

13

Cancer du sein

Les glandes mammaires ont pour principale fonction biologique la production du lait. Chaque sein contient une glande mammaire, composée de quinze à vingt compartiments séparés par du tissu graisseux ainsi que par du tissu de soutien qui contient des vaisseaux sanguins, des vaisseaux et ganglions lymphatiques, des fibres de collagène et de la graisse. Chacun des compartiments de la glande mammaire est constitué de lobules et de canaux galactophores. Le rôle des lobules est de produire le lait en période d'allaitement. Les canaux transportent le lait vers le mamelon. La glande mammaire se développe et fonctionne sous l'influence des hormones stéroïdes sexuelles, notamment les œstrogènes et la progestérone.

Les cancers du sein sont des adénocarcinomes dans 95 % des cas, c'est-à-dire qu'ils se développent à partir des cellules épithéliales de la glande mammaire. Les adénocarcinomes se développent le plus fréquemment à partir des cellules des canaux et plus rarement à partir des cellules des lobules.

Incidence et mortalité

Le nombre de nouveaux cas de cancer du sein chez la femme en France en 2018 a été estimé à 58 459 avec un âge médian au diagnostic de 63 ans (Defossez et coll., 2019). Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez la femme. Le taux d'incidence standardisé à l'âge de la population mondiale (TIS-M) a été estimé à 99,9 cas pour 100 000 personnes-années et progresse selon l'âge à partir de l'âge de 30 ans pour atteindre un maximum entre 70 et 74 ans. L'incidence est hétérogène selon les départements. Sur la période 2007-2016, les TIS-M les plus élevés ont été observés à Paris (111), le Nord (106) et les Yvelines (104) et les TIS-M les plus bas en Guyane (53 pour la période 2010-2014), en Martinique (61 pour la période 2007-2014) et en Guadeloupe (66 pour la période 2008-2014) (Deloumeaux et coll., 2019).

Entre 1990 et 2018, l'accroissement d'incidence du cancer du sein a été en moyenne de 1,1 %. Cependant, cette évolution n'a pas été régulière avec une forte augmentation en début de cette période, puis une légère diminution entre 2005 et 2009 puis une reprise modérée à la hausse jusqu'en 2018. De multiples facteurs peuvent expliquer ces variations, en commençant par l'évolution des pratiques de dépistage, de la vie reproductive et des modes de vie (voir section « Étiologie et facteurs de risque »).

Avec 12 146 décès par cancer du sein en 2018, le cancer du sein est au premier rang des décès par cancer chez la femme avec un âge médian au décès de 74 ans (Defossez et coll., 2019). Le taux de mortalité standardisé à l'âge de la population mondiale (TMS-M) est de 14,0 décès pour 100 000 personnes-années. Sur la période 2007-2014, les TMS-M les plus élevés ont été observés dans le Pas-de-Calais (21,0), le Nord (20,0) et la Somme (19,0) et les TMS-M les plus bas en Guyane (11,0), dans les Alpes-Maritimes (13,0) et la Haute-Garonne, le Var, en Guadeloupe et en Martinique (13,0) (Deloumeaux et coll., 2019). Globalement, les taux de mortalité suivent une évolution inverse à ceux de l'incidence, avec une diminution moyenne annuelle de 1,3 % entre 1990 et 2018. Cette diminution pourrait être expliquée par l'amélioration des traitements ainsi que par le dépistage permettant un diagnostic à des stades plus précoces, et donc curables, de la maladie.

Étiologie et facteurs de risque

Comme pour de nombreux cancers, l'étiologie du cancer du sein est en grande partie inconnue. Cependant, de nombreux facteurs de risque ont été identifiés, certains étant liés à des facteurs hormonaux et reproductifs. L'âge précoce aux premières règles, des cycles plus courts, un âge tardif à la première grossesse ou à la ménopause, la prise de certains traitements hormonaux (notamment de la ménopause), la consommation d'alcool, le tabagisme, le surpoids chez la femme ménopausée, l'obésité, l'activité physique réduite et l'exposition à des radiations ionisantes ont été associés à un excès de risque alors qu'un nombre élevé de grossesses et l'allaitement diminuent le risque (Ban et Godellas, 2014 ; Colditz et Bohlke, 2014 ; Macacu et coll., 2015 ; Picon-Ruiz et coll., 2017). Le travail de nuit a été classé comme cancérigène probable (groupe 2A) par le Circ sur la base de données mécanistiques et expérimentales (Ward et coll., 2019). Cependant, en dépit de nombreuses études observationnelles, les conclusions sur un plan épidémiologique sont encore controversées au regard du risque de survenue du cancer du sein (Travis et coll., 2016 ; Wegrzyn et coll., 2017 ; Cordina-Duverger et coll., 2018 ; Jones et coll., 2019).

La présence d'antécédents familiaux de cancers, notamment ceux dits « hormono-dépendants » (sein, ovaire), est également un facteur de risque reconnu du cancer du sein. Cela peut traduire soit la présence de facteurs modifiables communs (par exemple, modes de vie) au sein d'une famille mais également la présence de facteurs génétiques favorisant le développement de la maladie. Il existe également une variabilité dans l'incidence du cancer du sein en fonction des origines ethno-géographiques. En effet, toutes choses étant égales par ailleurs, les populations d'origine caucasienne sont plus à risque de développer un cancer du sein que les populations d'origine africaine sub-saharienne ou asiatique, traduisant la présence de facteurs de susceptibilité génétique ou épigénétique individuels plus fréquents. On estime par ailleurs, que 5 à 10 % des cancers du sein sont héréditaires et attribuables à des mutations génétiques. Parmi elles, les plus fréquentes affectent les gènes *BRCA1* et *BRCA2*. D'autres mutations, plus rares, ont été décrites et affectent des gènes impliqués dans la réparation de l'ADN ou dans l'arrêt de la multiplication des cellules en cas de lésion au niveau de l'ADN, tels que *TP53*, *CHEK2*, *ATM*, *PTEN* ou *STK11*.

Premières données épidémiologiques

En 1993, Wolff et coll. ont publié une étude portant sur 58 cas de cancer du sein et 171 témoins nichés au sein de la cohorte *New York University Women's Health Study* aux États-Unis composée de 14 290 femmes (Wolff et coll., 1993). En utilisant des prélèvements sanguins obtenus entre 1985 et 1991, les auteurs ont rapporté un risque augmenté de survenue de cancer du sein chez les femmes les plus exposées au dichlorodiphényldichloroéthylène (DDE), le principal métabolite du dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) un insecticide organochloré. Cependant, dès 1994, une nouvelle étude portant sur 150 cas et 150 témoins nichés au sein d'une cohorte de 57 040 femmes habitant dans la région de la baie de San Francisco aux États-Unis (pour lesquelles un prélèvement sanguin avait été obtenu vers la fin des années 1960 et qui ont fait l'objet d'un suivi jusqu'en 1990) n'a pas montré d'association entre les niveaux d'exposition au DDE et le risque de survenue du cancer du sein (Krieger et coll., 1994).

Ces deux études, réalisées en partie par les mêmes auteurs et contradictoires dans leurs conclusions ont été à l'origine d'un engouement scientifique et sociétal concernant l'impact des pesticides dans la survenue du cancer du sein. Cela s'explique par la diffusion généralisée des pesticides, notamment des insecticides organochlorés, dans l'environnement et la chaîne alimentaire (Hunter et Kelsey, 1993) mais aussi par leur capacité à interagir avec

les récepteurs aux œstrogènes ou aux androgènes, ce qui est notamment le cas pour le DDE (Kelce et coll., 1995).

Ceci a généré l'hypothèse que les pesticides organochlorés, généralement considérés comme non génotoxiques, pourraient moduler l'expression de gènes intervenant dans le processus cancérogène des tumeurs hormono-dépendantes par activation inappropriée de récepteurs aux stéroïdes. Depuis ces premières études, de nombreuses publications ont abordé cette question, dans un contexte d'exposition professionnelle ou environnementale.

Résumé de l'expertise collective Inserm de 2013

Expositions professionnelles

La majorité des études portant sur le risque de survenue du cancer du sein dans des conditions d'exposition professionnelles ont été réalisées parmi des femmes travaillant dans le secteur agricole, avec des niveaux d'exposition aux pesticides souvent plus faibles que chez leurs homologues masculins. En effet, l'épandage de pesticides dans les cultures agricoles est une tâche plus fréquemment dévolue aux hommes. Toutefois, outre l'épandage direct des produits, les femmes peuvent être exposées lors des tâches de ré-entrées sur des parcelles récemment traitées, à leurs domiciles si, par exemple, elles sont en charge du nettoyage des vêtements et équipement de travail du conjoint ou dans des circonstances résidentielles, lorsque leurs domiciles sont à proximité des champs.

Le risque de cancer du sein, estimé par son incidence, chez les femmes en milieu agricole est très variable d'une étude à l'autre, avec des études montrant soit une augmentation (Band et coll., 2000 ; Gardner et coll., 2002) soit une diminution de risque (Wiklund et Dich, 1994 ; Kristensen et coll., 1996 ; Settimi et coll., 1999 ; Pukkala et coll., 2009 ; Villeneuve et coll., 2011) par rapport à celui observé dans les populations générales respectives. L'interprétation de ces résultats par rapport à l'exposition aux pesticides est difficile, car elle n'est pas toujours bien documentée mais aussi parce que d'autres facteurs, tels que l'alimentation, l'activité physique et les modes de vie peuvent expliquer les différences d'incidence de la maladie.

D'autres études ont tenté de quantifier individuellement les expositions. Ces études, basées sur des déclarations concernant leur présence dans des cultures, pendant ou peu après l'application de pesticides, ou l'application par elles-mêmes de ces produits ont également donné lieu à des conclusions contradictoires. Dans une étude cas-témoins menée en Caroline du Nord aux

États-Unis (862 cas *versus* 790 témoins), Duell et coll. ont retrouvé un risque augmenté de survenue de cancer du sein en cas de présence dans les cultures pendant ou dans les 24 heures suivant les épandages de pesticides mais aussi un risque diminué en cas de domiciliation ou de travail dans une ferme (Duell et coll., 2000). Au sein de la cohorte *Agricultural Health Study* (AHS) aux États-Unis, les auteurs ont constaté un risque diminué de survenue du cancer du sein chez les femmes appliquant des pesticides (sans distinction de matière active) mais un excès de risque en cas d'application de l'herbicide 2,4,5-TP (Engel et coll., 2005).

Sur la base des données existantes en 2013, la précédente expertise collective de l'Inserm a conclu qu'il était impossible d'évaluer de manière complète et détaillée le risque de survenue du cancer du sein chez les femmes exposées professionnellement à des pesticides (Inserm, 2013).

Expositions environnementales

Comme évoqué ci-dessus, les premières études s'adressant au risque de cancer du sein dans un contexte d'exposition environnementale à des insecticides organochlorés, publiées en 1993 et 1994, sont apparues contradictoires quant à leurs conclusions. De très nombreuses études ont été publiées par la suite dans des circonstances d'exposition environnementale, notamment sur les insecticides organochlorés et en particulier le DDE. La longue demi-vie dans l'organisme des organochlorés permet par la mesure de leur concentration dans une matrice biologique (sang, graisse) de disposer d'un bon indicateur de la charge corporelle et sur une période relativement longue. Plusieurs méta-analyses et revues de la littérature ont conclu qu'il n'existait pas de preuves suffisantes en faveur d'une association entre les niveaux de pesticides organochlorés, y compris le DDE, mesurés dans des matrices biologiques et le risque de survenue du cancer du sein (Snedeker, 2001 ; Calle et coll., 2002 ; Lopez-Cervantes et coll., 2004 ; Khanjani et coll., 2007). S'agissant des études, bien moins nombreuses et portant sur des pesticides autres que les organochlorés, elles ont employé comme indicateur d'exposition la distance de résidence à des zones d'épandages de pesticides (Reynolds et coll., 2005) ou les niveaux de contamination des eaux de consommation à de l'atrazine (McElroy et coll., 2007) et n'ont pas montré d'association avec le risque de cancer du sein.

Néanmoins, certaines études méritent d'être soulignées. Hoyer et coll. se sont intéressés au sein de la cohorte *Copenhagen City Heart Study* au Danemark à l'évolution de la maladie suite au diagnostic initial (Hoyer et coll., 2000). Au cours du suivi portant sur 195 cas incidents de cancer du

sein, les auteurs ont montré un excès de risque, à la limite de la signification statistique, de récurrence de la maladie et/ou de décès par cancer du sein chez les femmes les plus exposées à la dieldrine, un insecticide organochloré (RR = 2,61 ; IC 95 % [0,97-7,01] pour le 4^e quartile d'exposition le plus élevé comparé au 1^{er} quartile le plus faible ; p de tendance < 0,01). Cependant, une étude ultérieure au sein de cette même cohorte n'a pas montré de lien entre l'exposition à plusieurs insecticides organochlorés, dont la dieldrine, et la survie des patientes en fonction du statut de la tumeur vis-à-vis des récepteurs aux œstrogènes (Hoyer et coll., 2001).

Une autre étude a porté son attention sur la période d'exposition critique. Cohn et coll. ont mené une étude cas-témoins nichée parmi les participantes à l'étude *Child Health and Development Studies* conduite en Californie aux États-Unis (Cohn et coll., 2007). Le DDT (isomères o,p' et p,p', ce dernier étant le plus abondant) ainsi que le DDE (isomère p,p') ont été dosés dans des prélèvements de sang, obtenus entre 1959 et 1967, chez des jeunes femmes (âge moyen de 26 ans) à l'occasion d'une de leurs grossesses. Cent vingt-neuf de ces femmes ayant eu un diagnostic de cancer du sein avant l'âge de 50 ans ont été comparées à 150 femmes de même âge et sans cancer du sein. Le DDT (isomère p,p'), dans un modèle ajusté aux autres organochlorés, a été retrouvé associé à un excès de risque de survenue de cancer du sein (OR = 2,9 ; IC 95 % [1,1-8,0] pour le 3^e tercile comparé au 1^{er}). En fonction de leur âge en 1945, date où l'emploi du DDT a été généralisé, un excès de risque a été observé chez celles qui avaient moins de 14 ans à cette date (et moins de 20 ans lorsque le DDT a atteint son maximum d'utilisation dans le monde au début des années 1950) (OR = 2,8 ; IC 95 % [1,1-6,8] et OR = 5,2 ; IC 95 % [1,4-9,1] respectivement pour les 2^e et 3^e terciles).

Bien que l'étude de Cohn et coll. ait soulevé l'importance de la période d'exposition, l'ensemble des études réalisées jusqu'en 2013 n'a, comme pour l'exposition professionnelle, pas permis de conclure sur le lien éventuel entre l'exposition des pesticides et le risque de survenue d'un cancer du sein dans des circonstances d'exposition environnementales.

Nouvelles données épidémiologiques

Expositions professionnelles

Dans le cadre de la cohorte AHS, trois nouvelles publications se sont intéressées au risque de survenue de cancer du sein parmi les conjointes d'agriculteurs, où les utilisatrices d'insecticides ont été comparées aux

non-utilisatrices (Lerro et coll., 2015 ; Engel et coll., 2017 ; Louis et coll., 2017). Lors d'un suivi portant sur 1 059 cas incidents, l'usage d'insecticides organophosphorés a été retrouvé associé à un risque augmenté de cancer du sein (RR = 1,20 ; IC 95 % [1,01-1,43]) (Lerro et coll., 2015). Une analyse par matière active a montré que seule l'utilisation du chlorpyrifos (parmi 8 organophosphorés étudiés) était associée, à la limite de la signification statistique, à un risque augmenté de cancer du sein (RR = 1,41 ; IC 95 % [1,00-1,99]). Une analyse plus approfondie de l'association avec le chlorpyrifos, en prenant en compte le statut des récepteurs hormonaux aux œstrogènes (*estrogen receptor* ; ER) ou à la progestérone (*progesterone receptor* ; PR), a mis en évidence une augmentation de risque l'association étant plus élevée en cas de tumeur ER-PR- (RR = 2,26 ; IC 95 % [1,07-4,75]) qu'en cas de tumeur ER+PR+ (RR = 1,37 ; IC 95 % [0,86-2,19]). Un risque augmenté, mais non statistiquement significatif, a été également constaté en cas d'utilisation de terbufos (RR = 1,52 ; IC 95 % [0,97-2,36]). Lors d'un suivi ultérieur portant sur 1 081 cas de cancers du sein, les auteurs ont rapporté des résultats similaires concernant le chlorpyrifos (HR = 1,4 ; IC 95 % [1,0-2,0]) et le terbufos (HR = 1,5 ; IC 95 % [1,0-2,1]) mais aussi un risque augmenté, non significatif, pour l'usage du coumaphos (HR = 1,5 ; IC 95 % [0,9-2,5]) (Engel et coll., 2017). Au cours d'une étude exclusivement consacrée aux insecticides organochlorés, aucune association n'a été retrouvée en lien avec l'utilisation de ces pesticides sauf pour la dieldrine (Louis et coll., 2017). En effet, parmi les insecticides organochlorés étudiés (8 au total), seul l'emploi de la dieldrine est apparu associé à un risque augmenté de cancer du sein, ce risque étant limité aux femmes porteuses d'une tumeur ER-PR- (RR = 3,55 ; IC 95 % [1,12-11,18]). À noter que ce résultat n'a été acquis qu'à partir de 3 cas présentant ces caractéristiques tumorales.

Une étude cas-témoins en population générale, dans 18 communes à forte activité agricole de la province de Vercelli (Italie), a comparé 85 cas incidents de cancer du sein à 6 300 témoins (Salerno et coll., 2016). L'activité professionnelle dans le secteur agricole a été retrouvée associée à un risque augmenté de survenue du cancer du sein (OR = 1,72 ; IC 95 % [1,04-2,85]). Cependant, en absence de toute information relative à l'usage de pesticides, aucune conclusion ne peut en être dérivée s'agissant de l'impact de ces derniers sur la survenue du cancer du sein.

En Californie, une étude cas-témoins a été réalisée chez des femmes hispaniques (101 cas *versus* 88 témoins) résidant dans la vallée de San Joaquin, une région à forte activité agricole (Mills et coll., 2019). Parmi celles ayant travaillé dans une exploitation agricole, et à l'aide d'une matrice emploi-exposition, celles ayant été exposées au parathion-méthyl présentaient un

excès de risque de survenue du cancer du sein mais limité au 2^e tercile d'exposition (OR = 5,28 ; IC 95 % [1,17-23,7]).

Expositions environnementales

Dans une revue critique de la littérature, Alavanja et coll. concluent, sur la base des études disponibles à l'époque, à l'absence de preuves convaincantes d'un lien entre l'exposition à des pesticides organochlorés et la survenue du cancer du sein (Alavanja et coll., 2013). S'agissant des pesticides autres que les organochlorés, ces mêmes auteurs après examen des 8 études disponibles dans des circonstances d'exposition non professionnelles (conjointes d'agriculteurs non applicatrices de pesticides, résidence à proximité de zones agricoles) estiment que les études sont encore peu nombreuses et avec des informations peu spécifiques concernant les matières actives incriminées pour aboutir à des conclusions significatives dans un sens ou dans l'autre.

Deux nouvelles méta-analyses ont porté sur le risque de cancer du sein et les expositions environnementales au DDE estimées à partir des concentrations de ce polluant dans des matrices biologiques. Dans la méta-analyse de Park et coll. portant sur 35 études publiées jusqu'en août 2012, le mOR n'a pas montré d'excès de risque significatif (1,03 ; IC 95 % [0,95-1,12]) (Park et coll., 2014). Il en est de même pour la méta-analyse de Ingber et coll. portant sur 46 études publiées jusqu'en 2013 (mOR = 1,05 ; IC 95 % [0,93-1,18] pour le DDE et mOR = 1,02 ; IC 95 % [0,92-1,13] pour le DDT) (Ingber et coll., 2013).

En Australie, une étude cas-témoins en population générale (1 169 cas *versus* 1 743 témoins) s'est intéressée à l'association entre l'auto-déclaration d'avoir « remarqué » une dérive de pulvérisation de pesticides à l'occasion d'application de ces produits sur des terres agricoles (El-Zaemey et coll., 2013). Cette question a été adressée aux femmes ayant résidé pendant au moins un an à proximité (1 km ou moins) d'une zone d'activité agricole. Parmi les femmes qui ont déclaré « avoir déjà remarqué » une dérive de pulvérisation, les auteurs rapportent un excès de risque de survenue du cancer du sein (OR = 1,43 ; IC 95 % [1,15-1,78]), et en particulier parmi celles où cette constatation a été faite avant d'avoir atteint l'âge de 20 ans (OR = 1,61 ; IC 95 % [1,19,-2,16]). Cette étude n'apporte aucune information concernant les éventuels pesticides (familles chimiques ou matière active) concernés et repose sur une notion de dérive peu précise quant à l'exposition effective (par exemple, dérive perçue visuellement et/ou par l'odorat).

Une étude cas-témoins hospitalière (121 cas *versus* 621 témoins) n'a pas observé d'association entre le lieu de résidence à proximité d'une zone d'épandage de fongicides à usage agricole à l'Île-du-Prince-Édouard au Canada et le risque de survenue du cancer du sein (Ashley-Martin et coll., 2012). Une étude réalisée en Espagne et portant sur 425 cas incidents et 1 511 témoins a exploré le lien avec la proximité de leur domicile à des sites industriels (Garcia-Perez et coll., 2018). Une association positive a été retrouvée en lien avec la présence de sites industriels situés à moins de 2 km et libérant des pesticides (sans autre précision) (OR = 2,09 ; IC 95 % [1,14-3,82]). Au Brésil, une étude comprenant 85 cas incidents de cancers du sein et 266 témoins a rapporté un excès de risque de survenue de la maladie chez les femmes résidant à moins de 500 m d'une exploitation agricole ayant recours à des pesticides (OR = 2,37 ; IC 95 % [1,78-3,16]) (Silva et coll., 2019). Une étude réalisée chez 155 cas et 150 témoins en Californie (comtés de Fresno, Tulare et Kern) a employé comme indicateur d'exposition l'usage de pesticides agricoles dans un rayon inférieur à 500 m à leur lieu de résidence (Tayour et coll., 2019). Une association positive a été retrouvée avec l'usage du chlorpyrifos (OR = 3,22 ; IC 95 % [1,38-7,53]) alors qu'une absence d'association a été retrouvée pour l'usage d'organochlorés (sans autre précision), le diazinon (un insecticide organophosphoré) et le 1,3 dichloro-propène (un nématicide).

Plusieurs autres études cas-témoins portant sur des faibles effectifs ont étudié le risque de survenue du cancer du sein en lien avec les concentrations sanguines en pesticides organochlorés. En Espagne, Boada et coll. en comparant 121 cas à 103 témoins ont rapporté, parmi 7 organochlorés explorés, une association positive, à la limite de la signification statistique, avec le DDD (un métabolite du DDT) (OR = 1,01 ; IC 95 % [1,00-1,02]) (Boada et coll., 2012). Au Groenland, Wielsøe et coll. ont rapporté des concentrations sanguines de DDE plus élevées chez 77 cas de cancer du sein que chez 84 témoins (Wielsøe et coll., 2017). Holmes et coll. en analysant 9 pesticides persistants dans le sang, n'ont pas trouvé d'associations avec le risque de survenue du cancer du sein dans une étude comparant 75 cas à 95 témoins en Alaska (Holmes et coll., 2014). En Tunisie, Arrebola et coll., en comparant les taux sériques de cinq organochlorés chez 69 cas à 56 témoins, ont mis en évidence une association entre une concentration élevée de β -hexachlorocyclohexane (OR = 1,18 ; IC 95 % [1,05-1,34]) et le risque de cancer du sein (Arrebola et coll., 2015). Dans une étude cas-témoins hospitalière (56 cas et 46 témoins) réalisée en Chine, He et coll. ont mesuré les concentrations de six pesticides organochlorés dans des prélèvements de tissus adipeux du sein (He et coll., 2017). Les auteurs concluent à une augmentation du risque de survenue de cancer du sein alors que les résultats montrent

l'inverse (OR = 0,129 ; IC 95 % [0,031-0,542] pour le DDE). Une étude réalisée au Pakistan chez 83 cas de cancers (incluant les cancers du sein) et 32 témoins a rapporté que la moyenne de la somme de la concentration sanguine de 14 pesticides organochlorés était plus élevée chez les cas de cancer du sein (nombre non précisé) que chez les témoins (Attaullah et coll., 2018).

Parada et coll. ont étudié aux États-Unis les associations entre l'exposition aux insecticides organochlorés DDT, DDE et chlordane chez 633 cas incidents de cancer du sein (invasifs ou *in situ*) sur la période 1996-1997 et leur survie (Parada Jr et coll., 2016). L'exposition a été estimée par la mesure de la concentration sanguine des pesticides à l'occasion du diagnostic. Après un suivi de 5 et 15 ans, 55 et 189 décès toutes causes confondues ont été constatés dont 36 et 74 attribuables au cancer du sein. À 5 ans, le tercile le plus élevé de la concentration en DDT était associé à un excès de décès toutes causes confondues (HR = 2,19 ; IC 95 % [1,02-4,67] ; p de tendance = 0,02) et à un excès de décès spécifique par cancer du sein (HR = 2,72 ; IC 95 % [1,04-7,13] ; p de tendance = 0,02). Cependant, à 15 ans, aucune association statistiquement significative n'a été observée. Les mêmes auteurs, en partant d'une autre population de cas incidents de cancers invasifs du sein (n = 748) au cours de la période 1993-1996 aux États-Unis, se sont également intéressés à la survie au terme d'un suivi médian de 20,6 années (Parada Jr et coll., 2019). L'exposition au DDT et au DDE a été estimée par la mesure de leur concentration sanguine à l'occasion du diagnostic. Au terme d'un suivi de 5 ans, ni le DDT ni le DDE n'ont été retrouvés associés à la mortalité toutes causes ou à la mortalité spécifique par cancer du sein. En revanche, au terme d'un suivi à 20 ans, le DDE (HR = 1,95 ; IC 95 % [1,31-2,92] pour le 3^e tercile comparé au 1^{er}) et le DDT (HR = 1,64 ; IC 95 % [1,10-2,44] pour le quantile le plus élevé comparé au quantile avec des concentrations en dessous de la limite de détection) ont été retrouvés associés à un excès de risque de décès toutes causes confondues. S'agissant de la mortalité spécifique par cancer du sein après 20 ans de suivi, les concentrations en DDE supérieures à la médiane (groupe de référence : DDE en dessous de la médiane) ont été retrouvées associées à une augmentation de risque de décès (HR = 1,69 ; IC 95 % [1,06-2,68]). Le risque était plus élevé chez celles qui présentaient une tumeur ER- (HR = 3,24 ; IC 95 % [1,38-7,58]) comparé à celles qui présentaient une tumeur ER+ (HR = 1,29 ; IC 95 % [0,73-2,28]) avec une interaction significative (p = 0,03).

Cohn et coll. avaient dans une première étude publiée en 2007 montré l'importance que pourrait avoir la période critique d'exposition au DDT en lien avec le risque de survenue du cancer du sein (Cohn et coll., 2007).

Cette étude, réalisée au sein de la *Child Health and Development Studies*, s'était limitée à la survenue de ce cancer avant l'âge de 50 ans, c'est-à-dire avant la ménopause, l'exposition ayant été estimée par la mesure de la concentration plasmatique en DDT à l'occasion d'une de leurs grossesses (âge moyen de 26 ans). Les auteurs ont montré que les concentrations sanguines en DDT étaient associées à un excès de risque de survenue de cancer du sein, notamment chez celles qui avaient moins de 14 ans au début des années 1950 (correspondant au maximum d'utilisation du DDT dans le monde). Ces mêmes auteurs ont, dans une publication récente (Cohn et coll., 2019), étudié le risque de survenue du cancer du sein pendant la période de transition de la ménopause (50 à 54 ans). Un excès de risque a été observé (OR pour le doublement de la concentration en p,p' DDT = 1,99 ; IC 95 % [1,48-2,67]). Cependant, tenant compte de l'âge qu'elles avaient en 1945 (date où l'emploi du DDT a été généralisé), cet excès de risque n'était observé que chez celles qui avaient plus de 14 ans à cette date (OR pour le doublement de la concentration en p,p' DDT = 2,83 ; IC 95 % [1,96-4,10]).

Une autre étude s'est adressée au risque de cancer du sein chez les filles des femmes ayant participé à la cohorte *Child Health and Development Studies* entre 1959 et 1967 (Cohn et coll., 2015). Cent dix-huit cas de cancer du sein ont ainsi été comparés à 354 témoins appariés à l'âge de naissance. L'exposition maternelle pendant la grossesse au DDT (isomère o,p'), dans un modèle ajusté sur les autres organochlorés, était associée chez les filles à un excès de risque de survenue de cancer du sein (OR = 3,7 ; IC 95 % [1,5-9,0] pour le 4^e quartile ; p de tendance = 0,05).

Au sein de la cohorte *Sister Study* aux États-Unis, une étude s'est intéressée au risque de survenue du cancer du sein en lien avec l'exposition aux pesticides pendant l'enfance et l'adolescence (Niehoff et coll., 2016). Parmi les 50 756 femmes sans cancer du sein incluses au cours de la période 2003-2009, 2 134 ont développé un cancer du sein lors d'un suivi moyen de 5 ans à compter de leur date d'inclusion dans la cohorte. Les informations relatives aux expositions résidentielles et agricoles aux pesticides ont été recueillies par questionnaire à l'inclusion dans l'étude. Une attention particulière a été portée sur le parcours résidentiel avant l'âge de 14 ans ainsi que sur la nature de leur résidence au regard d'une activité agricole (exploitation agricole) et de l'usage de pesticides. Aucune association n'a été observée entre l'exposition aux pesticides dans l'enfance et l'adolescence (avant 14 ans) et le risque de survenue du cancer du sein, quel que soit le statut hormonal de la tumeur. Seules les femmes âgées de moins de 18 ans lors de l'interdiction du DDT aux États-Unis en 1972 présentaient un risque augmenté de cancer du sein, à la limite de la signification statistique (HR = 1,1 ; IC 95 % [0,99-1,30]).

Récemment, une étude cas-témoins menée dans la vallée de San Joaquin en Californie a mis en évidence une diminution de risque non significative de survenue du cancer du sein chez les femmes nées dans une exploitation agricole, ainsi que chez celles dont les parents travaillaient dans ces exploitations au moment de leur naissance (Mills et coll., 2019).

Cancer du sein chez l'homme

Chez l'homme, les seins demeurent immatures tout le long de la vie et n'assurent aucune fonction particulière. Ils peuvent être soumis à des pathologies bénignes, telles que la gynécomastie, correspondant à une hypertrophie accompagnée ou pas d'hyperplasie non fonctionnelle des cellules épithéliales des canaux galactophores. Dans des très rares cas, le sein est l'objet d'une transformation tumorale maligne. Il s'agit alors, comme chez la femme, d'adénocarcinomes qui se développent à partir des cellules épithéliales tapissant les canaux.

Le cancer du sein chez l'homme survient à partir de l'âge de 60 ans et son TIS-M est estimé à un peu moins de 1 pour 100 000 personnes-années et ce quel que soit le pays considéré (Contractor et coll., 2008). Il est admis que le cancer du sein chez l'homme correspond à la même entité pathologique que celle décrite chez la femme (Thomas, 1993). On y observe les mêmes types histologiques, l'expression des mêmes récepteurs hormonaux (aux œstrogènes notamment) et une fréquence élevée de mutations des gènes *BRCA1* ou *BRCA2* (Stalsberg et coll., 1993 ; Thomas, 1993). L'étiologie est inconnue mais il est bien établi que les entités nosologiques associées à des déséquilibres entre androgènes et œstrogènes, notamment le syndrome de Klinefelter, favorisent la survenue du cancer du sein (Fentiman, 2018). L'exposition à des radiations ionisantes est un facteur de risque unanimement reconnu. À l'inverse, le rôle des expositions à des champs électromagnétiques ou à la chaleur (foyers thermiques radiants) est encore débattu (Weiss et coll., 2005 ; Fentiman et coll., 2006 ; Ruddy et Winer, 2013). Il existe très peu d'études s'intéressant au rôle des pesticides dans la survenue du cancer du sein chez l'homme. Une cohorte historique suédoise comprenant 1 779 646 employés, entreprise en 1971 et ayant fait l'objet d'un suivi de 19 ans, n'a pu observer de lien entre des métiers exercés dans le secteur agricole et le risque de survenue du cancer du sein (Pollán et coll., 2001). Une étude portant sur 178 cas et 1 041 témoins aux États-Unis n'a pas montré d'associations entre l'exposition professionnelle aux herbicides ou à d'autres types de pesticides et le risque de survenue de la maladie (Cocco et coll., 1998). En Europe, une étude ayant comparé 104 cas à 1 901 témoins

n'a pas montré d'excès de risque chez les agriculteurs, qu'ils soient exploitants ou salariés (Villeneuve et coll., 2010). À ce jour, aucune étude portant sur des familles chimiques ou matière active et le risque de cancer du sein chez l'homme n'a été publiée. Cela n'est guère surprenant tenant compte de la rareté de la maladie. Pour autant, les quelques études réalisées à ce jour ne soutiennent pas un rôle important des pesticides dans la genèse du cancer du sein masculin.

Données mécanistiques

Les études épidémiologiques existantes ne permettent pas à l'heure actuelle de conclure sur la présomption d'un lien entre l'exposition à des pesticides considérés dans leur ensemble et une augmentation du risque de cancer du sein mais elles rapportent des signaux pour certains organochlorés, tels que la dieldrine ou le DDT/DDE ou des organophosphorés (chlorpyrifos...). Afin d'éclairer l'implication potentielle de ces substances, une recherche bibliographique a été menée sur les mécanismes biologiques moyennant lesquels elles pourraient favoriser la survenue du cancer du sein. Certains de ces pesticides sont interdits d'utilisation en Europe (par exemple, la dieldrine ou le DDT, non autorisés depuis 1978), mais ils sont persistants dans l'environnement, imprègnent la plupart des populations et restent donc une préoccupation pour la santé publique. Cette recherche bibliographique a été élargie à des pesticides pour lesquels on ne dispose pas de données épidémiologiques mais dont la littérature rapporte des propriétés hormonales (perturbateurs endocriniens) et cancérigènes susceptibles d'avoir un rôle dans la survenue du cancer du sein : les insecticides néonicotinoïdes (notamment le thiaclopride)⁵² et l'herbicide glyphosate (voir chapitre « Glyphosate et formulations à base de glyphosate »).

Dieldrine, DDT et autres pesticides organochlorés

Certaines études épidémiologiques ont souligné la présence d'une association entre l'exposition à certains organochlorés, comme le DDT ou la dieldrine, et la survenue du cancer du sein. Ses effets biologiques sont donc décrits plus

52. Le thiaclopride fait l'objet d'une classification harmonisée au niveau européen comme substance « susceptible de provoquer le cancer » (Carc 2/H351). Ce composé et d'autres pesticides néonicotinoïdes ont fait l'objet d'un avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) relatif à « l'impact sur la santé humaine des substances néonicotinoïdes autorisées dans les produits phytopharmaceutiques et les produits biocides ». Saisine n° 2016-SA-0104. 2016. 45 p (<https://www.anses.fr/fr/system/files/BIOC2016SA0104.pdf> [consulté le 5 mai 2020]).

spécifiquement ci-après (figure 13.1) avec parfois d'autres organochlorés présentant des propriétés similaires (ou parfois opposées) sur le plan mécanistique.

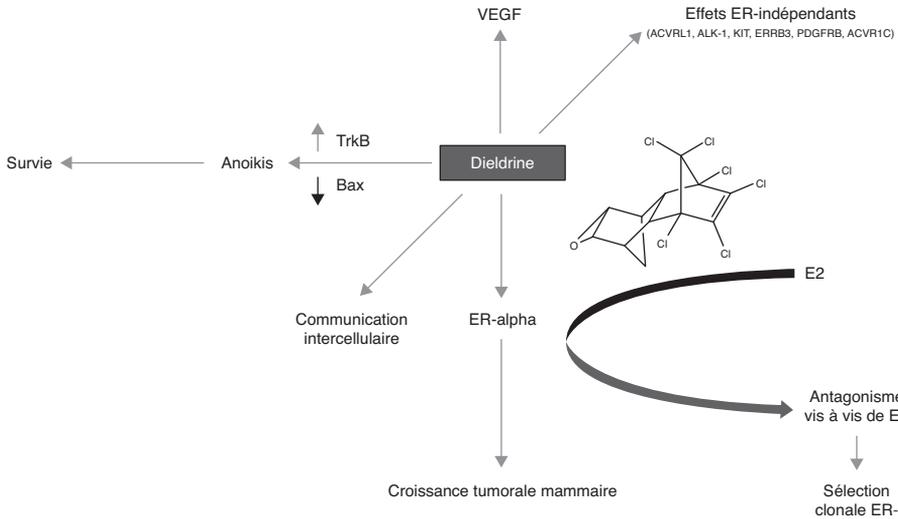


Figure 13.1 : Résumé des effets de la dieldrine en lien avec un effet susceptible de favoriser la survenue du cancer du sein

Environ deux tiers des cas de cancer du sein sont hormono-dépendants, c'est-à-dire qu'ils sont sensibles aux œstrogènes ou à la progestérone. Les cellules cancéreuses expriment des récepteurs aux œstrogènes (ER) et/ou de la progestérone qui régulent la prolifération cellulaire, et le statut ER+ ou ER- conditionne le pronostic et donc le choix des traitements. De ce fait, de nombreuses études de toxicologie expérimentale portant sur le rôle des pesticides dans l'initiation ou la promotion du cancer du sein se sont intéressées au potentiel d'activation des récepteurs hormonaux, et en particulier de l'ER α (*estrogen receptor alpha*). L'action des pesticides qui affectent le système œstrogénique (c'est-à-dire qui ont des effets de perturbateurs endocriniens), ne concerne pas que les récepteurs mais également d'autres étapes comme la production des hormones.

De nombreuses études ont porté sur le potentiel œstrogénique des organochlorés ; ainsi, en 1994, un article montre que le toxaphène (mélange complexe de molécules chlorées), la dieldrine et l'endosulfan ont des propriétés similaires à celles du DDT et du chlordécone, molécules pro-œstrogéniques mais présentant des affinités très inférieures à celles de l'œstradiol (Soto et coll., 1994). Ces effets sont souvent étudiés en utilisant *in vitro* le modèle MCF-7, cellule tumorale mammaire humaine exprimant le ER α

dont la croissance est dépendante d'un stimulus œstrogénique (Verma et coll., 1997 ; Arcaro et coll., 1998 ; Charles et coll., 2002 ; Rasmussen et Nielsen, 2002 ; Aube et coll., 2011) ou *in vivo* un modèle de croissance utérine chez les rongeurs (très sensible à l'imprégnation œstrogénique) (Ramamoorthy et coll., 1997 ; Wade et coll., 1997). Les effets pro-œstrogéniques observés dans les cellules MCF-7 ont été confirmés dans d'autres lignées tumorales mammaires humaines ER+ comme les T47D (Legler et coll., 1999). Les organochlorés ont en général des effets pro-œstrogéniques pour des concentrations supérieures à 1 µM (c'est-à-dire relativement élevées) (Andersen et coll., 2002). Toutefois, le toxaphène peut être décrit comme faiblement anti-œstrogénique car il peut réduire la formation de « foci » de cellules MCF-7 en présence d'œstradiol. Toutefois, il ne semble pas en mesure de lier le récepteur ER α , il semblerait donc important de confirmer ce dernier résultat et d'apporter des éléments mécanistiques pour expliquer la réduction du nombre de foci, précédemment décrite (Arcaro et coll., 2000).

Une étude plus récente a utilisé des lignées tumorales HeLa exprimant de manière stable ER α ou ER β ainsi qu'un gène rapporteur pour mesurer l'activation des récepteurs œstrogéniques par une cinquantaine de pesticides, dont 14 organochlorés (Lemaire et coll., 2006). Un traitement pendant 16 h avec les agents à une concentration de 10 µM provoque l'activation de l'ER α et de l'ER β pour cinq des organochlorés testés ; chlordane, o,p'-DDT (seul et en mélange avec le p,p'-DDT), *trans*-nonachlore, toxaphène. Cinq des pesticides organochlorés activaient l'ER α uniquement ; chlordécone, dieldrine, endosulfan, endrine, méthoxychlore. Un effet de compétition avec l'œstradiol (ou antagonisme des organochlorés vis-à-vis de l'œstradiol et du ER α) a été montré pour le chlordécone, le méthoxychlore, l'endosulfan, l'endrine, la dieldrine et l'aldrine. On peut ainsi noter que la dieldrine active l'ER α (considéré comme pro-tumoral car favorisant la prolifération) et pas l'ER β (souvent associé à un bon pronostic après analyse histologique de tumeurs mammaires).

D'autres mécanismes d'action ont toutefois été décrits. Ainsi, une des conséquences de l'exposition aux organochlorés est une perturbation de la communication intercellulaire par jonction lacunaire. Le traitement des cellules mammaires non tumorales avec la dieldrine inhibe la communication intercellulaire après 30 minutes et l'effet persiste pendant 24 h, tandis que pour le DDT et le toxaphène une inhibition réversible est observée après 90 minutes (Kang et coll., 1996). La rapidité de ces effets, qui ont été constatés à des concentrations relativement élevées, suggère l'activation de voies de signalisation non transcriptionnelles. De même, Cameron et Foster montrent que la dieldrine bloque l'apoptose de cellules MDA-MB-231

induite par leur détachement du support de culture (anoïkis⁵³). Les doses utilisées (0,5-10 μM ou 0,2-3,8 ppm) ont été sélectionnées sur la base d'une modélisation simple en comparaison des concentrations retrouvées dans le tissu mammaire (épithélium et adipocytes, 0,17-0,90 ppm). La résistance à l'anoïkis est observée à partir de 5 μM et est associée avec une diminution de l'expression de l'effecteur pro-apoptotique Bax (Cameron et Foster, 2008). L'effet est bloqué par un antagoniste du récepteur tyrosine kinase TrkB, dont l'expression est aussi augmentée *in vivo* dans un modèle murin de tumorigenèse mammaire (Cameron et Foster, 2009). Cette action de la dieldrine sur un récepteur tyrosine kinase est à mettre en parallèle de celle observée par Buteau-Lozano et coll. qui montrent une augmentation de sécrétion et production de VEGF (facteur clé intervenant dans l'angiogenèse) dans une lignée dérivée des cellules MCF-7 (Buteau-Lozano et coll., 2008).

D'autres gènes cibles potentiels des organochlorés ont d'ailleurs été caractérisés à l'aide d'une lignée primaire de cellules mammaires humaines (Valerón et coll., 2009). Le traitement avec un mélange de plusieurs organochlorés (p,p'-DDD ; p,p'-DDE ; o,p'-DDE ; aldrine ; dieldrine) conduit à une augmentation de l'expression de plusieurs gènes (sur 94 testés) dont *ACVRL1* (inhibition de l'angiogenèse), *KIT* et *ERBB3* (récepteurs dont l'activation conduit à une prolifération cellulaire), *PDGFRB* (récepteur pro-angiogénique) et *ACVR1C* (récepteur apparenté à ceux activés par le TGF- β), aucun d'entre eux n'étant stimulé par l'œstradiol. Les organochlorés ont été testés à des concentrations 100 fois supérieures à celles constatées dans le sérum d'une population générale espagnole (Îles Canaries). De telles concentrations sont pertinentes dans la mesure où il est assumé pour de nombreux organochlorés que leurs concentrations dans les tissus adipeux sont 100 fois supérieures à celles mesurées dans le sérum. Cette étude suggère l'existence de mécanismes stimulés par les organochlorés autres que les récepteurs aux œstrogènes dans les cellules mammaires.

Une revue récente sur les propriétés carcinogéniques de la dieldrine a souligné que les études épidémiologiques sont contrastées et comportent des biais méthodologiques liés au défaut de caractérisation de l'exposition directe au pesticide (Stern, 2014). Néanmoins, l'article soulève un point intéressant concernant le statut des tumeurs vis-à-vis de l'expression du ER α , suggérant

53. L'anoïkis, du grec ancien « sans domicile fixe », représente un mode d'élimination physiologique des cellules par un mécanisme d'apoptose consécutif à une rupture des communications entre une cellule et son environnement. D'abord décrite pour des cellules épithéliales, cette apoptose par détachement a été identifiée depuis dans d'autres types cellulaires, épithéliaux ou mésenchymateux. Alors qu'un excès de mort par anoïkis observé dans un contexte protéolytique (dans lequel les communications cellules-matrice extracellulaire sont rompues) participe aux maladies dégénératives, à l'inverse, une résistance marquée au phénomène d'anoïkis permet aux cellules cancéreuses de se disséminer (d'après Meilhac et Michel, 2005).

que la dieldrine soit plutôt associée aux cancers ER⁻ (et ainsi un mode d'action non œstrogénique). Ces éléments doivent être interprétés avec prudence car ils peuvent avoir une dimension temporelle ; on pourrait ainsi poser l'hypothèse que l'antagonisme de la dieldrine vis-à-vis de l'œstradiol par compétition sur le même site de liaison sur le ER α , favorise lors de la sélection clonale, les cellules tumorales pouvant se multiplier sans dépendance du ER α .

Chlorpyrifos

Des études épidémiologiques issues de la cohorte AHS ont montré que l'exposition au chlorpyrifos (CPF) chez les femmes agricultrices ou conjointes d'agriculteurs était associée, à la limite de la signification statistique, à un excès de risque de survenue du cancer du sein. Existe-t-il des données mécanistiques qui peuvent renforcer la plausibilité de l'association observée ?

Une étude *in vitro* a évalué la capacité d'une vingtaine de pesticides, dont le chlorpyrifos, à provoquer l'activation du récepteur ER α et de stimuler la prolifération d'une lignée de cellules humaines mammaires tumorales (MCF-7), mais ce dernier n'a pas montré d'effets sur la prolifération cellulaire (Vinggaard et coll., 1999). Des expérimentations plus récentes vont dans ce sens et ne démontrent que de très faibles effets cytotoxiques, prolifératifs et de la stimulation de l'ER sur cette même lignée de cellules à des doses élevées ($\geq 50 \mu\text{M}$) (Andersen et coll., 2002).

Ventura et coll. ont comparé l'effet du CPF sur les lignées MCF-7 et MDA-MB-231 en utilisant une plus large gamme de concentration. Une légère diminution de la prolifération associée à un blocage d'un des points de contrôle du cycle cellulaire a été observée à $50 \mu\text{M}$ (Ventura et coll., 2012), un effet cytotoxique a également été démontré par Rich et coll. sur les cellules MCF-7 traitées avec le CPF à $10 \mu\text{M}$ (Rich et coll., 2012). Ces résultats ont été confirmés dans une étude subséquente par Ventura et coll. qui montrent que ce blocage est lié à une altération des défenses anti-oxydantes (toujours à $50 \mu\text{M}$) avec une phosphorylation de ERK1/2 provoquée par les espèces réactives de l'oxygène (H_2O_2) (Ventura et coll., 2015). Considérées dans leur ensemble, ces données vont dans le sens d'une absence d'effet (ou d'un faible effet) du CPF à forte dose (figure 13.2).

Toutefois, l'un des effets les plus intéressants est observé dans une de ces études : celle utilisant une large gamme de concentration et pour la très faible dose de 50 nM (selon un traitement d'une durée de 10 jours). À cette concentration ($1\,000 \times$ plus faible que celle pour laquelle un blocage des points de contrôle du cycle est observé), une augmentation de la prolifération est observée (de 46 %), phénomène bloqué par un antagoniste du ER α ainsi

qu'une phosphorylation de la tyrosine 537 du récepteur et une augmentation de l'expression des cyclines D1 et E, qui permettent l'avancement du cycle cellulaire (Ventura et coll., 2012). Sur de plus courtes périodes de traitement et à des doses encore plus faibles (10 nM, 48 h), cet effet n'est pas observé (Rich et coll., 2012) soulignant que cet effet pro-œstrogénique du CPF serait observé à de faibles doses mais aussi sur de longues périodes d'exposition.

Ces effets de perturbation œstrogénique, possiblement non liée à une liaison directe du CPF au ER α mais plutôt à des modifications post-traductionnelles comme une phosphorylation du récepteur, sont aussi observés *in vivo*. L'exposition de rates Wistar au CPF (0,1 ou 2,5 mg/kg/j pendant 8 semaines par gavage) conduit à une perturbation du cycle ovarien caractérisé par un prolongement du métoestrus (période correspondant au début de la maturation de l'endomètre et à la synthèse de progestérone) et des anomalies histologiques de la glande mammaire, de l'utérus et de l'ovaire (suggérant des effets pro-œstrogéniques) (Nishi et Hundal, 2013). Une exposition à des doses encore plus faibles (0,01 et 1 mg/kg pc/j pendant une période doublée de 100 jours) de rates Sprague-Dawley adultes, révèle également une perturbation de l'architecture de la glande mammaire, des hyperplasies et au niveau moléculaire, une expression augmentée du récepteur de la progestérone et du marqueur de prolifération PCNA (*proliferating cell nuclear antigen*) et, à l'inverse, une réduction de l'expression de corépresseurs des récepteurs des œstrogènes. Les concentrations sériques de l'œstradiol, de la progestérone et de l'hormone lutéinisante (LH) sont diminuées (Ventura et coll., 2016). Les mêmes auteurs ont étudié l'effet de l'exposition chronique au CPF (aux mêmes doses que précédemment ; 0,01 et 1 mg/kg pc/j) sur l'incidence de tumeurs induites par le N-nitroso-N-méthylurée ; les deux doses de CPF provoquent une réduction de la période de latence tumorale (Ventura et coll., 2019).

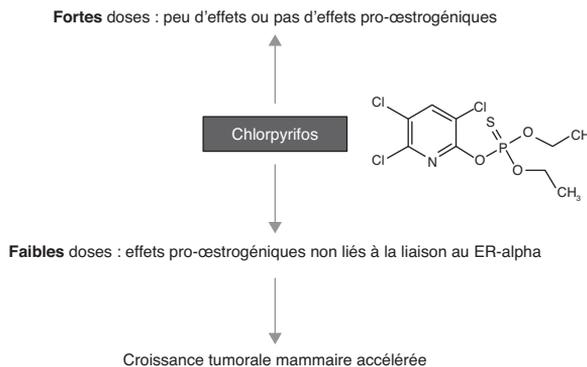


Figure 13.2 : Résumé des effets du chlorpyrifos en lien avec un effet susceptible de favoriser la survenue du cancer du sein

Néonicotinoïdes

La majorité des cas du cancer du sein sont caractérisés par une surexpression de l'aromatase, l'enzyme catalysant la conversion des androgènes en œstrogènes, ce qui a pour effet de stimuler la prolifération de cellules tumorales œstrogéno-dépendantes (Zhao et coll., 2016). En 2016, Caron-Baudoin et coll., partant du fait que certains pesticides comme l'atrazine (interdite au sein de l'UE en 2003) sont des activateurs de l'expression de l'aromatase, ont évalué les effets de trois pesticides de la famille des néonicotinoïdes sur ce système (Caron-Beaudoin et coll., 2016). L'imidaclopride, le thiaclopride, et le thiaméthoxame ont été testés à des concentrations entre 0,1 et 10 μM sur une lignée cellulaire humaine de carcinome surrénalien (H295R) et une lignée de cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine (HUVEC). Les résultats sont intéressants à plus d'un titre (figure 13.3). Le thiaclopride et le thiaméthoxame présentent un profil activant l'expression de l'aromatase (pour l'un de ses promoteurs), tandis que l'imidaclopride a un effet inhibiteur sur les cellules H295R. Les effets sont de nature non-monotone dans ces mêmes cellules, avec une activation significative (12,7x) de l'aromatase par le thiaclopride à 0,3 μM ou par le thiaméthoxame à 0,1 μM (12,2x ou 15,7x en fonction du promoteur considéré) qui n'est plus ou très faiblement observée à des doses plus élevées. Les auteurs renforcent leur démonstration par la mesure de la viabilité cellulaire qui est inchangée à toutes les doses évaluées. La diminution observée avec le traitement à l'imidaclopride (3 μM) n'est plus constatée aux doses supérieures. Ces effets sont cellule-spécifiques car non observés dans les expériences sur les HUVEC. La mesure d'activité de l'enzyme aromatase dans les cellules H295R, suit les profils d'expression, détaillés ci-dessus.

Le même groupe a analysé les effets de ces mêmes substances actives sur les cellules H295R dans un contexte de co-culture avec des cellules placentaires BeWo (choriocarcinome ou modèle de trophoblaste). En présence de chacun des trois néonicotinoïdes, l'activité aromatase n'augmente pas dans les cellules BeWo, tandis que l'enzyme est activée à des doses relativement faibles dans les cellules H295R (par exemple pour le thiaclopride dès 0,1 μM). Cette augmentation est associée à une stimulation de la production d'œstradiol et d'œstrone, mais pas d'œstriol qui diminue fortement probablement en lien avec une augmentation d'expression du cytochrome P450 3A7 qui métaboliserait les pesticides au lieu de produire un précurseur de cette hormone (Caron-Beaudoin et coll., 2017).

Enfin, une augmentation de l'expression et de l'activité de l'aromatase a aussi été montrée dans les cellules tumorales mammaires Hs578t, toujours selon des courbes dose-réponse non monotones pour le thiaclopride (activation à

partir de 0,1 μM effet maximum à 0,3 μM) et l'imidaclopride (activation à partir de 0,1 μM , effet maximum à cette même concentration) (Caron-Beaudoin et coll., 2018). Les auteurs ont utilisé des inhibiteurs pharmacologiques de voies de signalisation afin d'éclairer les mécanismes potentiellement impliqués : les deux néonicotinoïdes utiliseraient stimuler la voie de la phospholipase (le thiaclopride stimulant également la voie MEK/MAPK 1/3 qui, indépendamment de son effet sur la transcription de l'aromatase, stimulerait la prolifération cellulaire). Cette description est importante car l'une des voies les plus étudiées en première intention pour tester un effet pro-tumoral dans le contexte du cancer du sein est celle des récepteurs aux œstrogènes (l'isoforme $\text{ER}\alpha$ jouant un rôle pro-prolifératif). Or, Mesnage et coll. ont récemment évalué le potentiel œstrogénique de sept néonicotinoïdes les plus utilisés à travers un test de prolifération des cellules MCF-7 qui a démontré qu'aucun d'entre eux n'activait le $\text{ER}\alpha$ (de même pour le récepteur aux hormones thyroïdiennes sur des cellules GH3) (Mesnage et coll., 2018).

La démonstration d'un effet stimulateur de l'expression de l'aromatase par les néonicotinoïdes suggère donc que la concentration locale d'œstrogènes pourrait augmenter à de faibles doses (effet non observé à de plus faibles doses, courbes non monotones) d'exposition à ces pesticides dans certains types cellulaires dont la cellule tumorale mammaire, stimulant ainsi les voies œstrogéniques et la prolifération de clones tumoraux (sans effet direct des néonicotinoïdes sur le $\text{ER}\alpha$).

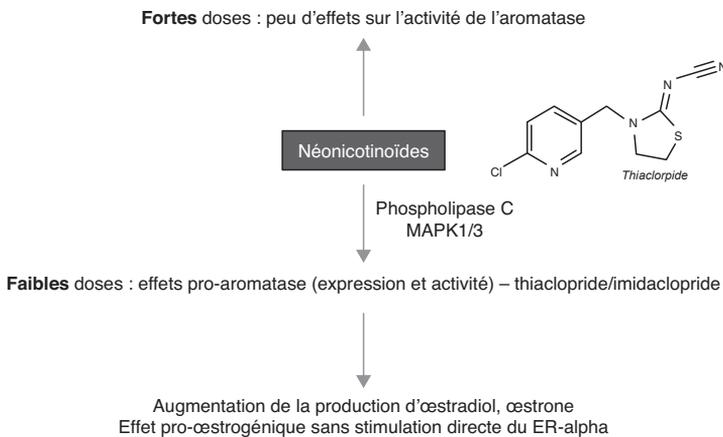


Figure 13.3 : Résumé des effets de néonicotinoïdes en lien avec un effet susceptible de favoriser la survenue du cancer du sein

Glyphosate

Les données mécanistiques détaillées dans le chapitre « Glyphosate et formulations à base de glyphosate » de la présente expertise collective montrent que le glyphosate et les formulations à base de glyphosate (*glyphosate-based herbicides* ; GBH) pourraient exercer des effets génotoxiques mais apparemment non mutagènes (figure 13.4). Ceci va dans le sens d'une absence d'effet initiateur du glyphosate. Toutefois, associé à un agent initiateur, il pourrait exercer un effet promoteur à des doses plus faibles que celles préalablement testées ; celui-ci reposerait sur divers mécanismes d'action qui rentrent également dans le cadre de la perturbation endocrinienne.

Le glyphosate a des effets pro-œstrogéniques à des concentrations inférieures à 1 μM (Lin et Garry, 2000 ; Hokanson et coll., 2007 ; Mesnage et coll., 2017), voire de l'ordre de 10^{-11} M, ce qui suggère que l'effet est médié par le ER α (Thongprakaisang et coll., 2013 ; Sritana et coll., 2018). Cet effet « faible dose » est à opposer à ceux observés par exemple par Li et coll. qui montrent que des concentrations de glyphosate comprises entre 15 et 50 mM bloquent la croissance de certaines lignées cancéreuses (Li et coll., 2013). Ceci est aussi observé avec l'AMPA, son produit de dégradation (Parajuli et coll., 2015 ; Parajuli et coll., 2016). Des processus apoptotiques sont stimulés à ces fortes doses, par exemple par l'AMPA dès 50 mM (Li et coll., 2013). Dans le contexte d'une exposition au glyphosate à des concentrations pertinentes sur le plan environnemental (de l'ordre de 1 μM à 1 pM), une liaison du glyphosate au ER α n'a pas été mise en évidence à ce jour (EPA, 2015). En revanche, Mesnage et coll. suggèrent une activation de ce récepteur par d'autres mécanismes (par exemple, activation de kinases et phosphorylation du ER α) (Mesnage et coll., 2017). Dans cette étude utilisant de nombreuses techniques, les auteurs montrent ainsi que le glyphosate active la protéine kinase A qui phosphoryle et active le ER α en l'absence d'un de ses ligands. Par ailleurs, une étude de transcriptomique menée sur des lignées cancéreuses mammaires ER+ et ER- montre que le GBH Roundup (à faibles concentrations sur de courtes durées d'exposition) et l'AMPA affectent des fonctions telles que la régulation du cycle cellulaire, la réparation de l'ADN et l'intégrité mitochondriale (Stur et coll., 2019).

Une perturbation de la stéroïdogénèse est observée dans plusieurs études (Walsh et coll., 2000 ; Romano et coll., 2012 ; Owagboriaye et coll., 2017). Cet effet peut être constaté avec du Roundup et pas du glyphosate, soulignant la plus forte toxicité des formulations (Walsh et coll., 2000 ; Romano et coll., 2012). Cet effet pourrait impacter indirectement la glande mammaire qui est sensible aux stéroïdes. Le cas de l'aromatase est intéressant car son inhibition par le Roundup suggère une baisse de la concentration locale

d'œstrogènes (Defarge et coll., 2016) expliquant la perturbation du développement de la glande mammaire constatée dans certaines études chez les rongeurs (Gomez et coll., 2019). Cet effet est toutefois sujet à controverse (Altamirano et coll., 2018). Ces effets sont transposables à d'autres organes comme l'utérus au niveau duquel un effet prolifératif est constaté à certains stades précoces (mais pas tardifs) ; les GBH pourraient ainsi en fonction du stade de développement activer ou inhiber les voies ER (Guerrero Schimpf et coll., 2017). Les mêmes auteurs suggèrent qu'une exposition précoce au GBH augmente la sensibilité de l'utérus à l'œstradiol (Guerrero Schimpf et coll., 2018). Ces résultats, pris dans leur ensemble, vont dans le sens d'une activité de perturbation endocrinienne du glyphosate, mais ces effets demeurent complexes car il peut présenter des propriétés anti-œstrogénique de par son action sur l'aromatase et pro-œstrogénique de par l'hypersensibilisation à l'action de l'œstradiol.

Finalement, des effets épigénétiques transgénérationnels sont aussi suspectés et peuvent toucher des acteurs des voies de signalisation évoqués précédemment. Une exposition de rates gravides à 350 mg/kg pc/j de GBH et un suivi des femelles F1 a mis en évidence une diminution de la méthylation du promoteur ER α (ainsi que des modifications post-traductionnelles des histones) associée à une augmentation du niveau de son ARN messager (Lorenz et coll., 2019). Ceci pourrait conduire à une augmentation de la sensibilité de certains organes vis-à-vis des œstrogènes, un phénomène déjà constaté dans d'autres contextes et qu'il serait intéressant d'étudier dans la glande mammaire.

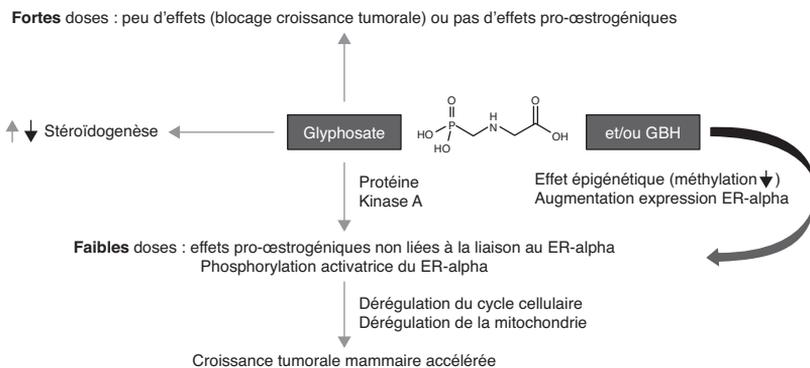


Figure 13.4 : Résumé des effets du glyphosate en lien avec un effet susceptible de favoriser la survenue du cancer du sein

Conclusion

Les études épidémiologiques publiées ces dernières années, prises dans leur ensemble, n'apportent pas d'éléments supplémentaires permettant de réviser les conclusions de la précédente expertise collective de l'Inserm selon laquelle il n'est pas possible d'établir de liens convaincants entre l'exposition professionnelle ou environnementale à des pesticides et la survenue du cancer du sein. Néanmoins, de nouveaux travaux issus de la cohorte AHS ont montré que l'exposition professionnelle à des insecticides organophosphorés, notamment le chlorpyrifos, et dans une moindre mesure le terbufos et le coumaphos, pourraient être associés à un risque augmenté de cancer du sein. Ces associations, à la limite de la signification statistique, mériteraient d'être confirmées par des études complémentaires.

L'immense majorité des études épidémiologiques conduites à ce jour a porté sur des périodes d'exposition à l'âge adulte. Cependant, la possibilité d'une période d'exposition critique à un plus jeune âge (moins de 20 ans), évoquée dès 2007 par Cohn et coll. est toujours d'actualité notamment pour ce qui concerne l'insecticide DDT. En effet, des publications récentes ont continué à pointer l'influence d'une exposition pendant la grossesse ou à un âge précédent ou juste après la puberté dans la survenue d'un cancer du sein avant la ménopause ou pendant la période de transition de la ménopause. Il est à noter que dans ces études, ces périodes d'âge d'exposition coïncident avec les années où l'utilisation du DDT dans le monde était très élevée. Restent donc deux questions en suspens. Est-ce que ces périodes d'exposition critique le sont toujours de nos jours dans la mesure où les niveaux d'exposition au DDT (ou à ses métabolites environnementaux tels que le DDE) ont fortement diminué ? Est-ce que ces périodes d'exposition seraient également critiques au regard d'autres pesticides ? Le manque d'études ne permet malheureusement pas d'y répondre.

S'agissant des aspects mécanistiques issus d'études expérimentales, le DDT comme la plupart des organochlorés ont un potentiel œstrogénique démontré à la fois *in vitro* et *in vivo*. Or, les cellules cancéreuses mammaires exprimant le récepteur aux œstrogènes alpha, ont une prolifération stimulée en cas de liaison d'agonistes à cette protéine. D'autres mécanismes stimulés par les organochlorés autres que ceux passant par les récepteurs aux œstrogènes ont été par ailleurs décrits dans les cellules mammaires (altération des communications cellulaires, résistance à l'apoptose...). Cela confère une certaine plausibilité biologique aux études épidémiologiques portant sur des fenêtres d'exposition à un âge précoce de la vie.

Pour ce qui concerne les insecticides organophosphorés, notamment le chlorpyrifos, les études mécanistiques divergent en fonction des doses employées. À de fortes doses, aucun ou de faibles effets œstrogéniques sont constatés. À l'inverse, à de faibles doses des effets pro-œstrogéniques sont constatés par des mécanismes impliquant une stimulation du ER α mais sans liaison directe au récepteur et plutôt par des modifications post-traductionnelles. Ces éléments, susceptibles d'apporter de la plausibilité biologique aux associations observées dans les rares études épidémiologiques concernant le chlorpyrifos, sont encore peu nombreux et mériteraient d'être investigués plus en détail.

Des travaux expérimentaux ont été également réalisés sur d'autres substances (néonicotinoïdes et glyphosate) sans que l'on puisse pour l'instant aboutir à de réelles conclusions en l'absence de données épidémiologiques.

RÉFÉRENCES

- Un ou plusieurs auteurs sont affiliés à une industrie des phytosanitaires.
- Alavanja MCR, Ross MK, Bonner MR. Increased cancer burden among pesticide applicators and others due to pesticide exposure. *CA Cancer J Clin* 2013 ; 63 : 120-42.
- Altamirano GA, Delconte MB, Gomez AL, *et al.* Postnatal exposure to a glyphosate-based herbicide modifies mammary gland growth and development in Wistar male rats. *Food Chem Toxicol* 2018 ; 118 : 111-8.
- Andersen HR, Vinggaard AM, Rasmussen TH, *et al.* Effects of currently used pesticides in assays for estrogenicity, androgenicity, and aromatase activity in vitro. *Toxicol Appl Pharmacol* 2002 ; 179 : 1-12.
- Arcaro KF, Yang Y, Vakharia DD, *et al.* Toxaphene is antiestrogenic in a human breast-cancer cell assay. *J Toxicol Environ Health A* 2000 ; 59 : 197-210.
- Arcaro KF, Vakharia DD, Yang Y, *et al.* Lack of synergy by mixtures of weakly estrogenic hydroxylated polychlorinated biphenyls and pesticides. *Environ Health Perspect* 1998 ; 106 Suppl 4 : 1041-6.
- Arrebola JP, Belhassen H, Artacho-Cordón F, *et al.* Risk of female breast cancer and serum concentrations of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls: a case-control study in Tunisia. *Sci Total Environ* 2015 ; 520 : 106-13.
- Ashley-Martin J, VanLeeuwen J, Cribb A, *et al.* Breast cancer risk, fungicide exposure and CYP1A1*2A gene-environment interactions in a province-wide case control study in Prince Edward Island, Canada. *Int J Environ Res Public Health* 2012 ; 9 : 1846-58.
- Attaullah M, Yousuf MJ, Shaukat S, *et al.* Serum organochlorine pesticides residues and risk of cancer: A case-control study. *Saudi J Biol Sci* 2018 ; 25 : 1284-90.

Aube M, Larochelle C, Ayotte P. Differential effects of a complex organochlorine mixture on the proliferation of breast cancer cell lines. *Environ Res* 2011 ; 111 : 337-47.

Band PR, Le ND, Fang R, *et al.* Identification of occupational cancer risks in British Columbia. A population-based case-control study of 995 incident breast cancer cases by menopausal status, controlling for confounding factors. *J Occup Environ Med* 2000 ; 42 : 284-310.

Ban KA, Godellas CV. Epidemiology of breast cancer. *Surg Oncol Clin N Am* 2014 ; 23 : 409-22.

Boada LD, Zumbado M, Henriquez-Hernandez LA, *et al.* Complex organochlorine pesticide mixtures as determinant factor for breast cancer risk: a population-based case-control study in the Canary Islands (Spain). *Environ Health* 2012 ; 11 : 28.

Buteau-Lozano H, Velasco G, Cristofari M, *et al.* Xenoestrogens modulate vascular endothelial growth factor secretion in breast cancer cells through an estrogen receptor-dependent mechanism. *J Endocrinol* 2008 ; 196 : 399-412.

Calle EE, Frumkin H, Henley SJ, *et al.* Organochlorines and breast cancer risk. *CA Cancer J Clin* 2002 ; 52 : 301-9.

Cameron HL, Foster WG. Developmental and lactational exposure to dieldrin alters mammary tumorigenesis in Her2/neu transgenic mice. *PLoS One* 2009 ; 4 : e4303.

Cameron HL, Foster WG. Dieldrin promotes resistance to anoikis in breast cancer cells in vitro. *Reprod Toxicol* 2008 ; 25 : 256-62.

Caron-Beaudoin E, Viau R, Sanderson JT. Effects of neonicotinoid pesticides on promoter-specific aromatase (CYP19) expression in Hs578t breast cancer cells and the role of the VEGF pathway. *Environ Health Perspect* 2018 ; 126 : 47014.

Caron-Beaudoin E, Viau R, Hudon-Thibeault A-A, *et al.* The use of a unique co-culture model of fetoplacental steroidogenesis as a screening tool for endocrine disruptors: The effects of neonicotinoids on aromatase activity and hormone production. *Toxicol Appl Pharmacol* 2017 ; 332 : 15-24.

Caron-Beaudoin E, Denison MS, Sanderson JT. Effects of neonicotinoids on promoter-specific expression and activity of aromatase (CYP19) in human adrenocortical carcinoma (H295R) and primary umbilical vein endothelial (HUVEC) Cells. *Toxicol Sci* 2016 ; 149 : 134-44.

Charles GD, Gennings C, Zacharewski TR, *et al.* Assessment of interactions of diverse ternary mixtures in an estrogen receptor-alpha reporter assay. *Toxicol Appl Pharmacol* 2002 ; 180 : 11-21. •

Cocco P, Figgs L, Dosemeci M, *et al.* Case-control study of occupational exposures and male breast cancer. *Occup Environ Med* 1998 ; 55 : 599-604.

Cohn BA, Cirillo PM, Terry MB. DDT and breast cancer: prospective study of induction time and susceptibility windows. *J Natl Cancer Inst* 2019 ; 111 : 803-10.

Cohn BA, La Merrill M, Krigbaum NY, *et al.* DDT Exposure in utero and breast cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2015 ; 100 : 2865-72.

- Cohn BA, Wolff MS, Cirillo PM, *et al.* DDT and breast cancer in young women: new data on the significance of age at exposure. *Environ Health Perspect* 2007 ; 115 : 1406-14.
- Colditz GA, Bohlke K. Priorities for the primary prevention of breast cancer. *CA Cancer J Clin* 2014 ; 64 : 186-94.
- Contractor KB, Kaur K, Rodrigues GS, *et al.* Male breast cancer: is the scenario changing. *World J Surg Oncol* 2008 ; 6 : 58.
- Cordina-Duverger E, Menegaux F, Popa A, *et al.* Night shift work and breast cancer: a pooled analysis of population-based case-control studies with complete work history. *Eur J Epidemiol* 2018 ; 33(4) : 369-79.
- Defarge N, Takacs E, Lozano VL, *et al.* Co-formulants in glyphosate-based herbicides disrupt aromatase activity in human cells below toxic levels. *Int J Environ Res Public Health* 2016 ; 13 : 264.
- Defossez G, Le Guyader-Peyrou S, Uhry Z, *et al.* *Étude à partir des registres des cancers du réseau Francim. Synthèse : Étude à partir des registres des cancers du réseau Francim Volume 1 – Tumeurs solides.* Saint-Maurice, France : Santé publique France, 2019 : 372 p.
- Deloumeaux J, Bhakkan-Mambir B, Peruvien J, *et al.* *Estimations régionales et départementales d'incidence et de mortalité par cancers en France, 2007-2016.* Guadeloupe. Santé publique France. Saint-Maurice, 2019 : 106 p.
- Duell EJ, Millikan RC, Savitz DA, *et al.* A population-based case-control study of farming and breast cancer in North Carolina. *Epidemiology* 2000 ; 11 : 523-31.
- El-Zaemey S, Heyworth J, Fritschi L. Noticing pesticide spray drift from agricultural pesticide application areas and breast cancer: a case-control study. *Aust N Z J Public Health* 2013 ; 37 : 547-55.
- Engel LS, Werder E, Satagopan J, *et al.* Insecticide use and breast cancer risk among farmers' wives in the Agricultural Health Study. *Environ Health Perspect* 2017 ; 125 : 97002.
- Engel LS, Hill DA, Hoppin JA, *et al.* Pesticide use and breast cancer risk among farmers' wives in the Agricultural Health Study. *Am J Epidemiol* 2005 ; 161 : 121-35.
- EPA. *EDSP: Weight of evidence analysis of potential interaction with the estrogen, androgen or thyroid pathways: Chemical: Glyphosate:* Office of Pesticide Programs, Office of Science Coordination and Policy, U.S. Environmental Protection Agency, 2015 : 70 p.
- Fentiman IS. The endocrinology of male breast cancer. *Endocr Relat Cancer* 2018 ; 25 : R365-R373.
- Fentiman IS, Fourquet A, Hortobagyi GN. Male breast cancer. *Lancet* 2006 ; 367 : 595-604.
- Garcia-Perez J, Lope V, Perez-Gomez B, *et al.* Risk of breast cancer and residential proximity to industrial installations: New findings from a multicase-control study (MCC-Spain). *Environ Pollut* 2018 ; 237 : 559-68.

- Gardner KM, Ou Shu X, Jin F, *et al.* Occupations and breast cancer risk among Chinese women in urban Shanghai. *Am J Ind Med* 2002 ; 42 : 296-308.
- Gomez AL, Altamirano GA, Leturia J, *et al.* Male mammary gland development and methylation status of estrogen receptor alpha in Wistar rats are modified by the developmental exposure to a glyphosate-based herbicide. *Mol Cell Endocrinol* 2019 ; 481 : 14-25.
- Guerrero Schimpf M, Milesi MM, Luque EH, *et al.* Glyphosate-based herbicide enhances the uterine sensitivity to estradiol in rats. *J Endocrinol* 2018 ; 239 : 197.
- Guerrero Schimpf M, Milesi MM, Ingaramo PI, *et al.* Neonatal exposure to a glyphosate based herbicide alters the development of the rat uterus. *Toxicology* 2017 ; 376 : 2-14.
- He T-T, Zuo A-J, Wang J-G, *et al.* Organochlorine pesticides accumulation and breast cancer: A hospital-based case-control study. *Tumour Biol* 2017 ; 39 : 1010428317699114.
- Hokanson R, Fudge R, Chowdhary R, *et al.* Alteration of estrogen-regulated gene expression in human cells induced by the agricultural and horticultural herbicide glyphosate. *Hum Exp Toxicol* 2007 ; 26 : 747-52.
- Holmes AK, Koller KR, Kieszak SM, *et al.* Case-control study of breast cancer and exposure to synthetic environmental chemicals among Alaska Native women. *Int J Circumpolar Health* 2014 ; 73 : 25760.
- Hoyer AP, Jorgensen T, Rank F, *et al.* Organochlorine exposures influence on breast cancer risk and survival according to estrogen receptor status: a Danish cohort-nested case-control study. *BMC Cancer* 2001 ; 1 : 8.
- Hoyer AP, Jorgensen T, Brock JW, *et al.* Organochlorine exposure and breast cancer survival. *J Clin Epidemiol* 2000 ; 53 : 323-30.
- Hunter DJ, Kelsey KT. Pesticide residues and breast cancer: the harvest of a silent spring? *J Natl Cancer Inst* 1993 ; 85 : 598-9.
- Ingber SZ, Buser MC, Pohl HR, *et al.* DDT/DDE and breast cancer: a meta-analysis. *Regul Toxicol Pharmacol* 2013 ; 67 : 421-33.
- Inserm. *Pesticides : Effets sur la santé*. Collection Expertise Collective. Paris : Inserm, 2013 : 1001 p.
- Jones ME, Schoemaker MJ, McFadden EC, *et al.* Night shift work and risk of breast cancer in women: the Generations Study cohort. *Br J Cancer* 2019 ; 121 : 172-9.
- Kang KS, Wilson MR, Hayashi T, *et al.* Inhibition of gap junctional intercellular communication in normal human breast epithelial cells after treatment with pesticides, PCBs, and PBBs, alone or in mixtures. *Environ Health Perspect* 1996 ; 104 : 192-200.
- Kelce WR, Stone CR, Laws SC, *et al.* Persistent DDT metabolite p,p'-DDE is a potent androgen receptor antagonist. *Nature* 1995 ; 375 : 581-5.

Khanjani N, Hoving JL, Forbes AB, *et al.* Systematic review and meta-analysis of cyclodiene insecticides and breast cancer. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev* 2007 ; 25 : 23-52.

Krieger N, Wolff MS, Hiatt RA, *et al.* Breast cancer and serum organochlorines: a prospective study among white, black, and Asian women. *J Natl Cancer Inst* 1994 ; 86 : 589-99.

Kristensen P, Andersen A, Irgens LM, *et al.* Incidence and risk factors of cancer among men and women in Norwegian agriculture. *Scand J Work Environ Health* 1996 ; 22 : 14-26.

Legler J, van den Brink, C E, Brouwer A, *et al.* Development of a stably transfected estrogen receptor-mediated luciferase reporter gene assay in the human T47D breast cancer cell line. *Toxicol Sci* 1999 ; 48 : 55-66.

Lemaire G, Mnif W, Mauvais P, *et al.* Activation of alpha- and beta-estrogen receptors by persistent pesticides in reporter cell lines. *Life Sci* 2006 ; 79 : 1160-9.

Lerro CC, Koutros S, Andreotti G, *et al.* Organophosphate insecticide use and cancer incidence among spouses of pesticide applicators in the Agricultural Health Study. *Occup Environ Med* 2015 ; 72 : 736-44.

Lin N, Garry V. In vitro studies of cellular and molecular developmental toxicity of adjuvants, herbicides, and fungicides commonly used in Red River Valley, Minnesota. *J Toxicol Environ Health A* 2000 ; 60 : 423-39.

Li Q, Lambrechts MJ, Zhang Q, *et al.* Glyphosate and AMPA inhibit cancer cell growth through inhibiting intracellular glycine synthesis. *Drug Des Devel Ther* 2013 ; 7 : 635-43.

Lopez-Cervantes M, Torres-Sanchez L, Tobias A, *et al.* Dichlorodiphenyldichloroethane burden and breast cancer risk: a meta-analysis of the epidemiologic evidence. *Environ Health Perspect* 2004 ; 112 : 207-14.

Lorenz V, Milesi MM, Schimpf MG, *et al.* Epigenetic disruption of estrogen receptor alpha is induced by a glyphosate-based herbicide in the preimplantation uterus of rats. *Mol Cell Endocrinol* 2019 ; 480 : 133-41.

Louis LM, Lerro CC, Friesen MC, *et al.* A prospective study of cancer risk among Agricultural Health Study farm spouses associated with personal use of organochlorine insecticides. *Environ Health* 2017 ; 16 : 95.

Macacu A, Autier P, Boniol M, *et al.* Active and passive smoking and risk of breast cancer: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat* 2015 ; 154 : 213-24.

McElroy JA, Gangnon RE, Newcomb PA, *et al.* Risk of breast cancer for women living in rural areas from adult exposure to atrazine from well water in Wisconsin. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 2007 ; 17 : 207-14.

Meilhac O, Michel J-B. Le devenir des cellules SDF. *Med Sci (Paris)* 2005 ; 21 : 119-20.

Mesnage R, Biserni M, Genkova D, *et al.* Evaluation of neonicotinoid insecticides for oestrogenic, thyroidogenic and adipogenic activity reveals imidacloprid causes lipid accumulation. *J Appl Toxicol* 2018 ; 38 : 1483-91.

- Mesnage R, Phedonos A, Biserni M, *et al.* Evaluation of estrogen receptor alpha activation by glyphosate-based herbicide constituents. *Food Chem Toxicol* 2017 ; 108 : 30-42.
- Mills PK, Dodge JL, Bush J, *et al.* Agricultural exposures and breast cancer among Latina in the San Joaquin Valley of California. *J Occup Environ Med* 2019 ; 61 : 552-8.
- Niehoff NM, Nichols HB, White AJ, *et al.* Childhood and adolescent pesticide exposure and breast cancer risk. *Epidemiology* 2016 ; 27 : 326-33.
- Nishi K, Hundal SS. Chlorpyrifos induced toxicity in reproductive organs of female Wistar rats. *Food Chem Toxicol* 2013 ; 62 : 732-8.
- Owagboriaye FO, Dedeke GA, Ademolu KO, *et al.* Reproductive toxicity of Roundup herbicide exposure in male albino rat. *Exp Toxicol Pathol* 2017 ; 69 : 461-8.
- Parada Jr H, Sun X, Tse C-K, *et al.* Plasma levels of dichlorodiphenyldichloroethene (DDE) and dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) and survival following breast cancer in the Carolina Breast Cancer Study. *Environ Int* 2019 ; 125 : 161-71.
- Parada Jr H, Wolff MS, Engel LS, *et al.* Organochlorine insecticides DDT and chlordane in relation to survival following breast cancer. *Int J Cancer* 2016 ; 138 : 565-75.
- Parajuli KR, Zhang Q, Liu S, *et al.* Aminomethylphosphonic acid inhibits growth and metastasis of human prostate cancer in an orthotopic xenograft mouse model. *Oncotarget* ; Vol 7, No 9 2016 ; 7 : 10616.
- Parajuli RK, Zhang Q, Liu S, *et al.* Aminomethylphosphonic acid and methoxyacetic acid induce apoptosis in prostate cancer cells. *Int J Mol Sci* 2015 ; 16 : 11750.
- Park J-H, Cha ES, Ko Y, *et al.* Exposure to dichlorodiphenyltrichloroethane and the risk of breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Osong Public Health Res Perspect* 2014 ; 5 : 77-84.
- Picon-Ruiz M, Morata-Tarifa C, Valle-Goffin JJ, *et al.* Obesity and adverse breast cancer risk and outcome: Mechanistic insights and strategies for intervention. *CA Cancer J Clin* 2017 ; 67 : 378-97.
- Pollán M, Gustavsson P, Floderus B. Breast cancer, occupation, and exposure to electromagnetic fields among Swedish men. *Am J Ind Med* 2001 ; 39 : 276-85.
- Pukkala E, Martinsen JI, Lynge E, *et al.* Occupation and cancer - follow-up of 15 million people in five Nordic countries. *Acta Oncol* 2009 ; 48 : 646-790.
- Ramamoorthy K, Wang F, Chen IC, *et al.* Estrogenic activity of a dieldrin/toxaphene mixture in the mouse uterus, MCF-7 human breast cancer cells, and yeast-based estrogen receptor assays: no apparent synergism. *Endocrinology* 1997 ; 138 : 1520-7.
- Rasmussen TH, Nielsen JB. Critical parameters in the MCF-7 cell proliferation bioassay (E-Screen). *Biomarkers* 2002 ; 7 : 322-36.
- Reynolds P, Hurley SE, Gunier RB, *et al.* Residential proximity to agricultural pesticide use and incidence of breast cancer in California, 1988-1997. *Environ Health Perspect* 2005 ; 113 : 993-1000.

- Rich JD, Gabriel SM, Schultz-Norton JR. In vitro effects of herbicides and insecticides on human breast cells. *ISRN Toxicol* 2012 ; 2012 : 232461.
- Romano MA, Romano RM, Santos LD, *et al.* Glyphosate impairs male offspring reproductive development by disrupting gonadotropin expression. *Arch Toxicol* 2012 ; 86 : 663-73.
- Ruddy KJ, Winer EP. Male breast cancer: risk factors, biology, diagnosis, treatment, and survivorship. *Ann Oncol* 2013 ; 24 : 1434-43.
- Salerno C, Carcagni A, Sacco S, *et al.* An Italian population-based case-control study on the association between farming and cancer: Are pesticides a plausible risk factor? *Arch Environ Occup Health* 2016 ; 71 : 147-56.
- Settimi L, Comba P, Carrieri P, *et al.* Cancer risk among female agricultural workers: a multi-center case-control study. *Am J Ind Med* 1999 ; 36 : 135-41.
- Silva AMC, Campos PHN, Mattos IE, *et al.* Environmental exposure to pesticides and breast cancer in a region of intensive agribusiness activity in Brazil: a case-control study. *Int J Environ Res Public Health* 2019 ; 16.
- Snedeker SM. Pesticides and breast cancer risk: a review of DDT, DDE, and dieldrin. *Environ Health Perspect* 2001 ; 109 Suppl 1 : 35-47.
- Soto AM, Chung KL, Sonnenschein C. The pesticides endosulfan, toxaphene, and dieldrin have estrogenic effects on human estrogen-sensitive cells. *Environ Health Perspect* 1994 ; 102 : 380-3.
- Sritana N, Suriyo T, Kanitwithayanun J, *et al.* Glyphosate induces growth of estrogen receptor alpha positive cholangiocarcinoma cells via non-genomic estrogen receptor/ERK1/2 signaling pathway. *Food Chem Toxicol* 2018 ; 118 : 595-607.
- Stalsberg H, Thomas DB, Rosenblatt KA, *et al.* Histologic types and hormone receptors in breast cancer in men: a population-based study in 282 United States men. *Cancer Causes Control* 1993 ; 4 : 143-51.
- Stern AH. Hazard identification of the potential for dieldrin carcinogenicity to humans. *Environ Res* 2014 ; 131 : 188-214.
- Stur E, Aristizabal-Pachon AF, Peronni KC, *et al.* Glyphosate-based herbicides at low doses affect canonical pathways in estrogen positive and negative breast cancer cell lines. *PLoS One* 2019 ; 14 : e0219610.
- Tayour C, Ritz B, Langholz B, *et al.* A case-control study of breast cancer risk and ambient exposure to pesticides. *Environ Epidemiol* 2019 ; 3.
- Thomas DB. Breast cancer in men. *Epidemiol Rev* 1993 ; 15 : 220-31.
- Thongprakaisang S, Thiantanawat A, Rangkadilok N, *et al.* Glyphosate induces human breast cancer cells growth via estrogen receptors. *Food Chem Toxicol* 2013 ; 59 : 129-36.
- Travis RC, Balkwill A, Fensom GK, *et al.* Night shift work and breast cancer incidence: three prospective studies and meta-analysis of published studies. *J Natl Cancer Inst* 2016 ; 108 : djw169.

Valerón PF, Pestano JJ, Luzardo OP, *et al.* Differential effects exerted on human mammary epithelial cells by environmentally relevant organochlorine pesticides either individually or in combination. *Chem Biol Interact* 2009 ; 180 : 485-91.

Ventura C, Zappia CD, Lasagna M, *et al.* Effects of the pesticide chlorpyrifos on breast cancer disease. Implication of epigenetic mechanisms. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2019 ; 186 : 96-104.

Ventura C, Nieto MRR, Bourguignon N, *et al.* Pesticide chlorpyrifos acts as an endocrine disruptor in adult rats causing changes in mammary gland and hormonal balance. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2016 ; 156 : 1-9.

Ventura C, Venturino A, Miret N, *et al.* Chlorpyrifos inhibits cell proliferation through ERK1/2 phosphorylation in breast cancer cell lines. *Chemosphere* 2015 ; 120 : 343-50.

Ventura C, Nunez M, Miret N, *et al.* Differential mechanisms of action are involved in chlorpyrifos effects in estrogen-dependent or -independent breast cancer cells exposed to low or high concentrations of the pesticide. *Toxicol Lett* 2012 ; 213 : 184-93.

Verma SP, Salamone E, Goldin B. Curcumin and genistein, plant natural products, show synergistic inhibitory effects on the growth of human breast cancer MCF-7 cells induced by estrogenic pesticides. *Biochem Biophys Res Commun* 1997 ; 233 : 692-6.

Villeneuve S, Fevotte J, Anger A, *et al.* Breast cancer risk by occupation and industry: analysis of the CECILE study, a population-based case-control study in France. *Am J Ind Med* 2011 ; 54 : 499-509.

Villeneuve S, Cyr D, Lynge E, *et al.* Occupation and occupational exposure to endocrine disrupting chemicals in male breast cancer: a case-control study in Europe. *Occup Environ Med* 2010 ; 67 : 837-44.

Vinggaard AM, Breinholt V, Larsen JC. Screening of selected pesticides for oestrogen receptor activation in vitro. *Food Addit Contam* 1999 ; 16 : 533-42.

Wade MG, Desaulniers D, Leingartner K, *et al.* Interactions between endosulfan and dieldrin on estrogen-mediated processes in vitro and in vivo. *Reprod Toxicol* 1997 ; 11 : 791-8.

Walsh LP, McCormick C, Martin C, *et al.* Roundup inhibits steroidogenesis by disrupting steroidogenic acute regulatory (StAR) protein expression. *Environ Health Perspect* 2000 ; 108 : 769-76.

Ward EM, Germolec D, Kogevinas M, *et al.* Carcinogenicity of night shift work. *Lancet Oncol* 2019 ; 20 : 1058-9.

Wegrzyn LR, Tamimi RM, Rosner BA, *et al.* Rotating night-shift work and the risk of breast cancer in the nurses' health studies. *Am J Epidemiol* 2017 ; 186 : 532-40.

Weiss JR, Moysich KB, Swede H. Epidemiology of male breast cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* 2005 ; 14 : 20.

Wielsøe M, Kern P, Bonefeld-Jorgensen EC. Serum levels of environmental pollutants is a risk factor for breast cancer in Inuit: a case control study. *Environ Health* 2017 ; 16 : 56.

Wiklund K, Dich J. Cancer risks among female farmers in Sweden. *Cancer Causes Control* 1994 ; 5 : 449-57.

Wolff MS, Toniolo PG, Lee EW, *et al.* Blood levels of organochlorine residues and risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1993 ; 85 : 648-52.

Zhao H, Zhou L, Shangguan AJ, *et al.* Aromatase expression and regulation in breast and endometrial cancer. *J Mol Endocrinol* 2016 ; 57 : R19-33.