

RENÉE DALLAIRE

**EXPOSITION AUX CONTAMINANTS ORGANIQUES  
ET EFFETS POTENTIELS SUR LES FONCTIONS  
THYROÏDIENNES CHEZ LA FEMME ENCEINTE,  
LE NOUVEAU-NÉ ET L'ADULTE**

Thèse présentée  
à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval  
dans le cadre du programme de doctorat en épidémiologie  
pour l'obtention du grade de Philosophiae Doctor (Ph.D.)

DÉPARTEMENT DE MÉDECINE SOCIALE ET PRÉVENTIVE  
FACULTÉ DE MÉDECINE  
UNIVERSITÉ LAVAL  
QUÉBEC

2009

© Renée Dallaire, 2009

## Résumé

De nombreux contaminants organiques ubiquistes, dont certains en augmentation dans l'environnement, semblent avoir la capacité de perturber le système thyroïdien. Ces effets sont soupçonnés d'être à l'origine des déficits neurologiques observés par exemple chez les enfants exposés *in utero* aux biphényles polychlorés. Les objectifs de ce projet consistaient à évaluer les effets de l'exposition chronique à des contaminants environnementaux sur les concentrations circulantes des hormones thyroïdiennes de la femme enceinte, du nouveau-né et de l'adulte inuits ainsi que de quantifier et d'identifier les déterminants de l'exposition à des contaminants en émergence chez la population adulte inuite du Nunavik en 2004. De façon générale, les résultats observés chez les nouveau-nés et la femme enceinte ne démontrent pas d'associations franches entre les concentrations des hormones thyroïdiennes et l'exposition à certains contaminants organiques persistants. Toutefois, des associations négatives entre les concentrations des biphényles polychlorés et les niveaux circulants de la thyroglobuline ont été observées chez les nouveau-nés. Également, les concentrations du pentachlorophénol chez les femmes enceintes en fin de grossesse étaient associées négativement avec les niveaux circulants de T<sub>4</sub> libre dans les cordons ombilicaux des nouveau-nés. Chez l'adulte, l'exposition à un mélange complexe de composés chlorés était associée à une réduction des concentrations de la T<sub>3</sub> totale et de la globuline. Par ailleurs, les concentrations plasmatiques des contaminants en émergence, tels le perfluorooctanesulfonate (PFOS) et les diphényles éthers polybromés (PBDEs) étaient également associées à des altérations des paramètres thyroïdiens. En 2004, les concentrations sanguines du PFOS et des PBDEs chez les adultes inuits du Nunavik étaient inférieurs à celles observées dans d'autres populations d'Amérique du Nord, mais similaires et supérieurs respectivement, à celles rapportées chez les populations européennes. L'augmentation des concentrations plasmatiques du PFOS avec l'âge et la consommation de poissons et de mammifères marins semblent indiquer que ce composé possède des propriétés physicochimiques qui le rendent persistant et bioaccumulable dans les chaînes alimentaires. Les sources d'exposition aux PBDEs n'ont pu être identifiées clairement dans cette étude. Par contre, la consommation de nourriture traditionnelle et le

style de vie des Inuit semblent les protéger contre l'exposition au PBDE congénère 47, un des plus prévalants chez l'humain.

## Abstract

Several ubiquitous organic contaminants, some of which are increasing in the environment, seem to possess thyroid-disrupting capacities. These effects are suspected to be the underlying causes of neurodevelopmental deficits in infants prenatally exposed to polychlorinated biphenyls. The objectives of this project were 1) to evaluate the effects of chronic exposure to environmental contaminants on circulating concentrations of thyroid hormones in pregnant women, newborns and adult Inuit as well as 2) to quantify and identify determinants of exposure to emerging contaminants in the Nunavik Inuit population in 2004. Overall, results from newborns and pregnant women do not demonstrate clear associations between thyroid hormone concentrations and exposure to some persistent organic pollutants. However, negative associations between polychlorinated biphenyl concentrations and circulating levels of thyroglobulin were observed in neonates. Furthermore, pentachlorophenol concentrations in pregnant women during their last trimester of pregnancy were negatively associated with umbilical cord free T<sub>4</sub> concentrations in newborns. In adults, exposure to a complex mixture of chlorinated compounds was related to a reduction in total T<sub>3</sub> and thyroglobulin concentrations. Moreover, plasma concentrations of emerging contaminants such as perfluorooctanesulfonate (PFOS) and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) were also associated with disruptions of thyroid parameters. In 2004, exposure levels of PFOS and PBDEs in Nunavik Inuit adults were lower compared to those observed in other North-American populations, but similar and higher respectively, to those reported among European populations. The increase of PFOS plasma concentrations with age as well as with fish and marine mammal consumption seems to indicate that this compound tends to persist and bioaccumulate in the food-web. Sources of exposure to PBDEs were not clearly identified in the framework of this study. However, traditional food consumption and Inuit lifestyle seem to protect against exposure to congener PBDE 47, one of the most prevalent in humans.

## **Avant-Propos**

Cette thèse contient 4 articles dont le premier a été publié et le deuxième est présentement en révision dans des journaux scientifiques avec révision par les pairs. Les deux derniers seront également soumis dans des journaux scientifiques après révision par les pairs. La contribution des différents auteurs dans les travaux reliés à ces articles est présentée dans les paragraphes suivants.

Chapitre 2 : Dallaire, R., Dewailly, E., Ayotte, P., Muckle, G., Laliberté, C. and Bruneau, S. Effects of prenatal exposure to organochlorines on thyroid status in newborns from two remote coastal regions in Québec, Canada. *Environmental Research* 2008, 108 (3), 1301-1305.

Cet article porte sur les résultats provenant de deux études chez les nouveau-nés inuits du Nunavik et de la Basse-Côte-Nord du St-Laurent. Les Drs Dewailly, Ayotte et Muckle ont participé à l'élaboration du projet et de la recherche du financement de l'étude au Nunavik. Mme Bruneau a participé à l'élaboration du questionnaire et à la collecte des données. Concernant l'étude de la Basse-Côte-Nord, les Dr Dewailly et Ayotte ont développé le projet de recherche et ont trouvé les ressources financières nécessaires à sa réalisation. Mme Laliberté a développé les questionnaires et a participé à la collecte des données. De mon côté, j'ai été responsable de la revue de la littérature, de la réalisation des analyses statistiques et de la rédaction du manuscrit. Les Drs Dewailly, Ayotte et Muckle ont révisé l'article.

Chapitre 3 : Dallaire, R., Muckle, G., Jacobson, S. W., Jacobson, J. L., Sandanger, T. M., Sandau, C. D., Ayotte, P and Dewailly, E. Thyroid hormones levels of pregnant women, neonates and infants exposed to environmental contaminants. En révision dans la revue *Environmental Health Perspectives*.

L'élaboration de l'étude de cohorte mères-enfants chez les Inuit du Nunavik et la recherche de financement ont été réalisées par les Drs Muckle, Dewailly, Ayotte, J. Jacobson et S. Jacobson. La collecte des données a été réalisée par les Drs Muckle, J. Jacobson et S. Jacobson ainsi que leurs équipes. Le Dr Sandau a développé la méthode de quantification des métabolites hydroxylés des biphényles polychlorés alors que le Dr Sandanger a amélioré la méthode et a réalisé les analyses de ces composés dans le cadre de cette étude. Ma contribution a consisté à réaliser une revue de littérature, à analyser les données et à rédiger cet article. La révision de ce dernier a été effectuée par les Drs Muckle, Dewailly, Ayotte, J. Jacobson et Sandau.

Chapitre 4 : Dallaire, R., Pierre Ayotte, Daria Pereg, Serge Dery, and Éric Dewailly. Determinants of plasma concentrations of perfluorooctanesulfonate and brominated flame retardants in Nunavik Inuit adults (Canada).

Les données qui ont été utilisées dans cet article proviennent de l'Enquête de santé inuite 2004. Cette étude a été réalisée grâce à la collaboration de l'Institut national de santé publique du Québec, de la Régie régionale de la santé et des services sociaux du Nunavik et de l'Unité de recherche en santé publique du Centre de recherche du Centre Hospitalier Universitaire de Québec (CHUQ). Les Drs Dewailly et Déry (Direction Régionale de santé

publique du Nunavik) étaient les directeurs scientifiques de l'enquête. De plus les Drs Dewailly, Ayotte et Pereg ont participé à l'élaboration des projets portant sur l'exposition aux contaminants environnementaux et leurs effets sur la santé ainsi qu'à la recherche du financement. J'ai été responsable de la revue de littérature, des analyses statistiques et de la rédaction du manuscrit. Les Drs Dewailly et Ayotte ont révisé cet article.

Chapitre 5 : Dallaire, R., Éric Dewailly, Daria Pereg, Serge Dery, and Pierre Ayotte. Thyroid function in Inuit adults in relation to polyhalogenated compound concentrations.

La participation de chaque auteur à la réalisation de cet article a été la même que citée précédemment.

## **Remerciements**

Dans un premier temps, j'aimerais remercier mon directeur le Dr Éric Dewailly qui m'a donné la chance de me joindre à son équipe et de travailler sur un sujet passionnant. Je le remercie sincèrement pour sa patience, sa compréhension et ses encouragements lors de mes moments de doutes et d'indécisions. Merci aussi d'avoir mis à ma disposition les ressources financières, matérielles et scientifiques nécessaires à mes études doctorales. J'aimerais également remercier mon codirecteur le Dr Pierre Ayotte pour son encadrement, ses précieux conseils, son écoute et sa grande ouverture d'esprit. J'ai vraiment été choyée de travailler avec vous et j'espère sincèrement pouvoir collaborer de nouveau avec vous à de projets futurs.

Je tiens également à remercier les Drs Gina Muckle et Belkacem Abdous qui ont également contribué à ma formation par leurs précieux conseils. De plus, je ne voudrais pas passer sous silence le travail d'une multitude de gens qui ont été impliqués de près ou de loin dans les différentes études et qui ont contribué à leur manière à la réussite de mes études doctorales. Merci à tout le personnel de l'Unité de recherche en santé publique du Centre de recherche du CHUQ et du personnel du Laboratoire de toxicologie humaine de l'Institut national de santé publique du Québec.

Je dois également remercier le Fonds de la recherche en santé du Québec et la Faculté de médecine de l'Université Laval qui m'ont offert des bourses doctorales.

Enfin, un merci inconditionnel à mon conjoint Louis qui a toujours été à mes côtés pour m'écouter, me supporter et m'encourager au cours de ces cinq dernières années particulièrement intenses. Merci à mes petits chéris, Elliot, Maelle et Loïc qui ont vécu ces années en symbiose avec moi et qui ne semblent pas trop s'en faire que leur maman étudie encore... Merci à mes parents et à mes beaux-parents pour leur aide et leurs encouragements constants. Si je pouvais, je ferais inscrire le nom de chacun d'entre vous sur mon diplôme, car sans vous je n'y serais sûrement pas arrivée. Ce fut un travail d'équipe et je vous en serai toujours reconnaissante.



*À Louis, Elliot, Maelle et Loïc*

# Table des matières

Résumé	i
Abstract	iii
Avant-Propos	iv
Remerciements	vi
Table des matières	ix
Liste des tableaux	xi
Liste des figures	xiii
Liste des abréviations en français	xiv
Liste des abréviations en anglais	xv
Chapitre 1 - Introduction	18
1.1 Les polluants organiques persistants	18
1.1.1 Les biphényles polychlorés, les dioxines et les furanes	18
1.1.2 Les pesticides organochlorés	22
1.2 Le transport des POPs et l'accumulation dans les chaînes alimentaires	24
1.3 Les "nouveaux" contaminants sous surveillance	24
1.3.1 Les diphényles éthers polybromés (PBDEs)	25
1.3.2 Le perfluorooctanesulfonate (PFOS)	27
1.3.3 Métabolites des BPCs et pentachlorophénol	28
1.4 Exposition prénatale aux contaminants environnementaux et effets neurocomportementaux	28
1.5 La glande thyroïde	32
1.5.1 L'axe hypothalamo-hypophysaire-thyroïdien	33
1.5.2 Le métabolisme des hormones thyroïdiennes	35
1.5.3 Les récepteurs thyroïdiens	36
1.5.4 Les hormones thyroïdiennes et le développement du cerveau	37
1.6 Effets des contaminants environnementaux sur la fonction thyroïdienne chez la femme enceinte, le nouveau-né et l'adulte	42
1.7 Mécanismes sous-jacents : études animales et <i>in vitro</i>	61
1.8 Hypothèses et objectifs de l'étude	67
Chapitre 2 – Effects of prenatal exposure to organochlorines on thyroid hormone status in newborns from two remote coastal regions in Québec, Canada	71
Résumé	71
Abstract	72
Introduction	73
Material and Methods	75
Study populations and data collection	75
Blood sampling and OC analyses	76
Thyroid hormone analyses	77
Statistical analysis	78
Results	80
Discussion	86
Acknowledgments	92

Chapitre 3 – Thyroid hormone levels of pregnant women and their infants exposed to environmental contaminants .....	93
Résumé.....	93
Abstract.....	94
Introduction.....	95
Materials and Methods.....	99
Population .....	99
Blood sampling and laboratory procedures .....	100
Statistical analysis.....	102
Results.....	104
Discussion.....	112
Acknowledgments .....	118
Chapitre 4 – Determinants of plasma concentrations of perfluorooctanesulfonate and brominated organic compounds in Nunavik Inuit adults (Canada).....	119
Résumé.....	119
Abstract.....	120
Introduction.....	122
Materials and methods .....	124
Study design and data collection .....	124
Demographic and clinical variables.....	125
Dietary questionnaires and assessment of store-bought and traditional food consumption.....	125
Laboratory procedures .....	126
Statistical analysis.....	128
Results.....	129
Discussion.....	141
Acknowledgment .....	148
Chapitre 5 - Thyroid function and polyhalogenated compound concentrations in Inuit adults .....	149
Résumé.....	149
Abstract.....	150
Introduction.....	151
Materials and methods .....	154
Population, study design and data collection.....	154
Demographic and clinical variables.....	156
Assessment of seafood consumption. ....	156
Laboratory procedures.....	157
Statistical analysis.....	160
Results.....	163
Discussion.....	175
Acknowledgments .....	183
Chapitre 6 - Conclusion .....	184
Exposition prénatale aux organochlorés et fonction thyroïdienne néonatale .....	184
Exposition aux organochlorés et fonction thyroïdienne de la femme enceinte .....	188
Exposition aux contaminants organiques persistants et en émergence et fonction thyroïdienne chez l’adulte.....	190
Bibliographie .....	200

## Liste des tableaux

Tableau 1.1 Exposition aux composés halogénés et statut thyroïdien chez la femme enceinte .....	45
Tableau 1.2 Exposition aux composés halogénés et statut thyroïdien chez le nouveau-né..	50
Tableau 1.3 Exposition aux composés halogénés et statut thyroïdien chez l'enfant et l'adolescent .....	55
Tableau 1.4 Exposition aux composés halogénés et statut thyroïdien chez l'adulte .....	58
Tableau 2.1: Characteristics of mothers and newborns .....	80
Tableau 2.2: Umbilical cord blood concentrations of organochlorines in newborns from Nunavik and the lower north shore region of the St. Lawrence River, Québec, Canada .....	82
Tableau 2.3: Umbilical cord blood concentrations of thyroid hormones and TBG in newborns from Nunavik and the lower north shore region of the St. Lawrence River, Québec, Canada .....	83
Tableau 2.4: Simple and multiple linear models between thyroid measurements and organochlorine concentrations in Inuit newborns from Nunavik, Canada .....	84
Tableau 2.5: Simple and multiple linear models between thyroid measurements and organochlorine concentrations in newborns from the lower north shore region of the St. Lawrence River, Quebec, Canada (n = 260) .....	85
Tableau 3.1. Characteristics of mothers and their infants.....	105
Tableau 3.2. Concentrations of organochlorines and chlorinated phenolic compounds in plasma from pregnant Inuit women and their infants at birth and at 7 months of age.....	107
Tableau 3.3. Linear regression models of thyroid hormones and TBG plasma levels with organochlorines and chlorinated phenolic compounds in plasma from pregnant Inuit women. ....	109
Tableau 3.4. Linear regression models of thyroid hormone and TBG levels in umbilical cord with organochlorine and chlorinated phenolic compounds in maternal and umbilical cord plasma. ....	111
Tableau 3.5. Linear regression models of thyroid hormone and TBG plasma levels with organochlorines in plasma from 7-month-old Inuit infants. ....	112
Tableau 4.1. Plasma concentrations of PFOS and organobromine compounds in Inuit participants from Nunavik, Québec, Canada. ....	131
Tableau 4.2. Spearman correlation coefficients between organic compounds.....	133
Tableau 4.3. Characteristics of the 899 Inuit participants, Nunavik, Québec, Canada. ....	135
Tableau 4.4. Spearman correlation coefficients of PFOS and organobromine compounds with continuous characteristics and food consumption. ....	137
Tableau 4.5. Mutiple linear regression of predictors of PFOS and brominated compound concentrations in adult Inuit .....	138
Tableau 5.1. Characteristics of adult Inuit of Nunavik.....	164
Tableau 5.2. Plasma concentrations of polyhalogenated compounds in Inuit participants. ....	166
Tableau 5.3. Linear regression models of thyroid hormones and TBG plasma levels with PCB and DLC concentrations (N=623).....	169

Tableau 5.4. Linear regression models of thyroid hormones and TBG plasma levels with HO-PCB and MeSO <sub>2</sub> -PCB concentrations (N=623) .....	172
Tableau 5.5. Linear regression models of thyroid hormones and TBG plasma levels with organochlorine, PBDE and PFOS concentrations (N=623).....	174

## Liste des figures

Figure 1.1 Structure chimique du BPC congénère 153 .....	19
Figure 1.2 Structures chimiques de la TCDD et du PCDF .....	20
Figure 1.3 Structure chimique du HCB .....	22
Figure 1.4 Structure chimique du <i>p, p'</i> -DDT et de son métabolite le <i>p, p'</i> -DDE.....	23
Figure 1.5 Structure chimique du PBDE congénère 47 .....	26
Figure 1.6 Structure chimique du PFOS .....	27
Figure 1.7 Structure chimique de la triiodothyronine et de la thyroxine.....	33
Figure 1.8 Axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien.....	34
Figure 1.9 Mécanismes d'actions impliqués dans la perturbation du système thyroïdien ...	62
Figure 4.1 Spearman correlations between concentrations of n-3 PUFAs in erythrocytes and plasma concentrations of PFOS and BDE-47 in Inuit adults from Nunavik, Canada .....	140

## Liste des abréviations en français

AhR	Récepteur Ah
$\beta$ -HCH	Beta-hexacyclohexane
BPCs	Biphényles polychlorés
DDE	Dichlorodiphényl dichloroéthylène
DDT	Dichloro-diphényle-trichloroéthane
PBDEs	Diphényles éthers polybromés
HCB	Hexachlorobenzène
HO-BPCs	Métabolites hydroxylés des BPCs
MeSO <sub>2</sub> -BPCs	Métabolites méthylsulfonés des BPCs
PCP	Pentachlorophénol
PFOS	Perfluorooctane sulfonique
PCDDs	Polychlorodibenzo- <i>p</i> -dioxines
PCDFs	Polychlorodibenzo-furanes
POPs	Polluants organiques persistants
T <sub>3</sub>	Triiodothyronine
T <sub>3</sub> l	T <sub>3</sub> libre
T <sub>3</sub> t	T <sub>3</sub> totale
T <sub>4</sub>	Thyroxine
T <sub>4</sub> l	T <sub>4</sub> libre
T <sub>4</sub> t	T <sub>4</sub> totale
TBG	« thyroxine-binding globuline »

TCDD	2,3,7,8-tétrachlorodibenzo- <i>p</i> -dioxine
TEF	« toxic equivalency factor »
TEQs	« toxic equivalence quantity »
TG-Ab	Antithyroglobuline
TPO	Thyropéroxydases
TPO-Ab	Antithyroperoxidases
TTR	Transthyrétine
TSH	Thyréotropine
TRH	Thyréolibérine

### Liste des abréviations en anglais

2,4-DBP	2,4-dibromophenol
2,4,6-TBP	2,4,6-tribromophenol
2,3,4,6-TeBP	2,3,4,6-tetrabromophenol
AhR	Aryl hydrocarbon receptor
$\beta$ -HCH	Beta-hexachlorocyclohexane
BFRs	Brominated flame retardants
BOCs	Brominated organic compounds
CPCs	Chlorinated phenolic compounds
DLC	Dioxin-like compounds
DL-PCBs	Dioxin-like polychlorinated biphenyls
DR-CALUX	Dioxin-Responsive Chemically-Activated Luciferase eXpression



fT <sub>4</sub>	Free T <sub>4</sub>
GM	Geometric mean
HCB	Hexachlorobenzene
HO-PBDEs	Hydroxylated metabolites of PBDEs
HO-PCBs	Hydroxylated metabolites of PCBs
LOD	Limits of detection
LNS	Lower North Shore region of the St. Lawrence River
MeSO <sub>2</sub> -PCBs	Methylsulfonyl metabolites of PCBs
OCs	Organochlorine compounds
OCPs	Organochlorine pesticides
PBDEs	Polybrominated diphenyl ethers
PCBs	Polychlorinated biphenyls
PCP	Pentachlorophenol
PFCs	Perfluorinated compounds
PFOS	Perfluorooctanesulfonate
PFOA	Perfluorooctanoate
POPs	Persistent organic pollutants
PBBs	Polybrominated biphenyls
PBDEs	Polybrominated diphenyl ethers
PHCs	Polyhalogenated compounds
<i>p,p'</i> -DDE	<i>p,p'</i> -dichlorodiphenyl dichloroethylene
<i>p,p'</i> -DDT	<i>p,p'</i> -dichlorodiphenyl trichloroethane
Se	Selenium
T <sub>3</sub>	Total triiodothyronine

T <sub>4</sub>	Thyroxine
TBG	Thyroid-binding globulin
TBBPA	Tetrabromobisphenol A
TH	Thyroid hormone
TSH	Thyroid-stimulating-hormone
tT <sub>3</sub>	Total triiodothyronine
tT <sub>4</sub>	Total thyroxine
TTR	Transthyretin
UDP-GT	Uridine diphosphate glucuronyltransferase
NHANES	U.S National Health and Nutrition Examination Survey

# Chapitre 1 - Introduction

## 1.1 Les polluants organiques persistants

Depuis le début de l'ère industrielle, plus de 80 000 nouvelles molécules chimiques ont été produites et rejetées dans l'environnement sans que leurs propriétés toxiques ne soient adéquatement évaluées (Grandjean and Landrigan 2006). Parmi celles-ci, un certain nombre se sont avérées posséder des propriétés physicochimiques telle leur liposolubilité, les rendant résistantes à la biodégradation. Une douzaine des ces substances, nommées polluants organiques persistants (POPs), sont caractérisées par leurs capacités de bioconcentration dans les graisses et de bioamplification dans les chaînes alimentaires marines et terrestres et sont suspectées de produire de multiples effets néfastes sur la santé humaine (Schmidt 1999). La Convention de Stockholm sur les POPs, sous l'égide du Programme des Nations Unies pour l'environnement a identifié ces composés prioritaires pour lesquels des actions doivent être entreprises afin d'éliminer leur production et leur utilisation à l'échelle mondiale. Ces composés sont les suivants: aldrine, les biphényles polychlorés (BPCs), chlordane, dichloro-diphényle-trichloroéthane (DDT), dieldrine, les dioxines et furanes, endrine, heptachlor, hexachlorobenzène (HCB), mirex et toxaphène (Schmidt 1999).

### 1.1.1 Les biphényles polychlorés, les dioxines et les furanes

Certains de ces composés de synthèse ont fait l'objet d'une plus grande attention chez l'humain suite à des expositions accidentelles. Les BPCs sont sans nul doute les composés organiques les plus étudiés. Cette famille composée de 209 congénères est caractérisée par la présence de deux anneaux de benzène auxquels sont attachés un certain nombre d'atomes de chlore leur conférant des propriétés toxicologiques et physicochimiques variant selon le degré de substitution et de la conformation moléculaire obtenue (Figure 1.1) (Safe 1994).

L'identification des différents congénères des BPCs est possible grâce à la nomenclature développée par Ballschmiter et Zell et adoptée par l'Union internationale de chimie pure et appliquée (IUPAC, « International Union of Pure and Applied Chemistry »). Les mélanges commerciaux de BPCs (Aroclor, Kanechlor, Phenoclor, etc.) ont été utilisés principalement comme agents diluants, lubrifiants et pour leurs capacités isolantes dans les transformateurs électriques. La production mondiale au cours des dernières décennies a été évaluée à 1,3 millions de tonnes (Breivik et al. 2002). Les profils des congénères observés chez la faune et l'humain diffèrent de ceux trouvés dans les mélanges commerciaux puisque la capacité de dégradation par des processus physiques et biologiques varient d'un congénère à l'autre (McFarland and Clarke 1989). Chez les populations humaines exposées par le biais d'une contamination environnementale, les congénères les plus prévalants sont les BPCs no. 138, 153 et 180, alors que d'autres sont très peu détectés (Gladen et al. 2003). Le transfert placentaire des BPCs ainsi que d'autres POPs de la mère vers le fœtus a été démontré à plusieurs reprises chez l'humain par la quantification de ces contaminants dans le sang du cordon ombilical (Dallaire et al. 2003; Jacobson et al. 1989; Muckle et al. 2001b). Par ailleurs, une quantité importante de ces contaminants se retrouvent dans le lait maternel riche en gras et sont transférés directement au nourrisson lors de l'allaitement (Dewailly et al. 1989a; Grandjean et al. 1995; Rogan et al. 1986).

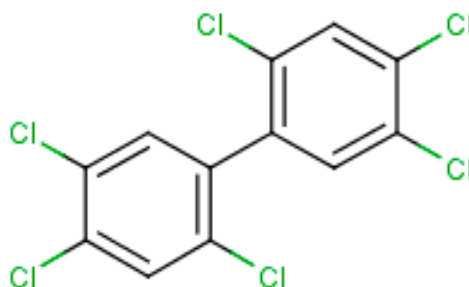


Figure 1.1 Structure chimique du BPC congénère 153

Les dioxines (polychlorodibenzo-*p*-dioxines, PCDDs) et furanes (polychlorodibenzo-furanes, PCDFs), sont accidentellement produits lors de l'incinération et le brûlage de déchets industriels ou domestiques, au moment du processus de chloration du papier et de la pulpe ou lors de la synthèse d'autres substances chimiques telles que le tristement célèbre herbicide Agent Orange utilisé lors de la Guerre du Vietnam. Ces deux groupes de substances sont structurellement semblables et ont des propriétés chimiques communes. En effet, ils sont composés de trois anneaux benzéniques auxquels sont liés un nombre variable d'atomes de chlore, créant ainsi une possibilité de 75 congénères de PCDD et 135 congénères de PCDF (Figure 1.2), le plus toxique étant la 2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-*p*-dioxine (TCDD) (Schechter et al. 2006a). La majorité des effets toxiques associés à ces substances sont causés par la liaison au récepteur Ah (« aryl hydrocarbon receptor », AhR) menant subséquemment à l'expression de plusieurs gènes codant pour des enzymes impliquées dans le métabolisme des xénobiotiques ainsi que des hormones (Van den Berg et al. 2006).

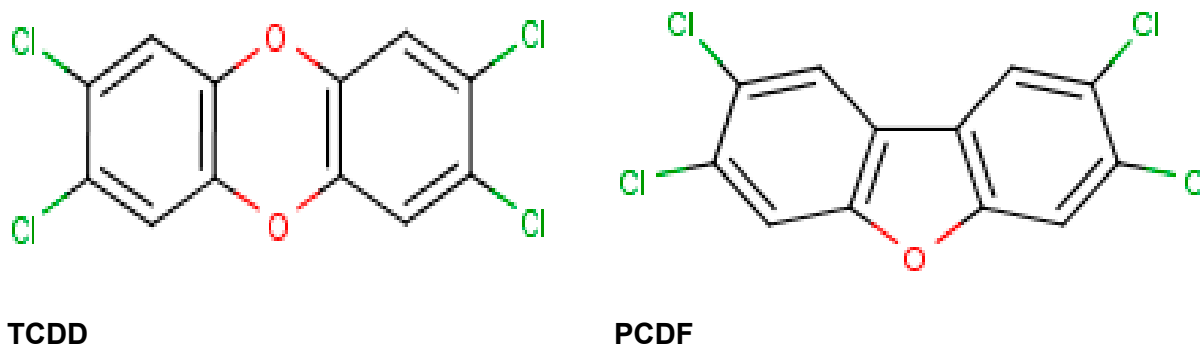


Figure 1.2 Structures chimiques de la TCDD et du PCDF

Certains congénères des BPCs qualifiés de « dioxin-like » possèdent un mécanisme d'action identique, mais dont la toxicité varie selon le niveau d'affinité avec le récepteur Ah. En effet, quatre BPCs coplanaires caractérisés par l'absence d'atome de chlore en position *ortho* ainsi que six BPCs mono-*ortho* substitués caractérisés par la présence d'un seul chlore en position *ortho* se lient au récepteur Ah. Un système de poids nommé TEF (« toxic equivalency

factor») permettant de calculer l'activité de type « dioxin-like » d'un mélange a été développé à partir de l'affinité pour le récepteur Ah des différentes substances. Le TEF de chaque substance est multiplié par sa concentration afin d'obtenir les TEQs (« toxic equivalence quantity »), qui sont par la suite sommés pour l'ensemble des substances de type « dioxin-like » afin d'obtenir l'activité « dioxin-like » totale d'un mélange.

Les principaux effets des BPCs sur la santé ont été rapportés suite à deux épisodes notoires d'intoxication alimentaire causés par la consommation d'huile de riz contaminée au Japon (1968) et à Taïwan (1979). Les symptômes associés aux syndromes de Yusho (Japon) et Yu-Cheng (Taïwan) incluent des effets d'ordre dermatologique (chloracnée, hyperpigmentation, œdème, ongles anormalement formés), ophtalmologique, digestif, pulmonaire et neurologique (neuropathie périphérique, retard cognitif chez les enfants exposés *in utero*) (Guo et al. 1995; Kanagawa et al. 2008). Une partie des effets observés a été par la suite associée à la présence de PCDFs dans l'huile contaminée. Par ailleurs, 15 ans plus tard, les individus atteints de la maladie de Yu-Cheng avaient une prévalence plus élevée de problèmes dermatologiques et dentaires, d'anémie, d'arthrite, de hernies discales et de goitre en comparaison à un groupe témoin (Guo et al. 1999).

Une revue de la littérature concernant les effets sur la santé d'une exposition aux PCDDs/PCDFs a récemment été publiée suite à l'empoisonnement à la dioxine du Président ukrainien Victor Yushchenko en 2004 (Schechter et al. 2006a). Notre connaissance des effets sur la santé de ces substances provient principalement du suivi des vétérans de la Guerre du Vietnam exposés à l'Agent Orange et de la population de Seveso (Italie) exposée lors de l'explosion d'une usine chimique en 1976. Ainsi, des troubles hépatiques, endocriniens, immunitaires et dermatologiques ont été rapportés (Schechter et al. 2006a).

### 1.1.2 Les pesticides organochlorés

Les BPCs et les PCDD/PCDFs sont principalement associés à l'activité industrielle. Toutefois, la majorité des POPs ont été commercialisés pour leur utilisation en agriculture ainsi que pour le contrôle de vecteurs de maladie. C'est le cas du HCB et du DDT, deux organochlorés utilisés massivement au cours des années 1940 à 1970. Le HCB est un fongicide qui a été utilisé principalement dans le traitement des moisissures dans les cultures céréalières et la protection du bois. La production du HCB a pris fin dans la majorité des pays au cours des années 70 (Barber et al. 2005). Par contre, il demeure constamment formé de façon accidentelle lors de la production de produits chimiques et se retrouve également sous forme d'impuretés dans les formulations de plusieurs pesticides. Entre 1954 et 1959, un incident en Turquie a démontré la grande toxicité du HCB chez des gens ayant consommé des graines de céréales contaminées. Ces derniers ont développé des problèmes dermatologiques (lésions cutanées photosensibles, hyperpigmentation, hirsutisme) et digestifs, d'importantes faiblesses et de la porphyrie (Peters et al. 1982). La mortalité dans la première année de vie chez les enfants exposés *in utero* a été estimée à plus de 95 % (Gocmen et al. 1989).

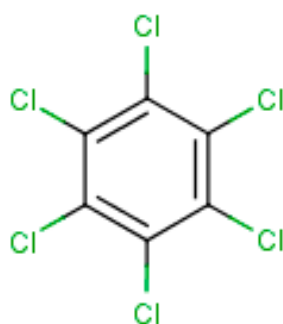


Figure 1.3 Structure chimique du HCB

Quant au DDT, il a été utilisé intensivement comme pesticide en agriculture au cours des années 40 à 60, particulièrement dans la culture du coton. La production et l'utilisation ont été grandement restreintes ou interdites dans plusieurs pays suite aux effets toxiques observés sur la faune, plus particulièrement chez les oiseaux et les poissons (Colborn et al. 1993; Fry

1995). Cependant, le DDT est toujours utilisé à l'heure actuelle et autorisé dans les pays où sévit des épidémies de malaria, puisque ce produit demeure l'un des plus efficaces dans le contrôle du moustique *Anopheles gambiae*, vecteur de la maladie (Turusov et al. 2002). La préparation commerciale du DDT est constituée d'un mélange d'isomères dont le principal est le *p, p'*-DDT, suivi de l'*o, p'*-DDT et d'une quantité moindre de dichlorodiphényl dichloroéthylène (DDE). Bien que la persistance du DDT soit non négligeable (~ 5 ans), la demi-vie de son métabolite *p, p'*-DDE évaluée à ~10 ans (Turusov et al. 2002), en fait l'un des organochlorés le plus souvent détecté chez les populations occidentales, avec les BPCs et les PCDDs/PCDFs (Longnecker et al. 1997). L'exposition au DDT a été associée à une augmentation du risque de cancer du pancréas, du foie, du sein et de lymphome non-Hodgkinien (Longnecker et al. 1997; Turusov et al. 2002). Il est présentement classé comme étant potentiellement carcinogène par l'Agence internationale de la recherche sur le cancer (International Agency for Research on Cancer 1999). Par ailleurs, des effets délétères du *p, p'*-DDT et de son métabolite *p, p'*-DDE sur le développement du système reproducteur et de la santé reproductive sont suspectés (Longnecker et al. 1997).

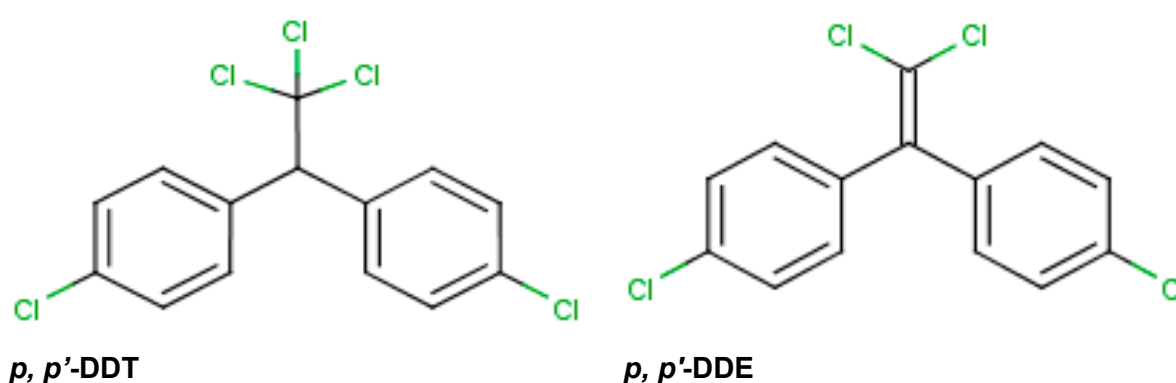


Figure 1.4 Structure chimique du *p, p'*-DDT et de son métabolite le *p, p'*-DDE



## **1.2 Le transport des POPs et l'accumulation dans les chaînes alimentaires**

Les POPs s'avèrent être de grands voyageurs puisque leurs propriétés physicochimiques leur permettent de se déplacer sur de très longues distances de la source d'émission vers les régions éloignées via les courants marins et atmosphériques. La contamination des écosystèmes terrestres, aquatiques et marins situés loin des sources industrielles se fait par le dépôt des contaminants en phase gazeuse (condensation) au niveau de l'eau, du sol et des plantes, ainsi que par les précipitations et les dépôts secs. Le déversement d'eaux de surfaces contaminées (fleuves et rivières) est également une autre source de contamination des écosystèmes marins (Macdonald et al. 2000).

Les POPs sont adsorbés sur la matière organique environnante étant donné leur forte hydrophobicité. Ainsi, ils se retrouvent en faibles concentrations dans les plantes et le phytoplancton. Par contre, ces contaminants seront bioconcentrés et biomagnifiés le long des différents niveaux trophiques des chaînes alimentaires terrestres et aquatiques puisqu'ils s'accumulent dans les graisses et ne s'éliminent que très lentement (Affaires indiennes et du Nord Canada 2003). Les tissus des carnivores et des omnivores qui se trouvent au sommet des chaînes alimentaires, et dont fait partie l'homme, contiennent donc des niveaux très élevés de ces molécules.

## **1.3 Les "nouveaux" contaminants sous surveillance**

Bien que des mesures aient été entreprises afin de diminuer l'exposition humaine aux POPs, l'augmentation des concentrations sanguines de nouveaux contaminants environnementaux chez les populations des pays industrialisés semble indiquer l'émergence d'une seconde génération de POPs. La présence et la persistance de certaines de ces substances dans l'environnement, chez les populations animales et chez l'humain, sont inquiétantes étant

donné leur utilisation grandissante dans les produits manufacturés. Parmi ces nouvelles substances, notons les diphényles éthers polybromés (PBDEs) et les composés perfluorés, et plus particulièrement l'acide perfluorooctane sulfonique (PFOS).

### **1.3.1 Les diphényles éthers polybromés (PBDEs)**

Les PBDEs sont une famille de composés appartenant à la classe des retardateurs de flamme bromés utilisés principalement pour leurs propriétés ignifuges dans les équipements électroniques, les plastiques et les textiles (Birnbaum and Staskal 2004). Leur structure chimique s'apparente à celle des BPCs, étant donné les doubles anneaux de benzène halogénés (Figure 1.5). Tout comme les POPs, ils s'avèrent être lipophiles, résistants à la dégradation et ainsi se bioconcentrer et se biomagnifier dans les chaînes alimentaires (Hooper and McDonald 2000). Les congénères des PBDEs diffèrent entre eux au niveau de leur biodisponibilité, leur bioaccumulation et leurs propriétés toxicologiques, les moins bromés (4 à 7 bromes) étant les plus persistants (de Wit 2002). Les routes d'exposition à ces contaminants diffèrent en partie de celles traditionnellement observées pour les POPs, l'exposition via la poussière intérieure étant une source importante dans les sociétés industrialisées (Jones-Otazo et al. 2005; Wu et al. 2007). Cette situation est principalement liée à l'ajout des PBDEs sous forme d'additifs non covalents dans les plastiques et textiles menant à leur relâchement tout au cours de la vie des produits ainsi que de leur prépondérance dans les produits d'usage courant (télévisions, ordinateurs, meubles, textiles, etc.) (Alaee et al. 2003). Étant donné leur liposolubilité, l'exposition alimentaire constitue également une source d'exposition importante (Lorber 2008; Schechter et al. 2006b; Wu et al. 2007). Les congénères des PBDEs les plus prévalents chez les populations humaines sont les PBDEs no 47, 99, 100 et 153 (Gill et al. 2004). L'exposition aux PBDEs a augmenté de façon exponentielle au cours des deux dernières décennies en Amérique du Nord (Schechter et al. 2005), alors qu'en Europe

elle semble diminuer progressivement suite à l'interdiction de certaines formulations commerciales (Lind et al. 2003). Actuellement, les concentrations plasmatiques des BPCs demeurent plus élevées que celles des PBDEs, quoique certains individus aient des niveaux plus élevés de PBDE 47 que de BPC 153 en Amérique du Nord. Toutefois, si les niveaux d'exposition au PBDEs se maintiennent, alors ces derniers pourraient devenir les contaminants environnementaux les plus prévalents chez les populations humaines (Hooper and McDonald 2000). Malgré l'augmentation rapide des concentrations sanguines des PBDEs, l'évaluation des leurs effets potentiels sur la santé humaine n'en est qu'à ses premiers balbutiements (Herbstman et al. 2008; Lim et al. 2008).

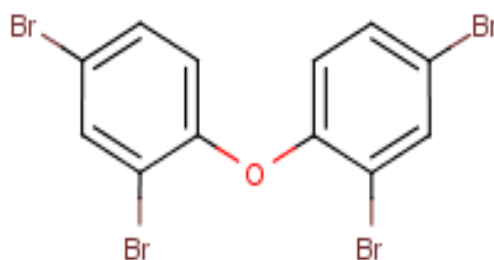


Figure 1.5 Structure chimique du PBDE congénère 47

### 1.3.2 Le perfluorooctanesulfonate (PFOS)

La présence du PFOS dans l'environnement découle du métabolisme des composés perfluorés incorporés sous forme de polymère dans plus de 200 produits et applications (Hekster et al. 2003). Cette molécule est structurellement très différente des BPCs et PBDEs et ressemble davantage aux acides gras (Figure 1.6). La persistance, la stabilité et la bioconcentration de cette substance proviennent de la force du lien covalent entre le carbone et le fluore, qui s'avère être résistant à la dégradation environnementale et métabolique (Hekster et al. 2003). Malgré l'utilisation des composés perfluorés depuis quelques décennies, la mesure du PFOS dans diverses matrices n'a pu être réalisée que très récemment grâce à l'amélioration des techniques de dosage. Or, le monitoring des composés perfluorés tant dans l'environnement, la faune que chez l'humain a révélé que le PFOS était le composé perfluoré le plus prévalant et que les concentrations mesurées dans les diverses matrices étaient relativement élevées comparativement à celles des POPs classiques (Calafat et al. 2007a; Fromme et al. 2008; Giesy and Kannan 2001; Kannan et al. 2004). L'alimentation serait la principale source d'exposition humaine au PFOS (Ericson et al. 2008; Tittlemier et al. 2007). Les quelques études épidémiologiques publiées à ce jour sur les effets potentiels sur la santé ont révélé des résultats contradictoires sur les paramètres anthropométriques à la naissance (poids, taille, périmètre crânien et abdominal) (Apelberg et al. 2007a; Apelberg et al. 2007b; Fei et al. 2008; Grice et al. 2007).

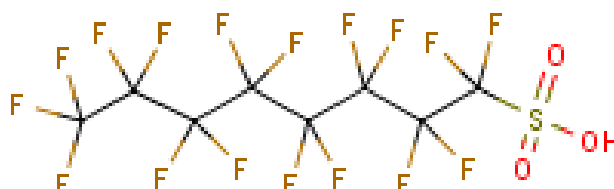


Figure 1.6 Structure chimique du PFOS

### **1.3.3 Métabolites des BPCs et pentachlorophénol**

Bien que les métabolites des BPCs découlent directement du métabolisme des BPCs et qu'ils ne soient pas des nouveaux contaminants en soi, il existe un intérêt grandissant pour ces composés car les études toxicologiques ont pu révéler des propriétés différentes de celles de leurs composés parents. Ces métabolites sont produits par l'activation d'une série d'enzymes de biotransformation impliquées dans le métabolisme des xénobiotiques (Bakke et al. 1982; Preston et al. 1983). Plusieurs types de métabolites sont produits lors des différentes étapes de biotransformation des BPCs, dont les métabolites hydroxylés (HO-BPCs) et méthylsulfonés (MeSO<sub>2</sub>-BPCs). L'intérêt toxicologique relève des groupements phénols et méthylsulfones qui leurs confèrent une affinité particulière pour certaines protéines et enzymes (Kato et al. 1995; Kimura-Kuroda et al. 2005; Meerts et al. 2002; Schuur et al. 1998; van den Berg 1990; You et al. 2006). D'autres composés phénoliques, dont le pentachlorophénol (PCP) utilisé à large échelle pour ces propriétés antifongiques, semblent également partager des propriétés toxicologiques communes avec ces métabolites (Cheek et al. 1999). Ces substances ont été mesurées à quelques reprises chez les populations humaines, mais leurs effets sur la santé demeurent méconnus (Athanasidou et al. 2008; Guvenius et al. 2003; Hovander et al. 2002; Newsome and Davies 1996; Sandau et al. 2000, 2002; Soechitram et al. 2004).

## **1.4 Exposition prénatale aux contaminants environnementaux et effets neurocomportementaux**

L'utilisation massive des POPs depuis le milieu du 20<sup>e</sup> siècle, ainsi que l'incorporation grandissante de nouveaux composés halogénés dans les produits de consommation d'usage courant, amènent inévitablement à se questionner sur l'inocuité de ces substances sur la santé humaine, particulièrement chez les populations les plus vulnérables telles que les femmes enceintes, les fœtus et les enfants. Des incidents majeurs d'intoxication aux POPs ont permis

de constater que le développement fœtal et néonatal sont des périodes particulièrement sensibles aux perturbations et qu'il s'en suit des effets irréversibles sur le développement et le fonctionnement de plusieurs organes. Les effets tératogènes des PCDD/PCDFs, des BPCs et du HCB ont été particulièrement démontrés lors des incidents qui se sont déroulés au Japon, à Taiwan et en Turquie.

Suite à l'incident qui a eu lieu à Taiwan (maladie de Yu-Cheng), des études épidémiologiques ont observé que les enfants nés de mères ayant consommé de l'huile de riz contaminée aux BPCs et aux PCDFs avaient un quotient intellectuel plus faible comparativement à des témoins, et avaient davantage de problèmes comportementaux (Chen et al. 1992; Chen et al. 1994). Par ailleurs, les garçons les plus exposés avaient un score plus faible lors d'examens d'habilités spatiales (Guo et al. 1995). Par contre, les enfants exposés ne semblaient pas différer des témoins au niveau du développement moteur (Chen and Hsu 1994). Sur le plan du système sensoriel, 44 % des enfants avaient une malformation de l'oreille moyenne et des troubles de la conductance du son (Chao et al. 1997). Suite aux effets délétères de l'exposition prénatale aux BPCs observés chez les enfants Yu-Cheng, une série d'études ont été initiées afin d'évaluer si l'exposition *in utero* à des niveaux plus faibles de ces contaminants pouvait également affecter le développement de l'enfant. À ce jour, 9 cohortes mères-enfants s'échelonnant de 1959 à 2008 ont été élaborées afin de répondre à cette question. Les sources d'exposition aux contaminants dans ces études s'avèrent être la consommation maternelle de poissons et de mammifères marins ainsi que la consommation de viande et produits laitiers. De façon générale, la quantification des contaminants a été réalisée dans plusieurs matrices biologiques (sang et lait maternel, sang provenant du cordon ombilical, sang de l'enfant et parfois le placenta) et les évaluations neurocomportementales et motrices ont été réalisées à

l'aide de batteries de tests psychométriques et neurologiques, et ce, à plusieurs reprises au cours du développement de l'enfant.

Une revue exhaustive des résultats portant sur les évaluations neuropsychologiques des enfants suivis dans les différentes cohortes a été réalisée par (Schantz et al. 2003). Par ailleurs, une analyse destinée à intégrer les résultats provenant des différentes cohortes a été réalisée afin d'identifier un profil d'atteintes cognitives pouvant être associées à l'exposition prénatale aux BPCs (Boucher et al. 2009 ). Brièvement, ces études ont rapporté des associations négatives entre l'exposition prénatale aux BPCs et des mesures liées aux fonctions cognitives, à l'exception d'une étude (Gladen and Rogan 1991; Gladen et al. 1988). En effet, la plupart des études ont observé une diminution du quotient intellectuel, utilisé comme mesure du développement des habiletés cognitives générales, en fonction de l'augmentation de l'exposition prénatale (Jacobson and Jacobson 1996; Jacobson et al. 1990; Patandin et al. 1999; Stewart et al. 2008; Stewart et al. 2003; Vreugdenhil et al. 2002; Walkowiak et al. 2001). Les fonctions exécutives (impliquées dans les stratégies d'apprentissage et d'adaptation à de nouvelles situations), les habiletés verbales (Jacobson and Jacobson 1996; Patandin et al. 1999; Stewart et al. 2003), la vitesse de traitement de l'information (Jacobson and Jacobson 2003; Jacobson et al. 1992; Vreugdenhil et al. 2002) et la mémoire de reconnaissance visuelle (Darvill et al. 2000; Jacobson et al. 1992; Jacobson et al. 1985) sont les fonctions cognitives qui semblent le plus souvent altérées par l'exposition prénatale aux BPCs. Par contre, le développement psychomoteur et les fonctions sensorielles ne semblaient pas être affectés par les BPCs à l'exception du système auditif qui pourrait être affecté légèrement par une augmentation du seuil d'audition pour les sons à haute fréquence (Grandjean et al. 2001). Par ailleurs, il est important de mentionner que la plupart des études

ont observé que ces effets étaient associés à l'exposition prénatale aux BPCs, et non à une exposition postnatale due à l'allaitement maternel (Jacobson and Jacobson 2001).

Trois principaux mécanismes d'action des BPCs et d'autres organochlorés ont été proposés afin d'expliquer leurs effets neurotoxiques chez le fœtus et l'enfant en développement; 1) des modifications dans les concentrations des neurotransmetteurs et de leurs récepteurs, notamment la dopamine, la sérotonine et l'acétylcholine; 2) des interférences au niveau du signallement intracellulaire et de l'homéostasie des messagers secondaires tel le calcium; 3) une perturbation de la fonction thyroïdienne lors de la maturation du cerveau (Kodavanti 2005). Plusieurs indices tendent à favoriser l'hypothèse d'une altération du système thyroïdien comme étant l'un des mécanismes le plus probable pouvant expliquer les effets délétères de l'exposition prénatale aux BPCs sur les fonctions cognitives. Premièrement, les hormones thyroïdiennes jouent un rôle clé dans la maturation du cerveau. Par ailleurs, certains déficits observés chez les enfants exposés aux BPCs lors du développement fœtal sont similaires à ceux observés chez les enfants atteints d'hypothyroïdie ou nés de mère souffrant d'hypothyroxinémie ( $T_4$  faible avec ou sans augmentation de la TSH) au cours de la grossesse (Brouwer et al. 1995; Porterfield 2000; Zoeller et al. 2002). Parallèlement, depuis les années 90, il apparaît de plus en plus évident que certains POPs ainsi que d'autres contaminants ont la capacité d'interagir avec le système endocrinien et d'affecter différents processus biologiques. Ces substances identifiées comme étant des perturbateurs endocriniens peuvent interférer au niveau de la liaison des hormones avec leurs récepteurs et de leurs actions ainsi qu'à la production, le transport, le métabolisme et l'élimination naturelle des hormones (US EPA 1997). Plusieurs observations chez les populations animales, particulièrement près des Grands Lacs et du lac Apopka aux États-Unis, suggèrent une activité endocrinienne de certains contaminants et des effets néfastes sur le développement et la reproduction chez



plusieurs espèces d'oiseaux et de reptiles (Fox 2001; Guillette et al. 1995). Des effets sur le système thyroïdien, dont la présence d'importantes lésions au niveau de la glande thyroïde ont été observées (Braathen et al. 2004; Fernie et al. 2005; Fox 2001; Hewitt et al. 2002; Mikaelian et al. 2003). Par ailleurs, plusieurs études *in vitro* ont démontré l'affinité de plusieurs composés organiques pour les récepteurs des estrogènes, des androgènes (Bonefeld-Jorgensen et al. 2001) et des hormones thyroïdiennes (Cheek et al. 1999; Miyazaki et al. 2004; Shiraishi et al. 2003) ainsi que des activités agonistes et antagonistes aux hormones (Sohoni and Sumpter 1998; Sonnenschein and Soto 1998). Afin de bien comprendre les différents mécanismes par lesquels les contaminants peuvent perturber la fonction thyroïdienne, il apparaît nécessaire de présenter brièvement le système thyroïdien ainsi que son fonctionnement.

## 1.5 La glande thyroïde

La glande thyroïde, reposant sur la trachée au-dessus du larynx est constituée de deux lobes reliés par une masse de tissus nommée isthme, lui donnant l'aspect d'un papillon (Braverman and Utiger 2005). L'intérieur de la glande est formé de follicules creux remplis d'un colloïde. Ces follicules sont à l'origine de la synthèse de la thyroglobuline, une glycoprotéine, jouant un rôle clé dans la formation des hormones thyroïdiennes. La synthèse des hormones thyroïdiennes s'initie par le déchargement de la thyroglobuline dans la lumière du follicule et de son intégration au colloïde. De façon concomitante, des iodures (anions d'iode) sont transportés activement du sang vers les cellules folliculaires par les symporteurs sodium-iodure et seront par la suite oxydés et convertis en iode qui se liera à la tyrosine de la thyroglobuline sous l'action des enzymes thyropéroxydases (TPO). L'union de l'iode à la tyrosine mène à la formation de la triiodothyronine et de la thyroxine communément appelées T<sub>3</sub> (3 iodes) et T<sub>4</sub> (4 iodes). Par la suite, les hormones thyroïdiennes seront soit emmagasinées dans le colloïde à l'intérieur de la glande thyroïde ou relâchées dans la circulation sanguine où

elles s'attacheront à des protéines de transport qui les mèneront aux différents sites d'action. La globuline (TBG, « thyroxine-binding globuline ») est la protéine plasmatique responsable de 75 % du transport des hormones thyroïdiennes, suivie de la transthyrétine (TTR) (15 %) et de l'albumine (Schussler 2000). La presque totalité des hormones thyroïdiennes se retrouvent sous la forme liée, puisque seulement 0,03 % de la  $T_4$  et 0,3 % de la  $T_3$  sont libres et ont la capacité d'exercer leurs actions au niveau des tissus. Par ailleurs, la  $T_4$  est la principale forme circulante des hormones thyroïdiennes, la  $T_3$  étant majoritairement formée (~80%) par la conversion de la  $T_4$  en  $T_3$  dans les organes cibles.

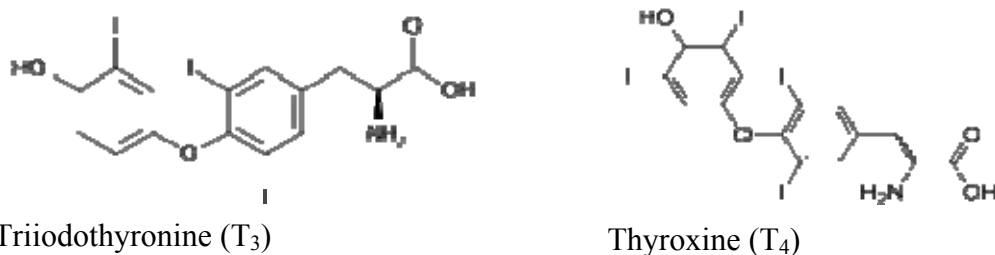


Figure 1.7 Structure chimique de la triiodothyronine et de la thyroxine

### 1.5.1 L'axe hypothalamo-hypophysio-thyroïdien

La glande thyroïde ne fonctionne pas en circuit fermé, mais est régie par l'axe hypothalamo-hypophysio-thyroïdien. En effet, la production et la sécrétion des hormones thyroïdiennes sont régulées par un rétro-contrôle négatif impliquant la thyrotropine (TSH, « thyroid-stimulating hormone ») produite par l'hypophyse antérieure et par la thyroïdolibérine (TRH, « thyrotropin-releasing hormone ») synthétisée par les neurones du noyau paraventriculaire de l'hypothalamus (Zoeller et al. 2007) (Figure 1.8). Ainsi, la TRH libérée par l'hypothalamus activera la synthèse de la TSH qui subséquemment stimulera l'apport en iodure au niveau de la glande thyroïde et la production et la libération des hormones thyroïdiennes. Par ailleurs, une concentration sanguine élevée en hormones thyroïdiennes induira une inhibition de la sécrétion de la TRH et de la TSH afin de réduire la production des hormones thyroïdiennes.

Le contrôle très serré des concentrations plasmatiques des hormones thyroïdiennes par la TSH et la  $T_4$  libre est à la base du diagnostic des dysfonctions de la glande thyroïde. En effet, l'hypothyroïdie se caractérise par un niveau sanguin faible en  $T_4$  libre concomitante à une augmentation de la TSH et inversement, l'hyperthyroïdie se définit par des concentrations très élevées en  $T_4$  libre et une quasi-suppression de la synthèse de la TSH. Il est bien entendu que plusieurs autres troubles de la thyroïde engendrent des perturbations des concentrations en hormones thyroïdiennes tout en impliquant d'autres paramètres du système thyroïdien.

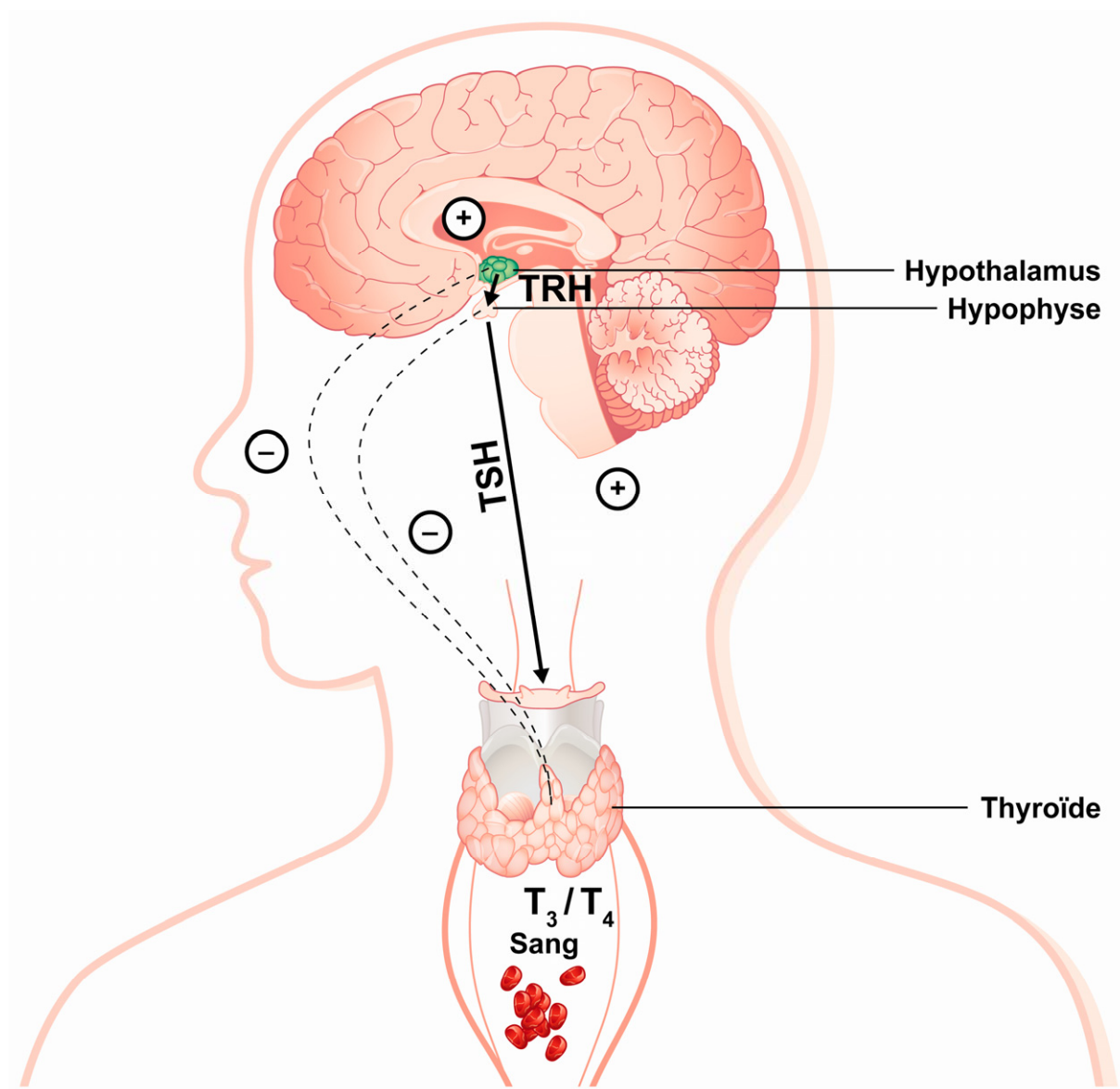


Figure 1.8 Axe hypothalamo-hypophysaire-thyroïdien

### 1.5.2 Le métabolisme des hormones thyroïdiennes

Les concentrations circulantes des hormones thyroïdiennes sont non seulement contrôlées par l'axe hypothalamo-hypophysio-thyroïdien, mais également par cinq grandes familles d'enzymes dont les plus importantes sont les désiodases, les sulfotransférases et les UDP glucuronyl-transférases. Ces enzymes sont essentielles à la régulation des formes actives et inactives des hormones thyroïdiennes dans les différents organes et ce, tant chez le fœtus que chez l'adulte. Les désiodases du nombre de trois (D1, D2 et D3), sont des sélénoprotéines qui catalysent la libération d'une molécule d'iode provenant des hormones thyroïdiennes par déionidation externe (ORD, « outer ring deiodination ») ou interne (IRD, « inner ring deiodination ») (Kohrle 1999). Ces enzymes varient au niveau de leurs substrats et de leurs distributions dans les tissus ainsi que dans leurs fonctions physiologiques et de leurs expressions au cours du développement (Visser 1996a). Brièvement, l'activité de la D1 se situe principalement au niveau du foie, des reins et de la thyroïde et est impliquée dans la transformation de la  $T_4$  en  $T_3$  ainsi que de la  $T_4$  en  $rT_3$ , une forme inactive de la  $T_3$ . Elle est également responsable de la conversion de la  $rT_3$  en  $T_2$  (forme inactive des hormones thyroïdiennes comprenant deux iodures) et de la transformation de la  $T_3$  en  $T_2$ . L'activité enzymatique de la D1 serait à l'origine de la source la plus importante de  $T_3$  circulante (Larsen and Berry 1995). La D2 est également responsable de la conversion de la  $T_4$  en  $T_3$  ainsi que de la  $rT_3$  en  $T_2$  et se situe au niveau du cerveau, des tissus adipeux bruns et de l'hypophyse. Dans ces tissus, la D2 est la principale source locale de  $T_3$  active (Kohrle 2000). Quant à la D3, elle est impliquée dans l'inactivation de la  $T_4$  en  $rT_3$  ainsi que de la  $T_3$  en  $T_2$  et qui est localisée dans le système nerveux, la peau et le placenta.

Les sulfotransférases et les UDP glucuronyl-transférases produites principalement par le foie sont des enzymes impliquées dans les réactions de phase II de détoxification dont le but général est d'augmenter la solubilité des molécules afin d'en faciliter leur élimination par les

urines et la bile. La sulfoconjugaison est le second mécanisme en importance impliqué dans le métabolisme des hormones thyroïdiennes. Chez le fœtus et le nouveau-né, les concentrations en hormones thyroïdiennes sulfatées ( $T_4S$ ,  $T_3S$ ,  $rT_3S$  et  $T_2S$ ) sont très élevées comparativement à celles mesurées chez l'adulte (Darras et al. 1999). Les sulfotransférases maintiennent l'homéostasie des hormones thyroïdiennes en catalysant la sulfatation des iodothyronines afin de faciliter la déionidation par la D1 (Visser 1996b). Cependant, elles semblent contribuer faiblement à l'élimination des hormones thyroïdiennes comparativement aux UDP glucuronyl-transférases. Ces dernières sont impliquées dans la glucuronidation des iodothyronines. Plusieurs isozymes participent à la glucuronidation des hormones thyroïdiennes, dont certains sont spécifiques aux différentes formes des iodothyronines (Beetstra et al. 1991).

### **1.5.3 Les récepteurs thyroïdiens**

Bien que les hormones thyroïdiennes puissent exercer certains effets physiologiques par des mécanismes non génomiques, il n'en demeure pas moins que la majorité de leurs actions sont initiées par l'interaction avec les récepteurs nucléaires thyroïdiens menant à la régulation des gènes cibles (Davis and Davis 1996; Zhang and Lazar 2000). Pour ce faire, la  $T_4$  considérée comme une prohormone, traverse la membrane plasmique puis est rapidement convertie en  $T_3$  par l'action des différentes désiodases. La  $T_3$  est donc la principale forme des hormones thyroïdiennes ayant accès au noyau et de ce fait, possède une affinité pour les récepteurs thyroïdiens 10 à 15 fois supérieure à la  $T_4$  (Oppenheimer et al. 1987). La liaison de la  $T_3$  avec les récepteurs thyroïdiens situés sur les gènes cibles liés à l'ADN initiera un changement de conformation du récepteur afin d'activer la transcription des gènes. Toutefois, la transcription ne peut se faire sans l'hétérodimérisation des récepteurs thyroïdiens avec le récepteur X rétinolique (RXR) et l'implication de coactivateurs et corépresseurs (Lazar et al. 1991;

Rosenfeld and Glass 2001). Les récepteurs thyroïdiens appartiennent à la superfamille des récepteurs hormonaux nucléaires et sont encodés par deux gènes produisant quatre récepteurs thyroïdiens fonctionnels; TR $\alpha$ 1, TR $\beta$ 1, TR $\beta$ 2 et TR $\beta$ 3 (Yen 2005; Zhang and Lazar 2000). D'autres récepteurs sont générés par ces deux gènes, mais leurs fonctions demeurent imprécises. L'expression des différents isoformes des récepteurs thyroïdiens ainsi que leurs activations varient selon les tissus et sont régulées temporellement de façon très spécifique.

#### **1.5.4 Les hormones thyroïdiennes et le développement du cerveau**

Le rôle le plus important des hormones thyroïdiennes est sans nul doute leur implication dans la maturation du cerveau au cours du développement fœtal et postnatal (Bernal and Nunez 1995; Chan and Kilby 2000; Howdeshell 2002; Legrand 1982; Porterfield and Hendrich 1993). En effet, elles sont essentielles à la prolifération et à la survie des cellules granulaires du cervelet (Nicholson and Altman 1972) ainsi qu'à la migration et au développement des réseaux neuronaux. La migration des neurones à travers les différentes couches du cortex dépend entre autres des astrocytes qui sécrètent la laminine qui sert de signal à la migration (Farwell and Dubord-Tomasetti 1999b). Or, un déficit en hormones thyroïdiennes retarde l'expression de cette protéine ainsi que sa synthèse (Farwell and Dubord-Tomasetti 1999a). La synaptogénèse ainsi que la myélinisation sont également régulées par les hormones thyroïdiennes, puisqu'elles sont respectivement impliquées dans le développement des épines dendritiques (Ruiz-Marcos et al. 1983) nécessaires à la libération des neurotransmetteurs et de la différenciation des oligodendrocytes responsables de la production des protéines de myéline (Rodriguez-Pena 1999).

L'importance des hormones thyroïdiennes au cours du développement fœtal a initialement été observée chez les enfants atteints de crétinisme neurologique caractérisé par un retard mental

sévère, du mutisme, une surdité et une hypertonie ainsi que des déficits au niveau des activités motrices (Boyages and Halpern 1993). Une carence en iode et conséquemment en hormones thyroïdiennes au cours du développement fœtal est à la source de ce déficit neurologique sévère (Delange 2000, 2001). Des troubles moteurs ainsi que la présence de surdité chez les enfants atteints démontrent également l'importance des hormones thyroïdiennes dans le développement de la motricité globale et du système auditif (Bryant et al. 2002; Wallis et al. 2008). Par ailleurs, les effets irréversibles d'une dysfonction des systèmes thyroïdiens maternel et/ou fœtal sur le développement du système nerveux central ont clairement été démontrés dans le cas d'une hypothyroïdie et d'une hypothyroxinémie maternelle (Haddow et al. 1999; Liu et al. 1994; Morreale de Escobar 2003; Pop et al. 1999) ainsi que d'une hypothyroïdie de nature congénitale chez l'enfant (Van Vliet 1999). L'hypothyroïdie congénitale, causée par différents dysfonctionnements de l'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien ou par l'agénésie de la thyroïde (Van Vliet 2005a), résulte également en un retard mental en l'absence de traitement. Heureusement, le dépistage systématique de l'hypothyroïdie congénitale établi dans bon nombre de pays, permet de traiter assez rapidement cette maladie (Van Vliet 2005b). Néanmoins, plusieurs études ont rapporté des déficits subtils des fonctions cognitives (visuospatiale, langage, mémoire) et motrices, des troubles d'attention et auditifs chez les enfants traités (Rovet 1999, 2002; Rovet and Hepworth 2001; Song et al. 2001; van Wassenaer et al. 2002).

Pendant longtemps, on pensait que le placenta empêchait le transfert des hormones thyroïdiennes maternelles vers le fœtus et par conséquent que l'exposition fœtale à celles-ci était limitée ou inexistante. Or, de nouvelles évidences démontrent clairement que les hormones thyroïdiennes maternelles atteignent le fœtus avant même l'initiation de la fonction thyroïdienne fœtale, et qu'elles exercent des actions développementales importantes (Dowling

et al. 2000; Dowling and Zoeller 2000; Sampson et al. 2000). Ainsi, une hypothyroïxémie maternelle ( $T_4$  libre basse-normale avec ou sans augmentation de la TSH) au cours du premier trimestre de grossesse a été associée à des retards moteur et intellectuel chez les enfants dans la première année de vie (Pop et al. 1999) et dont les effets persistaient au cours de la petite enfance (Pop et al. 2003).

Globalement, l'étude détaillée des fonctions neuropsychologiques des enfants atteints ou dont la mère était atteinte d'une maladie thyroïdienne au cours du développement fœtal a démontré des effets néfastes sur la motricité globale et fine, la mémoire, le développement du langage et des habiletés verbales (Zoeller and Rovet 2004). Par ailleurs, plusieurs fonctions reliées au développement du système visuel sont affectées dont l'attention et l'intégration visuelles ainsi que les habiletés visuospatiales. Parallèlement, des études chez l'animal ont démontré que les hormones thyroïdiennes étaient impliquées dans le développement des cônes de la rétine (Ng et al. 2001) nécessaires à la perception des couleurs, ainsi que dans le développement du thalamus et du cortex strié (Bradley et al. 1992) impliqué dans le traitement de l'information visuelle.

Des niveaux adéquats d'hormones thyroïdiennes chez la femme enceinte sont non seulement primordiaux pour le développement optimal des fonctions neuropsychologiques de l'enfant à naître, mais également pour le maintien de la grossesse et pour la santé générale du fœtus et de la mère. La grossesse est caractérisée par des modifications profondes de la fonction thyroïdienne résultant en changements hormonaux importants ainsi qu'en une augmentation du métabolisme des hormones thyroïdiennes (Brent 1997; Glinioer 1997; Glinioer and Delange 2000; Kaplan 1992). Ces changements sont exigeants pour la glande thyroïde puisqu'elle doit augmenter substantiellement son apport en hormones thyroïdiennes afin de soutenir les



besoins de la mère et du fœtus. Pour la majorité des femmes, cette nouvelle demande peut être atteinte sans provoquer des impacts négatifs sur les fonctions thyroïdiennes maternelle et fœtale. Néanmoins, jusqu'à 10 % des femmes vont développer des dysfonctions de la thyroïde au cours de la grossesse. Celles-ci demeurent majoritairement non diagnostiquées (Glinöer 1997, 1998; Mestman et al. 1995) et peuvent persister après la grossesse (Pop et al. 1991; Stagnaro-Green 2004). En fait, les troubles thyroïdiens sont les deuxièmes maladies endocriniennes en importance après le diabète de grossesse chez la femme enceinte (Mestman et al. 1995). Les répercussions sur la santé maternelle et foetale peuvent être considérables puisqu'une fonction thyroïdienne maternelle inadéquate est associée à des augmentations des avortements spontanés, de la prééclampsie, de la dysfonction placentaire, de la détresse fœtale ainsi qu'une élévation du nombre de nouveau-nés prématurés et de faible poids à la naissance (Greenman et al. 1962; Man 1972; Stagnaro-Green and Glinöer 2004; Wasserstrum and Anania 1995).

Outre leurs rôles dans le développement fœtal et postnatal et la santé maternelle, les hormones thyroïdiennes interviennent dans une multitude de fonctions de l'organisme, dont les systèmes cardiovasculaire, gastro-intestinal, respiratoire et reproducteur, le métabolisme des glucides, le développement des os et de la peau ainsi qu'au niveau de la stabilité émotionnelle (Braverman and Utiger 2005). Des troubles de la thyroïde, telles l'hypothyroïdie et l'hyperthyroïdie franches peuvent donc être des sources de morbidité appréciables qui nécessitent une prise en charge clinique et un traitement à vie. Un déficit nutritionnel en iode est la cause première des maladies thyroïdiennes au niveau mondial. Dans les zones géographiques où les apports en iode sont en quantité suffisante, les désordres thyroïdiens sont principalement d'ordre auto-immune. Dans ces zones, la prévalence de l'hypothyroïdie se situe entre 1 % et 2 % chez les femmes, ces dernières étant 10 fois plus affectées que les

hommes (Vanderpump and Tunbridge 2002). L'effet de l'âge sur le risque de développer l'hypothyroïde demeure incertain, puisque les résultats provenant de différentes études populationnelles demeurent contradictoires (Canaris et al. 2000; Hollowell et al. 2002; Vanderpump et al. 1995). Concernant l'hyperthyroïdie, sa prévalence a été estimée de 0,5 % à 2 % chez les femmes qui sont également plus affectées (~10 fois plus) que les hommes. L'âge ne semble pas influencer globalement le risque de développer cette maladie, cependant certaines hyperthyroïdies à étiologie spécifique sont plus fréquentes dans certains groupes d'âge. Outre une carence en iode, des facteurs génétiques (dont l'origine ethnique) et iatrogéniques (médicaments, chirurgie) influencent également le développement des maladies thyroïdiennes.

Les symptômes associés aux maladies thyroïdiennes sont subtils et non spécifiques et nécessitent donc le dosage des hormones thyroïdiennes. Or, des controverses subsistent quant aux réelles définitions des cas cliniques basées sur l'interprétation des tests diagnostiques. Ces incertitudes découlent entre autres de l'intervalle de référence euthyroïde (absence de désordres thyroïdiens) qui a été modifié à plusieurs reprises au cours des dernières décennies, suite à l'augmentation de la sensibilité des méthodes de laboratoire (Demers and Spencer 2002), mais également des risques pour la santé pour des individus se trouvant aux extrémités de cet intervalle (Ross 2005b, a). Un panel d'experts a été formé en 2004, afin de statuer sur les risques sur la santé associés aux troubles thyroïdiens infracliniques (Surks et al. 2004). Cette revue de littérature a permis de conclure que des concentrations en hormones thyroïdiennes se situant dans la zone d'hypothyroïdie infraclinique augmentent le risque de développer une hypothyroïdie franche dans les années subséquentes (Huber et al. 2002; Vanderpump et al. 1995) et sont associées à une élévation du cholestérol LDL (Danese et al. 2000; Kanaya et al. 2002). Parallèlement, une hyperthyroïdie sous-clinique est associée à une

progression vers l'hyperthyroïdie franche (Canaris et al. 2000; Samuels 1998; Wiersinga 1995), une augmentation du risque de souffrir de fibrillation auriculaire (Auer et al. 2001; Sawin et al. 1994), d'arythmie (Biondi et al. 2002) ainsi qu'une augmentation de la mortalité cardiovasculaire (Parle et al. 2001). Une diminution de la densité osseuse en présence d'hyperthyroïdie infraclinique a également été observée (Faber and Galloe 1994; Foldes et al. 1993). Plusieurs des effets potentiellement néfastes d'un trouble thyroïdien sous-clinique n'ont pu être clairement établis par manque d'études épidémiologiques.

À la lumière de cette littérature, il apparaît assez clairement que des concentrations en hormones thyroïdiennes se situant aux limites inférieure et supérieure de l'intervalle caractérisé d'euthyroïde, sont associées à des risques pour la santé de l'enfant et de la femme enceinte de même que pour la population générale. D'un point de vue de santé publique, les maladies de la thyroïde étant relativement communes, il semble primordial d'évaluer les risques potentiels associés à l'exposition humaine aux contaminants environnementaux dont les effets néfastes sur le système thyroïdien ont été observés à plusieurs reprises tant chez la faune sauvage que les modèles animaux.

## **1.6 Effets des contaminants environnementaux sur la fonction thyroïdienne chez la femme enceinte, le nouveau-né et l'adulte**

Plusieurs études épidémiologiques ont été développées afin d'investiguer les effets potentiels des contaminants organiques suspectés de perturber le système thyroïdien. Les principaux résultats des différentes études publiées à ce jour sont présentés dans les tableaux 1 à 4 et sont divisés selon la population à l'étude, soit les femmes enceintes (tableau 1.1), les nouveau-nés (tableau 1.2), les enfants et adolescents (tableau 1.3) et les adultes (tableau 1.4). Les études sont présentées selon l'ordre chronologique de l'année de publication. Les informations

concernant la taille de l'échantillon, le type et les niveaux d'exposition, les paramètres thyroïdiens à l'étude ainsi que les analyses statistiques utilisées sont présentées dans chaque tableau. La nature des expositions a été divisée en 3 catégories : industrielle, environnementale et consommation de poissons. Une exposition de type industriel concerne les populations dont la source principale d'exposition provient de l'activité industrielle environnante, telle la présence d'une ou plusieurs industries chimiques à proximité. L'exposition dite environnementale a été utilisée pour les populations dont la source d'exposition était non spécifique alors que la catégorie consommation de poissons concerne les populations dont la consommation de poissons et/ou de mammifères marins était la principale source d'exposition aux contaminants. Cette distinction apparaît importante puisque la source de l'exposition influence directement le type de mélange de contaminants auxquels les populations sont exposées. En effet, les populations humaines ne sont jamais exposées à un seul contaminant, mais plutôt à un mélange de plusieurs contaminants qui varient en proportion d'un individu et d'une population à l'autre. Par ailleurs, la consommation de poissons est à la fois une source d'exposition aux contaminants, mais également à des nutriments essentiels tels l'iode, le sélénium et les acides gras polyinsaturés qui affectent le statut thyroïdien (Kohrle 1999; Kvicala and Zamrazil 2003), le développement du cerveau (Delange 2000; Uauy et al. 2001; Whanger 2001) ainsi que la santé et le bien-être général des individus (Brown and Arthur 2001; Ruxton et al. 2004). Finalement, il est important de mentionner que les concentrations des hormones thyroïdiennes observées dans ces études se situaient habituellement à l'intérieur des limites de référence de l'intervalle caractérisé d'euthyroïde.

Les premières études épidémiologiques sur le sujet ont eu lieu au Pays-Bas au début des années 90 chez un petit groupe de nouveau-nés (Pluim et al. 1993) ainsi que chez des dyades

mères-enfants (Koopman-Esseboom et al. 1994) (tableaux 1.1 et 1.2). Par la suite, plus d'une vingtaine d'études ont été publiées chez les bébés au cours des 12 premiers mois de vie (tableau 1.2), alors que seulement six études ont porté sur le système thyroïdien de la femme enceinte (tableau 1.1). Chez ces dernières, trois des études avaient principalement pour objectif d'évaluer les effets perturbateurs des PCDD/PCDFs ainsi que les BPCs ayant une activité « dioxin-like » sur les concentrations d'hormones thyroïdiennes (Foster et al. 2005; Koopman-Esseboom et al. 1994; Nagayama et al. 2003). L'exposition à ces contaminants ne semble pas modifier les concentrations circulantes de la TSH et de la T<sub>4</sub> libre, mais des associations négatives sont observées avec la T<sub>4</sub> et T<sub>3</sub> totale. Par contre, il est important de mentionner que ces études sont difficilement comparables entre elles, puisque les dosages des hormones thyroïdiennes ont été réalisés au deuxième trimestre de grossesse dans l'étude de (Foster et al. 2005), tandis qu'ils ont été réalisés en période post-partum (jusqu'à un an après l'accouchement) dans les deux autres études. Cette différence est importante puisque les concentrations en hormones thyroïdiennes fluctuent considérablement au cours de la grossesse et sont très différentes de celles en période post-partum (Glinioer 1997; Stagnaro-Green 2004). Les effets des BPCs ainsi que d'autres organochlorés ont été examinés dans les trois autres études (Chevrier et al. 2008; Steuerwald et al. 2000; Takser et al. 2005). Aucune relation entre l'exposition aux BPCs et le statut thyroïdien n'a été observée chez les femmes enceintes les plus exposées provenant des Îles Féroés (Steuerwald et al. 2000). Toutefois, aucun ajustement pour des facteurs confondants n'a été effectué dans cette étude. Malgré les niveaux d'exposition plus faibles, des relations négatives entre les BPC coplanaires, le *p*, *p'*-DDE ou le HCB et la T<sub>3</sub> totale ont été rapportées chez des femmes canadiennes (Takser et al. 2005). De plus, des associations négatives entre certains congénères des BPCs et la T<sub>4</sub> totale et entre le HCB et la T<sub>4</sub> libre et totale ont été observées chez des Américaines d'origine mexicaine (Chevrier et al. 2008).

Tableau 1.1 Exposition aux composés halogénés et statut thyroïdien chez la femme enceinte

Étude	N	Contaminants environnementaux			Hormones thyroïdiennes									
		Type d'exposition	Matrice d'exposition	Moment du prélèvement	Niveau d'exposition	Moment du prélèvement	TSH	T <sub>4</sub> t	T <sub>4</sub> l	T <sub>3</sub> t	T <sub>3</sub> l	Analyse statistique		
Koopman- Esseboom et coll. 1994	78	Environnementale	Lait maternel	3 <sup>e</sup> semaine après accouchement	Moy arith $\sum$ PCB-PCDD: 74,9 pg TEQ/kg lipides <sup>1</sup>	Dernier mois de grossesse	→	→	→	↓	→	→	→	Corrélation
Steuerwald et coll. 2000	173	Consommation de poissons	Sérum maternel	34 <sup>e</sup> semaine de grossesse	Moy géo $\sum$ BPC: 1,12 $\mu$ g/g lipides, <i>p,p'</i> -DDE: 0,72 <sup>2</sup>	34 <sup>ème</sup> semaine de grossesse	→	→	→	→	→	→	→	Corrélations
Nagayama et coll. 2003	94	Environnementale	Lait maternel	2-4 semaines après accouchement	Moy arith $\sum$ PCDD: 8,8 pg/g lipides; $\sum$ PCDF: 7,0 <sup>3</sup> Moy arith $\sum$ PCBs coplanaires: 9,5 pg/g lipides <sup>3</sup>	1 an post-partum	↑	↓	↓	↓	→	→	→	Régression logistique simple
Foster et coll. 2005	145	Environnementale	Sérum maternel	2 <sup>e</sup> trimestre de grossesse	Moy arith $\sum$ TEQ: 0,34 pg/g lipides <sup>4</sup>	2 <sup>e</sup> trimestre de grossesse	→	→	→	→	→	→	→	Régressions linéaires multiples
Takser et coll. 2005	149	Environnementale	Sérum maternel	1 <sup>er</sup> et 2 <sup>e</sup> trimestre et accouchement	Médiane $\sum$ BPCs: 0,39 $\mu$ g/L <sup>5</sup>	1 <sup>er</sup> et 2 <sup>e</sup> trimestre et accouchement	→	→	→	→	→	→	→	Régressions multiples avec données répétées
					Médiane BPC 138: 0,08 $\mu$ g/L; 153: 0,09 BPC 180: 0,05 ; <i>p,p'</i> -DDE: 0,46; HCB: 0,06	1 <sup>er</sup> et 2 <sup>e</sup> trimestre et accouchement	→	→	→	→	→	→	→	

Chevrier et coll. 2008	334	Environnementale	Sérum maternel	Fin deuxième trimestre de grossesse	Moy géo $\Sigma$ BPC:65,3 ng/g lipides; $\Sigma$ TEQ: 1,07 pg/g lipides <sup>6</sup> Moy géo BPC 44:2,5 ng/g lipides; BPC 52:3,2; BPC 183:0,32 Moy géo HCB:65,8 ng/g lipides	Fin deuxième trimestre de grossesse	→	→	→	Régressions linéaires multiples
							→	→	→	
							→	↓	→	
							→	↓	↓	

Adapté de (Hagmar 2003; Maervoet et al. 2007)

<sup>1</sup> $\Sigma$ 17 PCDD/F et 3 BPCs planaires; <sup>2</sup> $\Sigma$ BPC 138, 153, 180 multipliée par 2; <sup>3</sup>PCDDs, PCDFs et congénères des BPCs inclus dans les sommes non-indiqués; <sup>4</sup>Total TEQ mesuré par la méthode DR-CALUX; <sup>5</sup> $\Sigma$ 14 BPCs; <sup>6</sup> $\Sigma$ 19 BPCs

Le développement fœtal et néonatal représente une période très vulnérable aux perturbations pouvant être occasionnées par des agents tératogènes étant donné l'immaturation des organes et des systèmes métaboliques et physiologiques (Landrigan 2004; Landrigan et al. 2004). C'est pourquoi la majorité des études évaluant les effets des contaminants environnementaux sur la fonction thyroïdienne ont porté sur les nouveau-nés. Les caractéristiques des différentes études ainsi que les principaux résultats sont présentés au Tableau 1.2. Les résultats d'études publiées avant l'année 2000, reposent en général sur de petits échantillons et des analyses statistiques rudimentaires (corrélations simples, test de Student et test de Mann-Whitney). Des corrélations simples ont également été utilisées dans plusieurs autres études plus récentes (Asawasinsopon et al. 2006; Matsuura et al. 2001; Otake et al. 2007; Sandau et al. 2002; Steuerwald et al. 2000; Wang et al. 2005). L'absence d'ajustement pour des facteurs potentiellement confondants met en doute la validité des résultats obtenus. Les résultats provenant de l'étude de (Longnecker et al. 2000) sont également questionnables, puisque l'exposition prénatale chez les 160 enfants a été estimée à partir de seulement 10 échantillons de lait maternel. De plus, les auteurs n'ont pas présenté les résultats pour la T<sub>3</sub> totale pour une raison de dégradation de la molécule lors de l'entreposage, ce qui met en doute la validité des concentrations des autres hormones. C'est donc dire que malgré le grand nombre d'études réalisées chez les nouveau-nés, très peu d'entre elles ont été menées selon une démarche épidémiologique rigoureuse. Parmi les études restantes, la majorité d'entre elles semblent indiquer que l'exposition aux BPCs et autres organochlorés persistants (HCB, DDE, PCDD/PCDF) n'a pas d'effets sur les niveaux circulants de la TSH (Grandjean et al. 2001; Herbstman et al. 2008; Maervoet et al. 2007; Ribas-Fito et al. 2003; Takser et al. 2005; Wilhelm et al. 2008), à l'exception de trois études (Alvarez-Pedrerol et al. 2008a; Baccarelli et al. 2008; Chevrier et al. 2007). Les associations entre les concentrations des contaminants environnementaux et les formes libres et liées de la T<sub>3</sub> et T<sub>4</sub> sont quant à elles très variables



d'une étude à l'autre, mais elles ne sont toutefois jamais positives. Les différences observées dans ces études peuvent être attribuables entre autres aux différents congénères des BPCs mesurés et leur regroupement, aux différentes matrices biologiques utilisées pour le dosage des contaminants et des hormones thyroïdiennes ainsi que le moment où les prélèvements ont été effectués et les méthodes de laboratoire utilisées. À titre d'exemple, (Herbstman et al. 2008) ont observé des associations négatives entre le BPC 153 et la T<sub>4</sub> libre et totale mesurées dans le sang du cordon ombilical, alors que l'association avec la T<sub>4</sub> totale n'était plus significative lorsque sa concentration a été quantifiée à partir de sang séché collecté dans les premiers jours de vie. Les effets potentiellement négatifs du beta-hexacyclohexane ( $\beta$ -HCH) sur le système thyroïdien du fœtus et du nouveau-né ont été investigués dans une seule étude, où une association positive avec la TSH a été rapportée (Alvarez-Pedrerol et al. 2008a).

La perturbation des niveaux circulants des hormones thyroïdiennes chez le nouveau-né par les contaminants en émergence a été examinée dans un nombre restreint d'études (tableau 1.2). Les effets potentiels des HO-PCBs sur la fonction thyroïdienne néonatale ont été évalués dans deux études comportant un faible nombre de participants et dont les analyses statistiques se résument à des corrélations simples. (Sandau et al. 2002) rapportent une diminution des concentrations de la TSH, de la T<sub>4</sub> libre et de la T<sub>3</sub> totale en fonction des concentrations plasmatiques des HO-PCBs dans le sang de cordon de nouveau-nés inuits, alors que (Otake et al. 2007) ont observé une augmentation de la T<sub>4</sub> libre sans association avec la TSH. Les résultats de ces deux études sont donc contradictoires et ne permettent pas de conclure sur les effets potentiels de ces contaminants sur la fonction thyroïdienne néonatale. Par ailleurs, les associations observés sur les paramètres thyroïdiens dans l'étude de Sandau et collaborateurs étaient associés à la somme des concentrations plasmatiques des HO-PCBs et du PCP. Les deux études ne sont donc pas réellement comparables. Aucune autre étude épidémiologique

n'a investigué les effets potentiels du PCP sur la fonction thyroïdienne, et ce tant chez l'enfant que chez l'adulte. Concernant les PBDEs, une seule étude a permis d'évaluer leurs propriétés perturbatrices potentielles sur le système thyroïdien des nouveau-nés (Herbstman et al. 2008). Des associations négatives entre PBDE-100 et la T<sub>4</sub> totale ainsi qu'entre le PBDE-153 et la T<sub>4</sub> libre et totale ont été observées au niveau du sang de cordon ombilical provenant de 297 nouveau-nés américains.

Tableau 1.2 Exposition aux composés halogénés et statut thyroïdien chez le nouveau-né

Étude	N	Contaminants environnementaux			Hormones thyroïdiennes								
		Type d'exposition	Matrice d'exposition	Moment du prélèvement	Niveau d'exposition	Moment du prélèvement	T <sub>3</sub> l	T <sub>3</sub> t	T <sub>4</sub> l	T <sub>4</sub> t	Analyse statistique		
Pluim et coll. 1993	33	Environnementale	Lait maternel	3 <sup>e</sup> semaine après accouchement	Moy. arith (ng TEQ/kg lipides) 2,3,7,8-TCDD; exposition faible: 2,8; exposition élevée: 4,39 <sup>1</sup>	Cordon ombilical	→	→	→	→	→	→	Test de student
Koopman- Esseboom et coll. 1994	78	Environnementale	Lait maternel	2 <sup>e</sup> semaine après accouchement	Moy. arith $\Sigma$ PCB-PCDD: 74,86 pg TEQ/kg lipides <sup>3</sup> Moy. arith $\Sigma$ PCDD; exposition faible <30,75 pg TEQ/kg lipides; exposition élevée >30,75 <sup>3</sup>	Cordon ombilical	→	→	→	→	→	→	Correlations
Nagayama et coll. 1998	36	Environnementale	Lait maternel	3 mois après accouchement	Moy. Arith: 34 ng TEQ/kg <sup>4</sup>	Cordon ombilical	→	→	↓	→	→	→	Correlations
Longnecker et coll. 2000	160	Environnementale	Lait maternel et sérum maternel	De l'accouchement à 18 mois postpartum	Mediane PCB 153: 113,3 ng/kg lipides <sup>5</sup>	Cordon ombilical	→	→	→	→	→	→	Régressions linéaires multiples
Steuerwald et coll. 2000	173	Consommation de poissons et mammifères marins	Sérum maternel	34 <sup>e</sup> semaine de grossesse	Moy. Geo $\Sigma$ BPC: 1,12 µg/g lipides; <i>p,p'</i> -DDE: 0,72 <sup>5</sup>	Cordon ombilical	→	→	→	→	→	→	Correlations
Grandjean et coll. 2001	401	Consommation de poissons et mammifères marins	Cordon ombilical	À la naissance	Mediane $\Sigma$ BPC: 1,02 µg/g lipides; <i>p,p'</i> -DDE: 0,71 <sup>5</sup>	Dépistage néonatal, premiers jours de vie	→	→	→	→	→	→	Régressions multiples, ajusté consommation de poissons

Matsuura et coll. 2001	337	Environnementale	Lait maternel	30 jours post-partum	Moy. arith PCDD + BPCs coplanaires:29,5 pgTEQ/g lipides <sup>6</sup>	→	Corrélations
Sandau et coll. 2002	18	Consommation de poissons et mammifères marins	Cordon ombilical	À la naissance	Nunavik, moy géo ΣBPCs (pg/g):1510; BCN, ΣBPCs:2710 <sup>7</sup>	→	Corrélations
Ribas-Fito et coll. 2003	70	Industrielle	Cordon ombilical	À la naissance	Nunavik, moy géo ΣHO-BPCs (pg/g): 286; PCP:1870; BCN, ΣHO-BPCs:553; PCP:1430 <sup>7</sup> Médiane ΣBPC (ng/ml):0,27; HCB:1,14; <i>p,p'</i> -DDE:0,85; β-HCH :0,54 <sup>8</sup>	→	Régressions logistiques
Takser et coll. 2005	92	Environnementale	Cordon ombilical	À la naissance	Médiane ΣBPC (µg/L): 0,16, HCB : 0,02 ; <i>p,p'</i> -DDE :0,16 <sup>9</sup>	→	Régressions multiples
Wang et coll. 2005	118	Industrielle	Placenta	À la naissance	Médiane BPCs + PCDD:16,20 pg <sub>10</sub> TEQ/g lipides	→	Corrélations
Asawasinsopon et coll. 2006	39	Environnementale	Cordon ombilical	À la naissance	Moy. géo <i>p,p'</i> -DDE:742 ng/g lipides; <i>p,p'</i> -DDT:77,1; <i>o,p'</i> -DDE:46,6	→	Corrélations
Chevrier et coll. 2007	285	Environnementale	Sérum maternel	Fin deuxième trimestre de grossesse	Moy géo ΣBPC:59,8 ng/g lipides; TEQ:0,86 pg/g lipides <sup>11</sup> Moy géo ΣBPC inducteurs:38,9 ng/g lipides <sup>11</sup>	→	Régressions linéaires multiples

Maervoet et coll. 2007	198	Environnementale	Cordon ombilical	À la naissance	Médiane $p,p'$ -DDE: 189 ng/g lipides	Cordon ombilical	→	→	→	Régressions linéaires multiples
					Médiane $\Sigma$ BPC: 106 ng/g lipides; Calux-TEQ: 30,6; HCB: 25,9 <sup>12</sup>		→	↓	↓	
Wilhelm et coll. 2008	189	Environnementale	Sérum maternel	32 <sup>e</sup> semaine de grossesse	Médiane $\Sigma$ PCDD/F + BPCs: 19,33 pg/g lipides <sup>13</sup>	Cordon ombilical	→	→	→	Régressions linéaires multiples
			Lait maternel	3 premières semaines post-partum	Médiane $\Sigma$ PCDD/F + BPCs: 19,67 pg/g lipides <sup>13</sup>	Cordon ombilical	→	→	→	
Otake et coll. 2007	39	Environnementale	Cordon ombilical	À la naissance	Moy arith $\Sigma$ BPCs: 130 ng/g lipides <sup>4</sup>	Dépistage néonatal, premiers jours de vie	→	→	→	Corrélations
					Moy arith $\Sigma$ HO-BPCs: 12 ng/g <sup>14</sup>		→	↑	↑	
Herbstman et coll. 2008	297	Environnementale	Cordon ombilical	À la naissance	Moy arith PBDE 47: 14,4 ng/g lipides	Cordon ombilical	→	→	→	Régressions logistiques multiples
					Moy arith PBDE 100: 2,5 ng/g lipides	Cordon ombilical	→	↓	→	Régressions logistiques multiples
					Moy arith PBDE 153: 2,8 ng/g lipides	Cordon ombilical	→	↓	↓	Régressions logistiques multiples
					Moy arith BPC 153: 6,8 ng/g lipides <sup>15</sup>	Cordon ombilical	→	↓	↓	Régressions linéaires multiples
					Moy arith BPC 153: 6,8 ng/g lipides <sup>15</sup>	Dépistage néonatal, premiers jours de vie	→	↓	→	Régressions linéaires multiples

Bacarelli et coll. 2008	51	Industrielle	Sérum maternel	Avant la grossesse	$\Sigma$ TEQs:41,8 ppt <sup>16</sup>	Dépistage néonatal, premiers jours de vie	↑	Régressions logistiques multiples
Alvarez- Pedredol et coll. 2008	27	Environnementale	Cordon ombilical	À la naissance	Moy géo $\Sigma$ BPCs:0,70 ng/mi; DDE:1,08; DDT:0,07; HCB:0,70 <sup>17</sup> Moy géo BPC153:0,16; $\beta$ - HCH:0,24	Dépistage néonatal, premiers jours de vie	→	Régressions linéaires multiples

Adapté de (Hagmar 2003; Maervoet et al. 2007)

TSH: T4t: T4t: T3t ; <sup>17</sup> dioxines et 10 furannes; <sup>2</sup>t4/TBG indicateur de la T4 libre; <sup>3</sup> $\Sigma$ 17 PCDD/F et 3 BPCs planaires; <sup>4</sup>PCDDs, PCDFs et congénères des BPCs inclus dans les sommes non-indiqués; <sup>5</sup> $\Sigma$ BPC 138, 153, 180 multipliée par 2; <sup>6</sup>14 dioxines, 15 furannes et 12 BPCs coplanaires; <sup>7</sup> $\Sigma$ 49 BPCs,  $\Sigma$ 14 HO-BPCs, BCN : région de la Basse Côte-Nord; <sup>8</sup> $\Sigma$ 7 BPCs; <sup>9</sup> $\Sigma$ 14 BPCs; <sup>10</sup> $\Sigma$ 17 dioxines et furannes et 12 BPCs. Association significative seulement entre non-ortho BPC et fT4\*TSH; <sup>11</sup>  $\Sigma$ 19 BPCs et  $\Sigma$ 11 BPCs inducteurs d'enzymes hépatiques; <sup>12</sup>  $\Sigma$ 5 BPCs; <sup>13</sup>  $\Sigma$ 7 PCDDs, 10 PCDFs et 12 BPCs; <sup>14</sup>  $\Sigma$ 209 BPCs et  $\Sigma$ 6 HO-BPCs; <sup>15</sup> Associations significatives pour les BPC 118, 138, 153 et 180 uniquement pour les accouchements vaginales; <sup>17</sup>  $\Sigma$ 4 BPCs

Seulement trois études ont porté sur les effets potentiels de l'exposition à des contaminants environnementaux sur la fonction thyroïdienne des enfants dont l'âge variait de 4 à 17 ans (Tableau 1.3). Une association positive entre la TSH et le BPC 118, sans effet sur les concentrations libres de la T<sub>4</sub> et T<sub>3</sub> a été observée chez des enfants âgés de 7 à 10 ans, et dont l'exposition aux BPCs était plus faible que dans les deux autres études (Osius et al. 1999). Par ailleurs, les auteurs ont rapporté des relations négatives entre la T<sub>3</sub> libre et quatre congénères des BPCs. Chez des adolescents mohawks, l'exposition aux congénères de BPC persistants a été associée à une augmentation de la TSH et à une diminution de la T<sub>4</sub> libre, sans effet sur la T<sub>4</sub> et T<sub>3</sub> totale (Schell et al. 2002). De plus, des associations négatives entre les congénères des BPCs non persistants et la T<sub>4</sub> libre ainsi qu'entre le HCB et la T<sub>4</sub> totale ont été observées. Finalement, des relations négatives entre certains congénères des BPCs, le *p*, *p'*-DDT ou le  $\beta$ -HCH et la T<sub>3</sub> totale ont été rapportées chez des enfants âgés de 4 ans, alors que la T<sub>4</sub> libre était associée négativement uniquement avec le BPC 118 (Alvarez-Pedrerol et al. 2008b). L'exposition au *p*, *p'*-DDE n'a été associée à aucun paramètre de la fonction thyroïdienne chez les enfants (Alvarez-Pedrerol et al. 2008b; Schell et al. 2002).

Tableau 1.3 Exposition aux composés halogénés et statut thyroïdien chez l'enfant et l'adolescent

Étude	N	Âge (ans)	Contaminants environnementaux			Hormones thyroïdiennes					Analyse statistique	
			Type d'exposition	Niveau d'exposition	TSH	T <sub>4</sub>	T <sub>4</sub> t	T <sub>3</sub> t	T <sub>3</sub> l			
Osius et coll. 1999	320	7-10	Environnementale	Moy géo BPC 118:0,03 ug/L	↑	→	→	→	→	→	→	Régressions linéaires multiples
				Moy géo BPC 153:0,17 ug/L; BPC 180:0,08; BPC 183:0,02; BPC 187:0,02	→	→	→	→	→	↓		
Schell et coll. 2008	232	10-17	Consommation de poissons	Moy géo $\Sigma$ BPC persistents:0,34 ppb <sup>1</sup>	↑	→	→	↓	→	→	→	Régressions linéaires multiples
				Moy géo $\Sigma$ BPC non-persistents:0,25 <sup>2</sup>	→	→	→	↓	→	→	→	
				Moy géo HCB:0,03	→	→	→	→	→	→	→	
				Moy géo DDE:0,31	→	→	→	→	→	→	→	
Alvarez-Pedrol et coll. 2008	256	4	Environnementale	Moy géo BPC138:0,18 ng/ml; BPC 153:0,25; DDT:0,06 ng/ml; $\beta$ -HCH:0,22	→	→	→	→	→	↓	→	Régressions linéaires multiples
				Moy géo BPC118:0,09	→	→	→	↓	→	↓	→	
				Moy géo $\Sigma$ BPCs:0,82 <sup>3</sup> ; HCB:0,32; DDE:0,88	→	→	→	→	→	→	→	

<sup>1</sup> $\Sigma$ 8 BPC persistants, association significative uniquement chez les enfants non allaités ; <sup>2</sup> $\Sigma$ 8 BPC non persistants, association significative uniquement chez les enfants non allaités ; <sup>3</sup> $\Sigma$ 7 BPCs.



Plusieurs études ont porté sur l'investigation de perturbations possible de l'homéostasie des hormones thyroïdiennes en fonction de l'exposition aux contaminants persistants chez l'adulte (Tableau 1.4). Ces études sont généralement de bonne qualité sur le plan méthodologique. Par contre, bien que certaines études comportent des tailles d'échantillons appréciables et évaluent de nouveaux paramètres du système thyroïdien (volume de la thyroïde, antithyroperoxydases (TPO-Ab) et antithyroglobuline (Tg-Ab)), les associations rapportées s'avèrent questionnables sur le plan des analyses statistiques étant donné le grand nombre de comparaisons multiples et l'absence d'ajustement pour des facteurs potentiellement confondants (Langer et al. 2007a; Langer et al. 2007b; Langer et al. 2006). Également, l'étude de (Meeker et al. 2006) est entachée d'un biais de sélection. En effet, les hommes ayant participé à l'étude ont été recrutés dans une clinique de fertilité parce que ces derniers soupçonnaient des problèmes de fertilité. Or, les troubles thyroïdiens peuvent être la cause de sous-fertilité ou d'infertilité. Il est donc impossible de déterminer si ces participants avaient des troubles thyroïdiens non diagnostiqués. En considérant les résultats provenant des autres études, certaines tendances peuvent être observées. L'exposition au *p, p'*-DDE ne semble pas être associée aux concentrations circulantes des hormones thyroïdiennes et de la TSH. Cependant, les concentrations plasmatiques des autres contaminants, dont les BPCs sont principalement associées à une baisse de la T<sub>4</sub> totale, sans effet sur la T<sub>4</sub> libre. Les effets sur la TSH et la T<sub>3</sub> totale sont moins clairs, puisque des associations non significatives ou négatives ont été rapportées à plusieurs reprises. Trop peu d'études ont examiné les associations entre les composés halogénés et la T<sub>3</sub> libre pour en déterminer les effets. Seulement deux études ont investigué les effets potentiels de l'exposition aux PBDEs sur le statut thyroïdien chez l'adulte. (Hagmar et al. 2001a) ont rapporté une association négative entre le PBDE 47 et la TSH sans effet significatif sur les concentrations des hormones thyroïdiennes chez un groupe de pêcheurs suédois. Une association négative entre la somme des PBDEs et la TSH a

également été rapportée chez des consommateurs de poissons des Grands-Lacs (Turyk et al. 2008). Toutefois, une augmentation significative de la  $T_4$  totale ainsi qu'une diminution de la  $T_3$  totale ont été également observées chez les participants.

Tableau 1.4 Exposition aux composés halogénés et statut thyroïdien chez l'adulte

Étude	N	Genre	Âge (ans)	Type d'exposition	Contaminants environnementaux		Hormones thyroïdiennes							Autres	Analyse statistique
					Type d'exposition	Niveau d'exposition	TSH	T <sub>4</sub> t	T <sub>4</sub> l	T <sub>3</sub> t	T <sub>3</sub> l				
Sala et coll. 2001	608	Hommes/ Femmes	Moyenne 49	Industrielle	Moy arith HCB travailleurs: 81,4 ng/ml; non-travailleurs: 16,8 Moy arith ΣBPCs travailleurs: 6,7 ng/ml; non-travailleurs: 3,2 <sup>1</sup>	→	↓	→	→						Régressions linéaires multiples
Langer et coll. 2006	464	Hommes/ Femmes	Médiane 47	Industrielle	ΣBPCs (1750ng/g lipides) + DDE (2502) + HCB (1337) <sup>2</sup> ΣBPCs: 1750ng/g lipides <sup>2</sup>	↓								↑ Volume thyroïde → Volume thyroïde	Correlations
Langer et coll. 2007a et b	2046	Hommes/ Femmes	NM	Industrielle	Médiane ΣBPCs: 1086 ng/g lipides <sup>2</sup> Médiane DDE: 1770 Médiane HCB: 662	→	↑	→	→	↑	→			↑ Volume thyroïde, TPOab ↑ Volume thyroïde, TPOab	Correlations
Donato et coll. 2008	527	Hommes/ Femmes	51.7	Industrielle	Mean PCB 153: 331,6 ng/g lipides; ΣBPCs: 1309 <sup>3</sup>	→	↑	→	→				↑	↑ Volume thyroïde, TPOab ↑ Volume thyroïde, TPOab	Régressions linéaires multiples
Bloom et coll. 2008	36	Hommes/ Femmes	Médiane 39.5	Consommation de poissons	Médiane ΣPBDEs: 15,0 ng/g lipides <sup>4</sup>	→	→	→	→	→					Régressions linéaires multiples
Hagmar et coll. 2001a	110	Hommes	Médiane Suède : 42; Latvia : 48	Consommation de poissons	Médiane ΣBPCs: 1137 ng/g lipides; ΣHO-BPC: 255; <i>p,p'</i> -DDE: 828; <i>p,p'</i> - DDT: 50; HCB: 84; PCP: 644; <sup>5</sup> BDE-47: 1,04 ng/g lipides	→	→	→	→	→	→	→	→		Régressions linéaires ajustés pour l'âge

Persky et coll. 2001	169	Hommes	Moyenne 49,7 <sup>1</sup>	Consommation de poissons	Moy arith $\Sigma$ BPCs:4,7 ppb <sup>6,7</sup>	→	↓	→	→	Régressions linéaires multiples	
Pelletier et coll. 2002	16	Hommes	NM	Environnementale	Moy arith $p,p'$ -DDE:4,6 ppb <sup>6</sup> Moy arith PCB 28:3,5 ug/kg lipides; PCB 99:11,7; PCB 118:15,7 et PCB 170:12,4 Moy arith PCB 153:56,8; $\beta$ -HCH:22,4; DDT:8,4 et DDE:430	→	→	→	→	Régressions linéaires multiples	
Bloom et coll. 2003	66	Hommes	Moyenne 31,1	Consommation de poissons	Moy arith BPC 153:0,64 ng/g serum; HCB:0,22	→	↓	→	→	Régressions linéaires multiples	
Rylander et coll. 2006	196	Hommes	Médiane 59	Consommation de poissons	Médiane BPC 153:370 ng/g lipides	→	→	→	→	Régressions linéaires multiples	
Turyk et coll. 2006	56	Hommes	Moyenne 49,6 <sup>1</sup>	Consommation de poissons	Médiane $p,p'$ -DDE:580 ng/g lipides Moy arith $\Sigma$ BPCs:806 ng/g lipides <sup>6</sup>	↑	↓	↓	↓	Régressions linéaires multiples	
Meeker et coll. 2006	341	Hommes	Moyenne 36	Environnementale	Moy arith $\Sigma$ TEQs:46 pg/g lipides <sup>6</sup> Moy arith $p,p'$ -DDE:602 ng/g lipides <sup>6</sup> Moy géo BPC 138:33,2 ng/g lipides; PCB 153:42,6; $\Sigma$ BPCs:222; $\Sigma$ BPCs estrogéniques:16,1; $\Sigma$ BPCs dioxines-like:80,6; $\Sigma$ BPCs inducteurs d'enzymes:90,6; HCB:15,6 <sup>8</sup> Moy géo $p,p'$ -DDE:236	→	→	→	→	↓	Régressions linéaires multiples

Turyk et coll. 2007	1166	Hommes	44.9	Environnementale	Moy géo $\Sigma$ TEQ:18,2 pg/g lipides <sup>9</sup>	→	↓	Régressions linéaires multiples
Abdelouahab et coll. 2008	124	Hommes	Médiane 51.5	Consommation de poissons	Moy géo $\Sigma$ BPCs:200 <sup>9</sup>	↓	→	Régressions linéaires multiples
					Moy géo DDE:337	→	→	
Turyk et coll. 2008	308	Hommes	Moyenne 59	Consommation de poissons	Médiane $p,p'$ -DDE:1,27	→	→	Régressions linéaires multiples
					Médiane $\Sigma$ PBDEs:38 ng/g lipides <sup>11</sup>	↓	↑	
Hagmar et coll. 2001b	182	Femmes	42	Consommation de poissons	Médiane BPC153:159 ng/g lipides	→	→	→
Persky et coll. 2001	49	Femmes	Moyenne 46.6 <sup>1</sup>	Consommation de poissons	Moy arith $\Sigma$ BPCs:2,6 ppb <sup>6,7</sup>	→	↓	Régressions linéaires multiples
					Moy arith $p,p'$ -DDE:3,3 ppb <sup>6</sup>	→	→	
Turyk et coll. 2007	1279	Femmes	45.9	Environnementale	Moy géo $\Sigma$ TEQ:18,2 pg/g lipides, $\Sigma$ BPCs:200 <sup>9</sup>	↓	↓	Régressions linéaires multiples
					Moy géo DDE:337	→	→	
Abdelouahab et coll. 2008	87	Femmes	Médiane 47	Consommation de poissons	Médiane $\Sigma$ BPCs:1370 ng/g lipides; $p,p'$ -DDE:1,52 <sup>10</sup>	→	↓	→

Adapté de (Abdelouahab et al. 2008; Hagmar 2003)

NM : non mentionné; <sup>1</sup> $\Sigma$ 7 BPCs; <sup>2</sup> $\Sigma$ 15 BPCs; <sup>3</sup> $\Sigma$ 24; <sup>4</sup> $\Sigma$ 9 PBDEs; <sup>5</sup> $\Sigma$ 18 BPCs et 5 HO-BPCs; <sup>6</sup>Parmi les consommateurs de poissons des Grands-Lacs; <sup>7</sup> $\Sigma$ 89 BPCs non spécifiques; <sup>8</sup> $\Sigma$ 57 BPCs non spécifiques; <sup>9</sup> $\Sigma$ 7 PCDDs, <sup>10</sup> $\Sigma$ 5 PCDFs, <sup>11</sup> $\Sigma$ 16 BPCs; <sup>12</sup> $\Sigma$ 8 PBDEs et plusieurs autres marqueurs du système thyroïdien (T4 totale dans l'urine, rT3, T4 attaché à la TTR, T4 attaché à la TBG, anticorps de la thyroglobuline) dont certains sont associés aux PBDEs.

## **1.7 Mécanismes sous-jacents : études animales et *in vitro***

L'investigation des effets des contaminants organiques sur la fonction thyroïdienne dans le cadre d'études épidémiologiques est limitée à l'évaluation de quelques paramètres du système thyroïdien, dont principalement les niveaux circulants des hormones thyroïdiennes. Or, les études *in vitro* et chez les modèles animaux ont révélé une multitude de mécanismes par lesquels ces contaminants peuvent perturber la fonction thyroïdienne ainsi que leurs actions, et ce, parfois sans modifier les concentrations sanguines des hormones thyroïdiennes. Les principaux mécanismes sont a) l'altération de la synthèse et de la sécrétion des hormones thyroïdiennes; b) l'interférence avec le transport plasmatique par les protéines de transport; c) la modification du métabolisme et de l'élimination des hormones thyroïdiennes; d) l'altération de l'expression des gènes associée aux hormones thyroïdiennes (revue complète par (Boas et al. 2006; Brouwer et al. 1998; Brucker-Davis 1998; Zoeller et al. 2007)) (Figure 1.9).

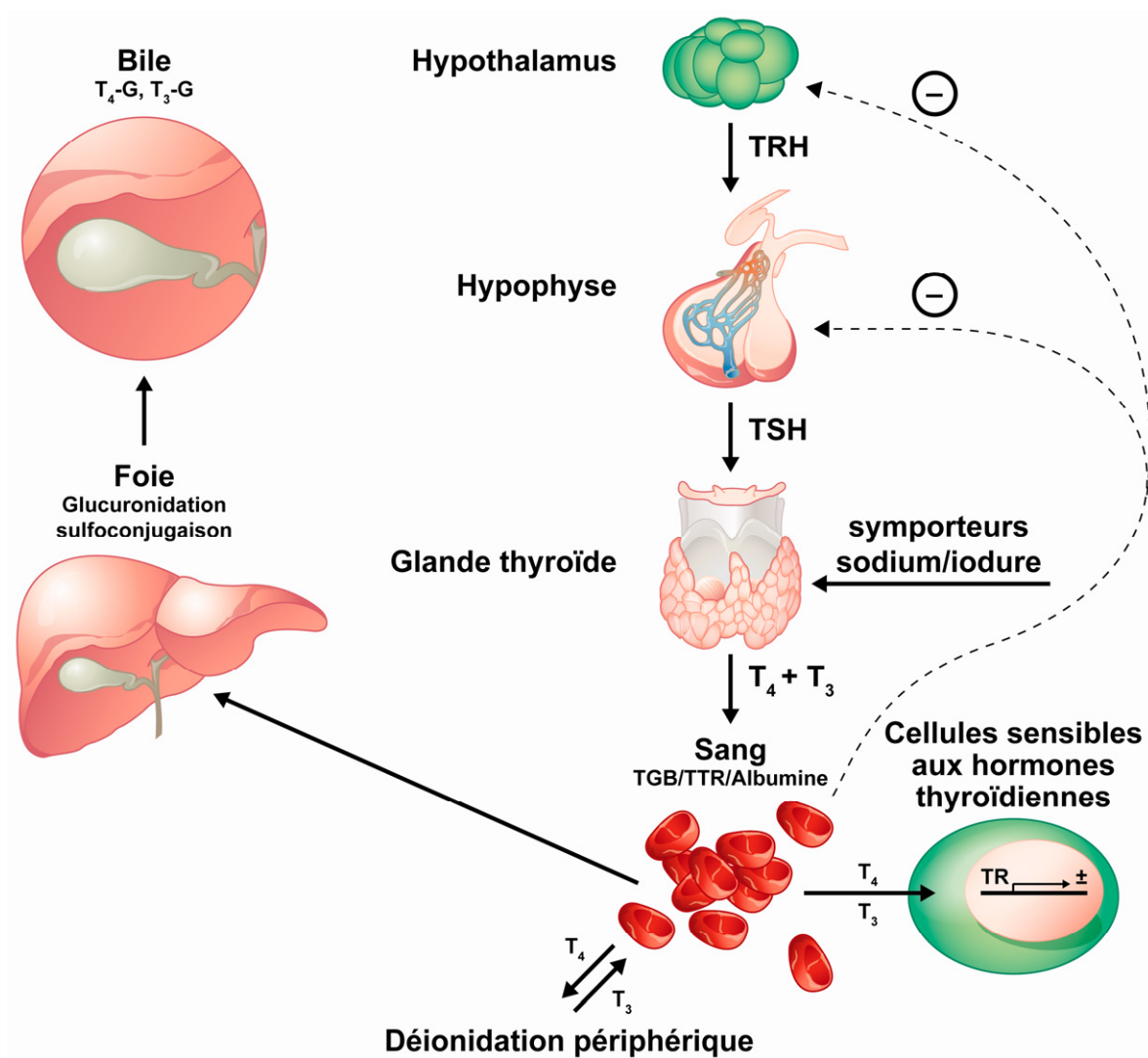


Figure 1.9 Mécanismes d'actions impliqués dans la perturbation du système thyroïdien (adapté de Boas et al. 2006).

Certains produits chimiques sont reconnus pour leurs interférences dans l'apport de l'iode à la glande thyroïde en compétitionnant pour les symporteurs sodium-iodure. C'est le cas de certains anions, dont le thiocyanate présent dans les cigarettes, ainsi que d'autres présents dans l'environnement (perchlorate, nitrate, etc) (De Groef et al. 2006; Wolff 1998). Outre l'excès d'iode (effet Wolf-Chaikoff), d'autres composés, tels les BPCs et la TCDD auraient

également la capacité de moduler l'expression des gènes nécessaires à la synthèse de ces symporteurs (Pocar et al. 2006). De plus, le *p,p'*-DDT et l'Aroclor 1254 (mélange commercial de BPCs) ont la capacité d'inhiber l'activité de l'adénylate cyclase, soit en interférant au niveau des récepteurs de la TSH ou à une étape post-récepteur (Santini et al. 2003).

Le transport des hormones thyroïdiennes semble être particulièrement affecté par les composés halogénés étant donné la ressemblance structurelle de plusieurs d'entre eux avec les hormones thyroïdiennes. Cette similarité explique la forte affinité de certains de ces composés avec les protéines de transport. Des études *in vitro* ont démontré l'affinité supérieure des métabolites hydroxylés des BPCs (jusqu'à 1000 fois supérieure) et des PBDEs ainsi que du pentachlorophénol pour la TTR comparativement à son ligand naturel, la T<sub>4</sub> (Cheek et al. 1999; Hamers et al. 2006; Lans et al. 1993; Meerts et al. 2000; van den Berg 1990; van Raaij et al. 1994). Un groupement hydroxylé en position *meta* ou *para* serait un prérequis pour l'attachement à la TTR. Le PFOS dont la structure chimique s'apparente aux acides gras, aurait une certaine affinité pour l'albumine (Jones et al. 2003). Par contre, seulement 2 HO-PCBs ont démontré une affinité pour la TBG (Cheek et al. 1999). La compétition entre certains composés halogénés et la T<sub>4</sub> pour ces protéines de transport aurait pour conséquence d'augmenter la disponibilité des hormones thyroïdiennes dans les tissus et d'ainsi augmenter son métabolisme. En ce qui concerne l'attachement à la TTR, ce mécanisme s'avère particulièrement important chez le fœtus puisque cette protéine semble être impliquée dans le transport placentaire des hormones thyroïdiennes maternelles



vers le fœtus ainsi que vers le cerveau en développement (McKinnon et al. 2005; Schreiber et al. 1995; Southwell et al. 1993).

Les composés halogénés ont également la capacité d'induire, d'inhiber ou d'interférer avec les trois grandes familles d'enzymes impliquées dans le métabolisme des hormones thyroïdiennes et ce, indépendamment de leurs effets via les protéines de transport. L'activité enzymatique hépatique de la D1 a été diminuée chez des embryons de poulet suite à l'exposition à l'Aroclor 1254 (Gould et al. 1999), tandis que son activité et celle de la D3 n'ont pas été modifiées par l'exposition à un congénère de BPC de type « dioxin-like » (Beck et al. 2006). Des changements dans l'activité des désiodases ont été observés dans d'autres organes, mais ces effets ont été attribués à une réponse compensatoire à une diminution de la T<sub>4</sub> circulante, plutôt qu'à une interférence directe des composés halogénés avec l'activité enzymatique des désiodases (Alvarez et al. 2005; Beck et al. 2006). Par contre, une inhibition de la D1 hépatique par les métabolites hydroxylés des BPCs a été rapportée (Schuur et al. 1998). Une seule étude a été entreprise afin de vérifier les effets des PCDD/PCDFs et des BPCs ainsi que leurs métabolites sur l'activité des sulfotransférases. Celle-ci a révélé une inhibition de la sulfatation de la T<sub>2</sub> par les métabolites hydroxylés des composés parents (Schuur et al. 1998).

Les PCDD/PCDFs, les BPCs et d'autres organochlorés induisent une variété d'enzymes de biotransformation. Tel qu'il a été mentionné précédemment, les PCDD/PCDFs, les BPCs coplanaires (« dioxin-like »), les BPC mono-ortho substitués ainsi que le HCB se lient au récepteur Ah et déclenchent ainsi l'expression de certaines enzymes UDP glucuronyl-

transférases qui sont impliqués entre autres dans le métabolisme des hormones thyroïdiennes (Craft et al. 2002; Fisher et al. 2006; van Raaij et al. 1993b). Les BPCs non-coplanaires et les métabolites méthylsulfonés induisent quant à eux une autre famille d'enzymes dont le profil d'induction s'apparente à celui produit par le phénobarbital (Connor et al. 1995; Denomme et al. 1983; Kato et al. 1998; Khan et al. 2002). Ces substances accélèrent l'élimination de la  $T_4$  et de la  $T_3$ , provoquant une augmentation des concentrations de la TSH (Hood and Klaassen 2000), alors que les ligands du récepteur Ah réduisent principalement les niveaux circulants de  $T_4$  (Vansell and Klaassen 2001). Les PBDEs augmentent également le métabolisme des hormones thyroïdiennes en activant différentes familles d'enzymes microsomaux, dont les UDP glucuronyl-transférases (Pacyniak et al. 2007). Toutefois, leurs capacités d'induction sont plus faibles que celles des BPCs coplanaires et peu probable à de faibles niveaux d'exposition (Chen and Bunce 2003; Hallgren et al. 2001; Zhou et al. 2001).

La capacité de certains composés halogénés à se lier aux récepteurs des hormones thyroïdiennes ou à affecter l'expression de certains gènes sous le contrôle des hormones thyroïdiennes a été examinée dans quelques études. (Cheek et al. 1999) ont examiné l'affinité de plusieurs composés pour les récepteurs  $TR\beta$ , et seuls les HO-PCBs avaient la capacité de se lier avec ces derniers, mais avec une affinité 10 000 fois plus faible que la  $T_3$ . Par la suite, il a été démontré que le métabolite hydroxylé 4-HO-BPC 106 se lie aux récepteurs  $TR\beta_1$  et agit comme un agoniste en augmentant la production de l'hormone de croissance et la prolifération des cellules GH3 de l'hypophyse, lesquelles sont normalement induites par la liaison de la  $T_3$  avec ce récepteur (You et al. 2006). D'autres HO-BPCs

induisent également la croissance des cellules GH3 (Ghisari and Bonefeld-Jorgensen 2005; Kitamura et al. 2005). Il est aussi intéressant de mentionner que certains congénères des BPCs ne peuvent exercer une action agoniste sur les cellules GH3 lorsque testées individuellement, mais qu'une telle action est possible en utilisant un mélange commercial contenant un BPC coplanaire pouvant induire les enzymes CYP 1A1 et former des métabolites hydroxylés qui agissent sur les récepteurs thyroïdiens (Gauger et al. 2007). Cependant, des études ont révélé que d'autres HO-BPCs supprimaient la transcription T<sub>3</sub>-dépendante dans plusieurs lignées de cellules (Iwasaki et al. 2002; Kimura-Kuroda et al. 2005) et inhibaient le développement des dendrites des cellules de Purkinje, alors que d'autres métabolites l'activaient (Kimura-Kuroda et al. 2007). En fait, il semble que les BPCs et leurs métabolites puissent augmenter, inhiber ou n'avoir aucun effet sur l'expression des gènes T<sub>3</sub>-dépendants et ce, selon le congénère ou le gène à l'étude (Roelens et al. 2005; Yamada-Okabe et al. 2004). Ainsi, certains des effets observés sur les cellules s'apparenteraient à ceux observés dans le cas d'une hypothyroïdie (Bansal et al. 2005; Fritsche et al. 2005) alors que d'autres ne seraient pas complètement caractéristiques de ce trouble thyroïdien (Sharlin et al. 2006). En ce qui concerne les PBDEs, certains congénères auraient la capacité d'induire la prolifération des cellules GH3 (Schriks et al. 2006) et d'interférer dans la transcription des gènes dépendants des hormones thyroïdiennes (Lema et al. in press, 2008). Toutefois, très peu d'études ont été réalisées à ce jour sur ce sujet.

Des effets sur la morphologie de la glande thyroïde ont également été rapportés suite à l'exposition à certains composés halogénés. L'exposition aux BPCs chez le rat a été

associée à la présence d'une hypertrophie et hyperplasie des cellules folliculaires de la glande (Collins et al. 1977). Une réduction dans la quantité de colloïde dans les follicules ainsi qu'une vacualisation et l'augmentation de la taille de l'épithélium folliculaire ont également été observées chez des rats exposés à un mélange complexe d'organochlorés et de métaux (Wade et al. 2002). Par ailleurs, l'exposition prénatale et postnatale au PBDE 47 a révélé la formation de kystes et la dégénération de l'épithélium folliculaire (Talsness et al. 2008).

## **1.8 Hypothèses et objectifs de l'étude**

Les populations côtières qui se nourrissent abondamment des produits de la mer sont particulièrement vulnérables à la présence des POPs dans les chaînes alimentaires marines. La population des Moyenne et Basse-Côte-Nord est exposée à des niveaux relativement élevés de contaminants, étant donné l'apport important des produits marins dans leur régime alimentaire. Une étude menée en 1990 auprès d'un groupe de 204 pêcheurs a révélé que la concentration moyenne plasmatique des BPCs était de 35,2 µg/L comparativement à 2 µg/L chez des individus de la région de Québec (Dewailly et al. 1992). La consommation d'œufs d'oiseaux aquatiques ainsi que de foies de poissons et de mammifères marins était la principale source d'exposition. Les peuples autochtones, particulièrement de l'Arctique, sont parmi les populations les plus exposées aux POPs à l'échelle mondiale. L'alimentation traditionnelle des Inuit du Nunavik est constituée en grande partie de mammifères marins et de poissons qui sont parfois fortement contaminés. Dewailly et collaborateurs ont rapporté, chez les Inuit du Nunavik, des concentrations de BPCs dans le sang et le lait maternel largement supérieures à celles mesurées chez la population du sud du Québec (Ayotte et al.

1997a; Dewailly et al. 1993b; Dewailly et al. 1989a; Muckle et al. 2001b). Plus précisément, les concentrations des BPCs et du *p, p'*-DDE dans le lait maternel étaient deux fois supérieures chez les femmes inuites comparées à celles du sud du Québec, tandis que l'exposition fœtale à ces contaminants était respectivement quatre et deux fois plus élevée chez les nouveau-nés inuits (Dewailly et al. 1996) comparativement à ceux du sud du Québec (Rhainds et al. 1999). Des concentrations élevées en composés « dioxin-like » ont également été observées chez la population adulte du Nunavik (Ayotte et al. 1997b). La consommation de graisse de béluga (muktuk) est la principale source d'exposition aux POPs chez cette population (Dewailly et al. 1993a). Des concentrations très élevées de POPs ont également été rapportées chez d'autres populations consommatrices de poissons dont celles du Groenland et des Grands Lacs (Bjerregaard and Hansen 2000; Humphrey and Budd 1996; Jacobson and Jacobson 1996). Par ailleurs, les niveaux les plus élevés observés à ce jour ont été mesurés auprès d'une cohorte mère-enfant provenant des Îles Féroés (Steuerwald et al. 2000). La consommation de globicéphale (baleine) serait à l'origine de la forte exposition aux BPCs rapportée dans cette population (Grandjean et al. 1995). Toutefois, l'exposition à des contaminants en émergence, tels les PBDEs et les composés perfluoroalkylés, chez les populations côtières et de l'Arctique est peu documentée malgré qu'ils aient été récemment détectés dans les chaînes alimentaires de l'Arctique (Ikonomou et al. 2002; Stern and Ikonomou 2000; Tomy et al. 2004; Verreault et al. 2005; Wolkers et al. 2004).

Ce projet de doctorat vise donc à examiner les effets potentiels de l'exposition chronique à des composés halogénés persistants et en émergence sur la fonction thyroïdienne chez la femme enceinte, le nouveau-né et l'adulte. Deux populations côtières du Québec ont été

choisies afin de répondre à ces préoccupations : la population des Moyenne et Basse-Côte-Nord ainsi que la population inuite du Nunavik. Nous avons émis l'hypothèse que les concentrations sériques des hormones thyroïdiennes seraient associées aux concentrations plasmatiques de certains composés halogénés, avec ou sans effet sur les concentrations de la TSH et de la TBG.

Pour ce faire, dans un premier temps nous avons vérifié si l'exposition prénatale aux BPCs et au HCB était associée au statut thyroïdien à la naissance de nouveau-nés provenant du Nunavik et de la Moyenne et Basse-Côte-Nord (Chapitre 2). Ces nouveau-nés ont été recrutés lors de deux études à visées étiologiques de type transversal dont les principaux objectifs étaient d'effectuer une surveillance de l'exposition prénatale aux métaux lourds, aux organochlorés et à certains nutriments et d'étudier les associations entre les mesures de l'exposition aux contaminants et les indicateurs de santé des nouveau-nés (poids à la naissance, taille, périmètre crânien, durée de la gestation, et concentrations sériques des hormones thyroïdiennes).

Dans un second temps, nous avons vérifié notre hypothèse auprès de femmes enceintes et de leurs enfants participant à une étude de cohorte mère-enfant inuite et dont le but principal consistait à évaluer les effets des organochlorés et des métaux lourds sur le développement de l'enfant. Cette étude nous a permis de répondre à deux objectifs : 1) de vérifier si l'exposition à certains POPs chez le femme enceinte affectait son statut thyroïdien en fin de grossesse; 2) déterminer si, chez l'enfant, l'exposition *in utero* à plusieurs POPs et à certains de leurs métabolites résultait en une altération des

concentrations des hormones thyroïdiennes à la naissance et au cours de la première année de vie (Chapitre 3).

Finalement, une enquête de santé de type transversal a été réalisée en 2004, afin d'actualiser le portrait de santé de la population du Nunavik par la collecte de données représentatives et de suivre l'évolution des différents indicateurs de santé, des conditions sociales et des caractéristiques du milieu de vie et de l'environnement. Nous avons donc profité des données provenant de l'Enquête de santé Inuit 2004 pour caractériser l'exposition des adultes inuits du Nunavik à des contaminants environnementaux en émergence et d'examiner l'apport des facteurs alimentaires et socio-démographiques dans la variation de cette exposition (Chapitre 4). Par ailleurs, nous avons évalué si l'exposition chronique à certains contaminants environnementaux pouvait perturber l'homéostasie des hormones thyroïdiennes chez l'adulte (Chapitre 5).

## **Chapitre 2 – Effects of prenatal exposure to organochlorines on thyroid hormone status in newborns from two remote coastal regions in Québec, Canada**

Renée Dallaire, Éric Dewailly, Pierre Ayotte, Gina Muckle, Claire Laliberté and Suzanne Bruneau.

### **Résumé**

**Introduction:** Plusieurs études prospectives ont révélé que l'exposition prénatale aux biphényles polychlorés (BPCs) ainsi qu'à d'autres composés organiques (COs) affectaient le développement neurologique au cours de la petite enfance. Un des mécanismes par lesquels les BPCs pourraient interférer au niveau du développement neurologique serait un déficit dans les concentrations des hormones thyroïdiennes (HTs). **Objectifs:** Nous avons investigué l'impact potentiel de l'exposition transplacentaire aux BPCs et à l'hexachlorobenzène (HCB) sur les concentrations des HTs chez des nouveau-nés provenant de deux populations côtières éloignées exposées aux COs par la consommation maternelle de produits de la mer. **Méthode:** À la naissance, des prélèvements sanguins ont été collectés au cordon ombilical des nouveau-nés provenant du Nunavik (n = 410) et de la Basse-Côte-Nord du St-Laurent (n = 260) (Québec, Canada) pour l'analyse de paramètres thyroïdiens [thyroïdostimuline (TSH), T<sub>4</sub> libre (T<sub>4</sub>l), T<sub>3</sub> totale (T<sub>3</sub>t) et de la globuline (TBG)] et de contaminants. **Résultats:** Dans les modèles multivariés, les concentrations plasmatiques dans le cordon ombilical du BPC 153, le congénère prédominant des BPCs, n'étaient pas associées avec les niveaux des HTs et de la TSH dans les deux populations. L'exposition prénatale au HCB était associée positivement avec les niveaux de la T<sub>4</sub>l à la naissance dans



les deux populations (Nunavik,  $\beta = 0,12$ ,  $p = 0,04$ ; Basse-Côte-Nord,  $\beta = 0,19$ ,  $p < 0,01$ ), alors que les concentrations de la TBG étaient associées négativement avec les concentrations du BPC 153 ( $\beta = -0,13$ ,  $p = 0,05$ ) dans la cohorte de la Basse-Côte-Nord.

**Conclusion:** Les niveaux des COs n'étaient pas associés à une réduction des concentrations des HTs chez les nouveau-nés provenant de nos deux populations. Les nutriments essentiels dérivés des produits de la mer tels que l'iode pourraient avoir protégé des effets négatifs des COs sur la fonction thyroïdienne au cours du développement fœtal.

## **Abstract**

**Background:** Several prospective studies have revealed that prenatal exposure to polychlorinated biphenyls (PCBs) and other organochlorine compounds (OCs) affect neurodevelopment during infancy. One of the mechanisms by which PCBs might interfere with neurodevelopment is a deficit in thyroid hormone (TH) concentrations. **Objectives:** We investigated the potential impact of transplacental exposure to PCBs and hexachlorobenzene (HCB) on TH concentrations in neonates from two remote coastal populations exposed to OCs through the consumption of seafood products. **Methods:** Blood samples were collected at birth from the umbilical cord of neonates from Nunavik ( $n = 410$ ) and the Lower North Shore of the St. Lawrence River ( $n = 260$ ) (Québec, Canada) for thyroid parameters [thyroid-stimulating hormone (TSH), free  $T_4$  (f $T_4$ ), total  $T_3$  (t $T_3$ ) and thyroxine-binding globuline (TBG)] and contaminants analyses. **Results:** In multivariate models, umbilical cord plasma concentrations of PCB 153, the predominant PCB congener, were not associated with TH and TSH levels in both populations. Prenatal exposure to HCB was positively associated with f $T_4$  levels at birth in both populations (Nunavik,  $\beta = 0.12$ ,  $p = 0.04$ ; St. Lawrence,  $\beta = 0.19$ ,  $p < 0.01$ ), whereas TBG concentrations were negatively

associated with PCB 153 concentrations ( $\beta = -0.13$ ,  $p = 0.05$ ) in the St. Lawrence cohort.

**Conclusion:** OCs levels were not associated to a reduction in TH in neonates from our two populations. Essential nutrients derived from seafood such as iodine may have prevented the negative effects of OCs on the thyroid economy during fetal development.

## **Introduction**

Populations living in coastal regions generally consume more fish and seafood products than inland populations, for cultural and economical reasons. Polyunsaturated fatty acids, iodine, and selenium are essential nutrients derived mainly from marine products consumption that are known to provide important health benefits (Delange 2000; Mozaffarian and Rimm 2006; Rayman 2000). Unfortunately, several persistent organochlorine compounds (OCs), such as polychlorinated biphenyls (PCBs) and chlorinated pesticides, are lipophilic toxicants that are prone to biomagnification in species of the marine food web that are consumed by Inuit people (Dewailly et al. 1989b). OCs are carried away from industrial point sources to the circumpolar region by long-range atmospheric and oceanic transport. The production and use of most of these agricultural and industrial compounds have been banned in most parts of the world since the 1970s. However, dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) is still in use in many developing countries for malaria control, whereas others OCs are constantly leaching into the environment due to improper disposal and accidental spills.

Since the placenta is permeable to all OCs, umbilical cord blood concentrations are usually highly correlated and of similar magnitude to maternal blood OC levels on a lipid basis (Muckle et al. 2001b). Consequently, foetuses may be exposed to higher concentrations of

these compounds on a body weight basis and may be more vulnerable to toxic effects than their mothers (Landrigan 2004). Indeed, several prospective cohort studies have revealed that OCs, particularly PCBs, are neurodevelopmental toxicants (Schantz et al. 2003). Because some of the neurological deficits observed in infants exposed *in utero* to PCBs were similar to those identified in infants with congenital hypothyroidism or born from a hypothyroxinemic mother, it was hypothesized that OCs interference with thyroid function might be the underlying mechanism. In addition, *in vitro* and animal models have shown that several PCB congeners can interfere with the thyroid system by different mechanisms: (a) alteration of thyroid hormones (THs) synthesis and secretion; (b) interference with plasma transport by carrier proteins; (c) modification of TH metabolism; (d) alteration of TH responsive-gene expression (Brouwer et al. 1998; Zoeller et al. 2002). Concerning hexachlorobenzene (HCB), animal studies have revealed that this compound induces hypothyroidism in rats (Kleiman de Pisarev et al. 1995; van Raaij et al. 1993a) and reduces TH availability in brain (van Raaij et al. 1994). Since THs are essential for proper brain development during the fetal and neonatal periods, any toxicant that has the ability to alter TH status during specific developmental windows may contribute to neurological impairments.

Epidemiological studies aiming to assess the effects of prenatal exposure to background levels of OCs on TH status have yielded equivocal results (Hagmar 2003; Maervoet et al. 2007). To further address this research question of public health interest, we investigated if prenatal exposure to OCs was associated with decreased TH concentrations in neonates from two coastal populations relying in part on seafood for subsistence. We first verified

this relationship in 410 Inuit neonates born in Nunavik (Québec, Canada) between 1993 and 1996 and then in 260 neonates from the Lower North Shore (LNS) region of the St. Lawrence River (Québec, Canada) born between 1993 and 1997 (Figure 1). Exposure to OCs is principally through lifetime maternal sea mammals consumption in Nunavik (Muckle et al. 2001a) and seabirds eggs consumption in the LNS region of the St. Lawrence River (Dewailly et al. 1992).

## **Material and Methods**

### **Study populations and data collection**

*Nunavik study:* Between 1993 and 1996, pregnant women residing in the 14 Inuit communities of Nunavik were invited to participate in a study aiming to monitor prenatal exposure to environmental contaminants present in the marine food web. Women attending one of the two health centres in Nunavik (Kuujuaq on the Ungava Bay and Puvirnituk on the Hudson Bay) for delivery were asked to participate in the study. Inuit women residing in Nunavik but who gave birth outside these two centres were not included in the study. Umbilical cord blood samples were collected immediately after birth and interviews with the mothers were conducted within 1 - 4 weeks after delivery. Anthropometric characteristics and health status of newborns were obtained from medical charts. We obtained 437 blood samples for contaminants and TH analyses from the 491 participating newborns. As transient neonatal hypothyroxinemia may be induced by prematurity (<37 weeks gestation) and low birth weight (<2500 g) (Fisher 1998), 18 premature newborns and 5 newborns with low birth weight were excluded. Four newborns had missing values for serum lipids concentrations.

*St. Lawrence River study:* Pregnant women admitted for delivery at one of the two health centres of the LNS region of the St. Lawrence River between 1993 and 1997 were invited to take part in the study to assess prenatal exposure to OCs and heavy metals and its potential effect on infant health indicators. A 20-ml of blood sample was collected from the umbilical cord after it was severed. Maternal socio-demographic and obstetrical information was gathered through a questionnaire administered at recruitment. We reviewed the newborn medical charts to obtain information on newborns' characteristics and delivery outcomes. Contaminants and TH measurements were available for 260 newborns. Four of them were excluded because of a birth weight lower than 2500g.

Informed consent was sought from all women enrolled in the studies. The research protocol for the St. Lawrence study was evaluated and approved by the ethics committee of Laval University, whereas the protocol of the Nunavik study was evaluated and approved by the ethics committee of Laval University and the Nunavik Nutrition and Health Committee (regional review board).

### **Blood sampling and OC analyses**

Umbilical cord blood sampling and OCs analysis procedures were the same for both study groups and were performed during the same time frame. Blood samples were collected in vials containing EDTA as the anticoagulant and were centrifuged (10 min, 5000 rpm). The plasma was transferred to glass vials prewashed with hexane. Plasma samples were frozen at -80 °C until the time of analysis. Analysis of OCs were performed at the laboratory of the *Centre de toxicologie du Québec*, which is accredited by the Canadian Association for Environmental Analytical Laboratories. Quality control procedures for OCs were described

previously (Rhainds et al. 1999). Concentrations of the 14 most-frequently detected PCB congeners in human populations (IUPAC nos. 28, 52, 99, 101, 105, 118, 128, 138, 153, 156, 170, 180, 183, 187) and HCB were measured in the purified extracts using a HP-5890 series II gas chromatograph (Hewlett-Packard, Palo Alto, CA, USA) with dual-capillary columns (HP Ultra and Ultra II; Hewlett-Packard) and dual Ni-63 electron capture detectors. The limit of detection for PCB congeners and chlorinated pesticides was 0.02 µg/L. Detailed laboratory procedures for those analyses were previously described in (Muckle et al. 2001b).

Total cholesterol, free cholesterol, and triglycerides were determined in plasma by standard enzymatic procedures, whereas phospholipids were quantified according to (Takayama et al. 1977) using a commercial kit (Wako Pure Chemical Industries, Richmond, VA, USA). The concentration of total plasma lipids was calculated according to the formula developed by (Akins et al. 1989).

### **Thyroid hormone analyses**

Analyses of serum thyroid-stimulating hormone (TSH), free T<sub>4</sub> (fT<sub>4</sub>), total T<sub>3</sub> (tT<sub>3</sub>), and thyroxine-binding globulin (TBG), the major transport protein of TH were performed using radioimmunoassays. TSH, T<sub>3</sub>, and fT<sub>4</sub> were measured on the Bayer Immuno 1® System (Bayer Corp., Tarrytown, NY, USA); coefficients of variation (CV) were 6.3% at 2.0 mIU/L for TSH, 6.0% at 2.11 nmol/L for T<sub>3</sub>, and 6.0% at 16.17 pmol/L for fT<sub>4</sub>. Finally, TBG was determined using the Clinical Assays™ GammaDab™ system (DiaSorin, Stillwater, Minnesota, USA) with a CV of 3.7% at 523 nmol/L.

### **Statistical analysis**

Concentrations of umbilical cord PCB 153 were considered as a surrogate measure for the total exposure to the moderate and highly chlorinated PCB congeners as they were highly intercorrelated in our study ( $r$  varying from 0.85 to 0.98). Indeed, PCB 153 was shown to be highly correlated with the most persistent PCB congeners and to be the most prevalent and abundant congener measured in populations environmentally exposed to these compounds (Gladen et al. 2003; Muckle et al. 2001b). Also, PCB congeners were grouped according to their capacity to induce the microsomal enzymes UDP-glucuronyl transferase, CYP1A and CYP2B as proposed by (Chevrier et al. 2007). For this grouping, only PCB congeners with a detection frequency of at least 70% were considered. The enzyme inducers included were PCBs 99, 118, 153, 180, and 187. However, as the beta estimates were similar for PCB congener 153 and the sum of PCB congeners-inducing enzymes (data not shown), we present in tables only the results for the exposure to the PCB congener 153. OC concentrations were log transformed as they followed a lognormal distribution. A value equal to half the limit of detection of the analytical method was attributed to non-detects (less than 1% for all contaminants). Thyroid parameters were all log transformed to satisfy normality, linearity, and homoscedasticity criteria in multivariate models. Pearson correlation coefficients and multiple linear regression models were performed to evaluate the relationship of OC levels to TH and TBG concentrations.

Multiple linear regressions were used to adjust for confounding factors related to mother and newborn characteristics known to influence TH status. Potential confounders considered in the models differed between hormone variables and populations. The

following covariates were evaluated in both study populations: maternal age (years, continuous), parity (discrete), maternal smoking status (yes/no) or number of cigarettes/day (non-smoker, 1-10 cigarettes/day,  $\geq 10$  cigarettes/day), cord blood selenium concentrations ( $\mu\text{mol/L}$ , continuous), gender, gestational age (weeks, continuous), and birth weight (grams, continuous). Gestational age and birth weight were not included together in multiple linear models because they were strongly intercorrelated. We included the variable (gestational age or birth weight) that better explained the TH parameter under study. Maternal use of drugs for thyroid diseases during pregnancy and ethnicity (Caucasian or Aboriginal) were also tested as potential confounders in the population of the LNS region of the St. Lawrence River as this additional information was available. The confounding effect of all these variables was tested by removing variables one by one; only those influencing the regression coefficients by more than 10% were included in the final adjusted models. Statistical models assessing the relationship between the lipophilic contaminants PCB 153 and HCB with thyroid parameters were further adjusted for total plasma lipid concentrations as (Schisterman et al. 2005) have shown that this approach is less prone to biased estimation compare to lipid standardization.

A bilateral  $p$ -value  $< 0.05$  was considered statistically significant. Database management and statistical analysis were conducted with SAS (version 9.1; SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).



## Results

Characteristics of pregnant women and their newborns were quite similar in the two populations (Table 1). Participating women from Nunavik were all Inuit whereas half of the women from the St. Lawrence River region were aboriginal (Innu). A greater proportion of Inuit newborns were exposed to cigarette by-products during gestation through maternal smoking compared to the St. Lawrence newborns.

Tableau 2.1: Characteristics of mothers and newborns

	n	Mean ± SD	Range
<b>Nunavik</b>			
Gender (% male)	374	48.1	
Gestational age (weeks)	286	39 ± 1	37 – 43
Birth weight (g)	369	3507 ± 441	2550 – 4735
Length (cm)	351	51 ± 2	40 – 65
Head circumference (cm)	344	35 ± 2	25 – 50
Maternal age (years)	369	23 ± 5	15 – 42
Parity	363	2.0 ± 1.7	0 – 8
Maternal smoking status (% , yes)	308	86.0	
Ethnicity (% Aboriginal)	374	100	
<b>LNS of the St. Lawrence River</b>			
Gender (% male)	259	48.5	
Gestational age (weeks)	229	39.6 ± 1.1	37.0 – 42.3
Birth weight (g)	260	3534 ± 507	2500 – 5110
Length (cm)	260	51.9 ± 2.1	47.0 – 59.5
Head circumference (cm)	260	35 ± 2	29 – 39
Maternal age (years)	260	25 ± 6	14 – 41
Parity	259	1.0 ± 1.2	0 – 7
Maternal smoking status (% , yes)	253	60.0	
Ethnicity (% Aboriginal)	259	48.7	

Abbreviation: SD, standard deviation

PCB 153 and HCB were detected in the cord plasma of almost 100% of newborns from the two regions (Table 2). Correlations between cord plasma PCB 153 and HCB were high in both groups (Nunavik,  $r = 0.78$ ; St. Lawrence,  $r = 0.72$ ). Geometric mean plasma concentrations of PCB 153 and HCB in samples from Nunavik were, respectively, 1.5 and 2.8 times higher than in samples from the St. Lawrence population.

Tableau 2.2: Umbilical cord blood concentrations of organochlorines in newborns from Nunavik and the lower north shore region of the St. Lawrence River, Québec, Canada

Analytes	n	Percent detected	Lipid standardized concentrations ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )			Wet weight concentrations ( $\mu\text{g}/\text{L}$ )		
			Geometric mean	95% CI	Range	Geometric mean	95% CI	Range
<b>Nunavik</b>								
PCB 153	410	99.8	95.0	88.5 – 101.9	<LOD – 1072.5	0.23	0.22 – 0.25	<LOD – 2.25
HCB	410	99.5	58.4	54.5 – 62.5	<LOD – 417.7	0.14	0.13 – 0.15	<LOD – 1.20
<b>LNS St.</b>								
<b>Lawrence River</b>								
PCB 153	260	99.2	63.6	55.9 – 71.5	<LOD – 677.5	0.15	0.13 – 0.17	<LOD – 8.54
HCB	260	100	21.1	19.6 – 139.3	5.2 – 139.3	0.05	0.04 – 0.06	0.02 – 0.37

Abbreviations: PCB 153 : polychlorinated biphenyl congener 153; HCB: hexachlorobenzene; 95% CI: 95% confidence interval

Descriptive statistics for cord TH and TBG concentrations in the two regions are presented in Table 3. Nine percent of Inuit and 27% of St. Lawrence newborns had TSH values above the euthyroid reference range (1.6 - 11.3 mIU/L) (Hume et al. 2004). One Inuit neonate had a cord TSH level below the reference range. In both groups, less than 1% of neonates had fT<sub>4</sub> values below the reference range, whereas 4% of Inuit and 3% of St. Lawrence newborns had fT<sub>4</sub> above the euthyroid limit (14.6 - 20.6 pmol/L) (Hume et al. 2004).

Tableau 2.3: Umbilical cord blood concentrations of thyroid hormones and TBG in newborns from Nunavik and the lower north shore region of the St. Lawrence River, Québec, Canada

Thyroid parameters	Arithmetic mean	95% CI	Range
<b>Nunavik (n = 410)</b>			
TSH (mIU/L)	6.5	2.7 – 10.3	1.5 – 39.8
fT <sub>4</sub> (pmol/L)	16.7	13.6 – 19.7	9.6 – 29.4
T <sub>3</sub> (nmol/L)	0.59	0.38 – 0.80	0.18 – 1.60
TBG (nmol/L)	901	694 – 1109	457 – 2082
<b>LNS St. Lawrence River (n = 260)</b>			
TSH (mIU/L)	10.5	9.4 – 11.6	2.4 – 52.7
fT <sub>4</sub> (pmol/L)	16.2	15.8 – 16.6	8.4 – 27.8
T <sub>3</sub> (nmol/L)	0.59	0.56 – 0.63	0.10 – 1.16
TBG (nmol/L)	940	904 – 976	391 – 2140

Abbreviation: 95% CI: 95% confidence interval

Cord blood reference range for term neonates: TSH = 1.6-11.3 mIU/L, fT<sub>4</sub> = 14.6-20.6 pmol/L

Table 4 shows the associations between umbilical cord blood plasma concentrations of PCB 153 and HCB with neonatal THs and TBG levels in Nunavik. Simple regression analysis showed a significant negative association between both OCs and TSH ( $p < 0.001$ ) and a significant positive association between cord HCB concentrations and  $fT_4$  levels ( $p = 0.025$ ). Only the association between cord plasma HCB levels and  $fT_4$  concentrations ( $\beta = 0.12$ ,  $p = 0.04$ ) remained statistically significant after adjusting for confounding factors. Concentrations of cord  $T_3$  were not related to contaminant levels.

Tableau 2.4: Simple and multiple linear models between thyroid measurements and organochlorine concentrations in Inuit newborns from Nunavik, Canada

(N = 410)

Analytes ( $\mu\text{g/L}$ ) <sup>a</sup>	Thyroid Parameters <sup>a</sup>	Univariate $\beta$	Standardized $\beta$	p-value
PCB 153	TSH (mIU/L) <sup>b</sup>	-0.12**	-0.11	0.06
	$fT_4$ (pmol/L) <sup>c</sup>	0.01	0.06	0.29
	$T_3$ (nmol/L) <sup>d</sup>	-0.02	0.06	0.34
	TBG (nmol/L) <sup>e</sup>	0.01	0.04	0.47
HCB	TSH (mIU/L) <sup>b</sup>	-0.11**	-0.07	0.20
	$fT_4$ (pmol/L) <sup>c</sup>	0.03*	0.12*	0.04
	$T_3$ (nmol/L) <sup>d</sup>	0.00	0.11	0.09
	TBG (nmol/L) <sup>e</sup>	0.00	0.03	0.68

<sup>a</sup>Concentrations of contaminants and thyroid parameters were expressed on the natural logarithm scale;

<sup>b</sup>Multiple regression coefficients adjusted for parity, maternal smoking status (yes/no) and, serum lipids concentrations;

<sup>c</sup>Multiple regression coefficients adjusted for newborn birth weight, maternal smoking status (yes/no) and, serum lipids concentrations;

<sup>d</sup>Multiple regression coefficients adjusted for newborn gestational age, maternal age, smoking status (yes/no) and, serum lipids concentrations;

<sup>e</sup>Multiple regression coefficients adjusted for gestational age, maternal age and, serum lipids concentrations.

\*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$

We observed similar associations between OC levels and thyroid parameters for newborns from the LNS region of the St. Lawrence River (Table 5). PCB 153 was negatively associated with neonate TSH levels ( $p < 0.002$ ), whereas HCB was positively related with  $fT_4$  ( $p = 0.006$ ) in univariate models. The negative relationship between PCB 153 and TSH disappeared after adjusting for confounders, whereas the statistical significance of the positive association between cord HCB and  $fT_4$  was increased ( $p = 0.003$ ). Furthermore, a significant negative association between cord blood PCB 153 levels and TBG concentrations ( $p = 0.05$ ) was revealed after adjustment for parity. Again,  $T_3$  concentrations in umbilical cord plasma were not associated with contaminant levels.

Tableau 2.5: Simple and multiple linear models between thyroid measurements and organochlorine concentrations in newborns from the lower north shore region of the St. Lawrence River, Quebec, Canada (n = 260)

Analytes ( $\mu\text{g/L}$ ) <sup>a</sup>	Thyroid Parameters <sup>a</sup>	Univariate $\beta$	Standardized $\beta$	p-value
PCB 153	TSH (mIU/L) <sup>b</sup>	-0.13**	-0.02	0.83
	$fT_4$ (pmol/L) <sup>c</sup>	0.00	-0.01	0.93
	$T_3$ (nmol/L) <sup>d</sup>	0.02	0.02	0.71
	TBG (nmol/L) <sup>e</sup>	-0.02	-0.13*	0.05
HCB	TSH (mIU/L) <sup>b</sup>	0.11	0.02	0.79
	$fT_4$ (pmol/L) <sup>c</sup>	0.06**	0.19**	<0.01
	$T_3$ (nmol/L) <sup>d</sup>	0.04	0.00	0.96
	TBG (nmol/L) <sup>e</sup>	0.00	-0.05	0.43

<sup>a</sup>Concentrations of contaminants and thyroid parameters were expressed on the natural logarithm scale;

<sup>b</sup>Multiple regression coefficients adjusted for parity, maternal smoking (non-smoker, 1-10 cigarettes/day, more than 10 cigarettes/day), ethnicity (Caucasian vs. Native) and, serum lipids concentrations;

<sup>c</sup>Multiple regression coefficients adjusted for newborn birth weight, maternal smoking status and, serum lipids concentrations;

<sup>d</sup>Multiple regression coefficients adjusted for gestational age and, serum lipids concentrations;

<sup>e</sup>Multiple regression coefficients adjusted for parity and, serum lipids concentrations.

\*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$

## Discussion

The objective of this study was to evaluate the relationship between *in utero* exposure to moderately high concentrations of OCs with TH levels in neonates from two remote fish-eating populations. Contrary to our hypothesis, we observed a significant increase of cord fT<sub>4</sub> concentrations with increasing HCB exposure at birth in both neonate populations. Also, no association was found between cord OC levels and T<sub>3</sub> concentrations in either population. Moreover, in both cohorts, TH concentrations in umbilical cord blood were not associated with prenatal exposure to PCBs either expressed as the sum of congeners with microsomal enzyme-inducing properties or the concentration of the dominant congener PCB 153.

Epidemiological studies aiming to investigate the effects of prenatal or early postnatal exposure to PCBs on TH status in newborns and infants most often reported no association (Grandjean et al. 2001; Longnecker et al. 2000; Sandau et al. 2002; Steuerwald et al. 2000; Takser et al. 2005) or negative association with TH concentrations (Koopman-Esseboom et al. 1994; Maervoet et al. 2007). Recently, (Chevrier et al. 2007) have also reported a positive association between maternal concentrations of PCB congeners with enzymes inducing properties and TSH concentrations measured in blood spot obtained shortly after birth. In the present study, we observed a lack of association between concentrations of PCB 153 with circulating TH in umbilical cord blood. Furthermore, TSH and TH concentrations were not related to PCB congeners with microsomal enzyme-inducing capacity. In fact, beta estimates in regression models were very similar whether PCB 153 or the sum of microsomal enzyme inducer PCBs was chosen as the exposure variable. This

lack of association in the present study compared to the CHAMACOS study may be due to the difference in the PCB congeners quantified and included in the sum of PCBs. Also, the lack of association in our two populations, as well as in neonates from other fish-eating populations (Grandjean et al. 2001; Steuerwald et al. 2000), might be due to a higher dietary iodine intake from seafood compared to that in urban populations. It is well recognized that an adequate dietary iodine intake prevents against thyroid failure (Braverman and Utiger 2005). For example, (Blount et al. 2006) reported milder effects of perchlorate exposure on the thyroid economy in American women with elevated urinary iodine concentrations. Unfortunately, we cannot test this hypothesis since urinary iodine levels were not measured in our participants.

In animal studies, TH economy during fetal development is greatly affected by PCB exposure. Indeed, fetal plasma  $tT_4$  and  $fT_4$  levels were drastically depressed at doses of PCBs (Aroclor 1254) that induced only a minor reduction of maternal TH concentrations (Morse et al. 1996). The depletion is much more important during the fetal period than during the neonatal period even if exposure to PCBs is considerably higher through lactation. (Ness et al. 1993) also reported reduced concentrations of  $tT_4$  in rat pups exposed to PCB 153 during fetal development. In most studies,  $T_3$  concentrations were not, or only marginally, reduced in adults or pups of different species (Goldey et al. 1995; Morse et al. 1996; Ness et al. 1993; van den Berg et al. 1988). Although our results are not in accordance with toxicological data in rats with regard to neonatal  $fT_4$  levels, the absence of relationship in our two populations is similar to most findings reported in human neonates.



Also, our results support other epidemiological and toxicological data regarding the absence of association between prenatal levels of OCs and T<sub>3</sub> concentrations.

In our two populations, fT<sub>4</sub> concentrations were positively associated with HCB plasma levels without a significant effect on TSH concentrations. Although these results are somewhat surprising, they were observed in our two populations. Only two other epidemiological studies have investigated the disrupting effect of *in utero* exposure to HCB on the thyroid system of newborns. Contrary to our results, umbilical cord plasma HCB concentrations were not associated with TH levels in newborns from a southern population of Quebec exposed to low levels of OCs (Takser et al. 2005) and in newborns from Flix (Catalonia, Spain) exposed to high atmospheric levels of HCB released by an electrochemical factory (Ribas-Fito et al. 2003).

Effects of HCB on neonatal circulating levels of TH in our two cohorts do not corroborate results from animal studies. Indeed, animal studies have shown that the thyroid is very sensitive to HCB exposure. Treatment of Wistar rats with HCB resulted in a substantial decrease in circulating T<sub>4</sub> concentrations without any effect on T<sub>3</sub> levels (Alvarez et al. 2005; Kleiman de Pisarev et al. 1995). These effects of HCB on TH signalling observed in the present study are similar to the thyroid resistance syndrome characterized by the suppression of the normal TH negative feedback response by the pituitary gland through a mutation in the TH receptor  $\beta$  gene (Refetoff and Dumitrescu 2007). Interestingly, an elevated serum T<sub>4</sub> concentration without any substantial effect on TSH levels was reported in rat pups following prenatal exposure to bisphenol A (Zoeller et al. 2005). It was shown

that this compound selectively blocks TH binding to the  $\beta$ -TH receptors and consequently inhibits TSH secretion by the pituitary gland. Because OC concentrations were highly correlated in both neonate populations in our study, effects on  $fT_4$  levels might not be attributable to HCB exposure but instead to any other OC or a combination of them. Although parent PCBs do not bind to the  $\beta$ -TH receptors, hydroxylated PCB metabolites display some affinity for them (Cheek et al. 1999; You et al. 2006). Also, a recent study suggests that the 4-OH-PCB107 metabolite, the most prevalent PCB metabolite in our populations (Sandau et al. 2002), might act as a TR agonist (Gauger et al. 2007). As previously reported, concentrations of hydroxylated PCB metabolites are highly correlated to PCB concentrations in our populations (Sandau et al. 2002). These metabolites could be responsible for the observed effects in the present study, but this possibility remains speculative since exposure assessment was limited to parent PCBs.

Another hypothesis that could explain the increase of  $fT_4$  with HCB concentrations is the presence of residual confounding related to essential nutrient intake from seafood, especially iodine and selenium. In our study, selenium was not a confounder. However, urinary iodine concentration was not measured in neonates from both populations and could therefore account as an unmeasured potential confounder. As a reminder, confounding arises when a factor is associated with both the exposure and the outcome. In this case, marine products can be a substantial source of both iodine and OCs. In Nunavik, consumption of marine mammal fat is the principal source of exposure to OCs, whereas consumption of seabird eggs contaminated by OCs is the principal source of exposure to these compounds in the LNS region of the St. Lawrence River. Although these food items

have a low to moderate iodine content (Andersen et al. 2002), their consumption are probably correlated with other seafood rich in iodine. Consequently, in our results, residual confounding by iodine is likely. This potential bias is not unique to our study, since no published studies focusing on the effect of OCs on thyroid economy have assessed the potential confounding effect of iodine.

In the St. Lawrence newborn population, serum TBG concentrations were decreased by increasing PCB 153 concentrations. Three other epidemiological studies have verified if exposure to PCDD/F and PCBs alters TBG concentrations in human neonates. (Matsuura et al. 2001) and (Pluim et al. 1993) did not find any association, whereas a positive correlation was found between placental concentrations of PCDD/F and TBG in neonates from Taiwan (Wang et al. 2005). Effects observed in the present study may indicate that PCB 153 or other correlated OCs could potentially reduce the synthesis or increase the degradation of the TBG protein. The mechanisms involved in the regulation of TBG synthesis by the liver are not clear, but several hormones (TH, estrogens, androgens, glucocorticoids) and drugs are known to interfere with TBG status (Surks and Sievert 1995). A reduction in hepatic TTR mRNA expression in mice was shown to be one of the pathways involve in the disrupting effect of BDE-47 on the thyroid system, although the exact mechanism remains to be elucidated (Richardson et al. 2008). This new finding demonstrates that environmental contaminants may affect not only T<sub>4</sub> binding to transport proteins but also their synthesis.

Smoking status was shown to be an important risk factor for thyroid disease (Asvold et al. 2007). With regard to the internal validity of our study, we do not think that maternal smoking during pregnancy was underreported in both cohorts, as the proportion of smokers was higher than usually reported in other Canadian populations (Public Health Agency of Canada 1999). Unfortunately, social desirability related to smoking during pregnancy seems not to be an issue in Nunavik. We do not believe that other information biases could have affected the validity of our study since anthropometric information were obtained from medical charts and was controlled for in our statistical analysis. Furthermore, OCs and TH measurements in both studies were performed in the same laboratories with the same instruments and within the same time frame. Finally, there was no difference in OC concentrations between excluded (premature or low birth weight) and participating neonates.

Results from the present study based on two large cohorts of healthy newborns from fish-eating populations do not support the hypothesis concerning a negative effect of prenatal exposure to OCs on TH concentrations during fetal life. Nutrients from fish and marine mammal consumption may prevent against some of these effects, particularly iodine and selenium which play an essential role in thyroid system function. Surprisingly, we observed an elevation of  $fT_4$  with increasing concentrations of HCB in both fish-eating populations, but residual confounding from nutrients in marine foods cannot be excluded. Consequently, future epidemiological studies focusing on this issue should also include measurements of essential nutrients, in particular iodine, in order to assess potential confounding or modifying effects by these nutrients.

## **Acknowledgments**

We are grateful to the populations of Nunavik and the Lower North Shore region of the St. Lawrence River for their participation. We are indebted to G. Lebel for database management and to the staff of the Sept-Iles Hospital and Blanc Sablon Hospital for their involvement.

## Chapitre 3 – Thyroid hormone levels of pregnant women and their infants exposed to environmental contaminants

Renée Dallaire, Gina Muckle, Éric Dewailly, Sandra W. Jacobson, Joseph L. Jacobson, Torkjel M. Sandanger, Courtney D. Sandau and Pierre Ayotte

### Résumé

**Introduction:** Un nombre grandissant d'études ont montré que plusieurs contaminants environnementaux ubiquistes possèdent la capacité de perturber la fonction thyroïdienne. L'exposition prénatale à certains d'entre eux, tels les biphényles polychlorés (BPCs), a également été associée à des effets neurodéveloppementaux délétères chez les enfants en bas âge. **Objectifs:** Cette étude examine la relation entre l'exposition à des toxiques pouvant potentiellement perturber le système thyroïdien et les statuts thyroïdiens chez les femmes enceintes inuites du Nunavik et de leurs enfants au cours de la première année de vie. **Méthode:** Les paramètres thyroïdiens [thyroïdostimuline (TSH), T<sub>4</sub> libre (T<sub>4</sub>l), T<sub>3</sub> totale (T<sub>3</sub>t), globuline (TBG)] et les concentrations de plusieurs contaminants [BPC congénère 153, métabolites hydroxylés des BPCs (HO-PCBs), pentachlorophénol (PCP) et hexachlorobenzène (HCB)] ont été mesurés dans le plasma maternel à l'accouchement (n = 120), dans le plasma provenant du cordon ombilical (n = 95) ainsi que dans le plasma de l'enfant âgé de 7 mois (n = 130). **Résultats:** Chez les femmes enceintes, une association positive a été trouvée entre les HO-PCBs et la concentration de la T<sub>3</sub> totale ( $\beta = 0,57, p = 0,02$ ). Dans le sang de cordon ombilical, les concentrations du BPC 153 étaient

négativement associées avec les niveaux de la TBG ( $\beta = -0,26$ ,  $p = 0,01$ ). Une relation négative a également été trouvée entre les niveaux de PCP maternels et les concentrations de la T<sub>4</sub> libre dans le cordon ombilical ( $\beta = -0,59$ ,  $p = 0,02$ ) à partir d'un sous-échantillon des participants. Aucune association n'a été observée entre les concentrations des contaminants et des hormones thyroïdiennes chez les enfants âgés de 7 mois. **Conclusion:** De façon générale, il y a peu d'évidences que les contaminants environnementaux analysés dans le cadre de cette étude affectent les statuts en hormones thyroïdiennes des mères inuites et de leurs enfants. D'autres études sont nécessaires afin d'évaluer la possibilité que le PCP puisse réduire les niveaux de la thyroxine chez le nouveau-né.

## **Abstract**

**Background:** An increasing number of studies have shown that several ubiquitous environmental contaminants possess thyroid hormone disrupting capacities. Prenatal exposure to some of them, such as polychlorinated biphenyls (PCBs), has also been associated with adverse neurodevelopmental effects in infants. **Objectives:** This study examined the relationship between exposure to potential thyroid hormone disrupting toxicants and thyroid hormone status in pregnant Inuit women from Nunavik and their infants within the first year of life. **Methods:** Thyroid hormone parameters [thyroid-stimulating-hormone (TSH), free T<sub>4</sub> (fT<sub>4</sub>), total T<sub>3</sub> (T<sub>3</sub>), thyroxine-binding globulin (TBG)] and concentrations of several contaminant [PCB congener 153, hydroxylated metabolites of PCBs (HO-PCBs), pentachlorophenol (PCP) and hexachlorobenzene (HCB)] were measured in maternal plasma at delivery (n = 120), in umbilical cord plasma (n = 95) and in infant plasma at 7 months postpartum (n = 130). **Results:** In pregnant women, a positive

association was found between HO-PCBs and  $T_3$  concentrations ( $\beta = 0.57$ ,  $p = 0.02$ ). In umbilical cord blood, PCB 153 concentrations were negatively associated with TBG levels ( $\beta = -0.26$ ,  $p = 0.01$ ). In a subsample analysis, a negative relationship was also found between maternal PCP levels and cord  $fT_4$  concentrations in neonates ( $\beta = -0.59$ ,  $p = 0.02$ ). No association was observed between contaminants and thyroid hormones at 7 months of age. **Conclusion:** Overall, there is little evidence that the environmental contaminants analysed in this study affect thyroid hormone status in Inuit mothers and their infants. The possibility that PCP may decrease thyroxine levels in neonates requires further investigation.

## **Introduction**

Thyroid hormones (TH) play several essential roles for brain maturation in humans. Adequate levels are necessary at specific times in certain regions of the brain for the normal development of the nervous system during foetal and neonatal periods (Porterfield and Hendrich 1993). Maternal TH are the only source of TH for the developing brain of the foetus until mid-gestation, when the foetal hypothalamic-pituitary system initiates its own TH synthesis and secretion (Calvo et al. 2002). However, supply of TH from the mother continues, albeit at a lower level, until delivery (Vulsma et al. 1989). Studies have demonstrated that maternal TH can regulate gene expression in the foetal cortex, but their action on the developing brain remains unclear (Dowling and Zoeller 2000). Any alteration of maternal and/or foetal TH availability during critical periods of TH-dependent action may have a detrimental impact on the developing foetal brain as previously demonstrated in animal and human studies (Morreale de Escobar et al. 2000; Pop et al. 2003).



Prenatal exposure to polychlorinated biphenyls (PCBs), a group of persistent and lipophilic organochlorine compounds (OCs), has been associated with neurodevelopmental deficits in childhood in most cohort studies focusing on developmental neurotoxicity of PCBs (Jacobson and Jacobson 1996; Stewart et al. 2008). Animals studies have reported detrimental effects of *in utero* exposure to PCBs on cognitive (Schantz and Widholm 2001) and motor functions (Schantz et al. 1997) as well as on the auditory system (Goldey et al. 1995). At the biochemical level, several PCB congeners disrupt the thyroid system, principally by lowering plasma thyroxine ( $T_4$ ) (Brouwer et al. 1995) and greatly depressing  $T_4$  concentrations in brain tissue in rats exposed prenatally (Morse et al. 1996).

Hexachlorobenzene (HCB) is another OC present in several pesticides and is also a by-product of the manufacturing of chlorinated solvents and metallurgical processes. HCB is found worldwide because of its long-range atmospheric transport, is very persistent and tends to accumulate in adipose tissues. Exposure to HCB in rats can produce several effects including reduced  $T_4$  plasma levels and hypothyroidism (van Raaij et al. 1993a). HCB has been shown to interfere with  $T_4$  uptake into the cerebrospinal fluid in rats (van Raaij et al. 1994).

Transport of  $T_4$  across the blood-brain barrier by transthyretin (TTR) is one of the routes used by TH to reach the developing foetal brain (Schreiber et al. 1995) and for maternal transfer across the placenta (Brouwer et al. 1998). Some chlorinated phenolic compounds (CPC) such as the hydroxylated metabolites of PCBs (HO-PCBs) and pentachlorophenol

(PCP) possess a greater *in vitro* binding affinity for TTR than the natural ligand T<sub>4</sub> (van den Berg 1990). Furthermore, HO-PCBs and PCP can strongly inhibit TH sulfation (Schuur et al. 1998) which along with desulfation, appear to be very important pathways regulating circulating TH concentrations in the foetus (Darras et al. 1999). Recent epidemiological studies have reported efficient placental transfer of PCP and HO-PCBs (Sandau et al. 2002).

Results from epidemiological studies among pregnant women suggest potential effects of OCs on thyroid economy. In the Dutch cohort of mother-infant dyads living in the highly industrialized city of Rotterdam (Netherlands), (Koopman-Esseboom et al. 1994) found significant negative correlations between concentrations of PCBs, polychlorinated dibenzo-*p*-dioxin and polychlorinated dibenzofurans measured in breast milk and maternal T<sub>3</sub> as well as total T<sub>4</sub> (tT<sub>4</sub>). Similar negative associations with T<sub>3</sub> were reported for PCBs (PCBs 138, 153 and 180) and OCs, including HCB, among pregnant women from the Southwest region of Quebec exposed to background levels of these contaminants (Takser et al. 2005). Also, free T<sub>4</sub> (fT<sub>4</sub>) and total T<sub>4</sub> (tT<sub>4</sub>) concentrations were negatively associated with three PCB congener and with HCB concentrations among Mexican-American women (Chevrier et al. 2008). However, in the highly exposed population of the Faeroe Islands, (Steuerwald et al. 2000) found no association between the sum of PCBs and TH or thyroid-stimulating hormone (TSH) at 34 weeks of pregnancy.

Assessment of the relation of environmental contaminants to the thyroid status of newborns has resulted in equivocal findings, depending on the choice of the biological matrices used

for exposure determination (blood, plasma, placenta or breast milk), the contaminants measured and the congener grouping as well as the timing of postnatal TH dosage (Maervoet et al. 2007). In three studies, including the most highly exposed group ever studied from the Faroe Islands, umbilical cord blood TH levels were not associated with prenatal or neonatal exposure to PCBs (Longnecker et al. 2000; Steuerwald et al. 2000; Takser et al. 2005). In contrast, *in utero* exposure to PCBs was negatively correlated with  $fT_4$  and  $fT_3$  in Belgian newborns (Maervoet et al. 2007), whereas a positive correlation with TSH was reported in Mexican-American neonates (Chevrier et al. 2007; Koopman- Esseboom et al. 1994). Concerning effects of prenatal exposure to HCB, a positive association with  $fT_4$  measured in umbilical cord blood among neonates from two fish-eating populations was reported previously (Dallaire et al. 2008), whereas (Ribas-Fito et al. 2003) and (Takser et al. 2005) observed no association of this compound with newborn TH status. With regard to CPCs,  $fT_4$  concentrations in umbilical cord blood were reported to be negatively correlated with HO-PCBs and PCP in a previous study among Inuit neonates (Sandau et al. 2002), whereas  $fT_4$  levels were positively associated with the sum of 6 HO-PCBs among Japanese neonates (Otake et al. 2007).

As the potential effects of thyroid-disrupting contaminants on maternal and neonatal thyroid status are not yet clear, a study was undertaken to determine the relationship of background exposure to OCs and CPCs with TH status in pregnant women and their infants within the first year of life. This study addresses this research question among the Inuit population of Nunavik because these communities are among the most heavily exposed to these contaminants on earth, mainly through sea mammal consumption.

## **Materials and Methods**

### **Population**

Nunavik is the northern region of Québec where approximately 9,500 Inuit live in 14 communities on the coast of the Hudson and Ungava Bays. All pregnant Inuit women from the three largest communities of the Hudson Bay coast of Nunavik (Puvirnituq, Inukjuaq and Kuujjuaraapik) were invited to participate in a study that aimed to document the effects of prenatal exposure to environmental contaminants on infant development.

From November 1995 to March 2001, a research assistant contacted each potential participant after her first prenatal visit with a midwife or a nurse. Pregnant women were enrolled in the study after signing a consent form. The study protocol was approved by the Nunavik Nutrition and Health Committee and by ethics committees at Laval University (Québec, Canada) and Wayne State University (Detroit, Michigan). One prenatal and two postnatal (at 1 and 6 months) interviews were conducted to obtain sociodemographic and personal information from the mothers. The participation rate for this study was 69%. Among the 248 participating women, 23.8% were excluded due to the adoption of the newborn, foetal or postnatal mortality and loss to follow-up. Biological data on TH and OC concentrations were available for 204 pregnant women. Because TH levels slowly return to non-pregnant levels after delivery and to ensure that measured levels of TH were not related to postpartum thyroid dysfunction, which occurs between 2 to 12 months postpartum (Stagnaro-Green 2004), mothers from whom the blood sample was drawn after

31 days following delivery were excluded from the statistical analysis (n = 73). Pregnant women who declared using medication for thyroid diseases were also excluded (n = 4). Socio-demographic characteristics and exposure to OCs were similar between the pregnant women who were included and excluded from the study. Neonates born prematurely and/or with low birth weight were also excluded as transient neonatal hypothyroxinemia may be induced by prematurity (< 37 weeks gestation, n = 6) and low birth weight (<2500 g, n = 1) (Fisher 1998). There was no significant difference in physical characteristics (neonates: gestational age and birth weight; infants: age at blood sampling, weight and height) and exposure to OCs between included and excluded infants.

### **Blood sampling and laboratory procedures**

A 12.5-ml blood sample was collected from participating women at delivery or within the following weeks (median = 2 days). A 30-ml blood sample was collected from the umbilical cord after it was severed, and a 5-ml blood sample was obtained at 7 months postpartum (median = 6.9 months). OC, CPC and TH levels were measured in maternal, cord and infant plasma. Selenium (Se) and plasma lipid concentrations were also measured in samples for confounding assessment. OC concentrations for the entire cohort were previously reported in (Muckle et al. 2001b).

Blood samples were collected in vials containing EDTA as the anticoagulant, centrifuged (10 min, 5000 rpm) and the plasma transferred in glass vials prewashed with hexane. Plasma samples were frozen at -80°C until time of analysis. Concentrations of the 14 most frequently detected PCB congeners in human populations (IUPAC nos. 28, 52, 99, 101,

105, 118, 128, 138, 153, 156, 170, 180, 183, 187) and hexachlorobenzene (HCB) were measured in the purified extracts using a HP-5890 series II gas chromatograph (Hewlett-Packard, Palo Alto, CA, USA) equipped with dual-capillary columns (HP Ultra and Ultra II; Hewlett-Packard) and dual Ni-63 electron capture detectors. Detailed laboratory procedures and quality control procedures for OCs were described previously by (Rhinds et al. 1999) and Muckle et al. (2001), respectively. Limits of detection for OCs were 0.02 µg/l.

Concentrations of CPCs were determined by extracting the plasma samples on an Oasis HLB (540 mg; Waters Corp.) solid phase extraction column according to a modified method by Sandau et al. (Sandau et al. 2003). Extraction and clean up were completed on a Zymark Rapidtrace Automated SPE workstation (Zymark Corp.), while evaporation was performed on a Labconco evaporator (Labconco Corp., Kansas City, MO). CPCs were eluted with dichloromethane/methanol (9/1) in a third fraction on a pre-packed Florisil column (1g; Alltech). After evaporation to dryness, the compounds were derivatised using freshly prepared diazomethane in hexane according to the method of (Sandau 2000). The derivatised fraction was then finally cleaned up on an activated silica/acidic silica column before evaporation, addition of recovery standard and quantification by gas chromatography/ high resolution mass spectrometry (GC-HRMS). The following carbon-13 labelled compounds were used as internal standards: PCP, 4-HO-CB107, 3-HO-CB153, 4-HO-CB146, 3'-HO-CB138, 4'-HO-CB130, 4-HO-CB187, 4'-HO-CB172, 4-HO-CB193. The recovery rates of the labelled compounds were in the range of 45 – 84 % with a mean value of 68 %. HO-PCB results are presented as a sum of the eleven major HO-PCBs (4-

HO-CB107, 3-HO-CB153, 4-HO-CB146, 3'-HO-CB138, 4-HO-CB163, 4-HO-CB187, 4-HO-CB202, 4'-HO-CB172, 4-HO-CB193, 4'-HO-CB199 and 4-HO-CB208). The limit of detection for those compounds varied between 2 and 6 ng/L.

Total cholesterol, free cholesterol and triglycerides in plasma were determined by standard enzymatic procedures, whereas phospholipids were quantified according to (Takayama et al. 1977) using a commercial kit (Wako Pure Chemical Industries, Richmond, VA, USA). Concentrations of total plasma lipids were estimated according to the formula developed by (Akins et al. 1989). Blood Se concentrations were determined using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS; PE Elan 6000, Perkin Elmer). Limits of detection for blood Se was 0.1  $\mu\text{mol/l}$ .

Analyses of serum TSH,  $\text{fT}_4$ , total  $\text{T}_3$  and thyroid-binding-globulin (TBG), the major transport protein of TH, were performed using radioimmunoassay methods. TSH,  $\text{fT}_4$  and  $\text{T}_3$  were measured on the Bayer Immuno 1® System (Bayer Corp., Tarrytown, NY, USA). TBG was determined on the Clinical Assays™ GammaDab™ system commercialised by DiaSorin (Stillwater, Minnesota, USA).

### **Statistical analysis**

Contaminant concentrations and thyroid parameters were all log-transformed to satisfy criteria of normality. Pearson correlations were used to evaluate relations between contaminants. Simple and multiple linear regression models were used to evaluate the relationship between environmental contaminants, TH and TBG in plasma. A value equal

to half the limit of detection of the analytical method was attributed to nondetected contaminants in biological samples. Exposure to PCB was evaluated by two approaches. First, because all PCB congeners were highly correlated in the study population, PCB 153 was selected as a marker of exposure to all PCBs (Muckle et al. 2001b). Second, PCB congeners were grouped according to their capacity to induce the microsomal enzymes UDP-GT, CYP1A and CYP2B as proposed by (Wolff et al. 1997). For this grouping, only PCB congeners with a detection frequency of at least 70% were considered. The enzyme inducing congeners included were PCBs 99, 118, 153, 180 and 187. However, only results for PCB 153 are presented because beta estimates of the exposure variable were similar to those obtained using the sum of PCBs (data not shown).

Simple regressions between potential confounding variables and thyroid parameters were performed to determine which covariate should be included in multiple linear regression analyses. Covariates associated at a  $p$  value  $\leq 0.10$  were included in multiple regression models to assess their confounding influence. Covariates modifying the regression coefficient of the contaminants by more than 10% with any of the TH were included in adjusted models for all TH parameters. The following covariates were evaluated in pregnant women: age at delivery, pre-pregnancy body mass index, socioeconomic status, alcohol and cigarette consumption, fish consumption during pregnancy and plasma Se concentration. As age at delivery and parity were highly intercorrelated, only the former was retained in the multiple models, where appropriate, because it was a better predictor of TH concentrations in pregnant women. Nine women were not included in statistical analysis because of absence of information regarding alcohol consumption. Most variables



evaluated as potential confounders in newborns were also tested in the models at 7 months of age. The primary caregiver's score for socioeconomic status, maternal alcohol and cigarette consumption, maternal fish consumption during pregnancy, gender, breastfeeding status as well as Se level in cord blood were tested for confounding at both ages. Gestational age and birth weight were also highly intercorrelated in newborns. Therefore, only the former was included in multiple regression models, where appropriate, as it was a better predictor of TH concentrations. Infant body mass index was also evaluated at 7 months of age. Six newborns were excluded due to unmeasured cord selenium concentrations and 15 infants were excluded for lack of information regarding breastfeeding status. Statistical models assessing the relationship between the lipophilic contaminants PCB 153 or HCB and thyroid parameters were further adjusted for total plasma lipid concentrations as (Schisterman et al. 2005) have shown that this approach is less prone to estimate bias compared to lipid standardization. Adjustment for lipid content was not done for CPCs as they are bound to plasma proteins (Sandau et al. 2000).

A bilateral  $p$ -value  $< 0.05$  was considered statistically significant. Database management and variable transformation were performed with SPSS (version 2.0; SPSS Inc., Chicago, IL, USA) whereas statistical analyses were conducted with SAS (version 9.1; SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

## **Results**

The characteristics of pregnant Inuit women and their infants at birth and at 7 months of age are listed in Table 1. Twelve percent of pregnant women were younger than 18 years of

age and 8% were over 35. Twenty-three percent of women were primiparae and 31% already had three children or more. A high proportion of women smoked during pregnancy (91%). Among smokers, 49% consumed more than 10 cigarettes per day.

Tableau 3.1. Characteristics of mothers and their infants

Characteristics	No.	Mean $\pm$ SD	Range
<b>Maternal</b>			
Age (years)	120	24.9 $\pm$ 5.9	14.6 – 39.4
Marital status (% single)	120	31.0	
Education (years)	120	8.9 $\pm$ 1.7	5.5 – 13.5
Pre-pregnancy weight (kg)	120	61.1 $\pm$ 11.9	42.3 – 110.0
Parity	120	2.0 $\pm$ 1.9	0 – 9
Number of cigarette/day (%)			
0	12	10	
1-10	59	49	
11-24	38	32	
$\geq$ 25	11	9	
Average oz of absolute alcohol/drinking day <sup>1</sup>	120	1.9 $\pm$ 2.7	0 – 15.6
Plasma selenium ( $\mu$ mol/L)	120	1.34 $\pm$ 0.35	0.64 – 2.52
Nb. meal of fish/week	120	3.6 $\pm$ 4.3	0 – 28.5
<b>Neonate</b>			
Gestational age (weeks)	95	39.1 $\pm$ 1.3	37 – 42
Gender (% male)	95	62.1	
Weight (g)	95	3616 $\pm$ 449	2580 – 4700
Length (cm)	94	50.9 $\pm$ 1.7	45.5 – 56.0
Breastfed at birth (%)	78	88	
Umbilical cord selenium ( $\mu$ mol/L)	95	3.68 $\pm$ 1.56	1.86 – 11.6
<b>Infant</b>			
Age (days)	130	235 $\pm$ 70	120 – 454
Gender (% male)	130	60.8	
Weight (kg)	123	9.7 $\pm$ 1.3	7.1 – 13.7
Height (cm)	125	67.4 $\pm$ 3.5	47.0 – 74.5
Breastfed at 7 month-old (%)	130	51	

Abbreviation: SD, standard deviation; BMI, body mass index

<sup>1</sup>0.5 oz of absolute alcohol correspond to 12 oz of beer, 6 oz of wine or 1.5 of liquor.

Table 2 presents descriptive statistics for OCs and CPCs in maternal, cord and infant plasma. PCB 153 is the most prevalent congener in this population. It was detected in all cord and maternal plasma samples and in 98% of infant plasma samples. The mean concentration of PCB 153 was higher in pregnant women, followed by infant and cord plasma levels. The correlation on a lipid basis between maternal and cord plasma PCB 153 was very high ( $r = 0.94$ ), but only moderate between maternal and infant concentrations ( $r = 0.41$ ) and cord and infant concentrations ( $r = 0.46$ ). Mean lipid-adjusted HCB concentrations were similar for newborns, infant and maternal plasma samples. As with for PCB 153, the correlation between maternal and cord plasma HCB was high ( $r = 0.86$ ), but in the moderate range between maternal and infant concentrations ( $r = 0.33$ ) and cord and infant concentrations ( $r = 0.36$ ). The mean wet weight concentration of HO-PCBs was higher in pregnant women than in cord plasma and levels were highly intercorrelated ( $r = 0.96$ ). Most of the HO-PCBs detected in mothers and newborns were moderately correlated with PCB 153 ( $r = 0.21 - 0.78$ , median: newborns  $r = 0.63$ ; mothers  $r = 0.53$ ) on a wet weight basis. PCP was detected in all maternal and umbilical cord plasma samples. Levels were higher in umbilical cord than in maternal plasma and were also very highly correlated ( $r = 0.85$ ) compared to PCB 153 and HO-PCBs. Intercorrelations of contaminants in maternal, umbilical cord and infant plasma are also presented in Table 2. In maternal and cord samples, PCB 153 concentrations were highly correlated with HO-PCBs and moderately with HCB. Also, PCP was weakly correlated with the other contaminants. Concentrations of PCB 153 and HCB were highly correlated in infant plasma.

Tableau 3.2. Concentrations of organochlorines and chlorinated phenolic compounds in plasma from pregnant Inuit women and their infants at birth and at 7 months of age.

Analytes	N	Percent detected	Lipid standardized concentrations (µg/kg)				Wet weight concentrations (µg/L) <sup>a</sup>				Pearson correlations				
			Geometric mean	95% CI	Range	Geometric mean	95% CI	Range	HCB	Σ HO-PCBs	PCP				
<b>Maternal</b>															
PCB 153	120	100	107.7	93.2 – 124.5	15.6 – 709.0	0.89	0.77 – 1.04	0.01 – 6.12	0.69***	0.84***	0.34				
HCB	120	100	41.1	36.5 – 46.1	6.7 – 352.6	0.34	0.30 – 0.39	0.05 – 2.78		0.65***	0.32				
Σ HO-PCBs <sup>a</sup>	25	–				316	245 – 409	109 – 1517			0.36				
PCP <sup>a</sup>	25	100		–	–	931	772 – 1123	241 – 2898							
<b>Cord</b>															
PCB 153	95	100	83.1	70.4 – 98.0	12.0 – 550.9	0.20	0.17 – 0.24	0.03 – 2.42	0.70***	0.82***	0.17				
HCB	95	100	42.9	38.0 – 48.4	10.6 – 184.5	0.11	0.09 – 0.12	0.02 – 0.83		0.60***	0.12				
Σ HO-PCBs <sup>a</sup>	41	–		–	–	246	195 – 309	65 – 1358			0.23				
PCP <sup>a</sup>	41	100		–	–	1078	923 – 1267	300 – 2913							
<b>Infant</b>															
PCB 153	130	98.0	90.5	72.9 – 112.3	<LOD – 1387.3	0.45	0.36 – 0.57	<LOD – 8.54	0.92***	–	–				
HCB	130	95.9	41.5	34.1 – 50.5	<LOD – 446.7	0.21	0.17 – 0.26	<LOD – 2.75			–				

Abbreviations: PCB 153, polychlorinated biphenyls congener 153; Σ HO-PCBs, sum of the major hydroxylated polychlorinated biphenyls; PCP, pentachlorophenol; HCB, hexachlorobenzene; 95% CI, 95% confidence interval; LOD, Limit of detection

<sup>a</sup> Σ HO-PCBs and PCP concentrations are expressed in pg/wet weight.

\*\*\*  $p < 0.001$

A large proportion of the mothers had TSH values outside the TSH euthyroid reference range (0.4 – 2.5 mIU/L) (Demers and Spencer 2002). Sixteen percent (n = 20) had TSH concentrations below the lower limit whereas 10% (n =13) had values higher than the reference range. Most infants at birth and at 7 months of age had TSH and fT<sub>4</sub> levels within the normal range (Demers and Spencer 2002; Hume et al. 2004).

The associations between OCs and CPCs and the thyroid parameters documented in pregnant women at delivery are presented in Table 3. In simple regression models, significant positive association between HO-PCBs and T<sub>3</sub> was observed. Simple and multiple regressions between contaminants and TSH as well as fT<sub>4</sub> were not significant. Adjustment for confounding factors strengthens the positive association between HO-PCBs and T<sub>3</sub>.

Tableau 3.3. Linear regression models of thyroid hormones and TBG plasma levels with organochlorines and chlorinated phenolic compounds in plasma from pregnant Inuit women.

Analytes	Thyroid Parameters	N	Univariate $\beta$	Standardized $\beta$
PCB 153 ( $\mu\text{g/L}$ ) <sup>a</sup>	TSH (mIU/L)	120	-0.05	0.05
	fT <sub>4</sub> (pmol/L)	120	-0.01	-0.05
	T <sub>3</sub> (nmol/L)	120	0.01	0.08
	TBG (nmol/L)	120	0.03	0.13
HCB ( $\mu\text{g/L}$ ) <sup>a</sup>	TSH (mIU/L)	120	0.03	0.13
	fT <sub>4</sub> (pmol/L)	120	0.02	0.07
	T <sub>3</sub> (nmol/L)	120	0.02	0.07
	TBG (nmol/L)	120	0.05	0.15
$\Sigma$ HO-PCBs (pg/wet weight)	TSH (mIU/L)	25	-0.14	0.08
	fT <sub>4</sub> (pmol/L)	25	-0.05	-0.40
	T <sub>3</sub> (nmol/L)	25	0.16**	0.57*
	TBG (nmol/L)	25	0.14	0.30
PCP (pg/wet weight)	TSH (mIU/L)	25	0.35	0.27
	fT <sub>4</sub> (pmol/L)	25	-0.11	-0.22
	T <sub>3</sub> (nmol/L)	25	0.10	0.16
	TBG (nmol/L)	25	0.08	0.06

Abbreviations: PCB 153, polychlorinated biphenyls congener 153;  $\Sigma$  HO-PCBs, sum of the major hydroxylated polychlorinated biphenyls; PCP, pentachlorophenol; HCB, hexachlorobenzene

Standardized  $\beta$  adjusted for age at delivery, alcohol (average absolute alcohol/drinking day) and cigarette (cigarettes/day) consumption during pregnancy.

<sup>a</sup> Also adjusted for serum lipid concentrations.

\*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p = 0.01$

Table 4 shows simple and multiple linear associations between thyroid parameters measured in umbilical cord blood and OCs or CPCs levels in cord and maternal plasma. In newborns at birth, no significant association was observed between cord blood contaminants and TH concentrations in univariate models. However, negative associations were found for umbilical cord and maternal PCB 153 with TBG concentrations after control for confounders. A negative association between cord fT<sub>4</sub> and maternal PCP, but

not cord PCP, was found before and after controlling for confounders. Concentrations of T<sub>3</sub> in cord blood were not associated with any of the contaminants under study. At 7 months of age, a significant negative association between PCB 153 and TSH was obtained in simple linear regression (Table 5). However, the association was no longer significant after adjustment for breastfeeding status.

Tableau 3.4. Linear regression models of thyroid hormone and TBG levels in umbilical cord with organochlorine and chlorinated phenolic compounds in maternal and umbilical cord plasma.

Thyroid Parameters	Analytes	Cord contaminants		Maternal contaminants	
		Univariate $\beta$	Standardized $\beta$	Univariate $\beta$	Standardized $\beta$
TSH (mIU/L)	PCB 153 ( $\mu\text{g/L}$ ) <sup>a</sup>	0.01	-0.05	0.08	0.02
fT <sub>4</sub> (pmol/L)		-0.02	-0.14	-0.13	-0.14
T <sub>3</sub> (nmol/L)		-0.01	-0.04	0.07	0.04
TBG (nmol/L)		-0.05	-0.26**	-0.21	-0.25**
TSH (mIU/L)	HCB ( $\mu\text{g/L}$ ) <sup>a</sup>	-0.02	-0.09	-0.03	-0.10
fT <sub>4</sub> (pmol/L)		0.00	-0.04	-0.02	-0.02
T <sub>3</sub> (nmol/L)		-0.06	-0.18	-0.01	-0.09
TBG (nmol/L)		-0.03	-0.15	-0.05	-0.15
TSH (mIU/L)	$\Sigma$ HO-PCBs	-0.04	-0.12	0.07	0.05
fT <sub>4</sub> (pmol/L)	(pg/g wet weight)	0.00	-0.08	0.14	0.05
T <sub>3</sub> (nmol/L)		0.05	0.10	0.39	0.17
TBG (nmol/L)		-0.06	-0.25	0.02	-0.02
TSH (mIU/L)	PCP	-0.01	0.02	-0.01	-0.05
fT <sub>4</sub> (pmol/L)	(pg/g wet weight)	-0.05	-0.20	-0.56**	-0.59*
T <sub>3</sub> (nmol/L)		-0.18	-0.31	-0.14	-0.11
TBG (nmol/L)		-0.09	-0.28	-0.38	-0.34

Abbreviations: PCB 153, polychlorinated biphenyls congener 153;  $\Sigma$ HO-PCBs, sum of the major hydroxylated polychlorinated biphenyls; PCP, pentachlorophenol; HCB, hexachlorobenzene  
Standardized  $\beta$  adjusted for gestational age, cord selenium, maternal cigarette (cigarettes/day) consumption during pregnancy.

<sup>a</sup> Also adjusted for serum lipid concentrations.

\*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p = 0.01$



Tableau 3.5. Linear regression models of thyroid hormone and TBG plasma levels with organochlorines in plasma from 7-month-old Inuit infants.

Thyroid Parameters	Analytes	N	Univariate $\beta$	Standardized $\beta$
PCB 153 ( $\mu\text{g/L}$ )	TSH (mIU/L)	130	-0.09*	-0.23
	fT <sub>4</sub> (pmol/L)	130	0.02	0.11
	T <sub>3</sub> (nmol/L)	130	-0.01	-0.12
	TBG (nmol/L)	132	0.02	-0.03
HCB ( $\mu\text{g/L}$ )	TSH (mIU/L)	128	-0.06	-0.13
	fT <sub>4</sub> (pmol/L)	128	0.02	0.09
	T <sub>3</sub> (nmol/L)	128	-0.01	-0.11
	TBG (nmol/L)	130	0.03	0.03

Abbreviations: PCB 153, polychlorinated biphenyls congener 153; HCB, hexachlorobenzene Standardized  $\beta$  adjusted for breastfeeding status at 7-month-old and serum lipid concentrations

\*  $p < 0.05$

## Discussion

In the present study, the potential negative effects of OCs and CPCs on the circulating concentrations of TH among Inuit women and their infants were investigated. Overall, the results show that plasma concentration of OCs and CPCs were not significant predictors of TSH and TH concentrations in this population of pregnant women and their offspring. However, maternal levels of PCP were negatively associated with fT<sub>4</sub> concentrations in umbilical cord blood of neonates, suggesting that this compound may reduce the transfer of maternal T<sub>4</sub> across the placenta to the developing foetus.

As reported in most studies (Maervoet et al. 2007), an association between PCB 153 and TH concentrations was not found in Inuit neonates at birth. Similarly, no association was seen in these infants at the 7-months follow-up. Also, these data did not corroborate the relationship between PCB congeners and TSH or TH levels seen in the CHAMACOS study

(Chevrier et al. 2007), in any of the exposure matrices (maternal, cord or infant plasma). These associations were observed even though the maternal PCB 153 concentrations were almost 20 times higher than in the Chevrier et al. study. Difference in the profile of other PCB congeners in that population may provide one explanation for the discrepancy in results between the CHAMACOS study and the present study.

The absence of an association between HCB and umbilical cord  $fT_4$  concentrations in this study are not consistent with a previous finding of significant positive associations in another sample of Inuit neonates and in newborns from the Lower North Shore of the St. Lawrence River (Dallaire et al. 2008). The lower statistical power of the present study as well as a difference in adjustment of confounders may account for the differential results. However, the absence of relationship between HCB and  $fT_4$  found in the present study are in agreement with two other epidemiological studies among neonates (Ribas-Fito et al. 2003; Takser et al. 2005).

The absence of an association between PCB 153 and thyroid parameters in pregnant Inuit women was similar to that reported in the second Faroe Islands cohort (Steuerwald et al. 2000). However, two other epidemiological studies among pregnant women found a significant negative association of PCBs with  $T_3$  and/or  $tT_4$  status (Koopman-Esseboom et al. 1994; Takser et al. 2005) whereas, among Mexican-American pregnant women, three PCB congeners (44, 52 and 183) were negatively related to  $fT_4$  concentrations (Chevrier et al. 2008). It is possible that the effects observed in these three studies were mostly attributable to the exposure to polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and polychlorinated

dibenzofurans, which are usually higher in urban settings than in isolated populations mostly exposed to environmental contaminants through fish and marine mammal consumption. High dietary iodine intake in fish-eating populations may also explain the lack of association between PCB 153 and thyroid hormone status in mothers and newborns (Dallaire et al. 2008).

HCB body burden was not associated with thyroid hormone profile in Inuit pregnant women at delivery. Two other studies investigated if exposure to low background concentrations of HCB was related to TH levels during pregnancy. An inverse relationship between plasma HCB concentrations and  $T_3$  levels was reported among Canadians (Takser et al. 2005), and negative associations between HCB concentrations and  $fT_4$  and  $tT_4$  levels were found in the CHAMACOS study (Chevrier et al. 2008). However, the authors were not able to determine if effects on TH concentrations were related to PCBs or HCB plasma concentrations since these exposures were highly correlated.

The present study also documented concentrations of HO-PCBs and PCP because several *in vitro* studies have revealed their potency in competitively inhibiting  $T_4$  binding to TTR (van den Berg 1990). This thyroxine-binding protein is implicated in the delivery of maternal  $T_4$  to the foetus across the placenta (McKinnon et al. 2005) as well as the transport of  $T_4$  from blood into cerebrospinal fluid during brain maturation (Southwell et al. 1993). As would be predicted from toxicological data, a negative association was found between maternal PCP plasma concentrations and umbilical cord  $fT_4$  levels, but not with umbilical cord PCP, which has two times the binding affinity of the natural ligand  $T_4$  for TTR (van

den Berg 1990). Moreover, it was the predominant CPC in the Inuit population and concentrations were higher in umbilical cord plasma than maternal plasma. Taken together, these findings seem to indicate that PCP may impede the transfer of maternal T<sub>4</sub> to the foetus across the placental barrier to a certain extent by inhibiting maternal T<sub>4</sub> binding to TTR. This mechanism may also have favoured the transport of maternal PCP to the fetal circulation, which may explain the higher concentration of this compound in cord blood compared to maternal blood. The relation between maternal PCP and neonate fT<sub>4</sub> concentrations was no longer evident at the later age, since there was no association between maternal or cord PCP and fT<sub>4</sub> levels when the infants were 7 months old (data not shown). The rapid maturation of the hypothalamus-pituitary-thyroid axis after the severing of the umbilical cord, which leads to the complete independence of the newborn from a maternal source of fT<sub>4</sub>, may explain such findings. However, these results should be interpreted with caution since no association was found with cord blood PCP concentrations even though they were highly correlated with maternal PCP levels ( $r = 0.85$ ). Two other epidemiological studies have looked at the association between CPC and TH concentrations in neonates. In another sample of Inuit newborns, (Sandau et al. 2002) found a negative correlation between the sum of PCP and 14 HO-PCBs with cord fT<sub>4</sub>, whereas (Otake et al. 2007) reported a positive correlation between 6 HO-PCBs and neonatal blood-spot fT<sub>4</sub> obtained on a filter paper. Other studies are needed to ascertain the potential effects of CPCs on neonatal TH concentrations, as the small sample size in the present study limits its conclusions.

The increase of T<sub>3</sub> with concentrations of HO-PCBs in pregnant women may be attributable to selective or combined inhibition of sulfotransferase and type I deiodinase (D<sub>1</sub>) activities, as these metabolites have been shown to competitively inhibit D<sub>1</sub> and T<sub>2</sub> sulfotransferases actions (Schuur et al. 1998). Indeed, in adults, sulfotransferases irreversibly inactivate TH actions and facilitate D<sub>1</sub> deiodination for complete degradation in the liver (Visser 1996a). Interestingly, in foetuses, sulfated T<sub>4</sub> and T<sub>3</sub> are elevated compared to adult concentrations and have been proposed to serve as a reservoir of inactive TH for subsequent activation by sulfotransferases at specific developmental stages (Darras et al. 1999). This difference in TH metabolism between foetuses and adults, especially for sulfotransferase and deiodinase activities, may explain the absence of HO-PCB effects on cord T<sub>3</sub> compared to maternal T<sub>3</sub>.

These findings suggest that the synthesis or metabolism of transport proteins may be affected by environmental contaminants. Indeed, the negative association between PCB 153 and serum TBG concentration could be mediated by a diminution of TBG synthesis by the liver. Interestingly, we already reported a similar association in a population of neonates from the Lower North Shore of the St. Lawrence River (Dallaire et al. 2008). Since commercial fT<sub>4</sub> immunoassays overestimate the fT<sub>4</sub> levels at high TBG concentration and underestimate it at low TBG concentrations (Demers and Spencer 2002), these results may indicate that contaminants affecting TBG concentrations may introduce bias in the assessment of the effects of thyroid toxicants on fT<sub>4</sub> levels. Most toxicological studies have focused on the competitive binding assessment of environmental contaminants with T<sub>4</sub>, without evaluating their ability to modify transport protein synthesis. Consequently, the results cannot be corroborated on biological mechanisms as toxicological data are

unavailable. Nevertheless, such effect remains plausible. By analogy, (Richardson et al. 2008) have recently shown that BDE-47 has the capacity to decrease TTR mRNA expression in the liver by an unidentified mechanism. An assessment of transport protein biosynthesis modification by environmental contaminants is needed in order to clarify this question.

In summary, in this study we did not find similar effects of potential thyroid toxicants on TH homeostasis in mother and infant. Differential TH and contaminant metabolising capacity between foetuses and adults may account for this discrepancy. There were also no associations between concentrations of PCB 153 or PCB congeners grouped according to their enzyme inducing properties and TH levels in Nunavik Inuit mothers and infants. However, a significant inverse relationship was found between maternal PCP levels and  $fT_4$  umbilical cord concentrations. This finding is in agreement with the hypothesis regarding the capacity of CPCs to competitively inhibit  $T_4$  binding to TTR in human. However, this result needs to be interpreted with caution since it was found in a subsample of the neonate population and consequently needs to be corroborated in larger studies. Nevertheless, epidemiological studies of pregnant women suffering of hypothyroxinemia (low  $fT_4$ ) have shown that reduced transfer of maternal  $fT_4$  during fetal brain maturation can negatively impact on the neurocognitive function in infants (Pop et al. 2003; Pop et al. 1999). Results from the neurodevelopment assessment of the participating infants in this cohort will allow us to determine if a reduction of  $fT_4$  concentrations during foetal development, perhaps mediated by PCP, may induce deficits similar to those observed in the offspring of hypothyroxinemic pregnant women.

## **Acknowledgments**

We are grateful to the Nunavik residents for their participation in this research. This study was made possible through grants from the National Institute of Environmental Sciences/NIH (R01-ESO7902), Indian and Northern Affairs Canada, Health Canada, Hydro-Québec and the Fond de la Recherche en Santé du Québec.

## Chapitre 4 – Determinants of plasma concentrations of perfluorooctanesulfonate and brominated organic compounds in Nunavik Inuit adults (Canada)

Renée Dallaire, Pierre Ayotte, Daria Pereg, Serge Dery, and Éric Dewailly

### Résumé

**Introduction:** Le perfluorooctanesulfonate (PFOS) et les composés organiques bromés (COBs) ont été détectés mondialement dans les biotes et les humains, leur niveau étant considérablement plus élevé en Amérique du Nord. Cependant, l'exposition à ses composés des populations vivant dans des régions géographiquement éloignées des grands centres urbains demeure inconnue. **Objectifs:** Cette étude a pour but de déterminer les concentrations plasmatiques de ces composés organiques persistants en émergence chez les adultes inuits de l'Arctique canadien et d'investiguer les facteurs démographiques et alimentaires qui leur sont associés. **Méthode:** En 2004, les concentrations plasmatiques du PFOS et de quinze COBs incluant des diphényles éthers polybromés (PBDEs), des PBDEs hydroxylés (HO-PBDEs), des bromophénols ainsi que le biphényle polychloré congénère 153 (BPC 153) ont été mesurées à partir d'un échantillon représentatif de 883 adultes inuits du Nunavik. Les informations concernant la consommation d'aliments importés et d'aliments traditionnels ont été obtenues par un questionnaire de fréquences alimentaires ainsi que par un rappel alimentaire de 24 heures, alors que les variables démographiques et cliniques ont été collectées par questionnaires auto-administrés. Des régressions linéaires multiples ont été réalisées afin d'évaluer les déterminants de l'exposition à ces contaminants. **Résultats:** Le PFOS et le BPC 153 ont été détectés dans tous les échantillons et les concentrations plasmatiques de ces contaminants étaient plusieurs fois supérieures à celles des COBs. Dans les modèles multiples, le PFOS était positivement associé à l'âge, au genre masculin, à la consommation de poissons et de mammifères marins, mais inversement associé à l'apport en



fruits et légumes et au niveau d'éducation. Les concentrations du PBDE 153 étaient plus élevées chez les hommes et les participants âgés mais étaient associées négativement avec l'indice de masse corporelle. L'exposition au PBDE 47 était positivement associée à l'apport de viande importée, mais négativement liée à l'âge et à la consommation de mammifères marins. Certains HO-PBDEs et bromophénols ont été détectés pour la première fois chez l'humain. **Conclusion:** La consommation de poissons et de mammifères marins sont des contributeurs importants de l'exposition au PFOS chez les Inuit du Nunavik. Alors que PBDE 153 apparaît comme un congénère persistant, l'exposition au PBDE 47 semble être plus récente dans cette population. L'adoption d'un style de vie occidental semble être associée à une augmentation de l'exposition au PBDE 47, mais les sources spécifiques restent à élucider.

## **Abstract**

**Background:** Perfluorooctanesulfonate (PFOS) and brominated organic compounds (BOCs) have been found in biota and humans worldwide with levels considerably higher in North America. PFOS and BOC exposure of remote populations that consume species of the marine food web for their subsistence has seldom been investigated. **Objectives:** The study aimed to determine concentrations of these emerging persistent organic pollutants (POPs) in Inuit adults from the Canadian Arctic and to investigate demographic and dietary factors associated with them. **Methods:** Concentrations of PFOS and fifteen BOCs including polybrominated diphenyls ethers (PBDEs), hydroxylated-PBDEs (HO-PBDEs), bromophenols as well as polychlorinated biphenyl (PCB) congener 153 were measured for comparative purposes, in a representative sample of 883 Nunavik Inuit adults in 2004. Information on consumption of store-bought and traditional food items was obtained by a food frequency questionnaire and a 24-hour dietary recall, while demographic and clinical variables were collected by questionnaires. Multiple linear regressions were conducted to investigate predictors of exposure to those contaminants. **Results:** PFOS and PCB 153 were detected in all samples,

with plasma concentrations several times higher than BOCs. Significant positive correlations were observed for PCB 153 with PFOS and PBDE 153, while a significant negative one was found with PBDE 47. In multiple models, PFOS was positively associated with age, male gender, fish and marine mammal consumption and inversely with fruits and vegetables intake and education. PBDE 153 was higher in male and older participants and was negatively related with BMI. Exposure to PBDE 47 was positively associated with market meat intake, but negatively related to age and marine mammal consumption. Some HO-PBDEs and bromophenols have been detected for the first time in human. **Conclusion:** The consumption of fish and marine mammals appears to be an important contributor to PFOS exposure among Nunavik Inuits. While PBDE 153 also appears as persistent PBDE congeners, exposure to PBDE 47 seems to be more recent in this population. Adoption of western lifestyle seems to be related to increasing exposure to PBDE 47, but specific sources remain to be elucidated.

## Introduction

Perfluorooctanesulfonate (PFOS) is a chemical belonging to the large group of perfluorinated compounds (PFCs) characterized by a very stable fully fluorinated carbon chain with hydrophobic properties. This product is incorporated into a variety of commercial products such as surfactants, lubricants, food packaging and grease repellents in textiles and carpets among others. Moreover, PFOS was shown to be a degradation product of several other PFCs (Hekster et al. 2003). Biomonitoring of PFCs in the environment, wildlife and humans indicates that PFOS is highly prevalent and seems to persist and biomagnify along marine and terrestrial food chains (Giesy and Kannan 2001; Kannan et al. 2004; Prevedouros et al. 2006). Animal studies have shown that PFOS may alter thyroid hormone homeostasis, affect fatty acid transport and metabolism as well as membrane function (Chang et al. 2008; Lau et al. 2004; Thibodeaux et al. 2003). In general human populations, health effects assessments of PFOS exposure are limited and focus mainly on growth effects of developmental exposure (Apelberg et al. 2007b; Fei et al. 2008).

Brominated organic compounds (BOCs) are an extensive group of chemicals that includes naturally occurring brominated compounds and synthetic substances such as brominated flame retardants (BFRs), the largest market group of bromine derivatives. The latter family comprises 175 substances including polybrominated diphenyls ethers (PBDEs), polybrominated byphenyls (PBBs) and tetrabromobisphenol A (TBBPA). With the exception of PBBs, these compounds are still used in various industrial and commercial products such as textiles and electronic devices (Alaee et al. 2003). PBDEs have been detected worldwide in humans and biota with levels substantially higher in North America (Sandanger et al. 2007; Sjodin et al. 2008). Indoor dust and dietary intake are suspected to be the main exposure pathways in humans (Jones-Otazo et al. 2005; Schechter et al. 2006b; Wu et al. 2007). Because they share similar physical and chemical properties with PCBs, PBDEs may induce similar

detrimental developmental, hormonal and reproductive effects (Birnbaum and Staskal 2004; Gill et al. 2004; Hooper and McDonald 2000; McDonald 2002). Biotransformation of PBDEs by liver enzymes leads to the formation of hydroxylated metabolites (HO-PBDEs). Several HO-PBDEs were recently measured in children from Nicaragua and for some of them levels were similar or higher than those of parent compounds (Athanasidou et al. 2008). Bromophenols were detected in mice after exposure to the commercial DE-71 formulation and therefore constitutes another group of PBDE metabolites (Qiu et al. 2007). Bromophenols are also known to occur naturally in the marine environment (Flodin and Whitfield 1999). Reports of human exposure to bromophenols were limited to two studies in the Norwegian population (Thomsen et al. 2001, 2002). HO-PBDEs and bromophenols were shown to possess a high affinity for the thyroid transport protein transthyretin (Meerts et al. 2000), whereas the latter have also been associated with the disruption of calcium signalling (Hassenklover and Bickmeyer 2006).

Human exposure to legacy persistent pollutants such as PCBs and other organochlorine compounds is a well known phenomenon in the Canadian Arctic. Nunavik Inuit are exposed to a plethora of toxic substances that are carried from southern to northern latitudes by oceanic and atmospheric transport as their traditional diet comprises large amounts of tissues from fish and marine mammals contaminated by persistent organic pollutants (POPs). In recent years, the presence of PFOS and PBDEs was reported in several wildlife species of the Arctic (de Wit et al. 2006; Martin et al. 2004). However, exposure to these emerging POPs has not been investigated in the Inuit population which consumes on a regular basis some species from the marine food web. Therefore, the aim of this study was to assess the exposure of Nunavik Inuit adults to PFOS and some BOCs and their metabolites and to determine demographic characteristics and dietary habits of participants associated with plasma concentrations.

## **Materials and methods**

### **Study design and data collection**

A large scale health survey was conducted among the Inuit population of Nunavik from August 27 to October 1 2004. Nunavik is the northern region of Québec where approximately 9,500 Inuit live in 14 communities along the coasts of Hudson Bay, Hudson Strait and Ungava Bay. The target population of this study was permanent Inuit residents of Nunavik aged 18 years old and older. The survey plan was for a complex two-stage stratified random sampling. In order to obtain a standard representation of the target population, the survey used a stratified random sampling of private Inuit households with the community being the stratification variable. A proportional allocation of sample units corresponding to the size of each village was chosen. The number of households to visit was decided prior to the survey in order to obtain estimates as accurate as possible. Each resident of the selected household were invited to participate in the survey. Of the 677 households visited by the interviewers, 670 were eligible according to the specifications defined for the target population. Among these eligible households, 521 agreed to participate in the survey, giving a household response rate of 77.8%. These 521 households represented 2550 individuals. The response rate was defined as the ratio of the number of participating units to the number of eligible units. Response rates tend to be low for individual instruments, since each member of a non-participating household was automatically a non-respondent for individual instruments. Therefore, individual response rates were obtained by multiplying the household response rate by the individual collaboration rate, which is the proportion of eligible individuals in the 521 participating households who agreed to participate.

Several self-administered and interviewer-completed questionnaires were used to obtain information regarding demographics, lifestyle habits, and nutrition and health indicators. In addition, individuals were asked to participate in a clinical session where blood samples were taken and physical measurements were performed. Overall, the participation rate for the different collection instruments was approximately 50%, for a total of 1056 participants. Concerning blood sampling, a total of 883 samples were available for contaminants assessment. The survey was approved by the Comité d'éthique de la recherche de l'Université Laval and the Comité d'éthique de santé publique du Québec. Participants were asked to provide written consent before taking part in the study.

### **Demographic and clinical variables**

With regard to the present study, data related to education, income and cigarette consumption were obtained through an interviewer-administered questionnaire, whereas information on alcohol consumption was obtained from a questionnaire completed by the participant confidentially. Weight was measured on a digital scale (Tanita TBF-300) and rounded to the nearest 0.1 kg and height was measured in centimetres using a rigid square measuring tape with the participant standing barefoot on a hard surface up against a wall.

### **Dietary questionnaires and assessment of store-bought and traditional food consumption**

Data on food were obtained using a food frequency questionnaire. The food frequency questionnaire was administered to 778 participants for a participation rate of 67%. The questionnaire documented their daily consumption of traditional food (i.e. derived from fishing and hunting) for all four seasons during the year preceding the survey. For each food item, daily consumption frequency for each season and usual serving size in grams was

documented. The frequency for each season was summed to obtain the average consumption frequency per day on an annual basis and the average intake in grams was calculated by multiplying the consumption frequency of the food item with the corresponding serving size. The total consumption of wild fish used in the current study corresponds to consumption of the following food items: Arctic char, cod, whitefish, trout, salmon, pike, cisco, walleye and dried fish. The total consumption of marine mammals corresponds to the consumption of beluga and seal. The total consumption of land animals includes caribou, bear, fox, hare, ptarmigan, goose and bird eggs. Additionally, consumption frequency of fruit, vegetables, commercial meats and dairy products during the month preceding the survey was collected with the food frequency questionnaire.

### **Laboratory procedures**

Blood samples (60 ml) were collected using a venous catheter from an antecubital vein. Tubes were centrifuged within 3 hours of collection and plasma was isolated, aliquoted and frozen at -80°C prior to clinical biochemistry and contaminant analyses. Plasma samples were analysed for PCBs, BFRs and halogenated phenolics according to the multi-residue method previously described (Dumas et al. 2006; Sandanger et al. 2007). The extraction and purification steps of the procedure were conducted on a Rapidtrace Automated SPE workstation (Caliper Life Science Hopkinton, MA, USA). Internal standards were added to the plasma prior to the addition of formic acid (5 ml) and deionized water (5 ml). Samples were then extracted on a Oasis HLB solid phase extraction column as described by (Sandau et al. 2003) and the extract was subsequently eluted through a column containing 1 g activated Florisil (Fisher Scientific, Pittsburgh, PA, USA). The fraction containing the PBDEs and PCB was eluted using hexane/dichloromethane (9/1; 9 ml). These compounds were analysed by high-resolution gas-chromatography/mass spectrometry (HRGC-MS, Agilent 6890 Network gas chromatograph

(Wilmington, DE, USA) equipped with an Agilent 7683 series automatic injector and an Agilent 5973 Network mass spectrometer) using electron capture negative ionisation or electronic impact ionisation. The GC was fitted with an Agilent 60 m XLB column (0.25 mm i.d., 0.25 mm film thickness). The fraction containing HO-PBDEs and bromophenols was derivatised with diazomethane and cleaned up on an activated silica/acidic silica column and analysed by HRGC-MS using electron capture negative ionisation. The GC was a Hewlett Packard (HP) 5890 Series II Plus equipped with a HP G1512A automatic injector and a HP 5890B mass spectrometer (Agilent, Wilmington, DE, USA). The GC was fitted with a 30 m DB-5 column (5 % phenylmethylpolysiloxane; 0.25 mm i.d., 0.25 mm film thickness) from J&W Scientific (CA, USA). Limits of detection (LOD) for PCB 153 and the organobromine compounds are presented in Table 1. Concentrations are presented on a wet weight and lipids basis as it is unclear if bromophenol and HO-PBDEs are lipid or protein bound.

Plasma samples were spiked with PFOS-<sup>13</sup>C<sub>4</sub> (Wellington Laboratories, ON) as the isotope-labelled internal standard for PFOS quantification. PFOS was extracted from plasma using alkaline ion-pairing extraction with methyl-tert butyl ether and tetrabutylammonium hydrogen-sulfate, followed by electrospray LC-MS-MS analysis. Separation was carried out using an Alliance 2690 high pressure liquid chromatograph (Waters, Netherlands) equipped with an XTerra MS C18 column (Waters, Netherlands). Mass spectrometry was carried out on a Micromass Quattro LC with an electrospray source set to negative mode. The quantification limit for PFOS was 100 ng/L. Plasma concentrations of PFOS are expressed in ng/L wet weight as this compound is protein-bound.



Concentrations of PBDEs and PCB 153 in plasma were expressed as micrograms per kilogram of lipids. Cholesterol and triglyceride analyses were performed using a Hitachi 917 auto analyzer and reagents from Roche Diagnostics. Concentrations of total plasma lipids were estimated according to the formula developed by (Phillips et al. 1989).

Erythrocyte fatty acid profiles were obtained by gas-liquid chromatography (HP 5890; Hewlett Packard, Canada) using an Innowax capillary column (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm; Agilent, Canada) (Belanger et al. 2008). Chromatographies were calibrated using a mixture of 37 different fatty acids (FAME 37; Supelco, PA). n-3 PUFAs were expressed as the percentage of total erythrocyte membrane fatty acids.

### **Statistical analysis**

Statistical analyses were conducted with SAS (version 9.1; SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) and SUDAAN software (version 9.0.1, Research Triangle Institute, Research Triangle Park, NC). We used sampling weights to account for the complex sampling method and to obtain appropriate standard errors and p-values. The weighting process for the various questionnaires relating to individuals was done in two steps: an adjustment of weights to account for non-responses and post-stratification according to the distribution of the target population in terms of certain socio-demographic characteristics (municipality, age and gender). Plasma concentrations of contaminants and food consumption frequency were log-transformed to ameliorate their distributions. A value equal to half the limit of detection of the analytical method was attributed to non detected contaminants in biological samples. The sum of PBDE includes PBDE 47, PBDE 99, PBDE 100 and PBDE 153. Intercorrelations between contaminants were evaluated with the Spearman correlation coefficient, because some of

them were only detected in a small proportion of participants. Spearman correlations were performed for contaminants with a detection frequency of at least 50% to evaluate continuous demographic and nutritional variables associated with contaminants, whereas the Satterwaith Chi-square test was used for categorical variables. Multiple linear regression models were also used for contaminants with a detection frequency of at least 75% to estimate the contribution of several potential predictors of contaminant concentrations in plasma. Continuous independent variables were also dichotomised in order to assess the best fitted models. Variables considered were gender, age, body mass index (BMI), consumption of fish, marine mammals, land animals, fruit and vegetables, dairy products, market meat, smoking status, alcohol consumption, education and income levels (all categories are presented in Table 3). All sociodemographic and dietary factors were entered altogether in multiple linear models at first. Variables were removed one by one, beginning by the less significant predictors. Only significant variables were kept in the final model. n-3 PUFAs were evaluated as a marker of seafood consumption as they were highly correlated with fish and marine mammal consumption. Multiple models with fish and marine mammal intakes were tested independently from those with n-3 PUFAs to consider the best marker of exposure to marine sources. Only models explaining the highest proportion of variance are presented. Multicollinearity was evaluated for all multiple regression models. A bilateral  $p$ -value  $< 0.05$  was considered statistically significant.

## Results

Plasma concentrations, distributions and percentage of detection for PFOS, four PBDEs, two HO-PBDEs, PBB 153, TBBPA and eight bromophenol compounds are presented in Table 1. PFOS and PCB 153 were detected in all samples, whereas most organobromines were detected in less than half of the participants. On a wet weight basis, the geometric mean (GM) of PFOS was 16 and 53 times higher than those of PCB 153 and PBDE 47, respectively. In

addition, the distribution of PFOS levels spans a range of almost 3 orders of magnitude among samples. PBDE 153 was the most prevalent among PBDE congeners, although the GM concentration (2.74 ng/g lipids, arithmetic = 4.60 ng/g lipids) was two times lower than PBDE 47 GM (5.74 ng/g lipids, arithmetic = 10.7 ng/g lipids). Nevertheless, 23% of samples had higher PBDE 153 concentrations compared to PBDE 47. Only two percent of Inuit adults had higher PBDE 47 than PCB 153 concentrations. 2'-HO-BDE 75 was detected in 53% of the samples with a GM of 7.34 ng/L, whereas 2'-HO-BDE 68 was detected in less than 10% of participants, but within the same range of concentrations. Levels of PBB 153 were detectable in 42% of samples with most concentrations below those of PBDEs. Among bromophenols, only 2,4-dibromophenol (2,4-DBP), 2,4,6-tribromophenol (2,4,6-TBP) and 2,3,4,6-tetrabromophenol (2,3,4,6-TeBP) had values above the LOD in more than 50% of samples. The GMs of 2,4-DBP (147.52 ng/L) and 2,4,6-TBP (57.53 ng/L) were higher than BDE-47 levels.

Tableau 4.1. Plasma concentrations of PFOS and organobromine compounds in Inuit participants from Nunavik, Québec, Canada.

Analytes	N	LOD	Percent detected	Wet weight concentrations (ng/L)			Lipid standardized concentrations (ng/g lipids)		
				GM	95% CI	Range	GM	95% CI	Range
PFOS	857	100	100	18680	17750 - 19660	480 - 470000	190	175 - 206	6 - 5805
PCB 153	883	10	100	1 171	1 076 - 1 275	42 - 41 000			
Brominated flame retardants									
PBDE 47	838	15	55	35	33 - 38	<LOD - 2400	5.7	5.4 - 6.1	<LOD - 343.5
PBDE 99	832	10	19 <sup>a</sup>			<LOD - 575			<LOD - 97.4
PBDE 100	838	10	17			<LOD - 580			<LOD - 83.0
PBDE 153	838	5	76	17	16 - 18	<LOD - 620	2.7	2.6 - 2.9	<LOD - 134.6
PBB 153	838	5	42			<LOD - 380			<LOD - 63.0
2'-HO-BDE 68	771	5	7			<LOD - 120			<LOD - 17.8
2'-HO-BDE 75	771	2.5	53	7.3	6.8 - 8.0	<LOD - 150	1.2	1.1 - 1.3	<LOD - 24.4
Tetrabromobisphenol A	771	10	5			<LOD - 480			<LOD - 82.6
2,4-DBP	112	50	57	148	119 - 183	<LOD - 4100	24.9	20.0 - 31.0	<LOD - 1080.6
2,6-DBP	143	5	8			<LOD - 580			<LOD - 2.7
2,4,6-TBP	143	5	87	58	48 - 69	<LOD - 280	9.6	8.0 - 11.5	<LOD - 47.5
2,3,4,5-TeBP	722	1	2			<LOD - 41			<LOD - 6.2
2,3,4,6-TeBP	722	1	59	7	6 - 8	<LOD - 1395	1.1	1.0 - 1.3	<LOD - 199.7
2,3,5,6-TeBP	143	5	3			<LOD - 210			<LOD - 30.1
PBP	722	1	8			<LOD - 250			<LOD - 32.1

<sup>a</sup>Geometric mean (GM) and 95% confident intervals (CI) are not presented for contaminants detected in less than 50% of samples. Abbreviations: CI, confident intervals; GM, Geometric mean; LOD, limit of detection

Table 2 shows Spearman correlation coefficients between contaminants detected in more than 50% of samples. Plasma concentrations of PCB 153, a well known food web contaminant, were negatively correlated with PBDE 47 concentrations ( $r = -0.12, p < 0.001$ ), but positively correlated with PFOS, PBDE 153, 2'-HO-BDE 75 and 2,4,6-TBP ( $r = 0.18 - 0.49, p < 0.05$ ). Plasma concentrations of PFOS were moderately correlated with 2'-HO-BDE 75 concentrations ( $r = 0.41, p < 0.001$ ), weakly correlated with PBDE 153 concentrations ( $r = 0.16, p < 0.001$ ) and inversely correlated with PBDE 47 concentrations ( $r = -0.09, p < 0.01$ ). PBDE 47, PBDE 153 and 2,3,4,6-TeBP were moderately correlated with each other ( $r = 0.18 - 0.38, p < 0.001$ ).

Correlations between the  $\sum$ PBDEs and the relative contributions of PBDE congeners to this summation variable were also examined.  $\sum$ PBDEs was more strongly correlated with PBDE 47 ( $r = 0.88, p < 0.001$ ) compared to PBDE 153 ( $r = 0.71, p < 0.001$ ). The relative contribution of PBDE 47 to the  $\sum$ PBDEs, (calculated as PBDE 47 divided by  $\sum$ PBDEs multiplied by 100) increased in proportion as the  $\sum$ PBDEs increased (Spearman  $r = 0.20, p < 0.001$ ), while that of PBDE 153 decreased (Spearman  $r = -0.10, p < 0.003$ ).

Tableau 4.2. Spearman correlation coefficients between organic compounds (N= 883).

Compounds	PFOS	PBDE 47	PBDE 153	ΣPBDEs	2'-HO-BDE 75	2,4-DBP	2,4,6-TBP	2,3,4,6-TeBP
PBDE 47	-0.09**							
PBDE 153	0.16***	0.38***						
ΣPBDEs	0.01	0.88***	0.71***					
2'-HO-BDE 75	0.41***	-0.06	0.07*	-0.02				
2,4-DBP	0.11	-0.10	-0.13	-0.14	-0.07			
2,4,6-TBP	-0.07	0.01	0.01	0.04	0.15	0.37***		
2,3,4,6-TeBP	0.03	0.25***	0.18***	0.27***	0.01	-0.05	-0.17*	
PCB 153	0.53***	-0.12***	0.30***	0.03	0.49***	0.11	0.18*	-0.06

\*≤0.05, \*\*&lt;0.01, \*\*\*&lt;0.001

Characteristics of participants and their corresponding levels of PFOS, PBDE 47 and PBDE 153 are presented in Table 3. Study participants were aged between 18 and 89 years with a mean age of 38 years ( $\pm 15$ ). Most participants were overweight (55%), smokers (83%), had attended high school (64%) and earned less than 20 000 Canadian dollars annually (54%). Only 16 participants (2%) declared not having consumed any fish during the year preceding the survey, whereas 97% ( $n = 722$ ) reported the consumption of marine mammals.

Tableau 4.3. Characteristics of the Inuit participants, Nunavik, Québec, Canada.

Characteristics	N	PFOS <sup>a</sup>	PBDE 47 <sup>b</sup>	PBDE 153 <sup>b</sup>
Gender				
Men	401	21 003	5.8	4.0
Women	482	16 936***	5.7	2.0***
Age (years)				
18-24	191	14 147	7.6	2.7
25-44	445	16 455	5.8	2.6
45 and over	247	29 869***	4.9***	3.1
BMI				
<25	334	17 051	6.0	3.7
≥25	481	19 823**	5.7	2.3***
Fish intake (% total) <sup>c</sup>				
<26	364	15 817	6.3	2.6
≥26	364	21 573***	5.4*	2.7
Marine mammal intake (g/day) <sup>c</sup>				
<9	211	16 068	6.5	2.7
≥9	535	21 364***	5.2**	2.8
n-3 PUFAs (%)				
<9	431	14 686	7.0	2.9
≥9	432	23 782***	4.7***	2.6*
Land animal meats (g/day) <sup>c</sup>				
<64	371	17 329	6.3	2.8
≥64	372	19 722**	5.4*	2.6
Fruit and vegetables (g/day)				
<463	369	19 908	5.6	2.8
≥463	369	17 141**	6.1	2.6
Dairy intake (g/day)				
<76	365	20 068	5.4	2.7
≥76	373	17 055**	6.3*	2.7
Market meat intake (g/day)				
<135	371	19 452	5.6	2.6
≥135	367	17 554	6.1	2.9
Smoking status				
Non-smoker	12	19 714	5.7	2.6
Ex-smoker	115	23 782	5.2	2.5
Smoker	629	17 696**	5.9	2.9
Alcohol consumption				
Daily	184	16 539	6.3	2.8
Occasionally	377	18 446	5.8	3.0
Never	203	22 379***	5.1**	2.4**
Education (School diploma)				
No	69	38 569	4.2	3.6
Yes	740	17 571***	6.0***	2.7
Income (Canadian \$/annually)				
<20 000	390	17 204	6.0	2.8
40 000 – 60 000	308	20 369	5.7	2.6
> 60 000	28	24 586***	7.3	3.3

<sup>a</sup>PFOS concentrations are expressed in ng/L wet weight



<sup>b</sup>PBDE 47 and PBDE 153 are expressed in ng/g lipids.

<sup>c</sup>Consumption of fish, marine mammals and land animal meats are expressed in g/day on an annual basis.

Satterwaith Chi-square, \* $\leq 0.05$ , \*\* $< 0.01$ , \*\*\* $< 0.001$

Several demographic and dietary characteristics were associated with PFOS plasma concentrations (Tables 3, 4 and 5). Men had significantly higher PFOS levels than women. Levels also increased with age, BMI and consumption of fish (Arctic char:  $r = 0.14$ ,  $p < 0.001$ ; cod:  $r = 0.30$ ,  $p < 0.001$  ; whitefish:  $r = 0.27$ ,  $p < 0.001$  ; salmon and trout:  $r = 0.17$ ,  $p < 0.001$  ; shellfish:  $r = 0.15$ ,  $p < 0.001$ ), marine mammals (seal:  $r = 0.31$ ,  $p < 0.001$ ; beluga:  $r = 0.12$ ,  $p = 0.001$ ) and land animals. PFOS concentrations were also negatively associated with intake of fruit and vegetables, dairy products and market meat as well as with cigarettes and alcohol consumption. Participants who did not attend elementary school and those earning more than 60 000 Canadian dollars tend to have higher PFOS levels.

Tableau 4.4. Spearman correlation coefficients of PFOS and organobromine compounds with continuous characteristics and food consumption.

Characteristics	PFOS (n = 857)	PBDE 47 (n = 838)	PBDE 153 (n = 838)	∑PBDEs (n = 832)	2'-HO-BDE 75 (n = 771)	2,4-DBP (n = 112)	2,4,6-TBP (n = 143)	2,3,4,6-TeBP (n = 722)
Age	0.39***	-0.21***	0.07*	-0.14***	0.44***	0.04	0.10	-0.13***
BMI	0.10**	-0.07	-0.29***	-0.18***	0.21***	0.14	0.09	-0.16***
Marine mammals <sup>a</sup>	0.25***	-0.10*	0.03	-0.06	0.32***	0.09	0.08	-0.05
Fish <sup>a</sup>	0.21***	-0.09*	0.04	-0.04	0.16***	0.22*	0.07	-0.04
n-3 PUFAs	0.38***	-0.19***	-0.03	-0.17***	0.55***	0.11	0.21*	-0.11**
Land animal meats <sup>a</sup>	0.11**	-0.04	0.00	-0.02	0.10*	0.04	0.10	-0.01
Fruit/vegetables	-0.09*	-0.08*	-0.07*	0.00	-0.08*	0.20	-0.09	-0.03
Dairy products	-0.10**	0.07	0.02	0.05	-0.10**	0.03	-0.03	-0.02
Market meats	-0.08*	0.08*	0.07	0.09*	-0.12**	0.07	-0.06	0.03

<sup>a</sup>Traditional food items were measured in g/day on an annual basis, other items are in g/day.

\*≤0.05, \*\*<0.01, \*\*\*<0.001

Tableau 4.5. Multiple linear regression of predictors of PFOS and brominated compound concentrations in adult Inuit

Compounds	N	Predictors	$\beta$ estimate	SE	P-value
Log PFOS	734	Male gender	0.174	0.042	<0.001
		Age	0.018	0.002	<0.001
		Fish intake (g/day) <sup>a</sup>	0.067	0.017	<0.001
		Marine mammal intake (g/day) <sup>ab</sup>	0.003	0.001	<0.001
		Fruit and vegetables intake (g/day)	-0.055	0.022	0.013
		Having school diploma <sup>b</sup>	-0.315	0.129	0.015
Log PBDE 153	864	Male gender	0.624	0.050	<0.001
		Age	0.015	0.002	<0.001
		BMI	-0.044	0.005	<0.001
Log PBDE 47	734	Age	-0.012	0.003	<0.001
		Marine mammal intake (g/day) <sup>ab</sup>	-0.208	0.083	0.013
		Market meat intake (g/day)	0.087	0.037	0.020
Log 2,4,6-TBP	752	n-3 PUFAs	0.067	0.032	0.040
		Fruit and vegetables intake (g/day)	-0.174	0.080	0.029

<sup>a</sup> Consumption of fish and marine mammals are expressed in g/day on an annual basis.

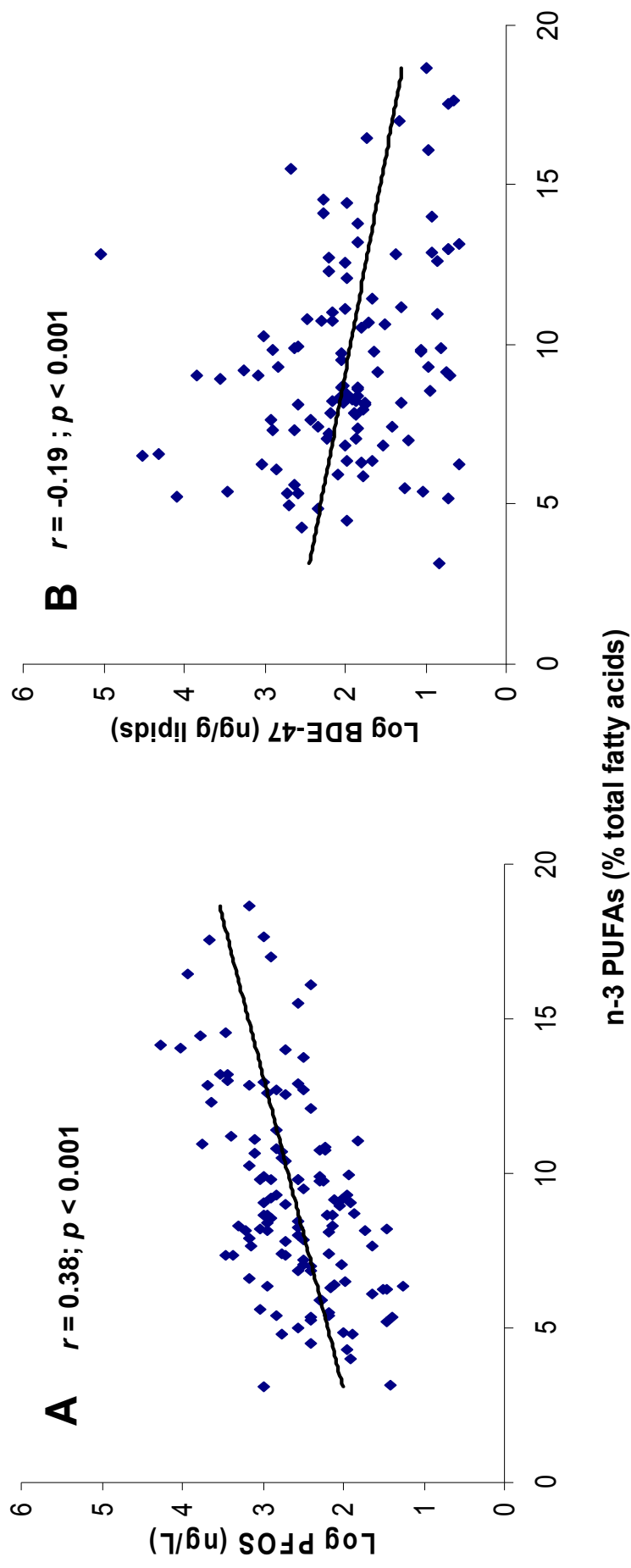
<sup>b</sup> Marine mammal intake and education are dichotomous.

Abbreviation: SE, standard error

Predictors of PBDE 47 concentrations were different from those of PBDE 153 concentrations. Gender was not associated with PBDE 47 levels, but men had on average two times higher PBDE 153 plasma concentrations than women. PBDE 47 concentrations decreased significantly with age, whereas a small increase was observed for PBDE 153 concentrations. Consumption of fish and marine mammals as well as n-3 PUFAs levels were negatively correlated with PBDE 47 concentrations, but not associated with PBDE 153 levels. Significant negative correlations between both PBDEs and consumption of fruit and vegetable were observed, whereas only PBDE 47 levels were significantly related to increasing market meat consumption. Daily consumers of alcohol and participants with a university degree had on average higher plasma concentrations of both PBDEs.

Determinants of 2'-HO-BDE 75 plasma concentrations were the same as those for PFOS. Plasma concentrations of 2,4-DBP and 2,4,6-TBP were only positively correlated with fish intake (Arctic char probably being the main source,  $r = 0.19-0.22$ ,  $p < 0.05$ ) and n-3 PUFA concentrations. Finally, 2,3,4,6-TeBP was inversely correlated with age, BMI and n-3 PUFA levels. Correlations between contaminants and n-3 PUFA concentrations were always stronger than those between contaminants and calculated daily intakes of fish and marine mammals obtained by the food frequency questionnaire, except for 2,4-DBP (Table 4 and Figure 1).

Figure 4.1 Spearman correlations between concentrations of n-3 PUFAs in erythrocytes and plasma concentrations of PFOS and BDE-47 in Inuit adults from Nunavik, Canada



Multiple linear regression analyses were performed for contaminants detected in more than 75% of samples (Table 5). Plasma concentrations of PFOS were positively associated with male gender, age and consumption of fish and marine mammals, whereas fruit and vegetable intake and school attendance were negatively associated with them. This model accounted for 28% of the variance in PFOS levels. PBDE 153 levels were also positively associated with male gender and age, while they were negatively associated with BMI. This model explained 22% of the variance in PBDE 153 plasma concentrations. Also, multiple linear models revealed that the PBDE 47 was positively linked to market meat consumption, but negatively associated with age and consumption of marine mammals. Only 5% of the variance of the PBDE 47 concentrations was explained by this model. Plasma concentration of 2,4,6-TBP was positively related to n-3 PUFAs intake and negatively associated with daily intake of fruit and vegetables for a total explained variance of 7%.

## **Discussion**

This study reported plasma concentrations of PFOS, BOCs and their potential metabolites from a representative sample of the adult Inuit population of Nunavik, Québec, Canada. Moreover, relations between emerging POPs and demographic and nutritional factors were assessed. Levels of PCB 153 were also presented for comparative purposes. PFOS plasma concentrations along with PCB 153 were the most prevalent contaminants measured in this population. Analysis of PFOS concentration determinants suggests that this PFC behaves like a persistent and bioaccumulative contaminant and that traditional food consumption is an important source of exposure. To the contrary, PBDE 47 exposure can be linked to the adoption of western lifestyle, although the precise source of exposure remains to be determined.

PFOS exposure assessment studies revealed varying concentrations according to geographical area (Midasch et al. 2006). Data from the U.S National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES 2003-2004) showed a slightly higher GM of 20.7 ( $\mu\text{g/L}$ ) compared to 18.9 ( $\mu\text{g/L}$ ) measured in the present study (Calafat et al. 2007b). Overall, compared to the PFOS GM of the present study, populations from North America including Canada showed higher PFOS levels (Kannan et al. 2004; Kubwabo et al. 2004; Olsen et al. 2003), European populations presented similar concentrations (Kärman et al. 2004; Midasch et al. 2006), whereas in Asia levels were generally lower (Harada et al. 2007; Taniyasu et al. 2003; Yang et al. 2004).

Consumption of fish and marine mammals, male gender and age were the strongest predictors of PFOS plasma concentrations in the Inuit population as revealed by the multiple linear regressions. PFOS was shown to be ubiquitous and the prevalent PFCs in the Arctic marine food webs (Martin et al. 2004; Powley et al. 2008; Tittlemier et al. 2006). Although studies seem to indicate that PFOS biomagnify along the Arctic food web (Bossi et al. 2005; Tomy et al. 2004), it seems from our statistical analysis that daily fish intake (mean = 49 g/day) contributes to a higher extent to PFOS body burden than marine mammal consumption (mean = 28 g/day). These results differ from those obtained from a study among pregnant women and children from the Faroe Islands, where frequency of pilot whale dinners, instead of fish, was associated with serum PFOS concentrations (Weihe et al. 2008). Higher PFOS concentrations in long finned pilot whale (Bossi et al. 2005) compared to beluga and seals from the Canadian Arctic (Tomy et al. 2004) may explain such a discrepancy. The contribution of fish to PFOS exposure is not unique to fish-eating populations as this food item was shown to be an important determinant of human exposure in a market basket survey in Canada and Spain (Ericson et al. 2008; Tittlemier et al. 2007). Inverse relationships

between fruit and vegetable intake and PFOS concentrations are probably related to dietary patterns among participants. Interestingly, dietary exposure was identified as the main source of exposure to PFCs among Canadian adults compared to water, dust and contact with treated carpeting and apparel (Tittlemier et al. 2007). Metabolism of perfluorooctylsulfonyl substances may also contribute to PFOS exposure (Hekster et al. 2003).

Age-dependency of plasma PFOS concentrations in the Inuit population suggest that this compound has bioaccumulative properties similar to other POPs such as PCBs and other organochlorines. However, human studies are not consistent with regard to age-related exposure. Most studies did not observe a significant increase in PFOS levels with age (Ericson et al. 2007; Kannan et al. 2004; Midasch et al. 2006; Olsen et al. 2003), including the representative NHANES studies (Calafat et al. 2007a; Calafat et al. 2007b), whereas others have identified age-related increases (Fromme et al. 2007; Olsen et al. 2005). We suspect that the significant increase of PFOS concentrations according to age in the adult Inuit population was partially related to fish intake which also increases with age (data not shown).

In agreement with previous studies (Calafat et al. 2007b; Fromme et al. 2007; Harada et al. 2004), we observed significant higher GM PFOS concentrations in men. Transplacental transfer of PFOS or precursors to the developing foetus (Apelberg et al. 2007a) and via milk during breastfeeding (Karrman et al. 2007) are probably important factors explaining lower concentrations in women. Unfortunately, we cannot verify this hypothesis as information regarding obstetrical and breastfeeding histories of participating women were not collected in the course of this study. Another explanation may be that Inuit men have a higher intake of traditional food compared to women (data not shown).



Mean levels of PBDE 47 measured in samples from Nunavik Inuit adults are several times lower than concentrations reported in populations from the United States (Schechter et al. 2005; Sjodin et al. 2004), and in post-menopausal women from Quebec's southern population (Sandanger et al. 2007), but approximately 4 times higher than in European populations (Fangstrom et al. 2005a; Fangstrom et al. 2005b; Thomas et al. 2006; Weiss et al. 2006). As with most North-American populations, we observed a wide range of PBDE 47 and PBDE 153 concentrations in this Inuit population. Contrary to most studies, the proportion of the sample with a detectable value was less for PBDE 47 than for PBDE 153. This is probably an artefact associated with the higher limit of detection for PBDE 47 instead of a lower exposure to this congener. Nevertheless, higher PBDE 47 plasma concentrations indicate that Inuit living in remote areas are also exposed to the penta-PBDE formulation (Birnbaum and Staskal 2004).

Several lines of evidence suggest that both PBDE congeners may not originate from the same source and differ regarding bioaccumulation and persistence. First, PBDE 47 was negatively associated with PCB 153 and PFOS, whereas PBDE 153 was positively correlated with them. As reported by (Sandanger et al. 2007), we also observed an increase in PBDE 47 relative concentrations as the  $\Sigma$ PBDEs increases, while PBDE 153 relative concentrations decrease with increasing  $\Sigma$ PBDEs concentrations. Thirdly, we observe a decrease of PBDE 47 concentrations with age and no gender related difference. In contrast, similar to PCB 153 and PFOS plasma concentrations, we found higher PBDE 153 plasma concentrations in men and a significant positive association with age. Altogether these observations suggest that PBDE 153 is a ubiquitous and persistent PBDE congener that shares common properties and/or routes of exposure with PCBs and PFOS. To the contrary, PBDE 47 concentrations was higher in younger participants (18 – 24 years old), which may indicate a more recent exposure

to this congener in the Nunavik Inuits or different lifestyle habits in this age group. In fact, higher exposure to PBDE 47 was observed among younger and educated participants, which consume less traditional food. Therefore, adoption of western lifestyle seems to be related to higher PBDE 47 exposure.

Contrary to results obtained with post-menopausal women residing in the southern region of Québec (Sandanger et al. 2007), but in accordance with one study conducted with primiparous women in Boston (Wu et al. 2007), we found that market meat consumption was a significant predictor of PBDE 47 concentrations. Also, consumption of marine mammals and n-3 PUFAs concentrations were negatively associated with PBDE 47 exposure. However, fish from polluted regions has been linked to higher PBDEs exposure in several other populations (Anderson et al. 2008; Morland et al. 2005; Thomsen et al. 2008). Therefore, the negative association between seafood consumption and PBDE 47 concentrations observed in this study may be particular to populations from remote areas, such as in the Arctic, where levels of PBDEs in the marine food webs are still low (Kelly et al. 2008) or it may simply be related to dietary patterns. More specifically, individual consuming seafood, may also consume less market meat. While diet may be a source of exposure to PBDE 47, its contribution remains minimal in the adult Inuit population as a small proportion of PBDE 47 plasma concentrations was explained by the linear model. Exposure through inhalation of dust and indoor air is probably the major route of exposure as demonstrated by recent studies (Jones-Otazo et al. 2005; Lorber 2008; Wu et al. 2007).

Two others BOCs, PBB 153 and TBBPA, were detected in a small proportion of samples with levels below those of PBDEs. Concerning HO-BDEs, this is the first report of 2'-HO-BDE 68 and 2'-HO-BDE 75 in human samples, whereas other HO-PBDEs were detected in pooled

samples from children and adolescents working in waste disposal sites in Nicaragua (Athanasiadou et al. 2008). PBDEs' metabolic pathways involved in the production of the two HO-PBDEs measured in this population are unknown. Undetectable levels of 2'-HO-BDE 68 in mice after exposure to the commercial DE-71 mixture suggested that this metabolite did not originate from PBDE 47 hydroxylation (Qiu et al. 2007). Surprisingly, we found that 2'-HO-BDE 75 was not correlated with PBDE congeners, but instead with PCB 153 and PFOS. Exposure to these metabolites is probably through diet, particularly fish and marine mammals, as suggested by the correlation analysis.

To our knowledge, this is the first time 2,4-DBP and 2,3,4,6-TeBP concentrations are measured in human samples. 2,4-DBP was detected in more than 50% of samples with a GM four times higher than that of PBDE 47 on a lipid basis. Among samples with detected values, 14% (n=16) had values over 100 ng/g lipids. Similarly, concentrations of 2,4,6-TBP were generally higher than those of PBDE 47. Exposure to 2,4,6-TBP was previously determined in samples from Norway with levels ranging from 0.08 to 81 ng/g lipids for different age groups, which is slightly higher than levels measured in Inuit populations (Thomsen et al. 2001, 2002). The marine environment has been found to be a natural source of bromophenols, where macroalgae synthesize 2,4-DBP and 2,4,6-TBP as their major secondary metabolites (Flodin and Whitfield 1999). In correlation analysis, both bromophenols were associated with Arctic char consumption (data not shown), the most frequently consumed fish species by Inuit. Multiple linear regression for 2,4,6-TBP plasma levels revealed that fruit and vegetable consumption and n-3 PUFA concentrations were good predictors, but their contribution to 2,4,6-TBP levels are minimal as they predicted only 7% of the variance. Recently, (Qiu et al. 2007) reported that 2,4-DBP was a major metabolite of the brominated DE-71 formulation in mice. Cleavage of the diphenyl ether bond of PBDE 47 or PBDE 99 congener was the

suspected pathway. However, both bromophenols were not correlated with PBDE congeners. Consequently, source of exposure and metabolic pathways leading to 2,4-DBP and 2,4,6-TBP concentrations in human plasma are not clear. This is not the case for 2,3,4,6-TeBP that was clearly associated with plasma concentration of PBDE congeners.

This study has several strengths. Results were obtained from a large and representative sample of the adult Inuit population and included a thorough assessment of nutritional factors as sources of exposure to emerging POPs. Because food frequency questionnaires and 24-hour dietary recalls are sometimes subject to recall biases and cultural barriers, we also used n-3 PUFA concentrations in erythrocytes as a biological marker of long term (~3 months) seafood consumption. Limitations to this study include the absence of indoor and outdoor dust measurements as sources of exposure and quantification of others PFCs, such as perfluorooctanoate (PFOA). However, PFOA is usually highly correlated with PFOS in humans and probably originates from the same route of exposure (Calafat et al. 2007b). Therefore, we can speculate that PFOA predictors will be similar to those of PFOS in the Inuit population.

In conclusion, we found that the geographical location and traditional lifestyle of the Nunavik Inuit population do not protect them against exposure to potential emerging POPs, particularly PFOS, for which concentrations were mainly associated with fish and marine mammal consumption. We also found individuals with very high concentrations of PFOS and some BOCs as reported in populations from industrialized regions. There is a need to evaluate other sources of exposure to BOCs in this population as diet is not an important contributor to body burden. Results from this study also demonstrate that human exposure assessments to 2,4-DBP should be undertaken in other populations as the plasma concentrations in the Inuit

population were in the range of PBDE 47 concentrations reported in other North American populations. The potential effects of those contaminants on lipids and thyroid hormone concentrations of Inuit participants will be assessed in forthcoming papers.

## **Acknowledgment**

We are grateful to the Nunavik population for their participation in this research. We thank the Bureau de la Statistique du Québec for developing the statistical design. This study was made possible by the Québec Health and Social Services Ministry, the Nunavik Regional Board of Health and Social Services, Indian and Northern Affairs Canada (Northern Contaminants Program), the Network of Centres of Excellence of Canada (ArcticNet), the Canadian Foundation for Innovation (CFI) and the Fond de la recherche en santé du Québec.

## Chapitre 5 - Thyroid function and polyhalogenated compound concentrations in Inuit adults

Renée Dallaire, Éric Dewailly, Daria Pereg, Serge Dery and Pierre Ayotte

### Résumé

**Introduction:** Des études animales et *in vitro* ont démontré que plusieurs composés polyhalogénés ubiquitaires (CPHs) peuvent altérer la fonction thyroïdienne. Jusqu'à maintenant, les études épidémiologiques se sont concentrées sur l'étude des effets potentiels d'un petit nombre d'entre eux, dont les biphényles polychlorés et certains organochlorés (OCs), sans porter d'attention à d'autres CPHs. **Objectifs:** Nous avons investigué la relation entre l'exposition à plusieurs CPHs et l'homéostasie des hormones thyroïdiennes chez les adultes inuits du Nunavik. **Méthodes:** Nous avons mesuré des paramètres thyroïdiens [thyréotropine (TSH), T<sub>4</sub> libre (T<sub>4</sub>l), T<sub>3</sub> totale (T<sub>3</sub>t), globuline (TBG)] et les concentrations de 41 contaminants incluant des BPCs et leurs métabolites, des OCs, des diphényles éthers polybromés (PBDEs), le perfluorooctanesulfonate (PFOS) et une mesure des composés « dioxine-like » dans des échantillons de plasma provenant d'adultes inuits (n = 623). **Résultats:** Nous avons trouvé des associations négatives entre 14 BPCs, 7 BPCs hydroxylés (HO-BPCs), tous les BPCs méthylsulfonés (MeSO<sub>2</sub>-PCBs) et 2 organochlorés avec les concentrations de la T<sub>3</sub>t. De plus, des associations négatives ont été observées entre les niveaux de la T<sub>4</sub>l et les concentrations des BPCs mono-ortho substitués, des MeSO<sub>2</sub>-PCBs et de l'hexachlorobenzène. Les concentrations de la TBG

étaient inversement liées avec 8 BPCs, 5 HO-PCBs et 4 OCs. L'exposition au PBDE 47 était positivement associée aux concentrations de la T<sub>3t</sub>, alors que les concentrations du PFOS étaient négativement associées avec la TSH, la T<sub>3t</sub> et la TBG et positivement à la T<sub>4l</sub>.

**Conclusion:** L'exposition à plusieurs CPHs était associée avec la perturbation de la fonction thyroïdienne chez les adultes inuits, principalement en réduisant les concentrations circulantes de la T<sub>3t</sub> et de la TBG. D'autres recherches sont nécessaires afin de confirmer les effets observés du PFOS et du PBDE 47 sur l'homéostasie des hormones thyroïdiennes puisque d'autres populations humaines sont exposées à des concentrations similaires.

## Abstract

**Background:** Several ubiquitous polyhalogenated compounds (PHCs) have been shown to alter thyroid function in animal and *in vitro* studies. So far, epidemiological studies have focused on the potential effect of a small number of them, namely polychlorinated biphenyls (PCBs) and some organochlorines (OCs), without paying attention to other important PHCs. **Objectives:** We investigated the relationship between exposure to several PHCs and thyroid hormone homeostasis in Nunavik Inuit adults. **Methods:** We measured thyroid parameters [thyroid-stimulating-hormone (TSH), free T<sub>4</sub> (fT<sub>4</sub>), total T<sub>3</sub> (tT<sub>3</sub>) and thyroxine-binding globulin (TBG)] and concentrations of 41 contaminant including PCBs and their metabolites, OCs, polybrominated diphenyl ethers (PBDEs), perfluorooctanesulfonate (PFOS) and a measure of dioxin-like compounds (DLCs) detected in plasma samples from Inuit adult (n = 623). **Results:** We found negative associations for 14 PCBs, 7 hydroxylated PCBs (HO-PCBs), all methylsulfone PCBs (MeSO<sub>2</sub>-PCBs) and 2 organochlorines with tT<sub>3</sub> concentrations. Moreover, negative associations were found

between  $fT_4$  levels and mono-ortho PCBs, all MeSO<sub>2</sub>-PCBs and hexachlorobenzene (HCB) concentrations. TBG concentrations were inversely related with 8 PCBs, 5 HO-PCBs and 4 OCs. Exposure to PBDE 47 was positively related to  $tT_3$ , whereas PFOS concentration was negatively associated with TSH,  $tT_3$  and TBG and positively with  $fT_4$  concentrations.

**Conclusion:** Exposure to several PHCs was associated with perturbation of the thyroid function in adult Inuit, mainly by reducing  $tT_3$  and TBG circulating concentrations. The observed effects of PFOS and PBDE 47 on thyroid homeostasis require further investigation, as other human populations are exposed to similar concentrations.

## Introduction

Because thyroid hormones (TH) act on cells of almost all tissues, they are involved in several physiological processes along the lifespan. In adults, TH are mainly involved in metabolic activities such as protein, lipid and carbohydrate metabolism and heat generation. They are also necessary for normal reproductive functions, regulation of heart rate and gastrointestinal motility as well as for emotional stability. Disruptions of thyroid function by endogenous (eg. autoantibodies) or exogenous (eg. iodine) factors may produce various subclinical effects or direct clinical manifestations. Consequently, there are increasing concerns regarding the ubiquitous background chronic exposure of human populations to polyhalogenated compounds (PHCs) that have been shown or are suspected to have thyroid-disrupting properties.

PHCs are a group of chemicals that include legacy and emerging persistent organic pollutants, some of which known or suspected to interact with the thyroid system in



animals and humans. Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, dioxin-like polychlorinated biphenyls (DL-PCBs) and hexachlorobenzene (HCB) were shown to mainly reduce free thyroxine (fT<sub>4</sub>) and total T<sub>4</sub> (tT<sub>4</sub>) in animal studies (Brouwer et al. 1995; van Raaij et al. 1993b; Visser et al. 1993). The underlying mechanism is through binding to the aryl hydrocarbon receptor (AhR) which induces uridine diphosphate glucuronyltransferase (UDP-GT) enzymes involved in thyroxine (T<sub>4</sub>) glucuronidation for subsequent biliary and hepatic elimination. Non DL-PCBs interact with the thyroid system by other mechanisms including the induction of other microsomal enzymes such as CYP2B (Connor et al. 1995; Khan et al. 2002), perturbation of TSH release in the pituitary gland (Khan and Hansen 2003), displacement of T<sub>4</sub> from their carrier proteins (Chauhan et al. 2000) and direct action with thyroid receptors (Miyazaki et al. 2008).

Methylsulphonyl (MeSO<sub>2</sub>-PCBs) and hydroxylated (HO-PCBs) metabolites of polychlorinated biphenyls (PCBs) were also shown to interfere with the thyroid system. Studies in rats suggested that some 3-MeSO<sub>2</sub>-PCBs are potent phenobarbital-like inducers of hepatic microsomal enzymes and are associated with reduced tT<sub>4</sub> and unclear effects on T<sub>3</sub> concentrations (Kato et al. 1998). HO-PCBs and other chlorinated phenolic compounds such as pentachlorophenol act by interacting with transthyretin (Cheek et al. 1999; Lans et al. 1993; van den Berg 1990), one of the TH carrier proteins, and by inhibiting TH sulfation (Schoor et al. 1998). Binding of HO-PCBs with the TH receptor β1 leading to agonistic effects was also reported (Cheek et al. 1999; You et al. 2006).

Polybrominated diphenylethers (PBDEs), used as flame retardants in consumer products, are now considered as emerging persistent organic pollutants as they tend to bioaccumulate and persist in wildlife and humans (Birnbaum and Staskal 2004). As PCBs, they are structurally similar to  $T_4$  (Hamers et al. 2006). Animal studies have repeatedly demonstrated a decline in  $fT_4$  concentrations following exposure to the commercial PBDE mixture Bromkal (Hallgren et al. 2001; Zhou et al. 2001). A concomitant increase in UDP-GT activities was also found, suggesting the activation of AhR, although the dioxin-like activity of PBDEs was shown to be limited compared to PCBs (Chen and Bunce 2003).

Perfluorooctanesulfonate (PFOS), the most prevalent perfluorinated compounds detected in human samples worldwide was incorporated into commercial products mainly for its grease-repellent property (Kannan et al. 2004). This compound was reported to reduce  $tT_4$  and  $fT_4$  in rats, without a compensatory elevation of TSH concentrations (Thibodeaux et al. 2003). Competitive binding of PFOS for  $T_4$  carrier proteins and a subsequent increase of  $T_4$  turnover was proposed as a potential mechanism (Chang et al. 2008).

Several epidemiological studies aimed to evaluate the effects of dioxin-like compounds (DLCs), PCBs and some organochlorines (OCs) on the TH homeostasis in adults (Abdelouahab et al. 2008; Hagmar 2003). Effects of these compounds on TSH concentrations were variable, whereas several studies found a negative relationship with  $tT_4$  and/or  $tT_3$ , without a significant change on  $fT_4$  levels. The relationship between HO-PCBs and TH status in adults was only studied in fishermen from the Baltic Sea, where no association was found. With regards to PBDEs, studies investigating the thyroid-disrupting

potential of these flame retardants in populations exposed to background levels are few, inconsistent and limited to male populations (Bloom et al. 2008; Hagmar et al. 2001a; Julander et al. 2005; Turyk et al. 2008). On the other hand, potential effects of PFOS on TH parameters have never been investigated in humans.

Nunavik Inuit are exposed to relatively high concentrations of PCBs and organochlorines through their seafood-based traditional diet compared to populations from southern regions of North-America. Recently, exposure to PFOS and PBDEs in this population was reported to be mid-point between North-American and European levels (Dallaire et al. unpublished). Considering the thyroid-disrupting potential of these contaminants, the aim of the present study was to investigate the relationship between several PHCs and thyroid function in the Inuit adult population of Nunavik.

## **Materials and methods**

### **Population, study design and data collection**

A large scale health survey was conducted among the Inuit population of Nunavik from August 27 to October 1 2004. Nunavik is the northern region of Québec where approximately 9,500 Inuit live in 14 communities along the coasts of Hudson Bay, Hudson Strait and Ungava Bay. The target population of this study was permanent Inuit residents of Nunavik aged 18 years old and older. The survey plan was for a complex two-stage stratified random sampling. In order to obtain a standard representation of the target population, the survey used a stratified random sampling of private Inuit households with the community being the stratification variable. A proportional allocation of sample units

corresponding to the size of each village was chosen. The number of households to visit was decided prior to the survey in order to obtain estimates as accurate as possible. Each resident of the selected household were invited to participate in the survey. Of the 677 households visited by the interviewers, 670 were eligible according to the specifications defined for the target population. Among these eligible households, 521 agreed to participate in the survey, giving a household response rate of 77.8%. These 521 households represented 2550 individuals. The response rate was defined as the ratio of the number of participating units to the number of eligible units. Response rates tend to be low for individual instruments, since each member of a non-participating household was automatically a non-respondent for individual instruments. Therefore, individual response rates were obtained by multiplying the household response rate by the individual collaboration rate, which is the proportion of eligible individuals in the 521 participating households who agreed to participate. The survey was approved by the Comité d'éthique de la recherche de l'Université Laval and the Comité d'éthique de santé publique du Québec. Participants were asked to provide written consent before taking part in the study.

Several self-administered and interviewer-completed questionnaires were used to obtain information regarding demographics, lifestyle habits, and nutrition and health indicators. In addition, individuals were asked to participate in a clinical session where blood samples were taken and physical measurements were performed. Overall, the participation rate for the different collection instruments was approximately 50%, for a total of 1056 participants. The assessment of contaminant concentrations was performed on 889 plasma samples. Because TH concentrations greatly fluctuate during pregnancy, pregnant women

were excluded from the present study (n = 23). Non-Inuit (n = 20) and individuals using medication for thyroid disease (n = 19) were also excluded.

### **Demographic and clinical variables.**

With regards to the present study, data related to education, income and cigarette consumption were obtained through an interviewer-administered questionnaire, whereas information on alcohol consumption was obtained from a questionnaire completed by the participant confidentially. Data regarding medication use in the 6 months preceding the survey were obtained from medical charts. Weight was measured on a digital scale (Tanita TBF-300) to the nearest 0.1 kg and height was measured in centimetres using a rigid square measuring tape with the participant standing barefoot on a hard surface up against a wall. Among participants with quantified concentrations of contaminants, 729 had completed questionnaires regarding socio-demographic information, 628 had records of medication consumption, whereas 586 had completed the confidential questionnaire.

### **Assessment of seafood consumption.**

Data on seafood consumption during the year preceding the survey were obtained using a food frequency questionnaire from 536 participants with quantified PHC concentrations. Details regarding the calculation of fish and marine mammal consumption were described previously (Dallaire et al. unpublished). The total consumption of wild fish used in the current study corresponds to the consumption of the following food items: Arctic char, cod,

whitefish, trout, salmon, pike, cisco, walleye and dried fish, whereas the total consumption of marine mammals corresponds to beluga and seal intake.

### **Laboratory procedures.**

Blood samples (60 ml) were collected using a venous catheter from an antecubital vein. Tubes were centrifuged within 3 hours of collection and plasma was isolated, aliquoted and frozen at -80°C prior to clinical biochemistry and contaminant analyses. Plasma samples were analysed for PCBs and their hydroxylated and methylsulfonyl metabolites, OCs pesticides, halogenated phenolic compounds as well as brominated flame retardants according to the multi-residue method previously described (Dumas et al. 2006; Sandanger et al. 2007). The extraction and purification steps of the procedure were conducted on a Rapidtrace Automated SPE workstation (Caliper Life Science Hopkinton, MA, USA). Internal standard were added to the plasma prior to the addition of formic acid (5 ml) and deionized water (5 ml). Samples were then extracted on a Oasis HLB solid phase extraction column as described by (Sandau et al. 2003) and the extract was subsequently eluted through a column containing 1 g activated Florisil (Fisher Scientific, Pittsburgh, PA, USA). The fraction containing the PCB, OCs and PBDEs was eluted using hexane/dichloromethane (9/1; 9 ml). These compounds were analysed by high-resolution gas-chromatography/mass spectrometry (HRGC-MS, Agilent 6890 Network gas chromatograph (Wilmington, DE, USA) equipped with an Agilent 7683 series automatic injector and an Agilent 5973 Network mass spectrometer) using electron capture negative ionisation or electronic impact ionisation. The GC was fitted with an Agilent 60 m XLB column (0.25 mm i.d, 0.25 mm film thickness). Limits of detection (LODs) were 10 ng/L

for PCB congeners,  $\beta$ -HCH and PBDE 153, 20 ng/L for *p,p'*-DDT and hexachlorobenzene, 15 ng/L for *p,p'*-DDE and 30 ng/L for PBDE 47. The fraction containing HO-PBCs, MeSO<sub>2</sub>-PCBs and halogenated phenolic compounds was derivatised with diazomethane and combined with the PCBs fraction before clean up on an activated silica/acidic silica column and analysed by HRGC-MS using electron capture negative ionisation. The GC was a Hewlett Packard (HP) 5890 Series II Plus equipped with a HP G1512A automatic injector and a HP 5890B mass spectrometer (Agilent, Wilmington, DE, USA). The GC was fitted with a 30 m DB-5 column (5 % phenylmethylpolysiloxane; 0.25 mm i.d., 0.25 mm film thickness) from J&W Scientific (CA, USA). LODs were 2 ng/L for HO-PCBs and MeSO<sub>2</sub>-PCBs, excepted for 4-HO-PCB 107 and pentachlorophenol for which the LODs were 10 ng/L. Concentrations are presented on a lipids basis for PCBs, PBDEs and OCs whereas PCB metabolites and pentachlorophenol are presented on wet weight basis according to their affinity for the lipid or protein fraction. With regards to the present study, only contaminants with a detection frequency of 70% and more were considered in the statistical analysis except for PBDE 47. This compound was included in this study regardless of detection frequency because of the growing concern regarding the rapid increase in concentrations measured in human samples in North America and because of its toxicological properties.

The extract for the Dioxin-Responsive Chemically-Activated Luciferase eXpression (DR-CALUX) assay was cleaned up on an activated silica/acidic silica column and DLCs were eluted with dichloromethane (8 ml). The extract was evaporated and then reconstituted with 5  $\mu$ l of dimethylsulfoxide before being tested for its dioxin-like activity using the H4IIE-

Luc cell line. The cells were plated at a density of  $8 \times 10^4$  cells/well in 24-well plates. After 5 hours, the 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin standards and plasma extracts were added to the cells for 24 hours. The cells were then washed in PBS and lysed in a lysis buffer (Promega). The luciferase activity was determined with a luminometer (LMax Molecular Devices). The complete description of the procedure was previously reported (Medehouenou et al. unpublished). This bioassay determines the overall dioxin-like activities in a sample considering the synergistic, additive and/or antagonistic interactions between compounds (Koppen et al. 2001).

Plasma samples were spiked with PFOS-<sup>13</sup>C<sub>4</sub> (Wellington Laboratories, ON) as the isotope-labelled internal standard for PFOS quantification. PFOS was extracted from plasma using alkaline ion-pairing extraction with methyl-tert butyl ether and tetrabutylammonium hydrogen-sulfate, followed by electrospray LC-MS-MS analysis. Separation was carried out using an Alliance 2690 high pressure liquid chromatograph (Waters, Netherlands) equipped with an XTerra MS C18 column (Waters, Netherlands). Mass spectrometry was carried out on a Micromass Quattro LC with an electrospray source set to negative mode. Plasma concentrations of PFOS are expressed in ng/L wet weight as this compound is protein-bound.

Selenium concentrations in whole blood were determined by inductively coupled plasma mass spectrometry using a Elan 6000 analyzer (Perkin Elmer-Sciex, ON, Canada). The



samples were diluted in a solution containing ethoxylate octylphenol and ammonium hydroxide and then analyzed.

Plasma concentrations of PCBs and their grouping, OCs and PBDEs were expressed as micrograms per kilogram of lipids. Cholesterol and triglyceride analyses were performed using a Hitachi 917 auto analyzer and reagents from Roche Diagnostics. Concentrations of total plasma lipids were estimated according to the formula developed by (Phillips et al. 1989).

Analyses of serum thyroid-stimulating-hormone (TSH),  $fT_4$ ,  $tT_3$  and thyroid-binding-globulin (TBG), the major transport protein of TH, were performed using radioimmunoassay methods. TSH,  $fT_4$  and  $tT_3$  were measured on the Elecsys® 1010/2010 and the Modular Analytics E170 (Roche Diagnostics, Mannheim, NY, USA). TBG was determined on the Clinical Assays™ GammaDab™ system commercialised by DiaSorin (Stillwater, Minnesota, USA).

### **Statistical analysis.**

Potential effects of contaminants on thyroid status were determined for PHCs with a detection frequency greater than 70%, except for PBDE 47 which was detected in 57% of samples. Parameters were estimated randomly from a log-normal distribution by the maximum likelihood estimation for samples with concentrations of contaminants below limits of detection of the analytical procedures. The multiple imputation method was shown

to be an adequate statistical approach compared to the assignment of a value equal to half the limit of detection when non detected values represent more than 5% of the sample (Lubin et al. 2004). Effects of PCB congeners were assessed individually and grouped according to their toxicological and persistence properties (Wolff et al. 1997). Correlations between contaminants were assessed by Pearson correlation coefficients. The relationship of environmental contaminants with TH (TSH, fT<sub>4</sub>, tT<sub>3</sub>) and TBG were examined by simple and multiple linear regression models. Contaminant concentrations and thyroid parameters were all log-transformed to satisfy criteria of normality. Five participants with extreme values of TSH and fT<sub>4</sub> were excluded.

Covariates known as risk factors for thyroid diseases or suspected to be associated with TH parameters were tested to determine if they should be included in regression models. Covariates associated at a  $p$  value  $\leq 0.10$  were included in multiple regression models to assess their confounding influence. The potential confounding effect of the menopausal status of participating women was first verified in order to determine if separate regression models were necessary for men and women. As the menopausal status of women was not confounding the associations, the significance of the interaction terms between gender and all contaminants in relation to TH concentrations was then tested in full models. Because all interaction terms were not significant, effects of PHCs on the TH homeostasis of men and women were examined jointly. The other covariates considered in multiple models were expressed as continuous variables or as mentioned in Table 1. They included age, body mass index, total serum lipids, selenium concentrations, cigarette and alcohol consumption during the year preceding the survey, fish and marine mammal consumption on a yearly basis, education and use of medication. Some participants declared taking

medication known to alter thyroid function tests which include: estrogen formulations, heparin, beta-blockers, furosemide, nonsteroidal agents, glucocorticoids, anticonvulsants, dopaminergics and carboxamides. Therefore, a dichotomous variable was created in order to account for the consumption or not of those medications in the 6 months preceding the survey. Covariates modifying the regression coefficient of the contaminants by more than 10% with any of the TH were included in adjusted models for all TH parameters. However, considering that data concerning alcohol and seafood consumption were missing for 42 and 92 participants respectively, and that their confounding effects were observed for a small proportion of associations, only significant changes in the association are mentioned in Tables 3 to 5. Multicollinearity was evaluated for all multiple regression models. Also, a contaminant in each family of PHCs (PCB 153, pentachlorophenol, PBDE 47 and PFOS) was selected and introduced altogether in multiple models to assess their influence on the associations with the contaminants under study.

Sample weights were used to account for the complex sampling method and to obtain appropriate standard errors and *p*-values. A bilateral *p*-value < 0.05 was considered statistically significant. Database management was performed with SAS (version 9.1; SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) whereas statistical analyses were conducted with SAS and SUDAAN software (version 9.0.1, Research Triangle Institute, Research Triangle Park, NC).

## Results

Sociodemographic, personal and clinical characteristics of participants are presented in Table 1. Most participants were female (61%), overweight (60%) and smokers (78%). Only 1% and 4% of participants declared having not consumed any fish and marine mammals respectively in the year preceding this study. Most participants had TH concentrations in the laboratory test euthyroid range. Four percent (n = 27) had TSH concentrations below the reference range, whereas less than 1% (n = 4) had levels above. Three percent of participants had fT<sub>4</sub> concentrations below (n = 20) the euthyroid range and less than 1% above (n = 2). Regarding tT<sub>3</sub>, less than 1% of participants had concentrations outside the laboratory test euthyroid reference range.

Tableau 5.1.Characteristics of adult Inuit of Nunavik.

Characteristics	N	Mean $\pm$ SD	Range
Gender (%)			
Male	245	39.3	
Female	378	60.7	
Menopause (% among females)			
Yes	52	87.5	
No	363	12.5	
Age (years)	623	36.8 $\pm$ 13.9	18 - 73
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	623	27.4 $\pm$ 5.7	17.2 - 48
Selenium ( $\mu$ mol/L)	622	4.4 $\pm$ 3.0	1.5 - 30.0
Number of cigarettes/day (%)			
0	136	21.8	
1-10	187	30.0	
11-24	226	36.3	
$\geq$ 25	74	11.9	
Frequency of alcohol consumption (%)			
Never or yearly	287	49.4	
Monthly	148	25.8	
Weekly	101	17.4	
Daily	45	7.8	
Fish consumption ( $\mu$ g/day)	563	54.7 $\pm$ 75.1	0 - 665.6
Marine mammal consumption ( $\mu$ g/day)	561	27.1 $\pm$ 44.4	0 - 398.7
Education (%)			
None	46	7.4	
Elementary school	99	15.9	
High school	394	63.2	
University	84	13.5	
TSH ( $\mu$ IU/L)	623	1.18 $\pm$ 0.79	0.06 - 6.45
fT <sub>4</sub> (pmol/L)	621	15.5 $\pm$ 2.1	9.3 - 22.9
tT <sub>3</sub> (nmol/L)	621	2.14 $\pm$ 0.33	1.21 - 3.39
TBG ( $\mu$ g/ml)	622	24.0 $\pm$ 6.0	8.0 - 62.8
Medication use in the last 6 months (%)			
Yes	106	17.0	
No	517	83.0	

Consumption of fish and marine mammals are expressed in g/day on an annual basis.  
 Laboratory euthyroid reference range: TSH: 0.27 – 4.20 ( $\mu$ IU/L), fT<sub>4</sub>: 12 – 22 (pmol/L),  
 tT<sub>3</sub>: 1.3 – 3.1 (nmol/L), TBG: 13 – 30 ( $\mu$ g/ml).

Plasma concentrations of PHCs measured in adult Inuit are described in Table 2. On a wet weight basis (data not shown), plasma concentrations of PFOS were the highest among all PHCs, followed by *p,p'*-dichlorodiphenyl dichloroethylene (*p,p'*-DDE) and PCB 153. HO-PCB 107 and 3-MeSO<sub>2</sub>-PCB-49 were the most prevalent HO-PCBs and MeSO<sub>2</sub>-PCB metabolites, respectively. Concentrations of all PCB congeners were highly intercorrelated ( $r = 0.71-0.98$ ,  $p < 0.001$ ), and were strongly correlated with their metabolites ( $\Sigma$ PCBs -  $\Sigma$ HO-PCBs,  $r = 0.94$ ;  $\Sigma$ PCBs -  $\Sigma$ MeSO<sub>2</sub>-PCBs,  $r = 0.90$ ,  $p < 0.001$ ).  $\Sigma$ PCB was less strongly correlated with DLC activity ( $r = 0.69$ ,  $p < 0.001$ ) and *p,p'*-dichlorodiphenyl trichloroethane (*p,p'*-DDT) ( $r = 0.70$ ,  $p < 0.001$ ), but still highly correlated with other concentrations of OCs (*p,p'*-DDE,  $r = 0.90$ ; HCB,  $r = 0.85$ ; beta-hexachlorocyclohexane ( $\beta$ -HCH),  $r = 0.85$ ,  $p < 0.001$ ). The intercorrelation between HO-PCB metabolites was high ( $r$  varying from 0.72 to 0.96,  $p < 0.001$ ), as was that between MeSO<sub>2</sub>-PCBs metabolites ( $r$  varying from 0.96 to 0.97,  $p < 0.001$ ). Pentachlorophenol was not correlated with any contaminant. PBDE 47 plasma concentrations were moderately correlated with PBDE 153 ( $r = 0.36$ ,  $p < 0.001$ ), but were not correlated with other contaminants. Plasma concentrations of PFOS were moderately correlated with PCBs congeners and their metabolites ( $r = 0.47 - 0.55$ ,  $p < 0.001$ ), the other OCs ( $r = 0.36 - 0.51$ ,  $p < 0.001$ ) and BDE-153 ( $r = 0.22$ ,  $p < 0.001$ ), but not correlated with PBDE 47.

Tableau 5.2. Plasma concentrations of polyhalogenated compounds in Inuit participants.

Analytes	N	Percent detected	Geometric mean	95% CI	Range
PCB congener <sup>a</sup>					
PCB 74	623	95.0	8.92	8.15 - 9.75	<LOD - 218.77
PCB 99	623	99.7	25.53	23.38 - 27.87	<LOD - 849.53
PCB 105	623	78.4	3.49	3.10 - 3.93	<LOD - 100.74
PCB 118	623	99.8	22.76	20.79 - 24.91	<LOD - 497.09
PCB 138	623	100	78.03	71.41 - 85.26	3.66 - 1,388.42
PCB 146	623	98.7	22.15	20.14 - 24.36	<LOD - 589.00
PCB 153	623	100	180.06	163.71 - 198.06	5.69 - 5,805.15
PCB 156	623	87.7	6.70	5.97 - 7.51	<LOD - 330.97
PCB 163	623	99.2	26.88	24.39 - 29.63	<LOD - 807.77
PCB 170	623	99.4	25.88	23.42 - 28.61	<LOD - 869.17
PCB 172	621	78.7	3.95	3.49 - 4.47	<LOD - 180.20
PCB 177	623	82.7	3.96	3.56 - 4.41	<LOD - 89.13
PCB 178	623	90.1	7.83	7.01 - 8.73	<LOD - 235.60
PCB 180	623	100	93.28	84.53 - 102.93	3.25 - 3,510.34
PCB 183	623	93.5	9.16	8.35 - 10.06	<LOD - 177.74
PCB 187	623	99.8	37.98	34.67 - 41.61	1.18 - 790.66
PCB 194	623	95.1	15.74	13.94 - 17.77	<LOD - 945.49
PCB 201	623	96.1	15.88	14.19 - 17.78	<LOD - 772.27
PCB 203	623	89.4	7.93	7.08 - 8.88	<LOD - 294.20
PCB 206	623	78.2	4.02	3.51 - 4.59	<LOD - 275.81
PCB grouping <sup>a</sup>					
Σ PCBs	621		635.98	579.33 - 698.18	31.47 - 14,260.92
Mono-ortho PCBs	623		45.24	41.34 - 49.51	1.80 - 866.67
Wolff's group 1	623		59.46	53.98 - 65.48	1.82 - 1,629.13
Wolff's group 2	623		153.85	140.73 - 168.18	6.77 - 2,652.75
Wolff's group 3	623		325.76	296.38 - 358.04	11.21 - 7,169.44
DLCs <sup>a,b</sup>	607	72.6	10.62	10.04 - 11.23	<LOD - 139.30
Hydroxylated Compounds <sup>c</sup>					
3-HO-PCB 138	562	89.0	30.38	27.17 - 33.98	<LOD - 980
3-HO-PCB 153	536	97.5	36.27	32.38 - 40.63	<LOD - 1,500
4-HO-PCB 107	566	99.5	173.21	158.67 - 189.08	<LOD - 3,200
4-HO-PCB 146	536	99.5	136.88	123.26 - 152.01	<LOD - 4,900
4-HO-PCB 163	567	94.0	11.20	10.20 - 12.29	<LOD - 590
4-HO-PCB 172	550	96.6	19.19	17.30 - 21.27	<LOD - 790
4-HO-PCB 187	567	99.8	157.69	143.67 - 173.07	<LOD - 4,300
4-HO-PCB 199	568	94.5	19.10	17.20 - 21.22	<LOD - 1,200
4-HO-PCB 202	566	87.9	8.42	7.66 - 9.26	<LOD - 340
4-HO-PCB 208	568	75.0	5.64	5.13 - 6.21	<LOD - 340
Σ HO-PCBs	536		642.02	584.52 - 705.18	39.44 - 14,610

Methylsulfone PCBs <sup>c</sup>					
3-MeSO <sub>2</sub> -PCB 49	573	93.4	26.39	23.77 – 29.30	<LOD - 910
3-MeSO <sub>2</sub> -PCB 87	573	76.5	11.23	10.04 – 12.57	<LOD - 610
3-MeSO <sub>2</sub> -PCB 101	575	86.9	18.50	16.55 – 20.68	<LOD - 920
Σ MeSO <sub>2</sub> -PCBs	573		57.54	51.71 – 64.03	<LOD - 2,270
Organochlorines <sup>a</sup>					
<i>p,p'</i> -DDT	623	92.3	10.60	9.64 - 11.65	<LOD - 245.45
<i>p,p'</i> -DDE	623	100	477.78	441.70 - 516.81	12.85 - 8,306.48
Hexachlorobenzene	623	99.7	61.36	56.38 – 66.78	<LOD - 1245.97
Pentachlorophenol <sup>c</sup>	567	100	801.43	758.25 - 847.07	140 - 18,000
β-HCH	622	95.9	8.33	7.70 - 9.02	<LOD - 201.94
PBDEs <sup>a</sup>					
BDE-47	623	57.3	2.16	1.84 - 2.54	<LOD - 343.45
BDE-153	623	73.8	2.05	1.85 - 2.27	<LOD - 75.74
Perfluorinated compounds					
PFOS <sup>c</sup>	621	100	18,280	17,190 – 19,440	480 - 470,000

<sup>a</sup>Lipid standardized concentrations in µg/kg

<sup>b</sup>Concentrations in pg TEQ/g lipids, TEQ: Toxic equivalent quantity.

<sup>c</sup>Concentrations on a wet weight basis (µg/L).

95% CI: 95% confidence intervals, PCBs: polychlorinated biphenyls, DLCs: dioxin-like compounds, HO-PCBs: hydroxylated metabolites of PCBs, MeSO<sub>2</sub>-PCBs: methylsulphonyl metabolites of PCBs, *p,p'*-DDT: *p,p'*-dichlorodiphenyl trichloroethane, *p,p'*-DDE : *p,p'*-dichlorodiphenyl dichloroethylene, β-HCH: Beta-hexachlorocyclohexane, PBDEs: polybrominated diphenyls ethers, PFOS: perfluorooctanesulfonate  
 ΣPCBs, sum of the 20 PCB congeners detected in more than 70% of samples; Mono-ortho PCBs, sum of PCB 74, 105, 118, 156; Wolff's group 1, sum of PCB 177, 187, 201; Wolff's group 2, sum of PCB 74, 105, 118, 138, 156, 170; Wolff's group 3, sum of PCB 99, 153, 180, 183, 203; ΣHO-PCBs, sum of the 10 HO-PCB metabolites detected in more than 70% of samples; ΣMeSO<sub>2</sub>-PCBs, sum of the 3 MeSO<sub>2</sub>-PCB metabolites detected in more than 70% of samples.

Associations between contaminant plasma concentrations and TH concentrations are presented in Tables 3 to 5. Significant negative associations were observed between the more highly chlorinated PCB congeners (PCBs 180, 194, 203 and 206) and TSH in multiple linear regression models (Table 3). Consumption of fish, marine mammals and alcohol did not confound these associations. However, control for concentrations of pentachlorophenol, PFOS and PBDE 47 modified the significance of the association with



PCB congeners 180, 194, 201 and 203, but not with PCB 206 ( $\beta = -0.057$ ,  $p = 0.04$ ). No associations were found between concentrations of PCB congeners or their grouping and  $fT_4$  levels in adjusted models. Controlling for exposure to other families of contaminants revealed a significant negative association of mono-ortho PCB congeners with  $fT_4$  concentrations ( $\beta = -0.017$ ,  $p = 0.04$ ). Fourteen PCB congeners, all PCB grouping and DLCs were negatively associated with  $tT_3$  concentrations in multiple models. Further adjustment for fish consumption weakened associations with some PCB congeners (PCB 153, 156, 170, 187, 194 and 201) and grouping (Wolff's groups 1 and 3 and enzyme inducers). However, introduction of other contaminant in adjusted models re-established the significance of these associations. Significant negative associations between TBG concentrations and less chlorinated PCBs as well as the mono-ortho PCBs and group 2 of Wolff's method were observed in adjusted models. The significance of some association disappeared after controlling for fish and alcohol consumption (PCB 146, 163, 177 and Wolff's group 2). Adjustment for other families of contaminants did not modify these associations.

Tableau 5.3. Linear regression models of thyroid hormones and TBG plasma levels with PCB and DLC concentrations (N=623)

Analytes	N	TSH		fT <sub>4</sub>		T <sub>3</sub>		TBG	
		Unadjusted $\beta$	Adjusted $\beta$	Unadjusted $\beta$	Adjusted $\beta$	Unadjusted $\beta$	Adjusted $\beta$	Unadjusted $\beta$	Adjusted $\beta$
PCB congener									
PCB 74	623	0.052**	0.014	-0.019***	-0.004	-0.028***	-0.020*	-0.001	-0.036***
PCB 99	623	0.054**	0.022	-0.015**	0.003	-0.025***	-0.012	-0.004	-0.034**
PCB 105	623	0.039**	0.017	-0.015***	-0.004	-0.021***	-0.018**	-0.001	-0.030***
PCB 118	623	0.058**	0.027	-0.021***	-0.009	-0.030***	-0.028**	-0.005	-0.051***
PCB 138	623	0.046*	0.000	-0.016***	0.000	-0.027***	-0.015	-0.001	-0.028*
PCB 146	623	0.035*	-0.023	-0.016***	-0.004	-0.028***	-0.020**	-0.000	-0.026* <sup>a</sup>
PCB 153	623	0.033	-0.024	-0.014**	0.001	-0.027***	-0.017* <sup>a</sup>	0.001	-0.021
PCB 156	623	0.021	-0.035	-0.012**	-0.003	-0.022***	-0.014* <sup>a</sup>	0.005	-0.003
PCB 163	623	0.039*	-0.009	-0.016***	-0.007	-0.028***	-0.023**	0.000	-0.024* <sup>a</sup>
PCB 170	623	0.026	-0.040	-0.014***	-0.004	-0.026***	-0.016* <sup>a</sup>	0.007	-0.000
PCB 172	623	0.025	-0.019	-0.010**	0.000	-0.022***	-0.014*	0.004	-0.005
PCB 177	623	0.036*	-0.006	-0.014**	-0.002	-0.024***	-0.015*	0.001	-0.018* <sup>c</sup>
PCB 178	623	0.021	-0.039	-0.014**	-0.007	-0.025***	-0.019**	0.003	-0.008
PCB 180	623	0.020	-0.059	-0.012**	0.001	-0.025***	-0.011	0.007	-0.000
PCB 183	623	0.031	-0.024*	-0.012**	0.006	-0.025***	-0.011	0.003	-0.017
PCB 187	623	0.040*	-0.013	-0.017***	-0.006	-0.029***	-0.018* <sup>a</sup>	0.001	-0.023
PCB 194	623	0.008	-0.069**	-0.011**	-0.003	-0.021***	-0.012* <sup>b</sup>	0.007	0.005
PCB 201	623	0.016	-0.051*	-0.012**	-0.003	-0.024***	-0.016* <sup>a</sup>	0.006	-0.003
PCB 203	623	0.008	-0.069**	-0.010**	0.003	-0.021***	-0.008	0.006	-0.000
PCB 206	623	0.001	-0.075**	-0.009**	0.004	-0.017***	-0.003	0.011	0.013
PCB grouping									
$\Sigma$ PCBs	623	0.029	-0.040	-0.015***	-0.003	-0.029***	-0.020*	0.003	-0.017
Mono-ortho PCBs	623	0.051**	0.009	-0.021***	-0.012	-0.031***	-0.028***	0.001	-0.037**
Wolff's group 1	623	0.031	-0.030	-0.016***	-0.007	-0.027***	-0.019* <sup>a</sup>	0.004	-0.014
Wolff's group 2	623	0.045*	-0.008	-0.018***	-0.006	-0.029***	-0.021*	0.002	-0.026* <sup>a</sup>
Wolff's group 3	623	0.029	-0.039	-0.014***	-0.001	-0.027***	-0.017* <sup>a</sup>	0.004	-0.015
DLCs	607	0.092***	0.019	-0.017*	0.007	-0.043***	-0.027*	-0.002	-0.027

All models adjusted for gender, age, body mass index (BMI), serum lipids, cigarette consumption (cigarettes/day) and education.

PCBs: polybrominated biphenyls, DLCs:dioxin-like compounds.  
ΣPCBs, sum of the 20 PCB congeners detected in more than 70% of samples; Mono-ortho PCBs, sum of PCB 74, 105, 118, 156, 170; Wolff's group 1, sum of PCB 177, 187, 201; Wolff's group 2, sum of PCB 74, 105, 118, 138, 156, 170; Wolff's group 3, sum of PCB 99, 153, 180, 183, 203;

Associations remain significant unless noted.

<sup>a</sup> Borderline significant after adjusting for fish consumption (0.05<p<0.07)

<sup>b</sup> Not significant after adjusting for fish consumption

<sup>c</sup> Not significant after adjusting for alcohol consumption

\*P≤0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001

Hydroxylated and methylsulfonyl metabolites of PCBs were not significantly associated with TSH and  $fT_4$  concentrations in multiple models, except for HO-PCB 199 and 208 that were negatively related to TSH (Table 4). Adjustment for other potential confounders did not alter these associations, but control for the exposure to other families of contaminants revealed significant negative associations of all MeSO<sub>2</sub>-PCBs metabolites and its sum with  $fT_4$  levels ( $\beta$  varying from 0.11-0.12,  $p$  varying from 0.038–0.048). Seven HO-PCBs, the  $\Sigma$ HO-PCBs, 3 MeSO<sub>2</sub>-PCBs and the  $\Sigma$ MeSO<sub>2</sub>-PCBs were all significantly associated with a decrease in  $tT_3$  concentrations. Adjustment for fish consumption only weakened the association with HO-PCB 146. However, 3 out of 7 significant associations with HO-PCBs and the one with 3-MeSO<sub>2</sub>-PCB 101 disappeared after controlling for other families of contaminants. Significant negative associations were also found between TBG and 5 HO-PCBs and the  $\Sigma$ HO-PCBs, but not with MeSO<sub>2</sub>-PCBs metabolites. Only the associations for HO-PCB 107 remained significant after controlling for fish consumption and concentrations of contaminants pertaining to other families.

Tableau 5.4. Linear regression models of thyroid hormones and TBG plasma levels with HO-PCB and MeSO<sub>2</sub>-PCB concentrations (N=623)

Analytes	N	TSH		fT <sub>4</sub>		T <sub>3</sub>		TBG	
		Unadjusted β	Adjusted β	Unadjusted β	Adjusted β	Unadjusted β	Adjusted β	Unadjusted β	Adjusted β
<b>Hydroxylated Compounds</b>									
3-HO-PCB 138	562	0.033*	-0.009	-0.014**	-0.003	-0.031***	-0.027***	-0.002	-0.021* <sup>b</sup>
3-HO-PCB 153	562	0.029	-0.017	-0.009	0.008	-0.028***	-0.023**	-0.001	-0.027* <sup>a</sup>
4-HO-PCB 107	562	0.020	-0.020	-0.011*	0.009	-0.029***	-0.013	-0.016	-0.052***
4-HO-PCB 146	562	0.025	-0.025	-0.014**	-0.003	-0.028***	-0.018* <sup>a</sup>	0.000	-0.023* <sup>a</sup>
4-HO-PCB 163	562	0.023	-0.052	-0.015**	-0.002	-0.032***	-0.020*	-0.004	-0.023
4-HO-PCB 172	562	0.027	-0.028	-0.012*	0.002	-0.031***	-0.024**	-0.001	-0.021
4-HO-PCB 187	562	0.023	-0.052	-0.014*	-0.000	-0.033***	-0.022*	-0.006	-0.029* <sup>a</sup>
4-HO-PCB 199	562	0.008	-0.084**	-0.010*	0.003	-0.027***	-0.014	0.001	-0.008
4-HO-PCB 202	562	0.019	-0.056	-0.013*	-0.001	-0.033***	-0.023**	-0.001	-0.016
4-HO-PCB 208	562	0.006	-0.084*	-0.011*	0.002	-0.027***	-0.011	0.003	-0.007
ΣHO-PCBs	562	0.035	-0.025	-0.015*	0.000	-0.033***	-0.025*	-0.002	-0.034**
<b>Methylsulfone PCBs</b>									
3-MeSO <sub>2</sub> -PCB 49	573	0.040*	-0.007	-0.018***	-0.008	-0.028***	-0.019**	0.003	-0.011
3-MeSO <sub>2</sub> -PCB 87	573	0.040*	0.002	-0.018***	-0.010	-0.026***	-0.017**	0.003	-0.011
3-MeSO <sub>2</sub> -PCB 101	573	0.037*	-0.009	-0.017***	-0.008	-0.026***	-0.016*	0.006	-0.004
ΣMeSO <sub>2</sub> -PCBs	573	0.041*	-0.006	-0.018***	-0.009	-0.028***	-0.018**	0.005	-0.008

All models adjusted for gender, age, BMI, serum lipids, cigarette consumption (cigarettes/day) and education.

HO-PCBs: hydroxylated metabolites of PCBs, MeSO<sub>2</sub>-PCBs: methylsulphonyl metabolites of PCBs.

ΣHO-PCBs, sum of the 10 HO-PCB metabolites detected in more than 70% of samples; ΣMeSO<sub>2</sub>-PCBs, sum of the 3 MeSO<sub>2</sub>-PCB metabolites detected in more than 70% of samples.

Associations remain significant unless noted.

<sup>a</sup> Borderline significant after adjusting for fish consumption (0.05<p<0.07)

<sup>b</sup> Not significant after adjusting for fish consumption

\*P≤0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001

Plasma concentrations of OCs were not significantly associated with TSH levels (Table 5). Also, among OCs, only HCB concentrations were negatively associated with  $fT_4$  circulating levels, while this compound and  $\beta$ -HCH were negatively related to  $tT_3$  concentrations. TBG concentrations were negatively associated with all OCs, except for pentachlorophenol in multiple models. Further adjustments for alcohol consumption and other families of contaminants had no impact on the relationship between OCs and TH parameters, except for TBG where only the association with HCB and  $\beta$ -HCH remained significant. Pentachlorophenol plasma concentrations were not associated with any of the TH parameters. Among PBDEs, only PBDE 47 was positively associated with  $tT_3$  concentrations in multiple models. This association weakened after controlling for fish consumption, but became significant again after adjusting for other families of contaminants ( $\beta = 0.009$ ,  $p = 0.005$ ). A significant negative association was observed for PFOS concentrations with TSH,  $tT_3$  and TBG circulating levels, whereas a positive association was found with  $fT_4$  levels. Adjustment for other potential confounders and families of contaminants had no effect on the significance of these associations.

Tableau 5.5. Linear regression models of thyroid hormones and TBG plasma levels with organochlorine, PBDE and PFOS concentrations (N=623)

Analytes	N	TSH		fT <sub>4</sub>		T <sub>3</sub>		TBG	
		Unadjusted $\beta$	Adjusted $\beta$	Unadjusted $\beta$	Adjusted $\beta$	Unadjusted $\beta$	Adjusted $\beta$	Unadjusted $\beta$	Adjusted $\beta$
Organochlorines									
<i>p,p'</i> -DDT	623	0.027	-0.018	-0.012***	0.003	-0.019***	-0.010	-0.001	-0.019** <sup>b</sup>
<i>p,p'</i> -DDE	623	0.051*	0.012	-0.021***	-0.007	-0.030***	-0.016	-0.001	-0.030** <sup>c</sup>
Hexachlorobenzene	623	0.048*	0.010	-0.026***	-0.017**	-0.033***	-0.030***	-0.006	-0.054***
Pentachlorophenol	623	0.008	-0.001	0.022**	0.014	-0.008	-0.009	-0.037*	-0.021
$\beta$ -HCH	623	0.081***	0.047	-0.022***	-0.008	-0.032***	-0.028**	-0.007	-0.051***
PBDEs									
BDE-47	623	0.000	-0.002	0.002	0.001	0.010***	0.008** <sup>a</sup>	0.002	0.003
BDE-153	623	0.017	-0.009	0.007	0.009	-0.001	0.005	-0.002	0.005
Perfluorinated compounds									
PFOS	621	-0.017	-0.102*	0.004	0.014*	-0.030***	-0.017*	-0.026*	-0.034**

All models adjusted for gender, age, BMI, serum lipids, cigarette consumption (cigarettes/day) and education.

*p,p'*-DDT: *p,p'*-dichlorodiphenyl trichloroethane, *p,p'*-DDE : *p,p'*-dichlorodiphenyl dichloroethylene,  $\beta$ -HCH: Beta-hexachlorocyclohexane, PBDEs: polybrominated diphenyls ethers, PFOS: perfluorooctanesulfonate

Associations remain significant unless noted.

<sup>a</sup> Borderline significant after adjusting for fish consumption (0.05<p<0.07)

<sup>b</sup> No more significant after adjusting for alcohol consumption

<sup>c</sup> Borderline significant after adjusting for alcohol consumption (0.05<p<0.07)

\*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001

## Discussion

Findings from this study revealed perturbations of thyroid function in adult Inuit by PHCs. This is also the first study to investigate the effect of PFOS on TH homeostasis in environmentally exposed populations. We observed significant negative associations of PFOS concentrations with TSH,  $tT_3$  and TBG levels, while a positive association was found with  $fT_4$  concentrations. Furthermore, although exposure to PBDE 47 in the adult Inuit is lower compared to other North American populations, we found a positive association of  $tT_3$  with increasing concentrations. Finally, we found negative associations between exposure to several OCs and  $tT_3$  as well as TBG concentrations.

Thyroid function in adult Inuit was mostly affected by exposure to PFOS. Indeed, we found a negative association of PFOS concentrations with circulating TSH,  $tT_3$  and TBG levels and a positive relationship with  $fT_4$ . Toxicological studies dedicated to investigating the thyroid-disrupting properties of PFOS are rare and focus mainly on maternal and foetal thyroid functions (Lau et al. 2003; Thibodeaux et al. 2003). In adult rats, PFOS was shown to compete with  $fT_4$  for transport proteins, leading to a transient increase in  $fT_4$  and decrease in TSH concentrations. However, a non-transient reduction in  $tT_4$  and  $tT_3$ , with the latter being less affected was also found (Chang et al. 2008). These results in laboratory animals are consistent with perturbations observed on the TH homeostasis in Inuit, except that effects observed on the circulating concentrations of  $fT_4$  and TSH do not seem to be transient in our study.



Although exposure to PBDEs in Inuit men and women is lower than levels reported in other North-American populations, we found a positive association of  $tT_3$  with PBDE 47, but no association with PBDE 153. These results differ from those observed in men from other fish-eating communities. Exposure to PBDEs (47, 99, 100 and 153) was positively related to total, free and urinary  $T_4$  as well as with reverted- $T_3$  levels and negatively related to  $tT_3$  and TSH in Great Lake fish consumers (Turyk et al. 2008). In addition,  $fT_4$  and TSH were not associated with PBDEs in New York sport fish consumers (Bloom et al. 2008), whereas a negative association with TSH, but not  $fT_4$  was reported in anglers from the Baltic Sea (Hagmar et al. 2001a). No other epidemiological studies have assessed the potential effect of PBDEs on women's thyroid function. So far, associations observed in human studies are not consistent with effects observed in animal models. Exposure to PBDE commercial mixtures was systematically associated with decreased  $T_4$  concentrations, subtle variations of  $T_3$  and unchanged TSH concentrations in rodents (Hallgren et al. 2001; Zhou et al. 2001). Induction of hepatic CYP 1A1, CYP 2B and UDP-GT enzymes by parent PBDEs and competitive binding of hydroxylated metabolites of PBDEs with  $T_4$  for transthyretin (Meerts et al. 2000) are probably the main mechanisms involved.

Associations of exposure to PCB congeners and their metabolites as well as with others OCs and DLCs values with thyroid function were mostly similar. This is not surprising since the Inuit population is exposed to a complex mixture of OCs, with concentrations of compounds being highly intercorrelated. Consequently, it is almost impossible to isolate specific effects of individual contaminant on the thyroid system in the context of epidemiological studies in this population. TSH concentrations were found to be only

lowered by exposure to the most chlorinated PCB congeners and hydroxylated metabolites and for which significant associations disappeared when accounting for the exposure to other PHCs. Similarly,  $fT_4$  was only related to HCB, whereas it was only significantly related to the sum of mono-ortho PCB and the  $MeSO_2$ -PCB congeners after further adjustment for multiple exposures. In contrast,  $tT_3$  concentrations were negatively associated with almost all PCB congeners and their metabolites as well as with DLC values and other OCs considered. Circulating levels of TBG, the predominant TH carrier protein in humans, was negatively associated with the less chlorinated PCBs, all HO-PCBs and almost all other OCs. Although, some associations disappeared after controlling for exposure to other families of contaminants, most of them remained significant. Exposure to pentachlorophenol was not related to TH homeostasis and circulating levels of TBG. Assessment of the isolated effect of this OC was possible since concentrations of this compound were not intercorrelated with the concentrations of the PCB congeners, their metabolites and the other OCs.

Most epidemiological studies examining the relationships between PCBs and thyroid function in adults reported no association with TSH and  $fT_4$  (Hagmar et al. 2001a; Hagmar et al. 2001b; Meeker et al. 2006; Rylander et al. 2006; Sala et al. 2001). Associations with  $tT_4$  and/or  $tT_3$  were reported to be negative in half of the studies, whereas the remaining studies found no relationships with one or the other hormone (Abdelouahab et al. 2008). Interestingly, associations of PCBs with total  $T_3$  and  $T_4$  were never positive. Therefore, results from the present study are in accordance with most previous findings in human adults. The independent effect of PCB exposure to  $tT_3$  circulating levels was previously

reported in American men from the general population of Boston (Meeker et al. 2006), in obese men that underwent a weight-loss program (Pelletier et al. 2002) and in fishermen's wives consuming large amounts of PCB-contaminated fish from the Baltic Sea (Hagmar et al. 2001b). Although the thyroid function of pregnant women and children may not be comparable as they may be more vulnerable to thyroid dysfunction, isolated effects on  $T_3$  concentrations were also observed in pregnant Canadian women (Takser et al. 2005), as well as in children from Germany and Spain (Alvarez-Pedrerol et al. 2008b; Osius et al. 1999).

We previously reported negative associations between PCB 153, selected as a marker of exposure to all PCBs, and TBG concentrations in neonates from Nunavik (Inuit) and the Lower North Shore of the St. Lawrence River (Dallaire et al. 2008; Dallaire et al. submitted). Comparison of our results on the effect of PCB on TBG concentrations is not possible, as TBG quantification was not performed in other epidemiological studies among adults.

Toxicological studies with animal models have demonstrated differential mechanisms by which PCBs and OCs induce perturbations of the thyroid system, mainly by reducing  $fT_4$  concentrations. DLCs, including some PCB congeners, bind to the AhR, and activate the hepatic UDP-GT enzymes responsible for  $T_4$  glucuronidation, resulting in  $T_4$  excretion in bile flow. Non DL-PCBs do not cause AhR-dependent effects, but induce microsomal enzymes CYP 2B and 3A that may also reduce circulating  $T_4$  levels (Khan et al. 2002). However, these mechanisms do not explain the selective effect of most PCBs and OCs on

tT<sub>3</sub> concentrations observed in this study and others. One possible explanation could be that those compounds primarily affect TBG concentrations which consequently reduce the thyroid hormone-binding capacity of serum. Because serum TH are mainly bound to carrier proteins TBG being the main one (75% T<sub>4</sub> and 70% T<sub>3</sub>) (Schussler 2000), such alterations can reduce total TH concentrations as observed with tT<sub>3</sub> in this study. Interestingly, individuals with inherited or acquired TBG excess have elevated total TH concentrations, while those with TBG deficiency have decreased concentrations (Bartalena and Robbins 1992). Moreover, individuals with abnormal TBG concentrations are euthyroid, with normal TSH and fT<sub>4</sub> levels. This potential mechanism can explain why most epidemiological studies among adults have found an absence of association with TSH and fT<sub>4</sub> with a decline in tT<sub>4</sub> and/or tT<sub>3</sub>. Quantification of tT<sub>4</sub> concentrations in this study would have helped clarify this hypothesis. Also, reasons explaining the negative associations between several PHCs and TBG concentrations as observed in two previous studies (Dallaire et al. 2008; Dallaire et al. submitted) and this one are unclear, but suggest a decrease of TBG synthesis by the liver or an increased catabolism. Unfortunately, such mechanisms cannot be corroborated by toxicological data, as studies have focused on the competitive binding assessment of contaminants with T<sub>4</sub>, without paying attention to their possible ability to modify transport protein synthesis. Another potential mechanism explaining a decrease in tT<sub>3</sub> concentrations is a reduction in the activity of type 1 deiodinase, which is the major source of circulating T<sub>3</sub>. Indeed, the total activity of type 1 deiodinase in different tissues was decreased following exposure to Aroclor 1254 in rats (Hood and Klaassen 2000) and chick embryos (Gould et al. 1999).

In this study, HCB was consistently associated (with and without adjusting for multiple exposures) with reduced  $fT_4$  concentrations. Exposure to HCB was also related with a concomitant decline in  $tT_3$  and TBG, without association with TSH concentrations. HCB-treated rats usually showed a decline in  $fT_4$  and  $tT_4$  levels with no change in  $tT_3$  and inconsistent effects on TSH concentrations (Alvarez et al. 2005; van Raaij et al. 1993a). Activation of hepatic UDP-GT enzymes by HCB, followed by  $T_4$ -glucuronidation and subsequent biliary excretion is the main mechanism explaining hypothyroidism state in rats. In humans, considering our findings, this contaminant may induce a reduction in TBG concentrations which decreases the  $T_3$  and potentially  $T_4$  binding capacity of serum, while reduction of  $fT_4$  may be related to UDP-GT enzymes induction in the liver.

Phenolic compounds, such as HO-PCBs and pentachlorophenol were not associated with a significant reduction in  $fT_4$  concentrations. Only one study has investigated the effect of HO-PCBs on thyroid homeostasis of fishermen consuming fish from the Baltic Sea and no association was found (Hagmar et al. 2001a). Those compounds have been shown to be potent in competitively inhibiting  $T_4$  binding to transthyretin (van den Berg 1990), one of the TH carrier proteins, leading to increased  $T_4$  metabolism. However, as transthyretin contributes to only one fifth of bound  $T_4$ , this mechanism is less likely to have an impact on  $fT_4$  concentrations in adults compared to foetuses and neonates for which transthyretin are involved in  $T_4$  placental transfer (McKinnon et al. 2005) and through the blood-brain barrier (Schreiber et al. 1995).

Results from this study demonstrate that polyhalogenated compounds differently alter the circulating levels of THs in human. It is therefore extremely difficult to predict the total effect of exposure to a complex mixture of thyroid-disrupting chemicals on the thyroid status. Assessments of effects of exposure to mixtures on the thyroid systems in animal models are scarce. In neonatal rats, TEQ values were good predictors of additive effects of a mixture of dioxin-like compounds on circulating T4 concentrations (Desaulniers et al. 2003). However, additivity underestimated the effect of a mixture of 16 organochlorines, lead and cadmium on different thyroid end-points in male rats (Wade et al. 2002). Relationship between tT4 and exposure to a mixture of dioxins, furans and PCBs in rats were shown to be additive at the lowest doses, but synergism was observed at higher levels (Crofton et al. 2005). From our results and others, there is increasing evidence that other organic compounds such as PBDEs and PFCs are also thyroid-disrupting and should be included in future studies aiming to assess the potential effects of complex mixture on the thyroid system.

This study has several strengths that are worth mentioning. First, we used a sample-based sampling design and recruited a large number of participants. Confounding effects were considered for an important number of covariates, including medication use and concomitant exposure to other PHCs. However, we were unable to evaluate the individual effect of OCs on TH status by controlling for other OCs because of the high intercorrelations between these compounds. Also, this study is the first to evaluate the potential effect of PHCs on TBG concentrations in non-pregnant adults. Results from this study indicate that circulating levels of TBG seem to be modified by exposure to PHCs.

Because measurements of free concentrations of  $T_4$  and  $T_3$  by commercial immunoassays are affected by TBG concentrations, the current use of these methods as done in this study and most previous ones should be avoided.

In summary, we observed a significant reduction of  $tT_3$  with exposure to several PCBs and their metabolites as well as with some OCs. It is unclear if these associations are related to the direct action of contaminants on  $T_3$  synthesis or metabolism, or indirectly through the decrease of TBG concentrations. Nevertheless, a large number of PHCs seem to modify circulating levels of TBG, the main TH transport protein. In addition, findings from this study showed that exposure to PBDE 47 and PFOS, at levels observed in several populations worldwide, seem to interfere with thyroid function. In accordance with toxicological data, we found significant negative associations of PFOS concentrations with TSH,  $tT_3$  and TBG levels, while a positive association was found with  $fT_4$  concentrations. However, other epidemiological, animal and in vitro studies are needed to corroborate these results. As most Inuit participants had a thyroid status within the euthyroid range, it is not clear if the observed effects could be associated with increasing disease burden in adults.

## **Acknowledgments**

We are grateful to the Nunavik population for their participation in this research. We thank the Bureau de la Statistique du Québec for developing the statistical design. This study was made possible by the Québec Health and Social Services Ministry, the Nunavik Regional Board of Health and Social Services, Indian and Northern Affairs Canada (Northern Contaminants Program), the Network of Centres of Excellence of Canada (ArcticNet), the Canadian Foundation for Innovation (CFI) and the Fonds de Recherche en Santé du Québec.



## **Chapitre 6 - Conclusion**

Les principaux objectifs de cette thèse consistaient à examiner les associations entre l'exposition aux composés halogénés et les statuts thyroïdiens de la femme enceinte, du nouveau-né et de l'adulte chez la population inuite du Nunavik ainsi que de la Côte-Nord. Nous avons également quantifié, pour la première fois, les concentrations plasmatiques des contaminants en émergence chez la population adulte du Nunavik et déterminé les principaux facteurs sociodémographiques et alimentaires associés à ces expositions.

### **Exposition prénatale aux organochlorés et fonction thyroïdienne néonatale**

Dans un premier temps, nous avons investigué les effets potentiels d'une exposition *in utero* aux BPCs et au HCB sur l'homéostasie des hormones thyroïdiennes chez deux groupes de nouveau-nés provenant du Nunavik et de la Côte-Nord. Par la suite, nous avons vérifié à nouveau ces associations dans une seconde cohorte de nouveau-nés inuits du Nunavik. Globalement, les résultats découlant de ces deux études ne supportent pas l'hypothèse d'une dysfonction du système thyroïdien induite par les organochlorés lors du développement foetal et néonatal. Par ailleurs, les associations observées dans les deux études divergeaient légèrement. En effet, nous avons observé une augmentation de la T<sub>4</sub> libre en fonction de l'exposition au HCB dans les deux populations de nouveau-nés participant à la première étude, alors qu'une telle association n'a pas été observée dans la deuxième étude. Certains facteurs pourraient expliquer ces résultats divergents. Premièrement, les stratégies d'analyses utilisées dans l'élaboration des modèles de régressions linéaires multiples n'étaient pas identiques pour ces deux études. Dans la

première étude, les paramètres thyroïdiens ont été ajustés pour différents facteurs confondants dont les tailles d'échantillons n'étaient pas les mêmes, ce qui rendait impossible la comparaison des différents modèles entre-eux. Une analyse des données à posteriori en ajustant pour l'ensemble des facteurs confondants, tel que réalisée pour la deuxième étude, n'a eu aucun effet sur les associations rapportées découlant de la première stratégie d'analyse. Par contre, dans cette étude, il est important de noter qu'ils existent certaines différences entre les nouveau-nés inclus et exclus pour des raisons de données manquantes, et ce tant dans chez les nouveau-nés du Nunavik que de la Basse-Côte-Nord. En effet, les nouveau-nés Inuits exclus avaient en moyenne des concentrations de TSH légèrement supérieures (moyenne TSH = 1.74 mIU/L) à ceux inclus (moyenne TSH = 1.65 mIU/L) dans les analyses statistiques. Pour ce qui est des nouveau-nés exclus de la Basse-Côte-Nord, les concentrations plasmatiques de HCB étaient légèrement inférieures (moyenne HCB = 0.042 ug/L) à celles des nouveau-nés inclus (moyenne HCB = 0.049 ug/L). Ces différences entre les nouveau-nés inclus et exclus dans ces deux populations pourraient être à l'origine de biais de sélection potentiels.

En ce qui concerne la comparaison entre les deux études (Chapitres 2 et 3), l'exposition aux organochlorés était plus faible dans l'étude de cohorte mère-enfant que lors de la mise en place de la première cohorte de nouveau-nés inuits. En effet, Dallaire et collaborateurs ont rapporté une diminution des concentrations plasmatiques des BPCs et du HCB d'environ 8 % par année dans le sang au cordon des nouveau-nés inuits entre 1994 et 2000 (Dallaire et al. 2003). Cette diminution de l'exposition chez cette population est non seulement attribuable à l'élimination progressive de ces contaminants dans l'environnement, mais

également à un apport nutritionnel plus faible en aliments traditionnels (Blanchet and Rochette 2008). Ces changements alimentaires pourraient avoir eu pour conséquence de réduire l'effet confondant de l'iode entre la première et la deuxième étude, puisque la consommation de produits marins est à la fois une source importante d'iode mais également de contaminants persistants. La confusion engendrée par le statut en iode induirait des associations positives entre les concentrations en organochlorés et les hormones thyroïdiennes, alors qu'elles seraient de nature négative avec la TSH. Ces associations vont dans la direction opposée de celles attendues selon notre hypothèse et ont donc pour conséquence de réduire nos associations, si notre hypothèse de départ est exacte. Également, dans la première étude, il a été impossible d'ajuster pour l'effet potentiellement confondant de la consommation maternelle d'alcool au cours de la grossesse, puisque cette information n'avait pas été collectée. Bien que les effets de l'exposition prénatale à l'alcool sur la fonction thyroïdienne fœtale ne soient pas clairs, certaines études suggèrent que les symptômes associés au syndrome d'alcoolisme fœtal puissent être liés à l'effet de l'alcool sur l'axe hypothalamo-hypophysio-thyroïdien (Zhang et al. 2005). Chez l'adulte, la consommation excessive d'alcool induit une baisse des niveaux d'hormones thyroïdiennes, sans effet sur la TSH (Hermann et al. 2002).

Dans la deuxième étude, nous avons également examiné les effets de l'exposition *in utero* aux HO-BPCs et au pentachlorophénol, puisque des études *in vitro* et avec des modèles animaux ont observé une forte affinité de ces composés pour la transthyrétine (van den Berg 1990; van Raaij et al. 1994; van Raaij et al. 1993a). Une association négative entre les concentrations plasmatiques maternelles de pentachlorophénol et la T<sub>4</sub> néonatale tel qu'elle

a été observée dans notre étude corrobore les mécanismes proposés par les études toxicologiques. En effet, certains composés phénoliques auraient la capacité d'interférer dans le transfert placentaire de la T<sub>4</sub> maternelle au fœtus. Toutefois, cette association a été observée à partir d'un très petit échantillon de nouveau-nés et pourrait donc être fallacieuse. D'autres études sont nécessaires afin de confirmer ce résultat. Aucun autre effet de l'exposition prénatale aux organochlorés n'a pu être observé sur la fonction thyroïdienne néonatale ainsi qu'au cours des premiers 7 mois de vie. Toutefois, il est important de mentionner que la puissance de cette étude était plus faible que celle de la première.

Tout comme les autres études publiées précédemment (Tableau 1.2), les résultats provenant de nos deux études réalisées auprès des nouveau-nés du Nunavik et de la Côte-Nord ne permettent pas d'apporter une preuve tangible des effets des contaminants organochlorés sur le système thyroïdien au cours du développement fœtal. En fait, il est plutôt difficile de faire ressortir une tendance générale des résultats provenant des différentes études. Cette situation peut être attribuable en partie à la non-comparabilité des études. En effet, il existe une importante variabilité dans l'ajustement pour les facteurs potentiellement confondants, les paramètres thyroïdiens quantifiés, dans le moment où les échantillons ont été prélevés ainsi que dans le choix de la matrice utilisée pour le dosage des contaminants et des hormones thyroïdiennes (Hagmar 2003; Maervoet et al. 2007). Puisque les concentrations des hormones thyroïdiennes fluctuent grandement durant les premiers jours de vie, il est fort probable que les différences dans l'âge de l'enfant au moment du prélèvement destiné au dosage des hormones thyroïdiennes puissent expliquer une partie de la variation dans les associations obtenues. Cette particularité du système thyroïdien a amené certains

chercheurs à mettre en doute la validité et la prédictibilité des résultats obtenus lorsque les concentrations des hormones thyroïdiennes étaient quantifiées à partir du sang au cordon ombilical. Ces critiques expliquent probablement l'augmentation au cours des deux dernières années de l'utilisation des données provenant des programmes de dépistage de l'hypothyroïdie congénitale. Nous avons obtenu les résultats du dosage de la TSH provenant du programme de dépistage de l'hypothyroïdie congénitale du Québec pour les nouveau-nés inuits participant à la deuxième étude de cohorte. Toutefois, ces résultats n'ont pu être utilisés dans le cadre de notre étude à cause du manque de sensibilité de la technique de laboratoire préconisée pour le dépistage de l'hypothyroïdie congénitale au Québec. Cette technique est donc adéquate dans le cadre du programme de dépistage, mais inutilisable dans un contexte de recherche. Cette situation semble particulière au Québec, puisque des équipes de chercheurs provenant d'autres pays ont utilisé les données découlant des programmes de dépistage de l'hypothyroïdie. Quoique cette mesure procure une meilleure prédictibilité à long terme de l'effet des contaminants sur la fonction thyroïdienne du nouveau-né, elle ne permet pas d'obtenir le dosage d'autres paramètres du système thyroïdien qui peuvent être essentiels à la compréhension des effets observés.

### **Exposition aux organochlorés et fonction thyroïdienne de la femme enceinte**

La glande thyroïde étant grandement sollicitée au cours de la grossesse, cette période pourrait être particulièrement vulnérable à une perturbation de la fonction thyroïdienne par les contaminants organiques halogénés. De ce fait, nous avons évalué les effets des contaminants organochlorés sur le système thyroïdien chez la femme enceinte en fin de

grossesse à partir de la cohorte mère-enfant inuite. Seule une association positive entre la  $T_3$  totale et la somme des HO-BPCs a été observée. Nous ne pouvons comparer ce résultat à ceux d'autres études, puisque aucune autre étude n'a investigué les effets possibles des composés phénoliques sur la fonction thyroïdienne maternelle. D'un point de vue mécanistique, des perturbations de l'activité des enzymes impliquées dans le métabolisme des hormones thyroïdiennes telles qu'elles avaient été observées dans les études toxicologiques pourraient expliquer cette association (Schuur et al. 1998). Malgré que plusieurs études épidémiologiques aient rapporté des associations négatives entre les BPCs et les formes liées de la  $T_4$  et de la  $T_3$  (Chevrier et al. 2008; Koopman-Esseboom et al. 1994; Nagayama et al. 2003; Takser et al. 2005), de telles associations n'ont pas été observées dans notre étude. Ces résultats négatifs pourraient être attribuables en partie à un manque de puissance statistique et/ou à la variation dans le moment où les hormones thyroïdiennes ont été quantifiées au cours de la grossesse, puisque les concentrations de ces dernières varient considérablement d'un trimestre à l'autre (Glinoe 1997). Une réduction des concentrations de la  $T_4$  libre en fonction de l'exposition aux BPCs a été rapportée dans une seule étude (Chevrier et al. 2008). Étonnamment, cette équipe est la seule à avoir quantifié la  $T_4$  libre par la méthode de dialyse à l'équilibre. Contrairement aux trousses d'immuno-essais couramment utilisés pour la quantification de la  $T_4$  et  $T_3$  libre, cette méthode demeure relativement stable en présence de variations dans les concentrations des protéines circulantes (TBG et albumine) telles qu'elles avaient été observées au cours de la grossesse. L'utilisation des immuno-essais couramment utilisés lors des diagnostics cliniques est donc fortement déconseillée chez la femme enceinte puisque les résultats obtenus varient considérablement d'une trousse à l'autre (Demers and Spencer 2002).

## **Exposition aux contaminants organiques persistants et en émergence et fonction thyroïdienne chez l'adulte**

L'augmentation de l'exposition humaine à de nouvelles familles de contaminants organiques telles les PBDEs et les composés perfluoroalkylés est particulièrement préoccupante, d'autant plus que certains de ces composés semblent posséder des propriétés endocriniennes. Bien que plusieurs études chez la faune de l'Arctique aient permis de détecter la présence des PBDEs (Ikonomou et al. 2002; Wolkers et al. 2004) et du PFOS (Tomy et al. 2004), les données d'exposition à ces contaminants chez la population inuite du Nunavik étaient quasi-inexistantes. Toutefois, la quantification des PBDEs dans le lait maternel de femmes inuites entre 1990 et 2002 avait démontré une augmentation des concentrations du PBDE 47 par un facteur de 10 (Pereg et al. 2003). L'Enquête de santé inuite 2004 a permis de constater que les concentrations sanguines des PBDEs et du PFOS chez la population adulte inuite étaient inférieures aux concentrations observées chez les populations des régions du sud du Canada (Ryan and Patry 2001; Sandanger et al. 2007) ainsi que de la population américaine (Calafat et al. 2007b; Schecter et al. 2005), mais supérieures ou similaires à celles mesurées chez les populations européennes (Fangstrom et al. 2005a; Kärman et al. 2004; Midasch et al. 2006; Thomas et al. 2006; Weiss et al. 2006).

L'évaluation des associations entre les concentrations plasmatiques de ces contaminants et les facteurs sociodémographiques et alimentaires a révélé que la consommation de poissons et de mammifères marins sont les principales sources d'exposition au PFOS. Des études auprès des populations consommatrices de poissons ont rapporté des associations similaires (Falandysz et al. 2006; Weihe et al. 2008). Les propriétés physicochimiques du PFOS pourraient favoriser sa bioaccumulation et sa persistance dans les chaînes alimentaires

marines et terrestres (Conder et al. 2008). Toutefois, il nous a été impossible de démontrer hors de tout doute que l'accroissement avec l'âge des concentrations sanguines du PFOS était causé par sa persistance, puisque la consommation de poissons et de mammifères marins chez la population inuite du Nunavik augmente également avec l'âge.

Les PBDEs diffèrent des autres familles de composés organiques car l'exposition aux différents congénères ne provient pas des mêmes sources (Sandanger et al. 2007). En effet, l'augmentation des concentrations du congénère PBDE 153 avec l'âge ainsi que sa corrélation avec les concentrations plasmatiques du BPC 153 et du PFOS semblent indiquer que ce composé possède des propriétés similaires et/ou des sources d'expositions communes aux POPs. Toutefois, la consommation de poissons et de mammifères marins ne semble pas être une source d'exposition appréciable à ce congénère chez les Inuit du Nunavik. Étonnamment, la consommation de mammifères marins s'est avérée être un facteur protecteur de l'exposition au congénère PBDE 47. Étant donné que la consommation de viande provenant des marchés alimentaires est quant à elle une source d'exposition au PBDE 47, ces associations divergentes sont probablement attribuables à des patrons d'habitudes alimentaires, plutôt que d'un réel effet protecteur de la consommation de mammifères marins. Il est probable que les Inuit qui consomment plus de viande de mammifères marins en consomment également moins provenant des importations alimentaires. Plusieurs facteurs semblent indiquer que l'exposition au PBDE-47 est plus élevée chez les Inuit qui ont des habitudes de vie moins traditionnelles, particulièrement au niveau de l'alimentation. Cela pourrait également expliquer pourquoi les niveaux sont plus élevés chez les participants âgés entre 18 et 24 ans, puisque ces



derniers consomment moins d'aliments traditionnels (Blanchet and Rochette 2008) et semblent avoir des habitudes de vie différentes de celles des aînés. Une association inverse avec l'âge pourrait également être le reflet d'une exposition récente à ces composés chez la population inuite. Les données collectées concernant les facteurs sociodémographiques et alimentaires ont permis d'expliquer qu'une faible proportion de l'exposition au PBDE 47. Tel qu'il a été observé dans d'autres population, il est fort probable que la qualité de l'air intérieur ainsi que l'inhalation de poussières contaminées soient des sources importantes de l'exposition au PBDE 47 chez la population du Nunavik (Jones-Otazo et al. 2005; Lorber 2008; Wu et al. 2007). D'autres composés bromés ont également été identifiés et quantifiés dans le cadre de cette étude. Les concentrations plasmatiques de certains composés tels le 2,4-dibromophénol et le 2,4,6-tétrabromophénol étaient supérieures à celles des PBDEs. Toutefois, il a été impossible d'identifier clairement les sources d'exposition à ces composés.

Les effets potentiels de l'exposition aux contaminants persistants et en émergence sur le système thyroïdien chez l'adulte inuit ont également été investigués puisque ces hormones agissent sur la régulation de nombreux systèmes à l'âge adulte. Il est apparu assez clairement qu'il était impossible d'isoler les effets individuels des composés chlorés et de leurs métabolites sur la fonction thyroïdienne étant donné la forte intercorrélation entre les concentrations plasmatiques. Par contre, les effets indépendants du pentachlorophénol, des PBDEs et du PFOS ont pu être évalués. Globalement, l'exposition à un mélange complexe d'organochlorés (BPC et autres) était associée à une diminution des concentrations de la T<sub>3</sub> totale et de la TBG sans effet sur la TSH et la T<sub>4</sub> libre. Puisque les concentrations en

hormones thyroïdiennes totales ( $T_4$  et  $T_3$ ) sont fortement influencées par les niveaux circulants de protéines de transport (Bartalena and Robbins 1992), nous ne pouvons déterminer si la diminution de la  $T_3$  totale pouvait être causée directement par l'action des contaminants ou indirectement par leurs effets sur les concentrations de la TBG. Quoiqu'il en soit, il est important de mentionner que des associations négatives entre l'exposition aux organochlorés et les concentrations de la TBG ont été observées dans les trois études, et ce tant chez le nouveau-né que chez l'adulte. Toutefois, nous ne pouvons corroborer nos résultats avec d'autres études épidémiologiques car, aucune autre équipe n'a examiné les effets possibles des contaminants sur les niveaux circulants de cette protéine. Par ailleurs, à notre connaissance, les données toxicologiques sur ce sujet sont inexistantes.

Contrairement aux résultats provenant de la cohorte mère-enfant inuite, les concentrations plasmatiques du pentachlorophénol n'étaient pas associées aux concentrations de la  $T_4$  libre chez l'adulte. Les études toxicologiques semblent indiquer que cet organochloré perturbe le système thyroïdien en compétitionnant avec la  $T_4$  pour l'attachement à la transthyréline, ce qui aurait pour principale conséquence d'augmenter la concentration de la  $T_4$  libre et subséquemment son métabolisme. Or, la transthyréline semble jouer un rôle plutôt secondaire dans le transport de la  $T_4$  chez l'adulte comparativement à la TBG, ce qui pourrait expliquer l'absence d'association.

Les quelques études épidémiologiques dont l'objectif était d'investiguer les effets de l'exposition aux PBDEs sur le statut thyroïdien chez l'adulte ont rapporté des résultats contradictoires (Tableau 1.4) (Bloom et al. 2008; Hagmar et al. 2001a; Turyk et al. 2008).

Malheureusement, les résultats de notre étude ne permettent pas d'apporter un éclairage nouveau à cette situation puisqu'une augmentation des concentrations de la T<sub>3</sub> totale en fonction de l'exposition au PBDE 47, telle qu'elle a été observée dans notre étude n'a pas été rapportée dans les autres études. Étant donné que les sources et les facteurs de risque associés à l'exposition aux PBDEs soient encore mal définis, il est possible que ces résultats divergents soient attribuables en partie à la présence de confusion résiduelle dans les études épidémiologiques. Par ailleurs, de meilleures données toxicologiques sont nécessaires afin d'élucider les mécanismes d'actions de ces composés sur le système thyroïdien, puisque ce n'est que tout récemment que des études *in vitro* ont démontré l'activation d'autres récepteurs (pregnane X récepteur et constitutive androstane récepteur) par certains composés bromés (Pacyniak et al. 2007). Par ailleurs, la présence et l'identification d'impuretés dans les mélanges de PBDEs utilisés dans les études toxicologiques ont révélé que l'activité « dioxin-like » attribuée aux PBDEs était due à des impuretés (Van den Berg et al. 2006).

Les données toxicologiques concernant les effets potentiels du PFOS sur le système thyroïdien sont peu nombreuses, malgré son ubiquité dans l'environnement ainsi que les concentrations sanguines élevées mesurées chez les populations humaines (Chang et al. 2008; Chang et al. 2007; Lau et al. 2003; Thibodeaux et al. 2003). De plus, nous sommes la première équipe à avoir évalué les effets potentiels de ce composé perfluoré sur la fonction thyroïdienne chez l'humain. Nous avons observé que l'ensemble des paramètres du système thyroïdien considérés dans notre étude était associé aux concentrations du PFOS. En effet, les niveaux circulants de la TSH, de la T<sub>3</sub> totale et de la TBG diminuaient en

fonction de l'augmentation de l'exposition au PFOS, alors que ceux de la T<sub>4</sub> libre augmentaient. De plus, ces associations corroborent les effets observés chez les modèles animaux (Chang et al. 2008). Conséquemment, il apparaît primordial que de nouvelles études, tant toxicologiques qu'épidémiologiques soient initiées afin de mieux cerner les risques réels encourus par une exposition chronique au PFOS sur la fonction thyroïdienne, particulièrement chez les populations plus vulnérables tels les femmes enceintes, les fœtus et les enfants.

À la lumière des résultats obtenus dans nos trois études et de ceux provenant d'autres équipes de chercheurs, nous ne pouvons affirmer sans réserve que l'exposition aux contaminants organiques persistants et en émergence perturbe la fonction thyroïdienne chez l'humain. À ce jour, les résultats chez les nouveau-nés ne sont pas concluants et démontrent à quel point il est difficile d'examiner des effets sur un système en pleine maturation. Par contre, les associations observées chez l'adulte et la femme enceinte semblent indiquer des effets probables sur l'homéostasie des hormones thyroïdiennes, particulièrement par une diminution des niveaux circulants de T<sub>3</sub> et T<sub>4</sub> totale. De plus, nos trois études ont rapporté pour la première fois des effets néfastes sur les concentrations de la TBG, la plus importante protéine de transport du système thyroïdien. Par ailleurs, notre dernière étude chez l'adulte illustre clairement le défi que revêt l'étude chez l'humain de l'exposition à un mélange complexe de contaminants dont les effets sur la fonction thyroïdienne pourraient être de nature additive, synergique ou antagoniste (Crofton et al. 2005; Zoeller et al. 2007). Les études toxicologiques ont également observé que ces contaminants ont la capacité de perturber le système thyroïdien par divers mécanismes d'actions dont les effets ne peuvent

être définis comme étant un état clairement hypothyroïdien (Roelens et al. 2005; Sharlin et al. 2006; Zoeller 2003b). De plus, les actions directes ou indirectes des contaminants sur les récepteurs thyroïdiens pourraient induire des effets sur les tissus sensibles aux hormones thyroïdiennes sans en altérer les niveaux circulants (Zoeller 2001, 2003a). Dans l'éventualité où seul ce mécanisme prévaudrait, la quantification des concentrations des hormones thyroïdiennes ne serait d'aucune utilité. Il convient donc de considérer l'hypothèse d'une dysfonction du système thyroïdien par les contaminants environnementaux en évaluant globalement l'ensemble de la littérature sur le sujet, d'autant plus que les études épidémiologiques publiées à ce jour comportaient plusieurs lacunes.

La comparaison des effets neurocomportementaux observés chez les enfants hypothyroïdiens ou nés de mères affectées par des troubles de la glande thyroïde à ceux exposés *in utero* aux contaminants organiques est une première étape à cette compréhension du problème. Bien que les profils des déficits observés ne soient pas identiques, plusieurs troubles du développement sont similaires. En effet, une diminution du quotient intellectuel, des habilités visuospatiales et verbales ainsi que de la vitesse de traitement de l'information ont été observées auprès des différents groupes d'enfants (Boucher et al. 2009 ; Rovet 2002; Schantz et al. 2003; Zoeller and Rovet 2004). Par ailleurs, des effets sur le système auditif ont également été rapportés chez ces enfants (Chao et al. 1997), quoique certaines études épidémiologiques n'aient pas observé de dysfonction de l'audition chez les enfants exposés aux BPCs (Longnecker et al. 2004). Par contre, plusieurs études chez les rongeurs ont démontré des effets délétères de l'exposition prénatale aux BPCs sur le système auditif qui pouvaient être amoindris par un traitement à

la thyroxine (Crofton et al. 2000; Goldey and Crofton 1998; Goldey et al. 1995; Powers et al. 2006). Cependant, il importe de mentionner que certaines fonctions neurodéveloppementales chez les enfants atteints de dysfonctions thyroïdiennes sont affectées par un déficit en hormones thyroïdiennes alors qu'elles ne le sont pas chez les enfants exposés *in utero* aux contaminants organiques (développement moteur), le contraire étant également vrai (fonctions exécutives). Ainsi, malgré certaines différences, plusieurs des effets observés chez les enfants hypothyroïdiens ont également été observés chez les enfants exposés aux POPs lors de leur développement fœtal, ce qui laisse soupçonner une cause commune. Il apparaît donc clair que la recherche doit se poursuivre afin de développer des méthodes plus sensibles et performantes qui permettront d'apporter un nouvel éclairage sur cette question de santé publique.

Dans ce contexte, plusieurs recommandations et suggestions peuvent être proposées afin d'améliorer la qualité des études épidémiologiques à venir. Premièrement, la quantification des concentrations des hormones thyroïdiennes libres devraient être réalisée uniquement par la méthode de dialyse à l'équilibre puisque contrairement aux trousses d'immuno-essais utilisées en clinique, elle n'est pas biaisée par une variation dans les niveaux des protéines de transport tel qu'observé chez les femmes enceintes ou en présence de contaminants environnementaux. La majorité des études publiées à ce jour ont mesuré uniquement quelques paramètres du système thyroïdien, dont la TSH, la T<sub>4</sub> libre et la T<sub>4</sub> ou T<sub>3</sub> totales. Ces mesures sont adéquates dans un contexte de diagnostic de troubles thyroïdiens mais s'avèrent incomplètes lorsque l'objectif est de déterminer les mécanismes sous-jacents à des perturbations plus subtiles et complexes. En effet, d'autres marqueurs du système

thyroïdien pourraient être considérés dont les formes inactives des hormones thyroïdiennes (rT<sub>3</sub>, T<sub>2</sub> et forme sulfatée), les anticorps thyroïdiens (TPO-Ab, Tg-Ab), le volume de la glande thyroïde et l'activité enzymatique placentaire des désiodases pour ne nommer que ceux-ci. La quantification des anticorps thyroïdiens apparaît particulièrement importante puisque les études ayant examiné l'association entre l'exposition aux contaminants organiques et la prévalence de ces anticorps ont observé des augmentations significatives de la prévalence des anticorps TPO-Ab et Tg-Ab (Langer et al. 2007a; Langer et al. 2007b; Turyk et al. 2008). Ces effets pourraient être causés par les propriétés immunotoxiques de certains de ces contaminants (Dallaire et al. 2004; Dallaire et al. 2006; Hertz-Picciotto et al. 2008; Park et al. 2008). Dans le cas où ils n'affecteraient pas les concentrations de ces anticorps, il serait alors important d'exclure les participants atteints afin de ne pas biaiser les associations entre l'exposition aux contaminants et le statut thyroïdien. Il serait également intéressant de développer une technique de laboratoire qui permettrait de quantifier les concentrations de la T<sub>4</sub> et de la T<sub>3</sub> qui sont liées aux différentes protéines de transport. Cette méthode permettrait d'évaluer si les contaminants ont réellement la capacité de compétitionner avec les hormones thyroïdiennes pour les protéines de transport et de déterminer si ce mécanisme joue un rôle important chez l'humain. Par ailleurs, l'apport alimentaire en iode étant primordial à la synthèse des hormones thyroïdiennes, il est absolument nécessaire que le dosage de l'iode urinaire soit réalisé et inclus dans les modèles statistiques afin d'éliminer toute possibilité de biais de confusion puisque la consommation de produits marins est une source importante d'iode. Finalement, bien que la quantification d'un très grand nombre de composés organiques soit attrayante, nos études ont démontré qu'il n'est pas judicieux, dans un contexte d'études épidémiologiques, de

quantifier plusieurs contaminants dont les concentrations sont très fortement intercorrélées. Il s'avèrerait préférable et moins coûteux d'identifier un congénère qui servirait de marqueur pour chaque famille de contaminants plutôt que de quantifier un grand nombre de congénères, à moins que les sources d'exposition pour les différents congénères d'une même famille soient très différentes comme c'est le cas pour les PBDEs.

En conclusion, les effets des contaminants organiques sur la fonction thyroïdienne chez l'humain ne sont pas tout à fait clairs, mais ils demeurent très probables étant donné la multitude de données toxicologiques qui invitent à cette conclusion. Conséquemment, les devis des études épidémiologiques futures devront être à la hauteur de la complexité du problème afin de clarifier les effets chez l'humain. En l'absence d'une réponse claire, le principe de précaution devrait prévaloir, afin de diminuer l'exposition humaine aux perturbateurs endocriniens potentiels, particulièrement chez la femme enceinte et l'enfant en développement.



## Bibliographie

Abdelouahab N, Mergler D, Takser L, Vanier C, St-Jean M, Baldwin M, et al. 2008. Gender differences in the effects of organochlorines, mercury, and lead on thyroid hormone levels in lakeside communities of Quebec (Canada). *Environ Res* 107(3):380-392.

Affaires indiennes et du Nord Canada. 2003. Rapport de l'évaluation des contaminants dans l'Arctique canadien - Phase II. Programme de lutte contre les contaminants dans le Nord. Ottawa.

Akins JR, Waldrep K, Bernert JT, Jr. 1989. The estimation of total serum lipids by a completely enzymatic 'summation' method. *Clin Chim Acta* 184(3):219-226.

Alaee M, Arias P, Sjodin A, Bergman A. 2003. An overview of commercially used brominated flame retardants, their applications, their use patterns in different countries/regions and possible modes of release. *Environ Int* 29(6):683-689.

Alvarez-Pedrerol M, Ribas-Fito N, Torrent M, Carrizo D, Garcia-Esteban R, Grimalt JO, et al. 2008a. Thyroid disruption at birth due to prenatal exposure to beta-hexachlorocyclohexane. *Environ Int* 34(6):737-740.

Alvarez-Pedrerol M, Ribas-Fito N, Torrent M, Carrizo D, Grimalt JO, Sunyer J. 2008b. Effects of PCBs, p,p'-DDT, p,p'-DDE, HCB and beta-HCH on thyroid function in preschool children. *Occup Environ Med* 65(7):452-457.

Alvarez L, Hernandez S, Martinez-de-Mena R, Kolliker-Frers R, Obregon MJ, Kleiman de Pisarev DL. 2005. The role of type I and type II 5' deiodinases on hexachlorobenzene-induced alteration of the hormonal thyroid status. *Toxicology* 207(3):349-362.

Andersen S, Hvingel B, Laurberg P. 2002. Iodine content of traditional Greenlandic food items and tap water in East and West Greenland. *International journal of circumpolar health* 61(4):332-340.

Anderson HA, Imm P, Knobeloch L, Turyk M, Mathew J, Buelow C, et al. 2008. Polybrominated diphenyl ethers (PBDE) in serum: findings from a US cohort of consumers of sport-caught fish. *Chemosphere* 73(2):187-194.

Apelberg BJ, Goldman LR, Calafat AM, Herbstman JB, Kuklenyik Z, Heidler J, et al. 2007a. Determinants of fetal exposure to polyfluoroalkyl compounds in Baltimore, Maryland. *Environ Sci Technol* 41(11):3891-3897.

Apelberg BJ, Witter FR, Herbstman JB, Calafat AM, Halden RU, Needham LL, et al. 2007b. Cord serum concentrations of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) in relation to weight and size at birth. *Environ Health Perspect* 115(11):1670-1676.

Asawasinsopon R, Prapamontol T, Prakobvitayakit O, Vaneesorn Y, Mangklabruks A, Hock B. 2006. The association between organochlorine and thyroid hormone levels in cord serum: a study from northern Thailand. *Environ Int* 32(4):554-559.

Asvold BO, Bjoro T, Nilsen TI, Vatten LJ. 2007. Tobacco smoking and thyroid function: a population-based study. *Arch Intern Med* 167(13):1428-1432.

Athanasiadou M, Cuadra SN, Marsh G, Bergman A, Jakobsson K. 2008. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and bioaccumulative hydroxylated PBDE metabolites in young humans from Managua, Nicaragua. *Environ Health Perspect* 116(3):400-408.

Auer J, Scheibner P, Mische T, Langsteiger W, Eber O, Eber B. 2001. Subclinical hyperthyroidism as a risk factor for atrial fibrillation. *American heart journal* 142(5):838-842.

Ayotte P, Dewailly E, Ryan JJ, Bruneau S, Lebel G. 1997a. PCBs and dioxin-like compounds in plasma of adult inuit living in Nunavik (Arctic Quebec). *Chemosphere* 34(5-7):1459-1468.

Ayotte P, Dewailly E, Ryan JJ, Bruneau S, Lebel G. 1997b. PCBs and dioxin-like compounds in plasma of adult Inuit living in Nunavik (Arctic Quebec). *Chemosphere* 34(5-7):1459-1468.

Baccarelli A, Giacomini SM, Corbetta C, Landi MT, Bonzini M, Consonni D, et al. 2008. Neonatal thyroid function in Seveso 25 years after maternal exposure to dioxin. *PLoS medicine* 5(7):1133-1142.

Bakke JE, Bergman AL, Larsen GL. 1982. Metabolism of 2,4',5-trichlorobiphenyl by the mercapturic acid pathway. *Science (New York, NY)* 217(4560):645-647.

Bansal R, You SH, Herzig CT, Zoeller RT. 2005. Maternal thyroid hormone increases HES expression in the fetal rat brain: an effect mimicked by exposure to a mixture of polychlorinated biphenyls (PCBs). *Brain Res Dev Brain Res* 156(1):13-22.

Barber JL, Sweetman AJ, van Wijk D, Jones KC. 2005. Hexachlorobenzene in the global environment: emissions, levels, distribution, trends and processes. *Sci Total Environ* 349(1-3):1-44.

Bartalena L, Robbins J. 1992. Variations in thyroid hormone transport proteins and their clinical implications. *Thyroid* 2(3):237-245.

Beck V, Roelens SA, Darras VM. 2006. Exposure to PCB 77 induces tissue-dependent changes in iodothyronine deiodinase activity patterns in the embryonic chicken. *General and comparative endocrinology* 148(3):327-335.

Beetstra JB, van Engelen JG, Karels P, van der Hoek HJ, de Jong M, Docter R, et al. 1991. Thyroxine and 3,3',5-triiodothyronine are glucuronidated in rat liver by different uridine diphosphate-glucuronyltransferases. *Endocrinology* 128(2):741-746.

Belanger MC, Mirault ME, Dewailly E, Berthiaume L, Julien P. 2008. Environmental contaminants and redox status of coenzyme Q10 and vitamin E in Inuit from Nunavik. *Metabolism: clinical and experimental* 57(7):927-933.

Bernal J, Nunez J. 1995. Thyroid hormones and brain development. *Eur J Endocrinol* 133(4):390-398.

Biondi B, Palmieri EA, Lombardi G, Fazio S. 2002. Effects of subclinical thyroid dysfunction on the heart. *Annals of internal medicine* 137(11):904-914.

Birnbaum LS, Staskal DF. 2004. Brominated flame retardants: cause for concern? *Environ Health Perspect* 112(1):9-17.

Bjerregaard P, Hansen JC. 2000. Organochlorines and heavy metals in pregnant women from the Disko Bay area in Greenland. *Sci Total Environ* 245(1-3):195-202.

Blanchet C, Rochette L. 2008. Nutrition and food consumption among the Inuit of Nunavik. *Nunavik Inuit Health Survey 2004, Qanuippitaa? How are we?* Québec: Institut national de santé publique du Québec & Nunavik Regional Board of Health and Social Services.

Bloom MS, Spliethoff H, Vena JE, Shaver S, Addink R, Eadon G. 2008. Environmental exposure to PBDEs and thyroid function among New York anglers. *Environ Toxicol Pharmacol* 25:386-392.

Blount BC, Pirkle JL, Osterloh JD, Valentin-Blasini L, Caldwell KL. 2006. Urinary perchlorate and thyroid hormone levels in adolescent and adult men and women living in the United States. *Environ Health Perspect* 114(12):1865-1871.

Boas M, Feldt-Rasmussen U, Skakkebaek NE, Main KM. 2006. Environmental chemicals and thyroid function. *Eur J Endocrinol* 154(5):599-611.

Bonfeld-Jorgensen EC, Andersen HR, Rasmussen TH, Vinggaard AM. 2001. Effect of highly bioaccumulated polychlorinated biphenyl congeners on estrogen and androgen receptor activity. *Toxicology* 158(3):141-153.

Bossi R, Riget FF, Dietz R, Sonne C, Fauser P, Dam M, et al. 2005. Preliminary screening of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and other fluorochemicals in fish, birds and marine mammals from Greenland and the Faroe Islands. *Environ Pollut* 136(2):323-329.

Boucher O, Muckle G, Bastien C. 2009 Prenatal exposure to polychlorinated biphenyls: a neuropsychological analysis. *Environ Health Perspect* 117(1):7-16.

- Boyages SC, Halpern JP. 1993. Endemic cretinism: toward a unifying hypothesis. *Thyroid* 3(1):59-69.
- Braathen M, Derocher AE, Wiig O, Sormo EG, Lie E, Skaare JU, et al. 2004. Relationships between PCBs and thyroid hormones and retinol in female and male polar bears. *Environ Health Perspect* 112(8):826-833.
- Bradley DJ, Towle HC, Young WS, 3rd. 1992. Spatial and temporal expression of alpha- and beta-thyroid hormone receptor mRNAs, including the beta 2-subtype, in the developing mammalian nervous system. *J Neurosci* 12(6):2288-2302.
- Braverman LE, Utiger RD. 2005. *Werner & Ingbar's. The thyroid: a fundamental and clinical text* Ninth ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Breivik K, Sweetman A, Pacyna JM, Jones KC. 2002. Towards a global historical emission inventory for selected PCB congeners--a mass balance approach. 1. Global production and consumption. *Sci Total Environ* 290(1-3):181-198.
- Brent GA. 1997. Maternal thyroid function: interpretation of thyroid function tests in pregnancy. *Clin Obstet Gynecol* 40(1):3-15.
- Brouwer A, Ahlborg UG, Van den Berg M, Birnbaum LS, Boersma ER, Bosveld B, et al. 1995. Functional aspects of developmental toxicity of polyhalogenated aromatic hydrocarbons in experimental animals and human infants. *Eur J Pharmacol* 293(1):1-40.
- Brouwer A, Morse DC, Lans MC, Schuur AG, Murk AJ, Klasson-Wehler E, et al. 1998. Interactions of persistent environmental organohalogenes with the thyroid hormone system: mechanisms and possible consequences for animal and human health. *Toxicol Ind Health* 14(1-2):59-84.
- Brown KM, Arthur JR. 2001. Selenium, selenoproteins and human health: a review. *Public Health Nutr* 4(2B):593-599.
- Brucker-Davis F. 1998. Effects of environmental synthetic chemicals on thyroid function. *Thyroid* 8(9):827-856.
- Bryant J, Goodyear RJ, Richardson GP. 2002. Sensory organ development in the inner ear: molecular and cellular mechanisms. *British medical bulletin* 63:39-57.
- Calafat AM, Kuklennyik Z, Reidy JA, Caudill SP, Tully JS, Needham LL. 2007a. Serum concentrations of 11 polyfluoroalkyl compounds in the U.S. population: data from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES). *Environ Sci Technol* 41(7):2237-2242.

Calafat AM, Wong LY, Kuklennyik Z, Reidy JA, Needham LL. 2007b. Polyfluoroalkyl chemicals in the U.S. population: data from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2003-2004 and comparisons with NHANES 1999-2000. *Environ Health Perspect* 115(11):1596-1602.

Calvo RM, Jauniaux E, Gulbis B, Asuncion M, Gervy C, Contempre B, et al. 2002. Fetal tissues are exposed to biologically relevant free thyroxine concentrations during early phases of development. *J Clin Endocrinol Metab* 87(4):1768-1777.

Canaris GJ, Manowitz NR, Mayor G, Ridgway EC. 2000. The Colorado thyroid disease prevalence study. *Arch Intern Med* 160(4):526-534.

Chan S, Kilby MD. 2000. Thyroid hormone and central nervous system development. *J Endocrinol* 165(1):1-8.

Chang SC, Thibodeaux JR, Eastvold ML, Ehresman DJ, Bjork JA, Froehlich JW, et al. 2007. Negative bias from analog methods used in the analysis of free thyroxine in rat serum containing perfluorooctanesulfonate (PFOS). *Toxicology* 234(1-2):21-33.

Chang SC, Thibodeaux JR, Eastvold ML, Ehresman DJ, Bjork JA, Froehlich JW, et al. 2008. Thyroid hormone status and pituitary function in adult rats given oral doses of perfluorooctanesulfonate (PFOS). *Toxicology* 243(3):330-339.

Chao WY, Hsu CC, Guo YL. 1997. Middle-ear disease in children exposed prenatally to polychlorinated biphenyls and polychlorinated dibenzofurans. *Arch Environ Health* 52(4):257-262.

Chauhan KR, Kodavanti PR, McKinney JD. 2000. Assessing the role of ortho-substitution on polychlorinated biphenyl binding to transthyretin, a thyroxine transport protein. *Toxicol Appl Pharmacol* 162(1):10-21.

Cheek AO, Kow K, Chen J, McLachlan JA. 1999. Potential mechanisms of thyroid disruption in humans: interaction of organochlorine compounds with thyroid receptor, transthyretin, and thyroid-binding globulin. *Environ Health Perspect* 107(4):273-278.

Chen G, Bunce NJ. 2003. Polybrominated diphenyl ethers as Ah receptor agonists and antagonists. *Toxicol Sci* 76(2):310-320.

Chen YC, Guo YL, Hsu CC, Rogan WJ. 1992. Cognitive development of Yu-Cheng ("oil disease") children prenatally exposed to heat-degraded PCBs. *Jama* 268(22):3213-3218.

Chen YC, Yu ML, Rogan WJ, Gladen BC, Hsu CC. 1994. A 6-year follow-up of behavior and activity disorders in the Taiwan Yu-cheng children. *Am J Public Health* 84(3):415-421.

Chen YJ, Hsu CC. 1994. Effects of prenatal exposure to PCBs on the neurological function of children: a neuropsychological and neurophysiological study. *Developmental medicine and child neurology* 36(4):312-320.

Chevrier J, Eskenazi B, Bradman A, Fenster L, Barr DB. 2007. Associations between prenatal exposure to polychlorinated biphenyls and neonatal thyroid-stimulating hormone levels in a Mexican-American population, Salinas Valley, CA. *Environ Health Perspect* 115(10):1490-1416.

Chevrier J, Eskenazi B, Holland N, Bradman A, Barr DB. 2008. Effects of Exposure to Polychlorinated Biphenyls and Organochlorine Pesticides on Thyroid Function during Pregnancy. *Am J Epidemiol* 168(3):298-310.

Colborn T, vom Saal FS, Soto AM. 1993. Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environ Health Perspect* 101(5):378-384.

Collins WT, Capen CC, Kasza L, Carter C, Dailey RE. 1977. Effect of polychlorinated biphenyl (PCB) on the thyroid gland of rats. Ultrastructural and biochemical investigations. *The American journal of pathology* 89(1):119-130.

Conder JM, Hoke RA, De Wolf W, Russell MH, Buck RC. 2008. Are PFCA's bioaccumulative? A critical review and comparison with regulatory criteria and persistent lipophilic compounds. *Environ Sci Technol* 42(4):995-1003.

Connor K, Safe S, Jefcoate CR, Larsen M. 1995. Structure-dependent induction of CYP2B by polychlorinated biphenyl congeners in female Sprague-Dawley rats. *Biochem Pharmacol* 50(11):1913-1920.

Craft ES, DeVito MJ, Crofton KM. 2002. Comparative responsiveness of hypothyroxinemia and hepatic enzyme induction in Long-Evans rats versus C57BL/6J mice exposed to TCDD-like and phenobarbital-like polychlorinated biphenyl congeners. *Toxicol Sci* 68(2):372-380.

Crofton KM, Ding D, Padich R, Taylor M, Henderson D. 2000. Hearing loss following exposure during development to polychlorinated biphenyls: a cochlear site of action. *Hearing research* 144(1-2):196-204.

Crofton KM, Craft ES, Hedge JM, Gennings C, Simmons JE, Carchman RA, et al. 2005. Thyroid-hormone-disrupting chemicals: evidence for dose-dependent additivity or synergism. *Environ Health Perspect* 113(11):1549-1554.

Dallaire F, Dewailly E, Muckle G, Ayotte P. 2003. Time trends of persistent organic pollutants and heavy metals in umbilical cord blood of Inuit infants born in Nunavik (Quebec, Canada) between 1994 and 2001. *Environ Health Perspect* 111(13):1660-1664.

Dallaire F, Dewailly E, Muckle G, Vezina C, Jacobson SW, Jacobson JL, et al. 2004. Acute infections and environmental exposure to organochlorines in Inuit infants from Nunavik. *Environ Health Perspect* 112(14):1359-1365.

Dallaire F, Dewailly E, Vezina C, Muckle G, Weber JP, Bruneau S, et al. 2006. Effect of prenatal exposure to polychlorinated biphenyls on incidence of acute respiratory infections in preschool Inuit children. *Environ Health Perspect* 114(8):1301-1305.

Dallaire R, Dewailly E, Ayotte P, Muckle G, Laliberte C, Bruneau S. 2008. Effects of prenatal exposure to organochlorines on thyroid hormone status in newborns from two remote coastal regions in Québec, Canada. *Environ Res* 108(3):387-392.

Dallaire R, Muckle G, Dewailly E, Jacobson SW, Jacobson JL, Sandanger TM, et al. submitted. Thyroid hormone levels of pregnant Inuit women and their infants exposed to environmental contaminants. *Environ Health Perspect*.

Dallaire R, Ayotte P, Pereg D, Dery S, Dewailly E. unpublished. Determinant of plasma concentrations of perfluorooctanesulfonate and brominated flame retardants in Nunavik Inuit adults (Canada).

Danese MD, Ladenson PW, Meinert CL, Powe NR. 2000. Clinical review 115: effect of thyroxine therapy on serum lipoproteins in patients with mild thyroid failure: a quantitative review of the literature. *J Clin Endocrinol Metab* 85(9):2993-3001.

Darras VM, Hume R, Visser TJ. 1999. Regulation of thyroid hormone metabolism during fetal development. *Mol Cell Endocrinol* 151(1-2):37-47.

Darvill T, Lonky E, Reihman J, Stewart P, Pagano J. 2000. Prenatal exposure to PCBs and infant performance on the fagan test of infant intelligence. *Neurotoxicology* 21(6):1029-1038.

Davis PJ, Davis FB. 1996. Nongenomic actions of thyroid hormone. *Thyroid* 6(5):497-504.

De Groef B, Decallonne BR, Van der Geyten S, Darras VM, Bouillon R. 2006. Perchlorate versus other environmental sodium/iodide symporter inhibitors: potential thyroid-related health effects. *Eur J Endocrinol* 155(1):17-25.

de Wit CA. 2002. An overview of brominated flame retardants in the environment. *Chemosphere* 46(5):583-624.

de Wit CA, Alaei M, Muir DC. 2006. Levels and trends of brominated flame retardants in the Arctic. *Chemosphere* 64(2):209-233.

Delange F. 2000. The role of iodine in brain development. *Proc Nutr Soc* 59(1):75-79.

Delange F. 2001. Iodine deficiency as a cause of brain damage. *Postgrad Med J* 77(906):217-220.

Demers LM, Spencer CA. 2002. Laboratory medicine practice guidelines. Laboratory support for the diagnosis and monitoring of thyroid disease. Washington, DC: National Academy of Clinical Biochemistry.

Denomme MA, Bandiera S, Lambert I, Copp L, Safe L, Safe S. 1983. Polychlorinated biphenyls as phenobarbitone-type inducers of microsomal enzymes. Structure-activity relationships for a series of 2,4-dichloro-substituted congeners. *Biochem Pharmacol* 32(19):2955-2963.

Desaulniers D, Leingartner K, Musicki B, Yagminas A, Xiao GH, Cole J, et al. 2003. Effects of postnatal exposure to mixtures of non-ortho-PCBs, PCDDs, and PCDFs in prepubertal female rats. *Toxicol Sci* 75(2):468-480.

Dewailly E, Nantel A, Weber JP, Meyer F. 1989b. High levels of PCBs in breast milk of Inuit women from arctic Quebec. *Bull Environ Contam Toxicol* 43(5):641-646.

Dewailly E, Laliberté C, Sauvé L, Ferron L, Ryan JJ, Gingras S, et al. 1992. Sea-bird egg consumption as a major source of PCB exposure for communities living along the Gulf of St-Lawrence. *Chemosphere* 25(7-10):1251-1255.

Dewailly E, Ayotte P, Bruneau S, Laliberte C, Muir DC, Norstrom RJ. 1993a. Inuit exposure to organochlorines through the aquatic food chain in arctic quebec. *Environ Health Perspect* 101(7):618-620.

Dewailly E, Bruneau S, Ayotte P, Laliberte C, Gingras S, Bélanger D, et al. 1993b. Health status at birth of Inuit newborn prenatally exposed to organochlorines. *Chemosphere* 27:359-366.

Dewailly E, Ayotte P, Laliberte C, Weber JP, Gingras S, Nantel AJ. 1996. Polychlorinated biphenyl (PCB) and dichlorodiphenyl dichloroethylene (DDE) concentrations in the breast milk of women in Quebec. *Am J Public Health* 86(9):1241-1246.

Dowling AL, Martz GU, Leonard JL, Zoeller RT. 2000. Acute changes in maternal thyroid hormone induce rapid and transient changes in gene expression in fetal rat brain. *J Neurosci* 20(6):2255-2265.

Dowling AL, Zoeller RT. 2000. Thyroid hormone of maternal origin regulates the expression of RC3/neurogranin mRNA in the fetal rat brain. *Brain Res Mol Brain Res* 82(1-2):126-132.

Dumas P, Sandanger TM, Sandau CD, Sjodin A, Ayotte P. 2006. Semi automated method for the determination of 150 persistent organic pollutants in human serum using gas



chromatography mass spectrometry (GC-MS) with simultaneous DR-CALUX. *Organohalogen Compounds* 68:1593-1596.

Ericson I, Gomez M, Nadal M, van Bavel B, Lindstrom G, Domingo JL. 2007. Perfluorinated chemicals in blood of residents in Catalonia (Spain) in relation to age and gender: A pilot study. *Environ Int* 33(5):616-623.

Ericson I, Marti-Cid R, Nadal M, Van Bavel B, Lindstrom G, Domingo JL. 2008. Human exposure to perfluorinated chemicals through the diet: intake of perfluorinated compounds in foods from the Catalan (Spain) market. *J Agric Food Chem* 56(5):1787-1794.

Faber J, Galloe AM. 1994. Changes in bone mass during prolonged subclinical hyperthyroidism due to L-thyroxine treatment: a meta-analysis. *Eur J Endocrinol* 130(4):350-356.

Falandysz J, Taniyasu S, Gulkowska A, Yamashita N, Schulte-Oehlmann U. 2006. Is fish a major source of fluorinated surfactants and repellents in humans living on the Baltic Coast? *Environ Sci Technol* 40(3):748-751.

Fangstrom B, Hovander L, Bignert A, Athanassiadis I, Linderholm L, Grandjean P, et al. 2005a. Concentrations of polybrominated diphenyl ethers, polychlorinated biphenyls, and polychlorobiphenyls in serum from pregnant Faroese women and their children 7 years later. *Environ Sci Technol* 39(24):9457-9463.

Fangstrom B, Strid A, Grandjean P, Weihe P, Bergman A. 2005b. A retrospective study of PBDEs and PCBs in human milk from the Faroe Islands. *Environ Health* 4:1-9.

Farwell AP, Dubord-Tomasetti SA. 1999a. Thyroid hormone regulates the expression of laminin in the developing rat cerebellum. *Endocrinology* 140(9):4221-4227.

Farwell AP, Dubord-Tomasetti SA. 1999b. Thyroid hormone regulates the extracellular organization of laminin on astrocytes. *Endocrinology* 140(11):5014-5021.

Fei C, McLaughlin JK, Tarone RE, Olsen J. 2008. Fetal growth indicators and perfluorinated chemicals: a study in the Danish National Birth Cohort. *Am J Epidemiol* 168(1):66-72.

Fernie KJ, Shutt JL, Mayne G, Hoffman D, Letcher RJ, Drouillard KG, et al. 2005. Exposure to polybrominated diphenyl ethers (PBDEs): changes in thyroid, vitamin A, glutathione homeostasis, and oxidative stress in American kestrels (*Falco sparverius*). *Toxicol Sci* 88(2):375-383.

Fisher DA. 1998. Thyroid function in premature infants. The hypothyroxinemia of prematurity. *Clin Perinatol* 25(4):999-1014.

Fisher JW, Campbell J, Muralidhara S, Bruckner JV, Ferguson D, Mumtaz M, et al. 2006. Effect of PCB 126 on hepatic metabolism of thyroxine and perturbations in the hypothalamic-pituitary-thyroid axis in the rat. *Toxicol Sci* 90(1):87-95.

Flodin C, Whitfield FB. 1999. Biosynthesis of bromophenols in marine algae. *Water Sci Technol* 40:53-58.

Foldes J, Tarjan G, Szathmari M, Varga F, Krasznai I, Horvath C. 1993. Bone mineral density in patients with endogenous subclinical hyperthyroidism: is this thyroid status a risk factor for osteoporosis? *Clin Endocrinol (Oxf)* 39(5):521-527.

Foster WG, Holloway AC, Hughes CL. 2005. Dioxin-like activity and maternal thyroid hormone levels in second trimester maternal serum. *Am J Obstet Gynecol* 193:1900-1907.

Fox GA. 2001. Wildlife as sentinels of human health effects in the Great Lakes--St. Lawrence basin. *Environ Health Perspect* 109 Suppl 6:853-861.

Fritsche E, Cline JE, Nguyen NH, Scanlan TS, Abel J. 2005. Polychlorinated biphenyls disturb differentiation of normal human neural progenitor cells: clue for involvement of thyroid hormone receptors. *Environ Health Perspect* 113(7):871-876.

Fromme H, Midasch O, Twardella D, Angerer J, Boehmer S, Liebl B. 2007. Occurrence of perfluorinated substances in an adult German population in southern Bavaria. *Int Arch Occup Environ Health* 80(4):313-319.

Fromme H, Tittlemier SA, Volkel W, Wilhelm M, Twardella D. 2008. Perfluorinated compounds - Exposure assessment for the general population in western countries. *Int J Hyg Environ Health*.

Fry DM. 1995. Reproductive effects in birds exposed to pesticides and industrial chemicals. *Environ Health Perspect* 103 Suppl 7:165-171.

Gauger KJ, Giera S, Sharlin DS, Bansal R, Iannacone EA, Zoeller RT. 2007. Polychlorinated biphenyls 105 and 118 form thyroid hormone receptor agonists following cytochrome P4501A1 activation in rat pituitary GH3 cells. *Environ Health Perspect* 115(11):1623-1630.

Ghisari M, Bonefeld-Jorgensen EC. 2005. Impact of environmental chemicals on the thyroid hormone function in pituitary rat GH3 cells. *Mol Cell Endocrinol* 244(1-2):31-41.

Giesy JP, Kannan K. 2001. Global distribution of perfluorooctane sulfonate in wildlife. *Environ Sci Technol* 35(7):1339-1342.

Gill U, Chu I, Ryan JJ, Feeley M. 2004. Polybrominated diphenyl ethers: human tissue levels and toxicology. *Rev Environ Contam Toxicol* 183:55-97.

Gladen BC, Rogan WJ, Hardy P, Thullen J, Tingelstad J, Tully M. 1988. Development after exposure to polychlorinated biphenyls and dichlorodiphenyl dichloroethene transplacentally and through human milk. *J Pediatr* 113(6):991-995.

Gladen BC, Rogan WJ. 1991. Effects of perinatal polychlorinated biphenyls and dichlorodiphenyl dichloroethene on later development. *J Pediatr* 119(1 ( Pt 1)):58-63.

Gladen BC, Doucet J, Hansen LG. 2003. Assessing human polychlorinated biphenyl contamination for epidemiologic studies: lessons from patterns of congener concentrations in Canadians in 1992. *Environ Health Perspect* 111(4):437-443.

Glinouer D. 1997. The regulation of thyroid function in pregnancy: pathways of endocrine adaptation from physiology to pathology. *Endocr Rev* 18(3):404-433.

Glinouer D. 1998. The systematic screening and management of hypothyroidism and hyperthyroidism during pregnancy. *Trends in endocrinology and metabolism* 9(10):403-411.

Glinouer D, Delange F. 2000. The potential repercussions of maternal, fetal, and neonatal hypothyroxinemia on the progeny. *Thyroid* 10(10):871-887.

Gocmen A, Peters HA, Cripps DJ, Bryan GT, Morris CR. 1989. Hexachlorobenzene episode in Turkey. *Biomed Environ Sci* 2(1):36-43.

Goldey ES, Kehn LS, Lau C, Rehnberg GL, Crofton KM. 1995. Developmental exposure to polychlorinated biphenyls (Aroclor 1254) reduces circulating thyroid hormone concentrations and causes hearing deficits in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 135(1):77-88.

Goldey ES, Crofton KM. 1998. Thyroxine replacement attenuates hypothyroxinemia, hearing loss, and motor deficits following developmental exposure to Aroclor 1254 in rats. *Toxicol Sci* 45(1):94-105.

Gould JC, Cooper KR, Scanes CG. 1999. Effects of polychlorinated biphenyls on thyroid hormones and liver type I monodeiodinase in the chick embryo. *Ecotoxicology and environmental safety* 43(2):195-203.

Grandjean P, Weihe P, Needham LL, Burse VW, Patterson DG, Jr., Sampson EJ, et al. 1995. Relation of a seafood diet to mercury, selenium, arsenic, and polychlorinated biphenyl and other organochlorine concentrations in human milk. *Environ Res* 71(1):29-38.

Grandjean P, Weihe P, Burse VW, Needham LL, Storr-Hansen E, Heinzow B, et al. 2001. Neurobehavioral deficits associated with PCB in 7-year-old children prenatally exposed to seafood neurotoxicants. *Neurotoxicol Teratol* 23(4):305-317.

Grandjean P, Landrigan PJ. 2006. Developmental neurotoxicity of industrial chemicals. *Lancet* 368(9553):2167-2178.

Greenman GW, Gabrielson MO, Howard-Flanders J, Wessel MA. 1962. Thyroid dysfunction in pregnancy. Fetal loss and follow-up evaluation of surviving infants. *N Engl J Med* 267:426-431.

Grice MM, Alexander BH, Hoffbeck R, Kampa DM. 2007. Self-reported medical conditions in perfluorooctanesulfonyl fluoride manufacturing workers. *J Occup Environ Med* 49(7):722-729.

Guillette LJ, Jr., Crain DA, Rooney AA, Pickford DB. 1995. Organization versus activation: the role of endocrine-disrupting contaminants (EDCs) during embryonic development in wildlife. *Environ Health Perspect* 103 Suppl 7:157-164.

Guo YL, Lambert GH, Hsu CC. 1995. Growth abnormalities in the population exposed in utero and early postnatally to polychlorinated biphenyls and dibenzofurans. *Environ Health Perspect* 103 Suppl 6:117-122.

Guo YL, Yu ML, Hsu CC, Rogan WJ. 1999. Chloracne, goiter, arthritis, and anemia after polychlorinated biphenyl poisoning: 14-year follow-Up of the Taiwan Yucheng cohort. *Environ Health Perspect* 107(9):715-719.

Guvenius DM, Aronsson A, Ekman-Ordeberg G, Bergman A, Noren K. 2003. Human prenatal and postnatal exposure to polybrominated diphenyl ethers, polychlorinated biphenyls, polychlorobiphenyls, and pentachlorophenol. *Environ Health Perspect* 111(9):1235-1241.

Haddow JE, Palomaki GE, Allan WC, Williams JR, Knight GJ, Gagnon J, et al. 1999. Maternal thyroid deficiency during pregnancy and subsequent neuropsychological development of the child. *N Engl J Med* 341(8):549-555.

Hagmar L, Bjork J, Sjodin A, Bergman A, Erfurth EM. 2001a. Plasma levels of persistent organohalogenes and hormone levels in adult male humans. *Arch Environ Health* 56(2):138-143.

Hagmar L, Rylander L, Dyremark E, Klasson-Wehler E, Erfurth EM. 2001b. Plasma concentrations of persistent organochlorines in relation to thyrotropin and thyroid hormone levels in women. *Int Arch Occup Environ Health* 74(3):184-188.

Hagmar L. 2003. Polychlorinated biphenyls and thyroid status in humans: a review. *Thyroid* 13(11):1021-1028.

Hallgren S, Sinjari T, Hakansson H, Darnerud PO. 2001. Effects of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) on thyroid hormone and vitamin A levels in rats and mice. *Arch Toxicol* 75(4):200-208.

Hamers T, Kamstra JH, Sonneveld E, Murk AJ, Kester MH, Andersson PL, et al. 2006. In vitro profiling of the endocrine-disrupting potency of brominated flame retardants. *Toxicol Sci* 92(1):157-173.

Harada K, Saito N, Inoue K, Yoshinaga T, Watanabe T, Sasaki S, et al. 2004. The influence of time, sex and geographic factors on levels of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoate in human serum over the last 25 years. *J Occup Health* 46(2):141-147.

Harada K, Koizumi A, Saito N, Inoue K, Yoshinaga T, Date C, et al. 2007. Historical and geographical aspects of the increasing perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonate contamination in human serum in Japan. *Chemosphere* 66(2):293-301.

Hassenklover T, Bickmeyer U. 2006. The marine secondary metabolites 2,4-dibromophenol and 2,4,6-tribromophenol differentially modulate voltage dependent ion currents in neuroendocrine (PC12) cells. *Aquatic toxicology (Amsterdam, Netherlands)* 79(4):384-390.

Hekster FM, Laane RWPM, de Voogt P. 2003. Environmental and toxicity effects of perfluoroalkylated substances. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 179:99-121.

Herbstman JB, Sjodin A, Apelberg BJ, Witter FR, Halden RU, Patterson DG, et al. 2008. Birth delivery mode modifies the associations between prenatal polychlorinated biphenyl (PCB) and polybrominated diphenyl ether (PBDE) and neonatal thyroid hormone levels. *Environ Health Perspect* 116(10):1376-1382.

Hermann D, Heinz A, Mann K. 2002. Dysregulation of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis in alcoholism. *Addiction* 97:1369-1381.

Hertz-Picciotto I, Park HY, Dostal M, Kocan A, Trnovec T, Sram R. 2008. Prenatal exposures to persistent and non-persistent organic compounds and effects on immune system development. *Basic & clinical pharmacology & toxicology* 102(2):146-154.

Hewitt EA, Crain DA, Gunderson MP, Guillette LJ, Jr. 2002. Thyroid status in juvenile alligators (*Alligator mississippiensis*) from contaminated and reference sites on Lake Okeechobee, Florida, USA. *Chemosphere* 47(10):1129-1135.

Hollowell JG, Staehling NW, Flanders WD, Hannon WH, Gunter EW, Spencer CA, et al. 2002. Serum TSH, T(4), and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *J Clin Endocrinol Metab* 87(2):489-499.

Hood A, Klaassen CD. 2000. Differential effects of microsomal enzyme inducers on in vitro thyroxine (T(4)) and triiodothyronine (T(3)) glucuronidation. *Toxicol Sci* 55(1):78-84.

Hooper K, McDonald TA. 2000. The PBDEs: an emerging environmental challenge and another reason for breast-milk monitoring programs. *Environ Health Perspect* 108(5):387-392.

Hovander L, Malmberg T, Athanasiadou M, Athanassiadis I, Rahm S, Bergman A, et al. 2002. Identification of hydroxylated PCB metabolites and other phenolic halogenated pollutants in human blood plasma. *Arch Environ Contam Toxicol* 42(1):105-117.

Howdeshell KL. 2002. A model of the development of the brain as a construct of the thyroid system. *Environ Health Perspect* 110 Suppl 3:337-348.

Huber G, Staub JJ, Meier C, Mitrache C, Guglielmetti M, Huber P, et al. 2002. Prospective study of the spontaneous course of subclinical hypothyroidism: prognostic value of thyrotropin, thyroid reserve, and thyroid antibodies. *J Clin Endocrinol Metab* 87(7):3221-3226.

Hume R, Simpson J, Delahunty C, van Toor H, Wu SY, Williams FL, et al. 2004. Human fetal and cord serum thyroid hormones: developmental trends and interrelationships. *J Clin Endocrinol Metab* 89(8):4097-4103.

Humphrey HE, Budd ML. 1996. Michigan's fisher cohorts: a prospective history of exposure. *Toxicol Ind Health* 12(3-4):499-505.

Ikonomou MG, Rayne S, Addison RF. 2002. Exponential increases of the brominated flame retardants, polybrominated diphenyl ethers, in the Canadian Arctic from 1981 to 2000. *Environ Sci Technol* 36(9):1886-1892.

International Agency for Research on Cancer. 1999. Occupational exposures in insecticide application, and some pesticides. Volume 53: WHO.

Iwasaki T, Miyazaki W, Takeshita A, Kuroda Y, Koibuchi N. 2002. Polychlorinated biphenyls suppress thyroid hormone-induced transactivation. *Biochem Biophys Res Commun* 299(3):384-388.

Jacobson JL, Humphrey HE, Jacobson SW, Schantz SL, Mullin MD, Welch R. 1989. Determinants of polychlorinated biphenyls (PCBs), polybrominated biphenyls (PBBs), and dichlorodiphenyl trichloroethane (DDT) levels in the sera of young children. *Am J Public Health* 79(10):1401-1404.

Jacobson JL, Jacobson SW, Humphrey HE. 1990. Effects of in utero exposure to polychlorinated biphenyls and related contaminants on cognitive functioning in young children. *J Pediatr* 116(1):38-45.

Jacobson JL, Jacobson SW, Padgett RJ, Brumitt GA, Billings RL. 1992. Effects of prenatal PCB exposure on cognitive processing efficiency and sustained attention. *Dev Psycho* 28:297-306.

Jacobson JL, Jacobson SW. 1996. Intellectual impairment in children exposed to polychlorinated biphenyls in utero. *N Engl J Med* 335(11):783-789.

Jacobson JL, Jacobson SW. 2001. Postnatal exposure to PCBs and childhood development. *Lancet* 358(9293):1568-1569.

Jacobson JL, Jacobson SW. 2003. Prenatal exposure to polychlorinated biphenyls and attention at school age. *J Pediatr* 143(6):780-788.

Jacobson SW, Fein GG, Jacobson JL, Schwartz PM, Dowler JK. 1985. The effect of intrauterine PCB exposure on visual recognition memory. *Child Dev* 56(4):853-860.

Jones-Otazo HA, Clarke JP, Diamond ML, Archbold JA, Ferguson G, Harner T, et al. 2005. Is house dust the missing exposure pathway for PBDEs? An analysis of the urban fate and human exposure to PBDEs. *Environ Sci Technol* 39(14):5121-5130.

Jones PD, Hu W, De Coen W, Newsted JL, Giesy JP. 2003. Binding of perfluorinated fatty acids to serum proteins. *Environ Toxicol Chem* 22(11):2639-2649.

Julander A, Karlsson M, Hagstrom K, Ohlson CG, Engwall M, Bryngelsson IL, et al. 2005. Polybrominated diphenyl ethers--plasma levels and thyroid status of workers at an electronic recycling facility. *Int Arch Occup Environ Health* 78(7):584-592.

Kanagawa Y, Matsumoto S, Koike S, Tajima B, Fukiwake N, Shibata S, et al. 2008. Association of clinical findings in Yusho patients with serum concentrations of polychlorinated biphenyls, polychlorinated quarterphenyls and 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran more than 30 years after the poisoning event. *Environ Health* 7(1):47.

Kanaya AM, Harris F, Volpato S, Perez-Stable EJ, Harris T, Bauer DC. 2002. Association between thyroid dysfunction and total cholesterol level in an older biracial population: the health, aging and body composition study. *Arch Intern Med* 162(7):773-779.

Kannan K, Corsolini S, Falandysz J, Fillmann G, Kumar KS, Loganathan BG, et al. 2004. Perfluorooctanesulfonate and related fluorochemicals in human blood from several countries. *Environ Sci Technol* 38(17):4489-4495.

Kaplan MM. 1992. Assessment of thyroid function during pregnancy. *Thyroid* 2(1):57-61.

Karrman A, Ericson I, van Bavel B, Darnerud PO, Aune M, Glynn A, et al. 2007. Exposure of perfluorinated chemicals through lactation: levels of matched human milk and serum and a temporal trend, 1996-2004, in Sweden. *Environ Health Perspect* 115(2):226-230.

Kärman A, van Bavel B, Järnberg U, Hardell L, Lindström G. 2004. Levels of perfluoroalkylated compounds in whole blood from Sweden. *Organohalogen Compounds* 66:4058-4062.

Kato Y, Haraguchi K, Kawashima M, Yamada H, Masuda Y, Kimura R. 1995. Induction of hepatic microsomal drug-metabolizing enzymes by methylsulphonyl metabolites of polychlorinated biphenyl congeners in rats. *Chemico-Biological Interactions* 95:257-268.

Kato Y, Haraguchi K, Shibahara T, Masuda Y, Kimura R. 1998. Reduction of thyroid hormone levels by methylsulfonyl metabolites of polychlorinated biphenyl congeners in rats. *Arch Toxicol* 72(8):541-544.

Kelly BC, Ikonomou MG, Blair JD, Gobas FA. 2008. Bioaccumulation behaviour of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in a Canadian Arctic marine food web. *Sci Total Environ* 401(1-3):60-72.

Khan MA, Lichtensteiger CA, Faroon O, Mumtaz M, Schaeffer DJ, Hansen LG. 2002. The hypothalamo-pituitary-thyroid (HPT) axis: a target of nonpersistent ortho-substituted PCB congeners. *Toxicol Sci* 65(1):52-61.

Khan MA, Hansen LG. 2003. Ortho-substituted polychlorinated biphenyl (PCB) congeners (95 or 101) decrease pituitary response to thyrotropin releasing hormone. *Toxicol Lett* 144(2):173-182.

Kimura-Kuroda J, Nagata I, Kuroda Y. 2005. Hydroxylated metabolites of polychlorinated biphenyls inhibit thyroid-hormone-dependent extension of cerebellar Purkinje cell dendrites. *Brain Res Dev Brain Res* 154(2):259-263.

Kimura-Kuroda J, Nagata I, Kuroda Y. 2007. Disrupting effects of hydroxy-polychlorinated biphenyl (PCB) congeners on neuronal development of cerebellar Purkinje cells: a possible causal factor for developmental brain disorders? *Chemosphere* 67(9):S412-420.

Kitamura S, Jinno N, Suzuki T, Sugihara K, Ohta S, Kuroki H, et al. 2005. Thyroid hormone-like and estrogenic activity of hydroxylated PCBs in cell culture. *Toxicology* 208(3):377-387.

Kleiman de Pisarev DL, Ferramola de Sancovich AM, Sancovich HA. 1995. Hepatic indices of thyroid status in rats treated with hexachlorobenzene. *J Endocrinol Invest* 18(4):271-276.

Kodavanti PR. 2005. Neurotoxicity of persistent organic pollutants: possible mode(s) of action and further considerations. *Dose-Response* 3:273-305.

Kohrle J. 1999. The trace element selenium and the thyroid gland. *Biochimie* 81(5):527-533.



Kohrle J. 2000. The deiodinase family: selenoenzymes regulating thyroid hormone availability and action. *Cell Mol Life Sci* 57(13-14):1853-1863.

Koopman-Esseboom C, Morse DC, Weisglas-Kuperus N, Lutkeschipholt IJ, Van der Paauw CG, Tuinstra LG, et al. 1994. Effects of dioxins and polychlorinated biphenyls on thyroid hormone status of pregnant women and their infants. *Pediatr Res* 36(4):468-473.

Koppen G, Covaci A, Van Cleuvenbergen R, Schepens P, Winneke G, Nelen V, et al. 2001. Comparison of CALUX-TEQ values with PCB and PCDD/F measurements in human serum of the Flanders Environmental and Health Study (FLEHS). *Toxicol Lett* 123(1):59-67.

Kubwabo C, Vais N, Benoit FM. 2004. A pilot study on the determination of perfluorooctanesulfonate and other perfluorinated compounds in blood of Canadians. *J Environ Monit* 6(6):540-545.

Kvicala J, Zamrazil V. 2003. Effect of iodine and selenium upon thyroid function. *Cent Eur J Public Health* 11(2):107-113.

Landrigan PJ. 2004. Children as a vulnerable population. *Int J Occup Med Environ Health* 17(1):175-177.

Landrigan PJ, Kimmel CA, Correa A, Eskenazi B. 2004. Children's health and the environment: public health issues and challenges for risk assessment. *Environ Health Perspect* 112(2):257-265.

Langer P, Tajtakova M, Kocan A, Vlcek M, Petrik J, Chovancova J, et al. 2006. Multiple organochlorine pollution and the thyroid. *Endocr Regul* 40(2):46-52.

Langer P, Kocan A, Tajtakova M, Petrik J, Chovancova J, Drobna B, et al. 2007a. Fish from industrially polluted freshwater as the main source of organochlorinated pollutants and increased frequency of thyroid disorders and dysglycemia. *Chemosphere* 67(9):S379-385.

Langer P, Tajtakova M, Kocan A, Petrik J, Koska J, Ksinantova L, et al. 2007b. Thyroid ultrasound volume, structure and function after long-term high exposure of large population to polychlorinated biphenyls, pesticides and dioxin. *Chemosphere* 69(1):118-127.

Lans MC, Klasson-Wehler E, Willemsen M, Meussen E, Safe S, Brouwer A. 1993. Structure-dependent, competitive interaction of hydroxy-polychlorobiphenyls, -dibenzo-p-dioxins and -dibenzofurans with human transthyretin. *Chem Biol Interact* 88(1):7-21.

Larsen PR, Berry MJ. 1995. Nutritional and hormonal regulation of thyroid hormone deiodinases. *Annual review of nutrition* 15:323-352.

Lau C, Thibodeaux JR, Hanson RG, Rogers JM, Grey BE, Stanton ME, et al. 2003. Exposure to perfluorooctane sulfonate during pregnancy in rat and mouse. II: postnatal evaluation. *Toxicol Sci* 74(2):382-392.

Lau C, Butenhoff JL, Rogers JM. 2004. The developmental toxicity of perfluoroalkyl acids and their derivatives. *Toxicol Appl Pharmacol* 198(2):231-241.

Lazar MA, Berrodin TJ, Harding HP. 1991. Differential DNA binding by monomeric, homodimeric, and potentially heteromeric forms of the thyroid hormone receptor. *Molecular and cellular biology* 11(10):5005-5015.

Legrand J. 1982. [Thyroid hormones and maturation of the nervous system]. *J Physiol (Paris)* 78(7):603-652.

Lema SC, Dickey JT, Schultz IR, Swanson P. in press, 2008. Dietary exposure to 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether (PBDE 47) alters thyroid status and thyroid hormone-regulated gene transcription in the pituitary and brain. *Environ Health Perspect*.

Lim JS, Lee DH, Jacobs DR, Jr. 2008. Association of brominated flame retardants with diabetes and metabolic syndrome in the U.S. population, 2003-2004. *Diabetes care* 31(9):1802-1807.

Lind Y, Darnerud PO, Atuma S, Aune M, Becker W, Bjerselius R, et al. 2003. Polybrominated diphenyl ethers in breast milk from Uppsala County, Sweden. *Environ Res* 93(2):186-194.

Liu H, Momotani N, Noh JY, Ishikawa N, Takebe K, Ito K. 1994. Maternal hypothyroidism during early pregnancy and intellectual development of the progeny. *Arch Intern Med* 154(7):785-787.

Longnecker MP, Rogan WJ, Lucier G. 1997. The human health effects of DDT (dichlorodiphenyltrichloroethane) and PCBS (polychlorinated biphenyls) and an overview of organochlorines in public health. *Annu Rev Public Health* 18:211-244.

Longnecker MP, Gladen BC, Patterson DG, Jr., Rogan WJ. 2000. Polychlorinated biphenyl (PCB) exposure in relation to thyroid hormone levels in neonates. *Epidemiology* 11(3):249-254.

Longnecker MP, Hoffman HJ, Klebanoff MA, Brock JW, Zhou H, Needham L, et al. 2004. In utero exposure to polychlorinated biphenyls and sensorineural hearing loss in 8-year-old children. *Neurotoxicol Teratol* 26(5):629-637.

Lorber M. 2008. Exposure of Americans to polybrominated diphenyl ethers. *Journal of exposure science & environmental epidemiology* 18(1):2-19.

Lubin JH, Colt JS, Camann D, Davis S, Cerhan JR, Severson RK, et al. 2004. Epidemiologic evaluation of measurement data in the presence of detection limits. *Environ Health Perspect* 112(17):1691-1696.

Macdonald RW, Barrie LA, Bidleman TF, Diamond ML, Gregor DJ, Semkin RG, et al. 2000. Contaminants in the Canadian Arctic: 5 years of progress in understanding sources, occurrence and pathways. *The Science of the Total Environment* 254:93-234.

Maervoet J, Vermeir G, Covaci A, Van Larebeke N, Koppen G, Schoeters G, et al. 2007. Association of thyroid hormone concentrations with levels of organochlorine compounds in cord blood of neonates. *Environ Health Perspect* 115(12):1780-1786.

Man EB. 1972. Thyroid function in pregnancy and infancy. Maternal hypothyroxinemia and retardation of progeny. *CRC Crit Rev Clin Lab Sci* 3(2):203-225.

Martin JW, Smithwick MM, Braune BM, Hoekstra PF, Muir DC, Mabury SA. 2004. Identification of long-chain perfluorinated acids in biota from the Canadian Arctic. *Environ Sci Technol* 38(2):373-380.

Matsuura N, Uchiyama T, Tada H, Nakamura Y, Kondo N, Morita M, et al. 2001. Effects of dioxins and polychlorinated biphenyls (PCBs) on thyroid function in infants born in Japan--the second report from research on environmental health. *Chemosphere* 45(8):1167-1171.

McDonald TA. 2002. A perspective on the potential health risks of PBDEs. *Chemosphere* 46(5):745-755.

McFarland VA, Clarke JU. 1989. Environmental occurrence, abundance, and potential toxicity of polychlorinated biphenyl congeners: considerations for a congener-specific analysis. *Environ Health Perspect* 81:225-239.

McKinnon B, Li H, Richard K, Mortimer R. 2005. Synthesis of thyroid hormone binding proteins transthyretin and albumin by human trophoblast. *J Clin Endocrinol Metab* 90(12):6714-6720.

Medehouenou TCM, Larochele C, Dumas P, Dewailly E, Ayotte P. unpublished. Determination of dioxin-like compounds in plasma samples from Inuit adults using a dioxin-responsive reporter gene bioassay.

Meeker JD, Altshul L, Hauser R. 2006. Serum PCBs, p,p'(-)DDE and HCB predict thyroid hormone levels in men. *Environ Res* 104(2):296-304.

Meerts IA, van Zanden JJ, Luijckx EA, van Leeuwen-Bol I, Marsh G, Jakobsson E, et al. 2000. Potent competitive interactions of some brominated flame retardants and related compounds with human transthyretin in vitro. *Toxicol Sci* 56(1):95-104.

Meerts IA, Assink Y, Cenijn PH, Van Den Berg JH, Weijers BM, Bergman A, et al. 2002. Placental transfer of a hydroxylated polychlorinated biphenyl and effects on fetal and maternal thyroid hormone homeostasis in the rat. *Toxicol Sci* 68(2):361-371.

Mestman JH, Goodwin TM, Montoro MM. 1995. Thyroid disorders of pregnancy. *Endocrinol Metab Clin North Am* 24(1):41-71.

Midasch O, Schettgen T, Angerer J. 2006. Pilot study on the perfluorooctanesulfonate and perfluorooctanoate exposure of the German general population. *Int J Hyg Environ Health* 209(6):489-496.

Mikaelian I, Labelle P, Kopal M, De Guise S, Martineau D. 2003. Adenomatous hyperplasia of the thyroid gland in beluga whales (*Delphinapterus leucas*) from the St. Lawrence Estuary and Hudson Bay, Quebec, Canada. *Veterinary pathology* 40(6):698-703.

Miyazaki W, Iwasaki T, Takeshita A, Kuroda Y, Koibuchi N. 2004. Polychlorinated biphenyls suppress thyroid hormone receptor-mediated transcription through a novel mechanism. *J Biol Chem* 279(18):18195-18202.

Miyazaki W, Iwasaki T, Takeshita A, Tohyama C, Koibuchi N. 2008. Identification of the functional domain of thyroid hormone receptor responsible for polychlorinated biphenyl-mediated suppression of its action in vitro. *Environ Health Perspect* 116(9):1231-1236.

Morland KB, Landrigan PJ, Sjodin A, Gobeille AK, Jones RS, McGahee EE, et al. 2005. Body burdens of polybrominated diphenyl ethers among urban anglers. *Environ Health Perspect* 113(12):1689-1692.

Morreale de Escobar G, Obregon MJ, Escobar del Rey F. 2000. Is neuropsychological development related to maternal hypothyroidism or to maternal hypothyroxinemia? *J Clin Endocrinol Metab* 85(11):3975-3987.

Morreale de Escobar G. 2003. Maternal hypothyroxinemia versus hypothyroidism and potential neurodevelopmental. Alterations of her offspring. *Ann Endocrinol (Paris)* 64(1):51-52.

Morse DC, Wehler EK, Wesseling W, Koeman JH, Brouwer A. 1996. Alterations in rat brain thyroid hormone status following pre- and postnatal exposure to polychlorinated biphenyls (Aroclor 1254). *Toxicol Appl Pharmacol* 136(2):269-279.

Mozaffarian D, Rimm EB. 2006. Fish intake, contaminants, and human health: evaluating the risks and the benefits. *JAMA* 296(15):1885-1899.

Muckle G, Ayotte P, Dewailly E, Jacobson SW, Jacobson JL. 2001a. Determinants of polychlorinated biphenyls and methylmercury exposure in Inuit women of childbearing age. *Environ Health Perspect* 109(9):957-963.

- Muckle G, Ayotte P, Dewailly E, Jacobson SW, Jacobson JL. 2001b. Prenatal exposure of the northern Quebec Inuit infants to environmental contaminants. *Environ Health Perspect* 109(12):1291-1299.
- Nagayama J, Tsuji H, Iida T, Nakagawa R, Matsueda T, Hirakawa H, et al. 2003. Effects of PCDDs, PCDFs and coplanar PCBs on immune response and thyroid hormone systems in Japanese mothers. *Organohalogen Compounds* 63:393-396.
- Ness DK, Schantz SL, Moshtaghian J, Hansen LG. 1993. Effects of perinatal exposure to specific PCB congeners on thyroid hormone concentrations and thyroid histology in the rat. *Toxicol Lett* 68(3):311-323.
- Newsome WH, Davies D. 1996. Determination of PCB metabolites in Canadian human milk. *Chemosphere* 33(3):559-565.
- Ng L, Hurley JB, Dierks B, Srinivas M, Salto C, Vennstrom B, et al. 2001. A thyroid hormone receptor that is required for the development of green cone photoreceptors. *Nature genetics* 27(1):94-98.
- Nicholson JL, Altman J. 1972. The effects of early hypo- and hyperthyroidism on the development of rat cerebellar cortex. I. Cell proliferation and differentiation. *Brain Res* 44(1):13-23.
- Olsen GW, Church TR, Miller JP, Burriss JM, Hansen KJ, Lundberg JK, et al. 2003. Perfluorooctanesulfonate and other fluorochemicals in the serum of American Red Cross adult blood donors. *Environ Health Perspect* 111(16):1892-1901.
- Olsen GW, Huang HY, Helzlsouer KJ, Hansen KJ, Butenhoff JL, Mandel JH. 2005. Historical comparison of perfluorooctanesulfonate, perfluorooctanoate, and other fluorochemicals in human blood. *Environ Health Perspect* 113(5):539-545.
- Oppenheimer JH, Schwartz HL, Mariash CN, Kinlaw WB, Wong NC, Freaque HC. 1987. Advances in our understanding of thyroid hormone action at the cellular level. *Endocr Rev* 8(3):288-308.
- Osius N, Karmaus W, Kruse H, Witten J. 1999. Exposure to polychlorinated biphenyls and levels of thyroid hormones in children. *Environ Health Perspect* 107(10):843-849.
- Otake T, Yoshinaga J, Enomoto T, Matsuda M, Wakimoto T, Ikegami M, et al. 2007. Thyroid hormone status of newborns in relation to in utero exposure to PCBs and hydroxylated PCB metabolites. *Environ Res* 105(2):240-246.
- Pacyniak EK, Cheng X, Cunningham ML, Crofton K, Klaassen CD, Guo GL. 2007. The flame retardants, polybrominated diphenyl ethers, are pregnane X receptor activators. *Toxicol Sci* 97(1):94-102.

Park HY, Hertz-Picciotto I, Petrik J, Palkovicova L, Kocan A, Trnovec T. 2008. Prenatal PCB exposure and thymus size at birth in neonates in Eastern Slovakia. *Environ Health Perspect* 116(1):104-109.

Parle JV, Maisonneuve P, Sheppard MC, Boyle P, Franklyn JA. 2001. Prediction of all-cause and cardiovascular mortality in elderly people from one low serum thyrotropin result: a 10-year cohort study. *Lancet* 358(9285):861-865.

Patandin S, Lanting CI, Mulder PG, Boersma ER, Sauer PJ, Weisglas-Kuperus N. 1999. Effects of environmental exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins on cognitive abilities in Dutch children at 42 months of age. *J Pediatr* 134(1):33-41.

Pelletier C, Doucet E, Imbeault P, Tremblay A. 2002. Associations between weight loss-induced changes in plasma organochlorine concentrations, serum T(3) concentration, and resting metabolic rate. *Toxicol Sci* 67(1):46-51.

Pereg D, Ryan J, Ayotte P, Muckle G, Dewailly E. 2003. Temporal and spatial changes of brominated diphenyl ethers (BDEs) and other POPs in human milk from Nunavik (Arctic) and southern Quebec. *Organohalogen Compounds* 61:127-130.

Peters HA, Gocmen A, Cripps DJ, Bryan GT, Dogramaci I. 1982. Epidemiology of hexachlorobenzene-induced porphyria in Turkey: clinical and laboratory follow-up after 25 years. *Archives of neurology* 39(12):744-749.

Phillips DL, Pirkle JL, Burse VW, Bernert JT, Jr., Henderson LO, Needham LL. 1989. Chlorinated hydrocarbon levels in human serum: effects of fasting and feeding. *Arch Environ Contam Toxicol* 18(4):495-500.

Pluim HJ, de Vijlder JJ, Olie K, Kok JH, Vulsma T, van Tijn DA, et al. 1993. Effects of pre- and postnatal exposure to chlorinated dioxins and furans on human neonatal thyroid hormone concentrations. *Environ Health Perspect* 101(6):504-508.

Pocar P, Klonisch T, Brandsch C, Eder K, Frohlich C, Hoang-Vu C, et al. 2006. AhR-agonist-induced transcriptional changes of genes involved in thyroid function in primary porcine thyrocytes. *Toxicol Sci* 89(2):408-414.

Pop VJ, de Rooy HA, Vader HL, van der Heide D, van Son M, Komproe IH, et al. 1991. Postpartum thyroid dysfunction and depression in an unselected population. *N Engl J Med* 324(25):1815-1816.

Pop VJ, Kuijpers JL, van Baar AL, Verkerk G, van Son MM, de Vijlder JJ, et al. 1999. Low maternal free thyroxine concentrations during early pregnancy are associated with impaired psychomotor development in infancy. *Clin Endocrinol (Oxf)* 50(2):149-155.

Pop VJ, Brouwers EP, Vader HL, Vulmsa T, van Baar AL, de Vijlder JJ. 2003. Maternal hypothyroxinaemia during early pregnancy and subsequent child development: a 3-year follow-up study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 59(3):282-288.

Porterfield SP, Hendrich CE. 1993. The role of thyroid hormones in prenatal and neonatal neurological development--current perspectives. *Endocr Rev* 14(1):94-106.

Porterfield SP. 2000. Thyroidal dysfunction and environmental chemicals--potential impact on brain development. *Environ Health Perspect* 108 Suppl 3:433-438.

Powers BE, Widholm JJ, Lasky RE, Schantz SL. 2006. Auditory deficits in rats exposed to an environmental PCB mixture during development. *Toxicol Sci* 89(2):415-422.

Powley CR, George SW, Russell MH, Hoke RA, Buck RC. 2008. Polyfluorinated chemicals in a spatially and temporally integrated food web in the Western Arctic. *Chemosphere* 70(4):664-672.

Preston BD, Miller JA, Miller EC. 1983. Non-arene oxide aromatic ring hydroxylation of 2,2',5,5'-tetrachlorobiphenyl as the major metabolic pathway catalyzed by phenobarbital-induced rat liver microsomes. *J Biol Chem* 258(13):8304-8311.

Prevedouros K, Cousins IT, Buck RC, Korzeniowski SH. 2006. Sources, fate and transport of perfluorocarboxylates. *Environ Sci Technol* 40(1):32-44.

Public Health Agency of Canada. 1999. National Population Health Survey Highlights: Smoking Behaviour of Canadian 1996/1997. Available: [http://www.phac-aspc.gc.ca/ccdpc-cpcmc/cancer/publications/nphs-sboc/tables\\_e.html](http://www.phac-aspc.gc.ca/ccdpc-cpcmc/cancer/publications/nphs-sboc/tables_e.html) [accessed 9 May 2007].

Qiu X, Mercado-Feliciano M, Bigsby RM, Hites RA. 2007. Measurement of polybrominated diphenyl ethers and metabolites in mouse plasma after exposure to a commercial pentabromodiphenyl ether mixture. *Environ Health Perspect* 115(7):1052-1058.

Rayman MP. 2000. The importance of selenium to human health. *Lancet* 356(9225):233-241.

Refetoff S, Dumitrescu AM. 2007. Syndromes of reduced sensitivity to thyroid hormone: genetic defects in hormone receptors, cell transporters and deiodination. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 21(2):277-305.

Rhainds M, Levallois P, Dewailly E, Ayotte P. 1999. Lead, mercury, and organochlorine compound levels in cord blood in Quebec, Canada. *Arch Environ Health* 54(1):40-47.

Ribas-Fito N, Sala M, Cardo E, Mazon C, De Muga ME, Verdu A, et al. 2003. Organochlorine compounds and concentrations of thyroid stimulating hormone in newborns. *Occup Environ Med* 60(4):301-303.

Richardson VM, Staskal DF, Ross DG, Diliberto JJ, DeVito MJ, Birnbaum LS. 2008. Possible mechanisms of thyroid hormone disruption in mice by BDE 47, a major polybrominated diphenyl ether congener. *Toxicol Appl Pharmacol* 226(3):244-250.

Rodriguez-Pena A. 1999. Oligodendrocyte development and thyroid hormone. *Journal of neurobiology* 40(4):497-512.

Roelens SA, Beck V, Aerts G, Clerens S, Vanden Bergh G, Arckens L, et al. 2005. Neurotoxicity of polychlorinated biphenyls (PCBs) by disturbance of thyroid hormone-regulated genes. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1040:454-456.

Rogan WJ, Gladen BC, McKinney JD, Carreras N, Hardy P, Thullen J, et al. 1986. Polychlorinated biphenyls (PCBs) and dichlorodiphenyl dichloroethene (DDE) in human milk: effects of maternal factors and previous lactation. *Am J Public Health* 76(2):172-177.

Rosenfeld MG, Glass CK. 2001. Coregulator codes of transcriptional regulation by nuclear receptors. *J Biol Chem* 276(40):36865-36868.

Ross DS. 2005a. Subclinical thyrotoxicosis. In: Werner & Ingbar's *The thyroid: a fundamental and clinical text*

(Braverman LE, Utiger RD, eds). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1079-1085.

Ross DS. 2005b. Subclinical hypothyroidism. In: Werner & Ingbar's *The thyroid: a fundamental and clinical text* (Braverman LE, Utiger RD, eds). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1070-1078.

Rovet JF. 1999. Congenital hypothyroidism: long-term outcome. *Thyroid* 9(7):741-748.

Rovet JF, Hepworth S. 2001. Attention problems in adolescents with congenital hypothyroidism: a multicomponential analysis. *J Int Neuropsychol Soc* 7(6):734-744.

Rovet JF. 2002. Congenital hypothyroidism: an analysis of persisting deficits and associated factors. *Child Neuropsychol* 8(3):150-162.

Ruiz-Marcos A, Salas J, Sanchez-Toscano F, Escobar del Rey F, Morreale de Escobar G. 1983. Effect of neonatal and adult-onset hypothyroidism on pyramidal cells of the rat auditory cortex. *Brain Res* 285(2):205-213.

Ruxton CH, Reed SC, Simpson MJ, Millington KJ. 2004. The health benefits of omega-3 polyunsaturated fatty acids: a review of the evidence. *J Hum Nutr Diet* 17(5):449-459.

Ryan JJ, Patry B. 2001. Body burdens and food exposure in Canada for polybrominated diphenyl ethers (BDEs). *Organohalogen Compounds* 51:226-229.



Rylander L, Wallin E, Jonsson BA, Stridsberg M, Erfurth EM, Hagmar L. 2006. Associations between CB-153 and p,p'-DDE and hormone levels in serum in middle-aged and elderly men. *Chemosphere* 65(3):375-381.

Safe SH. 1994. Polychlorinated biphenyls (PCBs): environmental impact, biochemical and toxic responses, and implications for risk assessment. *Crit Rev Toxicol* 24(2):87-149.

Sala M, Sunyer J, Herrero C, To-Figueras J, Grimalt J. 2001. Association between serum concentrations of hexachlorobenzene and polychlorobiphenyls with thyroid hormone and liver enzymes in a sample of the general population. *Occup Environ Med* 58(3):172-177.

Sampson D, Pickard MR, Sinha AK, Evans IM, Leonard AJ, Ekins RP. 2000. Maternal thyroid status regulates the expression of neuronal and astrocytic cytoskeletal proteins in the fetal brain. *J Endocrinol* 167(3):439-445.

Samuels MH. 1998. Subclinical thyroid disease in the elderly. *Thyroid* 8(9):803-813.

Sandanger TM, Sinotte M, Dumas P, Marchand M, Sandau CD, Pereg D, et al. 2007. Plasma concentrations of selected organobromine compounds and polychlorinated biphenyls in postmenopausal women of Quebec, Canada. *Environ Health Perspect* 115(10):1429-1434.

Sandau CD. 2000. Analytical Chemistry of hydroxylated Metabolites of PCBs and other Halogenated Phenolic Compounds in Blood and Their relationship to Thyroid Hormone and Retinol Homeostasis in Humans and Polar Bears [PhD]. Carleton: Carleton University.

Sandau CD, Ayotte P, Dewailly E, Duffe J, Norstrom RJ. 2000. Analysis of hydroxylated metabolites of PCBs (OH-PCBs) and other chlorinated phenolic compounds in whole blood from Canadian inuit. *Environ Health Perspect* 108(7):611-616.

Sandau CD, Ayotte P, Dewailly E, Duffe J, Norstrom RJ. 2002. Pentachlorophenol and hydroxylated polychlorinated biphenyl metabolites in umbilical cord plasma of neonates from coastal populations in Quebec. *Environ Health Perspect* 110(4):411-417.

Sandau CD, Sjodin A, Davis MD, Barr JR, Maggio VL, Waterman AL, et al. 2003. Comprehensive solid-phase extraction method for persistent organic pollutants. Validation and application to the analysis of persistent chlorinated pesticides. *Anal Chem* 75(1):71-77.

Santini F, Vitti P, Ceccarini G, Mammoli C, Rosellini V, Pelosini C, et al. 2003. In vitro assay of thyroid disruptors affecting TSH-stimulated adenylate cyclase activity. *J Endocrinol Invest* 26(10):950-955.

Sawin CT, Geller A, Wolf PA, Belanger AJ, Baker E, Bacharach P, et al. 1994. Low serum thyrotropin concentrations as a risk factor for atrial fibrillation in older persons. *N Engl J Med* 331(19):1249-1252.

Schantz SL, Seo BW, Wong PW, Pessah IN. 1997. Long-term effects of developmental exposure to 2,2',3,5',6-pentachlorobiphenyl (PCB 95) on locomotor activity, spatial learning and memory and brain ryanodine binding. *Neurotoxicology* 18(2):457-467.

Schantz SL, Widholm JJ. 2001. Cognitive effects of endocrine-disrupting chemicals in animals. *Environ Health Perspect* 109(12):1197-1206.

Schantz SL, Widholm JJ, Rice DC. 2003. Effects of PCB exposure on neuropsychological function in children. *Environ Health Perspect* 111(3):357-576.

Schechter A, Papke O, Tung KC, Joseph J, Harris TR, Dahlgren J. 2005. Polybrominated diphenyl ether flame retardants in the U.S. population: current levels, temporal trends, and comparison with dioxins, dibenzofurans, and polychlorinated biphenyls. *J Occup Environ Med* 47(3):199-211.

Schechter A, Birnbaum L, Ryan JJ, Constable JD. 2006a. Dioxins: An overview. *Environ Res* 101(3):419-428.

Schechter A, Papke O, Harris TR, Tung KC, Musumba A, Olson J, et al. 2006b. Polybrominated diphenyl ether (PBDE) levels in an expanded market basket survey of U.S. food and estimated PBDE dietary intake by age and sex. *Environ Health Perspect* 114(10):1515-1520.

Schell LM, DeCaprio AP, Gallo MV, Hubicki L, Environment TATFot. 2002. Polychlorinated biphenyls and thyroid function in adolescents of the Mohawk Nation at Akwesasne. In: *Human growth from conception to maturity* (Gilli G, Schell, L. M. and Benso, L., ed). London, UK: Smith-Gordon, 289-296.

Schisterman EF, Whitcomb BW, Louis GM, Louis TA. 2005. Lipid adjustment in the analysis of environmental contaminants and human health risks. *Environ Health Perspect* 113(7):853-857.

Schmidt CW. 1999. Most unwanted: persistent organic pollutants. *Environ Health Perspect* 107(1):A18-A25.

Schreiber G, Southwell BR, Richardson SJ. 1995. Hormone delivery systems to the brain-transthyretin. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 103(2):75-80.

Schriks M, Vrabie CM, Gutleb AC, Faassen EJ, Rietjens IM, Murk AJ. 2006. T-screen to quantify functional potentiating, antagonistic and thyroid hormone-like activities of polyhalogenated aromatic hydrocarbons (PHAHs). *Toxicol In Vitro* 20(4):490-498.

Schussler GC. 2000. The thyroxine-binding proteins. *Thyroid* 10(2):141-149.

Schuur AG, Legger FF, van Meeteren ME, Moonen MJ, van Leeuwen-Bol I, Bergman A, et al. 1998. In vitro inhibition of thyroid hormone sulfation by hydroxylated metabolites of halogenated aromatic hydrocarbons. *Chem Res Toxicol* 11(9):1075-1081.

Sharlin DS, Bansal R, Zoeller RT. 2006. Polychlorinated biphenyls exert selective effects on cellular composition of white matter in a manner inconsistent with thyroid hormone insufficiency. *Endocrinology* 147(2):846-858.

Shiraishi F, Okumura T, Nomachi M, Serizawa S, Nishikawa J, Edmonds JS, et al. 2003. Estrogenic and thyroid hormone activity of a series of hydroxy-polychlorinated biphenyls. *Chemosphere* 52(1):33-42.

Sjodin A, Jones RS, Focant JF, Lapeza C, Wang RY, McGahee EE, 3rd, et al. 2004. Retrospective time-trend study of polybrominated diphenyl ether and polybrominated and polychlorinated biphenyl levels in human serum from the United States. *Environ Health Perspect* 112(6):654-658.

Sjodin A, Wong LY, Jones RS, Park A, Zhang Y, Hodge C, et al. 2008. Serum concentrations of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and polybrominated biphenyl (PBB) in the United States population: 2003-2004. *Environ Sci Technol* 42(4):1377-1384.

Soechitram SD, Athanasiadou M, Hovander L, Bergman A, Sauer PJ. 2004. Fetal Exposure to PCBs and Their Hydroxylated Metabolites in a Dutch Cohort. *Environ Health Perspect* 112(11):1208-1212.

Sohoni P, Sumpter JP. 1998. Several environmental oestrogens are also anti-androgens. *J Endocrinol* 158(3):327-339.

Song SI, Daneman D, Rovet J. 2001. The influence of etiology and treatment factors on intellectual outcome in congenital hypothyroidism. *J Dev Behav Pediatr* 22(6):376-384.

Sonnenschein C, Soto AM. 1998. An updated review of environmental estrogen and androgen mimics and antagonists. *J Steroid Biochem Mol Biol* 65(1-6):143-150.

Southwell BR, Duan W, Alcorn D, Brack C, Richardson SJ, Kohrle J, et al. 1993. Thyroxine transport to the brain: role of protein synthesis by the choroid plexus. *Endocrinology* 133(5):2116-2126.

Stagnaro-Green A. 2004. Postpartum thyroiditis. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 18(2):303-316.

Stagnaro-Green A, Glinoeer D. 2004. Thyroid autoimmunity and the risk of miscarriage. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 18(2):167-181.

Stern GA, Ikonomidou MG. 2000. Temporal trends of polybrominated diphenyl ethers in SE Baffin beluga: increasing evidence of long range atmospheric transport. *Organohalogen Compounds* 47:81-84.

Steuerwald U, Weihe P, Jorgensen PJ, Bjerve K, Brock J, Heinzow B, et al. 2000. Maternal seafood diet, methylmercury exposure, and neonatal neurologic function. *J Pediatr* 136(5):599-605.

Stewart P, Lonky E, Reihman J, Pagano J, Gump B, Darvill T. 2008. The relationship between prenatal PCB exposure and Intelligence (IQ) in 9-year-old children. *Environ Health Perspect* 116:1416-1422.

Stewart PW, Reihman J, Lonky EI, Darvill TJ, Pagano J. 2003. Cognitive development in preschool children prenatally exposed to PCBs and MeHg. *Neurotoxicol Teratol* 25(1):11-22.

Surks MI, Sievert R. 1995. Drugs and thyroid function. *N Engl J Med* 333(25):1688-1694.

Surks MI, Ortiz E, Daniels GH, Sawin CT, Col NF, Cobin RH, et al. 2004. Subclinical thyroid disease: scientific review and guidelines for diagnosis and management. *Jama* 291(2):228-238.

Takayama M, Itoh S, Nagasaki T, Tanimizu I. 1977. A new enzymatic method for determination of serum choline-containing phospholipids. *Clin Chim Acta* 79(1):93-98.

Takser L, Mergler D, Baldwin M, de Grosbois S, Smargiassi A, Lafond J. 2005. Thyroid hormones in pregnancy in relation to environmental exposure to organochlorine compounds and mercury. *Environ Health Perspect* 113(8):1039-1045.

Talsness CE, Kuriyama SN, Sterner-Kock A, Schnitker P, Grande SW, Shakibaei M, et al. 2008. In utero and lactational exposures to low doses of polybrominated diphenyl ether-47 alter the reproductive system and thyroid gland of female rat offspring. *Environ Health Perspect* 116(3):308-314.

Taniyasu S, Kannan K, Horii Y, Hanari N, Yamashita N. 2003. A survey of perfluorooctane sulfonate and related perfluorinated organic compounds in water, fish, birds, and humans from Japan. *Environ Sci Technol* 37(12):2634-2639.

Thibodeaux JR, Hanson RG, Rogers JM, Grey BE, Barbee BD, Richards JH, et al. 2003. Exposure to perfluorooctane sulfonate during pregnancy in rat and mouse. I: maternal and prenatal evaluations. *Toxicol Sci* 74(2):369-381.

Thomas GO, Wilkinson M, Hodson S, Jones KC. 2006. Organohalogen chemicals in human blood from the United Kingdom. *Environ Pollut* 141(1):30-41.

Thomsen C, Lundanes E, Becher G. 2001. Brominated flame retardants in plasma samples from three different occupational groups in Norway. *J Environ Monit* 3(4):366-370.

Thomsen C, Lundanes E, Becher G. 2002. Brominated flame retardants in archived serum samples from Norway: a study on temporal trends and the role of age. *Environ Sci Technol* 36(7):1414-1418.

Thomsen C, Knutsen HK, Liane VH, Froshaug M, Kvalem HE, Haugen M, et al. 2008. Consumption of fish from a contaminated lake strongly affects the concentrations of polybrominated diphenyl ethers and hexabromocyclododecane in serum. *Molecular nutrition & food research* 52(2):228-237.

Tittlemier S, Chan L, Ostertag S, Moisey J, Pepper K, Soueida R. 2006. Estimation of dietary exposure to perfluorinated carboxylates and sulfonates via consumption of traditional foods. Ottawa: Indian and Northern Affairs Canada.

Tittlemier SA, Pepper K, Seymour C, Moisey J, Bronson R, Cao XL, et al. 2007. Dietary exposure of Canadians to perfluorinated carboxylates and perfluorooctane sulfonate via consumption of meat, fish, fast foods, and food items prepared in their packaging. *J Agric Food Chem* 55(8):3203-3210.

Tomy GT, Budakowski W, Halldorson T, Helm PA, Stern GA, Friesen K, et al. 2004. Fluorinated organic compounds in an eastern Arctic marine food web. *Environ Sci Technol* 38(24):6475-6481.

Turusov V, Rakitsky V, Tomatis L. 2002. Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT): ubiquity, persistence, and risks. *Environ Health Perspect* 110(2):125-128.

Turyk ME, Persky VW, Imm P, Knobeloch L, Chatterton R, Jr., Anderson HA. 2008. Hormone disruption by PBDEs in adult male sport fish consumers. *Environ Health Perspect* 116(12):1635-1641.

Uauy R, Hoffman DR, Peirano P, Birch DG, Birch EE. 2001. Essential fatty acids in visual and brain development. *Lipids* 36(9):885-895.

US EPA OoRaD. 1997. Special report on environmental endocrine disruption: an effects assessment and analysis. Washington, D.C.: U.S. Environmental Protection Agency.

van den Berg KJ, Zurcher C, Brouwer A. 1988. Effects of 3,4,3',4'-tetrachlorobiphenyl on thyroid function and histology in marmoset monkeys. *Toxicol Lett* 41(1):77-86.

van den Berg KJ. 1990. Interaction of chlorinated phenols with thyroxine binding sites of human transthyretin, albumin and thyroid binding globulin. *Chem Biol Interact* 76(1):63-75.

van den Berg M, Birnbaum LS, Denison M, De Vito M, Farland W, Feeley M, et al. 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 Raaij JA, Frijters CM, van den Berg KJ. 1993a. Hexachlorobenzene-induced hypothyroidism. Involvement of different mechanisms by parent compound and metabolite. *Biochem Pharmacol* 46(8):1385-1391.

van Raaij JA, Kaptein E, Visser TJ, van den Berg KJ. 1993b. Increased glucuronidation of thyroid hormone in hexachlorobenzene-treated rats. *Biochem Pharmacol* 45(3):627-631.

van Raaij JA, Frijters CM, Kong LW, van den Berg KJ, Notten WR. 1994. Reduction of thyroxine uptake into cerebrospinal fluid and rat brain by hexachlorobenzene and pentachlorophenol. *Toxicology* 94(1-3):197-208.

Van Vliet G. 1999. Neonatal hypothyroidism: treatment and outcome. *Thyroid* 9(1):79-84.

Van Vliet G. 2005a. Hypothyroidism in infants and children: congenital hypothyroidism. In: Werner & Ingbar's *The thyroid: a fundamental and clinical text* (Braverman LE, Utiger RD, eds). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1033-1041.

Van Vliet G. 2005b. Hypothyroidism in infants and children: neonatal screening. In: Werner & Ingbar's *The thyroid: a fundamental and clinical text* (Braverman LE, Utiger RD, eds). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1029-1033.

van Wassenaer AG, Briet JM, van Baar A, Smit BJ, Tamminga P, de Vijlder JJ, et al. 2002. Free thyroxine levels during the first weeks of life and neurodevelopmental outcome until the age of 5 years in very preterm infants. *Pediatrics* 110(3):534-539.

Vanderpump MP, Tunbridge WM, French JM, Appleton D, Bates D, Clark F, et al. 1995. The incidence of thyroid disorders in the community: a twenty-year follow-up of the Whickham Survey. *Clin Endocrinol (Oxf)* 43(1):55-68.

Vanderpump MP, Tunbridge WM. 2002. Epidemiology and prevention of clinical and subclinical hypothyroidism. *Thyroid* 12(10):839-847.

Vansell NR, Klaassen CD. 2001. Increased biliary excretion of thyroxine by microsomal enzyme inducers. *Toxicol Appl Pharmacol* 176(3):187-194.

Verreault J, Gabrielsen GW, Chu S, Muir DC, Andersen M, Hamaed A, et al. 2005. Flame retardants and methoxylated and hydroxylated polybrominated diphenyl ethers in two Norwegian Arctic top predators: glaucous gulls and polar bears. *Environ Sci Technol* 39(16):6021-6028.

Visser TJ, Kaptein E, van Toor H, van Raaij JA, van den Berg KJ, Joe CT, et al. 1993. Glucuronidation of thyroid hormone in rat liver: effects of in vivo treatment with

microsomal enzyme inducers and in vitro assay conditions. *Endocrinology* 133(5):2177-2186.

Visser TJ. 1996a. Pathways of thyroid hormone metabolism. *Acta Med Austriaca* 23(1-2):10-16.

Visser TJ. 1996b. Role of sulfate in thyroid hormone sulfation. *Eur J Endocrinol* 134(1):12-14.

Vreugdenhil HJ, Lanting CI, Mulder PG, Boersma ER, Weisglas-Kuperus N. 2002. Effects of prenatal PCB and dioxin background exposure on cognitive and motor abilities in Dutch children at school age. *J Pediatr* 140(1):48-56.

Vulsma T, Gons MH, de Vijlder JJ. 1989. Maternal-fetal transfer of thyroxine in congenital hypothyroidism due to a total organification defect or thyroid agenesis. *N Engl J Med* 321(1):13-16.

Wade MG, Parent S, Finnson KW, Foster W, Younglai E, McMahon A, et al. 2002. Thyroid toxicity due to subchronic exposure to a complex mixture of 16 organochlorines, lead, and cadmium. *Toxicol Sci* 67(2):207-218.

Walkowiak J, Wiener JA, Fastabend A, Heinzow B, Kramer U, Schmidt E, et al. 2001. Environmental exposure to polychlorinated biphenyls and quality of the home environment: effects on psychodevelopment in early childhood. *Lancet* 358(9293):1602-1607.

Wallis K, Sjogren M, van Hogerlinden M, Silberberg G, Fisahn A, Nordstrom K, et al. 2008. Locomotor deficiencies and aberrant development of subtype-specific GABAergic interneurons caused by an unliganded thyroid hormone receptor alpha1. *J Neurosci* 28(8):1904-1915.

Wang SL, Su PH, Jong SB, Guo YL, Chou WL, Papke O. 2005. In utero exposure to dioxins and polychlorinated biphenyls and its relations to thyroid function and growth hormone in newborns. *Environ Health Perspect* 113(11):1645-1650.

Wasserstrum N, Anania CA. 1995. Perinatal consequences of maternal hypothyroidism in early pregnancy and inadequate replacement. *Clin Endocrinol (Oxf)* 42(4):353-358.

Weihe P, Kato K, Calafat AM, Nielsen F, Wanigatunga AA, Needham L, et al. 2008. Serum concentrations of polyfluoroalkyl compounds in Faroese whale meat consumers. *Environ Sci Technol* 42(16):6291-6295.

Weiss J, Wallin E, Axmon A, Jonsson BA, Akesson H, Janak K, et al. 2006. Hydroxy-PCBs, PBDEs, and HBCDDs in serum from an elderly population of Swedish fishermen's wives and associations with bone density. *Environ Sci Technol* 40(20):6282-6289.

- Whanger PD. 2001. Selenium and the brain: a review. *Nutr Neurosci* 4(2):81-97.
- Wiersinga WM. 1995. Subclinical hypothyroidism and hyperthyroidism. I. Prevalence and clinical relevance. *The Netherlands journal of medicine* 46(4):197-204.
- Wilhelm M, Wittsiepe J, Lemm F, Ranft U, Kramer U, Furst P, et al. 2008. The Duisburg birth cohort study: influence of the prenatal exposure to PCDD/Fs and dioxin-like PCBs on thyroid hormone status in newborns and neurodevelopment of infants until the age of 24 months. *Mutat Res* 659(1-2):83-92.
- Wolff J. 1998. Perchlorate and the thyroid gland. *Pharmacological reviews* 50(1):89-105.
- Wolff MS, Camann D, Gammon M, Stellman SD. 1997. Proposed PCB congener groupings for epidemiological studies. *Environ Health Perspect* 105(1):13-14.
- Wolkers H, van Bavel B, Derocher AE, Wiig O, Kovacs KM, Lydersen C, et al. 2004. Congener-specific accumulation and food chain transfer of polybrominated diphenyl ethers in two arctic food chains. *Environ Sci Technol* 38(6):1667-1674.
- Wu N, Herrmann T, Paepke O, Tickner J, Hale R, Harvey LE, et al. 2007. Human exposure to PBDEs: associations of PBDE body burdens with food consumption and house dust concentrations. *Environ Sci Technol* 41(5):1584-1589.
- Yamada-Okabe T, Aono T, Sakai H, Kashima Y, Yamada-Okabe H. 2004. 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin augments the modulation of gene expression mediated by the thyroid hormone receptor. *Toxicol Appl Pharmacol* 194(3):201-210.
- Yang J-H, Kannan K, Kim S-Y, Shin I-H. 2004. Levels of perfluorooctanesulfonate and related fluorochemicals in human blood from the general population of Korea. *Organohalogen Compounds* 66:4041-4045.
- Yen PM. 2005. Genomic and nongenomic actions of thyroid hormones. In: Werner & Ingbar's *The thyroid: a fundamental and clinical text* (Braverman LE, Utiger RD, eds). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1166.
- You SH, Gauger KJ, Bansal R, Zoeller RT. 2006. 4-Hydroxy-PCB106 acts as a direct thyroid hormone receptor agonist in rat GH3 cells. *Mol Cell Endocrinol* 257-258:26-34.
- Zhang J, Lazar MA. 2000. The mechanism of action of thyroid hormones. *Annu Rev Physiol* 62:439-466.
- Zhang X, Sliwowska JH, Weinberg J. 2005. Prenatal alcohol exposure and fetal programming: effects on neuroendocrine and immune function. *Exp Biol Med* 230(6):376-388.



Zhou T, Ross DG, DeVito MJ, Crofton KM. 2001. Effects of short-term in vivo exposure to polybrominated diphenyl ethers on thyroid hormones and hepatic enzyme activities in weanling rats. *Toxicol Sci* 61(1):76-82.

Zoeller RT. 2001. Polychlorinated biphenyls as disruptors of thyroid hormone action. In: *Recent advances in the environmental toxicology and health effects of PCBs* (Fisher LJ, Hansen L, eds). Lexington, KY: University of Kentucky Press, 265-272.

Zoeller RT. 2003a. Thyroid toxicology and brain development: should we think differently? *Environ Health Perspect* 111(12):A628.

Zoeller RT. 2003b. Challenges confronting risk analysis of potential thyroid toxicants. *Risk Anal* 23(1):143-162.

Zoeller RT, Rovet J. 2004. Timing of thyroid hormone action in the developing brain: clinical observations and experimental findings. *Journal of Neuroendocrinology* 16:809-818.

Zoeller RT, Bansal R, Parris C. 2005. Bisphenol-A, an environmental contaminant that acts as a thyroid hormone receptor antagonist in vitro, increases serum thyroxine, and alters RC3/neurogranin expression in the developing rat brain. *Endocrinology* 146(2):607-612.

Zoeller RT, Tan SW, Tyl RW. 2007. General background on the hypothalamic-pituitary-thyroid (HPT) axis. *Crit Rev Toxicol* 37(1-2):11-53.

Zoeller TR, Dowling AL, Herzig CT, Iannacone EA, Gauger KJ, Bansal R. 2002. Thyroid hormone, brain development, and the environment. *Environ Health Perspect* 110 Suppl 3:355-361.