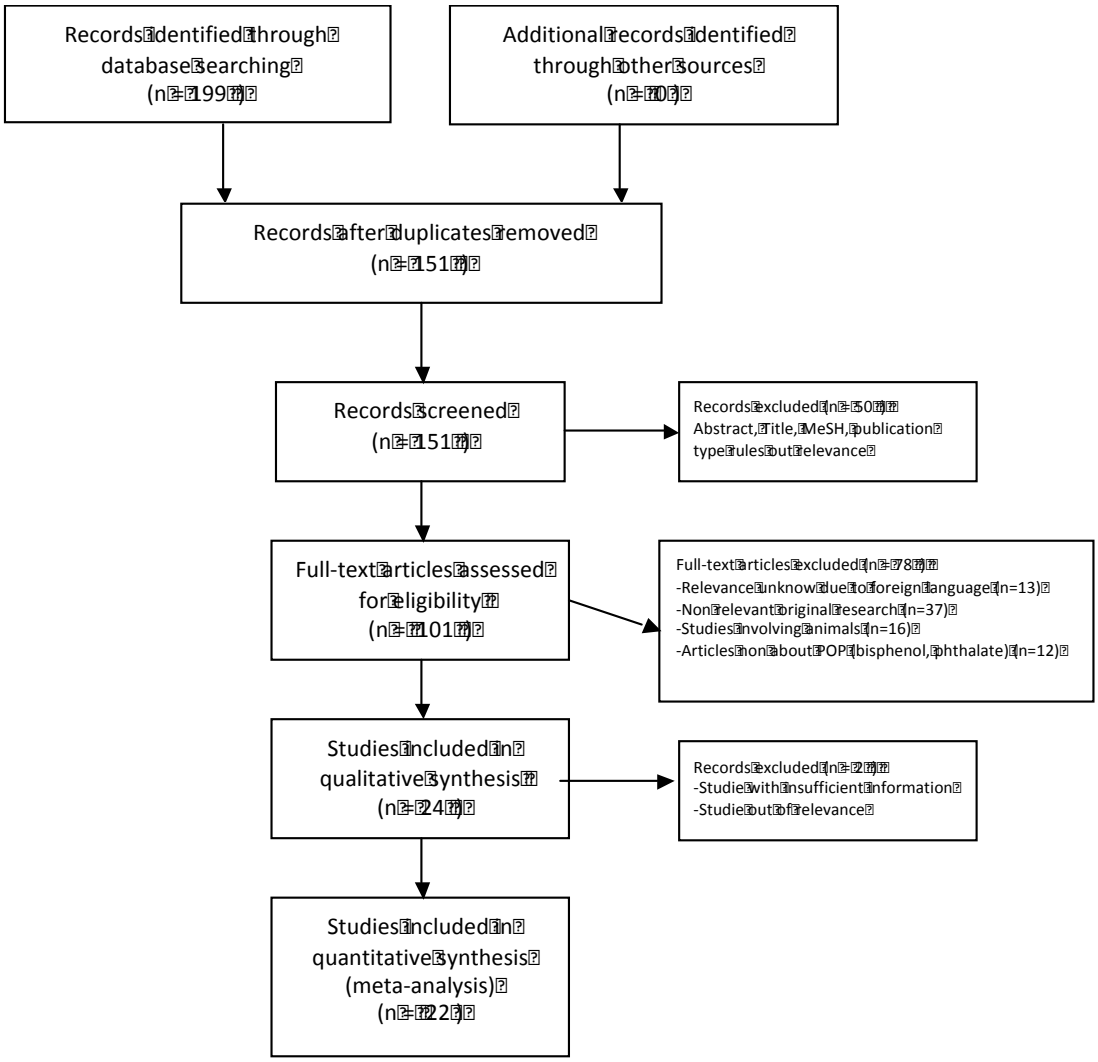
Une seconde perspective serait d'envisager un profilage qualitatif et quantitatif des principaux récepteurs nucléaires chez ces patientes afin de tenter d'identifier plus précisément les mécanismes d'action des contaminants organiques persistants. On pourrait ainsi envisager des différences quantitatives ou qualitatives de récepteurs chez certaines patientes, pouvant favoriser leur interaction avec certains ligands et favoriser ainsi l'apparition ou le développement de la maladie endométriosique. L'interaction ligand-récepteur peut être envisagée comme un processus en trois étapes dont chacune peut faire l'objet de mesures (Marty et al. 2011). Il s'agit de l'affinité (force de l'interaction), de l'efficacité (conversion du récepteur dans sa forme active) et de la potentialité (réponse finale mesurée). En fonction de la réponse qu'ils produisent, les ligands peuvent se comporter de différentes façons et il est possible que chez certaines patientes, ces étapes, peut-être déterminées par un profil génétique particulier, aboutissent à une susceptibilité particulière à développer de l'endométriose.

D'autre part, il peut être envisagé une potentialisation de l'effet de certains contaminants, liée à l'activation d'autres récepteurs. Les mécanismes d'interactions entre ces récepteurs (cross-talk) doivent être pris en considération de manière à mieux intégrer les effets de mélange et mieux comprendre les effets observés.

Enfin, il serait utile d'accompagner ces données d'exposition chimique par un bilan des caractéristiques clinico-biologiques des patientes, incluant par exemple un dosage sérique de l'hormone anti-müllérienne et une quantification des follicules antraux, mais surtout une caractérisation du stéroïdome (concentrations des différentes hormones stéroïdes naturelles estrogènes, androgènes et progestagènes), afin de mieux appréhender les conséquences biologiques de l'exposition et in fine leur traduction clinique.

7 ANNEXES

Annexe 1 : Flow Chart



Annexe 2 : Caractéristiques des études observant une association entre les niveaux d'exposition observés aux dioxines et PCB et l'endométriose

Publication	Type d'étude	Effectifs	Critères d'inclusion Méthode diagnostique	Milieu mesuré	Appariement / Ajustement	Polluants étudiés	Limites de l'étude	Résultats	Significativité
Mayani et al. (1997)	Cas-témoins	79 patientes - Cas: 44 femmes infertiles avec endométriose - Témoins: 35 femmes avec infertilité d'origine tubaire.	-Laparoscopie dans les deux groupes Même résidence depuis au moins 10 ans Cas : endométriose confirmée Témoins : absence d'endométriose	Sang	-Appariement sur l'âge et le statut socio-économique -BMI similaire dans les 2 groupes	2,3,7,8-TCDD	Pas d'appariement sur l'origine géographique et l'allaitement	-18% des cas étaient dioxine positifs vs 3% dans le groupe témoin -Pas de corrélation avec la sévérité de l'endométriose (AFS)	P=0,04 ; OR :7,6 (95% CI 0,87-169,7)
Heilier et al. (2004)	Cas-témoins	27 patientes -cas: 17 (endométriose péritonéale: 7 ; endométriose profonde : 10) -témoins: 10	Cas : Laparoscopie Témoins : Examen clinique normal, absence d'infertilité et de douleur pelvienne, échographie normale, CA125<35U/ml	Serum	Age et BMI similaires dans les 3 groupes Pas de différences en terme de paramètres nutritionnels et environnementaux	PCB	-Absence de laparoscopie dans le groupe témoin. -Pas d'ajustement sur l'allaitement	Niveaux d'exposition significativement plus important chez les patientes avec endométriose profonde par rapport aux patientes avec endométriose péritonéale et patientes témoins	P=0,024
Heilier et al. (2005)	Cas-témoins	71 patientes : -Cas: 50 (25 endométriose profonde, 25 endométriose péritonéale) -Témoins: 21	Cas : Laparoscopie Témoins: Examen clinique normal, absence d'infertilité et de douleur pelvienne, échographie normale, CA125<35U/ml	Serum	Pas de différence entre les 2 groupes en terme d'âge, de BMI, d'âge lors des ménarches, de prise cumulée de contraceptifs oraux, de tabagisme, de nombre de fausse couche, de durée cumulée d'allaitement	7 PCDDs, 10 PCDFs, 12 dl-PCBs	-Absence de laparoscopie dans le groupe témoin. -Absence d'appariements	-Niveaux d'exposition significativement plus important chez les patientes avec endométriose profonde par rapport aux patientes témoins. -Niveaux d'exposition légèrement plus élevés chez les cas avec endométriose péritonéale par rapport aux témoins.	Endométriose profonde OR= 3,3 (95%CI=1,4-7,6) ; Dioxine seule OR 7,7 (95%CI=1,2-30,1) Endométriose péritonéale OR= 1.9 (95% CI= 0.9–3.8) ; Dioxine seuls OR 3,2 (95%CI=1,0-9,9)
Buck Louis et al. (2005)	Cas-témoins	84 patientes -Cas: 32 (AFSr score) -Témoins: 52	Laparoscopie dans les deux groupes -Cas : endométriose -Témoins: Ligatures tubaires, absence d'endométriose lors de la laparoscopie	Serum	Ajustement sur la gestité, le tabagisme	62 PCBs	Absence d'appariement	-Risque 3 fois plus élevé d'endométriose observé dans le 3ème tertile de concentrations pour les PCB anti-oestrogéniques. -Pas d'association pour les PCB oestrogéniques. -Pas de corrélation avec la sévérité de l'endométriose (AFS)	OR : 3,77 (95%CI 1,12-12,68) ; Après ajustement sur gestité et tabagisme: OR : 3,3 (95%CI 0,87-12,46)

Publication	Type d'étude	Effectifs	Critères d'inclusion Méthode diagnostique	Milieu mesuré	Appariement / Ajustement	Polluants étudiés	Limites de l'étude	Résultats	Significativité
Porpora et al. (2006)	Cas-témoins	80 patientes -Cas: 40 -Témoins: 40	Laparoscopie dans les deux groupes. Patientes nullipares, âge 20-40 ans, absence de maladie chronique -Cas : endométriose -Témoins: autres pathologies gynécologiques bénignes (GEU, fibromes, masses annexielles bénignes)	Sang	-Pas de différence en terme de BMI. -Ajustement sur l'âge et le tabagisme	dl-PCB, ndl-PCB	-Absence d'appariement -Pas d'ajustement sur l'allaitement -Choix des témoins (fibromes)	Augmentation des concentrations des dl-PCB et ndl-PCB chez les cas	OR pour le tertile supérieur : 4,0 (95%CI 1,3-13) P=0,0003
Reddy et al. (2006)	Cas-témoins	220 patientes infertiles -Cas : 85 -Témoins : 135	Laparoscopie dans les deux groupes -Cas : endométriose -Témoins : Ligature tubaire. Absence d'endométriose visualisée	Plasma	Pas de différence significative en terme d'âge, de BMI, d'âge lors des ménarches et de durée d'infertilité	PCB	-Pas d'ajustement sur l'allaitement -Absence d'appariement	-Concentrations élevées en dl- et nd-PCB (1, 5, 29, 98) chez les cas par rapport aux témoins -Augmentation en rapport avec la sévérité de la maladie (AFSr)	P<0,005
Porpora et al. (2009)	Cas-témoins	158 patientes -Cas : 80 -Témoins : 78	-Laparoscopie dans les deux groupes -Patientes nullipares sans pathologies immunologiques ou hormonales, sans histoire d'exposition antérieure aux PCB et pesticides -Cas : endométriose -Témoins : Absence de douleurs pelviennes ou d'infertilité. Absence d'endométriose lors de la laparoscopie	Serum	-Pas de différence entre cas et témoins en terme de parité, de modification de poids depuis 5 ans, d'âge lors des ménarches, de tabagisme, d'allaitement -Ajustement sur l'âge, le BMI, une modification récente de BMI et le tabagisme	DR-CALUX (2,3,7,8-TCDD, PCDF, dl-PCB)	-Age et BMI significativement différents entre les 2 groupes à l'inclusion -Absence d'appariement	Association significative entre le taux sérique de PCB et le risque d'endométriose.	dl-PCB-118: OR 3,79 (95%CI=1,61–8,91) ndl-PCB-138: OR 3,78 (95%CI=1,60–8,94) ndl-PCB-153: OR 4,88 (95%CI=2,01–11,0) ndl-PCB-170 : OR 3,52 (95%CI=1,41–8,79) Sum dl-PCBs + ndl-PCBs OR 5,63 (95%CI=2,25–14,10)

Publication	Type d'étude	Effectifs	Critères d'inclusion Méthode diagnostique	Milieu mesuré	Appariement / Ajustement	Polluants étudiés	Limites de l'étude	Résultats	Significativité
Simsa et al. (2010)	Cas-témoins	201 patientes infertiles : -Cas : 96 -Témoins : 105	-Laparoscopie dans les deux groupes -Cas : Endométriose AFSr 1 : 24 AFSr 2 : 24 AFSr 3 : 24 AFSr 4 : 24 -Témoins: absence d'endométriose à la laparoscopie	Plasma	-Pas de différence en terme d'âge dans les différents groupes. -Ajustement exclusivement sur l'âge	DR-CALUX : PCBs, PCDDs, PCDFs	Absence d'appariement ou d'ajustement sur des variables autres que l'âge	Les patientes présentant des concentrations plasmatiques élevées de contaminants 'dioxin-like' ont un risque plus élevé d'avoir de l'endométriose que les patientes présentant des concentrations faibles	Groupe avec taux élevés de 'dioxin-like'compounds (>75th centile) OR : 2.44 (95%CI 1,04–5,70) *p=0,04* Patientes avec endométriose stade 3 et 4, OR : 3,01 (95%CI 1,06-9,04) *p=0,03*
Cai et al. (2011)	Cas-témoins	17 patientes infertiles : -Cas : 10 -Témoins : 7	Laparoscopie dans les deux groupes	Serum et liquide péritonéal	Pas de différence significative en terme d'âge, de BMI, de parité et de tabagisme	7 PCDDs, 10 PCDFs, 12 dioxin-like PCBs	-Absence d'appariement -Pas de prise en compte de l'allaitement dans l'ajustement -Pas de prise en compte de la sévérité de l'endométriose	-La présence de PCDDs et PCDFs dans le liquide péritonéal est significativement associée à l'endométriose -Concentrations en PCDFs et dl-PCB plus élevées dans le liquide péritonéal que dans le serum	Liquide péritonéal : OR: 2.5 (95%CI 1.17–5.34), *P=0.035*,
Martinez-Zamora et al. (2015)	Cas-témoins	60 patientes -Cas: 30 -Témoins: 30	-Laparoscopie dans les deux groupes -nullipares, BMI normal -cas : endométriose profonde -Témoins: Pathologies annexielles bénignes. Absence d'endométriose lors de la laparoscopie	Tissu adipeux épiploïque	Pas de différence significative en terme d'âge, de BMI et de tabagisme	7 PCDDs, 10 PCDFs, 12 dl-PCBs	-Absence d'appariement entre les 2 groupes	Concentrations en dioxines et PCB significativement plus élevées chez les cas par rapport aux témoins	TCDD, OR : 1,41(95%CI 1,12-2,10) *p<0,01* 1,2,3,7,8-TCDD, OR : 1,41 (95%CI 1,12-2,10) *p<0,01* 1,2,3,7,8-PeCDD, OR : 1,82 (95%CI 1,36-7,14) *p<0,01* 2,3,4,7,8-PeCDF, OR : 1,94 (95%CI 1,27-5,16) *p<0,001* PCB126, OR :1,89 (95%CI 1,21-2,25) p<0,01 PCB114, OR :2,24 (95%CI 1,41-7,31) *p<0,05* PCB156, OR :3,26 (OR95%CI 1,98-6,15) *p<0,05*

Annexe 3 : Caractéristiques des études n'observant pas d'association entre les niveaux d'exposition observés aux dioxines et PCB et l'endométriose

Publication	Type d'étude	Effectif	Critères d'inclusion Méthode diagnostique	Milieu mesuré	Appariement / Ajustement	Polluants étudiés	Limites de l'étude	Résultats	Significativité
Lebel et al. (1998)	Cas-témoins	156 patientes -Cas : 86 -Témoins: 70	Laparoscopie dans les deux groupes pour douleurs pelviennes chroniques, infertilité ou stérilisation -cas : endométriose -témoins : Absence d'endométriose lors de la laparoscopie	Plasma	-Pas de différence entre les 2 groupes en terme d'âge, de BMI, d'allaitement, de prise de contraception estro-progestative, de tabagisme, de consommation de poisson et d'éducation. -Appariement sur l'indication de la laparoscopie seulement	14 dl- et ndl-PCB	Appariement insuffisant	Pas d'association entre l'exposition et l'endométriose	Pas d'association significative
Pauwels et al. (2001)	Cas-témoins	69 patientes infertiles -cas : 42 -témoins: 27	Laparoscopie dans les deux groupes -cas : endométriose AFSr 1 : 21 AFSr 2 : 7 AFSr 3 : 10 AFSr 4 : 4 -témoins : absence d'endométriose lors de la laparoscopie (facteurs tubaires ou utérins)	Serum	-Pas de différence entre les 2 groupes en terme d'âge, de BMI, de tabagisme, de consommation d'alcool et de caféine, d'antécédent de dysovulation -Ajustement sur le BMI et la consommation d'alcool	CALUX bioassay Dioxines et dl-PCB	-Absence d'appariement -Pas d'ajustement sur l'allaitement	Pas d'association entre l'exposition et l'endométriose	-OR 4,33 (95%CI=0,49–38,19 ; *NS*) -Après ajustement sur le BMI et la consommation d'alcool, OR 4,6 (95%CI=0,48–43,62; *NS*)
Eskenazy et al. (2002)	Etude de cohorte (exposition accidentelle, Seveso, 1976)	296 patientes : -Cas : 19 -Témoins : 277	-Age : <30 ans en 1976, -Même lieu de résidence -Cas : 14 confirmés par la chirurgie, 5 diagnostiqués par échographie -Témoins : 277 238 : absence de signe à l'examen clinique ou absence de symptôme évocateurs d'endométriose (douleur ou infertilité) 39 : absence d'endométriose lors de la chirurgie	Serum (prélevés entre 1976 et 1980)	Ajustement sur l'âge	2,3,7,8-TCDD	-Peu de cas -Pas de chirurgie pour toutes les patientes (notamment les cas)	Pas d'association entre l'exposition et l'endométriose	RR : serum 20,1-100 ppt TCDD =1,2 (90%CI 0,3-4,5) ; >100 ppt TCDD= 2,1 (90%CI 0,5-8,0)

Publication	Type d'étude	Effectif	Critères d'inclusion Méthode diagnostique	Milieu mesuré	Appariement / Ajustement	Polluants étudiés	Limites de l'étude	Résultats	Significativité
Fierens et al. (2003)	Etude de cohorte	142 patientes participant à une étude évaluant la concentration de polluants dans la population générale - Cas : 10 - Témoins : 132	Patientes résidant dans la même région depuis longtemps	Serum	-Pas de différence entre des 2 groupes en terme d'âge et de BMI -Ajustement sur l'âge, le BMI, une modification récente du poids, un tabagisme, la consommation de poissons	7 PCDDs, 10 PCDFs, 16 dl- et ndl-PCB	-Peu de cas -Absence d'appariement	Pas d'association entre l'exposition et l'endométriose	Pas d'association significative
De Felip et al. (2004)	Cas-témoins	- 22 patientes italiennes (cas : 10 ; témoins : 12) ; - 18 patientes belges (cas :7 ; témoins : 11)	-Laparoscopie dans les deux groupes -Patientes nullipares sans maladie chronique et d'exposition professionnelle à des contaminants Cas : endométriose Témoins: masse annexielle bénigne, absence d'endométriose	Serum	Absence d'appariement ou d'ajustement	7 PCDDs, 10 PCDFs, 12 dl-PCBs	Absence d'appariement ou d'ajustement	Pas d'association entre l'exposition et l'endométriose	Pas d'association significative
Tsukino et al. (2005)	Cas-témoins	139 patientes infertiles -Cas : 58 -Témoins: 81 (fibromes, OPK, problème tubaire)	-Laparoscopie dans les deux groupes -Patientes nullipares -Cas: endométriose AFSr II, III and IV -Témoins: endométriose AFSr 0 and I	Serum	-Pas de différence en terme d'âge, de tabagisme, d'âge lors des ménarches, de consommation d'alcool -Ajustement ? (Résultats non détaillés)	7 PCDDs 9 PCDFs 32 PCBs	-Présence de stade AFSr I dans le groupe témoin -Fibromes dans le groupe témoins	-TEQ PCDD total significativement plus élevé dans le groupe témoin que dans le groupe cas -Pas de différence en terme d'OR par quartile des niveaux sériques totaux de PCDDs/PCDFs/cPCBs/PCBs	P=0,02 OR : 0,38 (95%CI=0,12–1,17) pour le 3ème quartile OR : 0,41 (95%CI=0,14–1,27) pour le 4ème quartile

	Type d'étude	Effectif	Critères d'inclusion Méthode diagnostique	Milieu mesuré	Appariement / Ajustement	Polluants étudiés	Limites de l'étude	Résultats	Significativité
Hoffman et al. (2007)	Etude de cohorte (Michigan Female Health study)	943 patientes -Cas : 79 (self-reported) -Témoins : 864	> 18 ans	Serum prélevés en 1970	-Pas de différence en terme d'âge, de BMI, de niveaux d'éducation -Ajustement sur l'âge	PCBs quantifié par Aroclor 1254	-Faible effectif de cas inclu (self-reported) -Diagnostic médical d'endométriose chez 46 patientes uniquement. Seulement 37 diagnostics d'endométriose portés par la laparoscopie -Pas d'élément médicaux dans le groupe témoin permettant de s'assurer de l'absence d'endométriose -Pas d'ajustement sur la parité, sur l'allaitement	Pas d'association significative entre l'exposition et l'endométriose	Exposition à des niveaux modérés de PCB : HR 1,67 (95%CI 0,91-3,10) *NS* Exposition à des niveaux élevés de PCB: HR 1,68 (95%CI 0,95-2,98) *NS*
Niskar et al. (2009)	Cas-témoins	90 patientes infertiles -Cas : 60 -Témoins : 30	-Laparoscopie dans les deux groupes -Patientes nullipares -Cas : endométriose -Témoins : absence d'endométriose	Serum	-Pas de différence en terme d'âge, d'origine ethnique, de niveau d'éducation, de revenu, de BMI, de tabagisme, de consommation de poisson et de diagnostic de fibrome -Ajustement sur l'âge, le revenu, le niveau d'éducation, la parité	3 PCDDs, 2 PCDFs, 2 dl-PCBs, 3 ndl-PCBs	Absence d'appariement	Pas d'association entre l'exposition et l'endométriose	
Trabert et al. (2010)	Etude de cohorte (WREN)	789 patientes -Cas : 251 -Témoins : 538	Laparoscopie dans les deux groupes -Cas : endométriose -Témoins : questionnaire	Serum	-Appariement sur l'âge (+/- 5 years) -Pas de différence en terme de BMI, d'origine géographique, de niveau d'éducation, de revenus, d'activité physique, d'allaitement	34 ndl-PCB	Pas de laparoscopie dans le groupe témoins (faux négatifs)	Association inverse statistiquement significative pour les PCBs 170, 196, et 201 Niveau de consommation d'alcool plus élevé dans le groupe cas que dans le groupe témoin	

Publication	Type d'étude	Effectif	Critères d'inclusion Méthode diagnostique	Milieu mesuré	Appariement / Ajustement	Polluants étudiés	Limites de l'étude	Résultats	Significativité
Buck Louis et al. (2012)	Etude de cohorte	Cohorte "chirurgie" : 495 (41% d'endométriose confirmée par la chirurgie) Cohorte "non chirurgie": 131 (Incidence d'endométriose confirmée à l'IRM: 11%)	Cohorte "chirurgie" : Endométriose lors de la laparoscopie Cohorte "non chirurgie" : Endométriose suspectée à l'IRM	-"Cohorte chirurgie" : Tissu adipeux épiploïque + serum -"Cohorte non chirurgie" : Serum	Ajustement sur l'âge, le BMI, l'allaitement, le tabagisme, le lieu de résidence Pas de différence en terme d'âge, de BMI, d'allaitement, de parité, de tabagisme	34 ndl-PCB	Absence de laparoscopie dans l'un des groupe	-Concentrations plus élevées dans le tissu adipeux que dans le serum -PCB-74 et PCB-156 mesurés dans le tissu adipeux inversement associés à la probabilité d'endométriose dans la cohorte chirurgie	PCB 74 :OR :0.72 (95%CI 0.55, 0.93) PCB 156 :OR :0.74 (95%CI 0.57, 0.96)

Annexe 4 : Caractéristiques des études observant une association entre les niveaux d'exposition observés aux pesticides organochlorés et l'endométriose

_

Publication	Type d'étude	Effectifs	Critères d'inclusion Méthode diagnostique	Milieu mesuré	Appariement / Ajustement	Polluants étudiés	Limites de l'étude	Résultats	Significativité
Upson et al. (2013)	Etude de cohorte cas-témoins (WREN study)	786 patientes -Cas : 248 -Témoins: 538	-Cas : Laparoscopie confirmant le diagnostic d'endométriose -Témoins : Patientes sans endométriose sélectionnées à partir de la base de données « computerized Group Health enrollment »	Serum	Ajustement sur la parité et l'allaitement (< ou > à 6 mois)	-HCH, -HCH, heptachlor epoxide, oxychlordane, trans-nonachlor, pp'DDT, op'DDT, pp'DDE, dieldrin, HCB, mirex	-Base de données -Absence de laparoscopie chez toutes les patientes (risque de sous-estimation des cas)	Association positive pour β-HCH et mirex avec l'endométriose	β-HCH : OR pour le 3ème vs le 1er quartile 1,7 (95%CI=1,0-2,8) β-HCH pour l'endométriose ovarienne seule : OR pour le dernier quartile vs le 1er: 2.5 (95%CI =1.1, 5.3) Mirex : OR pour le dernier tertile vs le 1er :1.5 (95%CI=1.0, 2.2)
Cooney et al. (2010)	Cas-témoins	84 patientes -Cas : 32 -Témoins : 52	Laparoscopie dans les deux groupes -Cas : endométriose -Témoins : absence d'endométriose lors de la laparoscopie	Serum	Ajustement sur le tabagisme	Aldrin, β-HCH -BHC, mirex, trans-nonachlor, HCB, DDE	-Pas d'ajustement sur la parité ni l' -Pas d'information sur les indications de laparoscopie -design observationnel	Association significative pour les fungicides aromatiques, trans-nonachlore et HCB	HCB : OR pour le tertile supérieur : 6.4 (95%CI =1.0–42.8) Trans-nonachlor OR pour le tertile supérieur : 4.6 (95%CI=0.5–41.6)
Porpora et al. (2009)	Case-control	158 patientes -Cas : 80 -Témoins : 78	-Laparoscopie dans les deux groupes -Patientes nullipares sans pathologies immunologiques ou hormonales, sans histoire d'exposition antérieure aux PCB et pesticides -Cas : endométriose -Témoins : Absence de douleurs pelviennes ou d'infertilité. Absence d'endométriose lors de la laparoscopie	Serum	-Pas de différence entre cas et témoins en terme de parité, de modification de poids depuis 5 ans, d'âge lors des ménarches, de tabagisme, d'allaitement -Ajustement sur l'âge, le BMI, une modification récente de BMI et le tabagisme	HCB, pp'DDE	-Age et BMI significativement différents entre les 2 groupes à l'inclusion -Absence d'appariement	Association significative entre le taux sérique de p,p'-DDE et le risque d'endométriose	P=0,01
Buck Louis et al. (2012)	Etude de cohorte	Cohorte "chirurgie" : 495 (41% d'endométriose confirmée par la chirurgie) Cohorte "non chirurgie": 131 (Incidence d'endométriose confirmée à l'IRM: 11%)	Cohorte "chirurgie" : Endométriose lors de la laparoscopie Cohorte "non chirurgie" : Endométriose suspectée à l'IRM	-"Cohorte chirurgie" : Tissu adipeux épiploïque + serum -"Cohorte non chirurgie" : Serum	Ajustement sur l'âge, le BMI, l'allaitement, le tabagisme, le lieu de résidence Pas de différence en terme d'âge, de BMI, d'allaitement, de parité, de tabagisme	HCB, -HCH, -HCH,oxychlordane, c-nonachlor, t-nonachlor, c-chlordane, t-chlordane, pp'DDT, pp'DDE, op'DDT	Absence de laparoscopie dans l'un des groupe	-Concentrations plus élevées dans le tissu adipeux que dans le serum - HCH seul polluant significativement associé à l'endométriose dans la cohorte chirurgie - -HCH seul polluant significativement associé à l'endométriose dans la cohorte non chirurgie	-HCH : OR 1,27(95%CI 1,01-1,59) -HCH : OR 1,72(95%CI 1,09-2,72)

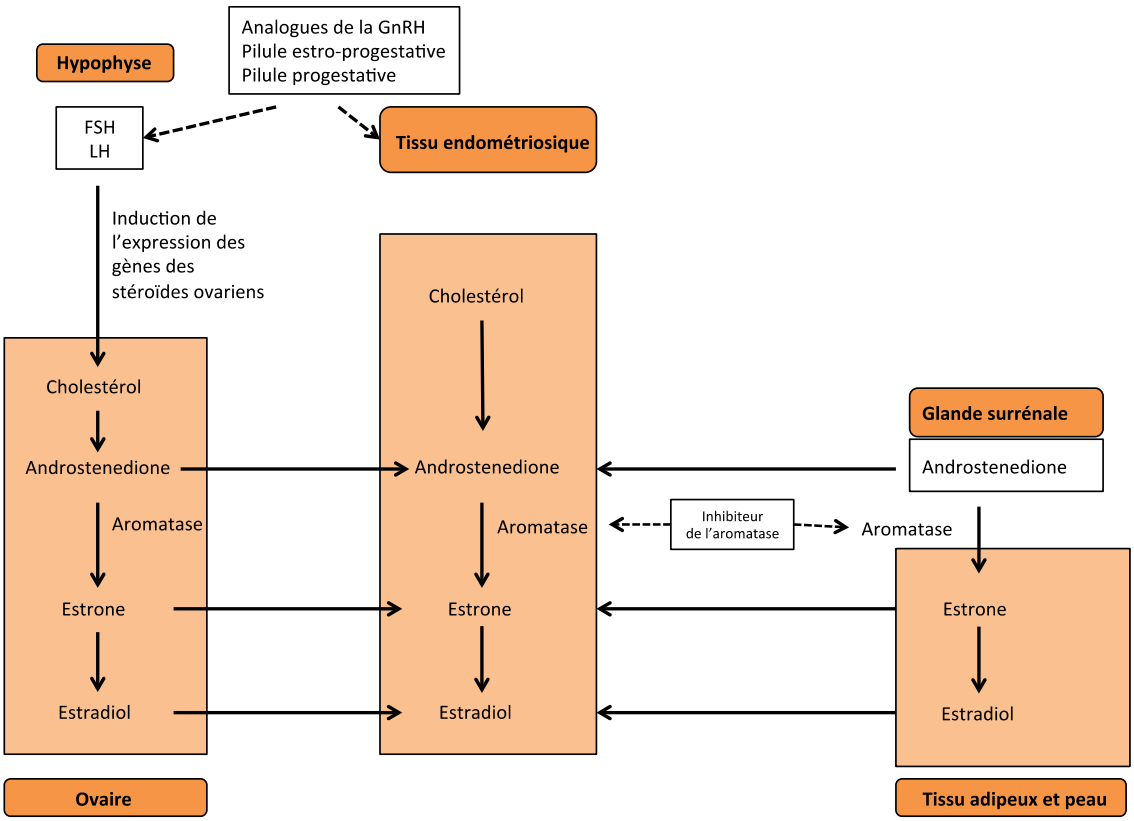
Annexe 5 : Caractéristiques des études n'observant pas d'association entre les niveaux d'exposition observés aux pesticides organochlorés et l'endométriose

Publication	Type d'étude	Effectif	Critères d'inclusion Méthode diagnostique	Milieu mesuré	Appariement / Ajustement	Polluants étudiés	Limites de l'étude	Résultats	Significativité
Lebel et al. (1998)	Cas-témoins	156 patientes -Cas : 86 -Témoins: 70	Laparoscopie dans les deux groupes pour douleurs pelviennes chroniques, infertilité ou stérilisation -cas : endométriose -témoins : Absence d'endométriose lors de la laparoscopie	Plasma	-Pas de différence entre les 2 groupes en terme d'âge, de BMI, d'allaitement, de prise de contraception estro-progestative, de tabagisme, de consommation de poisson et d'éducation. -Appariement sur l'indication de la laparoscopie seulement	a-chlordane, g-chlordane, pp'DDD, pp'DDT, aldrin, bHCH, HCB, Mirex, Oxychlordane, c-nonachlor, t-nonachlor	Appariement insuffisant	Pas d'association entre l'exposition et l'endométriose	Pas d'association significative
Tsukino et al. (2005)	Cas-témoins	139 patientes infertiles -Cas : 58 -Témoins: 81 (fibromes, OPK, problème tubaire)	-Laparoscopie dans les deux groupes -Patientes nullipares -Cas: endométriose AFSr II, III and IV -Témoins: endométriose AFSr 0 and I	Serum	-Pas de différence en terme d'âge, de tabagisme, d'âge lors des ménarches, de consommation d'alcool -Ajustement ? (Résultats non détaillés)	HCB, b-HCH, d-HCH, heptachlor epoxide, oxychlordane, t-nonachlor, pp'DDE, dieldrin, op'DDT, pp'DDT, mirex	-Présence de stade AFSr I dans le groupe témoin -Fibromes dans le groupe témoins	Pas d'association entre l'exposition et l'endométriose	Pas d'association significative
Niskar et al. (2009)	Cas-témoins	90 patientes infertiles -Cas : 60 -Témoins : 30	-Laparoscopie dans les deux groupes -Patientes nullipares -Cas : endométriose -Témoins : absence d'endométriose	Serum	-Pas de différence en terme d'âge, d'origine ethnique, de niveau d'éducation, de revenu, de BMI, de tabagisme, de consommation de poisson et de diagnostic de fibrome -Ajustement sur l'âge, le revenu, le niveau d'éducation, la parité	pp'DDE	Pas d'appariement	Pas d'association entre l'exposition et l'endométriose	Pas d'association significative

Annexe 6 : Caractéristiques des études cherchant un lien entre les niveaux d'exposition internes aux retardateurs de flammes bromés et l'endométriose

Publication	Type d'étude	Effectif	Critères d'inclusion Méthode diagnostique	Milieu mesuré	Appariement / Ajustement	Polluants étudiés	Limites de l'étude	Résultats	Significativité
Hoffman et al. (2007)	Etude de cohorte (Michigan Female Health study)	943 patientes -Cas : 79 (self-reported) -Témoins : 864	> 18 ans	Serum prélevés en 1970	-Pas de différence en terme d'âge, de BMI, de niveaux d'éducation -Ajustement sur l'âge	6-BDE (hexabromodiphényle)	-Faible effectif de cas inclus (self-reported) -Diagnostic médical d'endométriose chez 46 patientes uniquement. 37 diagnostic d'endométriose seulement portés par la laparoscopie -Pas d'élément médicaux dans le groupe témoin permettant de s'assurer de l'absence d'endométriose -Pas d'ajustement sur la parité, sur l'allaitement	Absence de corrélation entre les niveaux d'exposition interne aux PBB et l'endométriose	Comparé aux patientes avec faibles niveaux d'exposition aux PBB (≤ 1 ppb), patientes avec niveaux d'exposition modérés aux PBB (1–4 ppb) HR= 0.72 (95%CI, 0.39–1.31) et patientes avec niveaux d'exposition importants aux PBB (≥ 4 ppb) (HR = 0.90; 95% CI, 0.51– 1.59)
Buck Louis et al. (2012)	Etude de cohorte	Cohorte "chirurgie" : 495 (41% d'endométriose confirmée par la chirurgie) Cohorte "non chirurgie": 131 (Incidence d'endométriose confirmée à l'IRM: 11%)	Cohorte "chirurgie" : Endométriose lors de la laparoscopie Cohorte "non chirurgie" : Endométriose suspectée à l'IRM	-"Cohorte chirurgie" : Tissu adipeux épiploïque + serum -"Cohorte non chirurgie" : Serum	Ajustement sur l'âge, le BMI, l'allaitement, le tabagisme, le lieu de résidence Pas de différence en terme d'âge, de BMI, d'allaitement, de parité, de tabagisme	PBDE congénères 47, 99, 100, 153, 154, et 209	Absence de laparoscopie dans l'un des groupe	-Concentrations plus élevées dans le tissu adipeux que dans le serum -PBDE-47 mesurés dans le tissu adipeux inversement associés à la probabilité d'endométriose dans la cohorte chirurgie	OR : 0.70 (0.55, 0.90)

Annexe 7 : Source d'estradiol dans le tissu endométriosique



Les trois sources d'estradiol dans le tissu endométriosique
La première source est liée aux gonadotrophines d'origine hypophysaire. Cette sécrétion d'estradiol peut être freinée par l'administration d'agonistes de la GnRH, d'une pilule estro-progestative ou progestative. La seconde source est liée à l'activité de l'aromatase dans le tissu adipeux et la peau. La troisième est la production locale d'estradiol au sein du tissu endométriosique (d'après Bulun, 2009)

Annexe 8 : Liste des contaminants organiques persistants recherchés au cours de l'étude

Dioxines	Polychlorodibenzodioxines (**PCDD**) (en pg/g de MG)	2.3.7.8 - TCDD 1.2.3.7.8 - PeCDD 1.2.3.4.7.8 - HxCDD 1.2.3.6.7.8 - HxCDD 1.2.3.7.8.9 - HxCDD 1.2.3.4.6.7.8- HpCDD OCDD
	Polychlorodibenzofuranes (**PCDF**) (en pg/g de MG)	2.3.7.8 - TCDF 1.2.3.7.8 - PeCDF 2.3.4.7.8 - PeCDF 1.2.3.4.7.8 - HxCDF 1.2.3.6.7.8 - HxCDF 1.2.3.7.8.9 - HxCDF 2.3.4.6.7.8 - HxCDF 1.2.3.4.6.7.8 -HpCDF 1.2.3.4.7.8.9 -HpCDF OCDF

Polychlorobisphényles (PCBs)	Polychlorobisphényles "dioxin-like" (**dl-PCBs**) (en pg/g de MG)	PCB 77 PCB 81 PCB 126 PCB 169 PCB 105 PCB 114 PCB 118 PCB123 PCB 156 PCB 157 PCB 167 PCB 189
	Polychlorobisphényles "non dioxin-likes" (**ndl-PCBs**) (en ng/g de MG)	PCB 28 PCB 52 PCB 101 PCB 138 PCB 153 PCB 180

Retardateurs de Flamme polyBromés (RFBs)	Polybromodiphényléthers (**PBDE**) (en ng/g de MG)	PBDE 28 PBDE 47 PBDE 99 PBDE 100 PBDE 153 PBDE 154 PBDE 183
	Hexabromocyclododecane (**HBCD**) (en ng/g de MG)	a HBCD b HBCD g HBCD
	Polybromobiphényles **(PBB)** **(en** ng/g de MG)	PBB 52 PBB 101 PBB 153

Pestidides	**Pesticides Organochlorés (OCs)** (en ng/g de MG)	PeCBz α-HCH HCB β-HCH γ-HCH δ-HCH heptachlor aldrin oxychlordane cis-hept epox trans-hept epox γ-chlordane op-DDE α-chlordane α-endosulfan trans-nonachlor pp-DDE dieldrin op-DDD endrin β-endosulfan cis-nonachlor pp-DDD op-DDT endrin ald endosulfan-sulfate pp-DDT endrin cetone methoxychlor mirex

8 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Adgent, M. A., K. Hoffman, B. D. Goldman, A. Sjodin and J. L. Daniels (2014). "Brominated flame retardants in breast milk and behavioural and cognitive development at 36 months." Paediatr Perinat Epidemiol **28**(1): 48-57.

Allam, M. F. and R. A. Lucena (2001). "Breast cancer and PCBs: true or false association?" Eur J Cancer Prev **10**(6): 539-540.

Alliel, P. M., F. Rieger and D. Goudou (2010). "[Epigenome: the immersed part of the iceberg or the hidden face of pathologies]." Pathol Biol (Paris) **58**(6): e91-93.

Alvarez, L., A. Randi, P. Alvarez, G. Piroli, A. Chamson-Reig, V. Lux-Lantos and D. Kleiman de Pisarev (2000). "Reproductive effects of hexachlorobenzene in female rats." J Appl Toxicol **20**(1): 81-87.

Anaf, V., P. Simon, I. El Nakadi, I. Fayt, T. Simonart, F. Buxant and J. C. Noel (2002). "Hyperalgesia, nerve infiltration and nerve growth factor expression in deep adenomyotic nodules, peritoneal and ovarian endometriosis." Hum Reprod **17**(7): 1895-1900.

Andersen, H. R., A. M. Vinggaard, T. H. Rasmussen, I. M. Gjermandsen and E. C. Bonefeld-Jorgensen (2002). "Effects of currently used pesticides in assays for estrogenicity, androgenicity, and aromatase activity in vitro." Toxicol Appl Pharmacol **179**(1): 1-12.

Antignac, J. P., R. Cariou, D. Zalko, A. Berrebi, J. P. Cravedi, D. Maume, P. Marchand, F. Monteau, A. Riu, F. Andre and B. Le Bizec (2009). "Exposure assessment of French women and their newborn to brominated flame retardants: determination of tri- to deca- polybromodiphenylethers (PBDE) in maternal adipose tissue, serum, breast milk and cord serum." Environ Pollut **157**(1): 164-173.

Antignac, J. P., P. Marchand, C. Gade, G. Matayron, M. Qannari el, B. Le Bizec and F. Andre (2006). "Studying variations in the PCDD/PCDF profile across various food products using multivariate statistical analysis." Anal Bioanal Chem **384**(1): 271-279.

Aoki, D., Y. Katsuki, A. Shimizu, C. Kakinuma and S. Nozawa (1994). "Successful heterotransplantation of human endometrium in SCID mice." Obstet Gynecol **83**(2): 220-228.

Aris, A. and K. Paris (2010). "[Hypothetical link between endometriosis and xenobiotics-associated genetically modified food]." Gynecol Obstet Fertil **38**(12): 747-753.

Arisawa, K., H. Takeda and H. Mikasa (2005). "Background exposure to PCDDs/PCDFs/PCBs and its potential health effects: a review of epidemiologic studies." J Med Invest **52**(1-2): 10-21.

Aronson, K. J., A. B. Miller, C. G. Woolcott, E. E. Sterns, D. R. McCready, L. A. Lickley, E. B. Fish, G. Y. Hiraki, C. Holloway, T. Ross, W. M. Hanna, S. K. SenGupta and J. P. Weber (2000). "Breast adipose tissue concentrations of polychlorinated biphenyls and other organochlorines and breast cancer risk." Cancer Epidemiol Biomarkers Prev **9**(1): 55-63.

Arrebola, J. P., M. F. Fernandez, P. Martin-Olmedo, J. P. Bonde, J. L. Martin-Rodriguez, J. Exposito, A. Rubio-Dominguez and N. Olea (2015). "Historical exposure to persistent organic pollutants and risk of incident hypertension." Environ Res **138**: 217-223.

Arruda, M. S., C. A. Petta, M. S. Abrao and C. L. Benetti-Pinto (2003). "Time elapsed from onset of symptoms to diagnosis of endometriosis in a cohort study of Brazilian women." Hum Reprod **18**(4): 756-759.

Astiz, M., M. J. de Alaniz and C. A. Marra (2009). "Effect of pesticides on cell survival in liver and brain rat tissues." Ecotoxicol Environ Saf **72**(7): 2025-2032.

Attia, G. R., K. Zeitoun, D. Edwards, A. Johns, B. R. Carr and S. E. Bulun (2000). "Progesterone receptor isoform A but not B is expressed in endometriosis." J Clin Endocrinol Metab **85**(8): 2897-2902.

Balci, O., R. Karatayli and M. Capar (2008). "An incidental coexistence of Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser syndrome with pelvic ectopic kidney and perirenal endometrioma." Saudi Med J **29**(9): 1340-1341.

Ballester, M., P. Dehan, A. Beliard, G. Brichant and M. Nisolle (2012). "[Role of genetic and environmental factors in the development of endometriosis]." Rev Med Liege **67**(5-6): 374-380.

Beliard, A., A. Noel, F. Goffin, F. Frankenne and J. M. Foidart (2002). "Role of endocrine status and cell type in adhesion of human endometrial cells to the peritoneum in nude mice." Fertil Steril **78**(5): 973-978.

Beliard, A., A. Noel, F. Goffin, F. Frankenne and J. M. Foidart (2003). "Adhesion of endometrial cells labeled with 111Indium-tropolonate to peritoneum: a novel in vitro model to study endometriosis." Fertil Steril **79 Suppl 1**: 724-729.

Berkkanoglu, M. and A. Arici (2003). "Immunology and endometriosis." Am J Reprod Immunol **50**(1): 48-59.

Bichon, E., I. Guiffard, A. Venisseau, P. Marchand, J. P. Antignac and B. Le Bizec (2015). "Ultra-trace quantification method for chlordecone in human fluids and tissues." J Chromatogr A **1408**: 169-177.

Bois, F. Y. and B. Eskenazi (1994). "Possible risk of endometriosis for Seveso, Italy, residents: an assessment of exposure to dioxin." Environ Health Perspect **102**(5): 476-477.

Brandenberger, A. W., D. I. Lebovic, M. K. Tee, I. P. Ryan, J. F. Tseng, R. B. Jaffe and R. N. Taylor (1999). "Oestrogen receptor (ER)-alpha and ER-beta isoforms in normal endometrial and endometriosis-derived stromal cells." Mol Hum Reprod **5**(7): 651-655.

Bravi, F., F. Parazzini, S. Cipriani, F. Chiaffarino, E. Ricci, V. Chiantera, P. Vigano and C. La Vecchia (2014). "Tobacco smoking and risk of endometriosis: a systematic review and meta-analysis." BMJ Open **4**(12): e006325.

Brosens, I., S. Gordts and G. Benagiano (2013). "Endometriosis in adolescents is a hidden, progressive and severe disease that deserves attention, not just compassion." Hum Reprod **28**(8): 2026-2031.

Brosens, I. A. (1997). "Endometriosis--a disease because it is characterized by bleeding." Am J Obstet Gynecol **176**(2): 263-267.

Bruner-Tran, K. L., J. Gnecco, T. Ding, D. R. Glore, V. Pensabene and K. G. Osteen (2016). "Exposure to the environmental endocrine disruptor TCDD and human reproductive dysfunction: Translating lessons from murine models." Reprod Toxicol.

Buck Louis, G. M., Z. Chen, C. M. Peterson, M. L. Hediger, M. S. Croughan, R. Sundaram, J. B. Stanford, M. W. Varner, V. Y. Fujimoto, L. C. Giudice, A. Trumble, P. J. Parsons and K. Kannan (2012). "Persistent lipophilic environmental chemicals and endometriosis: the ENDO Study." Environ Health Perspect **120**(6): 811-816.

Bulun, S. E. (2009). "Endometriosis." N Engl J Med **360**(3): 268-279.

Bulun, S. E., K. M. Zeitoun, K. Takayama and H. Sasano (2000). "Molecular basis for treating endometriosis with aromatase inhibitors." Hum Reprod Update **6**(5): 413-418.

Busacca, M. and M. Vignali (2003). "Ovarian endometriosis: from pathogenesis to surgical treatment." Curr Opin Obstet Gynecol **15**(4): 321-326.

Cai, L. Y., S. Izumi, T. Suzuki, K. Goya, E. Nakamura, T. Sugiyama and H. Kobayashi (2011). "Dioxins in ascites and serum of women with endometriosis: a pilot study." Hum Reprod **26**(1): 117-126.

Cariou, R., J. P. Antignac, P. Marchand, A. Berrebi, D. Zalko, F. Andre and B. Le Bizec (2005). "New multiresidue analytical method dedicated to trace level measurement of brominated flame retardants in human biological matrices." J Chromatogr A **1100**(2): 144-152.

Carpenter, D. O., Y. Shen, T. Nguyen, L. Le and L. L. Lininger (2001). "Incidence of endocrine disease among residents of New York areas of concern." Environ Health Perspect **109 Suppl 6**: 845-851.

Chao, H. R., S. L. Wang, W. J. Lee, Y. F. Wang and O. Papke (2007). "Levels of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in breast milk from central Taiwan and their relation to infant birth outcome and maternal menstruation effects." Environ Int **33**(2): 239-245.

Cooney, M. A., G. M. Buck Louis, M. L. Hediger, A. Vexler and P. J. Kostyniak (2010). "Organochlorine pesticides and endometriosis." Reprod Toxicol **30**(3): 365-369.

Cooke,P.S., Tomomi, S., Buchanan and D.L. Buchanan (2001). Disruption of steroid hormone signaling by PCBs. In Recent Advances in Environmental Toxicology and Health Effects. Roberton LW and Hansen LG (eds). Lexington, KY, USA: The University of Kentucky, pp. 257-263.

Corsini, E., J. Liesivuori, T. Vergieva, H. Van Loveren and C. Colosio (2008). "Effects of pesticide exposure on the human immune system." Hum Exp Toxicol **27**(9): 671-680.

Costera, A., C. Feidt, P. Marchand, B. Le Bizec and G. Rychen (2006). "PCDD/F and PCB transfer to milk in goats exposed to a long-term intake of contaminated hay." Chemosphere **64**(4): 650-657.

Crain, D. A., S. J. Janssen, T. M. Edwards, J. Heindel, S. M. Ho, P. Hunt, T. Iguchi, A. Juul, J. A. McLachlan, J. Schwartz, N. Skakkebaek, A. M. Soto, S. Swan, C. Walker, T. K. Woodruff, T. J. Woodruff, L. C. Giudice and L. J. Guillette, Jr. (2008). "Female reproductive disorders: the roles of endocrine-disrupting compounds and developmental timing." Fertil Steril **90**(4): 911-940.

Cravedi, J. P., D. Zalko, J. F. Savouret, A. Menuet and B. Jegou (2007). "[The concept of endocrine disruption and human health]." Med Sci (Paris) **23**(2): 198-204.

Creusot, N., H. Budzinski, P. Balaguer, S. Kinani, J. M. Porcher and S. Ait-Aissa (2013). "Effect-directed analysis of endocrine-disrupting compounds in multi-contaminated sediment: identification of novel ligands of estrogen and pregnane X receptors." Anal Bioanal Chem **405**(8): 2553-2566.

De Felip, E., M. G. Porpora, A. di Domenico, A. M. Ingelido, M. Cardelli, E. V. Cosmi and J. Donnez (2004). "Dioxin-like compounds and endometriosis: a study on Italian and Belgian women of reproductive age." Toxicol Lett **150**(2): 203-209.

de Ziegler, D., B. Borghese and C. Chapron (2010). "Endometriosis and infertility: pathophysiology and management." Lancet **376**(9742): 730-738.

Denison, M. S., A. Pandini, S. R. Nagy, E. P. Baldwin and L. Bonati (2002). "Ligand binding and activation of the Ah receptor." Chem Biol Interact **141**(1-2): 3-24.

Dmowski, W. P., R. Lesniewicz, N. Rana, P. Pepping and M. Noursalehi (1997). "Changing trends in the diagnosis of endometriosis: a comparative study of women with pelvic endometriosis presenting with chronic pelvic pain or infertility." Fertil Steril **67**(2): 238-243.

Donnez, J., M. Nisolle, S. Gillerot, M. Smets, S. Bassil and F. Casanas-Roux (1997). "Rectovaginal septum adenomyotic nodules: a series of 500 cases." Br J Obstet Gynaecol **104**(9): 1014-1018.

Donnez, J., M. Nisolle and J. Squifflet (2002). "Ureteral endometriosis: a complication of rectovaginal endometriotic (adenomyotic) nodules." Fertil Steril **77**(1): 32-37.

Donnez, J., M. Smets, P. Jadoul, C. Pirard and J. Squifflet (2003). "Laparoscopic management of peritoneal endometriosis, endometriotic cysts, and rectovaginal adenomyosis." Ann N Y Acad Sci **997**: 274-281.

Donnez, J., A. Van Langendonckt, F. Casanas-Roux, J. P. Van Gossum, C. Pirard, P. Jadoul, J. Squifflet and M. Smets (2002). "Current thinking on the pathogenesis of endometriosis." Gynecol Obstet Invest **54 Suppl 1**: 52-58; discussion 59-62.

Dun, E. C., R. N. Taylor and F. Wieser (2010). "Advances in the genetics of endometriosis." Genome Med **2**(10): 75.

Eskenazi, B., P. Mocarelli, M. Warner, S. Samuels, P. Vercellini, D. Olive, L. L. Needham, D. G. Patterson, Jr., P. Brambilla, N. Gavoni, S. Casalini, S. Panazza, W. Turner and P. M. Gerthoux (2002). "Serum dioxin concentrations and endometriosis: a cohort study in Seveso, Italy." Environ Health Perspect **110**(7): 629-634.

Eskenazi, B. and M. L. Warner (1997). "Epidemiology of endometriosis." Obstet Gynecol Clin North Am **24**(2): 235-258.

Fernandez, M. F., P. Araque, H. Kiviranta, J. M. Molina-Molina, P. Rantakokko, O. Laine, T. Vartiainen and N. Olea (2007). "PBDEs and PBBs in the adipose tissue of women from Spain." Chemosphere **66**(2): 377-383.

Ferrero, S., N. Ragni and E. Fulcheri (2005). "Lateral distribution of benign ovarian cysts." Int J Gynaecol Obstet **89**(2): 150-151.

Fidler, I. J. (2003). "The pathogenesis of cancer metastasis: the 'seed and soil' hypothesis revisited." Nat Rev Cancer **3**(6): 453-458.

Fierens, S., H. Mairesse, J. F. Heilier, C. De Burbure, J. F. Focant, G. Eppe, E. De Pauw and A. Bernard (2003). "Dioxin/polychlorinated biphenyl body burden, diabetes and endometriosis: findings in a population-based study in Belgium." Biomarkers **8**(6): 529-534.

Frederiksen, M., M. Thomsen, K. Vorkamp and L. E. Knudsen (2009). "Patterns and concentration levels of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in placental tissue of women in Denmark." Chemosphere **76**(11): 1464-1469.

Fritel, X. (2007). "[Endometriosis anatomoclinical entities]." J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris) **36**(2): 113-118.

Giudice, L. C. (2010). "Clinical practice. Endometriosis." N Engl J Med **362**(25): 2389-2398.

Goldstein, D. P., C. deCholnoky, S. J. Emans and J. M. Leventhal (1980). "Laparoscopy in the diagnosis and management of pelvic pain in adolescents." J Reprod Med **24**(6): 251-256.

Gomez, E., A. Pillon, H. Fenet, D. Rosain, M. J. Duchesne, J. C. Nicolas, P. Balaguer and C. Casellas (2005). "Estrogenic activity of cosmetic components in reporter cell lines: parabens, UV screens, and musks." J Toxicol Environ Health A **68**(4): 239-251.

Gray DS, Fujioka K (1991). "Use of relative weight and Body Mass Index for the determination of adiposity". J Clin Epidemiol. **44**(6): 545–50

Gupta, S., A. Agarwal, N. Krajcir and J. G. Alvarez (2006). "Role of oxidative stress in endometriosis." Reprod Biomed Online **13**(1): 126-134.

Hamers, T., J. H. Kamstra, E. Sonneveld, A. J. Murk, M. H. Kester, P. L. Andersson, J. Legler and A. Brouwer (2006). "In vitro profiling of the endocrine-disrupting potency of brominated flame retardants." Toxicol Sci **92**(1): 157-173.

Harley, K. G., A. R. Marks, J. Chevrier, A. Bradman, A. Sjodin and B. Eskenazi (2010). "PBDE concentrations in women's serum and fecundability." Environ Health Perspect **118**(5): 699-704.

Hartge, P., J. I. Cahill, D. West, M. Hauck, D. Austin, D. Silverman and R. Hoover (1984). "Design and methods in a multi-center case-control interview study." Am J Public Health **74**(1): 52-56.

Heilier, J. F., J. Donnez, F. Nackers, R. Rousseau, V. Verougstraete, K. Rosenkranz, O. Donnez, F. Grandjean, D. Lison and R. Tonglet (2007). "Environmental and host-associated risk factors in endometriosis and deep endometriotic nodules: a matched case-control study." Environ Res **103**(1): 121-129.

Heilier, J. F., O. Donnez, V. Van Kerckhove, D. Lison and J. Donnez (2006). "Expression of aromatase (P450 aromatase/CYP19) in peritoneal and ovarian endometriotic tissues and deep endometriotic (adenomyotic) nodules of the rectovaginal septum." Fertil Steril **85**(5): 1516-1518.

Heilier, J. F., A. T. Ha, D. Lison, J. Donnez, R. Tonglet and F. Nackers (2004). "Increased serum polychlorobiphenyl levels in Belgian women with adenomyotic nodules of the rectovaginal septum." Fertil Steril **81**(2): 456-458.

Heilier, J. F., F. Nackers, V. Verougstraete, R. Tonglet, D. Lison and J. Donnez (2005). "Increased dioxin-like compounds in the serum of women with peritoneal endometriosis and deep endometriotic (adenomyotic) nodules." Fertil Steril **84**(2): 305-312.

Hoffman, C. S., C. M. Small, H. M. Blanck, P. Tolbert, C. Rubin and M. Marcus (2007). "Endometriosis among women exposed to polybrominated biphenyls." Ann Epidemiol **17**(7): 503-510.

Hughesdon, P. E. (1957). "The structure of endometrial cysts of the ovary." J Obstet Gynaecol Br Emp **64**(4): 481-487.

Hunt, P. A., S. Sathyanarayana, P. A. Fowler and L. Trasande (2016). "Female Reproductive Disorders, Diseases, and Costs of Exposure to Endocrine Disrupting Chemicals in the European Union." J Clin Endocrinol Metab **101**(4): 1562-1570.

Husby, G. K., R. S. Haugen and M. H. Moen (2003). "Diagnostic delay in women with pain and endometriosis." Acta Obstet Gynecol Scand **82**(7): 649-653.

Jenkins, S., D. L. Olive and A. F. Haney (1986). "Endometriosis: pathogenetic implications of the anatomic distribution." Obstet Gynecol **67**(3): 335-338.

Johnson-Restrepo, B., K. Kannan, R. Addink and D. H. Adams (2005). "Polybrominated diphenyl ethers and polychlorinated biphenyls in a marine foodweb of coastal Florida." Environ Sci Technol **39**(21): 8243-8250.

Kearney, J. P., D. C. Cole, L. A. Ferron and J. P. Weber (1999). "Blood PCB, p,p'-DDE, and mirex levels in Great Lakes fish and waterfowl consumers in two Ontario communities." Environ Res **80**(2 Pt 2): S138-S149.

Kennedy, S., A. Bergqvist, C. Chapron, T. D'Hooghe, G. Dunselman, R. Greb, L. Hummelshoj, A. Prentice, E. Saridogan, E. S. I. G. f. Endometriosis and G. Endometrium Guideline Development (2005). "ESHRE guideline for the diagnosis and treatment of endometriosis." Hum Reprod **20**(10): 2698-2704.

Koninckx, P. R. (1999). "The physiopathology of endometriosis: pollution and dioxin." Gynecol Obstet Invest **47 Suppl 1**: 47-49; discussion 50.

Koninckx, P. R. and D. C. Martin (1992). "Deep endometriosis: a consequence of infiltration or retraction or possibly adenomyosis externa?" Fertil Steril **58**(5): 924-928.

Koninckx, P. R., C. Meuleman, S. Demeyere, E. Lesaffre and F. J. Cornillie (1991). "Suggestive evidence that pelvic endometriosis is a progressive disease, whereas deeply infiltrating endometriosis is associated with pelvic pain." Fertil Steril **55**(4): 759-765.

Kopelman, A., M. J. Girao, T. C. Bonetti, C. V. Carvalho, I. D. Guerreiro da Silva and E. Schor (2016). "Analysis of Gene Expression in the Endocervical Epithelium of Women With Deep Endometriosis." Reprod Sci.

Kortenkamp, A. (2007). "Ten years of mixing cocktails: a review of combination effects of endocrine-disrupting chemicals." Environ Health Perspect **115 Suppl 1**: 98-105.

Koskenniemi, J. J., H. E. Virtanen, H. Kiviranta, I. N. Damgaard, J. Matomaki, J. M. Thorup, T. Hurme, N. E. Skakkebaek, K. M. Main and J. Toppari (2015). "Association between levels of persistent organic pollutants in adipose tissue and cryptorchidism in early childhood: a case-control study." Environ Health **14**: 78.

Kuiper, G. G., J. G. Lemmen, B. Carlsson, J. C. Corton, S. H. Safe, P. T. van der Saag, B. van der Burg and J. A. Gustafsson (1998). "Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor beta." Endocrinology **139**(10): 4252-4263.

La Merrill, M., C. Emond, M. J. Kim, J. P. Antignac, B. Le Bizec, K. Clement, L. S. Birnbaum and R. Barouki (2013). "Toxicological function of adipose tissue: focus on persistent organic pollutants." Environ Health Perspect **121**(2): 162-169.

le Maire, A., W. Bourguet and P. Balaguer (2010). "A structural view of nuclear hormone receptor: endocrine disruptor interactions." Cell Mol Life Sci **67**(8): 1219-1237.

Lebel, G., S. Dodin, P. Ayotte, S. Marcoux, L. A. Ferron and E. Dewailly (1998). "Organochlorine exposure and the risk of endometriosis." Fertil Steril **69**(2): 221-228.

Leone Roberti Maggiore, U., C. Scala, P. L. Venturini, V. Remorgida and S. Ferrero (2015). "Endometriotic ovarian cysts do not negatively affect the rate of spontaneous ovulation." Hum Reprod **30**(2): 299-307.

Leyendecker, G., G. Kunz, L. Wildt, D. Beil and H. Deininger (1996). "Uterine hyperperistalsis and dysperistalsis as dysfunctions of the mechanism of rapid sperm transport in patients with endometriosis and infertility." Hum Reprod **11**(7): 1542-1551.

Louis, G. M., J. M. Weiner, B. W. Whitcomb, R. Sperrazza, E. F. Schisterman, D. T. Lobdell, K. Crickard, H. Greizerstein and P. J. Kostyniak (2005). "Environmental PCB exposure and risk of endometriosis." Hum Reprod **20**(1): 279-285.

Lushchak, O. V., O. I. Kubrak, J. M. Storey, K. B. Storey and V. I. Lushchak (2009). "Low toxic herbicide Roundup induces mild oxidative stress in goldfish tissues." Chemosphere **76**(7): 932-937.

Malarvannan, G., E. Dirinck, A. C. Dirtu, A. Pereira-Fernandes, H. Neels, P. G. Jorens, L. V. Gaal, R. Blust and A. Covaci (2013). "Distribution of persistent organic pollutants in two different fat compartments from obese individuals." Environ Int **55**: 33-42.

Marc, J., O. Mulner-Lorillon and R. Belle (2004). "Glyphosate-based pesticides affect cell cycle regulation." Biol Cell **96**(3): 245-249.

Martinez-Zamora, M. A., L. Mattioli, J. Parera, E. Abad, J. L. Coloma, B. van Babel, M. T. Galceran, J. Balasch and F. Carmona (2015). "Increased levels of dioxin-like substances in adipose tissue in patients with deep infiltrating endometriosis." Hum Reprod **30**(5): 1059-1068.

Marty, M. S., E. W. Carney and J. C. Rowlands (2011). "Endocrine disruption: historical perspectives and its impact on the future of toxicology testing." Toxicol Sci **120 Suppl 1**: S93-108.

Mayani, A., S. Barel, S. Soback and M. Almagor (1997). "Dioxin concentrations in women with endometriosis." Hum Reprod **12**(2): 373-375.

Meuleman, C., B. Vandenabeele, S. Fieuws, C. Spiessens, D. Timmerman and T. D'Hooghe (2009). "High prevalence of endometriosis in infertile women with normal ovulation and normospermic partners." Fertil Steril **92**(1): 68-74.

Nelson, E. A., L. L. Hui, T. W. Wong and A. J. Hedley (2006). "Demographic and lifestyle factors associated with dioxin-like activity (CALUX-TEQ) in human breast milk in Hong Kong." Environ Sci Technol **40**(5): 1432-1438.

Niskar, A. S., L. L. Needham, C. Rubin, W. E. Turner, C. A. Martin, D. G. Patterson, Jr., L. Hasty, L. Y. Wong and M. Marcus (2009). "Serum dioxins, polychlorinated biphenyls, and endometriosis: a case-control study in Atlanta." Chemosphere **74**(7): 944-949.

Nisolle, M., M. L. Alvarez, M. Colombo and J. M. Foidart (2007). "[Pathogenesis of endometriosis]." Gynecol Obstet Fertil **35**(9): 898-903.

Nisolle, M., F. Casanas-Roux, V. Anaf, J. M. Mine and J. Donnez (1993). "Morphometric study of the stromal vascularization in peritoneal endometriosis." Fertil Steril **59**(3): 681-684.

Nisolle, M., F. Casanas-Roux, E. Marbaix, P. Jadoul and J. Donnez (2000). "Transplantation of cultured explants of human endometrium into nude mice." Hum Reprod **15**(3): 572-577.

Nisolle, M., F. Casanas-Roux, J. Qu, P. Motta and J. Donnez (2000). "Histologic and ultrastructural evaluation of fresh and frozen-thawed human ovarian xenografts in nude mice." Fertil Steril **74**(1): 122-129.

Nisolle, M. and J. Donnez (1997). "Peritoneal endometriosis, ovarian endometriosis, and adenomyotic nodules of the rectovaginal septum are three different entities." Fertil Steril **68**(4): 585-596.

Nisolle, M. and P. Nervo (2003). "[Physiopathology and therapeutic management of stage I and II endometriosis]." J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris) **32**(8 Pt 2): S11-14.

Noble, L. S., E. R. Simpson, A. Johns and S. E. Bulun (1996). "Aromatase expression in endometriosis." J Clin Endocrinol Metab **81**(1): 174-179.

Ohno, S., S. Shinoda, S. Toyoshima, H. Nakazawa, T. Makino and S. Nakajin (2002). "Effects of flavonoid phytochemicals on cortisol production and on activities of steroidogenic enzymes in human adrenocortical H295R cells." J Steroid Biochem Mol Biol **80**(3): 355-363.

Ohtake, F., A. Baba, Y. Fujii-Kuriyama and S. Kato (2008). "Intrinsic AhR function underlies cross-talk of dioxins with sex hormone signalings." Biochem Biophys Res Commun **370**(4): 541-546.

Olive, D. L. and L. B. Schwartz (1993). "Endometriosis." N Engl J Med **328**(24): 1759-1769.

Ounnas, F., C. Feidt, H. Toussaint, P. Marchand, B. L. Bizec, G. Rychen and S. Jurjanz (2010). "Polychlorinated biphenyl and low polybrominated diphenyl ether transfer to milk in lactating goats chronically exposed to contaminated soil." Environ Sci Technol **44**(7): 2682-2688.

Parazzini, F., S. Cipriani, F. Bravi, C. Pelucchi, F. Chiaffarino, E. Ricci and P. Vigano (2013). "A metaanalysis on alcohol consumption and risk of endometriosis." Am J Obstet Gynecol **209**(2): 106 e101-110.

Parazzini, F., G. Esposito, L. Tozzi, S. Noli and S. Bianchi (2016). "Epidemiology of endometriosis and its comorbidities." Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.

Parazzini, F., P. Vigano, M. Candiani and L. Fedele (2013). "Diet and endometriosis risk: a literature review." Reprod Biomed Online **26**(4): 323-336.

Patterson, D. G., Jr., L. Y. Wong, W. E. Turner, S. P. Caudill, E. S. Dipietro, P. C. McClure, T. P. Cash, J. D. Osterloh, J. L. Pirkle, E. J. Sampson and L. L. Needham (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**(4): 1211-1218.

Pauwels, A., A. Covaci, J. Weyler, L. Delbeke, M. Dhont, P. De Sutter, T. D'Hooghe and P. J. Schepens (2000). "Comparison of persistent organic pollutant residues in serum and adipose tissue in a female population in Belgium, 1996-1998." Arch Environ Contam Toxicol **39**(2): 265-270.

Pauwels, A., P. J. Schepens, T. D'Hooghe, L. Delbeke, M. Dhont, A. Brouwer and J. Weyler (2001). "The risk of endometriosis and exposure to dioxins and polychlorinated biphenyls: a case-control study of infertile women." Hum Reprod **16**(10): 2050-2055.

Ploteau, S., J. Antignac, C. Volteau, P. Marchand, A. Vénisseau, V. Vacher and B. Le Bizec (2016). "Distribution of persistent organic pollutants in serum, omental, and parietal adipose tissue of French women with deep infiltrating endometriosis and circulating versus stored ratio as new marker of exposure." Environment International (in press).

Porpora, M. G., A. M. Ingelido, A. di Domenico, A. Ferro, M. Crobu, D. Pallante, M. Cardelli, E. V. Cosmi and E. De Felip (2006). "Increased levels of polychlorobiphenyls in Italian women with endometriosis." Chemosphere **63**(8): 1361-1367.

Porpora, M. G., E. Medda, A. Abballe, S. Bolli, I. De Angelis, A. di Domenico, A. Ferro, A. M. Ingelido, A. Maggi, P. B. Panici and E. De Felip (2009). "Endometriosis and organochlorinated environmental pollutants: a case-control study on Italian women of reproductive age." Environ Health Perspect **117**(7): 1070-1075.

Prescott, J., L. V. Farland, D. K. Tobias, A. J. Gaskins, D. Spiegelman, J. E. Chavarro, J. W. Rich-Edwards, R. L. Barbieri and S. A. Missmer (2016). "A prospective cohort study of endometriosis and subsequent risk of infertility." Hum Reprod.

Reddy, B. S., R. Rozati, S. Reddy, S. Kodampur, P. Reddy and R. Reddy (2006). "High plasma concentrations of polychlorinated biphenyls and phthalate esters in women with endometriosis: a prospective case control study." Fertil Steril **85**(3): 775-779.

Redwine, D. B. (1999). "Ovarian endometriosis: a marker for more extensive pelvic and intestinal disease." Fertil Steril **72**(2): 310-315.

Rier, S. E., D. C. Martin, R. E. Bowman, W. P. Dmowski and J. L. Becker (1993). "Endometriosis in rhesus monkeys (Macaca mulatta) following chronic exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin." Fundam Appl Toxicol **21**(4): 433-441.

Safe, S. (1990). "Polychlorinated biphenyls (PCBs), dibenzo-p-dioxins (PCDDs), dibenzofurans (PCDFs), and related compounds: environmental and mechanistic considerations which support the development of toxic equivalency factors (TEFs)." Crit Rev Toxicol **21**(1): 51-88.

Sampson, J. A. (1927). "Metastatic or Embolic Endometriosis, due to the Menstrual Dissemination of Endometrial Tissue into the Venous Circulation." Am J Pathol **3**(2): 93-110 143.

Sanderson, J. T., J. Boerma, G. W. Lansbergen and M. van den Berg (2002). "Induction and inhibition of aromatase (CYP19) activity by various classes of pesticides in H295R human adrenocortical carcinoma cells." Toxicol Appl Pharmacol **182**(1): 44-54.

Sasamoto, T., S. Horii, A. Ibe, N. Takada and K. Shirota (2006). "Concentration changes of PCDDs, PCDFs, and dioxin-like PCBs in human breast milk samples as shown by a follow-up survey." Chemosphere **64**(4): 642-649.

Simsa, P., A. Mihalyi, G. Schoeters, G. Koppen, C. M. Kyama, E. M. Den Hond, V. Fulop and T. M. D'Hooghe (2010). "Increased exposure to dioxin-like compounds is associated with endometriosis in a case-control study in women." Reprod Biomed Online **20**(5): 681-688.

Smarr, M. M., K. Kannan and G. M. Buck Louis (2016). "Endocrine disrupting chemicals and endometriosis." Fertil Steril.

Steele, G., P. Stehr-Green and E. Welty (1986). "Estimates of the biologic half-life of polychlorinated biphenyls in human serum." N Engl J Med **314**(14): 926-927.

Stefansson, H., R. T. Geirsson, V. Steinthorsdottir, H. Jonsson, A. Manolescu, A. Kong, G. Ingadottir, J. Gulcher and K. Stefansson (2002). "Genetic factors contribute to the risk of developing endometriosis." Hum Reprod **17**(3): 555-559.

Strehl, J. D., J. Hackl, D. L. Wachter, P. Klingsiek, S. Burghaus, S. P. Renner, P. A. Fasching, A. Hartmann and M. W. Beckmann (2014). "Correlation of histological and macroscopic findings in peritoneal endometriosis." Int J Clin Exp Pathol **7**(1): 152-162.

Taylor, H. S., A. Arici, D. Olive and P. Igarashi (1998). "HOXA10 is expressed in response to sex steroids at the time of implantation in the human endometrium." J Clin Invest **101**(7): 1379-1384.

Thongprakaisang, S., A. Thiantanawat, N. Rangkadilok, T. Suriyo and J. Satayavivad (2013). "Glyphosate induces human breast cancer cells growth via estrogen receptors." Food Chem Toxicol **59**: 129-136.

Trabert, B., A. J. De Roos, S. M. Schwartz, U. Peters, D. Scholes, D. B. Barr and V. L. Holt (2010). "Non-dioxin-like polychlorinated biphenyls and risk of endometriosis." Environ Health Perspect **118**(9): 1280-1285.

Treloar, S., R. Hadfield, G. Montgomery, A. Lambert, J. Wicks, D. H. Barlow, D. T. O'Connor, S. Kennedy and G. International Endogene Study (2002). "The International Endogene Study: a collection of families for genetic research in endometriosis." Fertil Steril **78**(4): 679-685.

Tsukino, H., T. Hanaoka, H. Sasaki, H. Motoyama, M. Hiroshima, T. Tanaka, M. Kabuto, A. S. Niskar, C. Rubin, D. G. Patterson, Jr., W. Turner, L. Needham and S. Tsugane (2005). "Associations between serum levels of selected organochlorine compounds and endometriosis in infertile Japanese women." Environ Res **99**(1): 118-125.

Turkyilmaz, E., M. Yildirim, B. D. Cendek, P. Baran, M. Alisik, F. Dalgaci and A. F. Yavuz (2016). "Evaluation of oxidative stress markers and intra-extracellular antioxidant activities in patients with endometriosis." Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol **199**: 164-168.

Uemura, H., K. Arisawa, M. Hiyoshi, H. Satoh, Y. Sumiyoshi, K. Morinaga, K. Kodama, T. Suzuki, M. Nagai and T. Suzuki (2008). "PCDDs/PCDFs and dioxin-like PCBs: recent body burden levels and their determinants among general inhabitants in Japan." Chemosphere **73**(1): 30-37.

Upson, K., A. J. De Roos, M. L. Thompson, S. Sathyanarayana, D. Scholes, D. B. Barr and V. L. Holt (2013). "Organochlorine pesticides and risk of endometriosis: findings from a population-based case-control study." Environ Health Perspect **121**(11-12): 1319-1324.

Van den Berg, M., L. S. Birnbaum, M. Denison, M. De Vito, W. Farland, M. Feeley, H. Fiedler, H. Hakansson, A. Hanberg, L. Haws, M. Rose, S. Safe, D. Schrenk, C. Tohyama, A. Tritscher, J. Tuomisto, M. Tysklind, N. Walker and R. E. Peterson (2006). "The 2005 World Health Organization reevaluation of human and Mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds." Toxicol Sci **93**(2): 223-241.

Van Oostdam, J. C., E. Dewailly, A. Gilman, J. C. Hansen, J. O. Odland, V. Chashchin, J. Berner, J. Butler-Walker, B. J. Lagerkvist, K. Olafsdottir, L. Soininen, P. Bjerregard, V. Klopov and J. P. Weber (2004). "Circumpolar maternal blood contaminant survey, 1994-1997 organochlorine compounds." Sci Total Environ **330**(1-3): 55-70.

Vercellini, P., M. Busacca, G. Aimi, S. Bianchi, G. Frontino and P. G. Crosignani (2002). "Lateral distribution of recurrent ovarian endometriotic cysts." Fertil Steril **77**(4): 848-849.

Vorkamp, K., M. Thomsen, M. Frederiksen, M. Pedersen and L. E. Knudsen (2011). "Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in the indoor environment and associations with prenatal exposure." Environ Int **37**(1): 1-10.

Walsh, L. P., C. McCormick, C. Martin and D. M. Stocco (2000). "Roundup inhibits steroidogenesis by disrupting steroidogenic acute regulatory (StAR) protein expression." Environ Health Perspect **108**(8): 769-776.

Whitcomb, B. W., E. F. Schisterman, G. M. Buck, J. M. Weiner, H. Greizerstein and P. J. Kostyniak (2005). "Relative concentrations of organochlorines in adipose tissue and serum among reproductive age women." Environ Toxicol Pharmacol **19**(2): 203-213.

Winneke, G., U. Ranft, J. Wittsiepe, M. Kasper-Sonnenberg, P. Furst, U. Kramer, G. Seitner and M. Wilhelm (2014). "Behavioral sexual dimorphism in school-age children and early developmental exposure to dioxins and PCBs: a follow-up study of the Duisburg Cohort." Environ Health Perspect **122**(3): 292-298.

Wu, Y., G. Halverson, Z. Basir, E. Strawn, P. Yan and S. W. Guo (2005). "Aberrant methylation at HOXA10 may be responsible for its aberrant expression in the endometrium of patients with endometriosis." Am J Obstet Gynecol **193**(2): 371-380.

Wu, Y., A. Starzinski-Powitz and S. W. Guo (2007). "Trichostatin A, a histone deacetylase inhibitor, attenuates invasiveness and reactivates E-cadherin expression in immortalized endometriotic cells." Reprod Sci **14**(4): 374-382.

Xue, Q., Z. Lin, Y. H. Cheng, C. C. Huang, E. Marsh, P. Yin, M. P. Milad, E. Confino, S. Reierstad, J. Innes and S. E. Bulun (2007). "Promoter methylation regulates estrogen receptor 2 in human endometrium and endometriosis." Biol Reprod **77**(4): 681-687.

Yu, G. W., J. Laseter and C. Mylander (2011). "Persistent organic pollutants in serum and several different fat compartments in humans." J Environ Public Health **2011**: 417980.

Zhou, J., Z. H. Cai and X. S. Zhu (2010). "Are endocrine disruptors among the causes of the deterioration of aquatic biodiversity?" Integr Environ Assess Manag **6**(3): 492-498.

I.

UNIVERSITE BRETAGNE LOIRE

Oniris
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE, AGROALIMENTAIRE ET DE L'ALIMENTATION
SANTÉ ET ALIMENTATION AU CŒUR DE LA VIE

Thèse de Doctorat

Stéphane PLOTEAU

Etude du lien entre l'exposition aux polluants organiques persistants et l'endométriose

Relationship between exposure to persistent organic pollutants and endometriosis

Résumé

L'endométriose est une maladie gynécologique pour laquelle l'exposition à certains contaminants chimiques environnementaux est évoquée parmi les facteurs de risque associés. Les conclusions des études épidémiologiques existantes restent toutefois non convergentes. Leur hétérogénéité en termes de lésions décrites, de méthodologie et d'effectifs contribuent à ce constat, de même que l'étendue limitée des marqueurs d'exposition considérés dans ces études.
Nous avons réalisé une étude cas-témoins appariés à partir d'une bio-collection de 113 patientes réunissant 68 cas de patientes opérées d'endométriose profonde et 45 patientes témoins. Un ensemble unique de 78 polluants organiques persistants a été recherché, incluant dioxines, polychlorobiphényles, retardateurs de flamme polybromés, et pesticides organochlorés. Les niveaux d'exposition interne des sujets ont été mesurés à la fois dans les tissus adipeux pariétal et épiploïque ainsi que dans le sérum.
La distribution de ces différents polluants au sein de ces trois compartiments a tout d'abord été caractérisée. Celle-ci a permis la prise en compte encore très rare de l'équilibre entre compartiments de stockage et compartiment circulant, ce rapport de concentration apparaissant comme un potentiel indicateur additionnel permettant d'affiner d'éventuels liens de causalité entre exposition chronique à des dangers chimiques et pathologie chez l'homme. Certains des contaminants ciblés sont ensuite apparus significativement associés à l'endométriose profonde, la stratification plus fine de notre population de cas indiquant un lien d'autant plus significatif en présence d'endométriome. Les mécanismes sous-jacents de cette association restent toutefois à élucider.

Mots clés :
Endométriose profonde, endométriome, dioxines, PCB, pesticides organochlorés, retardateurs de flamme bromés

Abstract

Endometriosis is a gynecological disease for which exposure to some environmental chemicals is evocated among the associated risk factors. Epidemiological studies are however globally non convergent and finally fairly conclusive. Their heterogeneity in terms of lesion localization and sub-phenotype, methodology, size and nature of the populations studied, as well as the limited number of monitored markers of exposure contribute to this situation.
We realized a matched case-control study based on a biocollection of 113 patients including 68 patients suffering of deep endometriosis and 45 controls. We characterized the internal exposure levels of an extended range of around 78 persistent organic pollutants (including dioxins, polychlorobiphenyls, brominated flame retardants and organochlorine pesticides). Internal level exposures were measured in three biological compartments (omental fat, subcutaneous fat and serum).
First, the distribution of these chemicals was characterized within these compartments. These extended exposure data from deep infiltrating endometriosis patients are the first ones available for France and give a new insight about the equilibrium of chemicals between storage and circulating compartments that should be further considered as a potential indicator permitting to establish a possible association between a chronic exposure to chemical hazards and human pathology.. Afterwards, some of the targeted chemicals appeared significantly associated with deep endometriosis. A sub-stratification of our case population indicated a more significant relationship with the presence of endometrioma. Underlying mechanisms remain to be determined.

Key Words :
Deep infiltrating endometriosis, endometrioma, dioxins, PCB, organochlorine pesticides, brominated flame retardants

L'Université Bretagne Loire