

UNIVERSITE DU DROIT ET DE LA SANTE – LILLE 2

Ecole Doctorale Biologie-Santé

Thèse de doctorat d'Université

Spécialité : Épidémiologie

**Description et déterminants de la santé respiratoire et
cardiovasculaire dans deux communautés urbaines du
Nord-Pas-de-Calais : l'enquête ELISABET 2011-2013**

Présentée et soutenue publiquement le 7 décembre 2015

Par le Docteur Jonathan Giovannelli

Rapporteurs : Monsieur le Professeur Roger Marthan

Monsieur le Docteur Daniel Eilstein

Examineurs : Monsieur le Professeur Régis Matran

Monsieur le Professeur Philippe Amouyel

Madame le Docteur Rachel Nadif

Co-directeur de Thèse : Monsieur le Docteur Luc Dauchet

Remerciements

Le travail présenté dans ce mémoire a été réalisé au sein de l'équipe INSERM U1167 (ex 744) « Facteurs de risque et déterminants moléculaires des maladies liées au vieillissement » de l'Institut Pasteur de Lille, sous la direction des Docteurs Luc Dauchet et Jean Dallongeville.

Je remercie tout d'abord les professeurs Roger Marthan, Régis Matran et Philippe Amouyel et les docteurs Daniel Eilstein et Rachel Nadif d'avoir accepté de juger ce travail. Je suis très sensible à l'intérêt qu'ils y ont porté. Nous connaissons la qualité de leurs travaux, leurs compétences et la valeur de leur jugement. Je suis honoré de leur présence dans le jury de cette thèse.

Je tiens ensuite à remercier le Docteur Luc Dauchet pour avoir encadré ce travail de thèse. Merci pour m'avoir formé à l'épidémiologie depuis tant d'années, pour ton sens de l'écoute et ta disponibilité quotidienne, ainsi que pour ta confiance. Je tiens également à remercier le Docteur Jean Dallongeville sans qui ce travail n'aurait pas été possible.

Je remercie également le Professeur Jean-Louis Salomez pour m'avoir permis de réaliser ce travail au sein du service d'épidémiologie du CHRU de Lille, pour la grande autonomie qu'il m'a toujours permis d'avoir, ainsi que pour ses conseils toujours avisés.

Je tiens à remercier chaleureusement les internes de santé publique Alexandre Quach, Guillaume Clément et Philippe Trouiller avec lesquels j'ai partagé quelques parties de ce travail. Merci pour votre sérieux et votre amitié tout au long des semestres passés ensemble, et de m'avoir permis de vous délivrer quelques connaissances.

Je tiens également à remercier l'ensemble de l'équipe l'enquête ELISABET, et notamment le Docteur Alina Ciuchete, les enquêteurs, ainsi que toutes les équipes partenaires. Je remercie tous les volontaires ayant participé à l'enquête ELISABET.

Pour finir, une dédicace à Dorine, Nila, ma mère, ma famille et mes amis, ainsi qu'à mes collègues.

Table des matières

Remerciements	3
Table des matières	4
Résumé	7
Abstract	9
Productions scientifiques liées à cette thèse	11
Publications	11
Communications en congrès	12
Productions scientifiques hors du cadre de cette thèse	13
Publications	13
Communications en congrès	13
Tâches réalisées au cours de cette thèse	15
1 Introduction générale	16
1.1 La broncho-pneumopathie chronique obstructive	16
1.1.1 Définition	16
1.1.2 Diagnostic	17
1.1.3 Définitions spirométriques d'un trouble ventilatoire obstructif	17
1.1.4 Déterminants	19
1.1.5 Impact	20
1.2 L'asthme	23
1.2.1 Définition	23
1.2.2 Diagnostic	23
1.2.3 Focus sur la fraction exhalée du monoxyde d'azote	24
1.2.4 Déterminants	26
1.2.5 Impact	26
1.3 Les maladies cardiovasculaires	29

1.3.1	Définition.....	29
1.3.2	Déterminants.....	30
1.3.3	Impact.....	32
1.4	L'enquête ELISABET	34
1.4.1	Présentation	34
1.4.2	Contexte ayant justifié le développement de l'enquête ELISABET.....	34
1.4.3	Objectifs de l'enquête ELISABET	37
1.4.4	Eléments méthodologiques	38
1.4.5	Inclusion des sujets	39
1.5	Objectifs de ce mémoire	40
1.5.1	Général	40
1.5.2	Spécifiques	40
2	Première étude – Prévalence, sous-diagnostic et facteurs associés aux troubles ventilatoires obstructifs	41
2.1	Contexte et motivation de l'étude	41
2.2	Résumé en français.....	42
2.3	Article.....	43
3	Deuxième étude – Evolution de la prévalence des principaux facteurs de risque cardiovasculaire entre 1986 et 2013 dans la communauté urbaine de Lille.....	68
3.1	Contexte et motivation de l'étude	68
3.2	Résumé en français.....	69
3.3	Article.....	70
3.4	Résultats supplémentaires : prévalence des facteurs de risque cardiovasculaire à Dunkerque.....	94
4	Troisième étude – La fraction exhalée du monoxyde d'azote et le taux d'éosinophiles sanguins sont associés à l'asthme allergique uniquement chez les non-fumeurs	96
4.1	Contexte et motivation de l'étude	96

4.2	Résumé en français.....	97
4.3	Article.....	99
5	Quatrième étude – Inflammation systémique de bas grade : un médiateur partiel de la relation entre diabète et fonction pulmonaire.....	122
5.1	Contexte et motivation de l'étude	122
5.2	Résumé en français.....	123
5.3	Article.....	124
6	Cinquième étude – Impact à court terme de la pollution atmosphérique sur la fonction respiratoire.....	145
6.1	Contexte et motivation de l'étude	145
6.2	Méthodes.....	147
6.2.1	Zones et période d'étude	147
6.2.2	Données de pollution atmosphérique et paramètres météorologiques.....	148
6.2.3	Population d'étude.....	149
6.2.4	Mesures de la fonction pulmonaire et covariables	149
6.2.5	Analyses statistiques	150
6.3	Résultats préliminaires	152
6.3.1	Analyse des zones d'étude	152
6.3.2	Sélection des stations de mesure de la pollution atmosphérique.....	153
6.3.3	Relation entre pollution et fonction respiratoire.....	158
6.4	Premiers éléments de discussion	161
7	Discussion générale.....	164
7.1	Synthèse des résultats.....	164
7.2	Apports et mise en perspective des résultats.....	167
7.3	Conclusion générale	172
	Références (hors articles).....	173

Résumé

Description et déterminants de la santé respiratoire et cardiovasculaire dans deux communautés urbaines du Nord-Pas-de-Calais : l'enquête ELISABET 2011-2013

Introduction. L'Enquête Littoral Souffle Air Biologie Environnement (ELISABET) a pour objectif général l'étude de la santé respiratoire et cardiovasculaire dans les communautés urbaines de Lille (CUDL) et Dunkerque (CUD). Les objectifs spécifiques de cette thèse sont d'étudier : (i) la prévalence et le sous-diagnostic des troubles ventilatoires obstructifs (TVO), (ii) l'évolution de la prévalence des principaux facteurs de risque cardiovasculaire (FDRCV) dans la CUDL entre 1986 et 2013, (iii) les interactions entre deux biomarqueurs de l'asthme (fraction exhalée du monoxyde d'azote (FENO) et taux d'éosinophiles sanguins (S-eos)) et le statut tabagique, (iv) le rôle de médiateur de l'inflammation chronique de bas grade dans la relation entre diabète et baisse de la fonction pulmonaire, et (v) l'impact à court terme de la pollution atmosphérique sur la fonction respiratoire.

Méthodes. Les 3276 participants (âgés de 40 à 65 ans) à l'enquête transversale ELISABET ont été sélectionnés à partir de listes électorales par échantillonnage aléatoire et inclus entre janvier 2011 et novembre 2013. Un questionnaire détaillé, des explorations fonctionnelles respiratoires et un prélèvement sanguin ont été effectués. (i) Les TVO ont été définis par un rapport du volume expiratoire maximal à la première seconde (VEMS) sur la capacité vitale forcée (CVF) inférieur à 0,70 ou à la limite inférieure de la normale calculée à partir des dernières équations de référence disponibles. (ii) La prévalence des principaux FDRCV a été estimée à partir d'échantillons représentatifs de la population de la CUDL issus des enquêtes MONICA₁₉₈₆₋₈₈, MONICA₁₉₉₅₋₉₆, MONALISA₂₀₀₅₋₀₇ et ELISABET₂₀₁₁₋₁₃. (iii) L'asthme allergique a été défini comme un asthme (auto-déclaration, et sifflements dans la poitrine dans les 12 derniers mois ou prise de traitement) avec terrain atopique. (iv) Le diabète était défini par la prise d'un traitement antidiabétique ou une glycémie à jeun $\geq 1,26$ g/L ou des valeurs d'hémoglobine A1c $\geq 6,5$ %. L'inflammation chronique a été mesurée par la Protéine C réactive ultra-sensible (CRP_{us}). Une analyse de médiation a été conduite sur un échantillon de sujets sans pathologie respiratoire ni athérosclérotique. (v) Les valeurs des particules inférieures à 10 μm de diamètre (PM₁₀) et du dioxyde d'azote (NO₂) ont été fournies par les stations de mesure ATMO des CUDL et CUD.

Principaux résultats. (i) La prévalence des TVO s'étendait de 9,5 % à 16 % (dépendant du centre et de la définition utilisée) ; le taux de sous-diagnostic était élevé (environ 75 %). (ii) La prévalence des principaux FDRCV diminuait régulièrement sur une période de 25 ans, à l'exception de l'usage du tabac chez les femmes, du diabète chez les hommes (tous deux stables) et de la surcharge pondérale chez les hommes (augmentée). (iii) Une interaction positive entre le statut tabagique et l'asthme allergique a été observée dans les modèles expliquant le FENO ($p = 0,003$) et les S-eos ($p = 0,001$). Ainsi, les participants souffrant d'asthme allergique avaient (comparés à ceux n'en souffrant pas) des valeurs plus élevées de FENO (+ 63,4 %, IC 95 % = [39; 92]) et de S-eos (+ 63,2 % [38,2; 92,7]) chez les non-fumeurs, mais pas chez les fumeurs actifs. (iv) Le diabète était associé à une diminution des pourcentages prédits du VEMS (-3,5 % [-5,8; -1,3]) et de la CVF (-3,6 % [-5,9; -1,3]). La force de ces associations diminuait (-3,1 % [-5,4; -0,9] pour les deux) après ajustement sur la CRPus. Ainsi, la part médiée de la CRPus valait 12 % [2,4; 37] et 13 % [3,7; 39,4] pour le VEMS et la CVF, respectivement. (v) Les mesures de PM10 et NO2 semblaient associées à une diminution du débit expiratoire maximal à 25 % de la CVF (résultat préliminaire).

Conclusion. Les données de l'enquête ELISABET ont permis l'étude de la prévalence des TVO et des principaux FDRCV au sein de notre population d'étude. Elles ont également permis d'obtenir des résultats analytiques originaux à partir d'études épidémiologiques et cliniques.

Abstract

Description and determinants of respiratory and cardiovascular health in two urban areas in the Nord-Pas-de-Calais region: the 2011-2013 ELISABET survey

Introduction. The general goal of the ELISABET (Enquête Littoral Souffle Air Biologie Environnement) survey is to study the respiratory and cardiovascular health in two urban areas in northern France (Lille and Dunkirk). The specific objectives of this thesis are to study: (i) the prevalence and underdiagnosis of airway obstruction (AO), (ii) long-term time trends in the prevalence of cardiovascular risk factors between 1986 and 2013 in the Lille urban area, (iii) the relationships between both the fractional exhaled nitric oxide (FENO) and the blood eosinophil count (B-eos) on one hand and asthma and atopy on the other, according to smoking status, (iv) whether low-grade systemic inflammation (as measured by the level of high sensitivity-C-reactive protein, hs-CRP) mediated the relationship between diabetes and lung function, and (v) the short-term impact of atmospheric pollution on lung function.

Methods. The 3276 participants (aged from 40 to 64) in the 2011-2013 ELISABET cross-sectional survey were selected from electoral rolls by random sampling, and recruited between January 2011 and November 2013. A detailed questionnaire, lung function tests, and a blood sample collection were performed. (i) AO was defined by a forced expiratory volume in the first second (FEV1) to forced vital capacity (FVC) ratio below 0.70 or below the lower limit of normal calculated by the most recent reference equations of the Global Lung Initiative. (ii) The prevalence of the main cardiovascular risk factors was estimated from representative samples inhabitants of Lille urban area from MONICA₁₉₈₆₋₈₈, MONICA₁₉₉₅₋₉₆, MONALISA₂₀₀₅₋₀₇ and ELISABET₂₀₁₁₋₁₃ surveys. (iii) Allergic asthma was defined as asthma (a self-report of physician-diagnosed asthma, and wheezing in the previous 12 months or the use of asthma medications) with atopy. (iv) Diabetes mellitus was defined as ongoing diabetes treatment or a fasting blood glucose level ≥ 1.26 g/L or a hemoglobin A1c value $\geq 6.5\%$. A mediation analysis was performed to assess and quantify the hs-CRP level as a mediator of the relationship between diabetes and lung function from a sample of participants without self-reported pulmonary and atherosclerotic disease. (v) Measurements

of particles less than 10 µm in diameter (PM10) and nitrogen dioxide (NO₂) were provided by measuring stations ATMO in the two urban areas.

Main results. (i) The prevalence of AO in northern France ranged from 9.5 to 16.0%, depending on the centre and definition used; the underdiagnosis rate was high (around 75%). (ii) A steady decline in the prevalence of cardiovascular risk factors over a 25-year period was observed, with the exception of tobacco use in women, prevalence of diabetes in men (both of which remained stable) and prevalence of overweight in men (which increased). (iii) A positive interaction between smoking status and allergic asthma was observed in multivariate models explaining FENO ($p=0.003$) and B-eos ($p=0.001$). Thus, compared to those without allergic asthma, participants with allergic asthma had higher FENO values (+63.4%, 95%CI=[39; 92]) and higher B-eos (+63.2% [38.2; 92.7]) in never and former smokers, but not in current smokers. (iv) Diabetes was associated with FEV₁ (-3.5% [-5.8; -1.3]) and FVC (-3.6% [-5.9; -1.3]). Strength of both latter associations fell to -3.1% [-5.4; -0.9] after adjustment for hs-CRP. Hence, the proportion of the effect that is mediated by hs-CRP was 12% [2.4; 37] and 13% [3.7; 39.4] for FEV₁ and FVC, respectively. (v) Measurements of PM₁₀ and NO₂ seemed to be associated with lower values of the expiratory flow at 25% of the FVC (preliminary result).

Conclusion. Data from the ELISABET survey have allowed the study of the prevalence of AO and the main cardiovascular risk factors in our population. They also allowed obtaining original results from epidemiological and clinical studies.

Productions scientifiques liées à cette thèse

Publications

Articles scientifiques publiés ou acceptés dans des revues internationales

Quach A¹ & Giovannelli J¹, Chérot-Kornobis N, et al. Prevalence and under-diagnosis of airway obstruction among middle-aged adults in the north of France from the Elisabet survey 2011-2013. **Resp Med.** [Accepté le 2015-10-25]

Giovannelli J, Chérot-Kornobis N, Hulo S, et al. Both fractional exhaled nitric oxide and blood eosinophilic count were associated with mild allergic asthma only in non-smokers. **Clin Exp Allergy.** [Accepté le 2015-09-28]

Articles scientifiques soumis

Giovannelli J¹ & Trouiller P¹, Hulo S, et al. Low-grade systemic inflammation: a partial mediator of the relationship between diabetes and lung function.

Clément G, Giovannelli J, Cotel D, et al. Trends in prevalence of main cardiovascular risk factors between 1986 and 2013 in the Urban Community of Lille, Nord, France: the MONICA, MONALISA and ELISABET surveys.

Articles scientifiques en cours de rédaction

Giovannelli J, et al. Short-term impact of atmospheric pollution on lung function.

Articles scientifiques publiés ou acceptés dans le cadre d'un groupe de travail collaboratif

NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Effects of diabetes definition on global surveillance of diabetes prevalence and diagnosis: a pooled analysis of 96 population-based studies with 331 288 participants. **Lancet Diabetes Endocrinol.** 2015 Jun 19.

¹ Co-premier auteur

Communications en congrès

Orales

Giovannelli J², Chérot-Kornobis N, Amouyel P, Ciuchete A, Matran R, Dauchet L. NO expiré : valeurs de référence et facteurs associés chez des adultes français participant à l'étude Elisabet. Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique. 2014 Sep;62, Supplement 5:S193. **Congrès International d'Epidémiologie ADELFF – EPITER**, Nice, 2014

Affichées

Quach A, Giovannelli J, Matran R, Ciuchete A, Clement G, Amouyel P, et al. Prévalence des troubles ventilatoires obstructifs chez des adultes du nord de la France issus de l'enquête ELISABET 2011–2013. Revue des Maladies Respiratoires. 2015 Jan;32, Supplement:A39. **Congrès de pneumologie en langue française**, Lille, 2015

Giovannelli J, Chérot-Kornobis N, Amouyel P, Ciuchete A, Matran R, Clement G, et al. Monoxyde d'azote exhalé : facteurs associés, valeurs de référence et seuils pour l'interprétation clinique chez des adultes du Nord de la France. Revue des Maladies Respiratoires. 2015 Jan;32, Supplement:A51–A52. **Congrès de pneumologie en langue française**, Lille, 2015

² Présentation de la communication orale

Productions scientifiques hors du cadre de cette thèse

Publications

Articles scientifiques publiés ou acceptés dans des revues internationales

Sobanski V, Giovannelli J, Lynch BM, et al. Characteristics and survival of patients with anti-U1RNP antibodies in connective tissue disease associated pulmonary arterial hypertension. **Arthritis Rheumatol Hoboken NJ**. 2015 Sep 28

Giovannelli J, Coevoet V, Vasseur C, Gheysens A, Basse B, Houyengah F. How can screening for malnutrition among hospitalized patients be improved? An automatic e-mail alert system when admitting previously malnourished patients. **Clin Nutr**. 2014 Sep 30

Giovannelli J, Dallongeville J, Wagner A, Bongard V, Laillet B, Marecaux N, et al. Validation of a Short, Qualitative Food Frequency Questionnaire in French Adults Participating in the MONA LISA-NUT Study 2005-2007. **J Acad Nutr Diet**. 2013 Sep 28;114(4):552-61

Giovannelli J, Loury P, Lainé M, Spaccaferri G, Hubert B, Chaud P. Forecasts of health care utilization related to pandemic A(H1N1)2009 influenza in the Nord-Pas-de-Calais region, France. **Public Health**. 2015 May;129(5):493–500

Communications en congrès

Orales

Sobanski² V, Giovannelli J, Riemekasten G, Airò P, Vettori S, Cozzi F, et al. Phenotypes Determined by Cluster Analysis and their Survival in the Prospective Eustar Cohort of Patients with Systemic Sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 2015 Jun 9;74(Suppl 2):90.1–90. **Annual European Congress of Rheumatology EULAR 2015**, Rome, 2015

Giovannelli J², Coevoet V, Vasseur C, Gheysens A, Basse B, Houyengah F. O48 Un système d'alerte Email automatisé lors de la réadmission de patients ayant présenté une dénutrition antérieure au Centre Hospitalier de Dunkerque, France, 2012. *Nutr Clin Métabolisme*. 2013 Dec;27, Supplement 1:S47–S48. **Journées Francophones de Nutrition**, Bordeaux, 2013

Giovannelli J², Simon C, Ferrieres J, Arveiler D, Dauchet L. Validation d'un questionnaire de fréquence alimentaire court et qualitatif. Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique. 2012 Sep;60, Supplement 2(0):S95. **Congrès International d'Epidémiologie ADELf – EPITER**, Bruxelles, 2012

Giovannelli J², Loury P, Hubert B, Chaud P. Estimations régionales du recours aux soins lors de la pandémie de grippe A(H1N1)2009. Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique. 2012 Sep;60, Supplement 2(0):S76. **Congrès International d'Epidémiologie ADELf – EPITER**, Bruxelles, 2012

Affichées

Giovannelli J, Coevoet V, Vasseur C, Gheysens A, Basse B, Houyengah F. Un système d'alerte e-mail automatisé lors de la réadmission de patients précédemment dénutris, Dunkerque, 2012. Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique. 2014 Sep;62, Supplement 5:S241–S242. **Congrès International d'Epidémiologie ADELf – EPITER**, Nice, 2014

Giovannelli J, Vasseur C, Gheysens A, Basse B, Houyengah F. Mise en place et évaluation d'un système d'alertes par e-mail lors de la réadmission de patients ayant présenté un état antérieur de malnutrition au centre hospitalier de Dunkerque, France. Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique. 2013 Mar;61, Supplement 1(0):S26. **Journées EMOIS**, Nancy, 2013

Giovannelli J, Dallongeville J, Simon C, Wagner A, Ferrieres J, Arveiler D, et al. P036 Validation d'un questionnaire de fréquence alimentaire court et qualitatif. Nutrition Clinique et Métabolisme. 2011 Dec;25:S70. **Journées Francophones de Nutrition**, Reims 2011

Tâches réalisées au cours de cette thèse

Je me suis inscrit en doctorat d'Université dès le début de mon clinicat de santé publique (dans le service d'épidémiologie du CHRU de Lille), début novembre 2012. L'inclusion des participants à l'enquête Elisabet s'est déroulée de janvier 2011 à novembre 2013. Lors de ma première année de thèse, j'ai accompagné la dernière phase du recrutement des sujets, travaillé à la validation et au nettoyage des données déjà recueillies, et surtout à l'automatisation des différentes étapes de data-management afin de pouvoir disposer le plus rapidement possible des données pour effectuer les premières études à l'issue de la période d'inclusion. J'ai fusionné l'ensemble des bases de données de l'enquête, vérifié et corrigé les incohérences. J'ai également inclus des données d'autres sources (données de pollution et météorologiques notamment, courant 2014). L'ensemble de ce travail a permis la construction de la base de données exploitable pour mes deuxième et troisième années de doctorat.

Celles-ci ont principalement été consacrées à la réalisation d'études épidémiologiques et cliniques et à la rédaction d'articles scientifiques. Pour certaines études, j'ai encadré (ou co-encadré) des internes de santé publique et participé avec eux à chacune des étapes de leur réalisation. Ma participation pour chacun des travaux est détaillée préalablement à la présentation de chaque étude de cette thèse sur articles.

1 Introduction générale

Les différents travaux décrits dans ce mémoire de thèse s'intéressent aux pathologies respiratoires, en particulier la broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO) et l'asthme, ainsi qu'aux maladies cardiovasculaires, au niveau de la population de l'enquête ELISABET. Les trois premiers chapitres de cette introduction générale présentent chacune de ces trois entités pathologiques, au travers d'éléments généraux portant sur leur définition, leurs méthodes de diagnostic, leurs déterminants, ainsi que leur impact.

Des éléments de contexte et de méthode de l'enquête ELISABET sont ensuite détaillés. Enfin, les objectifs généraux et spécifiques de ce travail de thèse sont exposés.

1.1 La broncho-pneumopathie chronique obstructive

1.1.1 Définition

La BPCO est caractérisée par une limitation progressive du flux d'air pulmonaire. Elle est associée à une inflammation chronique des voies aériennes se manifestant par un remaniement de la paroi bronchique, avec dépôt de tissu conjonctif et destruction de la barrière épithéliale, et une perturbation de la clairance mucociliaire conduisant à une accumulation de mucus dans la lumière des bronches (Hogg 2004; GOLD report 2015). Ces phénomènes sont généralement concomitants d'une destruction emphysémateuse des poumons, qui entraîne leur expansion et réduit le calibre des bronches par compression. L'obstruction et la compression des conduits respiratoires engendrent une résistance, qui entraîne la dégradation de la fonction respiratoire : le temps d'expiration augmente et le trouble ventilatoire s'installe de manière progressive (Hogg 2004). Cette inflammation est le résultat d'agressions causées par des particules inhalées. L'exposition aux particules issues de la fumée du tabac est ainsi le principal facteur de risque de développer une BPCO. Par ailleurs, l'exposition aux particules polluantes de l'air intérieur et extérieur (notamment par les modes de chauffage ou de cuisson, les expositions d'origine professionnelle ou polluants atmosphériques) semble être un facteur de risque rencontré en particulier dans les pays à faibles revenus (Liu et al. 2008).

1.1.2 Diagnostic

La BPCO débute généralement par une symptomatologie de bronchite chronique. Celle-ci est définie par une toux accompagnée d'expectorations, pendant au moins 3 mois durant deux années consécutives (Pauwels & Rabe 2004). D'autres symptômes sont fréquemment retrouvés dans la BPCO, comme la dyspnée, les sifflements respiratoires et l'altération de l'état général. Le contexte d'intoxication tabagique (ou d'exposition à un autre facteur de risque, par exemple une exposition professionnelle) est fréquemment retrouvé et constitue un élément important à rechercher dans le diagnostic d'une BPCO.

La confirmation du diagnostic de BPCO est apportée en pratique clinique par l'examen spirométrique, qui retrouve un trouble ventilatoire obstructif (TVO), non réversible après administration d'un bronchodilatateur (Miller et al. 2005). Un TVO est défini par une diminution du rapport du volume expiratoire maximal à la première seconde (VEMS) sur la capacité vitale forcée (CVF). Cependant, le seuil au deçà duquel ce rapport est considéré comme pathologique diffère selon les auteurs (Vestbo et al. 2013; Quanjer, Stanojevic, et al. 2012; Stanojevic et al. 2008; Hankinson et al. 1999). La réversibilité, quant à elle, est définie dans la majorité des études par une augmentation de 12 à 15 % du VEMS et/ou de la CVF, supérieure à 200 mL, après inhalation d'un bronchodilatateur (Pellegrino et al. 2005).

L'utilisation de la spirométrie a également été largement adoptée dans les études épidémiologiques pour définir une BPCO (Mannino & Buist 2007; Menezes et al. 2004; Buist et al. 2005).

1.1.3 Définitions spirométriques d'un trouble ventilatoire obstructif

1.1.3.1 Critères GOLD

La Global initiative for chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) est un groupe de travail international qui a élaboré des critères diagnostiques permettant d'homogénéiser la définition des BPCO. Ceux-ci font l'objet de recommandations régulièrement mises à jour, et sont depuis largement utilisés (Vestbo et al. 2013; GOLD report 2015). La BPCO est définie, selon les critères du GOLD, par un rapport VEMS/CVF inférieur à un seuil fixe de 0.70 (après administration d'un test de réversibilité). Les critères du GOLD définissent 4 grades de sévérité, à partir du rapport entre la valeur mesurée du VEMS et sa valeur théorique : grade I ou léger (VEMS > 80 %), grade II ou modéré (VEMS < 80 %), grade III ou sévère (VEMS < 50 %) et grade IV ou très sévère (VEMS < 30 %) (GOLD report 2015). Les valeurs

théoriques sont calculées grâce à des équations de calcul élaborées à partir de populations de référence, non pathologiques (Quanjer et al. 1993; Hankinson et al. 1999; Quanjer, Stanojevic, et al. 2012).

1.1.3.2 Limite inférieure de la normale

L'utilisation d'un seuil fixe de 0.70 pour définir une BPCO ne tient cependant pas compte de la diminution physiologique du rapport VEMS/CVF avec l'âge, et de ses modifications en fonction du sexe, de la taille, et de l'ethnie (Quanjer et al. 1993). Ainsi, certains auteurs ont proposé d'utiliser un seuil, non plus fixe, mais calculé pour chaque individu en tenant compte de ces facteurs. Ce seuil est nommé la limite inférieure de la normale (LLN). Il correspond au 5^{ème} percentile (parfois 2,5^{ème}) de la valeur théorique du rapport VEMS/CVF, calculée à partir d'équations de référence. L'European Respiratory Society (ERS) et l'American Thoracic Society (ATS) ont recommandé à de nombreuses reprises l'emploi d'une LLN (Bakke et al. 2011).

Il existe de nombreuses équations de référence permettant de calculer les valeurs théoriques des paramètres spirométriques. Les principales équations sont celles de l'European Coal and Steel Community (ECSC), recommandées pour la population européenne (Quanjer et al. 1993), celles de la National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) III, recommandées pour la population nord-américaine (Hankinson et al. 1999), et celles de la Global Lung Initiative (GLI), publiées en 2012. Les équations du GLI 2012 sont les plus récentes mises à disposition de la communauté scientifique (Quanjer, Stanojevic, et al. 2012). La Global Lung Initiative est un groupe de travail international chargé de définir des valeurs de référence pouvant s'appliquer à l'ensemble de la population mondiale, de tous âges, en prenant en compte le caractère ethnique des sujets. Elles ont été calculées à partir d'un échantillon de 97 759 sujets issus de nombreux pays.

1.1.3.3 Discussion autour des définitions utilisées

Les auteurs demeurent partagés entre l'usage d'un seuil fixe ou d'une LLN (Bhatt et al. 2014; Quanjer et al. 2014; Miller 2014; Di Marco et al. 2013; Vollmer et al. 2009). En effet, l'utilisation des critères du GOLD conduirait à un biais important dans l'estimation de la prévalence des BPCO du fait de la diminution de la fonction respiratoire concomitante de l'âge (Quanjer, Hall, et al. 2012). Cependant, l'élaboration des équations de calcul et leur applicabilité à toutes les populations ont également été discutées (Backman et al. 2015;

Marks 2012; Aggarwal et al. 2011). De plus, les auteurs utilisent encore diverses équations de référence dans leur méthodologie d'étude, rendant délicates les comparaisons entre études. En résumé, aucun consensus n'a encore pu être atteint à ce jour et les deux méthodes sont employées, ensemble ou indépendamment (Rycroft et al. 2012).

1.1.4 Déterminants

Bien que le tabagisme soit le facteur de risque de BPCO le plus important et le mieux étudié, il n'est pas le seul (Eisner et al. 2010). Un certain nombre d'études épidémiologiques ont d'ailleurs observé le développement d'un TVO chez des non-fumeurs (Lamprecht et al. 2011; Celli et al. 2005; Behrendt 2005). Le développement d'une BPCO résulte d'une interaction gène-environnement. Parmi les personnes ayant la même histoire d'intoxication tabagique, tous ne développeront pas une BPCO en raison de différences au niveau de la prédisposition génétique à la maladie (GOLD report 2015). De plus, les relations entre les déterminants de la BPCO sont complexes, avec notamment un certain nombre d'interactions qui reste à étudier.

Des facteurs de risque génétiques ont été mis en évidence. Le plus étudié concerne le déficit en alpha-1-antitrypsine. Il affecte environ une sur 2000 à 5000 personnes et se caractérise cliniquement par une hépatopathie et de l'emphysème à début précoce. En effet, bien que l'alpha-1-antitrypsine soit produite principalement par le foie, sa fonction principale est de protéger les poumons contre les dommages protéolytiques de l'élastase produite par les polynucléaires neutrophiles (Stoller & Aboussouan 2005).

L'âge et le sexe masculin sont classiquement associés indépendamment à la BPCO, mais il est toujours délicat de dissocier leurs effets propres de ceux des expositions auxquelles ils sont liés (GOLD report 2015). De plus, un faible poids à la naissance semble associé à une moins bonne fonction pulmonaire chez l'adulte (Barker et al. 1991). Il reflète le développement pulmonaire, qui est lié à des processus qui se produisent pendant la gestation, la naissance, et des expositions pendant l'enfance et l'adolescence.

Des expositions à des particules fines autres que celles issues de la fumée de cigarette (pipe, cigare, mais également cannabis) sont également des facteurs de risque de BPCO. Les expositions professionnelles, y compris aux poussières organiques et inorganiques et aux agents chimiques et aux fumées, sont des facteurs de risque souvent sous-estimés (Trupin et al. 2003). Un certain nombre d'études a observé que la pollution intérieure issue des modes de cuisson et de chauffage dans des logements mal ventilés est un facteur de risque

important de BPCO, principalement dans les pays à revenus faibles ou intermédiaires (Liu et al. 2008; Gall et al. 2013; Ezzati 2005). Le rôle de la pollution de l'air extérieur dans le développement de la BPCO est incertain. Il est en effet délicat d'évaluer les effets individuels de chaque polluant dans le cadre d'une exposition à long terme à la pollution atmosphérique (GOLD report 2015). Cependant, la pollution de l'air provenant de la combustion de combustibles fossiles, principalement par les émissions des véhicules à moteur dans les villes, est associée à une baisse de la fonction respiratoire (Sunyer et al. 2006; Schikowski et al. 2005; Karakatsani et al. 2003; Peters et al. 1999; Abbey et al. 1998). Cependant, même si les effets de la pollution de l'air extérieur semblent être faibles par rapport à ceux de la cigarette, l'ensemble de la population urbaine y est exposé.

Enfin, l'asthme pourrait être un facteur de risque pour le développement de la BPCO, bien que les preuves ne soient pas concluantes (GOLD report 2015).

1.1.5 Impact

La BPCO est une cause majeure de morbidité et de mortalité dans le monde et est responsable d'un fardeau économique et social à la fois important et en augmentation (GOLD report 2015). La prévalence de la BPCO, sa morbidité et sa mortalité varient de manière très importante selon les pays et entre les différents groupes au sein des pays. Cette pathologie est la conséquence d'expositions cumulées pendant des décennies. Souvent, la prévalence de la BPCO est directement liée à la prévalence du tabagisme, bien que dans de nombreux pays, la pollution de l'air extérieur, intérieur et les expositions professionnelles soient les principaux facteurs de risque de la BPCO (Salvi & Barnes 2009). Deux grandes études internationales ont cherché à estimer la prévalence des BPCO. L'étude BOLD retrouvait en 2007 des prévalences de BPCO (GOLD tous stades) estimées entre 11,4 % et 26,1 % chez les 52-60 ans de 12 pays. Pour les stades GOLD II ou plus, elles étaient comprises entre 5,9 % et 19,1 % (Buist et al. 2007). L'étude PLATINO avait quant à elle relevé en 2005 des prévalences de BPCO (GOLD tous stades) s'étendant de 11,9 % à 19,4 % chez des sujets de plus de 40 ans issus de cinq villes d'Amérique latine. Les prévalences des BPCO stades GOLD II ou plus étaient estimées entre 2,6 % et 7,1 % (Menezes et al. 2005). De plus, dans leur méta-analyse de 2006, Halbert et al. estimaient la prévalence globale des BPCO à 8,9 %. Ce résultat était issu de 26 études utilisant des critères spirométriques uniquement, publiées entre 1990 et 2004 (Halbert et al. 2006).

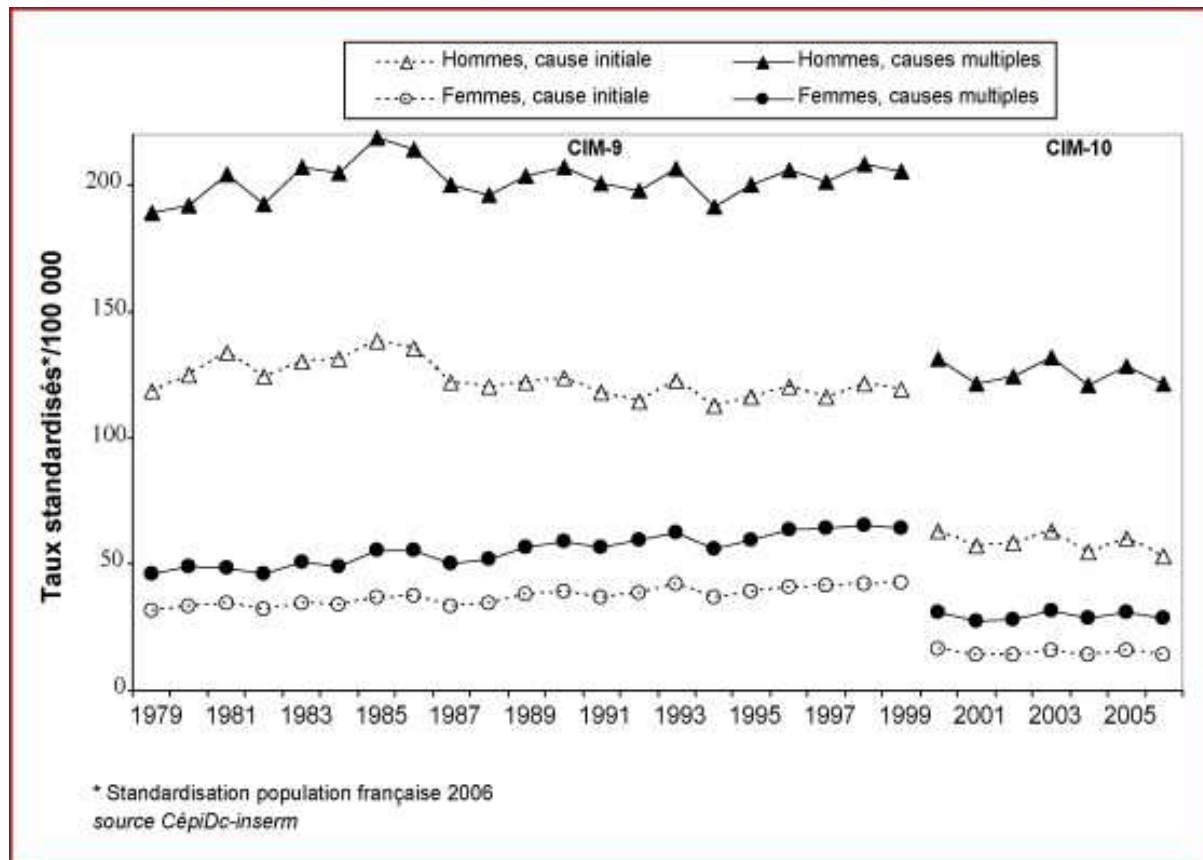
Pour mesurer l'impact d'une pathologie en terme de morbidité, des estimations du nombre d'années de vie perdues corrigées de l'incapacité (disability adjusted life years (DALYs) en anglais) sont estimées par l'Organisation mondiale de la santé (OMS). A titre d'exemple, elles s'élevaient à 120/100 000 au Japon, 270/100 000 en France et 426/100 000 aux USA. La BPCO représentait la dixième cause de perte totale de DALYs, à la fois dans les pays à revenus élevés (2,4 % du total des DALYs), et dans les pays à revenus faibles ou intermédiaires (2,5 %) (Lopez et al. 2006). Enfin, des données récentes du Global Burden of Disease Study classaient la BPCO comme la troisième cause de mortalité dans le monde (Lozano et al. 2012). Malgré son impact en terme de morbidité et de mortalité, il est maintenant bien connu que la BPCO est fortement sous-diagnostiquée (Mannino & Buist 2007; Hill et al. 2010; Soriano et al. 2010; Moreira et al. 2014; Evans et al. 2014). Ce phénomène s'explique en partie par le fait que les patients ne reconnaissent pas leurs symptômes qui s'installent progressivement.

Très peu de données épidémiologiques sont disponibles en France. Il n'y a notamment aucune estimation de la prévalence des TVO ou de BPCO sur critères spirométriques en population générale. Roche et al. estimaient en 2008 la prévalence des TVO (GOLD tous stades) d'une population française professionnellement active, recrutée en centres de santé, à 7,5 % (Roche et al. 2008). Deux autres études estimaient la prévalence des symptômes de bronchite chronique dans deux échantillons d'adultes en population générale à 3,4 % et 4,1 % (Ferré et al. 2012; Huchon et al. 2002).

Les données de mortalité (voir le graphique page suivante) montraient une relative stabilité de la mortalité par BPCO (la mise en place de la CIM-10 et d'un logiciel de codage automatique des causes de décès en 2000 ayant entraîné une discontinuité dans les tendances au cours du temps de la mortalité, deux périodes sont considérées : 1979–1999 et 2000–2006) (Fuhrman & Delmas 2010).

Nous n'avons pas retrouvé de donnée de prévalence de la BCPO dans la région Nord-Pas-de-Calais. L'analyse des causes de décès, sur la période 2007-2010, montrait qu'il existe une surmortalité importante par BPCO dans la région par rapport à la France métropolitaine concernant les hommes (indice comparatif de mortalité (ICM) = 160 [145 ; 173]), mais pas les femmes (ICM = 111 [99 ; 123]). La région Nord-Pas-de-Calais est caractérisée par une mortalité prématurée (chez les moins de 65 ans) très importante, en particulier chez les

hommes. Ce phénomène est retrouvé concernant la BPCO, pour laquelle on observe une surmortalité prématurée liée à la BPCO importante chez les hommes (ICM = 200 [179 ; 223]), mais pas chez les femmes (ICM = 87 [113 ; 145]) (www.orsnpdc.org).



Mortalité liée à la BPCO (causes multiples) et par BPCO (cause initiale) chez des adultes âgés de 45 ans ou plus de la France métropolitaine. Sources : CépiDC-Inserm (Fuhrman & Delmas 2010)

1.2 L'asthme

1.2.1 Définition

La Global Initiative for Asthma (GINA), dans ses dernières recommandations, proposait une définition de l'asthme très générale : « l'asthme est une maladie hétérogène, généralement caractérisée par une inflammation chronique des voies aériennes. Elle est définie par des symptômes respiratoires tels qu'une respiration sifflante, un essoufflement, une oppression thoracique et une toux qui varient dans le temps et d'intensité, avec une limitation expiratoire variable du flux d'air ». De nombreuses cellules et éléments cellulaires jouent un rôle dans l'inflammation chronique des voies respiratoires associée à la maladie asthmatique. L'inflammation chronique est associée à l'hyperréactivité bronchique qui conduit à des épisodes récurrents de sifflements dans la poitrine, d'essoufflement, d'oppression thoracique et de toux, surtout la nuit ou tôt le matin. Ces épisodes sont généralement associés à une obstruction des voies respiratoires, variable et souvent réversible spontanément ou avec l'aide d'un traitement (Bateman et al. 2008).

L'asthme allergique est la manifestation de la maladie asthmatique la plus fréquemment rencontrée. L'inflammation chronique des voies respiratoires y est caractérisée par une infiltration éosinophilique intense. Des données récentes suggèrent que l'inflammation entraîne un recrutement de lymphocytes T-helper 2 et une réponse immunitaire inappropriée aux allergènes communs (Paul & Zhu 2010).

1.2.2 Diagnostic

Le diagnostic clinique de l'asthme est suggéré par des symptômes tels qu'un essoufflement épisodique, une respiration sifflante, une toux et une oppression thoracique (Levy et al. 2006). L'apparition des symptômes après une exposition à un allergène, la variabilité saisonnière des symptômes et les antécédents familiaux d'asthme et d'atopie sont des éléments utiles au diagnostic (Bateman et al. 2008).

Bien que le diagnostic de l'asthme soit habituellement basé sur la présence de symptômes caractéristiques, les patients souffrant d'asthme ont souvent une mauvaise reconnaissance et une mauvaise perception de la gravité de leurs symptômes, surtout si leur asthme est ancien (Killian et al. 2000). Ainsi, des mesures de la fonction pulmonaire par examen spirométrique permettent de confirmer la présence d'un TVO et d'en mesurer la

réversibilité, et ainsi d'améliorer grandement la fiabilité du diagnostic. Le degré de réversibilité du VEMS généralement utilisé est $\geq 12\%$ et ≥ 200 ml de la valeur pré-bronchodilatation (Pellegrino et al. 2005). La mesure du débit expiratoire de pointe effectuée à l'aide d'un débitmètre de pointe peut également constituer une aide importante, à la fois pour le diagnostic et le suivi de l'asthme.

L'Inflammation éosinophilique de l'asthme allergique peut être évaluée avec des procédures invasives telles que des biopsies et des lavages broncho-alvéolaires. Plus récemment, des méthodes peu invasives ont été étudiées. Il s'agit notamment de biomarqueurs sanguins (par exemple, la protéine cationique éosinophile, l'ostéocalcine ou le nombre d'éosinophiles), du comptage du nombre d'éosinophiles dans les crachats ou dans un lavage nasal, et de la fraction exhalée du monoxyde d'azote (FENO) (Beghè et al. 2015; Amorim et al. 2015). Nous nous intéressons particulièrement au FENO dans le chapitre suivant. En effet, cette méthode fait l'objet du troisième travail présenté dans ce mémoire.

1.2.3 Focus sur la fraction exhalée du monoxyde d'azote

Le monoxyde d'azote (NO) endogène est produit à partir de L-arginine par l'enzyme NO synthase (Kostikas et al. 2011). La fraction exhalée du NO est un marqueur de l'inflammation éosinophilique pulmonaire (Kostikas et al. 2011; Guo et al. 1995) qui diminue en réponse au traitement par corticostéroïdes (Dweik et al. 2011; Kharitonov et al. 1994). Il est potentiellement utile pour évaluer le niveau d'inflammation des voies aériennes, à la fois chez les patients non diagnostiqués présentant des symptômes respiratoires non spécifiques, et chez ceux avec une maladie des voies respiratoires établie (principalement l'asthme), en particulier pour évaluer la réponse aux traitements corticoïdes et guider leur utilisation (Bjermer et al. 2014).

Cependant, son interprétation est délicate, car la variabilité interindividuelle des mesures du FENO est très importante (Dweik et al. 2011). Un certain nombre d'études ont recherché ses facteurs associés. Ainsi, l'âge (Karrasch et al. 2011; Travers et al. 2007; Olin et al. 2006), le sexe masculin (See & Christiani 2013; Travers et al. 2007; Olin et al. 2006), la taille (See & Christiani 2013; Kovesi et al. 2008; Olin et al. 2006), le poids (Kim et al. 2010), l'atopie (See & Christiani 2013; Travers et al. 2007; Olin et al. 2006), le taux d'éosinophiles sanguins (Brody et al. 2013), une infection respiratoire récente (Karrasch et al. 2011; Dressel et al. 2008; Levesque et al. 2008), une exposition à des polluants atmosphériques (Modig et al. 2014; Liu et al. 2013; Huang et al. 2012), et l'alimentation (un repas riche en nitrate avant une mesure

du FENO) (Vints et al. 2005; Olin et al. 2001) augmenteraient les valeurs du FENO, alors que le tabagisme actif (See & Christiani 2013; Bommarito et al. 2008; Travers et al. 2007; Olin et al. 2006) et passif (See & Christiani 2013) les diminueraient. D'autres facteurs comme l'éthnicité (Brody et al. 2013; See & Christiani 2013; Kovesi et al. 2008), l'heure de la mesure (Brody et al. 2013; Antosova et al. 2009; Kharitonov et al. 2003) ou la réalisation préalable d'examen spirométriques (Silkoff et al. 1999; Deykin et al. 1998) seraient également associés au FENO. Cependant, ces facteurs n'expliquent qu'une faible proportion de la variance totale des mesures du FENO (Dweik et al. 2011; See & Christiani 2013; Karrasch et al. 2011; Dressel et al. 2008; Travers et al. 2007; Taylor et al. 2007).

Afin de faciliter l'interprétation des valeurs du FENO chez les adultes, quelques études ont estimé les valeurs de référence du FENO parmi un échantillon de sujets sains. La valeur de référence supérieure semblerait comprise entre 35 et 45 ppb (Brody et al. 2013; See & Christiani 2013; Kim et al. 2010; Matsunaga et al. 2010; Travers et al. 2007; Olin et al. 2001). En 2011, l'American Thoracic Society (ATS) publiait des recommandations pour l'utilisation du FENO en pratique clinique. Elles recommandaient d'utiliser le FENO pour, notamment : (i) diagnostiquer l'inflammation éosinophilique des voies respiratoires, (ii) déterminer la probabilité de réponse aux corticostéroïdes chez les sujets symptomatiques, (iii) aider au diagnostic d'asthme et (iv) surveiller l'inflammation pulmonaire chez les asthmatiques (Dweik et al. 2011). L'ATS suggérait l'utilisation de seuils plutôt que de valeurs de référence pour interpréter les mesures de FENO. Chez les adultes, un seuil > 50 ppb indiquerait qu'une inflammation éosinophilique et qu'une réponse aux corticostéroïdes (chez les patients symptomatiques) sont probables. Un seuil < 25 ppb indiquerait qu'une inflammation éosinophilique et qu'une réponse aux corticostéroïdes sont improbables (Dweik et al. 2011). Plus récemment, dans leur revue de la littérature, Bjermer et al. suggéraient d'utiliser des seuils plus bas que ceux de l'ATS. Une inflammation serait ainsi probable pour des valeurs de FENO comprises entre 25 et 50 ppb (Bjermer et al. 2014).

Pour conclure, le FENO est un marqueur potentiellement intéressant dans le diagnostic et la gestion de la maladie asthmatique, mais sa grande variabilité interindividuelle (notamment ses relations complexes avec la consommation tabagique qui diminue ses valeurs) en complique son interprétation. D'autres études semblent nécessaires pour évaluer sa véritable pertinence clinique.

1.2.4 Déterminants

Les facteurs qui influencent le risque d'asthme peuvent être divisés en facteurs qui causent le développement de la maladie asthmatique et ceux qui en déclenchent ses symptômes. Les premiers comprennent les facteurs propres à l'hôte (qui sont essentiellement génétiques) et les deuxièmes sont généralement des facteurs environnementaux (Bateman et al. 2008). Cependant, les mécanismes par lesquels ces facteurs influent sur le développement et l'expression de l'asthme sont complexes. Par exemple, les gènes interagissent probablement à la fois avec d'autres gènes impliqués (interaction gène-gène), mais aussi avec des facteurs environnementaux (interaction gène-environnement) pour déterminer la susceptibilité à l'asthme (Ober 2005).

En outre, la maturation de la réponse immunitaire et les expositions infectieuses durant les premières années de la vie sont probablement des facteurs importants qui modifient le risque d'asthme chez la personne génétiquement prédisposée. Les différences ethniques apparentes dans la prévalence de l'asthme reflètent une prédisposition génétique différente, avec une superposition importante de facteurs socio-économiques et environnementaux. La plus forte prévalence de l'asthme dans les pays à revenus élevés par rapport à celle des pays à revenus plus faibles est susceptible de refléter les différences de mode de vie, tels que l'exposition aux allergènes ou l'accès aux soins (Bateman et al. 2008).

Les allergènes rencontrés dans la vie professionnelle sont la cause, en partie, de la forte prévalence de l'asthme retrouvée dans les populations urbaines. En revanche, la pollution de l'air et certains allergènes provoquent des symptômes, mais ne sont pas clairement liés au développement de l'asthme. Enfin, l'intoxication tabagique a plusieurs effets délétères. Il augmente le risque de sensibilisation allergique, est associé à un déclin accéléré de la fonction pulmonaire chez les asthmatiques, augmente la sévérité de l'asthme, rend les patients moins sensibles au traitement et réduit la probabilité d'un contrôle de l'asthme (Bateman et al. 2008).

1.2.5 Impact

L'asthme est un grave problème de santé mondial touchant tous les groupes d'âge. On estime qu'environ 300 000 millions d'enfants et d'adultes sont atteints à travers le monde (Bateman et al. 2008). L'OMS a estimé, qu'annuellement, 15 millions d'années de vie corrigées de l'incapacité (DALYs) sont perdues à cause de l'asthme, ce qui représente 1 % de

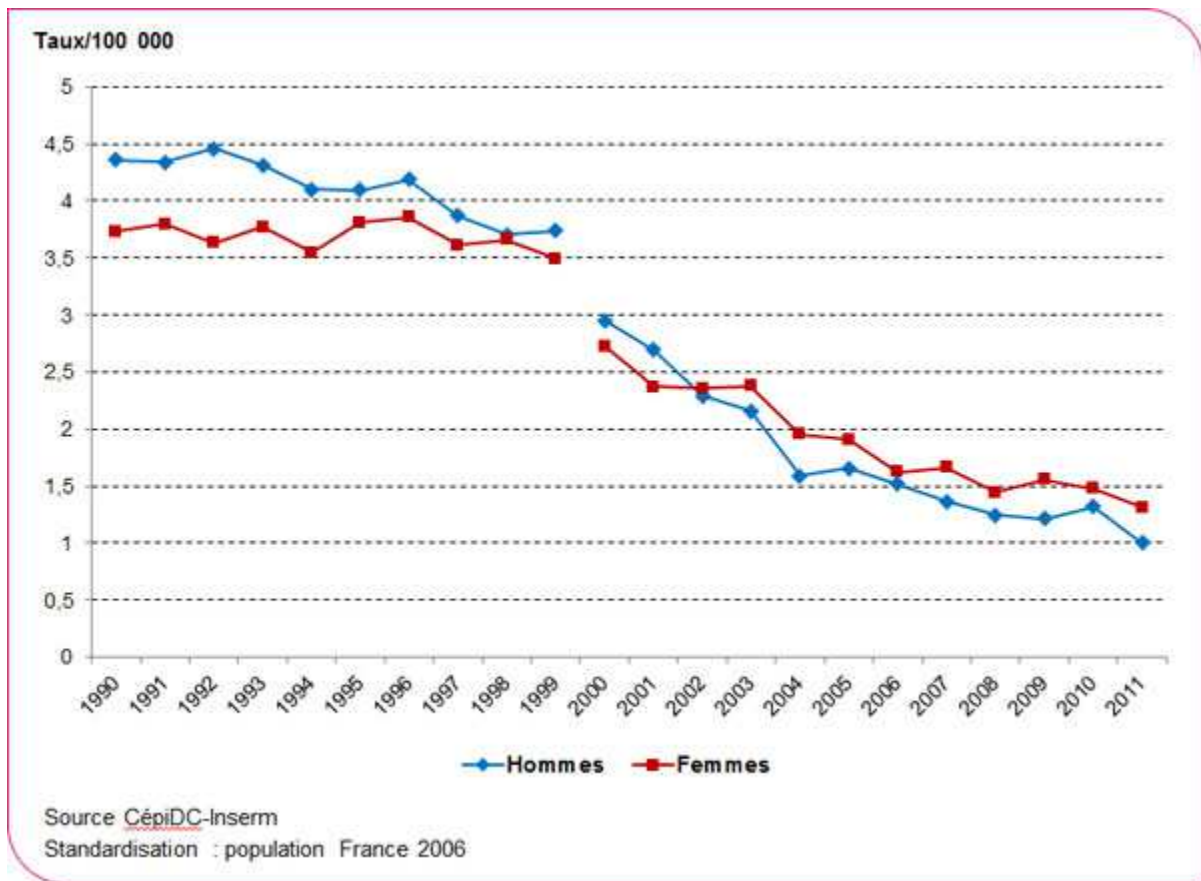
la morbidité mondiale totale. Le nombre de décès liés à l'asthme a été estimé à 250 000 par an (Bateman et al. 2008).

La prévalence est très hétérogène en fonction des pays. Elle varie de 1 à 21 % (To et al. 2012), avec jusqu'à 20% des enfants âgés de 6-7 ans qui présentent des symptômes d'asthme grave (Lai et al. 2009). Si certains pays ont connu une baisse des hospitalisations et des décès liés à l'asthme (Lozano et al. 2012), l'impact mondial lié aux exacerbations et aux manifestations quotidiennes des symptômes d'asthme a augmenté de presque 30 % au cours des 20 dernières années (Vos et al. 2012).

Les données sur la prévalence de l'asthme en France proviennent d'enquêtes déclaratives. Il n'y a pas à l'heure actuelle d'enquêtes périodiques en population générale comprenant une mesure objective de la santé et notamment une mesure de la fonction respiratoire (Delmas & Fuhrman 2010). L'enquête décennale santé effectuée en 2003 montrait une prévalence des sifflements dans les 12 derniers mois de 12 %, et une prévalence de l'asthme vie entière de 12,7 % (Delmas MC et al. 2008). L'enquête nationale de santé en milieu scolaire retrouvait en 2008-2009 une prévalence des sifflements dans les 12 derniers mois de 10,5 % chez les enfants des classes de CM2 (Delmas MC et al. 2014).

Le graphique (page suivante) représente les taux de mortalité annuels standardisés stratifiés par sexe. En France métropolitaine, entre 2000 et 2010, les taux de mortalité par asthme ont diminué chez les hommes (de 3,0 à 1,0 pour 100 000, soit -9,3 % par an en moyenne) et chez les femmes (de 2,7 à 1,3 pour 100 000, soit -6,0 % par an en moyenne). Au cours des trois dernières années présentées, 926 décès par asthme ont été enregistrés en moyenne chaque année (www.invs.fr).

Dans la région Nord-Pas-de-Calais, l'enquête décennale santé effectuée en 2003 montrait une prévalence des sifflements dans les 12 derniers mois de 13,9 %. Elle était légèrement supérieure à celle retrouvée pour la France métropolitaine mais cette différence n'était pas significative. La prévalence de l'asthme vie entière dans la région (9 %) semblait légèrement plus faible qu'en France (Delmas MC et al. 2008).



Mortalité liée à l’asthme chez les hommes et les femmes de la France métropolitaine.

Sources : CépiDC-Inserm (www.invs.sante.fr).

1.3 Les maladies cardiovasculaires

1.3.1 Définition

La définition large du terme « maladies cardiovasculaires » regroupe, selon l’OMS, l'ensemble des troubles affectant le cœur et les vaisseaux sanguins : cardiopathies coronariennes, maladies cérébro-vasculaires, artériopathies périphériques des membres, cardiopathies rhumatismales, malformations cardiaques congénitales, thromboses veineuses profondes et embolies pulmonaires. En pratique, ce terme est souvent réservé aux pathologies athérosclérotiques, partageant les mêmes facteurs de risque.

L'athérosclérose consiste en un remaniement de l'intima (constituée d'un endothélium et d'une membrane basale) des artères de gros et moyen calibre avec accumulation locale de lipides, de glucides complexes, de sang et de dépôts calcaires, accompagné de modifications de la media (couche de cellules musculaires lisses). Il s'agit en fait initialement d'un processus de vieillissement physiologique, mais dont l'ampleur et la vitesse de développement peuvent être accentuées par la présence de différents facteurs de risque cardiovasculaire (FDRCV). La lésion athéromateuse passe par plusieurs états de maturation : la strie lipidique (éventuellement réversible), puis la plaque d'athérome, et enfin la plaque compliquée. La formation des plaques d'athérome se fait principalement sur les vaisseaux artériels de gros et moyen calibre, à proximité de turbulences du flux sanguin (artères coronaires, carotides, et des membres inférieurs) (Broisat et al. 2005).

Les principaux mécanismes à l'origine des symptômes dans les maladies cardiovasculaires sont l'ulcération ou la rupture de plaque d'athérome, et la progression en volume. L'ulcération et la rupture de plaque sont des complications aiguës pouvant provoquer la formation rapide d'un thrombus obstruant partiellement voire totalement un vaisseau, et susceptible de migrer en tant qu'embolie. La progression en volume est un phénomène principalement chronique mais pouvant fonctionner sur un mode plus aigu, à l'occasion d'une hémorragie intra-plaque par exemple. Cette augmentation de volume peut être à l'origine d'une occlusion locale plus ou moins progressive ou d'une dissection de la paroi de l'artère.

1.3.2 Déterminants

Les FDRCV sont classiquement divisés en facteurs non-modifiables et facteurs modifiables. Les FDRCV non-modifiables (âge, sexe et antécédents familiaux) présentent un intérêt limité en terme de prévention. Les FDRCV modifiables (hypertension artérielle, tabagisme, diabète, dyslipidémie, obésité et activité physique faible) constituent eux des cibles de choix pour la réduction de l'incidence des maladies cardiovasculaires. L'estimation de la prévalence de ces derniers dans notre population d'étude a fait l'objet d'un travail présenté dans ce mémoire.

1.3.2.1 L'âge

L'âge est un facteur augmentant de manière continue le risque d'un évènement coronarien, carotidien et d'insuffisance cardiaque. Il est significatif pour le risque de cardiopathie ischémique à partir de 50 ans chez l'homme et 60 ans chez la femme.

1.3.2.2 Le sexe masculin

L'incidence de l'infarctus du myocarde est deux fois plus élevée chez l'homme que chez la femme (Lloyd-Jones et al. 1999). Cette différence tend toutefois à s'amenuiser avec l'âge, la ménopause constituant un facteur de risque à elle-seule chez la femme, ce d'autant plus qu'elle survient tôt (van der Schouw et al. 1996).

1.3.2.3 Les antécédents familiaux

Les événements cardiovasculaires et morts subites chez les parents proches, en particulier du premier degré, et à un âge jeune (avant 55 ans chez le père, avant 65 ans chez la mère) sont reconnus comme augmentant le risque cardiovasculaire (Lloyd-Jones et al. 2004).

1.3.2.4 L'hypertension artérielle

L'hypertension artérielle est apparue comme un facteur de risque des cardiopathies ischémiques (Dawber et al. 1957), des maladies cérébro-vasculaires (Kannel et al. 1965) et de l'insuffisance cardiaque (McKee et al. 1971) dans la cohorte de Framingham. D'autres études plus récentes ont confirmé ces associations (Anand et al. 2008).

L'hypertension artérielle est définie par la mesure d'une pression artérielle systolique supérieure ou égale à 140 mmHg ou diastolique supérieure ou égale à 90 mmHg au cours de trois consultations successives sur une période de 3 à 6 mois, avec deux mesures par consultation.

1.3.2.5 Le tabagisme

La consommation de tabac a été associée à un risque plus élevé de développer, principalement, des coronaropathies, des accidents vasculaires cérébraux, des artérites des membres inférieurs et des anévrismes de l'aorte abdominale (Willett et al. 1987; Price et al. 1999), aussi bien pour les fumeurs actifs que pour les fumeurs passifs (Glantz & Parmley 1991).

La capacité du tabac à contribuer au risque cardiovasculaire passe par l'entretien de l'athérosclérose, selon plusieurs mécanismes complémentaires : un dysfonctionnement vasomoteur, l'inflammation chronique, des modifications du bilan lipidique et un effet prothrombotique (Ambrose & Barua 2004).

1.3.2.6 Le diabète

Le rôle de facteur de risque du diabète a été mis en évidence dans la cohorte Framingham (Kannel & McGee 1979; Gordon et al. 1977). Les mécanismes de l'influence du diabète sur le risque cardiovasculaire sont compliqués à isoler, en raison du grand nombre de cofacteurs de risque généralement présents chez les patients diabétiques (Kalofoutis et al. 2007). L'effet néfaste du diabète (de type I ou II) passe au moins en grande partie par son effet sur l'athérosclérose (Leutenegger 1995). Il a en effet été observé que les lésions athérosclérotiques étaient beaucoup plus diffuses chez les diabétiques que dans la population générale.

1.3.2.7 Les dyslipidémies

Une dyslipidémie est une concentration anormalement élevée ou diminuée de lipides (cholestérol, triglycérides, phospholipides ou acides gras libres) dans le sang. C'est dans l'étude de Framingham qu'a été mis en évidence le rôle de facteur de risque d'un taux sanguin élevé de low-density lipoprotein cholesterol (LDLc) et d'un taux bas de high-density lipoprotein cholesterol (HDLc) (Gordon et al. 1977).

Le taux de LDLc joue un rôle majeur dans la formation des stries lipidiques et des plaques d'athérome. Leur formation est d'autant plus accélérée que le taux sanguin circulant de LDLc est élevé, car il est en faveur de l'augmentation du passage de la molécule à travers l'endothélium.

1.3.2.8 L'obésité

L'obésité a également été identifiée comme facteur de risque indépendant de maladies cardiovasculaires grâce à la cohorte Framingham (Gordon et al. 1977; Hubert et al. 1983).

Elle joue sur le risque cardiovasculaire de différentes manières : (i) en augmentant le risque de développement d'autres facteurs de risque cardiovasculaire comme l'hypertension artérielle, les dyslipidémies ou le diabète de type II, (ii) indépendamment, par le biais d'une augmentation de l'inflammation systémique (production d'Interleukine-6 par les adipocytes), d'une augmentation du volume total de sang (engendrant des cardiomyopathies chroniques), et en favorisant le dépôt de graisse sur le cœur, laquelle modifie les cardiomyocytes (Poirier et al. 2006).

1.3.2.9 L'activité physique

Le niveau d'activité physique régulier est associé au risque de coronaropathie (Kannel 1967). Les mécanismes liant l'activité physique au risque cardiovasculaire sont là aussi multiples. Un des mécanismes est l'impact de l'activité physique sur les autres facteurs de risque cardiovasculaire, ceux-ci étant fortement associés. L'activité physique aurait également un effet propre sur l'endothélium (par augmentation de cellules progénitrices de l'endothélium) et les muscles lisses des vaisseaux (par leur mobilisation, diminuant leur transformation dans les lésions athéromateuses), diminuant ainsi l'athérosclérose (Bowles & Laughlin 2011).

1.3.3 Impact

Les maladies cardiovasculaires ont occasionné 17 millions de décès en 2013. Ceux-ci étaient en augmentation de 7 % entre 1990 et 2013 (avec en particulier une augmentation de 40 % des décès dus aux cardiopathies ischémiques). Selon la classification de l'OMS, les maladies cardiovasculaires représentent la deuxième cause de mortalité à l'échelle mondiale, après les tumeurs (World Health Organization 2013). La Global Burden of Disease Study utilise une classification différente, en considérant chaque pathologie plutôt que des groupes de pathologies. Les données de 2012 montrent que les deux premières causes de mortalité dans le monde sont les cardiopathies ischémiques, suivies des accidents vasculaires cérébraux. Ils représentent respectivement la première et troisième cause d'année de vie perdues (Lozano et al. 2012).

Plus de 80 % de ces décès se sont produits dans des pays à revenus faibles ou intermédiaires. Si les facteurs de risque sont similaires partout dans le monde, les

changements observés dans les pays à revenus faibles ou intermédiaires par rapport au mode de vie et aux comportements liés à la santé (notamment l'usage du tabac, la diminution de l'activité physique et l'obésité) contribuent à la hausse de la prévalence et de la mortalité par maladies cardiovasculaires (Bowry et al. 2015). Dans les pays les plus riches, on observe une évolution inverse. La mortalité, même si elle reste élevée, est en baisse en raison de programmes de prévention et de prises en charge plus efficaces (Tunstall-Pedoe et al. 1999).

La morbidité des maladies cardiovasculaires est également très importante. A titre d'exemple, les cardiopathies ischémiques et les accidents vasculaires cérébraux représentaient respectivement 5,2 et 4,5 % du nombre total de DALYs dans les pays à revenus faibles ou intermédiaires, et 8,3 et 6,3 % dans les pays les plus riches (Lopez et al. 2006).

La diminution de la mortalité par maladies cardiovasculaires observée dans les pays à revenus élevés est retrouvée en France (Wagner et al. 2011) La mortalité par cardiopathie ischémique globale et prématurée était cependant plus élevée dans la région Nord-Pas-de-Calais qu'en France (ICM = 124 [121 ; 126] et ICM = 143 [136 ; 149], respectivement) (www.orsnpdc.org).

1.4 L'enquête ELISABET

1.4.1 Présentation

L'Enquête Littoral Souffle Air Biologie Environnement (ELISABET) est une enquête épidémiologique transversale dont l'objectif principal est de comparer la santé respiratoire des habitants de la communauté urbaine de Dunkerque (CUD) (exposés à une pollution d'origine industrielle importante) à celle des habitants de la communauté Urbaine de Lille (CUDL) (moins exposés à la pollution d'origine industrielle).

Cette enquête a été financée par le Conseil Régional du Nord-Pas-de-Calais ainsi que par le Fond européen de développement régional (FEDER FEDER Presage N ° 36034). Le centre hospitalier régional universitaire de Lille en est le promoteur, le Docteur Luc Dauchet l'investigateur principal.

1.4.2 Contexte ayant justifié le développement de l'enquête ELISABET

1.4.2.1 Exposition à la pollution atmosphérique d'origine industrielle à Dunkerque

La CUD avec 208 634 habitants (recensement de 1999) et 25 478 hectares représente 5.25 % de la population du Nord-Pas-de-Calais et 2 % de sa superficie. Cependant, la part de la CUD dans les émissions de polluants atmosphériques de la région est beaucoup plus importante. En effet, le développement de la zone industrialo-portuaire, qui s'étend de Dunkerque à Gravelines (à l'ouest de la CUD), a conduit à une forte concentration de gros émetteurs de polluants. En 1994, la CUD était responsable de 33 % (30,9 Mt) des émissions de dioxyde de soufre (SO₂) du Nord-Pas-de-Calais, de 15 % (15,9 Mt) des oxydes d'azote (NO_x), de 49 % (452,3 Mt) du monoxyde de carbone (CO), et de 8 % (11,6 Mt) des composés organiques non volatiles (COV) non méthaniques (Prouvost H & Declercq 2003). En comparaison, la CUDL représente 5 % de la superficie du Nord-Pas-de-Calais et 27 % de sa population. En 2005, aucune industrie de son territoire n'était classée parmi celles ayant de « gros rejets » de SO₂ ou de NO_x, contre six et quatre, respectivement, dans la CUD (DREAL Nord-Pas-de-Calais 2006). Dans la CUDL, deux entreprises étaient identifiées comme ayant des « gros rejets » de COV totalisant 741 tonnes de rejet par an, alors que trois étaient répertoriées dans la CUD, totalisant 3363 tonnes de rejet par an. Des statistiques plus récentes (non disponibles au moment du développement de l'enquête) montraient que les émissions de polluants étaient dans les mêmes ordres de grandeur. A titre d'exemple, en 2014, la production de SO₂, des

NOx et des COV non méthaniques de la CUD s'élevait respectivement à 25,8, 17.1 et 6,4 Mt (www.atmo-npdc.fr).

Cependant, le climat de Dunkerque est fortement marqué par des vents de sud-ouest favorables à la dispersion des polluants. La surveillance de la qualité de l'air réalisée par stations de mesure ATMO Nord-Pas-de-Calais retrouvait à Dunkerque (lors de l'hiver 2007), selon les stations, des concentrations quotidiennes moyennes de NO₂ entre 21 et 44 µg/m³, d'ozone entre 21 et 44 µg/m³, et de poussière entre 29 et 43 µg/m³. Les concentrations de ces polluants, pour une part d'origine automobile, sont du même ordre de grandeur que ceux retrouvés dans d'autres agglomérations par les stations ATMO Nord-Pas-de-Calais, notamment celle de la CUDL. Les concentrations de SO₂ (essentiellement d'origine industrielle) sont par contre plus importantes à Dunkerque : entre 4 et 19 µg/m³ contre 3 à 6 µg/m³ à Lille (ATMO Nord-Pas-de-Calais 2007). De plus, la CUD subit encore fréquemment des pics de pollution en raison de panaches localisés. Des statistiques récentes sur les émissions de polluants (PM10 et NO₂) dans la CUD et la CUDL seront décrites dans la dernière étude présentée dans ce mémoire.

Ces chiffres ne suffisent cependant pas à déterminer totalement l'exposition à la pollution atmosphérique. Tous les polluants ne sont pas mesurés par les stations et les poussières en suspension d'origine industrielle peuvent être de nature différente de celles émises par les automobiles ; les conséquences sur la santé de ces différents types de poussières étant mal connues.

1.4.2.2 Emission atmosphérique de métaux lourds à Dunkerque

La concentration industrielle à Dunkerque est responsable d'émissions atmosphériques de métaux importantes. Par exemple, en 2001-2002, les émissions de cadmium représentaient 49 % des émissions de la région Nord-Pas-de-Calais, et celles de plomb 37 % (ATMO Nord-Pas-de-Calais 2006). Globalement, ces émissions sont beaucoup plus importantes dans la CUD que dans la CUDL. En 2006, les émissions de plomb s'élevaient à 9339 kg (CUD) contre 122 kg (CUDL), celles de zinc à 7451 kg contre 3 kg, celles de cadmium de 284 kg contre 2 kg et celles d'arsenic de 250 kg contre 0 kg, respectivement. Cependant, les émissions de mercure étaient un peu plus élevées dans la CUDL que dans la CUD (483 kg contre 223 kg, respectivement) (DREAL Nord-Pas-de-Calais 2007).

1.4.2.3 Etat de santé de la population de Dunkerque

Entre 1997 et 1999, la mortalité (standardisée sur l'âge) à Dunkerque par rapport à la France métropolitaine était supérieure de 26 % chez les hommes (ICM = 126) et de 13 % chez les femmes (ICM = 113) (Prouvost H & Declercq 2003). Cependant cette surmortalité était proche de celle observée dans l'ensemble du Nord-Pas-de-Calais (ICM = 128 pour les hommes, 118 pour les femmes). L'analyse par cause de mortalité spécifique retrouvait une surmortalité significativement augmentée par cancer de la plèvre à Dunkerque par rapport au reste de la région, cette surmortalité étant probablement liée aux expositions professionnelles importantes. Aucune augmentation significative n'était retrouvée pour les autres causes de mortalité (la mortalité par asthme et alvéolite allergique était augmentée de 50 % chez les hommes et 35 % chez les femmes par rapport au Nord-Pas-de-Calais, mais cette différence n'était pas statistiquement significative). Des statistiques plus récentes (non disponibles au moment du développement de l'enquête) montraient, sur la période 2007-2010, une mortalité globale en augmentation (non significative) par rapport à la France métropolitaine dans la CUD (ICM = 142 pour les hommes, 128 pour les femmes) et dans la région (ICM = 161 pour les hommes, 114 pour les femmes) (www.orsnpdc.org). La mortalité par maladies de l'appareil respiratoire, pour la période 2005-2008, semblait par contre plus faible dans la CUD (ICM = 119 pour les hommes, 107 pour les femmes) que dans la région (ICM = 178 pour les hommes, 132 pour les femmes), mais les intervalles de confiance n'étaient pas disponibles (Poirier G & Lacoste O 2012).

Ainsi, les données de mortalité ne mettaient pas en évidence de retentissement évident de la pollution sur la santé de la population dunkerquoise. Cependant, ces données de mortalité présentent des limites. Le faible nombre d'événements ne permet pas toujours de mettre en évidence des différences de mortalité statistiquement significatives. De plus, les pathologies associées à la pollution ayant une létalité faible ne peuvent pas être évaluées par cet indicateur.

1.4.3 Objectifs de l'enquête ELISABET

1.4.3.1 Objectif principal

L'objectif principal du projet est de comparer la prévalence des TVO, de l'asthme et des BPCO, dans la communauté urbaine de Dunkerque (touchée par la pollution industrielle) à celle retrouvée dans la communauté urbaine de Lille (moins industrialisée).

1.4.3.2 Objectifs secondaires

Les principaux objectifs secondaires de l'enquête ELISABET sont :

- évaluer la prévalence des TVO dans des populations françaises urbaines,
- étudier les facteurs de risque des TVO, notamment les polluants atmosphériques,
- évaluer la relation entre TVO et marqueurs biologiques de l'inflammation dans le sang et les condensats, du NO et CO dans l'air expiré.
- rechercher des facteurs de susceptibilité génétique des TVO et des pathologies respiratoires et des facteurs de risque cardiovasculaires ainsi que les interactions gènes-environnements,
- évaluer les relations entre pollution atmosphérique d'origine industrielle et les marqueurs biologiques de l'exposition aux métaux lourds,
- évaluer la relation entre pollution atmosphérique et marqueurs biologiques de l'inflammation dans le sang et les condensats, du CO et NO dans l'air expiré,
- évaluer la prévalence des facteurs de risque cardiovasculaire dans des populations françaises urbaines,
- étudier les associations entre TVO et maladies cardiovasculaires, et plus particulièrement le rôle de l'inflammation dans ces associations, et
- constituer une base de données épidémiologiques et une banque biologique permettant d'étudier les déterminants des TVO, notamment. La banque biologique permettra entre autre, la recherche des marqueurs de la pollution atmosphérique dans l'urine et dans les cheveux, l'étude des marqueurs de l'inflammation dans les condensats d'air expiré ainsi qu'une recherche des déterminants génétiques des TVO.

1.4.4 Éléments méthodologiques

Des éléments de méthode spécifiques sont présentés dans chacune des études (voir chapitres suivants). En résumé, le tirage au sort (stratifié sur l'âge, le sexe et le centre) concernait les femmes et les hommes âgés de 40 à 64 ans, inscrits sur les listes électorales des municipalités des CUDL et CUD. Pour être sélectionnés, les sujets devaient avoir résidé depuis au moins 5 ans dans la même communauté urbaine. Chaque sujet sélectionné par tirage au sort a reçu un courrier l'invitant à prendre contact avec l'équipe coordonnatrice et à fixer un rendez-vous pour la réalisation du recueil des données. En cas de non-réponse des sujets au courrier postal, une ou plusieurs relances téléphoniques étaient effectuées par l'équipe coordonnatrice. Le lieu de réalisation de l'enquête était le plus souvent le domicile des personnes sélectionnées. Si la personne ne souhaitait pas la visite de l'enquêteur à domicile, l'enquête était réalisée dans un local médical prévu à cet effet. L'administration des questionnaires, le recueil des données anthropométriques, des paramètres cliniques et paracliniques et la réalisation du prélèvement sanguin étaient assurés par un infirmier enquêteur, sous la responsabilité d'un médecin. Une formation des enquêteurs a été effectuée avant de débiter l'étude de façon à assurer un recueil standardisé des données.

De nombreuses informations et mesures ont été recueillies. En résumé, un questionnaire détaillé permettait de recueillir des informations sur les expositions individuelles aux facteurs de risque de TVO afin de permettre une analyse ajustée sur ces facteurs (caractéristiques démographiques et socio-économiques, symptômes respiratoires, antécédents, facteurs de risque pulmonaire et cardiovasculaire, expositions environnementales, comportements, dont activité physique et alimentation). Les explorations respiratoires comprenaient : un examen spirométrique (sans test de réversibilité), deux mesures du NO dans l'air expiré, une mesure du CO dans l'air expiré et un recueil des condensats dans l'air expiré. Enfin, des prélèvements sanguins, urinaires et de cheveux ont été effectués et une banque biologique a été constituée.

Le protocole de recherche a été approuvé par le comité d'éthique local (CPP Nord Ouest IV, numéro de référence : 2010-A00065-34), en accord avec la législation française sur la recherche biomédicale. L'enquête a été enregistrée sur ClinicalTrials.gov (numéro de référence : NCT02490553).

1.4.5 Inclusion des sujets

L'inclusion des sujets s'est déroulée entre janvier 2011 et novembre 2013. Le diagramme de flux du processus d'inclusion des participants à l'enquête ELISABET est présenté dans la figure ci-dessous.

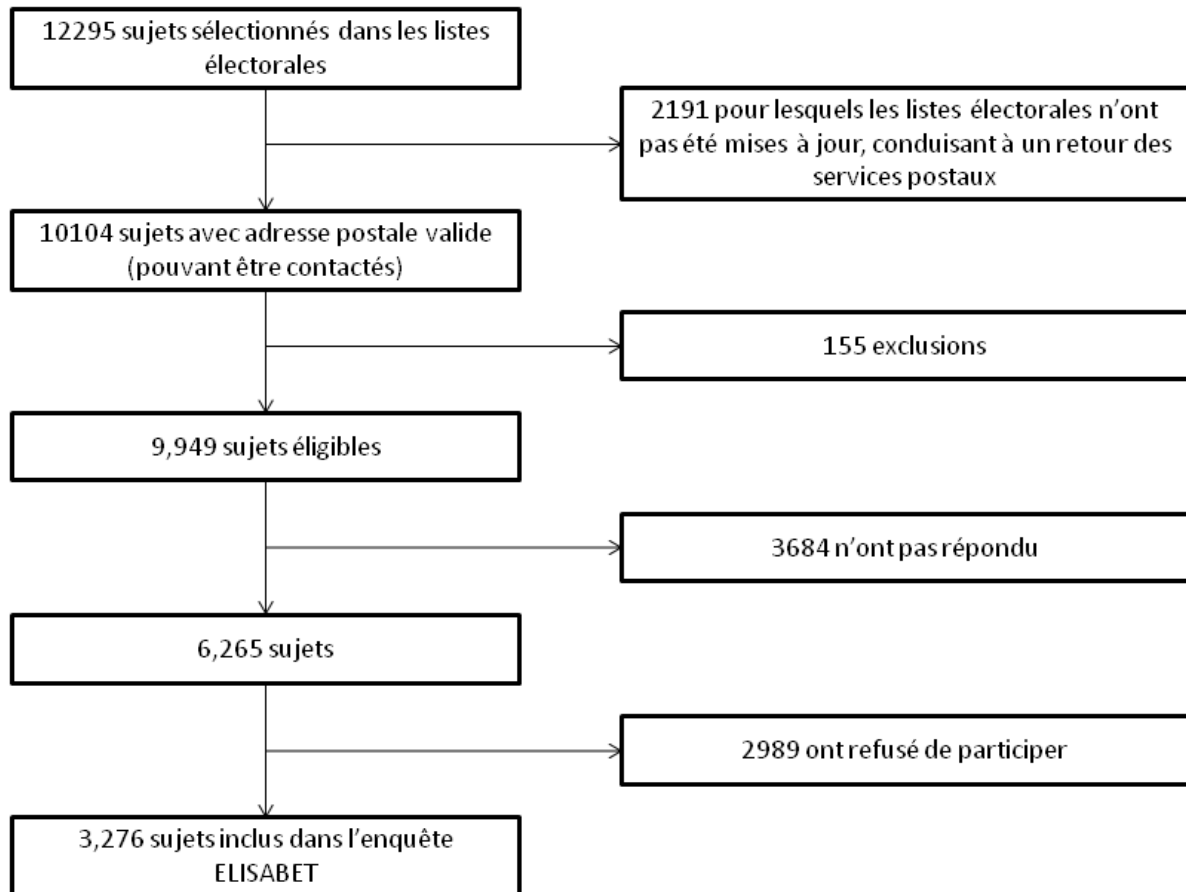


Diagramme de flux du processus d'inclusion des participants à l'enquête ELISABET

Un total de 12 295 sujets était sélectionné dans les listes électorales, dont 2 191 qui n'ont pas pu être contactés par défaut de mise à jour des listes électorales (retour postal « n'habite pas à l'adresse indiquée »). Après exclusion de 155 sujets, 9 949 étaient considérés comme éligibles. Parmi ces derniers, 3 684 n'ont pas répondu et 2 989 ont refusé de participer à l'enquête. Au final, 3 276 participants ont été inclus dans l'enquête transversale ELISABET, 1 669 habitants dans la CUDL et 1 607 habitants dans la CUD. Le taux de réponse était de 32,9 % (3 276/9 949) et le taux de coopération (taux de réponse parmi les répondants) était de 52,3 % (3 276/6 265).

1.5 Objectifs de ce mémoire

1.5.1 Général

Ce travail de thèse a pour objectif général l'étude de la santé respiratoire et cardiovasculaire et de ses déterminants dans les communautés urbaines de Lille (CUDL) et Dunkerque (CUD). Il se décline au travers de plusieurs objectifs spécifiques.

1.5.2 Spécifiques

Les objectifs spécifiques de cette thèse correspondent à ceux de cinq études qui sont, respectivement :

- estimer la prévalence et le sous-diagnostic, ainsi que les principaux facteurs de risque des troubles ventilatoires obstructifs,
- étudier l'évolution de la prévalence des principaux facteurs de risque cardiovasculaire dans la communauté urbaine de Lille entre 1986 et 2013 (et estimer ces prévalences au niveau de la communauté urbaine de Dunkerque),
- étudier les associations entre deux biomarqueurs de l'asthme (fraction exhalée du monoxyde d'azote et taux d'éosinophiles sanguins) et l'asthme, en fonction du statut tabagique,
- évaluer le rôle de médiateur de l'inflammation chronique de bas grade dans la relation entre diabète et fonction pulmonaire,
- étudier l'impact à court terme de la pollution atmosphérique sur la fonction respiratoire et des marqueurs de l'inflammation locale et systémique.

Ces cinq études sont présentées successivement dans les chapitres suivants de cette thèse sur articles. Elles correspondent à quatre publications (acceptées ou soumises) présentées sous forme du dernier manuscrit soumis aux revues (en anglais), chacune accompagnée du contexte et de la motivation ayant conduit à la réalisation de l'étude ainsi que d'un résumé en français. Une dernière étude est en cours de finalisation et est présentée en langue française.

Enfin, les résultats de ces cinq travaux sont synthétisés et mis en perspective dans la discussion générale de ce mémoire.

2 Première étude – Prévalence, sous-diagnostic et facteurs associés aux troubles ventilatoires obstructifs

2.1 Contexte et motivation de l'étude

Les troubles ventilatoires obstructifs (TVO), principalement dus à la bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) chez les adultes, est une cause majeure de mortalité, de faible qualité de vie et de coûts de santé élevés (Chapman et al. 2006; Pauwels & Rabe 2004; Lozano et al. 2012). Cependant, très peu de données sont disponibles en France (Roche et al. 2008; Huchon et al. 2002; Ferré et al. 2012). Il n'y a notamment aucune estimation de la prévalence des TVO ou de BPCO sur critères spirométriques en population générale. De plus, malgré l'impact majeur de la BPCO sur la santé publique, il est bien connu que cette pathologie est nettement sous-estimée autant dans la population générale que chez les soignants (Mannino & Buist 2007; Hill et al. 2010; Soriano et al. 2010; Moreira et al. 2014; Bednarek et al. 2008; Evans et al. 2014; Huchon et al. 2002). Nous ne disposons là encore que de très peu de données disponibles pour estimer ce taux de sous-diagnostic en France. Les données de l'enquête ELISABET nous permettaient d'estimer la prévalence des TVO dans deux communautés urbaines du nord de la France : celle de Lille, et celle de Dunkerque soumise à une pollution d'origine industrielle plus forte. La comparaison de la prévalence des TVO entre ces deux zones urbaines correspondait à l'objectif principal d'ELISABET.

Concernant ma participation à la réalisation de cette étude, j'ai encadré Alexandre Quach, interne de santé publique, et dirigé son mémoire de Master 2 (biostatistique et méthodologie en recherche biomédicale, Paris XI) et sa thèse de Médecine sur ce sujet (soutenus respectivement les 2 septembre 2014 et 21 mai 2015). J'ai défini les objectifs scientifiques et participé de manière active à chacune des étapes de la réalisation de ce travail : bibliographie, définition des méthodes, analyses statistiques, ainsi qu'à la rédaction de l'article, pour lequel nous sommes co-premiers auteurs. J'ai soumis l'article et en ai effectué sa révision avec le Docteur Luc Dauchet.

2.2 Résumé en français

Introduction. Les troubles ventilatoires obstructifs (TVO), principalement dus à la broncho-pneumopathie chronique obstructive chez les adultes, est une cause majeure de mortalité et de mauvaise qualité de vie. Cependant, très peu de données sont disponibles en France. Cette étude a été conçue pour calculer la prévalence des TVO chez les adultes d'âge moyen du nord de la France, explorer les facteurs de risque associés et d'évaluer le sous-diagnostic.

Méthodes. L'Enquête Littoral Souffle Air Biologie Environnement (ELISABET) était une enquête transversale incluant 3276 participants issus d'un échantillon représentatif (âgés de 40 à 64 ans) de deux communautés urbaines du nord de la France (Lille et Dunkerque). Les participants ont rempli un questionnaire et ont effectué des examens spirométriques, sans test de réversibilité.

Résultats. La prévalence standardisée sur l'âge [intervalle de confiance à 95%] des TVO était de 16,0 % [13,9; 17,9] à Lille et 13,7 % [11,7; 15,7] à Dunkerque selon la définition de la Global initiative for chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) et 10,8 % [9,2; 12,5] et 9,5 % [7,9; 11,2], respectivement, en utilisant la limite inférieure de la normale calculée à partir des équations de référence de 2012 de la Global Lung Initiative (GLI). Les TVO étaient associés à l'âge, au sexe masculin, à la consommation de tabac et à un faible indice de masse corporelle. Le taux de sous-diagnostic était supérieur à 70 %. Les participants avec un TVO non diagnostiqué présentaient une proportion de symptômes respiratoires (i) plus élevée que les participants sans TVO, (ii) plus faible que les participants avec un TVO préalablement diagnostiqué.

Conclusion. La prévalence des TVO dans le nord de la France variait de 9,5 à 16,0 %, selon le centre et la définition utilisée. Le taux élevé de sous-diagnostic observé ici suggère que davantage d'efforts devraient être faits pour identifier les personnes présentant les symptômes et/ou des facteurs de risque associés aux TVO.

Mots-clés : troubles ventilatoires obstructifs; maladie broncho-pneumopathie chronique obstructive; prévalence; sous-diagnostic; GOLD; GLI 2012

2.3 Article

Prevalence and underdiagnosis of airway obstruction among middle-aged adults in northern France: the ELISABET study 2011-2013

Alexandre Quach^{a,b,*}, Jonathan Giovannelli^{a,b,c,*†}, Natalie Chérot-Kornobis^{a,b}, Alina Ciuchete^c, Guillaume Clément^{a,c}, Régis Matran^{a,b}, Philippe Amouyel^{a,b,c}, Jean-Louis Edmé^{a,b}, Luc Dauchet^{a,b,c}

^a University of Lille, Faculté de Médecine Henri Warembourg F-59045 Lille Cedex, France

^b University Hospital of Lille, 2 Avenue Oscar Lambret, F-59000 Lille, France

^c Pasteur Institute of Lille, INSERM U1167 RID-AGE, 1 Rue du Professeur Calmette, F-59800 Lille, France

* **Co-first authors:** Alexandre Quach was a MD student, Dr. Jonathan Giovannelli was a PhD student; they contributed equally to this work.

† **Corresponding author:** Jonathan Giovannelli, University Hospital of Lille, epidemiology unit, 2 rue du Pr Laguesse, F-59037 Lille Cedex, France. Tel.: +33 320 445 518, fax: +33 320 446 945, email: jonathan.giovannelli@gmail.com

E-mail addresses:

alexandre.quach85@gmail.com
jonathan.giovannelli@gmail.com
nathalie.cherot@univ-lille2.fr
alina.ciuchete@gmail.com
gja.clement@gmail.com
regis.matran@univ-lille2.fr
philippe.amouyel@pasteur-lille.fr
jledme@univ-lille2.fr
luc.dauchet@pasteur-lille.fr

Highlights

- The prevalence of airway obstruction in northern France ranged from 9.5 to 16.0%
- The underdiagnosis rate of airway obstruction was high (around 75%)
- Undiagnosed subjects displayed more symptoms than those without airway obstruction

Non-standard abbreviations

ELISABET survey: Enquête Littoral Souffle Air Biologie Environnement

INSEE: French National Institute for Statistics and Economic Studies

Abstract

Introduction. Airway obstruction (AO), mainly due to chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in adults, is a major cause of mortality and poor quality of life. However, few data are available for France. This study was designed to calculate the prevalence AO among middle-aged adults in northern France, explore the associated risk factors and evaluate the underdiagnosis.

Methods. The Enquête Littoral Souffle Air Biologie Environnement (ELISABET) was a cross-sectional study of a representative sample of 3,276 adults aged from 40 to 64 in two urban areas in northern France (Lille and Dunkirk). Participants filled out a questionnaire and performed spirometry testing, without a reversibility test.

Results. The age-standardized estimated prevalence [95% confidence interval] of AO was 16.0% [13.9; 17.9] in Lille and 13.7% [11.7; 15.7] in Dunkirk with the Global initiative for chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) definition and 10.8% [9.2; 12.5] and 9.5% [7.9; 11.2] respectively with the lower limit of normal calculated with the Global Lung Initiative (GLI) 2012 equations. AO was associated with age, male gender, tobacco consumption and low body mass index. The underdiagnosis rate was greater than 70%. Previously undiagnosed participants with AO displayed more respiratory symptoms compared with participants without AO and less than participants with previously diagnosed AO.

Conclusion. The prevalence of AO in northern France ranged from 9.5 to 16.0%, depending on the centre and definition used. The high underdiagnosis rate observed here suggests that greater efforts should be made to identify individuals presenting with the symptoms and/or risk factors associated with AO.

Keywords: airway obstruction; chronic obstructive pulmonary disease; prevalence; underdiagnosis; GOLD; GLI 2012

Introduction

Airway obstruction (AO) is a pulmonary airflow limitation [1] that has now become a major cause of mortality, poor quality of life and elevated healthcare costs [2,3]. Most AO is due to chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in middle-aged and older adults, which was the third most frequent cause of death worldwide [4]. Despite COPD's major impact on public health, it is very clear that this condition is significantly underdiagnosed [5–11].

Although many studies have sought to estimate the prevalence of COPD, few data are available for France [11–13]. Furthermore, the estimated prevalence varies markedly from one country to another [14–16], since many different risk factors are involved. Tobacco is still the main driver for the occurrence and progression of COPD [5]. However, socioeconomic status, occupational exposure, and indoor and outdoor pollution levels may also account for differences in prevalence [5,17–20].

Thanks to the work of the Global initiative for chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) [21] and the guidelines issued by learned societies worldwide (such as the European Respiratory Society (ERS) and the American Thoracic Society (ATS)) [22], spirometric examination is now commonly used to screen for COPD in epidemiological studies [5,16]. COPD is defined as persistent, post-bronchodilator AO. The existence of AO is thus defined by an abnormally low forced expiratory volume in the first second (FEV₁) to forced vital capacity (FVC) ratio. However, there is debate as to the appropriate cut-off for defining AO [23–25]. The GOLD recommends the use of a fixed cut-off of 0.7 [21]. This cut-off does not take account of the physiological decrease in the FEV₁/FVC ratio with age, the effect of the individual's height or ethnic origin [26]. In contrast, the ERS and ATS were repeatedly stating in favor of the use of equations based on reference populations to define the appropriate cut-off for each participant, i.e. the lower limit of normal (LLN) [22,27]. The most recent reference equations are those published by the Global Lung Initiative released in 2012 (GLI 2012) [28].

The present study was designed to calculate the prevalence of AO among middle-aged adults in northern France with the GOLD criteria and the LLN calculated by the GLI 2012 equations, explore the associated risk factors and evaluate the underdiagnosis rate.

Methods

Population

The study analyzed male and female participants, aged from 40 to 64, in the 2011-2013 Enquête Littoral Souffle Air Biologie Environnement (ELISABET) cross-sectional survey. All

participants had lived for at least 5 years in the same city or its surrounding urban area (either Lille or Dunkirk) in northern France. The participants were selected from electoral rolls by random sampling, with stratification for gender, age and centre (Lille or Dunkirk). All participants were recruited between January 2011 and November 2013. Each selected participant received a letter asking him/her to contact the coordinating team and make an appointment for data collection. In the absence of a reply, repeated reminders by mail and, when possible by telephone, were conducted. Data was collected at home (occasionally during a consultation in a healthcare establishment). In all cases, a trained, registered nurse administered a detailed questionnaire and performed spirometry testing.

The study protocol was approved by the local investigational review board (CPP Nord Ouest IV, reference number: 2010-A00065-34), in compliance with the French legislation on biomedical research. All participants provided their informed, written consent to participation in the study.

Spirometry testing

Spirometry testing was performed according to the 2005 ATS/ERS guidelines [29]. The spirometers (Micro 6000 spirometers (Medisoft; Sorinnes, Belgium)) were calibrated weekly. No bronchodilators were administered. For each participant, the spirometry test was repeated (up to seven times) until three acceptable, reproducible flow-volume loops were obtained, following the same guidelines. The greatest reproducible values of FEV₁ and FVC were selected for the statistical analysis (regardless of whether these two values came from separate curves or from the same curve). All spirometry data were validated by an experienced, specialist physician.

Covariables

The following variables were recorded: age, gender, educational status (number of years spent at school, including primary school) and body mass index (BMI). Tobacco exposure was estimated by (i) self-reported smoking status as either a “current smoker” (i.e. at least one cigarette per day for the previous 12 months), “former smoker”, “second hand smoker” (a never smoker exposed to tobacco smoke for at least an hour a day) or “never smoker”; (ii) tobacco consumption, in pack-years (py). Lung symptoms were reported using the standardized Medical Research Council questionnaire [30]. Participants were considered to be showing symptoms of chronic bronchitis if they had chronic cough and expectorations for at least 3 consecutive months in the previous two years. Self-report physician-diagnosed chronic bronchitis, emphysema or asthma were also noted.

Statistical analysis

The prevalence of AO was estimated using the two main methods of calculation (i) the modified GOLD criteria ($FEV_1/FVC < 0.70$, without a reversibility test, i.e. modified GOLD grade I or higher) [21] and (ii) the LLN (5th percentile), using the most recent reference equations of the GLI 2012 ($FEV_1/FVC < LLN$) [28]. Moderate-to-very-severe AO was defined as (i) $FEV_1/FVC < 0.70$, and $FEV_1 < 80\%$ of the value predicted by the GLI 2012 equations (modified GOLD grade II or higher) and (ii) $FEV_1/FVC < LLN$ and $FEV_1 < LLN$ (GLI 2012) [10,31]. The prevalence of AO was age-standardized using reference samples from the Eurostat 2013 database [32]. The results were stratified for all the above-mentioned covariables. In each estimation, the corresponding 95% confidence interval (CI) was calculated using a bias-corrected, accelerated bootstrap method with 3500 replications [33]. Risk factors were investigated in a multivariate logistic regression model. The dependent variable was AO (modified GOLD criteria, all grades) and the explanatory variables were centre, gender, BMI, educational level, and tobacco consumption.

The underdiagnosis rate was defined as the proportion of the number of participants with AO who did not self-report previously physician-diagnosed chronic bronchitis, emphysema or asthma (the AO+D- group) by the overall number of participants with an existing AO. We then compared the AO+D- group with (i) participants without AO (the AO- group) and (ii) participants with AO and previously physician-diagnosed chronic bronchitis, emphysema or asthma (the AO+D+ group) in terms of the main characteristics and the proportion of lung symptoms. Fisher's exact test and Wilcoxon's test were used to analyze qualitative and quantitative variables, respectively.

In order to estimate the impact of the potential selection bias, we compared the distribution of occupational groups in our sample to the data of the French National Institute for Statistics and Economic Studies (INSEE) census for 2011. In order to quantify the possible influence of a discrepancy between the occupational category distribution in the sample and the distribution in census data, we standardized the prevalence against the European age distribution and weighted it according to the local occupational category distribution from 2011 data in a sensibility analysis.

All statistical analyses were performed with R software (version 3.0.1, R Core Team, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2014, <http://www.R-project.org>). The threshold for statistical significance was set to $p < 0.05$.

Results

Characteristics of the study participants

We invited 9,949 potentially eligible subjects to participate in the study (Figure 1). Of these, 3,684 did not reply. Among participant contacted, 52.3% (3276/6265) accepted to participate (cooperation rate). Finally, the response rate was 32.9% (3,276 out of 9,945 subjects). The participation rate was lower in young men compared with women and older men (supplemental table 1). We excluded 59 subjects because they were more than 65 at inclusion because of delay between the selection in electoral rolls and visit. We excluded 553 subjects without valid spirometry data: 224 participants with unacceptable data and 329 with non-reproducible data. We also excluded one participant with lower limb agenesis, for whom the calculation of predicted values as a function of height would have been irrelevant. Hence, 2,663 participants (82.8% of those included) were analyzed. Compared with the analyzed participants, the 553 excluded participants without valid spirometry were older (mean (SD) age: 54.2 (7.1) vs. 52.8 (7.1), respectively; $p < 0.001$) and comprised a higher proportion of males (62.3% vs. 44.7%, respectively; $p < 0.001$). There were no other significant differences between the included and excluded subjects.

The characteristics of the 2,663 participants are described in table 1. There were 1,192 (44.7%) men and 1,471 (55.3%) women. The mean (SD) age was 52.8 (7.1). A total of 1,380 (51.8%) participants were living in the Lille urban area, and 1,283 (48.2%) were living in the Dunkirk urban area. There were 502 (18.8%) current smokers, 820 (30.8%) former smokers, 54 (2.0%) second-hand smokers and 1,287 (48.3%) never smokers. There were 258 (9.8%) participants with self-reported asthma and 48 (1.8%) with self-reported chronic bronchitis or emphysema.

Prevalence of AO

Using the modified GOLD criteria, the estimated prevalence [95% confidence interval] of AO (all grades) was 16.0% [13.9; 17.9] in the Lille urban area and 13.7% [11.7; 15.7] in the Dunkirk urban area (Table 2). Using the LLN (GLI 2012) equations, the prevalence was 10.8% [9.2; 12.5] in the Lille urban area and 9.5% [7.9; 11.2] in the Dunkirk urban area. The prevalence of moderate-to-very-severe AO was respectively 6.5% [5.3; 7.9] and 5.2% [4.0; 6.5] using the modified GOLD criteria and 4.8% [3.6; 5.9] and 3.5 [2.5; 4.5] using the LLN (GLI 2012).

The prevalence of AO (all grades) increased with age (p for trend <0.001) when using the modified GOLD criteria but decreased with age when using the LLN (GLI 2012) (p for trend $=0.01$). However, for moderate-to-very-severe AO, age was not significantly associated with prevalence.

AO risk factors

Table 3 shows the risk factors associated with AO (using modified GOLD criteria, all grades). In a multivariate analysis, AO was significantly associated with age ($p=0.002$), male gender ($p=0.009$), BMI ($p=0.001$) and tobacco consumption ($p<0.001$). Compared with never smokers, participants with a tobacco consumption of between 20 and 30 py were more likely to have AO (odds ratio (OR) [95%CI] =2.20 [1.46; 3.26]). This was even more evident for participants with a consumption greater than 30 py (OR=3.73 [2.62; 5.29]). Obese participants showed a lower risk of AO than those with a normal BMI (OR=0.56 [0.41; 0.77]). Educational levels were not significantly associated with the prevalence of AO.

The AO underdiagnosis rate

The underdiagnosis rate was estimated to be 76.4% (using the modified GOLD criteria) and 72.0% (using the LLN calculated by GLI 2012 equations). For moderate-to-very-severe AO, the underdiagnosis rate was respectively 63.7% and 64.8% (Table 4). Compared with AO- participants, the AO+D- participants were more likely to present with chronic bronchitis symptoms (2.7% vs. 7.2%, respectively, $p<0.001$), wheezing (13.4% vs. 21.3%, respectively; $p=0.001$), and breathlessness after walking quickly (5.1% vs. 8.3%, respectively; $p=0.03$) or at a normal pace (0.9% vs. 3.0%, respectively; $p=0.02$) (Table 5).

Sensibility analysis

Comparing to data of the national INSEE census for 2011, mid-level professions (and white-collar workers in men) were over-represented and blue collar workers were under-represented. We included this comparison in supplemental table 1. After correction, the prevalence of AO was 18.3% in Lille and 14.9% in Dunkirk with the GOLD definition and 9.7% and 12.3% with the LLN (GLI 2012), respectively, suggesting an underestimation of the prevalence of AO around 10%.

Discussion

By applying the modified GOLD criteria and the LLN (GLI 2012), we estimated the prevalence of AO (all grades) among middle-aged adults to be respectively 16.0% [13.9; 17.9] and 10.8% [9.2; 12.5] in the Lille urban area, and 13.7% [11.7; 15.7] and 9.5% [7.9; 11.2] in the Dunkirk urban area. More than 70% of the presently identified participants with AO had not previously been diagnosed by a physician (>65% for moderate-to-very-severe AO).

Methodological issues

To the best of our knowledge, this is the first study to have assessed the prevalence of adult AO in a general population sample in France. The response rate was low (32.9%). However, the socioeconomic distribution of the ELISABET study participants was similar to that reported in 2010 by the INSEE for the Lille and Dunkirk urban areas [34]. Mid-level profession (and white-collar workers in men) were slightly overrepresented (relative to blue-collar workers), which is often observed in studies of the general population. Prevalence of AO corrected for occupational categories suggested an underestimation of prevalence around 10%.

The study's main limitation was the absence of a reversibility test (i.e. a post-bronchodilator measurement of AO). To be as convenient as possible for the participants, examinations were performed at home. However, administering a drug in a research purpose must be done in an authorized center. Therefore, only prevalence of AO could be estimated in this survey.

We chose to present the prevalence of AO with the GLI 2012 equations. However, we also conducted analyses with the European Community for Steel and Coal (ECSC) and the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) III equations. The GLI 2012 equations gave intermediate prevalences comparing with the use of the other equations, but results were close (data not shown). Our results were in agreement with those of Quanjer et al. [35]. However, others observed that use of the GLI reference values may not be adapted to all populations [36].

The prevalence of AO

The prevalence of AO in our study population (adults aged from 40 to 65) varied markedly as a function of the definition used. The value calculated by applying modified GOLD criteria was 1.46-fold greater than that obtained with LLN (GLI 2012). This type of difference has already been observed in the literature when different spirometry criteria were applied

[35,37]. Several researchers have highlighted the fact that the use of a cut-off of 0.7 (which does not take account of age-related decreases in lung function) leads to lower prevalence estimates for AO in young participants and higher estimates in older adults (relative to reference equations). Previous research has shown that prevalence curves generated with GOLD criteria or reference equations cross between the ages of 40 and 65 [26,37].

We also found differences in the estimated prevalences of moderate-to-very-severe AO. Estimates based on GOLD grade II or higher AO were 1.44 higher than those calculated using LLN calculated by the GLI 2012 equations. The clinical expression of GOLD grade I was discussed [38,39]; hence, some researchers prefer to exclude GOLD grade I from their main results [7,15]. Nevertheless, there are also patients with a slight decrease in FEV1/FVC who show pronounced clinical symptoms [40]. Hence, excluding mild AO might lead to an underestimation of prevalence. Even the exclusion of participants with FEV1/FVC <0.7 but >LLN can be criticized: in a study of adults aged 65 and over published in 2007, Mannino et al. reported a higher risk of hospitalization or death among the latter participants than among participants with FEV1/FVC <0.7 in a population aged 65 yo and more. These results suggest that using the LLN might lead to underestimation of AO among older participants [41].

Surprisingly, the prevalence of AO decreased with age using the LLN calculated with the GLI 2012 equations. As the LLN take in account ageing, the increase prevalence of AO is logically weak or moderate when using this definition (like observed by Quanjer et al. [35]). However, the prevalence should not be decrease with age. Our finding showed that only the prevalence of AO for the age category 60-64 was significantly different from others. This group as reach age for retirement, therefore, obstacles and motivations to participate could be different in this group, leading to a differential selection bias in these participants. Another explanation could be an increase prevalence of AO in younger generation. However, smoking significantly decreased for men and remained stable for women between 1988 and 2007 [42] letting us to hope that prevalence of AO should decrease. Another explanation could be that the predicted values calculated by the GLI 2012 equations does not completely fit our population. However, when using other spirometric prediction equations (ECSC and NHANES III equations), the results were similar (data not shown) suggesting that these findings were not specifically related to the GLI 2012 equations.

Our prevalence estimates was in the range of previous ones studying prevalence of AO or COPD. Firstly, our findings are similar to those found in the latest European and American

studies of AO (which not to have featured reversibility tests). In 2014, Doney et al.'s study of American participants aged 40 to 70 from the NHANES 2007-2010 database reported prevalence estimates of up to 14.5% for AO (modified GOLD, all grades) and up to 4.4% for moderate-to-very-severe AO [43]. In the same year, Scholes et al. (in England and Wales) estimated the prevalence of all grades AO to be 22.2% (modified GOLD) and 13.1% (using a LLN) among 7,879 participants aged 40 to 95 [44]. Earlier, Fabricius et al. measured a prevalence of AO (modified GOLD, all grades) of 17.4% among participants aged 35 or over in Copenhagen [45]. Bridevaux et al. (in Switzerland) found a prevalence of AO of 10.0% (using a LLN) and 7.0% (modified GOLD grade II or higher) [46]. In a French sample of working adults recruited by health centres, Roche et al. found the prevalence of AO (modified GOLD, all grades) to be 7.5% [12]. The difference observed between Roche et al.'s results and our present results is most probably caused by a healthy worker effect. Secondly, results are within the range of previous estimates of the prevalence of COPD. In 2007, the Burden of Obstructive Lung Disease study reported COPD prevalence estimates ranging from 11.4% to 26.1% among 52- to 60-year-olds in 12 countries worldwide [15]. The COPD prevalence estimates for grade GOLD II or higher ranged from 5.9% to 19.1%. Earlier, the PLATINO study (2005) reported prevalence estimates for COPD (GOLD, all grades) of between 11.9% and 19.4% among over-40 adults in five Latin American cities [16]. The estimates for GOLD grade II or higher ranged from 2.6% to 7.1%. Our present results also fit with the findings of other European studies: in a systematic review of studies published from 1991 to 2009, Atsou et al. found that the reported prevalence of all-grade COPD in Europe ranged from 2.1% to 26.1% [14]. However, the methodology varied markedly from one study to another. In particular, some studies did not use spirometry to diagnose COPD.

Risk factors

As expected, the prevalence of AO increased with smoking - the main risk factor for COPD [5]. A dose-effect relationship was apparent. We were unable to confirm literature reports of a significant relationship between second-hand smoking and AO [47,48]. However, our population of second-hand smokers was extremely small (54 participants, 2.0%) – perhaps as a result of France's introduction of a ban on smoking in public areas in 2007.

BMI was inversely correlated with AO (GOLD, all grades). This relationship has been described in the literature, although it is still not clear whether low BMI is a determinant or a consequence of COPD [49,50]. Male gender was independently associated with AO in our study population. However, previous studies were unable to evidence a clear relationship

between gender and AO [51,52]. Salvi and Barnes' 2009 review of COPD determinants [17] highlighted an association between socioeconomic status and COPD. However, educational level was not significantly associated with AO in the present study.

Underdiagnosis of AO

Nearly three quarters of the participants with AO had not reported chronic bronchitis, emphysema or asthma. Even the underdiagnosis rate for moderate-to-very-severe AO was 64%. These high values are in agreement with the literature. Hill et al.'s study of 1,003 Canadian participants found an underdiagnosis rate of 67.3% [6]. High underdiagnosis rates were also found in Soriano et al.'s [7] study in Spain (73%), in Moreira et al.'s study in Brazil (70.0%) [8] and in Bednarek et al.'s [9] study in Poland (81%). Most recently, Evans et al. found that the prevalence of non-diagnosed AO (GOLD, all grades) was 15% among Canadian participants aged from 35 to 79 [10].

High underdiagnosis rates might result from the insidious progression of AO, since patients might consider the progressive decline in their lung function to be a non-pathological phenomenon and thus might not recognize their symptoms. We observed that non-diagnosed participants with AO were more likely to have symptoms (symptoms of chronic bronchitis, wheezing, and exertional dyspnoea) than participants without AO.

The putative use of more aggressive screening COPD strategies has been criticized by some researchers, who argue that (i) few interventions are efficient in early-stage disease and (ii) the costs associated with false positives would be prohibitive [53]. However, Csikesz and Gartman recently reviewed possible options for early COPD screening and associated care [54]. Moreover, it has been suggested that the decline in lung function might be more intense in early-stage disease [55]. Earlier diagnosis of COPD would help patients to stop smoking earlier, which is still the main way of slowing down the progression of this respiratory disorder. In 2011, Schirnhofner et al. [56] suggested that targeted, spirometry-based screening for symptoms and risk factors could halve the underdiagnosis rate. Our results suggested that it might be useful to apply these strategies in our territory.

Conclusion

The prevalence of AO in adults in northern France ranged from 9.5% and 16% (depending on the centre and the definition of AO used). The high underdiagnosis rate observed here (around 75%) and the frequency of lung symptoms among participants with AO and who did not report previous physician-diagnosed suggests that healthcare workers should make greater efforts to identify individuals presenting with symptoms and/or risk factors associated with AO.

Conflicts of interest: none

Acknowledgements

The authors thank the CHRU de Lille, the University of Lille, the Institut Pasteur de Lille, and the Centre Hospitalier Général de Dunkerque. They thank the nurses, physicians and secretarial staff of the University of Lille and the Institut Pasteur de Lille. They thank the Service de Médecine du Travail, the service de Biologie Spécialisé, and the laboratoire d'Analyses Génomiques of Institut Pasteur de Lille. They thank the department of biology and the department of pneumology of the Centre Hospitalier Général de Dunkerque. They thank the Institut de biologie et de pathologie of the CHRU de Lille and the Centre Universitaire de Mesures et d'Analyses (CUMA) of the University of Lille.

Funding

The sponsor of the ELISABET survey is the CHRU de Lille. This work was supported by the Nord Pas-de-Calais Regional Council and the European Regional Development Fund (ERDF-FEDER Presage N°36034) in the frame of CPER Institut de Recherche en ENvironnement Industriel (IRENI).

References

1. Hogg JC. Pathophysiology of airflow limitation in chronic obstructive pulmonary disease. *Lancet*. 2004 Aug 21;364(9435):709–21.
2. Chapman KR, Mannino DM, Soriano JB, Vermeire PA, Buist AS, Thun MJ, et al. Epidemiology and costs of chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J*. 2006 Jan;27(1):188–207.
3. Pauwels RA, Rabe KF. Burden and clinical features of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Lancet*. 2004 Aug 14;364(9434):613–20.
4. Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet Lond Engl*. 2012 Dec 15;380(9859):2095–128.
5. Mannino DM, Buist AS. Global burden of COPD: risk factors, prevalence, and future trends. *Lancet*. 2007 Sep 1;370(9589):765–73.
6. Hill K, Goldstein RS, Guyatt GH, Blouin M, Tan WC, Davis LL, et al. Prevalence and underdiagnosis of chronic obstructive pulmonary disease among patients at risk in primary care. *CMAJ Can Med Assoc J J Assoc Medicale Can*. 2010 Apr 20;182(7):673–8.
7. Soriano JB, Ancochea J, Miravittles M, García-Río F, Duran-Tauleria E, Muñoz L, et al. Recent trends in COPD prevalence in Spain: a repeated cross-sectional survey 1997–2007. *Eur Respir J*. 2010 Oct;36(4):758–65.
8. Moreira GL, Manzano BM, Gazzotti MR, Nascimento OA, Perez-Padilla R, Menezes AMB, et al. PLATINO, a nine-year follow-up study of COPD in the city of São Paulo, Brazil: the problem of underdiagnosis. *J Bras Pneumol Publicação Of Soc Bras Pneumol E Tisiologia*. 2014 Feb;40(1):30–7.
9. Bednarek M, Maciejewski J, Wozniak M, Kuca P, Zielinski J. Prevalence, severity and underdiagnosis of COPD in the primary care setting. *Thorax*. 2008 May;63(5):402–7.
10. Evans J, Chen Y, Camp PG, Bowie DM, McRae L. Estimating the prevalence of COPD in Canada: Reported diagnosis versus measured airflow obstruction. *Health Rep*. 2014 Mar 19;25(3):3–11.
11. Huchon GJ, Vergnenègre A, Neukirch F, Bami G, Roche N, Preux PM. Chronic bronchitis among French adults: high prevalence and underdiagnosis. *Eur Respir J*. 2002 Oct;20(4):806–12.
12. Roche N, Dalmay F, Perez T, Kuntz C, Vergnenègre A, Neukirch F, et al. Impact of chronic airflow obstruction in a working population. *Eur Respir J*. 2008 Jun;31(6):1227–33.

13. Ferré A, Fuhrman C, Zureik M, Chouaid C, Vergnenègre A, Huchon G, et al. Chronic bronchitis in the general population: influence of age, gender and socio-economic conditions. *Respir Med*. 2012 Mar;106(3):467–71.
14. Atsou K, Chouaid C, Hejblum G. Variability of the chronic obstructive pulmonary disease key epidemiological data in Europe: systematic review. *BMC Med*. 2011;9:7.
15. Buist AS, McBurnie MA, Vollmer WM, Gillespie S, Burney P, Mannino DM, et al. International variation in the prevalence of COPD (the BOLD Study): a population-based prevalence study. *Lancet*. 2007 Sep 1;370(9589):741–50.
16. Menezes AMB, Perez-Padilla R, Jardim JRB, Muiño A, Lopez MV, Valdivia G, et al. Chronic obstructive pulmonary disease in five Latin American cities (the PLATINO study): a prevalence study. *Lancet*. 2005 Nov 26;366(9500):1875–81.
17. Salvi SS, Barnes PJ. Chronic obstructive pulmonary disease in non-smokers. *Lancet*. 2009 Aug 29;374(9691):733–43.
18. Kainu A, Rouhos A, Sovijärvi A, Lindqvist A, Sarna S, Lundbäck B. COPD in Helsinki, Finland: socioeconomic status based on occupation has an important impact on prevalence. *Scand J Public Health*. 2013 Aug;41(6):570–8.
19. Liu Y, Lee K, Perez-Padilla R, Hudson NL, Mannino DM. Outdoor and indoor air pollution and COPD-related diseases in high- and low-income countries. *Int J Tuberc Lung Dis Off J Int Union Tuberc Lung Dis*. 2008 Feb;12(2):115–27.
20. Hu G, Zhou Y, Tian J, Yao W, Li J, Li B, et al. Risk of COPD from exposure to biomass smoke: a metaanalysis. *Chest*. 2010 Jul;138(1):20–31.
21. Vestbo J, Hurd SS, Agustí AG, Jones PW, Vogelmeier C, Anzueto A, et al. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: GOLD executive summary. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013 Feb 15;187(4):347–65.
22. Pellegrino R, Viegi G, Brusasco V, Crapo RO, Burgos F, Casaburi R, et al. Interpretative strategies for lung function tests. *Eur Respir J*. 2005 Nov;26(5):948–68.
23. Quanjer PH, Stanojevic S, Thompson BR. Spirometric thresholds and biased interpretation of test results. *Thorax*. 2014 Dec;69(12):1146.
24. Miller MR. Comparison of spirometric thresholds in diagnosing smoking-related airflow obstruction. *Thorax*. 2014 Dec;69(12):1145–6.
25. Marks GB. Are reference equations for spirometry an appropriate criterion for diagnosing disease and predicting prognosis? *Thorax*. 2012 Jan;67(1):85–7.
26. Quanjer PH, Hall GL, Stanojevic S, Cole TJ, Stocks J, Global Lungs Initiative. Age- and height-based prediction bias in spirometry reference equations. *Eur Respir J*. 2012 Jul;40(1):190–7.

27. Bakke PS, Rönmark E, Eagan T, Pistelli F, Annesi-Maesano I, Maly M, et al. Recommendations for epidemiological studies on COPD. *Eur Respir J*. 2011 Dec;38(6):1261–77.
28. Quanjer PH, Stanojevic S, Cole TJ, Baur X, Hall GL, Culver BH, et al. Multi-ethnic reference values for spirometry for the 3-95-yr age range: the global lung function 2012 equations. *Eur Respir J*. 2012 Dec;40(6):1324–43.
29. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, et al. Standardisation of spirometry. *Eur Respir J*. 2005 Aug;26(2):319–38.
30. Medical Research Council's Committee on Environmental and Occupational Health. Questionnaire on respiratory symptoms. London, Medical Research Council, 1986.
31. Melville AM, Pless-Mulloli T, Afolabi OA, Stenton SC. COPD prevalence and its association with occupational exposures in a general population. *Eur Respir J*. 2010 Sep;36(3):488–93.
32. Eurostat. Revision of the European Standard Population - Report of Eurostat's task force - 2013 edition (2013) [Internet]. [cited 2015 Jul 2]. Available from: ec.europa.eu/eurostat/en/web/products-manuals-and-guidelines/-/KS-RA-13-028
33. Efron B. Better Bootstrap Confidence Intervals. *J Am Stat Assoc*. 1987 Mar;82(397):171–85.
34. Institut national de la statistique et des études économiques (INSEE). Available from: www.insee.fr/fr/ppp/bases-de-donnees/donnees-detaillees/rp2010/tab-detailles/td-population-10/BTX_TD_POP6_2010.zip
35. Quanjer PH, Brazzale DJ, Boros PW, Pretto JJ. Implications of adopting the Global Lungs Initiative 2012 all-age reference equations for spirometry. *Eur Respir J*. 2013 Oct;42(4):1046–54.
36. Backman H, Lindberg A, Sovijärvi A, Larsson K, Lundbäck B, Rönmark E. Evaluation of the global lung function initiative 2012 reference values for spirometry in a Swedish population sample. *BMC Pulm Med* [Internet]. 2015 Mar 25 [cited 2015 Sep 21];15. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4417328/>
37. Vollmer WM, Gíslason T, Burney P, Enright PL, Gulsvik A, Kocabas A, et al. Comparison of spirometry criteria for the diagnosis of COPD: results from the BOLD study. *Eur Respir J*. 2009 Sep;34(3):588–97.
38. Bridevaux P-O, Gerbase MW, Probst-Hensch NM, Schindler C, Gaspoz J-M, Rochat T. Long-term decline in lung function, utilisation of care and quality of life in modified GOLD stage 1 COPD. *Thorax*. 2008 Sep;63(9):768–74.
39. Ekberg-Aronsson M, Pehrsson K, Nilsson J-A, Nilsson PM, Löfdahl C-G. Mortality in GOLD stages of COPD and its dependence on symptoms of chronic bronchitis. *Respir Res*. 2005;6:98.

40. Agustí A, Calverley PMA, Celli B, Coxson HO, Edwards LD, Lomas DA, et al. Characterisation of COPD heterogeneity in the ECLIPSE cohort. *Respir Res*. 2010;11:122.
41. Mannino DM, Sonia Buist A, Vollmer WM. Chronic obstructive pulmonary disease in the older adult: what defines abnormal lung function? *Thorax*. 2007 Mar;62(3):237–41.
42. Tilloy E, Cotel D, Ruidavets J-B, Arveiler D, Ducimetière P, Bongard V, et al. Characteristics of current smokers, former smokers, and second-hand exposure and evolution between 1985 and 2007. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil Off J Eur Soc Cardiol Work Groups Epidemiol Prev Card Rehabil Exerc Physiol*. 2010 Dec;17(6):730–6.
43. Doney B, Hnizdo E, Dillon CF, Paulose-Ram R, Tilert T, Wolz M, et al. Prevalence of Airflow Obstruction in U.S. Adults Aged 40-79 Years: NHANES Data 1988-1994 and 2007-2010. *COPD*. 2014 Sep 22;
44. Scholes S, Moody A, Mindell JS. Estimating population prevalence of potential airflow obstruction using different spirometric criteria: a pooled cross-sectional analysis of persons aged 40-95 years in England and Wales. *BMJ Open*. 2014;4(7):e005685.
45. Fabricius P, Løkke A, Marott JL, Vestbo J, Lange P. Prevalence of COPD in Copenhagen. *Respir Med*. 2011 Mar;105(3):410–7.
46. Bridevaux P-O, Probst-Hensch NM, Schindler C, Curjuric I, Felber Dietrich D, Braendli O, et al. Prevalence of airflow obstruction in smokers and never-smokers in Switzerland. *Eur Respir J*. 2010 Dec;36(6):1259–69.
47. Hagstad S, Bjerg A, Ekerljung L, Backman H, Lindberg A, Rönmark E, et al. Passive smoking exposure is associated with increased risk of COPD in never smokers. *Chest*. 2014 Jun;145(6):1298–304.
48. Yin P, Jiang CQ, Cheng KK, Lam TH, Lam KH, Miller MR, et al. Passive smoking exposure and risk of COPD among adults in China: the Guangzhou Biobank Cohort Study. *Lancet*. 2007 Sep 1;370(9589):751–7.
49. Harik-Khan RI, Fleg JL, Wise RA. Body mass index and the risk of COPD. *Chest*. 2002 Feb;121(2):370–6.
50. García-Río F, Soriano JB, Miravittles M, Muñoz L, Duran-Tauleria E, Sánchez G, et al. Impact of obesity on the clinical profile of a population-based sample with chronic obstructive pulmonary disease. *PloS One*. 2014;9(8):e105220.
51. Han MK, Postma D, Mannino DM, Giardino ND, Buist S, Curtis JL, et al. Gender and chronic obstructive pulmonary disease: why it matters. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007 Dec 15;176(12):1179–84.
52. De Torres JP, Casanova C, Hernández C, Abreu J, Aguirre-Jaime A, Celli BR. Gender and COPD in patients attending a pulmonary clinic. *Chest*. 2005 Oct;128(4):2012–6.

53. Enright P. Does screening for COPD by primary care physicians have the potential to cause more harm than good? *Chest*. 2006 Apr;129(4):833–5.
54. Csikesz NG, Gartman EJ. New developments in the assessment of COPD: early diagnosis is key. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2014;9:277–86.
55. Drummond MB, Hansel NN, Connett JE, Scanlon PD, Tashkin DP, Wise RA. Spirometric predictors of lung function decline and mortality in early chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012 Jun 15;185(12):1301–6.
56. Schirnhofner L, Lamprecht B, Firlei N, Kaiser B, Buist AS, Halbert RJ, et al. Using targeted spirometry to reduce non-diagnosed chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Int Rev Thorac Dis*. 2011;81(6):476–82.

Table 1. Characteristics of the study participants, n=2,663.

Variable	N	All	Men	Women
Gender, n (%)	2663	-	1192 (44.8)	1471 (55.2)
Centre, n (%)	2663			
Lille urban area		1380 (51.8)	616 (51.7)	764 (51.9)
Dunkirk urban area		1283 (48.2)	576 (48.3)	707 (48.1)
Age (years), mean (sd)	2663	52.8 (7.1)	53.2 (7.0)	52.5 (7.2)
Age categories (years), n (%)	2663			
40-44		463 (17.4)	186 (15.6)	277 (18.8)
45-49		549 (20.6)	239 (20.0)	310 (21.1)
50-54		536 (20.1)	238 (19.9)	298 (20.3)
55-59		571 (21.5)	268 (22.5)	303 (20.6)
60-64		544 (20.4)	261 (21.9)	283 (19.2)
BMI (kg/m ²), n (%)	2663			
Underweight (BMI < 18)		27 (1.0)	6 (0.5)	21 (1.4)
Normal weight (BMI from 18 to 25)		1016 (38.2)	336 (28.2)	680 (46.1)
Overweight (BMI from 25 to 30)		1012 (38.1)	575 (48.4)	437 (29.9)
Obese (BMI > 30)		609 (22.8)	275 (23.0)	333 (22.6)
Educational level, n (%)	2663			
Less than 9 years of full-time education		266 (10.0)	86 (7.2)	180 (12.2)
Less than 12 years of full-time education		910 (34.2)	441 (37.0)	469 (31.9)
Less than 15 years of full-time education		476 (17.9)	220 (18.4)	256 (17.4)
Less than 17 years of full-time education		502 (18.8)	189 (15.8)	313 (21.3)
More than 17 years of full-time education		509 (19.1)	256 (21.5)	253 (17.2)
Smoking status, n (%)	2663			
Current smoker		502 (18.8)	267 (22.5)	235 (16.0)
Former smoker		820 (30.8)	483 (40.5)	337 (22.9)
Second-hand smoker		54 (2.0)	22 (1.8)	32 (2.2)
Never smoker		1287 (48.3)	420 (35.3)	867 (58.9)
Tobacco consumption (pack-years), n (%)	2626			
0 pack-years		1437 (54.0)	492 (41.4)	945 (64.3)
≤ 10 pack-years		480 (18.0)	239 (20.1)	241 (16.4)
from 10 to 20 pack-years		350 (13.1)	186 (15.6)	164 (11.1)
from 20 to 30 pack-years		186 (7.0)	126 (10.6)	60 (4.1)
> 30 pack-years		208 (7.8)	148 (12.4)	60 (4.1)
Chronic respiratory disorder				
Self-reported COPD ^a , n (%)	2662	48 (1.8)	22 (1.8)	26 (1.8)
Self-reported asthma ^b , n (%)	2642	258 (9.8)	115 (9.7)	143 (9.8)
Symptoms				
Chronic cough ^c , n (%)	2649	235 (8.9)	111 (9.4)	124 (8.5)
Chronic bronchitis symptoms ^d , n (%)	2616	90 (3.4)	44 (3.8)	46 (3.2)
Wheezing ^e , n (%)	2662	426 (16.0)	206 (17.3)	220 (15.0)
Breathlessness when walking ^f , n (%)	2663	77 (2.9)	14 (1.1)	63 (4.3)
FEV1 (L.s ⁻¹), mean (sd)	2663	3.1 (0.8)	3.6 (0.7)	2.7 (0.5)
FVC (L), mean (sd)	2663	4 (1.0)	4.7 (0.9)	3.5 (0.7)
FEV1/FVC (%), mean (sd)	2663	76.1 (6.8)	75.3 (7.3)	76.8 (6.3)

FEV1 observed/predicted (%), mean (sd)	2663	96.4 (16.5)	95.3 (17.0)	97.4 (16.0)
FVC observed/predicted (%), mean (sd)	2663	100.4 (15.3)	99.3 (15.1)	101.2 (15.5)
FEV1/FVC observed/predicted (%), mean (sd)	2663	95.2 (10.9)	94.8 (12.6)	95.4 (9.3)

BMI: body mass index; FEV1: forced expiratory volume in the first second; FVC: forced vital capacity

FEV1 and FVC predicted values calculated from GLI equations

^a self-reported physician diagnosis of chronic bronchitis or emphysema

^b response yes to: "Have you ever had an asthma attack?" and "Has a diagnosis of asthma ever been confirmed by a physician?"

^c response yes to: "Do you cough [usually in the winter] most days for as much as three months each year?"

^d chronic cough and expectorations for at least 3 months in two consecutive years

^e response yes to: "Have you had wheezing or whistling in your chest at any time in the last 12 month?"

^f response yes to: "Do you get short of breath when walking with other people of your age on level ground?"

Table 2. Overall and standardized airway obstruction prevalence with GOLD criteria and LLN calculated by the GLI 2012 equations, n=2,663.

Variable	Prevalence [95% CI] of airway obstruction (%)							
	GOLD All grades ^a		GOLD Moderate-to- very-severe ^b		LLN All grades ^c		LLN Moderate-to- very-severe ^d	
Overall	14.9	[13.5; 16.2]	5.9	[5.0; 6.8]	10.2	[9.0; 11.4]	4.1	[3.4; 4.9]
Stratified								
Centre								
Lille	16.0	[13.9; 17.9]	6.5	[5.3; 7.9]	10.8	[9.2; 12.5]	4.8	[3.6; 5.9]
Dunkirk	13.7	[11.7; 15.7]	5.2	[4.0; 6.5]	9.5	[7.9; 11.2]	3.5	[2.5; 4.5]
Gender								
Males	18.2	[16.0; 20.5]	8.0	[6.5; 9.5]	11.5	[9.6; 13.4]	5.2	[4.0; 6.6]
Females	12.0	[10.4; 13.7]	4.1	[3.1; 5.2]	9.0	[7.5; 10.5]	3.2	[2.3; 4.2]
Age categories (years)								
40-44	12.1	[9.3; 15.3]	4.3	[2.6; 6.3]	12.5	[9.7; 15.6]	4.3	[2.6; 6.3]
45-49	11.1	[8.7; 13.8]	3.3	[1.8; 4.9]	10.2	[7.7; 12.8]	2.7	[1.5; 4.0]
50-54	15.7	[12.7; 18.8]	7.3	[5.0; 9.7]	10.6	[8.0; 13.4]	4.9	[3.2; 6.7]
55-59	18.4	[15.2; 21.5]	8.6	[6.5; 10.9]	9.8	[7.4; 12.3]	5.4	[3.7; 7.4]
60-64	17.7	[14.5; 20.8]	6.3	[4.4; 8.3]	7.2	[5.2; 9.4]	3.3	[1.8; 4.8]
BMI (kg/m ²)								
Underweight (< 18)	29.3	[11.4; 46.6]	9.4	[0.0; 20.9]	24.4	[9.1; 41.7]	9.4	[0.0; 21.3]
Normal weight (from 18 to 25)	16.7	[14.3; 19.4]	5.7	[4.4; 7.2]	12.3	[10.4; 14.5]	4.7	[3.4; 6.1]
Overweight (from 25 to 30)	14.2	[12.2; 16.4]	5.7	[4.3; 7.2]	8.7	[6.9; 10.6]	3.6	[2.5; 4.9]
Obese (> 30)	11.9	[9.5; 14.8]	5.7	[4.1; 7.5]	7.8	[5.6; 10.2]	3.7	[2.3; 5.4]
Educational level								
Less than 9 years of full-time education	18.4	[11.2; 26.3]	10.8	[4.8; 17.6]	13.4	[6.7; 20.8]	7.5	[2.7; 13.7]
Less than 12 years of full-time education	16.4	[14.2; 18.8]	8.1	[6.3; 9.9]	11.8	[9.5; 14.0]	5.8	[4.4; 7.5]
Less than 15 years of full-time education	14.2	[11.2; 17.5]	3.9	[2.3; 5.7]	8.9	[6.6; 11.7]	2.5	[1.2; 3.9]
Less than 17 years of full-time education	14.9	[11.6; 18.2]	3.3	[1.8; 4.9]	10.6	[8.1; 13.4]	2.1	[1.0; 3.5]
More than 17 years of full-time education	12.8	[10.0; 15.6]	4.8	[3.1; 6.8]	8.3	[6.0; 10.7]	4.0	[2.6; 5.9]
Smoking status								
Current smoker	24.1	[20.3; 27.9]	12.9	[9.9; 16.0]	18.8	[15.3; 22.4]	10.9	[8.3; 13.9]
Former smoker	15.6	[13.2; 18.2]	5.4	[4.0; 7.0]	9.0	[7.0; 11.0]	3.3	[2.2; 4.6]
Second-hand smoker	5.6	[0.0; 13.6]	2.2	[0.0; 7.3]	3.4	[0.00; 9.0]	0.0	[0.0; 0.0]
Never smoker	10.9	[9.2; 12.9]	3.6	[2.6; 4.6]	7.7	[6.3; 9.2]	2.3	[1.5; 3.1]
Tobacco consumption (pack-years), n (%)								
0 pack-years	11.5	[9.9; 13.1]	3.9	[2.9; 5.0]	8.1	[6.6; 9.5]	2.5	[1.7; 3.5]
≤ 10 pack-years	12.5	[9.6; 15.6]	4.7	[2.9; 6.8]	7.2	[5.0; 9.5]	1.9	[0.8; 3.4]
from 10 to 20 pack-years	16.2	[12.5; 20.2]	4.3	[2.2; 6.6]	10.5	[7.6; 14.0]	3.7	[1.7; 5.7]
from 20 to 30 pack-years	22.3	[16.3; 29.0]	8.6	[4.6; 12.5]	15.8	[10.8; 21.5]	6.4	[3.1; 10.2]
> 30 pack-years	34.6	[26.6; 42.4]	23.9	[17.2; 30.6]	26.6	[18.8; 34.2]	21.0	[14.5; 27.4]
Chronic cough ^e								
Yes	26.9	[21.5; 32.8]	15.2	[11.1; 20.4]	21.3	[16.3; 26.9]	12.2	[8.4; 17.0]
No	13.5	[12.2; 15.0]	4.9	[4.1; 5.8]	9.0	[7.8; 10.2]	3.3	[2.6; 4.1]
Chronic bronchitis symptoms ^f								

Yes	32.9 [23.2; 42.7]	20.9 [13.4; 31.2]	28.4 [18.9; 39.4]	19.5 [11.4; 28.3]
No	13.8 [12.4; 15.1]	5.1 [4.3; 6.0]	9.1 [7.9; 10.3]	3.4 [2.7; 4.1]
Wheezing ^e				
Yes	29.1 [24.9; 33.4]	15.9 [12.4; 19.6]	23.8 [19.9; 28.2]	11.9 [8.9; 15.2]
No	12.1 [10.9; 13.4]	4.0 [3.3; 4.8]	7.5 [6.4; 8.7]	2.6 [2.0; 3.4]
Breathlessness when walking ^h				
Yes	23.4 [14.1; 33.9]	16.6 [8.8; 26.9]	22.3 [13.2; 33.0]	16.6 [8.5; 27.2]
No	14.6 [13.8; 16.1]	5.6 [4.8; 6.6]	9.8 [8.7; 11.0]	3.8 [3.1; 4.6]

95% CI: 95% confidence interval; BMI: body mass index, FEV1: Forced expiratory volume in the first second; FVC: forced vital capacity; LLN: lower limit of normal

^a FEV1/FVC < 0.70

^b FEV1/FVC < 0.70 and FEV1 < 80% of predicted value (calculated with the GLI 2012 equations)

^c FEV1/FVC < LLN (calculated with the GLI 2012 equations)

^d FEV1/FVC < LLN and FEV1 < LLN (calculated with the GLI 2012 equations)

^e response yes to: "Do you cough [usually in the winter] most days for as much as three months each year?"

^f chronic cough and expectorations for at least 3 months in two consecutive years

^g response yes to: "Have you had wheezing or whistling in your chest at any time in the last 12 month?"

^h response yes to: "Do you get short of breath when walking with other people of your age on level ground?"

Table 3. Risk factors of airway obstruction.

Variable	Population		Bivariate analyses		Multivariate model	
	With AO	Without AO	OR [95% CI]	p ^a	OR [95% CI]	p ^a
Centre						
Lille	224	1156	-	0.090	-	0.079
Dunkirk	178	1105	0.83 [0.67; 1.03]		0.81 [0.64; 1.02]	
Gender						
Females	178	1293	-	<0.001	-	0.009
Males	224	969	1.68 [1.36; 2.08]		1.38 [1.08; 1.75]	
Age categories (years), n (%)						
40-44	56	407	-	0.001	-	0.002
45-49	61	488	0.91 [0.62; 1.34]		0.91 [0.61; 1.37]	
50-54	84	452	1.35 [0.94; 1.95]		1.37 [0.93; 2.01]	
55-59	105	466	1.63 [1.16; 2.33]		1.68 [1.16; 2.46]	
60-64	96	448	1.56 [1.09; 2.23]		1.61 [1.10; 2.45]	
BMI (kg/m ²)						
Underweight (< 18)	8	19	2.16 [0.88; 4.84]		1.83 [0.63; 4.63]	
Normal weight (18 to 25)	166	850	-	0.067	-	0.001
Overweight (25 to 30)	149	863	0.88 [0.69; 1.12]		0.70 [0.54; 0.92]	
Obese (> 30)	79	529	0.76 [0.57; 1.02]		0.56 [0.41; 0.77]	
Educational level, n (%)						
Less than 9 years of full-time education	41	225	-	0.385	-	0.402
Less than 12 years of full-time education	152	758	1.10 [0.76; 1.62]		1.26 [0.84; 1.94]	
Less than 15 years of full-time education	70	406	0.95 [0.62; 1.45]		1.13 [0.71; 1.81]	
Less than 17 years of full-time education	74	428	0.95 [0.63; 1.45]		1.25 [0.78; 2.01]	
More than 17 years of full-time education	65	444	0.80 [0.53; 1.23]		0.94 [0.59; 1.53]	
Smoking status						
Non-smoker	145	1142	-	<0.001	-	<0.001
Second-hand smoker	3	51	0.46 [0.11; 1.28]		0.49 [0.12; 1.36]	
≤ 10 pack-years	59	421	1.10 [0.80; 1.52]		1.07 [0.76; 1.48]	
from 10 to 20 pack-years	57	293	1.53 [1.09; 2.13]		1.52 [1.08; 2.13]	
from 20 to 30 pack-years	42	144	2.30 [1.55; 3.35]		2.20 [1.46; 3.26]	
> 30 pack-years	74	134	4.35 [3.12; 6.06]		3.73 [2.62; 5.29]	

AO: airway obstruction; OR: odds ratio; CI: confidence interval; BMI: body mass index; FEV1: forced expiratory volume in the first second; FVC: forced vital capacity.

^a overall p value per risk factor

Table 4. Underdiagnosis rates of airway obstruction.

Airway obstruction	Total	No self-reported diagnosis ^a	Underdiagnosis rate (%)
All grades (GOLD grades I to IV) ^b	394	301	76.4
Moderate-to-very-severe (GOLD grades II to IV) ^c	157	100	63.7
All grades (LLN) ^d	261	188	72.0
Moderate-to-very-severe (LLN) ^e	108	70	64.8

^a a self-reported physician diagnosis of asthma, chronic bronchitis or emphysema

^b FEV1/FVC < 0.70

^c FEV1/FVC < 0.70 and FEV1 < 80% of the predicted value (calculated with the GLI 2012 equations)

^d FEV1/FVC < LLN (calculated with the GLI 2012 equations)

^e FEV1/FVC < LLN and FEV1 < LLN (calculated with the GLI 2012 equations)

Table 5. Symptoms among participants without airway obstruction (AO), with undiagnosed AO and with diagnosed AO.

Symptoms	No airway obstruction (AO-)	Undiagnosed airway obstruction ^a (AO+D-)	Diagnosed airway obstruction ^a (AO+D+)	p value	
				AO- vs. AO+D-	AO+D- vs. AO+D+
Age (years), mean (sd)	52.6 (7.1)	54.3 (7.0)	53.0 (6.7)	<0.001	0.083
Gender (females), n (%)	1293 (57.2)	131 (43.5)	43 (46.2)	<0.001	0.720
Centre (Dunkirk), n (%)	1105 (48.9)	138 (45.8)	33 (35.5)	0.327	0.094
Observed FEV1/FVC, mean (sd)	78.2 (4.3)	65.3 (5.1)	61.7 (8.6)	<0.001	0.000
FEV1 observed/predicted, mean (sd)	99.4 (13.7)	84.8 (14.9)	72.4 (19.4)	<0.001	<0.001
Chronic cough ^b , n (%)	169 (7.5)	46 (15.4)	18 (19.6)	<0.001	0.338
Chronic bronchitis symptoms ^c , n (%)	59 (2.6)	21 (7.2)	10 (11.6)	<0.001	0.186
Wheezing ^d , n (%)	302 (13.4)	64 (21.3)	59 (63.4)	<0.001	<0.001
Dyspnoea, n (%)					
After climbing 1 floor, n (%)	154 (6.8)	28 (9.3)	14 (15.1)	0.120	0.126
After a fast walk ^e , n (%)	115 (5.1)	25 (8.3)	14 (15.1)	0.030	0.073
After a walk on flat ground ^f , n (%)	60 (2.7)	9 (3.0)	8 (8.6)	0.705	0.035
After a normal walk ^g , n (%)	20 (0.9)	9 (3.0)	5 (5.4)	0.004	0.334
At rest, n (%)	5 (0.2)	3 (1.0)	2 (2.2)	0.057	0.338

^a a self-reported physician diagnosis of asthma, chronic bronchitis or emphysema

^b response yes to: "Do you cough [usually in the winter] most days for as much as three months each year?"

^c chronic cough and expectorations for at least 3 months in two consecutive years

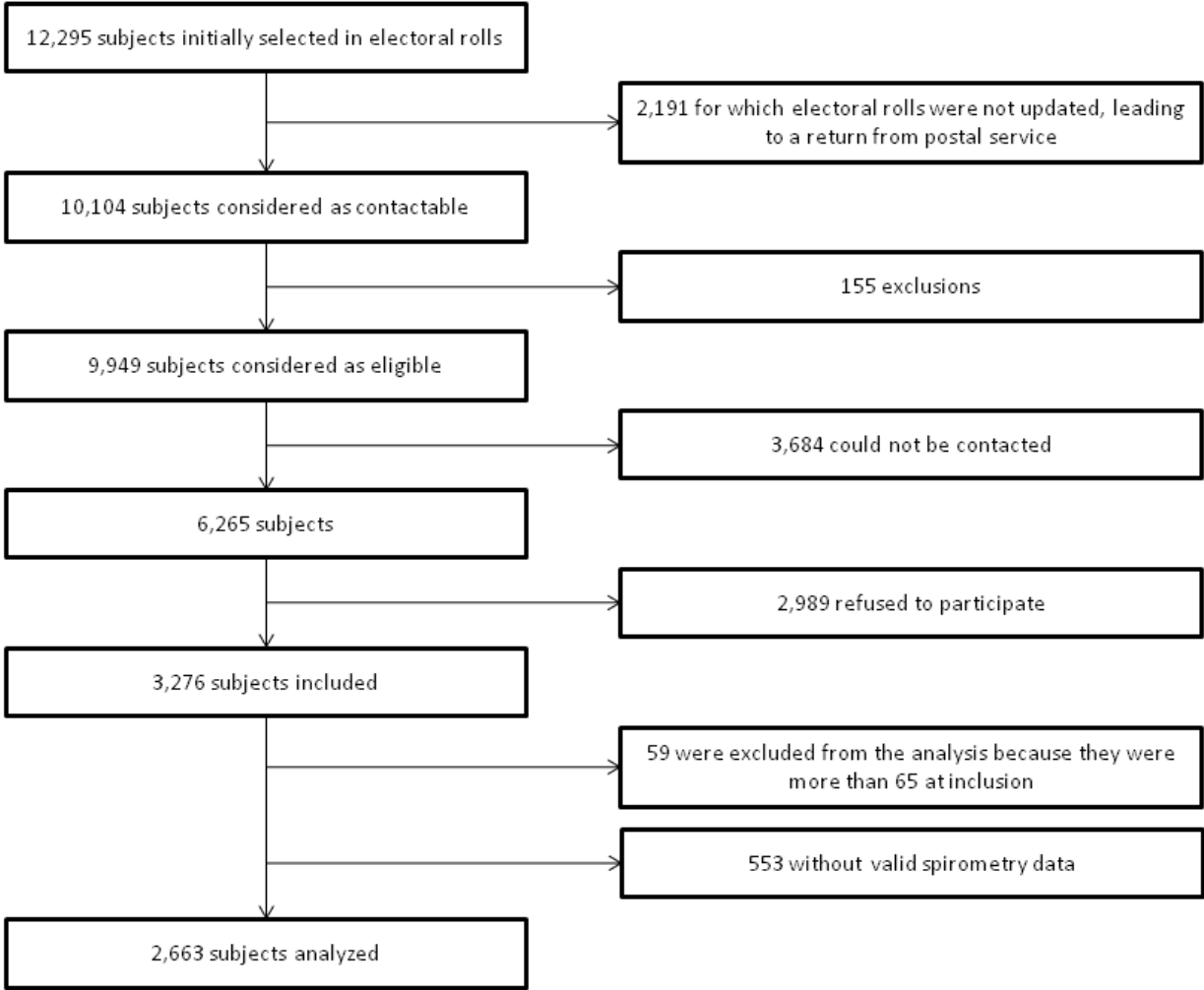
^d response yes to: "Have you had wheezing or whistling in your chest at any time in the last 12 month?"

^e response yes to: "Are you troubled by shortness of breath when hurrying on level ground or walking up slight hill?"

^f response yes to: "Do you get short of breath when walking with other people of your age on level ground?"

^g response yes to: "Do you have to stop for breath when walking at own pace on level ground?"

Figure 1. Flow chart of the study group enrollment process. Enquête Littoral Souffle Air Biologie Environnement (ELISABET) survey.



Supplemental material

Supplemental table 1. Participation rate (%) [95% confidence interval] by age and sex.

Age categories	Men	Women
[40-45[24.6 [21.9; 27.5]	34.0 [31.0; 37.1]
[45-50[28.8 [26.1; 31.7]	34.7 [31.7; 37.8]
[50-55[30.7 [27.8; 33.6]	33.5 [30.6; 36.5]
[55-60[34.5 [31.6; 37.6]	35.7 [32.7; 38.8]
[60-65[37.4 [34.4; 40.5]	35.3 [32.4; 38.3]

Supplemental Table 2 - Distribution of occupational groups in ELISABET₂₀₁₁₋₁₃ survey, relative to the estimated distribution in the general population from the French INSEE national census for 2011. The data were weighted by age distribution in the general population.

Occupational group ^a	Men				Women			
	Lille		Dunkirk		Lille		Dunkirk	
	ELISABET	INSEE 2011	ELISABET	INSEE 2011	ELISABET	INSEE 2011	ELISABET	INSEE 2011
Group 1 (%)	0.9 [0.2-1.6]	0.2	0.6 [0.1-1.2]	0.3	0.1 [0-0.4]	0.1	0.4 [0-0.8]	0.1
Group 2 (%)	4.4 [2.9-6.1]	6.2	3.9 [2.5-5.3]	3.6	2.3 [1.3-3.3]	1.8	1 [0.4-1.7]	2.0
Group 3 (%)	19.3 [16.4-22.3]	18.8	11.4 [9.2-13.8]	10.8	11.1 [9-13.4]	10.2	5.2 [3.7-6.9]	4.4
Group 4 (%)	19.8 [16.9-22.8]	16.1	19.6 [16.8-22.5]	18.6	21.9 [19.3-24.5]	17.0	18 [15.4-20.7]	12.9
Group 5 (%)	14.6 [12-17.4]	9.6	10.8 [8.6-13.1]	7.1	27.7 [24.6-30.7]	29.0	25.1 [22.1-28]	31.0
Group 6 (%)	16.7 [13.9-19.7]	26.7	24 [20.9-27.1]	30.7	4.6 [3.2-6.1]	8.0	5.9 [4.3-7.7]	7.1
Group 7 (%)	15.6 [14.2-17]	14.8	23.1 [21.1-25.2]	22.3	18.1 [16.4-19.8]	15.4	19.4 [17.3-21.3]	17.1
Group 8 (%)	8.8 [6.8-11.1]	7.7	6.7 [4.9-8.6]	6.6	14.3 [11.8-16.5]	18.5	25 [21.7-28.1]	25.5

^a Group 1: farmers; Group 2: businessmen, craftsmen, shopkeepers; Group 3: managerial and professional occupations; Group 4: mid-level professions; Group 5: white collard workers; Group 6: blue collar Workers; Group 7: retirees; Group 8: other unemployed people

3 Deuxième étude – Evolution de la prévalence des principaux facteurs de risque cardiovasculaire entre 1986 et 2013 dans la communauté urbaine de Lille

3.1 Contexte et motivation de l'étude

La mortalité due aux maladies coronariennes a diminué de façon nette au cours des dernières décennies. Cette diminution s'observe dans de nombreux pays occidentaux, en France et au niveau de la métropole lilloise (Tunstall-Pedoe et al. 1999; Wagner et al. 2011). Elle est expliquée par une amélioration de la prévention primaire (notamment par une baisse et un meilleur contrôle des facteurs de risque cardiovasculaire), ainsi que par un meilleur dépistage et un meilleur traitement du risque cardiovasculaire. Les contributions de chacun de ces facteurs sont malgré tout difficiles à distinguer.

La surveillance des maladies coronariennes et des facteurs de risque cardiovasculaire s'effectue depuis plus de 25 ans dans la métropole lilloise au niveau du registre MONICA (*Multinational Monitoring of Trends and Determinants in Cardiovascular Disease*) (Anon 1988) de Lille. De plus, trois précédentes enquêtes transversales ont permis d'estimer la prévalence des facteurs de risque cardiovasculaire à Lille : MONICA 1986-1988; MONICA 1995-1996; MONALISA (*Monitoring National du Risque Artériel*) 2005-2007 (Tilloy et al. 2010; Wagner et al. 2011; Marques-Vidal et al. 2004; Pigeyre et al. 2011).

L'enquête ELISABET partageait une méthodologie similaire à ces trois enquêtes quant au recueil des données portant sur les facteurs de risque cardiovasculaire. Elle nous a donné l'opportunité d'étudier ces prévalences sur une longue période (25 ans) au niveau de la communauté urbaine de Lille et de donner une idée de l'impact des différentes composantes de la prévention primaire. Elle a également permis de fournir des données sur une autre zone urbaine de la région (la communauté urbaine de Dunkerque).

Concernant ma participation à la réalisation de cette étude, j'ai co-encadré (avec le Docteur Luc Dauchet) Guillaume Clément, interne de santé publique. Ce dernier a soutenu sa thèse de Médecine sur ce sujet (le 28 septembre 2015, sous la direction du Docteur Luc Dauchet). Nous avons défini les objectifs scientifiques de cette étude ensemble, ainsi que les méthodes

et le plan d'analyse statistique. J'ai également participé à la rédaction de l'article pour lequel je suis second auteur.

3.2 Résumé en français

Objectif. L'objectif principal de la présente étude était d'évaluer les tendances temporelles à long terme de la prévalence des facteurs de risque cardiovasculaire entre 1986 et 2013 dans la communauté urbaine de Lille, dans le nord de la France.

Méthodes. Nous avons étudié des échantillons représentatifs d'habitants de la communauté urbaine de Lille (âgés de 40 à 64 ans) sur plusieurs périodes: 1986-88 (n = 860), de 1995-96 (n = 1021), 2005-07 (n = 1021) et 2011-13 (n = 1636). Le risque d'accident coronarien fatal à 10 ans a été évalué à partir de l'équation du Systematic Coronary Risk Evaluation (SCORE).

Résultats. Chez les hommes, la prévalence standardisée sur l'âge a diminué entre 1986 et 2013 : de 70,5 % à 42,5 % pour l'hypertension ($p < 0,001$), de 71,1 % à 58,3 % pour la dyslipidémie ($p < 0,001$) et de 44,1 % à 24,7 % pour le tabagisme ($p < 0,001$). La prévalence du surpoids a augmenté, passant de 59,6 % à 65,2 % ($p < 0,05$). La prévalence du diabète est stable, autour de 9 %. Chez les femmes, la prévalence a diminué : de 56,6 % à 34,3 % pour l'hypertension artérielle ($p < 0,001$), de 60,9 % à 41,9 % pour la dyslipidémie ($p < 0,001$) et de 8,9 % à 5,4 % pour le diabète ($p < 0,05$). La prévalence du tabagisme et du surpoids était stable (autour de 17 % et 50 %, respectivement). Le risque d'accident coronarien fatal à 10 ans a diminué (de 2,8 % à 1,5 % pour les hommes et de 0,7 % à 0,4 % pour les femmes, $p < 0,001$ pour les deux). Parallèlement, le taux de mortalité par maladies coronariennes (mesurée par le registre MONICA de Lille) a été réduit de moitié dans la communauté urbaine de Lille.

Conclusion. La prévalence globale des facteurs de risque cardiovasculaire et le risque d'accident coronarien fatal à 10 ans diminuaient dans la communauté urbaine de Lille entre 1986 et 2013, simultanément avec le taux de mortalité par maladies coronariennes.

Mots-clés MeSH : prévalence, tendance, facteur de risque, maladies cardiovasculaires

3.3 Article

Time trends in the prevalence of the main cardiovascular risk factors between 1986 and 2013 in the Lille urban area, northern France

Authors

Clement Guillaume^{1,3}

gja.clement@gmail.com

Giovannelli Jonathan^{1, 2, 3}

jonathan.giovannelli@gmail.com

Cottel Dominique¹

dominique.cottel@pasteur-lille.fr

Montaye Michele¹

michelle.montaye@pasteur-lille.fr

Ciuchete Alina¹

alina.ciuchete@gmail.com

Dallongeville Jean¹

jean.dallongeville@pasteur-lille.fr

Amouyel Philippe^{1, 2, 3}

philippe.amouyel@pasteur-lille.fr

Dauchet Luc^{1, 2, 3 *}

luc.dauchet@pasteur-lille.fr

Affiliations

¹ INSERM U1167 RID-AGE, Pasteur Institute of Lille, Lille, France

² Epidemiology Unit, Lille University Medical Center, Lille, France

³ Lille University, Lille, France

* Corresponding author at: MRRC, 2 rue du Pr Laguesse, F-59037 Lille Cedex, France

Tel.: +33 320 445 518; fax: +33 320 446 945

E-mail address: luc.dauchet@pasteur-lille.fr

Highlights

- Steady decline in the prevalence of cardiovascular risk factors over a 25-year period.
- Screening and treatment of cardiovascular risk factors have improved.
- Halved of the coronary mortality risk score over a 25-year period.
- Coronary heart disease mortality decreased proportionally to cardiovascular risk.

MeSH Keywords: prevalence; trend; risk factor; cardiovascular disease

Word count

Abstract: 245

Main Text: 3476

Statement of potential conflict of interest: none

Abstract

Objective. The primary objective of the present study was to assess long-term time trends in the prevalence of cardiovascular risk factors between 1986 and 2013 in the Lille urban area, northern France.

Methods. We studied representative samples inhabitants of Lille urban area (aged 40 to 64) over several time periods: 1986-88 (n=860), 1995-96 (n=1,021), 2005-07 (n=1,021) and 2011-13 (n=1,636). The 10-year predicted risk of fatal coronary heart disease (CHD) was assessed with the Systematic Coronary Risk Evaluation (SCORE) equation.

Results. In men, the age standardized prevalence fell between 1986 and 2013: from 70.5% to 42.5% for hypertension ($p<0.001$), from 71.1% to 58.3% for dyslipidemia ($p<0.001$) and from 44.1% to 24.7% for smoking ($p<0.001$). The prevalence of overweight increased, from 59.6% to 65.2% ($p<0.05$). Diabetes was stable, at around 9%. In women, the prevalence decreased: from 56.6% to 34.3% for hypertension ($p<0.001$), from 60.9% to 41.9% for dyslipidemia ($p<0.001$) and from 8.9% to 5.4% for diabetes ($p<0.05$). The prevalence of smoking and overweight were stable (at around 17% and 50%, respectively). The 10-year predicted risk of fatal CHD decreased (from 2.8% to 1.5% for men, and from 0.7% to 0.4% for women, $p<0.001$ for both). Concomitantly, the CHD mortality rate in the Lille urban area (as measured in the Lille MONICA registry) was halved.

Conclusion. The overall prevalence of cardiovascular risk factors and the 10-year predicted risk of fatal CHD decreased in the Lille urban area between 1986 and 2013, concomitantly with the CHD mortality rate.

MeSH Keywords: prevalence, trend, risk factor, cardiovascular disease

Introduction

Cardiovascular disease (and particularly coronary heart disease (CHD)) is one of the leading causes of death worldwide (1). A number of major cardiovascular disease risk factors have been identified. Modifiable factors (such as hypertension, smoking, diabetes mellitus, dyslipidemia and overweight) are prime targets for cardiovascular disease prevention (2).

In France, analysis of the Multinational Monitoring of Trends and Determinants in Cardiovascular Disease (MONICA-France) registry (3) revealed that the incidence of myocardial infarction and fatal CHD events had decreased between 1984 and 2007 (4,5). This decrease was observed at all three of the registry's centers (Lille, Toulouse and Strasbourg). Lille and the surrounding urban area (of ~1 million inhabitants, the fourth urban area in France) still had the highest incidence of fatal CHD events in France (5) and display high prevalences of several cardiovascular risk factors, such as smoking (6), hypertension (7), overweight (8,9) and treated diabetes mellitus (10). Time trends in the prevalence of the main cardiovascular risk factors in the Lille urban area between 1986 and 2007 have been studied in four successive cross-sectional studies of the general population: MONICA₁₉₈₆₋₈₈, MONICA₁₉₉₅₋₉₆, Monitoring National du Risque Artériel (MONALISA₂₀₀₅₋₀₇) (6,7,11–13). The most recent Enquête Littoral Souffle Air Biologie Environnement (ELISABET) survey (performed between 2011 and 2013), which thus enabled us to study time trends over a 25-year period.

The primary objective of the present study was to assess time trends in (i) the prevalence of the main modifiable cardiovascular risk factors and (ii) the 10-year predicted risk of fatal CHD in the Lille urban area between 1986 and 2013.

Methods

The population sample

The MONICA₁₉₈₆₋₈₈, MONICA₁₉₉₅₋₉₆, MONALISA₂₀₀₅₋₀₇ and ELISABET₂₀₁₁₋₁₃ cross-sectional surveys of the prevalence of cardiovascular risk factors in the Lille urban area shared the same methodology (6,7,11–13). In the MONICA₁₉₈₆₋₈₈, MONICA₁₉₉₅₋₉₆, and MONALISA₂₀₀₅₋₀₇ studies, participants living in the Lille urban area were selected randomly from electoral rolls and stratified by gender and by 10-year age class (200 participants per stratum). Participants were aged from 35 to 64 in MONICA₁₉₈₆₋₈₈ and MONICA₁₉₉₅₋₉₆, from 35 to 74 in MONALISA₂₀₀₅₋₀₇ and from 40 to 64 in ELISABET₂₀₁₁₋₁₃. The latter was a cross-sectional survey

of the prevalence of airway obstruction in the general population in two urban areas in northern France (Lille and Dunkirk). Participants were selected randomly from electoral rolls and stratified by age, gender and center. Participants had to have resided in their urban area for at least 5 years. Only participants aged 40 to 64 and living in the Lille urban area were included in the present analysis. The ELISABET study protocol was approved by the local investigational review board (CPP Nord Ouest IV, reference number: 2010-A00065-34), in compliance with the French legislation on biomedical research.

To evaluate the sampling quality, we compared the distribution of the participants' occupational categories in the MONALISA₂₀₀₅₋₀₇ study and the ELISABET₂₀₁₁₋₁₃ study with authoritative data from the French National Institute of Statistics and Economic Studies (Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques, INSEE) for 2007 (14) and 2010 (15), respectively.

Definitions and measurements of risk factors

The four studies had similar methodologies. Each participant had a single meeting with a trained interviewer. After the participant had provided his/her written, informed consent, the meeting included the administration of a standardized questionnaire, the measurement of blood pressure, height and weight, and collection of a fasting venous blood sample (for determination of total cholesterol, high density lipoprotein cholesterol (HDLc), triglycerides and glucose in a central laboratory). The blood glucose level was only determined in the MONICA₁₉₉₅₋₉₆, MONALISA₂₀₀₅₋₀₇ and ELISABET₂₀₁₁₋₁₃ studies.

The arterial blood pressure was measured in much the same way in all four studies, i.e. two consecutive measurements of both the systolic blood pressure (SBP) and the diastolic blood pressure (DBP) with a sphygmomanometer (a manual device in MONICA₁₉₈₆₋₈₈ and MONICA₁₉₉₅₋₉₆, and an automatic device in MONALISA₂₀₀₅₋₀₇ and ELISABET₂₀₁₁₋₁₃) and a cuff of the appropriate size (relative to the subject's corpulence). The time interval between the two measurements ranged from 5 to 20 minutes, depending on the study. The arithmetic mean of the two measurements was used for analysis in the first three surveys. In ELISABET₂₀₁₁₋₁₃, a second blood pressure measurement was only made systematically during the last third of the study period; initially, a second measurement was only performed if the first was suggestive of hypertension. Hence, only the first value was considered for the first two thirds of the ELISABET₂₀₁₁₋₁₃, after which time the arithmetic mean was analyzed. Hypertension was defined as ongoing antihypertensive treatment, an SBP ≥ 140 mmHg or a DBP ≥ 90 mmHg (16). If hypertension had already been diagnosed by a healthcare

professional, the participant was considered as being aware of his/her disease. Disease-aware participants taking an antihypertensive medication were defined as treated cases. Lastly, treated cases with an SBP <140 mmHg and a DBP <90 mmHg were defined as controlled cases (16).

We did not differentiate between the various etiologies of diabetes. Diabetes mellitus was defined as ongoing antidiabetes treatment (oral medication or insulin) or a fasting blood glucose (FBG) level ≥ 1.26 g/L (17). If diabetes had already been diagnosed by a healthcare professional, the participant was considered as being aware of his/her condition. Disease-aware participants taking an antidiabetic medication were defined as treated cases. Treated cases with a hemoglobin A1c (HbA1c) value <7% were defined as controlled cases (1). HbA1c was only measured in the MONALISA₂₀₀₅₋₀₇ and ELISABET₂₀₁₁₋₁₃ studies.

Fasting blood low-density lipoprotein cholesterol (LDLc) was calculated (using the Friedewald equation) only if the blood triglyceride level was below 4 g/L. Dyslipidemia was defined as ongoing cholesterol-lowering treatment or one or more abnormal fasting blood lipid values (total cholesterol ≥ 2.4 g/L, LDLc ≥ 1.6 g/L, HDLc <0.4 g/L or blood triglycerides ≥ 2 g/L) (18). If dyslipidemia had already been diagnosed by a healthcare professional, the participant was considered as being aware of his/her condition. Disease-aware participants taking a cholesterol-lowering medication were defined as treated cases. A lack of data prevented us from calculating the therapeutic threshold and thus the proportion of controlled cases.

Weight was measured with a portable electronic scale, and height was measured with a stadiometer. The body mass index (BMI) was calculated using the Quetelet equation. Overweight was defined as a BMI between 25 kg/m² and 29.9 kg/m², and obesity was defined as a BMI of 30 kg/m² or more.

Smoking habits were determined by the participant's reply to a question about current and past tobacco consumption and (if the participant had quit smoking) a question about the time interval since quitting. A participant was considered to be a current smoker if he/she was currently smoking at least one cigarette a day or had quit smoking in the last year (19). A participant was considered to be a former smoker if he/she had quit smoking at least one year previously.

The 10-year predicted risk of a fatal CHD event was calculated using the CHD part of the European Systematic Coronary Risk Evaluation (SCORE) tool (20), with the following items: age, gender, SBP, fasting total cholesterol level, current smoking, and the population's risk level (low or high). To evaluate the impact of obesity on trends in the CHD risk, we calculated

the CHD part of the Wilson Framingham risk score for fatal or non-fatal coronary events (which includes BMI as a variable) (21).

Mortality data

Mortality data were provided by the Lille MONICA registry. This methodology has been described previously (22). Coronary death was defined as a fatal event with symptoms of CHD (whether typical or atypical), a history of CHD or evidence of chronic coronary occlusion, stenosis, or previous myocardial infarction at autopsy and for which there was no good evidence of another cause of death.

Statistical analysis

The age-standardized prevalence was calculated by using the age structure of the European population in 2013 (23). The 95% confidence intervals were calculated in a bootstrap procedure using the bias-corrected and accelerated algorithm (5000 replicates) (24). Time trends in prevalence were analyzed with logistic regression models. The dependent variable was the presence or absence of the risk factor. Trends in the log-transformed average 10-year risk were analyzed with a multiple linear regression model. For all models, the explanatory variables were the study start date (the year in which the first study observations were performed) and the five-year age group. The age x study start date interaction term was used to test homogeneity across age groups.

Age-standardized proportions of aware cases were calculated as the ratio between the age-standardized prevalence of aware cases in the overall population and the age-standardized prevalence of all cases. The age-standardized proportions of treated cases and controlled cases were calculated in a similar way.

In order to quantify the possible influence of a discrepancy between the occupational category distribution in the sample and the distribution in census data, we standardized the prevalence against the 2013 European age distribution and weighted it according to the local occupational category distribution (using the 2007 data (14) for MONALISA₂₀₀₅₋₀₇ and the 2011 data (15) for ELISABET₂₀₁₁₋₁₃). Data on occupational categories in the study area were not available for the two previous surveys.

Coronary mortality was standardized against the European population data for 2013.

All statistical analyses were performed with R software (version 3.0.0) and the Boot add-on (25,26). A p value below 0.05 was considered to be statistically significant.

Results

Population

We included 860 participants from MONICA₁₉₈₆₋₈₈, 1,021 participants from MONICA₁₉₉₅₋₉₆, 1,021 from MONALISA₂₀₀₅₋₀₇ and 1,636 participants from ELISABET₂₀₁₁₋₁₃ in our analysis. The cooperation rates were 69%, 76%, 70% and 54%, respectively (the denominator only includes eligible participants who had been contacted). The response rates were lower, with 66% in MONALISA₂₀₀₅₋₀₇ and 32% in ELISABET₂₀₁₁₋₁₃ (the denominator includes people who could not be contacted and therefore had unknown eligibility status). The occupational category distributions in MONALISA₂₀₀₅₋₀₇ and ELISABET₂₀₁₁₋₁₃ studies are shown in Supplemental Table 1. In both studies, mid-level professions were over-represented and blue collar workers were under-represented. In the ELISABET₂₀₁₁₋₁₃ study, male white collar workers were over-represented and unemployed women were under-represented.

Prevalence and trends

The characteristics of the study population are summarized in Table 1 (for men) and Table 2 (for women). The men in the ELISABET study were older than those in the earlier MONICA and MONALISA studies. The mean blood pressure, glycemia, and blood lipid levels fell significantly in men and women between 1986 and 2013. The mean BMI increased in men but remained stable in women over that period.

Between 1986 and 2013, the prevalence of hypertension decreased significantly (Figure 1) in both men (from 70.5% to 42.5%; p for trends <0.001) and women (from 56.6% to 34.3%; p for trends <0.001). The prevalence of dyslipidemia also decreased significantly between 1986 and 2013, from 71.1% to 58.3% in men (p for trends <0.001) and from 60.9% to 41.9% in women (p for trends <0.001). In men, the proportion of current smokers decreased significantly from 44.1% in 1986-1988 to 24.7% in 2011-2013 (p for trends <0.001). In women, the proportion of current smokers was stable at around 17%. The decrease in the proportion of current smokers in men coincided with an increase in the proportion of never smokers (from 18.5% in 1986-1988 to 39.5% in 2011-2013; p for trends <0.001). The proportion of male former smokers was stable (between 37% and 43%). In women, an increase in the proportion of former smokers (from 5.5% to 24.3%; p for trends <0.001) coincided with a significant decrease in the proportion of never smokers (from 77.8% to 58.4%; p for trends <0.001). In men, the prevalence of diabetes mellitus did not vary significantly between 1995-1996 and 2011-2013 (9.5% and 10.0%, respectively;

p for trends =0.62). In contrast, the prevalence of diabetes mellitus in women decreased significantly (from 8.9% in 1995-1996 to 5.4% in 2011-2013; p for trends <0.05). The prevalence of overweight or obesity (i.e. a BMI over 25 kg/m²) increased significantly in men (from 59.6% in 1986-1988 to 65.1% in 2011-2013; p for trends =0.02), but not in women (49.8% in 1986-1988 and 2011-2013; p for trends =0.69). Trends in obesity alone (i.e. a BMI over 30 kg/m²) were not significant.

The prevalence of risk factors by age group is shown in the supplemental figure 1. The decrease in the prevalence of hypertension in men especially concerned younger age groups (p value for interaction <0.001), and the decrease in diabetes prevalence mainly concerned age groups under 55 (p <0.001). No differences in trends by age group were observed for dyslipidemia, overweight or smoking.

When considering cases of hypertension, the proportions of aware and treated participants increased significantly between 1986 and 2013 in both genders (Table 3). The proportion of controlled participants also rose significantly over time in men (from 9.3% to 31.8%; p for trends <0.001) and in women (25.0% to 53.6%; p for trends <0.001) (Table 3). For dyslipidemia, the proportion of disease-aware participants increased between 1986 and 2013 in both genders, with the greatest increase occurring between 1986 and 2003. In men, the proportion of treated participants increased significantly; again, the greatest increase occurred between 1986-1988 and 2005-2007. In women, the proportion of treated participants did not change significantly between 1986-1988 and 2011-2013, although it did decrease between 2005-2007 and 2011-2013 after a peak in 2005-2007. The proportion of diabetes-aware participants increased significantly between 1995 and 2013 in women (from 53.2% to 82.6%; p for trends <0.05) (Table 3). In women, the proportion of treated diabetics was significantly greater in the 2011-13 study (55.2%) than in 2005-2007 (25.8%; p for trends <0.05).

The 10-year predicted risk of fatal coronary events

An analysis of the CHD SCORE risk score (Figure 2) revealed a significant decrease in the mean 10-year predicted risk of fatal CHD in both genders (p for trends <0.001). Between 1995 and 2013, the risk fell from 2.8% to 1.5% in men and from 0.7% to 0.4% in women (p for trends <0.001 for both).

Similarly, there was a 15% decrease in the Wilson Framingham score for CHD in men and a 20% decrease in women between 1985-88 and 2011-2013.

The decrease in the predicted risk of fatal CHD was concomitant with a decrease in coronary mortality (Figure 2). Between 1986 and 2013, the age-standardized CHD mortality rates fell by half between 1985 and 2011 (falling from 119 per 10,000 men to 56 per 100,000 in men and from 32 per 10,000 women to 18 per 100,000 in women).

Sensitivity analysis

The corrected prevalences (weighted by occupational group, as obtained from INSEE census data) were similar to the non-corrected prevalences (Supplemental Table 2).

Discussion

In participants aged 40-64 in the Lille urban area of northern France, the prevalence of most main cardiovascular risk factors fell between 1986 and 2013. Prevalence of diabetes mellitus in men, and smoking and overweight in women remained stable. In contrast, the prevalence of overweight increased in men. Overall, the 10-year predicted risk of fatal CHD fell over time.

The respective prevalences of the main cardiovascular risk factors (hypertension, smoking and dyslipidemia) decreased in a consistent way. Similar trends for smoking have generally been observed elsewhere in Europe (6,27–30). In women, the increase in the proportion of former smokers and the reduction in the proportion of never smokers suggest that the increase in smoking onset may have been offset by an increase in smoking cessation. The observed decreases in (or stagnation of) the prevalence of the main risk factors is in line with literature data from Europe and the USA (12,31–41). In contrast, these prevalences have increased in Asia (42,43) and in developing countries (41,44,45). In the present study, the increasing proportions of aware and treated participants for all risk factors is suggestive of better healthcare. The implementation of guidelines with treatment goals based on the number of cardiovascular risk factors and different age limits for men and women might explain the observed decrease in the proportion of treated dyslipidemia between MONALISA₂₀₀₅₋₀₇ and ELISABET₂₀₁₁₋₁₃ observed in women only. The lower proportions of aware participants and controlled participants in MONICA₁₉₈₆₋₈₈ might be partly explained by differences in therapeutic thresholds; prior to 1997, hypertension was defined as an SBP >160 mmHg or a DBP >95 mmHg (46).

The prevalence of overweight increased in men and remained stable in women. This increase in men agrees with the findings of other studies performed in Western countries. Indeed, the OBEPI study (8,9) and the MONICA-MONALISA studies (13) in France all showed

an increase in the prevalence of obesity. Similar increases in the prevalence of obesity were observed at the European level (47–49), in the USA (50) and worldwide (51).

We observed a significant reduction in the prevalence of diabetes mellitus among women. The prevalence in men was stable. These results were inconsistent with increase in diabetes prevalence generally observed in other surveys of Western countries (52–55), in developing countries (56) and in France in particular (57). Moreover, the low proportion of awareness found in MONICA₁₉₉₅₋₉₆ could be partly explained by a change in the recommended diagnostic threshold (from 1.40 g/L for MONICA₁₉₉₅₋₉₆ to 1.26 g/L for MONALISA₂₀₀₅₋₀₇), since we applied the latter definition to all studies for comparative purposes.

The estimate 10-year predicted risk of fatal CHD (calculated using the European SCORE risk score) decreased concomitantly with coronary mortality for the Lille center in the MONICA study. In fact, the incidence of coronary events (definite, non-fatal myocardial infarction or death with a definite or suspected coronary cause) fell by an average of 1.1% per year in men and 1.6% among women between 1985 and 1994 (4). Between 2000 and 2007, the average incidence of definite myocardial infarction (whether fatal or not) or death by coronary cause (a clinical history of coronary disease and no other obvious cause) decreased in men from 317 to 270 per 100,000 men, and decreased in women from 80 to 69 per 100,000 women (5). The mortality almost halved between 1985 and 2011. The concomitant reduction in risk factors and reduction in CHD and mortality suggest that primary prevention has a major impact. Our observations indicate that the reduction in the prevalence of cardiovascular risk factors and improved screening, treatment and control of risk factors (especially hypertension) have both contributed substantially to the overall decrease in the 10-years coronary event risk. The SCORE equation does not include obesity, and so the decrease in coronary risk could have been overestimated in view of the increase in overweight. However, the 2008 Wilson Framingham score (21) (which includes BMI as a variable) also testifies to a decrease in the risk.

The present study had strengths and limitations. It used data collected over a 25-year period in surveys that used very similar methodologies for measuring cardiovascular risk factors. There are few reports on changes over time in cardiovascular risk factors and the latter's translation into a 10-year predicted risk of fatal CHD events because this endpoint requires large volumes of data and relatively constant data collection methods. Furthermore,

comparisons between the four studies analyzed here were facilitated by the fact that they used the same definitions of cardiovascular risk factors.

The response rate was lower in the ELISABET₂₀₁₁₋₁₃ study than in the three others. This might have been due to the survey protocol (which involved longer examinations) and greater difficulty in obtaining the participants' numbers from the telephone directory (due to changes in the organization of the telecommunications market). However, our analysis of the occupational group distribution does not suggest the presence of greater sampling bias in the ELISABET₂₀₁₁₋₁₃ study. In both the MONALISA₂₀₀₅₋₀₇ and ELISABET₂₀₁₁₋₁₃ surveys, mid-level professions were over-represented and blue collar workers were under-represented (relative to data from the INSEE). A sensitivity analysis suggested that sampling bias did not have a major impact in these two surveys. A lack of data prevented us from analyzing the occupational group distribution in the MONICA₁₉₈₆₋₈₈ and MONICA₁₉₉₅₋₉₆ studies; however, the participation rate was high (and similar to that found in the MONALISA₂₀₀₅₋₀₇) in both studies.

With regard to the measurement of cardiovascular risk factors, the four surveys analyzed here were not designed to differentiate between type II diabetes and other types of diabetes. However, other types of diabetes account for less than 10% of treated cases in France (10). The diagnosis of diabetes on the basis of a single FBG measurement is not strictly in line with current guidelines. Additionally, FBG data were not available for one of the four surveys. Furthermore, there were inter-survey differences in the blood pressure measurement protocol, with the use of manual devices in the first two studies and automatic devices in the last two; this may have introduced measurement bias. The resting time between measurements and the time interval between measurements also varied from one survey to another. Lastly, the rule defining SBP and DBP as the average of two measures was not complied with for a certain period of the ELISABET₂₀₁₁₋₁₃ survey. However, we estimate that the potential reclassification rate was below 9% (data not shown).

Conclusion

The present study data revealed a steady decline in the prevalence of cardiovascular risk factors over a 25-year period, with the exception of tobacco use in women, prevalence of diabetes in men (both of which remained stable) and prevalence of overweight in men (which increased). Our data are suggestive of improvements in risk factor screening and control. The prevalence of cardiovascular risk factors decreased concomitantly with the

coronary mortality rate - suggesting that primary prevention and better treatment of cardiovascular risk factors made an important contribution.

Funding / Support

The ELISABET survey was sponsored by Lille University Medical Center (CHRU de Lille) and funded by the Nord Pas-de-Calais Regional Council and the European Regional Development Fund (ERDF-FEDER Presage N°36034) as part of the CPER Institut de Recherche en ENvironnement Industriel (IRENI) program. The MONICA-France surveys were funded by the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), the Direction Générale de la Santé (DGS), the Fonds d'intervention en Santé Publique, the Mutuelle Générale de l'Education Nationale, ONIVINS, the Fondation de France, the CPAM of Selestat, the Fédération Française de Cardiologie, the Nord Pas-de-Calais Regional Council, the Parke-Davis and Bayer pharmaceutical companies and CERIN. The MONALISA study was made possible by an unrestricted grant from Pfizer and a grant from the Agence Nationale de la Recherche (ANR-05-PNRA-018).

Acknowledgements

The authors thank the Lille University Medical Center (CHRU de Lille), the University of Lille, the Institut Pasteur de Lille, and the Centre Hospitalier Général de Dunkerque. They particularly thank the nurses, physicians and secretarial staff of the University of Lille and the Institut Pasteur de Lille; the Service de Médecine du Travail, and the Laboratoire d'Analyses Génomiques at the Institut Pasteur de Lille; the Department of Biology and the Department of Pneumology at the Centre Hospitalier Général de Dunkerque; the Institut de Biologie et de Pathologie at the CHRU de Lille; the Centre Universitaire de Mesures et d'Analyses (CUMA) at the University of Lille; the Centre de Médecine Préventive de Lille; and the Service de Biologie Spécialisée de l'Institut Pasteur de Lille.

References

1. Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet Lond Engl*. 2012 Dec 15;380(9859):2095–128.
2. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet Lond Engl*. 2004 Sep 11;364(9438):937–52.
3. The World Health Organization MONICA Project (monitoring trends and determinants in cardiovascular disease): a major international collaboration. WHO MONICA Project Principal Investigators. *J Clin Epidemiol*. 1988;41(2):105–14.
4. Tunstall-Pedoe H, Kuulasmaa K, Mähönen M, Tolonen H, Ruokokoski E, Amouyel P. Contribution of trends in survival and coronary-event rates to changes in coronary heart disease mortality: 10-year results from 37 WHO MONICA project populations. *Monitoring trends and determinants in cardiovascular disease. Lancet Lond Engl*. 1999 May 8;353(9164):1547–57.
5. Wagner A, Ruidavets J, Montaye M, Bingham A, Ferrières J, Amouyel P, et al. Evolution de la maladie coronaire en France de 2000 à 2007. *BEH*. 2011;(40-41):415–9.
6. Tilloy E, Cottel D, Ruidavets J-B, Arveiler D, Ducimetière P, Bongard V, et al. Characteristics of current smokers, former smokers, and second-hand exposure and evolution between 1985 and 2007. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil Off J Eur Soc Cardiol Work Groups Epidemiol Prev Card Rehabil Exerc Physiol*. 2010 Dec;17(6):730–6.
7. Wagner A, Arveiler D, Ruidavets J, Cottel D, Bongard V, Dallongeville J, et al. Etat des lieux sur l’hypertension artérielle en France en 2007, étude Mona Lisa. *BEH*. 2008;(49-50):483–6.
8. Inserm, Kantar Health, Roche. OBEPI 2012 : Enquête épidémiologique nationale sur le surpoids et l’obésité. 2013. URL: www.roche.fr/content/dam/corporate/roche_fr/doc/obepi_2012.pdf; last accessed: July 2, 2015
9. Charles M-A, Eschwège E, Basdevant A. Monitoring the obesity epidemic in France: the Obepi surveys 1997-2006. *Obes Silver Spring Md*. 2008 Sep;16(9):2182–6.
10. Fagot-Campagna A, Romon I, Fosse S, Roudier C. Prévalence et incidence du diabète, et mortalité liée au diabète en France - Synthèse épidémiologique. Saint-Maurice (Fra) : Institut de veille sanitaire; 2010 Nov.
11. Marques-Vidal P, Ruidavets JB, Amouyel P, Ducimetière P, Arveiler D, Montaye M, et al. Change in cardiovascular risk factors in France, 1985-1997. *Eur J Epidemiol*. 2004;19(1):25–32.
12. Ferrières J, Bongard V, Dallongeville J, Arveiler D, Cottel D, Haas B, et al. Trends in plasma lipids, lipoproteins and dyslipidaemias in French adults, 1996-2007. *Arch Cardiovasc Dis*. 2009 Apr;102(4):293–301.

13. Pigeyre M, Dauchet L, Simon C, Bongard V, Bingham A, Arveiler D, et al. Effects of occupational and educational changes on obesity trends in France: the results of the MONICA-France survey 1986–2006. *Prev Med.* 2011 May;52(5):305–9.
14. INSEE. Base de tableaux détaillés INSEE: population et lieu de résidence antérieure en 2007, population de 15 ans ou plus par sexe, âge et catégorie socioprofessionnelle. 2007. URL: www.insee.fr/fr/ppp/bases-de-donnees/donnees-detaillees/rp2007/tab-detailles/td-population-07/BTX_TD_POP6_2007.zip; last accessed: July 2, 2015
15. INSEE. Base de tableaux détaillés INSEE : population et lieu de résidence antérieure en 2010, population de 15 ans ou plus par sexe, âge et catégorie socioprofessionnelle. 2010. URL: www.insee.fr/fr/ppp/bases-de-donnees/donnees-detaillees/rp2010/tab-detailles/td-population-10/BTX_TD_POP6_2010.zip; last accessed: July 2, 2015
16. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, Redon J, Zanchetti A, Böhm M, et al. 2013 ESH/ESC guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J.* 2013 Jul;34(28):2159–219.
17. HAS, ANSM. Stratégie médicamenteuse du contrôle glycémique du diabète de type 2. HAS; 2013 Jan. URL: www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2013-02/10irp04_reco_diabete_type_2.pdf; last accessed: July 2, 2015
18. National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation.* 2002 Dec 17;106(25):3143–421.
19. Teo KK, Ounpuu S, Hawken S, Pandey MR, Valentin V, Hunt D, et al. Tobacco use and risk of myocardial infarction in 52 countries in the INTERHEART study: a case-control study. *Lancet Lond Engl.* 2006 Aug 19;368(9536):647–58.
20. Conroy RM, Pyörälä K, Fitzgerald AP, Sans S, Menotti A, De Backer G, et al. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project. *Eur Heart J.* 2003 Jun;24(11):987–1003.
21. Wilson PWF, Bozeman SR, Burton TM, Hoaglin DC, Ben-Joseph R, Pashos CL. Prediction of first events of coronary heart disease and stroke with consideration of adiposity. *Circulation.* 2008 Jul 8;118(2):124–30.
22. Arveiler D, Wagner A, Ducimetière P, Montaye M, Ruidavets J-B, Bingham A, et al. Trends in coronary heart disease in France during the second half of the 1990s. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil Off J Eur Soc Cardiol Work Groups Epidemiol Prev Card Rehabil Exerc Physiol.* 2005 Jun;12(3):209–15.
23. Eurostat. Revision of the European Standard Population - Report of Eurostat's task force - 2013 edition (2013). URL: ec.europa.eu/eurostat/en/web/products-manuals-and-guidelines/-/KS-RA-13-028; last accessed: July 2, 2015
24. Efron B. Better Bootstrap Confidence Intervals. *J Am Stat Assoc.* 1987 Mar;82(397):171–85.

25. R Development Core Team (2011). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria; URL: www.R-project.org; last accessed: July 2, 2015
26. Angelo Canty and Brian Ripley (2011). boot: Bootstrap R (S-Plus) Functions. R package. URL: CRAN.R-project.org/package=boot; last accessed: July 2, 2015
27. Giskes K, Kunst AE, Benach J, Borrell C, Costa G, Dahl E, et al. Trends in smoking behaviour between 1985 and 2000 in nine European countries by education. *J Epidemiol Community Health*. 2005 May;59(5):395–401.
28. Roberts B, Gilmore A, Stickley A, Rotman D, Prohoda V, Haerpfer C, et al. Changes in smoking prevalence in 8 countries of the former Soviet Union between 2001 and 2010. *Am J Public Health*. 2012 Jul;102(7):1320–8.
29. Molarius A, Parsons RW, Dobson AJ, Evans A, Fortmann SP, Jamrozik K, et al. Trends in cigarette smoking in 36 populations from the early 1980s to the mid-1990s: findings from the WHO MONICA Project. *Am J Public Health*. 2001 Feb;91(2):206–12.
30. Ng M, Freeman MK, Fleming TD, Robinson M, Dwyer-Lindgren L, Thomson B, et al. Smoking prevalence and cigarette consumption in 187 countries, 1980-2012. *JAMA*. 2014 Jan 8;311(2):183–92.
31. Marques-Vidal P, Ruidavets JB, Cambou JP, Ferrières J. Trends in hypertension prevalence and management in Southwestern France, 1985-1996. *J Clin Epidemiol*. 2000 Dec;53(12):1230–5.
32. Antikainen RL, Moltchanov VA, Chukwuma C Sr, Kuulasmaa KA, Marques-Vidal PM, Sans S, et al. Trends in the prevalence, awareness, treatment and control of hypertension: the WHO MONICA Project. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil Off J Eur Soc Cardiol Work Groups Epidemiol Prev Card Rehabil Exerc Physiol*. 2006 Feb;13(1):13–29.
33. Picon RV, Fuchs FD, Moreira LB, Riegel G, Fuchs SC. Trends in prevalence of hypertension in Brazil: a systematic review with meta-analysis. *PloS One*. 2012;7(10):e48255.
34. Reklaitiene R, Tamosiunas A, Virviciute D, Baceviciene M, Luksiene D. Trends in prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension, and the risk of mortality among middle-aged Lithuanian urban population in 1983-2009. *BMC Cardiovasc Disord*. 2012;12:68.
35. Egan BM, Zhao Y, Axon RN. US trends in prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension, 1988-2008. *JAMA*. 2010 May 26;303(20):2043–50.
36. Guessous I, Bochud M, Theler J-M, Gaspoz J-M, Pechère-Bertschi A. 1999-2009 Trends in prevalence, unawareness, treatment and control of hypertension in Geneva, Switzerland. *PloS One*. 2012;7(6):e39877.
37. Guo F, He D, Zhang W, Walton RG. Trends in prevalence, awareness, management, and control of hypertension among United States adults, 1999 to 2010. *J Am Coll Cardiol*. 2012 Aug 14;60(7):599–606.
38. Redondo A, Benach J, Subirana I, Martinez JM, Muñoz MA, Masiá R, et al. Trends in the prevalence, awareness, treatment, and control of cardiovascular risk factors

- across educational level in the 1995-2005 period. *Ann Epidemiol.* 2011 Aug;21(8):555–63.
39. Ford ES, Li C, Pearson WS, Zhao G, Mokdad AH. Trends in hypercholesterolemia, treatment and control among United States adults. *Int J Cardiol.* 2010 Apr 15;140(2):226–35.
 40. Muntner P, Levitan EB, Brown TM, Sharma P, Zhao H, Bittner V, et al. Trends in the prevalence, awareness, treatment and control of high low density lipoprotein-cholesterol among United States adults from 1999-2000 through 2009-2010. *Am J Cardiol.* 2013 Sep 1;112(5):664–70.
 41. Farzadfar F, Finucane MM, Danaei G, Pelizzari PM, Cowan MJ, Paciorek CJ, et al. National, regional, and global trends in serum total cholesterol since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 321 country-years and 3·0 million participants. *Lancet Lond Engl.* 2011 Feb 12;377(9765):578–86.
 42. Moon JY, Park KJ, Hwangbo Y, Lee MR, Yoo BI, Won JH, et al. A trend analysis of the prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension by age group. *J Prev Med Public Health Yebang Ŭihakhoe Chi.* 2013 Nov;46(6):353–9.
 43. Wang J, Ning X, Yang L, Lu H, Tu J, Jin W, et al. Trends of hypertension prevalence, awareness, treatment and control in rural areas of northern China during 1991-2011. *J Hum Hypertens.* 2014 Jan;28(1):25–31.
 44. Luksiene D, Tamosiunas A, Baceviciene M, Radisauskas R, Malinauskiene V, Peasey A, et al. Trends in prevalence of dyslipidaemias and the risk of mortality in Lithuanian urban population aged 45-64 in relation to the presence of the dyslipidaemias and the other cardiovascular risk factors. *PLoS One.* 2014;9(6):e100158.
 45. Lee MH, Kim HC, Ahn SV, Hur NW, Choi DP, Park CG, et al. Prevalence of Dyslipidemia among Korean Adults: Korea National Health and Nutrition Survey 1998-2005. *Diabetes Metab J.* 2012 Feb;36(1):43–55.
 46. ANAES. Diagnostic et traitement de l'hypertension artérielle essentielle de l'adulte de 20 à 80 ans. 1997.
 47. Lilja M, Eliasson M, Stegmayr B, Olsson T, Söderberg S. Trends in obesity and its distribution: data from the Northern Sweden MONICA Survey, 1986-2004. *Obes Silver Spring Md.* 2008 May;16(5):1120–8.
 48. Kriaucioniene V, Petkeviciene J, Klumbiene J, Sakyte E, Raskiliene A. The prevalence and trends of overweight and obesity among Lithuanian adults, 1994-2012. *Public Health.* 2014 Jan;128(1):91–5.
 49. Carreira H, Pereira M, Azevedo A, Lunet N. Trends of BMI and prevalence of overweight and obesity in Portugal (1995-2005): a systematic review. *Public Health Nutr.* 2012 Jun;15(6):972–81.
 50. Flegal KM, Carroll MD, Kit BK, Ogden CL. Prevalence of obesity and trends in the distribution of body mass index among US adults, 1999-2010. *JAMA.* 2012 Feb 1;307(5):491–7.
 51. Ng M, Fleming T, Robinson M, Thomson B, Graetz N, Margono C, et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults

- during 1980-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet Lond Engl*. 2014 Aug 30;384(9945):766–81.
52. Lusignan S, Sismanidis C, Carey IM, DeWilde S, Richards N, Cook DG. Trends in the prevalence and management of diagnosed type 2 diabetes 1994-2001 in England and Wales. *BMC Fam Pract*. 2005 Mar 22;6(1):13.
 53. Wong ND, Patao C, Wong K, Malik S, Franklin SS, Iloeje U. Trends in control of cardiovascular risk factors among US adults with type 2 diabetes from 1999 to 2010: comparison by prevalent cardiovascular disease status. *Diab Vasc Dis Res*. 2013 Nov;10(6):505–13.
 54. Abubakari AR, Lauder W, Jones MC, Kirk A, Agyemang C, Bhopal RS. Prevalence and time trends in diabetes and physical inactivity among adult West African populations: the epidemic has arrived. *Public Health*. 2009 Sep;123(9):602–14.
 55. Gao WG, Dong YH, Pang ZC, Nan HR, Zhang L, Wang SJ, et al. Increasing trend in the prevalence of Type 2 diabetes and pre-diabetes in the Chinese rural and urban population in Qingdao, China. *Diabet Med J Br Diabet Assoc*. 2009 Dec;26(12):1220–7.
 56. Danaei G, Finucane MM, Lu Y, Singh GM, Cowan MJ, Paciorek CJ, et al. National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2.7 million participants. *Lancet Lond Engl*. 2011 Jul 2;378(9785):31–40.
 57. Ricci P, Blotière P, Weill A, Simon D, Tuppin P, Ricordeau P, et al. Diabète traité : quelles évolutions entre 2000 et 2009 en France ? *BEH*. 2010 Nov;42-43:425–31.

Tables

Table 1 - Characteristics of the population in each study: men.

Variable	1986-88	1995-96	2005-07	2011-13	p trend ^a
Number of subjects	453	501	515	773	
Age class					
40-44 y (n, %)	102 (22.5)	98 (19.6)	112 (21.7)	121 (15.7)	
45-49 y (n, %)	82 (18.1)	127 (25.3)	90 (17.5)	142 (18.4)	
50-54 y (n, %)	88 (19.4)	92 (18.4)	104 (20.2)	153 (19.8)	
55-59 y (n, %)	97 (21.4)	75 (15.0)	111 (21.6)	181 (23.4)	
60-64 y (n, %)	84 (18.5)	109 (21.8)	98 (19.0)	176 (22.8)	
Systolic blood pressure, mmHg (mean, SD)	142.1 (18.94)	136.9 (19.72)	137.5 (19.10)	132.7 (17.84)	<0.001
Diastolic blood pressure, mmHg (mean, SD)	91.8 (11.81)	85.8 (12.13)	84.3 (10.88)	84.3 (11.11)	<0.001
Glycemia, g/L (mean, SD)	-	1.03 (0.27)	1.01 (0.22)	1.01 (0.19)	0.05
Total cholesterol, g/L (mean, SD)	2.56 (0.51)	2.28 (0.40)	2.21 (0.42)	2.18 (0.42)	<0.001
HDLc, g/L (mean, SD)	0.61 (0.19)	0.52 (0.16)	0.52 (0.14)	0.53 (0.13)	<0.001
LDLc, g/L (mean, SD)	1.63 (0.45)	1.51 (0.39)	1.40 (0.37)	1.39 (0.35)	<0.001
Triglycerides, g/L (mean, SD)	1.73 (1.96)	1.50 (1.85)	1.56 (1.56)	1.37 (1.20)	<0.05
Height, m (mean, SD)	1.71 (0.065)	1.73 (0.075)	1.75 (0.067)	1.76 (0.067)	<0.001
Weight, kg (mean, SD)	76.8 (12.36)	79.9 (13.71)	82.9 (14.82)	84.5 (14.58)	<0.001
BMI, kg/m² (mean, SD)	26.1 (3.76)	26.7 (4.16)	27.0 (4.27)	27.2 (4.40)	<0.001

n: number of available data ; y: year ; SD: standard deviation ; NS: non-significant

^a Test for trends: regression analysis (with the study date as a quantitative variable) adjusted for age class

Logistic regression for qualitative variables, linear regression for quantitative variables

Table 2 - Characteristics of the population in each study: women.

Variable	1986-88	1995-96	2005-07	2011-13	p trend ^a
Number of subjects	407	520	506	864	
Age class					
40-44 y (n, %)	98 (24.1)	110 (21.2)	104 (20.6)	159 (18.4)	
45-49 y (n, %)	50 (12.3)	99 (19.0)	82 (16.2)	179 (20.7)	
50-54 y (n, %)	68 (16.7)	101 (19.4)	116 (22.9)	180 (20.8)	
55-59 y (n, %)	93 (22.9)	113 (21.7)	121 (23.9)	188 (21.8)	
60-64 y (n, %)	98 (24.1)	97 (18.7)	83 (16.4)	158 (18.3)	
Systolic blood pressure, mmHg (mean, SD)	137.8 (18.29)	131.8 (18.75)	131.5 (18.54)	122.2 (18.40)	<0.001
Diastolic blood pressure, mmHg (mean, SD)	87.0 (10.24)	81.3 (10.77)	81.8 (10.81)	80.7 (11.60)	<0.001
Glycemia, g/L (mean, SD)	-	0.99 (0.30)	0.95 (0.18)	0.93 (0.18)	<0.001
Total cholesterol, g/L (mean, SD)	2.55 (0.53)	2.30 (0.44)	2.23 (0.39)	2.24 (0.41)	<0.001
HDLc, g/L (mean, SD)	0.74 (0.21)	0.65 (0.19)	0.62 (0.14)	0.64 (0.15)	<0.001
LDLc, g/L (mean, SD)	1.57 (0.49)	1.44 (0.41)	1.37 (0.34)	1.40 (0.35)	<0.001
Triglycerides, g/L (mean, SD)	1.25 (0.91)	1.10 (1.54)	1.13 (0.66)	0.99 (0.48)	<0.001
Height, m (mean, SD)	1.59 (0.06)	1.61 (0.061)	1.62 (0.064)	1.64 (0.068)	<0.001
Weight, kg (mean, SD)	66.1 (12.57)	68.8 (15.25)	70.1 (15.57)	70.2 (15.39)	<0.001
BMI, kg/m² (mean, SD)	26.1 (4.90)	26.7 (5.76)	26.8 (6.06)	26.2 (5.59)	0.95

n: number of available data ; y: year ; SD: standard deviation ; NS: non-significant

^a Test for trends: regression analysis (with the study date as a quantitative variable) adjusted for age class

Logistic regression for qualitative variables, linear regression for quantitative variables

Table 3 - Standardized proportions of aware, treated and controlled cases in participants with hypertension, diabetes mellitus and dyslipidemia.

	Men					Women				
	1986-88	1995-96	2005-07	2011-13	p trend ^a	1986-88	1995-96	2005-07	2011-13	p trend ^a
Hypertension										
Awareness (%)	41.4	45.2	51.3	54.1	<0.05	54.2	58.2	58.1	62.7	<0.05
Treatment (%)	50.5	79.5	71.7	80.7	<0.001	71.8	78.4	83.6	84.6	<0.05
Control (%)	9.3	16	25.6	31.8	<0.001	25	27.9	36.7	53.6	<0.001
Dyslipidemia										
Awareness (%)	29.1	40.9	51.9	47.3	<0.001	34	41.8	51.6	49.1	<0.001
Treatment (%)	40.5	56.4	60.2	52.8	<0.05	49.2	47.8	58.5	44.8	0.81
Control (%) ^d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Diabetes mellitus										
Awareness (%) ^b	-	56.5	57.3	62.8	0.74	-	53.2	62.1	82.6	<0.05
Treatment (%) ^b	-	96.8	100	92.4	0.37	-	96	100	89.9	0.36
Control (%) ^c	-	-	44	49.3	0.48	-	-	25.8	55.2	<0.05

Results are expressed as percentage of the previous line

^a Logistic regression analysis (with the study date as a quantitative variable) adjusted for age class

^b Glycemia not available for MONICA₁₉₈₆₋₈₈

^c HbA1c measurement not available for MONICA₁₉₈₆₋₈₈ and MONICA₁₉₉₅₋₉₆

^d Therapeutic threshold not available for 3 of the 4 studies

Figures

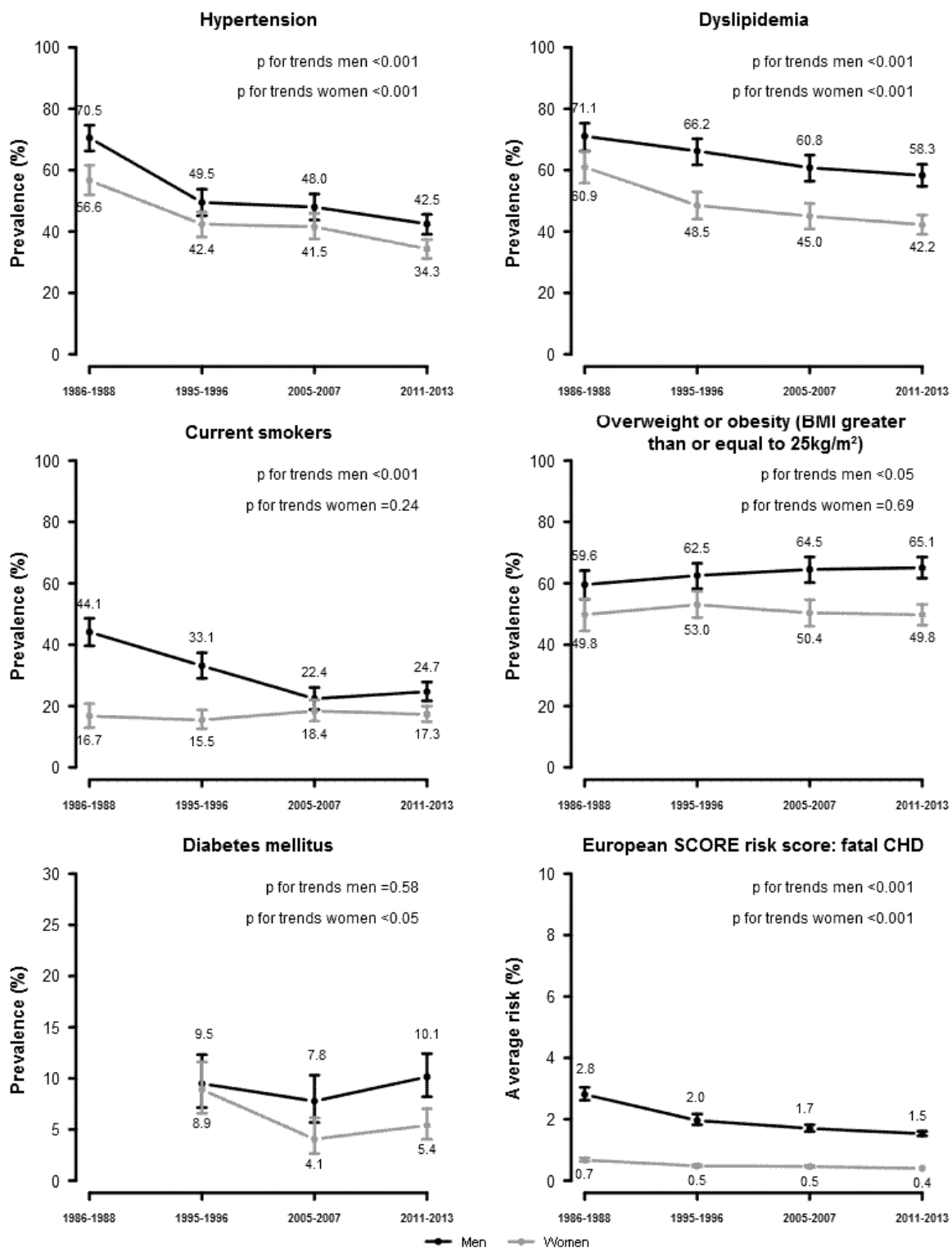


Figure 1 - The prevalence of the main cardiovascular risk factors and the mean 10-year predicted risk of a fatal CHD event heart disease risk (according to the European SCORE risk equation) by study and by gender. The data were standardized for age. Trends were analyzed using (i) logistic regression (with the study date as a quantitative variable and adjusted for age class) for prevalences and (ii) multiple linear regression (with the study date as a quantitative variable and adjusted for age class) for the mean risk.

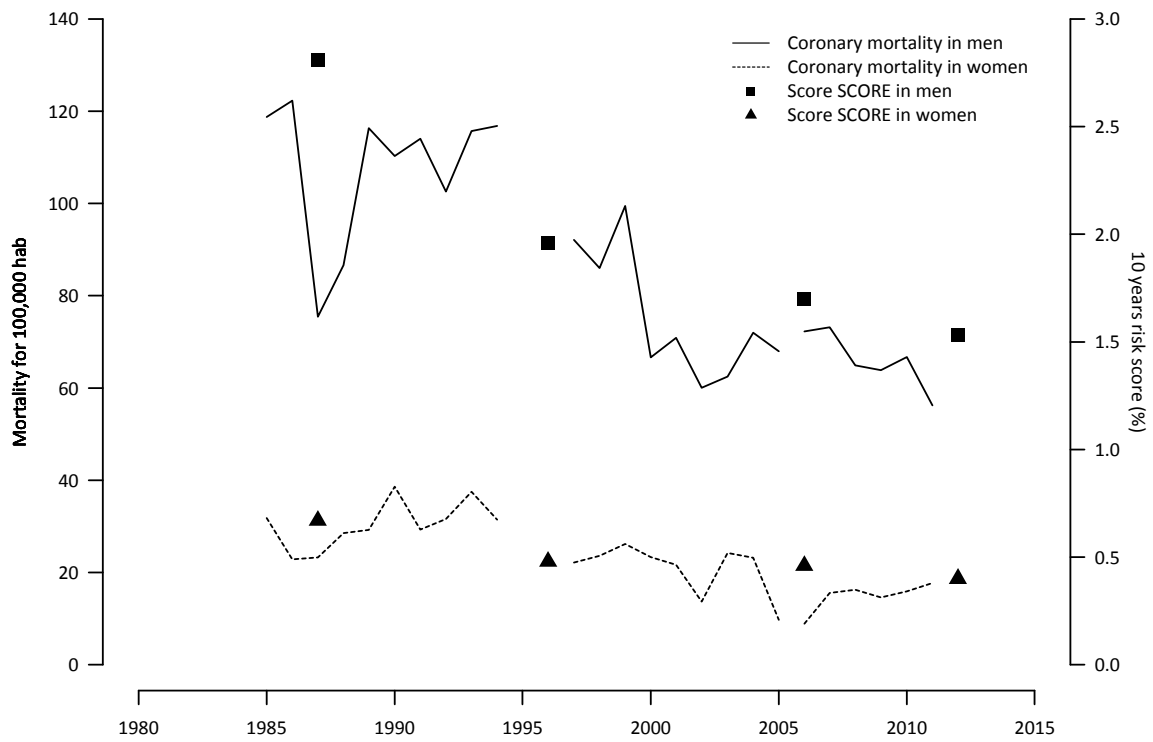


Figure 2 - The mean coronary mortality rate in the MONICA registry, and the SCORE 10-year predicted risk of a fatal CHD event in the MONICA1986-88, MONICA1995-96, MONALISA2005-07 and ELISABET2011-2013 surveys.

Supplemental Material

Supplemental Table 1 - Distribution of occupational groups in the MONALISA2005-07 and ELISABET2011-13 surveys, relative to the estimated distribution in the general population at the corresponding time. The data were weighted by age distribution in the general population.

Occupational group ^a	Men				Women			
	MONALISA ₂₀₀₅₋₀₇	Ref 2007 ^b	ELISABET ₂₀₁₁₋₁₃	Ref 2010 ^b	MONALISA ₂₀₀₅₋₀₇	Ref 2007 ^b	ELISABET ₂₀₁₁₋₁₃	Ref 2010 ^b
Group 1 (%)	0.6 (0-1.3)	0.2	0.7 (0.1-1.4)	0.1	0 (0-0)	0.1	0.2 (0-0.6)	0.1
Group 2 (%)	5.7 (3.6-7.7)	5.9	4.9 (3.2-6.6)	6	1 (0.2-1.8)	1.9	2 (1.1-3)	1.8
Group 3 (%)	21.1 (17.7-24.7)	18.3	20.2 (17.2-23)	18.5	7.5 (5.1-9.9)	8.8	12.1 (10.2-14.4)	9.9
Group 4 (%)	17.5 (14.3-21)	15.9	19.1 (16.2-22.1)	15.9	22.7 (19.1-26.2)	16.3	22.6 (20-25.6)	16.8
Group 5 (%)	9.2 (6.7-11.8)	9.4	14.6 (12.1-17.5)	9.5	26.9 (23.1-30.7)	28.8	27.9 (25-31)	28.6
Group 6 (%)	18.5 (15.1-21.9)	27.2	16.4 (13.8-19.3)	26.7	5.3 (3.6-7.3)	8.9	4.8 (3.4-6.3)	8
Group 7 (%)	17.4 (14.8-20)	15.2	15.8 (13.8-17.7)	15.5	16.1 (13.6-18.7)	14.1	17 (15-19)	15.7
Group 8 (%)	10.1 (7.6-12.8)	8	8.4 (6.5-10.6)	7.7	20.6 (17.1-24.3)	21.3	13.3 (11.1-15.9)	19.1

Ref: reference

^a Group 1: farmers; Group 2: businessmen, craftsmen, shopkeepers; Group 3: managerial and professional occupations; Group 4: mid-level professions; Group 5: white collard workers; Group 6: blue collar workers; Group 7: retirees; Group 8: other unemployed people

^b Data from the French national census (INSEE)

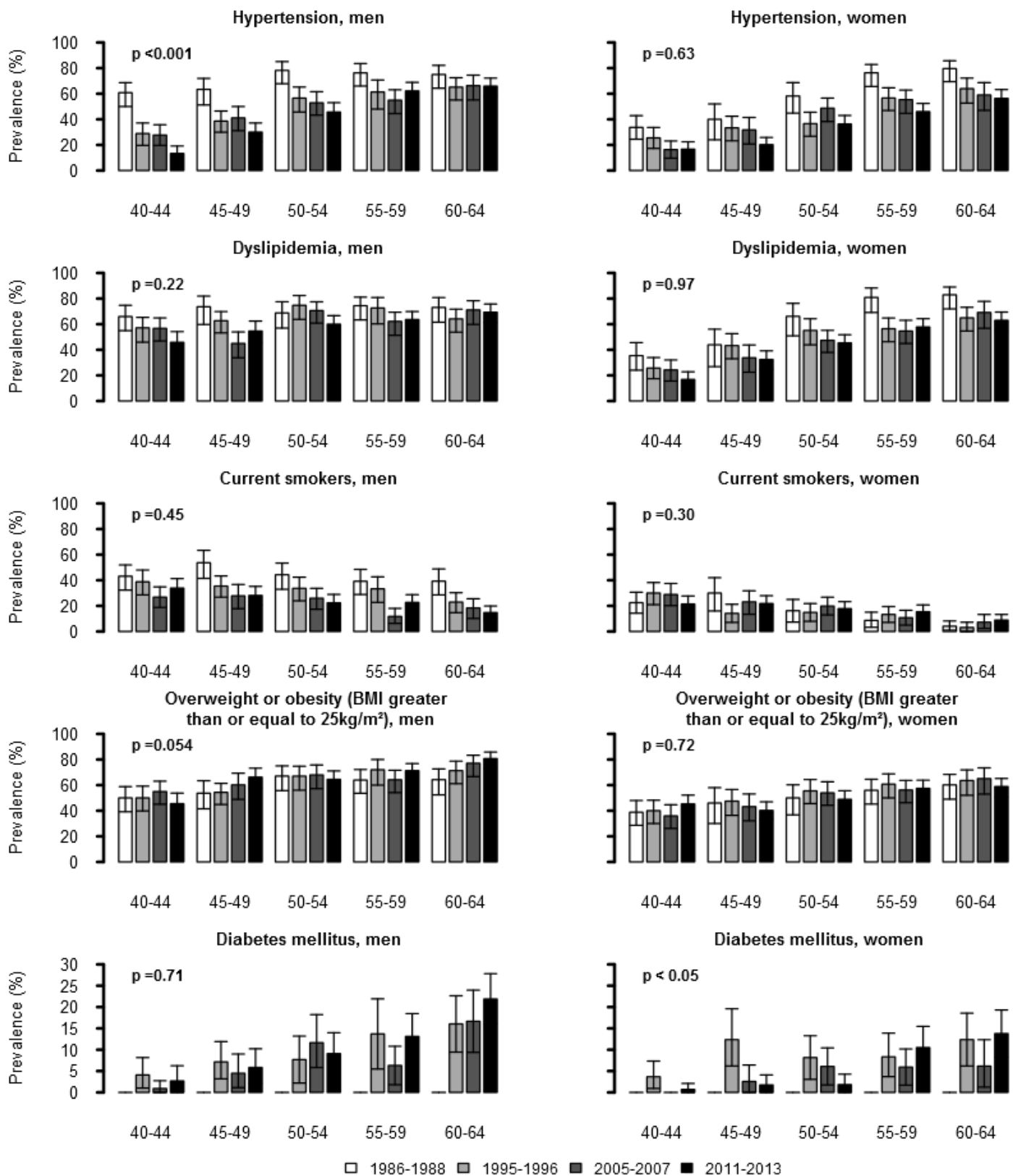
Supplemental Table 2 - A sensitivity analysis of prevalence, weighted by occupational status from the INSEE's French national census.

Prevalence (%)	MONALISA ₂₀₀₅₋₀₇		ELISABET ₂₀₁₁₋₁₃	
	Standardized against age ^a	Standardized against age ^a and weighted for occupational status ^b	Standardized against age ³	Standardized against age ^a and weighted for occupational status ^c
Hypertension				
Men	48.0	47.5	42.5	44.1
Women	41.5	41.4	34.3	34.9
Current smoking				
Men	22.4	22.2	24.7	23.8
Women	18.4	18.5	17.3	18.6
Overweight or obesity (BMI \geq25 kg/m²)				
Men	64.5	63.0	65.1	66.4
Women	50.4	48.9	49.8	50.6
Dyslipidemia				
Men	60.8	59.1	58.3	57.8
Women	45.0	45.2	42.3	42.3
Diabetes mellitus				
Men	7.8	8.0	10.1	10.4
Women	4.1	4.2	5.4	5.3

^a Eurostats 2013 Europe

^b French national census data from 2007 for the Lille urban area

^c French national census data from 2011 for the Lille urban area



Supplemental Figure 1 - The prevalence of the main cardiovascular risk factors by age class, study and gender. The data were analyzed using logistic regression (with the study date as a quantitative variable, age class and an interaction term between study date and age class).

3.4 Résultats supplémentaires : prévalence des facteurs de risque cardiovasculaire à Dunkerque

L'article présenté ci-dessus permettait d'évaluer l'évolution des prévalences des principaux facteurs de risque cardiovasculaire au niveau de la communauté urbaine de Lille (CUDL). Les données de l'enquête ELISABET permettait en plus d'évaluer celles-ci au niveau de la communauté urbaine de Dunkerque (CUD).

La méthodologie de calcul des prévalences était identique. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Prévalence des principaux facteurs de risque cardiovasculaire par centre

	Prévalence (IC 95 %)			<i>p</i>	
	Tous centres	Lille	Dunkerque	Ajustement	
				Age	Age + CSP
Hommes					
Hypertension artérielle	48.4 [46.9-52.0]	42.8 [39.6-46.1]	50.0 [46.6-53.6]	<0.05	NS
Dyslipidémie	56.1 [55.6-60.7]	55.1 [51.4-58.6]	57.9 [54.2-61.4]	NS	NS
Diabète	12.7 [11.0-14.5]	10.7 [8.7-13.0]	11.6 [9.7-13.8]	NS	NS
Tabagisme actif	22.3 [20.2-24.4]	23.1 [20.0-26.2]	23.4 [20.3-26.6]	NS	NS
Tabagisme passif	5.6 [4.4-7.1]	3.4 [2.1-5.0]	8.2 [6.1-10.9]	<0.05	<0.05
Surpoids ou obésité	71.9 [69.9-74.2]	65.2 [61.7-68.5]	75.2 [72.0-78.3]	<0.001	<0.001
Obésité	24.0 [21.9-26.2]	20.1 [17.4-23.0]	25.8 [22.8-29.0]	<0.05	<0.05
Activité physique basse	38.9 [36.4-41.4]	28.7 [25.6-32.1]	49.3 [45.6-53.1]	<0.001	<0.001
Femmes					
Hypertension artérielle	36.6 [34.3-39.0]	34.6 [31.6-37.7]	37.4 [34.1-40.5]	NS	NS
Dyslipidémie	47.3 [44.9-49.8]	45.7 [42.5-49.0]	48.0 [44.6-51.4]	NS	NS
Diabète	6.1 [4.9-7.4]	5.4 [4.0-7.1]	6.5 [4.9-8.4]	NS	NS
Tabagisme actif	16.1 [14.4-17.9]	16.4 [14.1-19.0]	16.2 [13.8-18.7]	NS	NS
Tabagisme passif	4.3 [3.3-5.5]	4.7 [3.2-6.4]	4.1 [2.8-5.8]	NS	NS
Surpoids ou obésité	52.8 [50.3-55.2]	50.0 [46.6-53.2]	55.1 [51.8-58.5]	<0.05	NS
Obésité	23.2 [21.2-25.3]	20.3 [17.7-23.0]	25.8 [22.9-28.9]	<0.05	<0.05
Activité physique basse	37.2 [34.8-39.6]	27.3 [24.2-30.2]	47.8 [44.3-51.4]	<0.001	<0.001

Chez les hommes, après ajustement sur l'âge, la prévalence de l'hypertension artérielle était significativement plus élevée dans la CUD que dans la CUDL (50 % vs. 42.8 %, $p < 0.05$). Les prévalences du diabète et de la dyslipidémie n'étaient pas significativement différentes. Le tabagisme passif était plus élevé dans la CUD que dans la CUDL (8.2 % vs. 3.4 %, $p < 0,05$). Les

prévalences de l'obésité et du surpoids étaient toutes deux supérieures dans la CUD que dans la CUDL (respectivement 25.8 % et 75.2 % dans la CUD contre 20.1 % et 65.2 % dans la CUDL). Enfin, la prévalence d'une activité physique faible était significativement plus élevée dans la CUD que dans la CUDL (49.3 % vs. 28.7 %).

Après ajustement supplémentaire sur la catégorie socioprofessionnelle (CSP), la différence de prévalence de l'hypertension artérielle entre les deux centres n'était plus significative.

Chez les femmes, les prévalences de l'obésité et du surpoids étaient toutes deux supérieures dans la CUD que dans la CUDL (respectivement 25.8 % et 55.1 % dans la CUD vs. 20.3 % et 50 % dans la CUDL). De plus, la prévalence de l'activité physique basse était plus élevée dans la CUD que dans la CUDL (47.8 % vs. 27.3 %).

Après ajustement supplémentaire sur la catégorie socioprofessionnelle, la différence de prévalence de l'hypertension artérielle entre les deux centres n'était plus significative.

4 Troisième étude – La fraction exhalée du monoxyde d’azote et le taux d’éosinophiles sanguins sont associés à l’asthme allergique uniquement chez les non-fumeurs

4.1 Contexte et motivation de l’étude

La fraction exhalée du monoxyde d’azote (FENO) est généralement considérée comme un marqueur de l’inflammation pulmonaire éosinophilique (Taylor et al. 2006). Il est utilisé en pratique clinique dans le diagnostic et la gestion de l’asthme. Plus récemment, le taux d’éosinophiles dans le sang (S-eos) a été étudié comme un autre biomarqueur associé à l’asthme (Malinovski et al. 2013; Zeiger et al. 2014; Tran et al. 2014; Katz et al. 2014). Cependant, ces marqueurs de l’inflammation éosinophilique locale et systémique ont des relations complexes avec le tabac. En effet, la consommation tabagique est associée (i) à une diminution des mesures du FENO (Bjermer et al. 2014), (ii) à une augmentation de taux de S-eos en population générale, mais cette relation semble inversée chez les asthmatiques (Sunyer et al. 2003; Telenga et al. 2013; Thomson et al. 2013). Le fort impact du tabac sur ces marqueurs soulève des questions sur leur pertinence clinique chez les asthmatiques fumeurs (Malinovski et al. 2009; Spears et al. 2011; Malinovski et al. 2012; Michils et al. 2009; Karrasch et al. 2011; McSharry et al. 2005). Cette question a d’ailleurs émergé lors d’une réunion de travail autour du projet ELISABET avec les équipes partenaires de cliniciens (dont les Docteurs Jean-Louis Edmé, Natalie Chérot et Sébastien Hulo) qui s’interrogeaient sur la pertinence de ces marqueurs dans leur pratique clinique.

Les données de l’enquête ELISABET ont également vocation à apporter des éléments de réponse à de telles questions cliniques. Nous disposons en effet de données d’une enquête, qui, bien qu’elle soit transversale, possède un certain nombre d’avantages : un effectif important, un grand nombre de mesures (spirométrie, mesures FENO, condensats de l’air expiré, bilan biologique...) et des participants issus de la population générale (permettant notamment d’avoir accès à un nombre important de témoins, ou sujets « sains »). Ces données nous ont donc permis d’étudier l’interaction éventuelle du tabac dans la relation entre asthme et FENO, S-eos.

Cette étude n'a pu être menée qu'à partir des données issues de la population dunkerquoise. En effet, pendant la phase de data-management, il est apparu qu'il existait pour les mesures de FENO chez les participants lillois un fort effet enquêteur et période. Malgré un examen minutieux des données et des procédures d'examen, nous n'avons pas trouvé la cause exacte de ces effets et avons préféré exclure la totalité des mesures de FENO chez les participants lillois. A l'inverse, aucun effet enquêteur ni période n'a été observé à Dunkerque. Les distributions et la reproductibilité des variables étaient conformes à celles attendues, suggérant une bonne qualité des mesures.

Concernant ma participation à la réalisation de cette étude, après avoir défini les objectifs scientifiques avec le Docteur Luc Dauchet et les cliniciens participant à ce travail, j'ai réalisé le travail bibliographique, défini les méthodes, réalisé les analyses statistiques, rédigé l'article dont je suis le premier auteur, et me suis occupé de sa soumission et de sa révision.

4.2 Résumé en français

Contexte. La fraction exhalée du monoxyde d'azote (FENO) et le taux d'éosinophiles sanguins (S-eos) sont les marqueurs de l'inflammation éosinophilique utilisés dans le diagnostic et la gestion de l'asthme. Les relations entre la consommation tabagique et ces deux marqueurs sont complexes et soulèvent des questions sur l'association entre ces marqueurs et l'asthme chez les fumeurs.

Objectif. Déterminer les relations entre d'une part, le FENO et les taux de S-eos et d'autre part, l'asthme et l'atopie, en fonction du statut tabagique.

Méthodes. Le FENO et le taux de S-eos ont été mesurés chez respectivement 1579 et 1496 des 1607 adultes d'âge moyen issus de l'enquête transversale ELISABET, réalisée en population générale. L'asthme allergique a été défini comme un asthme (auto-déclaration de l'asthme, et sifflements dans la poitrine au cours des 12 derniers mois ou utilisation de médicaments contre l'asthme) avec un terrain atopique (rhinite allergique ou rhume des foins au cours des 12 derniers mois, ou un antécédent de test cutané allergologique positif ou de désensibilisation à un allergène). L'asthme non allergique a été défini comme un asthme sans atopie.

Résultats. L'analyse a inclus 812 (51,4 %) non-fumeurs (n'ayant jamais fumé), 473 (30 %) anciens fumeurs et 294 (18,6 %) fumeurs actifs. Un total de 490 (32 %) participants était atopique, 80 (5,1 %) souffraient d'asthme allergique, et 31 (2 %) souffraient d'asthme non-allergique. Seulement 16,2 % (18/111) des asthmatiques étaient traités par glucocorticoïdes, ce qui suggérait que parmi eux, une majorité avait un asthme léger. Une interaction positive entre le statut tabagique et l'asthme allergique a été observée dans les modèles multivariés expliquant le FENO ($p = 0,003$) et le taux de S-eos ($p = 0,001$). Ainsi, comparés à ceux sans asthme allergique, les participants en souffrant avaient des valeurs de FENO plus élevées (+63,4 %, IC 95 % = [39; 92]) et un taux de S-eos plus élevé (+63,2 % [38,2; 92,7]) chez les non-fumeurs, mais pas chez les fumeurs actifs. Enfin, une analyse des courbes ROC a montré que chacun de ces deux marqueurs était capable de discriminer modérément l'asthme allergique, mais uniquement chez les non-fumeurs.

Conclusions. Le FENO et le taux de S-eos étaient associés à la présence d'un asthme allergique léger uniquement chez les non-fumeurs, non chez les fumeurs actifs. Ces résultats posent la question de la pertinence clinique de l'utilisation du FENO et du taux de S-eos chez les fumeurs.

Mots-clés : fraction exhalée du monoxyde d'azote ; taux d'éosinophiles sanguins ; tabac ; statut tabagique ; interaction ; inflammation des voies respiratoires

4.3 Article

Title page

Both exhaled nitric oxide and blood eosinophil count were associated with mild allergic asthma only in non-smokers

Condensed title: FENO, blood eosinophil count and smoking status

Authors

Jonathan Giovannelli^{1,2,3*}
jonathan.giovannelli@gmail.com

Nathalie Chérot-Kornobis^{1,2}
nathalie.cherot@univ-lille2.fr

Sébastien Hulo^{1,2}
sebastien.hulo@chru-lille.fr

Alina Ciuchete³
alina.ciuchete@gmail.com

Guillaume Clément^{1,3}
gja.clement@gmail.com

Philippe Amouyel^{1,2,3}
philippe.amouyel@pasteur-lille.fr

Régis Matran^{1,2}
regis.matran@univ-lille2.fr

Luc Dauchet^{1,2,3}
luc.dauchet@pasteur-lille.fr

¹ University of Lille, Faculté de Médecine Henri Warembourg F-59045 Lille Cedex, France

² University Hospital of Lille, 2 Avenue Oscar Lambret, F-59000 Lille, France

³ Pasteur Institute of Lille, INSERM U1167 RID-AGE, 1 Rue du Professeur Calmette, F-59800 Lille, France

* Corresponding author: Dr. Jonathan Giovannelli, University Hospital of Lille, Epidemiology Unit, 2 rue du Pr. Laguesse, MRRC, F-59037 Lille Cedex, tel: +33 320 445 518, fax: +33 320 446 945

Abstract

Background. The fractional exhaled nitric oxide (FENO) and the blood eosinophil count (B-eos) are markers of eosinophilic inflammation used in the diagnosis and management of asthma. The relationships between smoking cigarette and both FENO and B-eos are complex and raise questions about the association between these markers and asthma in smokers.

Objective. To determine the relationships between both FENO and B-eos on one hand and asthma and atopy on the other, according to smoking status.

Methods. FENO and B-eos were measured in respectively 1579 and 1496 of the 1607 middle-aged adults randomly selected from the general population in the cross-sectional ELISABET survey. Allergic asthma was defined as asthma (a self-report of physician-diagnosed asthma, and wheezing in the previous 12 months or the use of asthma medications) with atopy (allergic rhinitis or hay fever in the previous 12 months, or a previous positive prick test or allergen desensitization therapy). Nonallergic asthma was defined as asthma without atopy.

Results. The analysis included 812 (51.4%) never-, 473 (30%) former- and 294 (18.6%) current smokers. A total of 490 (32%) participants were atopic, 80 (5.1%) had allergic asthma, and 31 (2%) had nonallergic asthma. Only 16.2% (18/111) of asthmatics were treated with glucocorticoid inhalants, suggesting that among them a majority of participants had mild asthma. A positive interaction between smoking status and allergic asthma was observed in multivariate models explaining FENO ($p=0.003$) and B-eos ($p=0.001$). Thus, compared to those without allergic asthma, participants with allergic asthma had higher FENO values (+63.4%, 95%CI=[39; 92]) and higher B-eos (+63.2% [38.2; 92.7]) in never and former smokers, but not in current smokers. Lastly, an analysis of receiver operating characteristic curves showed that each of the two markers was able to discriminate moderately allergic asthma but only in non-smokers.

Conclusions & Clinical Relevance. FENO and B-eos were associated with the presence of mild allergic asthma only in non-smokers, not in current smokers. These findings raise questions about the clinical value of FENO and B-eos in smokers.

Keywords: fractional exhaled nitric oxide; blood eosinophil count; tobacco; smoking status; interaction; airway inflammation

Introduction

The fractional exhaled nitric oxide (FENO) is generally considered as a non-invasive, surrogate marker of eosinophilic inflammation [1]. More recently, the blood eosinophil count (B-eos) has also been studied as another potentially interesting marker; it is associated with bronchial hyperreactivity and late-phase asthmatic reactions [2], asthma attacks [3–5], asthma-related emergency department visits [3], excessive short-acting β 2-agonist use [4], a short-term risk of deterioration and the need for corticosteroid treatment in children with mild or moderate allergic asthma [6], severe eosinophilic asthma [7] and a response to omalizumab treatment [8].

It is well known that smoking decreases FENO values [9] and thus complicates their interpretation. The clinical value of FENO measurements in smokers is subject to debate. Although a few studies have evaluated the relationship between FENO and asthma in smokers, the results have been inconsistent [10–15]. In the general population, smoking is associated with an elevated B-eos [16–21]. However, this association appears to be inverted in patients with asthma. Indeed, asthmatic smokers have lower B-eos values than asthmatic non-smokers [16,22,23]. Thus, these findings raise questions about the relationship between B-eos and asthma in smokers.

Analysis of markers of eosinophilic inflammation used in clinical practice in smokers is important because 20% to 35% of asthmatics smoke (a similar proportion to that seen in the general population) [24,25]. Hence, the objective of the present study was to determine the relationships between FENO and B-eos on one hand and asthma and atopy on the other, as a function of smoking status.

Methods

Participants

The participants were men and women (aged from 40 to 64) enrolled in the 2011-2013 *Enquête Littoral Souffle Air Biologie Environnement* (ELISABET) cross-sectional survey of the prevalence of airflow obstruction. All the participants had been resident in the city of Dunkirk (northern France) or one of the 16 other communes in the Dunkirk urban area for at least the previous 5 years. The non-inclusion criteria were: pregnant women, persons deprived of liberty, unable to consent or not benefiting from social insurance. The participants were selected from electoral rolls by random sampling (stratified for gender and age). All participants were all recruited between January 2011 and November 2013. Each

selected participant received a letter asking him/her to contact the coordinating team and make an appointment for data collection. In the absence of a reply, participants were contacted by telephone. Data was collected at home (rarely during a consultation in a healthcare establishment). A detailed questionnaire was administered by a trained, registered nurse. Lung function tests were performed, and a blood sample was also collected in a single visit (or few days after or before for some participants).

The study protocol was approved by the local investigational review board (CPP Nord Ouest IV, reference number: 2010-A00065-34), in compliance with the French legislation on biomedical research. All participants provided their informed, written consent to participation in the study.

Measurements

FENO was measured with the validated NIOX MINO portable analyzer (Aerocrine AB, Solna, Sweden) [26–29] at a constant expiratory flow rate of 50 ml/s, in accordance with the 2005 American Thoracic Society (ATS) and European Respiratory Society (ERS) guideline [30]. To avoid bias, FENO was measured in fasting participants [31,32] prior to any spirometric maneuvers [33,34]. The NIOX MINO device can detect FENO values from 5 to 300 ppb. Values <5 ppb were considered to be below the lower limit of detection (LOD), and were therefore imputed with a value of 3.5 ppb (LOD/√2) [35,36]. FENO was measured twice for each participant and the mean value was subsequently analyzed. The NO level in ambient air was also measured with the NIOX MINO device. B-eos was measured with an LH780 hematology analyzer (Beckman Coulter, Fullerton, California). Leukocyte populations were analyzed by multidimensional flow cytometry.

Spirometric examinations were performed using weekly calibrated Micro 6000 devices (Medisoft, Belgium), accordingly to the 2005 ATS/ERS guideline [37]. No reversibility test (with administration of bronchodilator) was performed prior to spirometric examinations. The latter were validated by a trained specialist.

Current asthma was defined by a "yes" answer in response to the question "have you ever been diagnosed with asthma by a physician?", and self-reported wheezing in the previous 12 months or asthma medications (including adrenergic, glucocorticoid or anticholinergic drugs). Atopy was defined as self-reported symptoms of allergic rhinitis or hay fever in the previous 12 months, or a previous positive skin prick test or allergen desensitization therapy. Allergic asthma and nonallergic asthma were then defined as asthma with and without atopy, respectively. Airflow obstruction was defined as a ratio between the forced expiratory

volume in 1 second and the forced vital capacity <0.7. Smoking status was qualified as either current (at least one cigarette per day for a year), former or never. Lastly, usual intakes of fruits and vegetables were assessed using a validated food frequency questionnaire [38].

Statistical analyses

The agreement between the two sets of FENO measurements was evaluated by calculating the intraclass correlation coefficient (ICC) and generating a Bland-Altman plot [39]. The Pearson product-moment correlation coefficients for the relationship between FENO and B-eos were computed as a function of smoking status.

In order to study the relationships between FENO and asthma/atopy as a function of smoking status, three different analyses were performed. Similar analyses were performed for B-eos and asthma/atopy. Firstly, the characteristics (including asthma and atopy) of groups of participants below and above a FENO or B-eos threshold were compared as a function of smoking status (using Student's tests for means and Fisher's exact tests for percentages). For FENO, thresholds were obtained by calculating the corresponding 95% upper reference value (RV) as a function of smoking status. The latter was estimated from data on healthy participants (i.e. participants with no self-reported respiratory disease, lung symptoms, asthma medication use, atopy or airflow obstruction) by back-transformation of the mean +1.64 x the standard deviation of logarithm-transformed FENO values ($\ln(\text{FENO})$) [40–42]. The normality of $\ln(\text{FENO})$ was evaluated in a Shapiro-Wilk test. A sensitivity analysis was performed with a fixed threshold of 25 ppb. For B-eos, a threshold of 300 cells/mm³ was used. A sensitivity analysis was performed with a threshold of 500 cells/mm³. Secondly, two multiple linear regression models were built with $\ln(\text{FENO})$ and $\ln(\text{B-eos})$ as the dependent variables, respectively. The explanatory variables were as follows: age, gender, height, body mass index (BMI), smoking status (current vs. former or never), current allergic and nonallergic asthma, inhaled glucocorticoid use, atopy, airflow obstruction, a respiratory infection in the previous 4 weeks, and for the model with $\ln(\text{FENO})$ as the dependent variable: usual dietary intakes of vegetables and fruits, and NO in the ambient air. Interaction terms between smoking status and the other explanatory variables were tested one at a time in both models. Lastly, models stratified for smoking status were performed. The regression coefficients were expressed as the percentage increase in FENO or B-eos value [95%CI] per unit change in the explanatory variable. For this, they were back-transformed and converted to percentage increase by multiplying with 100 and subtracting 100% (10,43). Regression diagnostics were performed.

Thirdly, to assess the ability of FENO and B-eos to discriminate between participants with current allergic asthma (and with participants with current asthma (allergic or nonallergic) in a sensibility analysis) and other participants, receiver operating characteristic (ROC) curves were plotted and the areas under the curve (AUC) were calculated as a function of smoking status. Optimal thresholds that maximized sensitivity and specificity were also calculated.

All statistical analyses were performed using R software, version 3.1.2 (R: A Language and Environment for Statistical Computing, R Development Core Team, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria); the threshold for statistical significance was set to $p < 0.05$.

Results

A total of 4670 people were eligible for inclusion. Of these, 1485 did not reply and 1578 refused to participate. A total of 1607 were included, giving a participation rate of 34.4%.

FENO was measured and analyzed in 1579 participants. The degree of agreement between the two sets of FENO measurements was evaluated by calculating the ICC and by drawing up a Bland-Altman plot. The ICC [95%CI] was 0.97 [0.96; 0.98], and the 95% lower and upper limits of agreement were -7.2 and 6.2 ppb, respectively.

B-eos was measured in 1496 participants. For the population as a whole, a significant correlation between FENO and B-eos was observed (0.26 [0.21; 0.31], $p < 10^{-9}$). Significant correlations were also noted in never smokers (0.35 [0.29; 0.41], $p < 10^{-9}$) and former smokers (0.32 [0.23; 0.40], $p < 10^{-9}$) but not in current smokers (0.10 [-0.02; 0.21], $p = 0.1$).

The participants' characteristics as a function of smoking status are summarized in Table 1. The median (interquartile range) value was 14.5 (11) ppb for FENO and 165 (139) cells/mm³ for B-eos. There were 812 (51.4%) never smokers, 473 (30%) former smokers and 294 (18.6%) current smokers. A total of 490 (32%) participants had atopy, 80 (5.1%) had current allergic asthma, 31 (2%) had current nonallergic asthma and 234 (15.2%) had airflow obstruction. Among the participants with asthma, 45.2%, 38.3% and 16.5% were never, former and current smokers, respectively. Current smokers had, compared with never smokers: lower FENO values (geometric mean [95%CI] = 10.4 [9.7; 11.3] ppb vs. 16.3 [15.6; 16.9] ppb, respectively), a higher B-eos (200 [187; 214] cells/mm³ vs. 149 [143; 155]) and greater proportions of wheezing in the past 12 months (28.9% vs. 10.6%), male gender (57.5% vs. 34.1%) and airflow obstruction (20.9% vs. 11.3%).

The characteristics of participants with FENO values below and above the 95%RV are presented as a function of smoking status in Table 2. The 95%RVs for never, former and current smokers were 34, 32 and 25 ppb, respectively. For both never and former smokers, participants with FENO values above the 95%RV had (compared to those with FENO values below the 95%RV) greater proportions of current asthma, current allergic asthma, inhaled adrenergic bronchodilator use, atopy, allergic rhinitis or hay fever in the past 12 months, airflow obstruction and respiratory infection in the past 4 weeks, and a higher B-eos. In contrast, there were no differences for current smokers with FENO values below or above the 95%RV. Use of a fixed threshold of 25 ppb gave similar results (Supplementary Table 1).

The characteristics of participants with B-eos below and above the threshold of 300 cells/mm³ are presented as a function of smoking status in Table 3. In both never smokers and former smokers, participants with B-eos above the threshold had greater proportions of current asthma, current allergic asthma, wheezing in the past 12 months and inhaled adrenergic bronchodilator use and higher FENO values than those below the threshold. No differences were observed for current smokers. Use of a threshold of 500 cells/mm³ gave similar results (data not shown).

In multivariate analyses with models explaining ln(FENO) and ln(B-eos), positive interaction terms were noted between smoking status on one hand and (i) current allergic asthma ($p < 0.003$ and $p < 0.001$, respectively), (ii) atopy ($p = 0.01$ and $p = 0.02$, respectively), and (iii) BMI ($p = 0.04$ and $p = 0.01$, respectively) on the other (Tables 4 and 5). Thus, for these variables, results must to be interpreted from models stratified for smoking status. Compared to those without allergic asthma, participants with allergic asthma had higher FENO values (+63.4% [39; 92]) and higher B-eos (+63.2% [38.2; 92.7]) in never and former smokers, but not in current smokers. Similar results were observed for atopy: in never and former smokers, the increase in FENO values was statistically significant (+18% [9.9; 26.7]) but the increase in B-eos did not reach significance (+7.2% [-0.7; 15.7], $p = 0.07$). No association was noted for current smokers (Tables 4 and 5). Similar results were observed for the BMI. Furthermore, FENO was associated with: current smoking, female gender, height, respiratory infection in the past 4 weeks, usual dietary intake of fruit and NO in ambient air, with no interaction with smoking status. B-eos was also associated with current smoking, female gender and respiratory infection in the past 4 weeks, with no interaction with smoking status (Tables 4 and 5).

In terms of FENO's ability to discriminate between the presence and absence of current allergic asthma, the AUC was: 0.75 [0.64; 0.82], 0.71 [0.59; 0.81] and 0.41 [0.26; 0.60] for never, former and current smokers, respectively. For B-eos, it was: 0.76 [0.67; 0.84], 0.73 [0.62; 0.80] and 0.44 [0.29; 0.60], respectively (Table 6). (The 2x2 contingency tables are presented in supplementary tables 2-9.) A sensibility analysis was conducted when considering all asthmatics (allergic and nonallergic asthma). For FENO, the AUC was: 0.69 [0.60; 0.77], 0.58 [0.48; 0.68] and 0.47 [0.33; 0.62] for never, former and current smokers, respectively. For B-eos, it was: 0.71 [0.62; 0.79], 0.65 [0.55; 0.73] and 0.41 [0.29; 0.55], respectively.

Discussion

In the present study, we performed several analyses of the relationships between two widely used minimally invasive markers of eosinophilic inflammation (FENO and B-eos) on one hand and asthma and atopy on the other, as a function of smoking status. Our main finding was that allergic asthma was associated or could be discriminated moderately by FENO and B-eos only in never and former smokers, not in current smokers.

The present study had strengths and limitations. One of the strengths was the use of a large enough general population sample size to reveal significant interactions in multivariate analyses. The study's main limitation was the absence of skin prick tests or specific immunoglobulin E assays for more accurate phenotyping of participants with atopy. The latter was defined by the presence of symptoms of allergic rhinitis or hay fever in the previous 12 months, or previous positive prick test or allergen desensitization therapy. However, the prevalence of atopy in the present study (32%) was in the range of others conducted in the general population [42,44]. Moreover, for technical reasons, two reproducible measurements (as recommended by the ATS; delta $\leq 10\%$ for FENO values ≥ 30 ppb, and delta ≤ 2 ppb for values < 30 ppb) could not be obtained in all participants [30]. We carried out two sets of FENO measurements per participant and retrospectively evaluated the agreement between them. The ICC was high (0.97, [0.96-0.98]). However, the 95% limits of agreement (-7.2; 6.2 ppb) slightly exceeded the manufacturer's specifications (± 5 ppb) but remained clinically acceptable. Lastly, only 16.2% (18/111) of participants with asthma were treated with glucocorticoid inhalants, suggesting that among asthmatics a majority of participants had mild asthma. So, our findings should be applied to people with mild asthma, but they might not be applied to patients with more severe asthma.

It is well known that smoking decreases FENO values in both asthmatic and non-asthmatic people [9]. This effect is reversible (over 4 to 8 weeks) [45,46] and can be explained by several factors: (i) the high concentration of NO in cigarette smoke partially inhibits the activity of NO synthase (NOS) -2 [47], (ii) the activity of NOS-2 and -3 does not increase during exposure to cigarette smoke, despite an increase in the expression of their genes [46], (iii) exposure to cigarette smoke increases the production of endogenous NOS inhibitors [48], and (iv) exposure to cigarette smoke may decrease local production of NO above the upper trachea [49]. In the present study, FENO values and thus the 95% RVs were lower for current smokers than for non-smokers. The observed 95% RVs for never, former and current smokers (34, 32 and 25 pbb, respectively) were in agreement with the literature values [36,40–42,50].

Given that smoking reduces and complicates the interpretation of FENO values, the clinical use of FENO measurements in smokers is subject to debate. While it is well known that FENO can differentiate between asthmatics and non-asthmatics in never smokers [1], contradictory results have been observed in smokers. Malinovschi et al. reported that both allergic and nonallergic asthma are associated with increased FENO levels, but only in never-smokers [10]. In addition, Spears et al. showed that FENO was significantly lower in smokers with asthma and did not change significantly in response to dexamethasone [11]. However, Malinovschi et al.'s study of participants with asthma-like symptoms found that FENO could differentiate between asthmatics and non-asthmatics equally well in both never smokers and current smokers [12]. Furthermore, Michils et al.'s longitudinal study found that sequential changes in FENO are related to asthma control in both smokers and non-smokers [13].

Our results showed that FENO was associated with allergic asthma and atopy in never and former smokers, but not in current smokers. Indeed, in contrast to the situation for non-smokers, the proportion of allergic asthma was similar in current smokers with FENO values above and below the 95% RV of FENO (4.4% vs. 4.8%, respectively; $p=1$). These results were confirmed in multivariate analysis. We observed an interaction between smoking status and allergic asthma ($p=0.003$). Thus, the association between FENO and allergic asthma was noted only in non-smokers. The same results were observed for atopy. Lastly, ROC curves showed that allergic asthma was not discriminated by FENO in current smokers (AUC=0.41 [0.26; 0.60]). In non-smokers, allergic asthma was discriminated moderately by FENO

(AUC=0.75 [0.64; 0.82] in never smokers, =0.71 [0.59; 0.81] in former smokers). However, considering that optimal values of sensitivity and specificity were only between 0.59 and 0.75, the use of FENO to discriminate allergic asthma in non-smokers would lead to large number of false positives and false negatives. Although the results of this cross-sectional study do not allow conclusions on the usefulness or not of FENO in asthma management, they confirmed that FENO cannot discriminate allergic asthmatic in smokers.

Previous studies of the general population have reported that smoking increase B-eos [16–21]. The fact that smoking also increases IgE suggests that smoking has a profound effect on the immunological system [16,51,52]. However, B-eos seems to be lower in asthmatic smokers than in asthmatic non-smokers [16,22,23]. Sunyer et al. specifically studied the relationships between asthma, smoking and B-eos and concluded that smoking probably has different immunological role in asthmatics vs. non-asthmatics [16]. Our results are in agreement with Sunyer et al.'s study.

Whereas B-eos has recently been highlighted as a marker of systemic eosinophilic inflammation in asthma [3–8], this study is the first, to the best of our knowledge, to evaluate the association between B-eos and asthma or atopy as a function of smoking status. In this respect, our results for B-eos are similar to those for FENO. Thus, the proportion of allergic asthma in smokers did not vary significantly according to whether B-eos was above or below a fixed threshold of 300 cells/mm³ (3% vs. 5.6%, respectively; $p=0.53$) – unlike non-smokers. Furthermore, we observed in multivariate analysis an interaction between smoking status and allergic asthma ($p=0.001$), and the association between B-eos and allergic asthma was noted only in non-smokers. Similar results were observed for atopy. Lastly, ROC curves confirmed that B-eos could not discriminate allergic asthma in current smokers (AUC= 0.44 [0.29; 0.60]). In non-smokers, allergic asthma was discriminated moderately by B-eos (AUC=0.76 [0.67; 0.84] in never smokers, =0.73 [0.62; 0.80] in former smokers). However, in the same way as for FENO, considering that optimal values of sensitivity and specificity were only between 0.68 and 0.79, the use of B-eos to discriminate allergic asthma in non-smokers would lead to an elevated misclassification rate. Thus, the study results (i) confirmed that the elevation in B-eos caused by smoking in the general population is reversed in asthmatics, and (ii) showed that B-eos was significantly associated with allergic asthma only in non-smokers.

FENO and B-eos are markers of local and systemic eosinophilic inflammation, respectively. According to the literature, biomarkers of eosinophilic inflammation (FENO, B-eos and others, such as the sputum eosinophil count) are well correlated with each other [53–55]. However, our results indicated that FENO and B-eos were significantly correlated in never smokers (0.35 [0.29; 0.41]) and former smokers (0.32 [0.23; 0.40]) but not in current smokers (0.10 [-0.02; 0.21]).

The absence of an association between FENO and B-eos and allergic asthma in smokers may be due to the changes in inflammation caused by cigarette smoking in patients with asthma. Indeed, asthmatic smokers have higher neutrophil counts and lower eosinophil counts in sputum than non-smokers [56,57]. The lower proportion of eosinophilic inflammation in smokers with asthma was confirmed by Broekema et al.'s study of bronchial biopsies; a lower bronchial eosinophil count and a higher mast cell count were observed in current smokers, relative to never smokers [58]. Furthermore, Broekema et al. suggested that smoking-related changes are reversible because the epithelium did not appear to be modified in former smokers [58]. This was consistent with our study, with similar results in never smokers and former smokers. Furthermore, smoking in asthma is associated with a corticosteroid-insensitive increase in multiple airway cytokines [59]. It has been also observed that cigarette smoke exposure can impair the bioavailability of L-arginine (the substrate for NOS) in asthmatic patients [60,61].

Conclusion

FENO and B-eos (both alone and when combined) were associated with the presence of mild allergic asthma only in never and former smokers, not in current smokers. Our results suggest that local and systemic eosinophilic inflammation is modified in asthmatic smokers and raise questions about the clinical value of FENO and B-eos in this population.

Conflicts of interest

None of the authors state potential conflicts of interest.

Acknowledgements

The authors thank the CHRU de Lille, the University of Lille, the Institut Pasteur de Lille, and the Centre Hospitalier Général de Dunkerque. They thank the nurses, physicians and secretarial staff of the University of Lille and the Institut Pasteur de Lille. They thank the Service de Médecine du Travail, the Service de Biologie Spécialisé, and the Laboratoire d'Analyses Génomiques at the Institut Pasteur de Lille, the Department of Biology and the Department of Pulmonology at the Centre Hospitalier Général de Dunkerque, the Institut de Biologie et de Pathologie at the CHRU de Lille and the Centre Universitaire de Mesures et d'Analyses (CUMA) at the University of Lille.

Funding

The ELISABET survey was sponsored by the CHRU de Lille. The present study was funded by the Nord Pas-de-Calais Region and the European Regional Development Fund (ERDF-FEDER Presage N°36034) in the frame of CPER Institut de Recherche en ENvironnement Industriel (IRENI).

References

1. Taylor DR, Pijnenburg MW, Smith AD. Exhaled nitric oxide measurements: clinical application and interpretation. *Thorax*. 2006 Sep;61(9):817–27.
2. Durham SR, Kay AB. Eosinophils, bronchial hyperreactivity and late-phase asthmatic reactions. *Clin Allergy*. 1985 Sep;15(5):411–8.
3. Malinovschi A, Fonseca JA, Jacinto T, Alving K, Janson C. Exhaled nitric oxide levels and blood eosinophil counts independently associate with wheeze and asthma events in National Health and Nutrition Examination Survey subjects. *J Allergy Clin Immunol*. 2013 Oct;132(4):821–827.e1–5.
4. Zeiger RS, Schatz M, Li Q, Chen W, Khatry DB, Gossage D, et al. High blood eosinophil count is a risk factor for future asthma exacerbations in adult persistent asthma. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2014 Dec;2(6):741–50.
5. Tran TN, Khatry DB, Ke X, Ward CK, Gossage D. High blood eosinophil count is associated with more frequent asthma attacks in asthma patients. *Ann Allergy Asthma Immunol Off Publ Am Coll Allergy Asthma Immunol*. 2014 Jul;113(1):19–24.
6. Lönnkvist K, Hellman C, Lundahl J, Halldén G, Hedlin G. Eosinophil markers in blood, serum, and urine for monitoring the clinical course in childhood asthma: impact of budesonide treatment and withdrawal. *J Allergy Clin Immunol*. 2001 May;107(5):812–7.
7. Katz LE, Gleich GJ, Hartley BF, Yancey SW, Ortega HG. Blood eosinophil count is a useful biomarker to identify patients with severe eosinophilic asthma. *Ann Am Thorac Soc*. 2014 May;11(4):531–6.
8. Busse W, Spector S, Rosén K, Wang Y, Alpan O. High eosinophil count: a potential biomarker for assessing successful omalizumab treatment effects. *J Allergy Clin Immunol*. 2013 Aug;132(2):485–486.e11.
9. Bjermer L, Alving K, Diamant Z, Magnussen H, Pavord I, Piacentini G, et al. Current evidence and future research needs for FeNO measurement in respiratory diseases. *Respir Med*. 2014 Jun;108(6):830–41.
10. Malinovschi A, Janson C, Högman M, Rolla G, Torén K, Norbäck D, et al. Both allergic and nonallergic asthma are associated with increased FE(NO) levels, but only in never-smokers. *Allergy*. 2009 Jan;64(1):55–61.
11. Spears M, Weir CJ, Smith AD, McSharry C, Chaudhuri R, Johnson M, et al. Bronchial nitric oxide flux (J_{aw}) is sensitive to oral corticosteroids in smokers with asthma. *Respir Med*. 2011 Dec;105(12):1823–30.
12. Malinovschi A, Backer V, Harving H, Porsbjerg C. The value of exhaled nitric oxide to identify asthma in smoking patients with asthma-like symptoms. *Respir Med*. 2012 Jun;106(6):794–801.

13. Michils A, Louis R, Peché R, Baldassarre S, Van Muylem A. Exhaled nitric oxide as a marker of asthma control in smoking patients. *Eur Respir J*. 2009 Jun;33(6):1295–301.
14. Karrasch S, Ernst K, Behr J, Heinrich J, Huber RM, Nowak D, et al. Exhaled nitric oxide and influencing factors in a random population sample. *Respir Med*. 2011 May;105(5):713–8.
15. McSharry CP, McKay IC, Chaudhuri R, Livingston E, Fraser I, Thomson NC. Short and long-term effects of cigarette smoking independently influence exhaled nitric oxide concentration in asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2005 Jul;116(1):88–93.
16. Sunyer J, Springer G, Jamieson B, Conover C, Detels R, Rinaldo C, et al. Effects of asthma on cell components in peripheral blood among smokers and non-smokers. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. 2003 Nov;33(11):1500–5.
17. Sørensen LT, Toft BG, Rygaard J, Ladelund S, Paddon M, James T, et al. Effect of smoking, smoking cessation, and nicotine patch on wound dimension, vitamin C, and systemic markers of collagen metabolism. *Surgery*. 2010 Nov;148(5):982–90.
18. Freedman DS, Flanders WD, Barboriak JJ, Malarcher AM, Gates L. Cigarette smoking and leukocyte subpopulations in men. *Ann Epidemiol*. 1996 Jul;6(4):299–306.
19. Schwartz J, Weiss ST. Cigarette smoking and peripheral blood leukocyte differentials. *Ann Epidemiol*. 1994 May;4(3):236–42.
20. Campesi I, Carru C, Zinellu A, Occhioni S, Sanna M, Palermo M, et al. Regular cigarette smoking influences the transsulfuration pathway, endothelial function, and inflammation biomarkers in a sex-gender specific manner in healthy young humans. *Am J Transl Res*. 2013;5(5):497–509.
21. Hou L, Lloyd-Jones DM, Ning H, Huffman MD, Fornage M, He K, et al. White blood cell count in young adulthood and coronary artery calcification in early middle age: coronary artery risk development in young adults (CARDIA) study. *Eur J Epidemiol*. 2013 Sep;28(9):735–42.
22. Telenga ED, Kerstjens HAM, Ten Hacken NHT, Postma DS, van den Berge M. Inflammation and corticosteroid responsiveness in ex-, current- and never-smoking asthmatics. *BMC Pulm Med*. 2013;13:58.
23. Thomson NC, Chaudhuri R, Heaney LG, Bucknall C, Niven RM, Brightling CE, et al. Clinical outcomes and inflammatory biomarkers in current smokers and exsmokers with severe asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2013 Apr;131(4):1008–16.
24. James AL, Palmer LJ, Kicic E, Maxwell PS, Lagan SE, Ryan GF, et al. Decline in lung function in the Busselton Health Study: the effects of asthma and cigarette smoking. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005 Jan 15;171(2):109–14.
25. Siroux V, Pin I, Oryszczyn MP, Le Moual N, Kauffmann F. Relationships of active smoking to asthma and asthma severity in the EGEA study. Epidemiological study on the Genetics and Environment of Asthma. *Eur Respir J*. 2000 Mar;15(3):470–7.

26. Alving K, Janson C, Nordvall L. Performance of a new hand-held device for exhaled nitric oxide measurement in adults and children. *Respir Res.* 2006;7:67.
27. Khalili B, Boggs PB, Bahna SL. Reliability of a new hand-held device for the measurement of exhaled nitric oxide. *Allergy.* 2007 Oct;62(10):1171–4.
28. McGill C, Malik G, Turner SW. Validation of a hand-held exhaled nitric oxide analyzer for use in children. *Pediatr Pulmonol.* 2006 Nov;41(11):1053–7.
29. Menzies D, Nair A, Lipworth BJ. Portable exhaled nitric oxide measurement: Comparison with the “gold standard” technique. *Chest.* 2007 Feb;131(2):410–4.
30. American Thoracic Society, European Respiratory Society. ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide, 2005. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005 Apr 15;171(8):912–30.
31. Olin AC, Aldenbratt A, Ekman A, Ljungkvist G, Jungersten L, Alving K, et al. Increased nitric oxide in exhaled air after intake of a nitrate-rich meal. *Respir Med.* 2001 Feb;95(2):153–8.
32. Vints A-M, Oostveen E, Eeckhaut G, Smolders M, De Backer WA. Time-dependent effect of nitrate-rich meals on exhaled nitric oxide in healthy subjects. *Chest.* 2005 Oct 1;128(4):2465–70.
33. Silkoff PE, Wakita S, Chatkin J, Ansarin K, Gutierrez C, Caramori M, et al. Exhaled nitric oxide after beta2-agonist inhalation and spirometry in asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999 Mar;159(3):940–4.
34. Deykin A, Halpern O, Massaro AF, Drazen JM, Israel E. Exhaled nitric oxide after bronchoprovocation and repeated spirometry in patients with asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998 Mar;157(3 Pt 1):769–75.
35. Brody DJ, Zhang X, Kit BK, Dillon CF. Reference values and factors associated with exhaled nitric oxide: U.S. youth and adults. *Respir Med.* 2013 Nov;107(11):1682–91.
36. See KC, Christiani DC. Normal values and thresholds for the clinical interpretation of exhaled nitric oxide levels in the US general population: results from the National Health and Nutrition Examination Survey 2007-2010. *Chest.* 2013 Jan;143(1):107–16.
37. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, et al. Standardisation of spirometry. *Eur Respir J.* 2005 Aug;26(2):319–38.
38. Giovannelli J, Dallongeville J, Wagner A, Bongard V, Laillet B, Marecaux N, et al. Validation of a short, qualitative food frequency questionnaire in French adults participating in the MONA LISA-NUT study 2005-2007. *J Acad Nutr Diet.* 2014 Apr;114(4):552–61.
39. Bland JM, Altman DG. Measurement error. *BMJ.* 1996 Jun 29;312(7047):1654.

40. Olin A-C, Bake B, Torén K. Fraction of exhaled nitric oxide at 50 mL/s: reference values for adult lifelong never-smokers. *Chest*. 2007 Jun;131(6):1852–6.
41. Matsunaga K, Hirano T, Kawayama T, Tsuburai T, Nagase H, Aizawa H, et al. Reference ranges for exhaled nitric oxide fraction in healthy Japanese adult population. *Allergol Int Off J Jpn Soc Allergol*. 2010 Dec;59(4):363–7.
42. Travers J, Marsh S, Aldington S, Williams M, Shirtcliffe P, Pritchard A, et al. Reference ranges for exhaled nitric oxide derived from a random community survey of adults. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007 Aug 1;176(3):238–42.
43. Franklin PJ, Turner SW, Le Souëf PN, Stick SM. Exhaled nitric oxide and asthma: complex interactions between atopy, airway responsiveness, and symptoms in a community population of children. *Thorax*. 2003 Dec;58(12):1048–52.
44. Olin A-C, Rosengren A, Thelle DS, Lissner L, Bake B, Torén K. Height, age, and atopy are associated with fraction of exhaled nitric oxide in a large adult general population sample. *Chest*. 2006 Nov;130(5):1319–25.
45. Robbins RA, Millatmal T, Lassi K, Rennard S, Daughton D. Smoking cessation is associated with an increase in exhaled nitric oxide. *Chest*. 1997 Aug;112(2):313–8.
46. Högman M, Holmkvist T, Wålinder R, Meriläinen P, Lúdvíksdóttir D, Håkansson L, et al. Increased nitric oxide elimination from the airways after smoking cessation. *Clin Sci Lond Engl 1979*. 2002 Jul;103(1):15–9.
47. Buga GM, Griscavage JM, Rogers NE, Ignarro LJ. Negative feedback regulation of endothelial cell function by nitric oxide. *Circ Res*. 1993 Nov;73(5):808–12.
48. Schilling J, Holzer P, Guggenbach M, Gyurech D, Marathia K, Geroulanos S. Reduced endogenous nitric oxide in the exhaled air of smokers and hypertensives. *Eur Respir J*. 1994 Mar;7(3):467–71.
49. Marteus H, Mavropoulos A, Palm JP, Ulfgren A-K, Bergström J, Alving K. Nitric oxide formation in the oropharyngeal tract: possible influence of cigarette smoking. *Nitric Oxide Biol Chem Off J Nitric Oxide Soc*. 2004 Nov;11(3):247–55.
50. Olivieri M, Talamini G, Corradi M, Perbellini L, Mutti A, Tantucci C, et al. Reference values for exhaled nitric oxide (reveno) study. *Respir Res*. 2006;7:94.
51. Taylor RG, Gross E, Joyce H, Holland F, Pride NB. Smoking, allergy, and the differential white blood cell count. *Thorax*. 1985 Jan;40(1):17–22.
52. Burrows B, Halonen M, Lebowitz MD, Knudson RJ, Barbee RA. The relationship of serum immunoglobulin E, allergy skin tests, and smoking to respiratory disorders. *J Allergy Clin Immunol*. 1982 Sep;70(3):199–204.
53. Payne DN, Adcock IM, Wilson NM, Oates T, Scallan M, Bush A. Relationship between exhaled nitric oxide and mucosal eosinophilic inflammation in children with difficult asthma, after treatment with oral prednisolone. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001 Oct 15;164(8 Pt 1):1376–81.

54. Jatakanon A, Lim S, Kharitonov SA, Chung KF, Barnes PJ. Correlation between exhaled nitric oxide, sputum eosinophils, and methacholine responsiveness in patients with mild asthma. *Thorax*. 1998 Feb;53(2):91–5.
55. Silvestri M, Spallarossa D, Frangova Yourukova V, Battistini E, Fregonese B, Rossi GA. Orally exhaled nitric oxide levels are related to the degree of blood eosinophilia in atopic children with mild-intermittent asthma. *Eur Respir J*. 1999 Feb;13(2):321–6.
56. Chalmers GW, MacLeod KJ, Thomson L, Little SA, McSharry C, Thomson NC. Smoking and airway inflammation in patients with mild asthma. *Chest*. 2001 Dec;120(6):1917–22.
57. Boulet L-P, Lemièrre C, Archambault F, Carrier G, Descary MC, Deschesnes F. Smoking and asthma: clinical and radiologic features, lung function, and airway inflammation. *Chest*. 2006 Mar;129(3):661–8.
58. Broekema M, ten Hacken NHT, Volbeda F, Lodewijk ME, Hylkema MN, Postma DS, et al. Airway epithelial changes in smokers but not in ex-smokers with asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009 Dec 15;180(12):1170–8.
59. Spears M, McSharry C, Chaudhuri R, Weir CJ, de Wet C, Thomson NC. Smoking in asthma is associated with elevated levels of corticosteroid resistant sputum cytokines-an exploratory study. *PloS One*. 2013;8(8):e71460.
60. Bergeron C, Boulet L-P, Page N, Laviolette M, Zimmermann N, Rothenberg ME, et al. Influence of cigarette smoke on the arginine pathway in asthmatic airways: increased expression of arginase I. *J Allergy Clin Immunol*. 2007 Feb;119(2):391–7.
61. Bruce CT, Zhao D, Yates DH, Thomas PS. L-arginine reverses cigarette-induced reduction of fractional exhaled nitric oxide in asthmatic smokers. *Inflammopharmacology*. 2010 Feb;18(1):9–16.

Tables

Table 1. Characteristics of the study population (overall and as a function of smoking status).

Variable	Overall population (n=1579)	Smoking status			p ^(a)
		Never smokers (n=812)	Former smokers (n=473)	Current smokers (n=294)	
Age (years), mean (SD)	53.3 (7.3)	53.6 (7.3)	54.5 (7.1)	50.6 (6.9)	<10 ⁻⁹
Gender, n (%) males	765 (48.5)	277 (34.1)	319 (67.4)	169 (57.5)	<10 ⁻⁹
Height (cm), mean (SD)	169.2 (9.5)	167.3 (9.4)	171.6 (8.9)	170.6 (9.6)	<10 ⁻⁹
Body mass index (kg/m ²), mean (SD)	27.6 (5.4)	27.2 (5.5)	28.6 (5)	26.8 (5.4)	<10 ⁻³
Healthy participants, n (%)	569 (36.9)	327 (41.6)	160 (34.5)	82 (28.2)	<10 ⁻³
Current asthma, n (%)	111 (7.3)	50 (6.4)	43 (9.4)	18 (6.3)	0.122
Current allergic asthma, n (%)	80 (5.1)	39 (4.8)	27 (5.7)	14 (4.8)	0.754
Current nonallergic asthma, n (%)	31 (2.0)	11 (1.4)	16 (3.4)	4 (1.4)	0.041
Wheezing in the previous 12 months, n (%)	252 (16)	86 (10.6)	81 (17.1)	85 (28.9)	<10 ⁻⁹
Adrenergic inhalants, n (%)	58 (3.7)	21 (2.6)	26 (5.5)	11 (3.7)	0.030
Glucocorticoid inhalants, n (%)	18 (1.1)	11 (1.4)	7 (1.5)	0 (0)	0.074
Atopy, n (%)	490 (32)	259 (32.9)	147 (32.2)	84 (29.4)	0.551
Previous positive prick test, n (%)	262 (17.3)	146 (18.8)	78 (17.2)	38 (13.2)	0.105
Previous allergen desensitization therapy, n (%)	128 (8.1)	66 (8.1)	41 (8.7)	21 (7.1)	0.775
Allergic rhinitis or hay fever in the previous 12 months, n (%)	335 (21.4)	178 (22.1)	100 (21.4)	57 (19.7)	0.705
Airflow obstruction, n (%)	234 (15.2)	90 (11.3)	84 (18.1)	60 (20.9)	<10 ⁻³
FEV1 (% predicted), mean (SD)	1.04 (0.18)	1.06 (0.18)	1.02 (0.19)	0.99 (0.17)	<10 ⁻⁶
FVC (% predicted), mean (SD)	1.13 (0.20)	1.15 (0.22)	1.10 (0.18)	1.10 (0.16)	<10 ⁻³
Respiratory infection in the previous 4 weeks, n (%)	156 (9.9)	69 (8.5)	43 (9.1)	44 (15)	0.007
Usual dietary intake of vegetables (frequency/day), mean (SD)	1.84 (1.07)	1.88 (1.03)	1.92 (1.04)	1.62 (1.19)	<10 ⁻³
Usual dietary intake of fruits (frequency/day), mean (SD)	1.64 (1.17)	1.76 (1.12)	1.61 (1.17)	1.36 (1.26)	<10 ⁻³
FENO (ppb), geometric mean [95%CI]	14.7 [14.3; 15.2]	16.3 [15.6; 16.9]	15.5 [14.7; 16.3]	10.4 [9.7; 11.3]	<10 ⁻⁹
NO in ambient air (ppb), geometric mean [95%CI]	8.2 [7.8; 8.6]	8.3 [7.7; 8.9]	8.2 [7.5; 9.0]	8.0 [7.1; 9.0]	0.891
Blood eosinophil count (cells/mm ³), geometric mean [95%CI]	163 [158; 168]	149 [143; 155]	168 [159; 178]	200 [187; 214]	<10 ⁻⁹

n: number; SD: standard deviation; FEV1: forced expiratory volume in 1 second; FVC: forced vital capacity; FENO: fractional exhaled nitric oxide; ppb: parts per billion; NO: nitric oxide; CI: confidence interval.

^(a) In a one-way analysis of variance for quantitative variables and Fisher's exact test for qualitative variables.

Table 2. Characteristics of participants with FENO values below and above the 95% reference value, as a function of smoking status.

Variable	Never smokers (n=812)			Former smokers (n=473)			Current smokers (n=294)		
	FENO <34	FENO ≥34	<i>p</i> ^(a)	FENO <32	FENO ≥32	<i>p</i> ^(a)	FENO <25	FENO ≥25	<i>p</i> ^(a)
	ppb (n=734)	ppb (n=78)		ppb (n=427)	ppb (n=46)		ppb (n=271)	ppb (n=23)	
Current asthma, n (%)	32 (4.5)	18 (23.1)	<10 ⁻⁶	34 (8.3)	9 (20)	0.026	16 (6.1)	2 (8.7)	0.647
Current allergic asthma, n (%)	22 (3)	17 (21.8)	<10 ⁻⁶	18 (4.2)	9 (19.6)	<10 ⁻³	13 (4.8)	1 (4.4)	1
Current nonallergic asthma, n (%)	10 (1.4)	1 (1.3)	1	16 (3.8)	0 (0)	0.386	3 (1.1)	1 (4.4)	0.282
Wheezing in the previous 12 months, n (%)	61 (8.3)	25 (32.1)	<10 ⁻⁶	69 (16.2)	12 (26.1)	0.1	80 (29.5)	5 (21.7)	0.632
Adrenergic inhalants, n (%)	13 (1.8)	8 (10.3)	<10 ⁻³	19 (4.5)	7 (15.2)	0.008	10 (3.7)	1 (4.4)	0.598
Glucocorticoid inhalants, n (%)	10 (1.4)	1 (1.3)	1	6 (1.4)	1 (2.2)	0.514	0 (0)	0 (0)	1
Atopy, n (%)	213 (30)	46 (59)	<10 ⁻⁶	124 (30.1)	23 (51.1)	0.006	79 (30)	5 (21.7)	0.481
Previous positive prick test, n (%)	114 (16.2)	32 (43.8)	<10 ⁻⁶	58 (14.2)	20 (44.4)	<10 ⁻³	37 (14)	1 (4.4)	0.332
Previous allergen desensitization therapy, n (%)	50 (6.8)	16 (20.5)	<10 ⁻³	31 (7.3)	10 (21.7)	0.003	20 (7.4)	1 (4.4)	1
Allergic rhinitis or hay fever in the previous 12 months, n (%)	144 (19.8)	34 (43.6)	<10 ⁻⁶	86 (20.4)	14 (31.1)	0.124	52 (19.5)	5 (21.7)	0.786
Airflow obstruction, n (%)	76 (10.6)	14 (18.4)	0.055	69 (16.6)	15 (32.6)	0.014	56 (21.2)	4 (17.4)	0.794
FEV1 (% predicted), mean (SD)	1.07 (0.16)	1.02 (0.32)	0.031	1.03 (0.19)	0.99 (0.18)	0.142	0.99 (0.17)	1 (0.14)	0.89
FVC (% predicted), mean (SD)	1.15 (0.17)	1.14 (0.49)	0.611	1.1 (0.18)	1.08 (0.16)	0.316	1.1 (0.17)	1.06 (0.14)	0.205
Respiratory infection in the previous 4 weeks, n (%)	57 (7.8)	12 (15.4)	0.031	37 (8.7)	6 (13)	0.291	37 (13.7)	7 (30.4)	0.06
Eosinophil count (cells/mm ³), geometric mean [95%CI]	143 [137; 149]	218 [187; 255]	<10 ⁻⁶	162 [153; 171]	243 [205; 289]	<10 ⁻³	197 [184; 212]	229 [182; 288]	0.249

FENO: fractional exhaled nitric oxide; n: number; SD: standard deviation; FEV1: forced expiratory volume in 1 second; FVC: forced vital capacity; CI: confidence interval.

^(a) In Student's test for quantitative variables and Fisher's exact test for qualitative variables.

Table 3. Characteristics of participants with a blood eosinophil count below and above the threshold of 300 cells/mm³, as a function of smoking status.

Variable	Never smokers (n=767)			Former smokers (n=449)			Current smokers (n=280)		
	B-eos <300	B-eos ≥300	<i>p</i> ^(a)	B-eos <300	B-eos ≥300	<i>p</i> ^(a)	B-eos <300	B-eos ≥300	<i>p</i> ^(a)
	cells/mm ³	cells/mm ³		cells/mm ³	cells/mm ³		cells/mm ³	cells/mm ³	
	(n=671)	(n=96)		(n=365)	(n=84)		(n=213)	(n=67)	
Current asthma, n (%)	30 (4.6)	17 (18.1)	<10 ⁻³	26 (7.4)	15 (18.1)	0.006	16 (7.7)	2 (3.2)	0.382
Current allergic asthma, n (%)	22 (3.3)	16 (16.7)	<10 ⁻³	16 (4.4)	10 (11.9)	0.016	12 (5.6)	2 (3)	0.531
Current nonallergic asthma, n (%)	8 (1.2)	1 (1.1)	1	10 (2.8)	5 (6)	0.172	4 (1.9)	0 (0)	0.576
Wheezing in the previous 12 months, n (%)	51 (7.6)	24 (25)	<10 ⁻³	52 (14.3)	25 (29.8)	0.001	67 (31.5)	16 (23.9)	0.284
Adrenergic inhalants, n (%)	9 (1.3)	12 (12.5)	<10 ⁻⁶	15 (4.1)	11 (13.1)	0.004	9 (4.2)	2 (3)	1
Glucocorticoid inhalants, n (%)	8 (1.2)	2 (2.1)	0.362	5 (1.4)	2 (2.4)	0.62	0 (0)	0 (0)	1
Atopy, n (%)	203 (31.3)	39 (41.1)	0.062	114 (32.4)	28 (33.7)	0.796	64 (30.6)	18 (28.6)	0.876
Previous positive prick test, n (%)	108 (16.8)	27 (29)	0.006	62 (17.7)	14 (17.3)	1	26 (12.4)	12 (18.5)	0.223
Previous allergen desensitization therapy, n (%)	48 (7.2)	13 (13.5)	0.042	33 (9)	5 (6)	0.514	17 (8)	4 (6)	0.791
Allergic rhinitis or hay fever in the previous 12 months, n (%)	140 (21)	26 (27.1)	0.187	75 (20.8)	22 (26.5)	0.302	44 (20.9)	11 (16.9)	0.595
Airflow obstruction, n (%)	70 (10.7)	18 (19)	0.026	62 (17.2)	20 (25)	0.114	45 (21.6)	13 (20)	0.863
FEV1 (% predicted), mean (SD)	1.07 (0.15)	0.99 (0.19)	<10 ⁻⁶	1.03 (0.19)	1.01 (0.17)	0.253	0.98 (0.16)	1.02 (0.16)	0.105
FVC (% predicted), mean (SD)	1.16 (0.16)	1.1 (0.19)	<10 ⁻³	1.11 (0.18)	1.09 (0.16)	0.342	1.1 (0.16)	1.12 (0.15)	0.321
Respiratory infection in the previous 4 weeks, n (%)	56 (8.4)	12 (12.5)	0.181	31 (8.5)	11 (13.1)	0.114	35 (16.5)	9 (13.4)	0.595
FENO (ppb), geometric mean [95%CI]	15.5 [14.9; 16.1]	23.2 [20.3 26.4]	<10 ⁻⁹	14.7 [13.9; 15.6]	20.0 [17.3; 23.0]	<10 ⁻³	10.3 [9.5; 11.2]	11.2 [9.7; 13.0]	0.319

n: number; SD: standard deviation; FEV1: forced expiratory volume in 1 second; FVC: forced vital capacity; CI: confidence interval; FENO: fractional exhaled nitric oxide; ppb: parts per billion; B-eos: blood eosinophil count.

^(a) In Student's test for quantitative variables and Fisher's exact test for qualitative variables.

Table 4. Factors associated with FENO, as a function of smoking status.

Variable	Overall population			Never or former smokers		Current smokers	
	Percentage increase in FENO values [95% CI] ^(a)	<i>p</i>	<i>p</i> value for interaction with current smoking ^(b)	Percentage increase in FENO values [95% CI] ^(a)	<i>p</i>	Percentage increase in FENO values [95% CI] ^(a)	<i>p</i>
Current smoking	-35 [-39.7; -29.8]	<10 ⁻⁹	-	-	-	-	-
Age (per 5-year increment)	1.3 [-0.8; 3.5]	0.234	0.322	1.7 [-0.6; 4]	0.145	-2.2 [-7.4; 3.4]	0.432
Female gender	-12.5 [-19.1; -5.2]	0.001	0.360	-10.4 [-17.9; -2.3]	0.013	-20.8 [-34.4; -4.3]	0.016
Height (per 10 cm increment)	7.7 [3.3; 12.3]	<10 ⁻³	0.386	7.9 [3.1; 13]	0.001	6.5 [-3.1; 17.1]	0.190
Body mass index (per 1 kg/m ² increment)	0.5 [0; 1.1]	0.059	0.036	0.8 [0.2; 1.5]	0.008	-1 [-2.3; 0.4]	0.162
Current allergic asthma	51.3 [30.3; 75.5]	<10 ⁻⁶	0.003	63.4 [39; 92]	<10 ⁻⁶	2.4 [-29.7; 49.1]	0.901
Current nonallergic asthma	-3.1 [-22.3; 21]	0.782	0.113	-8.6 [-27.9; 16]	0.461	50.6 [-17.8; 176]	0.184
Glucocorticoid inhalants	-24.3 [-44.3; 3]	0.076	-	-26.3 [-45.8; 0.3]	0.052	-	-
Atopy	15.5 [8.2; 23.3]	<10 ⁻³	0.011	18 [9.9; 26.7]	<10 ⁻³	4 [-11.5; 22.2]	0.635
Airflow obstruction	1.7 [-6.5; 10.5]	0.701	0.392	2.4 [-6.8; 12.6]	0.620	-6.4 [-21.6; 11.7]	0.461
Respiratory infection in the previous 4 weeks	14.9 [4.4; 26.5]	0.004	0.136	8.8 [-2.5; 21.6]	0.132	22.9 [0.5; 50.2]	0.045
Usual dietary intake of vegetable (for a 1 per day increment)	0.9 [-1.9; 3.7]	0.531	0.866	1 [-2.1; 4.2]	0.519	2.3 [-3.8; 8.8]	0.469
Usual dietary intake of fruit (for a 1 per day increment)	3.6 [1; 6.2]	0.006	0.087	2.3 [-0.6; 5.2]	0.115	7.9 [1.9; 14.2]	0.009
NO in ambient air (per 10 ppb increment)	1 [0; 1.9]	0.044	0.282	1.2 [0.2; 2.2]	0.020	-0.5 [-3; 2.1]	0.702

FENO: fractional exhaled nitric oxide; NO: nitric oxide; ppb: parts per billion; CI: confidence interval.

^(a) Performed using a multiple linear regression model. Results are expressed as the percentage increase in FENO values per unit change in the explanatory variable

^(b) Interaction terms between smoking status (current smoking: yes/no) and the other explanatory variables were tested one at a time in the multiple linear regression model.

Table 5. Factors associated with the blood eosinophil count, as a function of smoking status.

Variable	Overall population			Never or former smokers		Current smokers	
	Percentage increase in B-eos values [95% CI] ^(a)	<i>p</i>	<i>p</i> value for interaction with current smoking ^(b)	Percentage increase in B-eos values [95% CI] ^(a)	<i>p</i>	Percentage increase in B-eos values [95% CI] ^(a)	<i>p</i>
Current smoking	25.3 [15.7; 35.7]	<10 ⁻⁹	-	-	-	-	-
Age (per 5-year increment)	1.1 [-1.2; 3.3]	0.355	0.244	1.5 [-0.9; 3.9]	0.234	-1.8 [-7; 3.7]	0.513
Female gender	-14.1 [-21.1; -6.5]	<10 ⁻³	0.979	-11.7 [-19.5; -3]	0.009	-21.4 [-35.4; -4.3]	0.017
Height (per 10 cm increment)	0.1 [-0.4; 0.6]	0.649	0.576	0.3 [-0.2; 0.8]	0.311	-0.5 [-1.5; 0.6]	0.367
Body mass index (per 1 kg/m ² increment)	1.4 [0.8; 2]	<10 ⁻³	0.010	1.8 [1.1; 2.5]	<10 ⁻⁶	-0.2 [-1.5; 1.2]	0.811
Current allergic asthma	47.7 [27.1; 71.6]	<10 ⁻⁶	0.001	63.2 [38.2; 92.7]	<10 ⁻⁶	-2.9 [-31.1; 36.9]	0.868
Current nonallergic asthma	-9.1 [-28.3; 15.2]	0.429	0.224	-0.6 [-23.2; 28.6]	0.962	-32.2 [-63; 24.2]	0.208
Glucocorticoid inhalants	7.9 [-22.3; 49.9]	0.648	-	-2 [-29.7; 36.6]	0.903	-	-
Atopy	4.9 [-2.1; 12.4]	0.176	0.017	7.2 [-0.7; 15.7]	0.074	-5.8 [-20; 10.9]	0.468
Airflow obstruction	2.7 [-5.9; 12]	0.555	0.124	4.5 [-5.3; 15.4]	0.382	-5.8 [-21.3; 12.7]	0.511
Respiratory infection in the previous 4 weeks	15.3 [4.3; 27.5]	0.005	0.822	13 [0.5; 27]	0.041	22.2 [0.3; 49]	0.047

B-eos: blood eosinophil count; CI: confidence interval.

^(a) Performed using a multiple linear regression model. Results are expressed as the percentage increase in blood eosinophil count values per unit change in the explanatory variable.

^(b) Interactions between smoking status (current smoking: yes/no) and the other explanatory variables were tested one at a time in the multiple linear regression model.

Table 6. The ability of FENO and blood eosinophil count to discriminate between participants with current allergic asthma and other participants.

Population	FENO (ppb)						Blood eosinophil count (cells/mm ³)					
	AUC [95% CI]	Optimal					AUC (95% CI)	Optimal				
		threshold (a)	Se	Sp	PPV	NPV		threshold (a)	Se	Sp	PPV	NPV
Overall population	0.66 [0.59; 0.73]	19	0.59	0.69	0.09	0.97	0.70 [0.63; 0.75]	220	0.64	0.70	0.11	0.97
Never smokers	0.75 [0.64; 0.82]	19.5	0.74	0.67	0.10	0.98	0.76 [0.67; 0.84]	230	0.68	0.79	0.14	0.98
Former smokers	0.71 [0.59; 0.81]	21	0.59	0.75	0.13	0.97	0.73 [0.62; 0.80]	220	0.69	0.68	0.12	0.97
Current smokers	0.41 [0.26; 0.60]	13	0.29	0.66	0.04	0.95	0.44 [0.29; 0.60]	225	0.43	0.57	0.05	0.95

FENO: fraction of exhaled nitric oxide; ppb: parts per billion; AUC: area under the curve; CI: confidence interval; Se: sensitivity; Sp: specificity; PPV: positive predictive value; NPV: negative predictive value

^(a) The threshold maximizing sensitivity and specificity

5 Quatrième étude – Inflammation systémique de bas grade : un médiateur partiel de la relation entre diabète et fonction pulmonaire

5.1 Contexte et motivation de l'étude

La BPCO est associée à un risque cardiovasculaire accru (Finkelstein et al. 2009). Cette association s'explique partiellement par des facteurs de risque communs aux deux pathologies, comme l'âge, le tabagisme, le manque d'activité physique ou l'obésité. Mais ces facteurs n'expliquent pas à eux seuls l'ensemble de l'association. L'inflammation systémique pourrait aussi faire le lien entre les deux pathologies. L'inflammation des voies aériennes lors de la BPCO induirait une inflammation systémique (Fabbri & Rabe 2007). Par ailleurs, une inflammation systémique est retrouvée associée à la fonction pulmonaire même chez des sujets indemnes de BPCO (Aronson et al. 2006). Par ailleurs, cette inflammation est elle-même associée à une augmentation du risque cardiovasculaire (Willerson & Ridker 2004). Enfin, la BPCO est associée à une augmentation de la prévalence des facteurs de risque cardiovasculaire (hypertension artérielle, diabète) (Mannino et al. 2006; Ford & Mannino 2004).

Un des objectifs généraux de l'enquête ELISABET est d'étudier les associations entre santé respiratoire et cardiovasculaire, et plus particulièrement le rôle de l'inflammation dans ces associations. Cet objectif général se décline en plusieurs objectifs opérationnels, dont étudier (i) la relation entre facteurs de risque cardiovasculaire et inflammation systémique et locale, (ii) l'association entre fonction pulmonaire et facteurs de risque cardiovasculaire, (iii) si les associations avec l'inflammation locale et/ou systémique expliquent l'association entre fonction pulmonaire et risque cardiovasculaire

Ainsi, nous avons mené un premier travail sur l'association entre diabète et fonction respiratoire, en nous focalisant sur l'étude du rôle de médiateur de l'inflammation systémique de bas grade mesurée par la CRP ultra-sensible.

Concernant ma participation à la réalisation de cette étude, j'ai encadré Philippe Trouiller, interne de santé publique en première année, et dirigé sa thèse de Médecine sur ce sujet

(pas encore soutenue). Ma contribution aux différentes étapes de la réalisation de ce travail était : la définition des objectifs scientifiques et des méthodes, la coréalisation des analyses statistiques et la rédaction de l'article scientifique, pour lequel nous sommes co-premiers auteurs.

5.2 Résumé en français

Objectif. Les données de la littérature suggèrent que la fonction pulmonaire est dégradée par le diabète. Nous avons évalué dans cette étude si l'inflammation systémique de bas grade (mesurée par le taux de protéine C-réactive ultrasensible, CRP_{us}) médie la relation entre le diabète et la fonction pulmonaire.

Méthodes. Un échantillon de 1878 adultes d'âge moyen, issus l'enquête transversale ELISABET, sans pathologie pulmonaire ou athérosclérotique auto-déclarée a été inclus dans l'analyse. Le diabète était défini par la prise d'un traitement antidiabétique ou une glycémie à jeun $\geq 1,26$ g/L ou un taux d'hémoglobine A1c $\geq 6,5$ %. Une analyse de médiation a été effectuée afin d'évaluer et de quantifier le rôle de la CRP_{us} en tant que médiateur de la relation entre le diabète et la fonction pulmonaire. Toutes les associations ont été étudiées à l'aide de modèles de régression linéaire multiple, en ajustant sur les variables sociodémographiques, l'indice de masse corporelle, la consommation de tabac et d'alcool, et les principaux facteurs de risque cardiovasculaire.

Résultats. Le diabète était associé à un niveau plus élevé de CRP_{us} (+22,9 %, intervalle de confiance à 95 % = [5,1; 43,6]). Le taux de CRP_{us} (> 4 vs ≤ 1 mg/L) était associé à un plus faible pourcentage de valeurs prédites du volume expiratoire maximal dans la première seconde (VEMS) (-4 % [-6,1; -1,9]) et de la capacité vitale forcée (CVF) (-4,4 % [-6,5; -2,3]) (en ajustant sur le diabète). Le diabète était associé au VEMS (-3,5 % [-5,8; -1,3]) et à la CVF (-3,6 % [-5,9; -1,3]). La force de ces deux associations diminuait à -3,1 % [-5,4; -0,9] après ajustement sur la CRP_{us}. Par conséquent, la proportion de l'effet médié par la CRP_{us} était de 12 % [2,4; 37] et 13 % [3,7; 39,4] pour le VEMS et la CVF, respectivement.

Conclusions. Nos résultats suggèrent que l'inflammation systémique de bas grade est un médiateur partiel de la relation entre le diabète et la fonction pulmonaire.

Mots-clés : inflammation, protéine C-réactive, fonction pulmonaire, complication, analyse de médiation

5.3 Article

Low-grade systemic inflammation: a partial mediator of the relationship between diabetes and lung function

Condensed title: "Inflammation, diabetes and lung function"

Authors:

Jonathan Giovannelli, MD ^{1,2,3 *},[†]

jonathan.giovannelli@gmail.com

Philippe Trouiller ^{1,2,*}

philippe.trouiller@gmail.com

Sébastien Hulo, MD, PhD ^{1,2}

sebastien.hulo@chru-lille.fr

Natalie Chérot-Kornobis, MD, PhD ^{1,2}

nathalie.cherot@univ-lille2.fr

Alina Ciuchete, MD ³

alina.ciuchete@gmail.com

Jean-Louis Edmé, MD, PhD ^{1,2}

jledme@univ-lille2.fr

Régis Matran, MD, PhD ^{1,2}

regis.matran@univ-lille2.fr

Philippe Amouyel, MD, PhD ^{1,2,3}

philippe.amouyel@pasteur-lille.fr

Aline Meirhaeghe, PhD ³

aline.meirhaeghe@pasteur-lille.fr

Luc Dauchet, MD, PhD ^{1,2,3}

luc.dauchet@pasteur-lille.fr

¹ University of Lille; Faculté de Médecine Henri Warembourg F-59045 Lille Cedex, France

² Lille University Hospital; 2 Avenue Oscar Lambret, F-59000 Lille, France

³ INSERM U1167, Pasteur Institute of Lille, Lille University; 1 Rue du Professeur Calmette, F-59019 Lille, France

* **Co-first authors:** JG (as a PhD student) and PT (as a MD student) contributed equally to this work.

[†] **Corresponding author:** Jonathan Giovannelli, Epidemiology Unit, Lille University Hospital, 2 rue du Pr Laguesse, F-59037 Lille Cedex, France. Tel.: +33 320 445 518, fax: +33 320 446 945, email: jonathan.giovannelli@gmail.com

Word count for the abstract: 250/250

Word count for the manuscript: 3913/4000

Number of references: 38/40

Number of tables/figures: 3/1

Number of supplemental tables/figures: 0/1

Abstract

Objective. It has been suggested that diabetes reduces lung function. We evaluated whether low-grade systemic inflammation (as measured by the level of high sensitivity-C-reactive protein, hs-CRP) mediated the relationship between diabetes and lung function.

Methods. A sample of 1878 middle-aged adults from the cross-sectional ELISABET survey without self-reported pulmonary and atherosclerotic disease was included. Diabetes mellitus was defined as ongoing diabetes treatment or a fasting blood glucose level ≥ 1.26 g/L or a hemoglobin A1c value $\geq 6.5\%$. A mediation analysis was performed to assess and quantify the hs-CRP level as a mediator of the relationship between diabetes and lung function. All associations were studied using multiple linear regression models, controlling for sociodemographic variables, body mass index, tobacco and alcohol consumption, and the main cardiovascular risk factors.

Results. Diabetes was associated with higher hs-CRP level (+22.9%, 95% confidence interval=[5.1; 43.6]). Hs-CRP (>4 vs. ≤ 1 mg/L) was associated with lower percentage predicted values for the forced expiratory volume in the first second (FEV1) (-4% [-6.1; -1.9]) and the forced vital capacity (FVC) (-4.4% [-6.5; -2.3]) (controlling for diabetes). Diabetes was associated with FEV1 (-3.5% [-5.8; -1.3]) and FVC (-3.6% [-5.9; -1.3]). Strength of both latter associations fell to -3.1% [-5.4; -0.9] after adjustment for hs-CRP. Hence, the proportion of the effect that is mediated by hs-CRP was 12% [2.4; 37] and 13% [3.7; 39.4] for FEV1 and FVC, respectively.

Conclusions. Our results suggest that low-grade systemic inflammation is a partial mediator of the relationship between diabetes and lung function.

Key-words: inflammation, C-Reactive Protein, lung function, complication, mediation analysis

Introduction

Diabetes affects many organs, including the kidneys, retina, nerves and cardiovascular system (1). More recently, it has been suggested that lung function is degraded by this chronic disease (2). In a meta-analysis performed in 2010, diabetes was found to be associated with a modest impairment of lung function in a restrictive pattern (3). The mean difference [95% CI] between patients with diabetes and control subjects for the percentage (%) predicted values of the forced expiratory volume in the first second (FEV1) and the forced vital capacity (FVC) was -5.1% [-6.4; -3.7] and -6.3% [-8.0; -4.7], respectively. However, there was no difference in the FEV1/FVC ratio (3).

Several potential pathophysiological mechanisms might explain this association: microangiopathy of the alveolar capillaries and pulmonary arterioles, chronic inflammation, autonomic neuropathy involving the respiratory muscles, loss of elastic recoil secondary to collagen glycosylation of lung parenchyma, hypoxia-induced insulin resistance and low birth weight (4). Low-grade inflammation is one of the most frequently cited potential mechanisms but, to the best of our knowledge, has not yet been characterized with regard to a putative association with lung damage.

One way to test this hypothesis is to study low-grade inflammation as a mediator in the relationship between diabetes and impaired lung function. A mediator is a variable that represents the mechanism through which the explanatory variable (diabetes) is able to influence the variable of interest (lung function) (5). C-reactive protein (CRP) is a sensitive marker of inflammation, tissue damage and infection and is also a reliable, long-term marker of cardiovascular risk (6). High-sensitivity (hs)-CRP is widely used as a marker of low-grade systemic inflammation in clinical and epidemiological studies (7,8). We therefore evaluated whether low-grade systemic inflammation (as measured by the hs-CRP level) mediated the relationship between diabetes and lung function.

Research Design and Methods

Participants

Male and female participants (aged from 40 to 64) in the 2011-2013 *Enquête Littoral Souffle Air Biologie Environnement* (ELISABET) cross-sectional survey (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02490553) were included in the present study. The participants were selected from electoral rolls by random sampling, with stratification for gender, age and centre (Lille or Dunkirk, both in northern France). All participants were recruited between January 2011 and

November 2013. Each selected participant received a letter asking him/her to contact the coordinating team and make an appointment for data collection. In the absence of a reply, participants were contacted by telephone. Data were collected at home (rarely during a consultation in a healthcare establishment). A detailed questionnaire was administered by a trained, registered nurse. Lung function tests were performed, and a blood sample was also collected at the same visit (or a few days after or before, for some participants).

The study protocol was approved by the local institutional review board (CPP Nord Ouest IV, Lille, France; reference number: 2010-A00065-34), in compliance with the French legislation on biomedical research. All participants provided their written, informed consent to participation in the study.

Exclusion criteria

Participants without acceptable spirometry data were excluded, as were those with missing data for plasma glycemic markers or any of the covariates. In order to avoid confounding effects in the mediation analysis (see below), we also excluded participants fulfilling at least one of the following three exclusion criteria: (i) a self-reported respiratory disease, (ii) airway obstruction, as measured by spirometry testing, and (iii) a self-reported atherosclerotic cardiovascular disease.

Diabetes definition

Diabetes mellitus was defined as ongoing diabetes treatment (oral medication or insulin), or a fasting blood glucose (FBG) level ≥ 1.26 g/L or a hemoglobin A1c (HbA1c) value $\geq 6.5\%$ (48 mmol/mol). We did not differentiate between type I and type II diabetes. FBG was measured using an ultraviolet hexokinase enzymatic method (AU480, Beckman Coulter) in a sample of fluorinated plasma. HbA1c was measured using high performance liquid chromatography (VARIANT II, Bio-Rad) in a sample of whole blood.

Spirometry testing

Spirometry testing was performed using Micro 6000 devices (Medisoft, Sorinnes, Belgium) calibrated weekly. For each participant, the spirometry test was repeated until three acceptable flow-volume loops were obtained. All spirometry data were validated by an experienced, specialist physician (JLE). The greatest acceptable values of FV1 and FVC were selected for statistical analysis (regardless of whether these two values came from separate curves or from the same curve). The % predicted values of FEV1 and FVC were calculated using the most recent equations from the Global Lung Initiative (GLI) 2012 (9). Airway

obstruction was defined as a measured FEV1/FVC ratio below the lower limit of normal (5th percentile) (GLI 2012), in the absence of bronchodilator reversibility testing.

High-sensitivity CRP

Hs-CRP was measured using nephelometric assay (BN ProSpec System, Siemens) in a sample of serum allowing a detection range of 0.17 to 10 mg/L. Values below the limit of detection were computed as 0.17/√2 mg/L. Values above 10 mg/L were excluded because they were assumed to correspond to acute illness or inflammation.

Covariates

The following variables were recorded: age, gender, educational level (number of years spent in full-time education, including primary school), height and body mass index (BMI). Tobacco exposure was estimated by (i) self-reported smoking status as either a “current smoker” (i.e. at least one cigarette per day for the previous 12 months), “former smoker” or “never smoker”; and (ii) tobacco consumption, in pack-years (py). Alcohol consumption was assessed by the number of alcoholic drinks per week (wine, beer, cider or spirits). Hypertension was defined as ongoing antihypertensive treatment, a systolic blood pressure ≥ 140 mmHg or a diastolic blood pressure ≥ 90 mmHg. Dyslipidemia was defined as ongoing cholesterol-lowering treatment or one or more abnormal fasting blood lipid values (total cholesterol ≥ 2.4 g/L, low-density lipoprotein cholesterol ≥ 1.6 g/L, high-density lipoprotein cholesterol < 0.4 g/L or triglycerides ≥ 2 g/L).

Statistical analyses

Association between diabetes and lung function

The first stage in the statistical analysis was to study the relationship between lung function and diabetes. To this end, the association between % predicted values of FEV1 or FVC (as the explained variables) and diabetes (as the explanatory variable) was modeled using multiple linear regression models with incremental adjustments (in order to evaluate the effect of the different confounders). The first model (model A) was adjusted for age, gender, height and center. The second model (model B) was additionally adjusted for BMI. The third model (model C) was additionally adjusted for smoking status and tobacco consumption (py). The fully-adjusted model was additionally adjusted for educational level, hypertension, dyslipidemia, and alcohol consumption. The linearity in the relationship between the explained variable and the quantitative covariates was assessed graphically using regression splines in a generalized additive model (GAM). In summary, a GAM is an extended, generalized linear model in which the linear predictor is given by a smooth function of the

covariate plus conventional parametric components of the linear predictor. A spline corresponds to the smooth curve that can best summarize the relationship between two variables (10). A nonlinear relationship was found between the two explained variables (FEV1 and FVC) and the following variables: BMI and alcohol consumption. As a result, the BMI variable was divided into deciles and alcohol consumption was divided into five categories: <1 drink per week, and the quartiles of alcohol consumption in drinkers. Lastly, interaction terms between diabetes and gender, BMI and smoking were tested one at a time.

Mediation analysis

The second stage in the statistical analysis was a mediation analysis, in order to establish whether or not the hs-CRP level mediated the relationship between the explained variables (FEV1 and FVC) on one hand and diabetes on the other.

We started by defining the mediation model within a four-step framework, as described by Baron and Kenny (5) and shown in Figure 1. Step 1 studied the relationship between diabetes and the hs-CRP level (path a). Step 2 studied the relationship between hs-CRP and FEV1 or FVC, while controlling for diabetes (path b). Step 3 studied the relationship between diabetes and FEV1 or FVC (path c, corresponding to the fully adjusted linear model described above). Step 4 studied the relationship between diabetes and FEV1 or FVC, while controlling for the hs-CRP level (path c'). Path c is the total effect, path c' is the direct effect and path a*b is the indirect effect. Paths a, b, c, and c' were estimated by multiple linear regression. For each model, the covariates were the same as those described above. Given that the values for hs-CRP were not normally distributed, we log-transformed them when hs-CRP was a explained variable (path a) and considered it to be a categorical variable with the classes ≤ 1 , 1-2, 2-4, and 4-10 mg/L (to facilitate interpretations of the results, path b) or as a regression spline (path c') when hs-CRP was an explanatory variable.

Next, two parameters were used to gauge the magnitude of the mediator effect: (i) the mediation ratio (the proportion of the association between FEV1, FVC and diabetes that was mediated by hs-CRP), and (ii) the indirect effect (a*b). The mediation ratio was calculated as $(1-\beta'/\beta) * 100$, where β is the initial coefficient for diabetes (path c) and β' is the coefficient for diabetes when controlling for hs-CRP (as a regression spline) (path c'). The indirect effect (a*b) was calculated by considering log-transformed values of hs-CRP for both paths a and b (the same variable must be used in this calculation). For the calculation of the indirect effect (a*b), the equation $c = c' + a*b$ must be verified (11).

Lastly, the statistical significance of the mediation ratio and the indirect effect was tested. For the mediation ratio, a 95% confidence interval (CI) was computed by using a bootstrap percentile algorithm (10000 replications) (12)). For the indirect effect, we used several recommended methods (13). Firstly, the 95% CI was computed by using a bootstrap percentile algorithm (10000 replications (12)). Secondly, we used the joint significance test (JST): if both the test for path a and the test for path b are found to be statically significant, the indirect effect is significant (14). Lastly, the more conservative Sobel test was applied (11,15).

Sensitivity analyses were used to estimate the robustness of our results. Thus, we performed analyses that excluded (i) obese participants (BMI >30 kg/m²), (ii) obese and overweight participants (BMI >25 kg/m²), (iii) current and former smokers, (iv) participants being treated with medications known to potentially affect the hs-CRP (anti-inflammatory, aspirin, lipid-modifying drugs, drugs acting on the renin-angiotensin system, thiazolidinediones, and beta-blockers), and (iv) participants with hs-CRP values >3 mg/L (in order to exclude participants with potentially unstable inflammatory disease).

All statistical analyses were performed with R software (version 3.0.1, R Core Team, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2014, <http://www.R-project.org>). The threshold for statistical significance was set to $p < 0.05$.

Results

A total of 3276 participants were included in the ELISABET survey. We excluded 233 subjects without acceptable spirometry data, 524 subjects with missing data for plasma glycemic markers or at least one of the covariates, and 641 subjects with a self-reported respiratory disease, measured airway obstruction or a self-reported atherosclerotic cardiovascular disease. Hence, 1878 participants were analyzed.

The study population's characteristics are summarized in Table 1. There were 849 (45.2%) men and 1029 (54.8%) women. The mean (SD) age was 53 (7.3). A total of 164 (8.7%) participants were classified as having diabetes. Participants with diabetes had (relative to those without diabetes) lower % predicted values of FEV1 (94.7% vs. 101.1%, $p < 10^{-6}$) and FVC (96.2% vs. 103.1%, $p < 10^{-9}$), but no difference was observed in the FEV1/FVC ratio (0.78 vs. 0.77, $p=0.15$). Moreover, participants with diabetes had higher hs-CRP levels than participants without diabetes (1.95 vs. 0.95 mg/L, $p < 10^{-9}$).

Association between diabetes and lung function

In the fully adjusted model, diabetes was associated with lower % predicted values [95% CI] for FEV1 (-3.5% [-5.8; -1.3], $p=0.002$) and FVC (-3.6%, [-5.9; -1.3], $p=0.002$) (Table 2), corresponding to reductions in the values for FEV1 (-118 mL [-191; -45]) and FVC (-153 mL [-246; -61]). BMI was the confounder with the strongest effect on these associations, and smoking was the confounder with the second strongest effect (Table 2). Lastly, there were no interactions between diabetes and gender, BMI or smoking in the fully adjusted models explaining FEV1 or FVC.

Mediation analysis

Within the four-step framework (Figure 1), diabetes was firstly associated with the log-transformed values of hs-CRP in the fully adjusted model (beta =0.21 [0.05; 0.36], corresponding to a percentage difference in hs-CRP of +22.9% [5.1; 43.6], $p=0.01$) (calculated by $(\text{exponential}(\text{beta})-1) \times 100$) (path a). Secondly, we looked at whether or not the hs-CRP level affects FEV1 or FVC, while controlling for diabetes (path b, table 3). Both of these relationships were non-linear: the regression splines showed linear dose-response relationships between 0-4 mg/L and then a plateau after 4 mg/L (Supplemental Figure 1). Thus, the coefficients [95% CI] were calculated for the hs-CRP level as a categorical variable. Compared with participants with hs-CRP ≤ 1 mg/L, participants with hs-CRP levels of 1-2, 2-4, and 4-10 mg/L had lower % predicted values of FEV1 (-2.8% [-4.3; -1.2], $p < 10^{-3}$; -3.4% [-5.2; -1.6], $p < 10^{-3}$; -4% [-6.1; -1.9], $p < 10^{-3}$, respectively). Much the same differences were seen for the % predicted values of FVC (Table 3). Thirdly, diabetes was associated with FEV1 and FVC in the fully adjusted model that did not control for hs-CRP (-3.5% [-5.8; -1.3], $p=0.002$; -3.6%, [-5.9; -1.3], $p=0.002$, respectively) (path c, Tables 2 & 3). Lastly, when controlling for the hs-CRP regression spline, we observed a weakening of the association between diabetes on one hand and FEV1 and FVC on the other (-3.1% [-5.4; -0.9], $p=0.007$; -3.1% [-5.4; -0.9], $p=0.006$, respectively) (path c', Table 3). The results were very similar when considering hs-CRP as a categorical variable or when using the log-transformed values (data not shown).

Hence, the mediation ratio [95% CI] for hs-CRP was 12% [2.4; 37] for the relationship between diabetes and FEV1 and 13% [3.7; 39.4] for the relationship between diabetes and FVC (Table 3). The indirect effect (a*b) [95% CI] of hs-CRP for the relationship between diabetes and FEV1 was -0.38% [-0.72; -0.09] (JST: paths a ($p=0.01$) and b ($p < 10^{-6}$); p -value of the Sobel test =0.019). It was -0.40% [-0.76; -0.10] for the relationship between diabetes and FVC (JST: paths a ($p=0.01$) and b ($p < 10^{-6}$); p -value of the Sobel test =0.018). The equation $c =$

$c' + a*b$ was valid for both mediation models (when using the log-transformed values of hs-CRP in all paths).

Several sensitivity analyses were performed. After excluding obese participants ($n=404$), the indirect effect ($a*b$) of hs-CRP on the relationship between diabetes and FEV1, FVC was -0.35% [-0.76; -0.02] (JST: paths a ($p=0.03$) and b ($p < 10^{-3}$)) and -0.39% [-0.84; -0.02] (JST: paths a ($p = 0.03$) and b ($p < 10^{-3}$)), respectively. After excluding obese and overweight participants ($n=1138$), the indirect effect ($a*b$) of hs-CRP on the relationship between diabetes and FEV1, FVC was -0.71% [-1.87; 0.21] (JST: paths a ($p=0.07$) and b ($p=0.002$)) and -0.63% [-1.76; 0.16] (JST: paths a ($p = 0.07$) and b ($p=0.008$)), respectively. After excluding current and former smokers ($n=830$), the indirect effect of hs-CRP on the relationship between diabetes and FEV1, FVC was -0.97% [-1.60; -0.47] (JST: paths a ($p < 10^{-3}$) and b ($p < 10^{-3}$)) and -1.10% [-1.74; -0.56] (JST: paths a ($p < 10^{-3}$) and b ($p < 10^{-6}$)), respectively. After excluding participants treated with medications known to potentially affect the hs-CRP level ($n=547$), the indirect effect of hs-CRP on the relationship between diabetes and FEV1, FVC was -0.45% [-1.07; 0.13] (JST: paths a ($p=0.07$) and b ($p < 10^{-3}$)) and -0.53% [-1.27; 0.14] (JST: paths a ($p=0.07$) and b ($p < 10^{-6}$)), respectively. After excluding participants with hs-CRP > 3 mg/L ($n=311$), the indirect effect of hs-CRP on the relationship between diabetes and FEV1, FVC was -0.50% [-0.91; -0.17] (JST: paths a ($p=0.002$) and b ($p < 10^{-3}$)) and -0.56% [-0.99; -0.20] (JST: paths a ($p=0.002$) and b ($p < 10^{-6}$)), respectively.

Discussion

This study was designed to establish whether or not low-grade systemic inflammation (as measured by the hs-CRP level) mediated the relationship between diabetes and lung function. Firstly, diabetes was associated with lower % predicted values of FEV1 (-3.5% [-5.8; -1.3], $p=0.002$) and FVC (-3.6%, [-5.9; -1.3], $p=0.002$) values. Secondly, hs-CRP appeared to mediate these relationships, with a mediation ratio (i.e. the proportion of the effect that is mediated by hs-CRP) of 12% [2.4; 37] and 13% [3.7; 39.4], respectively.

Methodological issues

The present study had strengths and limitations. One of its strengths was the use of a sample size large enough to reveal significant associations in multivariate analyses and to perform a valid mediation analysis for modest effects (11). Moreover, the mediation analysis was performed carefully: (i) the main confounding effects were taken into account, (ii) the non-linearity of some relationships was taken into account, (iii) the significance of the mediator effect was evaluated by using several methods, and (iv) several sensitivity analyses

were performed to evaluate the robustness of the results. However, after excluding large numbers of participants in the various sensitivity analyses, the 95% CI of the mediation ratio (calculated using a bootstrap method) appeared to be unstable; thus, we presented only the indirect effect with its 95% CI and significance tests for these analyses (for comparison with the main analysis). Another study limitation is that we could not differentiate between type I and type II diabetes. However, an association between diabetes and lung function has been observed for both types (3).

Association between diabetes and lung function

The magnitude of the association between diabetes and lung function observed in the present study was lower than that found in a meta-analysis performed in 2010 (3) (-3.5% [-5.8; -1.3] vs. -5.1% [-6.4; -3.7], respectively, for the % predicted values of FEV₁, and -3.6% [-5.9; -1.3] vs. -6.3% [-8.0; -4.7], respectively, for the % predicted values of FVC). However, we excluded participants with a self-reported respiratory disease or atherosclerotic cardiovascular disease or measured airway obstruction (to avoid a confounding effect in the mediation analysis) and controlled for many confounders (including sociodemographic variables, body mass index, tobacco status and consumption, alcohol consumption, and the main cardiovascular risk factors). Moreover, the values reported here are within the range of values (3-10%) observed in cross-sectional studies (3).

When expressed as a volumes, the mean differences between participants with and without diabetes for FEV₁ and FVC were -118 mL [-191; -45] and -153 mL [-246; -61], respectively. Although these differences were subclinical, they might become overtly debilitating under certain conditions, such as hypoxia caused by acute or chronic lung disease (e.g. pneumonia, chronic obstructive pulmonary disease and asthma) or volume overload caused by cardiac or renal failure (16).

Mediation analysis

The hs-CRP level was associated with diabetes and with lower % predicted values of FEV₁ and FVC. The proportion of relationship mediated by hs-CRP was estimated to be 12% [2.4; 37] and 13% [3.7; 39.4] for the % predicted values of FEV₁ and FVC, respectively (with indirect effects of -0.38% [-0.72; -0.09] and -0.40% [-0.76; -0.10], respectively). Even though low-grade inflammation as often been mentioned as a potential mechanism in the relationship between diabetes and impaired lung function (3,4,17–19), to the best of our knowledge, this is the first time it is proved to be statically significant and quantified. Although the mediation effect was statistically significant, it was modest in size. One possible

explanation for this modest mediation effect is that low-grade systemic inflammation is probably only a partial mediator between diabetes and impaired lung function. Indeed, several other potential pathophysiological mechanisms have been mentioned in the literature: microangiopathy of the alveolar capillaries and pulmonary arterioles, autonomic neuropathy involving the respiratory muscles, loss of elastic recoil secondary to collagen glycosylation of lung parenchyma, hypoxia-induced insulin resistance and low birth weight (4). A second possible explanation is that the hs-CRP level is probably an imperfect marker of low-grade systemic inflammation (20). It would therefore be interesting to perform this type of an analysis with a combination of markers of low-grade inflammation (such as fibrinogen, interleukin (IL)-1, IL-6 or tumor necrosis factor alpha).

Obesity was probably the most important confounder in our mediation analysis. It was associated with diabetes, impaired lung function (21), and inflammation (22)). The BMI does not exactly reflect the body's fatty mass and the latter's impact on lung function in obese participants (i.e. reduced diaphragmatic excursion due to increased abdominal adiposity, and greater load on the chest wall (21)). Despite having controlled for the BMI, we therefore performed a sensitivity analysis that excluded obese (and overweight) participants. After excluding obese participants, the indirect effect was significant and similar to that found in the main analysis. After excluding both obese and overweight participants, the indirect effect was similar in magnitude but did not achieve statistical significance because of a lack of power (the analysis was restricted to 740 participants, including 16 diabetics). Smoking was another important confounder. After excluding current and former smokers, the indirect effect appeared to be significant and larger than in the main analysis. Furthermore, after excluding participants being treated with medications known to potentially affect the hs-CRP level, the indirect effect was similar in magnitude but it did not achieve statistical significance because of a lack of power. Lastly, after excluding hs-CRP values >3 mg/L, in order to exclude participants with potentially unstable inflammatory disease, the indirect effect was statistically significant and similar in magnitude to that found in the main analysis. Therefore, the mediation effect appears to be stable regardless of the adjustment or exclusion – suggesting that it is not due to known confounding factors.

An important consideration in mediation analyses is the assumption of causal relationships along different paths (5). We first discuss the association between low-grade systemic inflammation and diabetes (path a). This association has been well established over the past decade, and the available evidence suggests a two-way relationship. The role of

inflammation in the pathogenesis of type II diabetes and associated complications is now well established (23). Insulin resistance and hyperglycemia lead to elevated systemic inflammation and the production of inflammatory markers (such as CRP, IL-1beta, IL-6 and tumor necrosis factor-alpha) (24–28). Furthermore, several different mechanisms (both general and tissue-specific) for self-sustained inflammation in type II diabetics have been described (such as the hyperglycemia-activated IL-1 system in pancreatic cells, excess storage of fat in adipose tissue, and cytokine/chemokine activation via nuclear factor-κB and JUN N-terminal kinase pathways in the general circulation) (28–30). Furthermore, markers of inflammation are associated with several complications of diabetes (nephropathy, retinopathy and cardiovascular disease) (31–33). Therefore, even though low-grade inflammation is acknowledged to be part of the pathogenesis of diabetes, this mechanism is self-sustained and responsible for complications of diabetes.

Secondly, the relationship between low-grade inflammation and lung function (path b) has also been explored in several cohort studies. Elevated levels of inflammatory markers were closely associated with an increased risk of future impairment of lung function (34–36). Our cross-sectional results are consistent with these findings. However, further research is required to characterize the pathophysiological basis of this association.

Lastly, most of the studies of the association between diabetes and lung function (path c) were cross-sectional. Some longitudinal studies found that lung function declines faster in patients with diabetes – suggesting that the lung may be a target organ in diabetes (2,37). Other longitudinal studies have shown that impaired lung function predicts the onset of diabetes (17,38); however, the pathophysiological basis for lower lung function as a risk factor for diabetes is not clear (4).

In summary, diabetes was associated with impaired lung function in a large, representative sample of middle-aged adults in northern France. Our results suggested that low-grade systemic inflammation (as measured by the hs-CRP level) is a partial mediator of this relationship.

Author contributions

JG (as a PhD student) and PT (as a MD student) performed the statistical analyses and wrote the manuscript; they contributed equally to this work. SH participated in the data analyses and contributed to the discussion. NC participated in the data analyses and contributed to the discussion. AC participated in the data acquisition and the conception in the design of the survey. JLE participated in the data acquisition and contributed to the discussion. RM participated in the design of the survey and contributed to the discussion. PA participated in the design of the survey and contributed to the discussion. AM participated in the data analyses and contributed to the discussion. LD was the main investigator of the survey; he participated in the data acquisition and analyses, and the writing of the manuscript. Lastly, all the co-authors reviewed and approved the final manuscript.

Acknowledgements

The authors thank the CHRU de Lille (Lille University Hospital), the Université de Lille, the Institut Pasteur de Lille, and the Centre Hospitalier Général de Dunkerque; the nurses, physicians and secretarial staff of the Université de Lille and the Institut Pasteur de Lille; and the Service de Médecine du Travail, the service de Biologie Spécialisé, and the laboratoire d'Analyses Génomiques of Institut Pasteur de Lille; the department of biology and the department of pulmonology of the Centre Hospitalier Général de Dunkerque; thank the Institut de Biologie et de Pathologie of the CHRU de Lille and the Centre Universitaire de Mesures et d'Analyses (CUMA) of the University of Lille. Lastly, the authors thank David Fraser, Biotech Communication SARL, for help with writing the manuscript.

The CHRU de Lille sponsored the ELISABET survey. This work was funded by the Nord Pas-de-Calais Region Council and the European Regional Development Fund (ERDF-FEDER Presage N°36034) as part of the CPER Institut de Recherche en ENvironnement Industriel (IRENI) programme.

The authors declare that they have no conflicts of interest.

References

1. Nathan DM. Long-term complications of diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 1993 Jun 10;328(23):1676–85.
2. Yeh H-C, Punjabi NM, Wang N-Y, Pankow JS, Duncan BB, Cox CE, et al. Cross-sectional and prospective study of lung function in adults with type 2 diabetes: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Diabetes Care.* 2008 Apr;31(4):741–6.
3. Van den Borst B, Gosker HR, Zeegers MP, Schols AMWJ. Pulmonary function in diabetes: a metaanalysis. *Chest.* 2010 Aug;393–406.
4. Klein OL, Krishnan JA, Glick S, Smith LJ. Systematic review of the association between lung function and Type 2 diabetes mellitus. *Diabet Med J Br Diabet Assoc.* 2010 Sep;27(9):977–87.
5. Baron RM, Kenny DA. The moderator-mediator variable distinction in social psychological research: conceptual, strategic, and statistical considerations. *J Pers Soc Psychol.* 1986 Dec;1173–82.
6. Koenig W, Sund M, Fröhlich M, Fischer HG, Löwel H, Döring A, et al. C-Reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy middle-aged men: results from the MONICA (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease) Augsburg Cohort Study, 1984 to 1992. *Circulation.* 1999 Jan 19;99(2):237–42.
7. Danesh J, Whincup P, Walker M, Lennon L, Thomson A, Appleby P, et al. Low grade inflammation and coronary heart disease: prospective study and updated meta-analyses. *BMJ.* 2000 Jul 22;321(7255):199–204.
8. Jin X, Beguerie JR, Zhang W, Blizzard L, Otahal P, Jones G, et al. Circulating C reactive protein in osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis. *Ann Rheum Dis.* 2015 Apr;74(4):703–10.
9. Quanjer PH, Stanojevic S, Cole TJ, Baur X, Hall GL, Culver BH, et al. Multi-ethnic reference values for spirometry for the 3-95-yr age range: the global lung function 2012 equations. *Eur Respir J.* 2012 Dec;40(6):1324–43.
10. Falissard B. *Analysis of Questionnaire Data with R.* Chapman and Hall/CRC; 2011. 280 p.
11. Mackinnon DP, Warsi G, Dwyer JH. A Simulation Study of Mediated Effect Measures. *Multivar Behav Res.* 1995 Jan 1;30(1):41.
12. Fritz MS, Taylor AB, MacKinnon DP. Explanation of Two Anomalous Results in Statistical Mediation Analysis. *Multivar Behav Res.* 2012;47(1):61–87.
13. MacKinnon DP, Fairchild AJ, Fritz MS. Mediation analysis. *Annu Rev Psychol.* 2007;593–614.

14. Fritz MS, Mackinnon DP. Required sample size to detect the mediated effect. *Psychol Sci.* 2007 Mar;18(3):233–9.
15. Sobel ME. Asymptotic Confidence Intervals for Indirect Effects in Structural Equation Models. *Sociol Methodol.* 1982;13:290–312.
16. Hsia CCW, Raskin P. Lung function changes related to diabetes mellitus. *Diabetes Technol Ther.* 2007 Jun;9 Suppl 1:S73–82.
17. Wannamethee SG, Shaper AG, Rumley A, Sattar N, Whincup PH, Thomas MC, et al. Lung function and risk of type 2 diabetes and fatal and nonfatal major coronary heart disease events: possible associations with inflammation. *Diabetes Care.* 2010 Sep;1990–6.
18. Lee HM, Le TV, Lopez VA, Wong ND. Association of C-reactive protein with reduced forced vital capacity in a nonsmoking U.S. population with metabolic syndrome and diabetes. *Diabetes Care.* 2008 Oct;2000–2.
19. Dennis RJ, Maldonado D, Rojas MX, Aschner P, Rondón M, Charry L, et al. Inadequate glucose control in type 2 diabetes is associated with impaired lung function and systemic inflammation: a cross-sectional study. *BMC Pulm Med.* 2010;10:38.
20. Kushner I, Samols D, Magrey M. A unifying biologic explanation for “high-sensitivity” C-reactive protein and “low-grade” inflammation. *Arthritis Care Res.* 2010 Apr;62(4):442–6.
21. Lin W-Y, Yao C-A, Wang H-C, Huang K-C. Impaired lung function is associated with obesity and metabolic syndrome in adults. *Obes Silver Spring Md.* 2006 Sep;14(9):1654–61.
22. Da Costa LA, Arora P, García-Bailo B, Karmali M, El-Sohemy A, Badawi A. The association between obesity, cardiometabolic disease biomarkers, and innate immunity-related inflammation in Canadian adults. *Diabetes Metab Syndr Obes Targets Ther.* 2012;5:347–55.
23. Donath MY. Targeting inflammation in the treatment of type 2 diabetes: time to start. *Nat Rev Drug Discov.* 2014 Jun;13(6):465–76.
24. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA.* 2001 Jul 18;286(3):327–34.
25. Esposito K, Nappo F, Marfella R, Giugliano G, Giugliano F, Ciotola M, et al. Inflammatory cytokine concentrations are acutely increased by hyperglycemia in humans: role of oxidative stress. *Circulation.* 2002 Oct 15;106(16):2067–72.
26. Dandona P, Aljada A, Bandyopadhyay A. Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends Immunol.* 2004 Jan;25(1):4–7.
27. Böni-Schnetzler M, Thorne J, Parnaud G, Marselli L, Ehses JA, Kerr-Conte J, et al. Increased interleukin (IL)-1beta messenger ribonucleic acid expression in beta -cells

- of individuals with type 2 diabetes and regulation of IL-1beta in human islets by glucose and autostimulation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008 Oct;93(10):4065–74.
28. Donath MY, Böni-Schnetzler M, Ellingsgaard H, Ehses JA. Islet inflammation impairs the pancreatic beta-cell in type 2 diabetes. *Physiol Bethesda Md.* 2009 Dec;24:325–31.
 29. Donath MY, Shoelson SE. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nat Rev Immunol.* 2011 Feb;11(2):98–107.
 30. Böni-Schnetzler M, Thorne J, Parnaud G, Marselli L, Ehses JA, Kerr-Conte J, et al. Increased interleukin (IL)-1beta messenger ribonucleic acid expression in beta -cells of individuals with type 2 diabetes and regulation of IL-1beta in human islets by glucose and autostimulation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008 Oct;93(10):4065–74.
 31. Williams MD, Nadler JL. Inflammatory mechanisms of diabetic complications. *Curr Diab Rep.* 2007 Jun;7(3):242–8.
 32. Goldberg RB. Cytokine and cytokine-like inflammation markers, endothelial dysfunction, and imbalanced coagulation in development of diabetes and its complications. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009 Sep;94(9):3171–82.
 33. Wu W, Wang M, Sun Z, Wang X, Miao J, Zheng Z. The predictive value of TNF- α and IL-6 and the incidence of macrovascular complications in patients with type 2 diabetes. *Acta Diabetol.* 2012 Feb;3–7.
 34. Hancox RJ, Poulton R, Greene JM, Filsell S, McLachlan CR, Rasmussen F, et al. Systemic inflammation and lung function in young adults. *Thorax.* 2007 Dec;62(12):1064–8.
 35. Thyagarajan B, Jacobs DR, Apostol GG, Smith LJ, Lewis CE, Williams OD. Plasma fibrinogen and lung function: the CARDIA Study. *Int J Epidemiol.* 2006 Aug;35(4):1001–8.
 36. Kalhan R, Tran BT, Colangelo LA, Rosenberg SR, Liu K, Thyagarajan B, et al. Systemic inflammation in young adults is associated with abnormal lung function in middle age. *PLoS One.* 2010;5(7):e11431.
 37. Davis TM, Knuiman M, Kendall P, Vu H, Davis WA. Reduced pulmonary function and its associations in type 2 diabetes: the Fremantle Diabetes Study. *Diabetes Res Clin Pract.* 2000 Oct;50(2):153–9.
 38. Ford ES, Mannino DM, National Health and Nutrition Examination Survey Epidemiologic Follow-up Study. Prospective association between lung function and the incidence of diabetes: findings from the National Health and Nutrition Examination Survey Epidemiologic Follow-up Study. *Diabetes Care.* 2004 Dec;29:66–70.

Table, and figure legends

Table 1. Characteristics of the study population overall and according to diabetes status.

Table 2. Association between diabetes and lung function, n=1878.

Table 3. Associations between hs-CRP, diabetes and FEV1 or FVC, and the proportion of each association mediated by hs-CRP, n=1878.

Figure 1. Graphical representation of the mediation model. Path a probes the relationship between diabetes and the hs-CRP level. Path b probes the relationship between hs-CRP and FEV1 or FVC, while controlling for diabetes. Path c probes the relationship between diabetes and FEV1 or FVC. Path c' probes the relationship between diabetes and FEV1 or FVC, while controlling for the hs-CRP level.

Supplemental figure 1. A regression spline representing the association between the high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) and the % predicted values of: (A) the forced expiratory volume in the first second (FEV1) and (B) the forced vital capacity (FVC) in a generalized additive model, while controlling for age, gender, height, center, body mass index, smoking status and tobacco consumption (pack-years), educational level, hypertension, dyslipidemia, and alcohol consumption. The y axis corresponds to the % predicted values from the mean FEV1 and FVC. The dashed lines correspond to the 95% confidence interval of the spline.

Table 1. Characteristics of the study population overall and according to diabetes status.

Variable	Overall population (n = 1878)	Diabetes (n = 164)	No diabetes (n = 1714)	<i>p</i>
Age, mean (SD)	53.1 (7.3)	57.4 (6.3)	52.6 (7.2)	<10 ⁻⁹
Male gender, n (%)	849 (45.2)	102 (62.2)	747 (43.6)	<10 ⁻³
Centre, n (%)				0.416
Lille	973 (51.8)	80 (48.8)	893 (52.1)	
Dunkirk	905 (48.2)	84 (51.2)	821 (47.9)	
Educational level, n (%)				<10 ⁻³
Less than 9 years	175 (9.3)	40 (24.4)	135 (7.9)	
9 years or more	610 (32.5)	50 (30.5)	560 (32.7)	
12 years or more	358 (19.1)	30 (18.3)	328 (19.1)	
15 years or more	353 (18.8)	19 (11.6)	334 (19.5)	
17 years or more	382 (20.3)	25 (15.2)	357 (20.8)	
Diabetes status, n (%)	164 (8.7)	-	-	
Treated diabetes, n (%)	-	95 (57.9)	-	
Controlled diabetes (HbA1c <7% (53 mmol/mol)), n (%)	-	52 (54.7)	-	
BMI (kg/m ²), mean (SD)	26.9 (4.9)	31.4 (5.8)	26.4 (4.6)	<10 ⁻⁹
Obese participants (BMI >30 kg/m ²), n (%)	404 (21.5)	91 (55.5)	313 (18.3)	<10 ⁻⁹
Obese and overweight participants (BMI >25 kg/m ²), n (%)	1138 (60.6)	148 (90.2)	990 (57.8)	<10 ⁻⁹
Smoking status, n (%)				0.01
Current	296 (15.8)	33 (20.1)	263 (15.3)	
Former	534 (28.4)	58 (35.4)	476 (27.8)	
Never	1048 (55.8)	73 (44.5)	975 (56.9)	
Pack-years, mean (SD)				
Current smokers	19.8 (15.2)	22.6 (16.7)	19.4 (15)	0.298
Former smokers	13.5 (12.6)	21.3 (17.5)	12.5 (11.5)	<10 ⁻³
Hypertension, n (%)	785 (41.8)	120 (73.2)	665 (38.8)	<10 ⁻⁹
Dyslipidemia, n (%)	989 (52.7)	126 (76.8)	863 (50.4)	<10 ⁻⁹
Alcohol (one or more drinks per week), n (%)	1235 (65.8)	98 (59.8)	1137 (66.3)	0.09
Alcohol consumption*, median (IQR)	7 (11)	14 (14.8)	7 (11)	<10 ⁻³
Fasting plasma glucose (mg/dL), mean (SD)	96.4 (18.6)	135.6 (35.5)	92.6 (9.8)	<10 ⁻⁹
HbA1c (%), mean (SD)	5.7 (0.6)	6.9 (1.2)	5.5 (0.4)	<10 ⁻⁹
HbA1c (mmol/mol), mean (SD)	39 (4.1)	52 (9)	37 (2.7)	<10 ⁻⁹
hs-CRP (mg/L), median (IQR)	1.01 (1.59)	1.95 (2.47)	0.95 (1.47)	<10 ⁻⁹
FEV1 (mL), mean (SD)	3198.4 (760)	2987.9 (755.8)	3218.5 (757.5)	<10 ⁻³
FVC (mL), mean (SD)	4121.8 (985.2)	3873.7 (970.1)	4145.6 (983.6)	<10 ⁻³
FEV1 (% predicted), mean (SD)	100.6 (13.5)	94.7 (14.9)	101.1 (13.3)	<10 ⁻⁶
FVC (% predicted), mean (SD)	102.5 (13.6)	96.2 (14.2)	103.1 (13.4)	<10 ⁻⁶
FEV1/FVC, mean (SD)	0.78 (0.05)	0.77 (0.05)	0.78 (0.05)	0.157

n: number; SD: standard deviation; FEV1: forced expiratory volume in the first second; FVC: forced vital capacity; BMI: body mass index; hs-CRP: high-sensitivity C-reactive protein; HbA1c: hemoglobin A1c

* For subjects consuming one or more alcoholic drinks per week

Table 2. Association between diabetes and lung function, n=1878.

Model	FEV1		FVC	
	Beta (% predicted) [95% CI]	<i>p</i>	Beta (% predicted) [95% CI]	<i>p</i>
Model A*	-6.4 [-8.6; -4.2]	<10 ⁻⁶	-6.9 [-9.1; -4.7]	<10 ⁻⁶
Model B [†]	-4.9 [-7.1; -2.6]	<10 ⁻³	-4.8 [-7; -2.5]	<10 ⁻³
Model C [‡]	-4.2 [-6.5; -2]	<10 ⁻³	-4.4 [-6.7; -2.2]	<10 ⁻³
Fully adjusted model [§]	-3.5 [-5.8; -1.3]	0.002	-3.6 [-5.9; -1.3]	0.002

FEV1: forced expiratory volume in the first second; FVC: forced vital capacity; CI: confidence interval

* Model A: adjusted for age, gender, height and center

[†] Model B: model A + body mass index

[‡] Model C: model B + smoking status and tobacco consumption (pack-years)

[§] Fully adjusted model: model C + educational level, hypertension, dyslipidemia and alcohol consumption

Table 3. Associations between hs-CRP, diabetes and FEV1 or FVC, and the proportion of each association mediated by hs-CRP, n=1878.

	FEV1		FVC	
	Beta (% predicted) [95% CI]	<i>p</i>	Beta (% predicted) [95% CI]	<i>p</i>
Hs-CRP (mg/L)				
≤1 (reference)	-		-	
1-2	-2.8 [-4.3; -1.2]	<10 ⁻³	-2.8 [-4.3; -1.2]	<10 ⁻³
2-4	-3.4 [-5.2; -1.6]	<10 ⁻³	-4.2 [-6; -2.4]	<10 ⁻³
4-10	-4 [-6.1; -1.9]	<10 ⁻³	-4.4 [-6.5; -2.3]	<10 ⁻³
Diabetes				
Fully adjusted model*	-3.5 [-5.8; -1.3]	0.002	-3.6 [-5.9; -1.3]	0.002
Fully adjusted model* + hs-CRP	-3.1 [-5.4; -0.9]	0.007	-3.1 [-5.4; -0.9]	0.006
Proportion mediated by hs-CRP (%)	12 [2.4; 37]	0.019 [†]	13 [3.7; 39.4]	0.018 [†]

FEV1: forced expiratory volume in the first second; FVC: forced vital capacity; CI: confidence interval; hs-CRP: high sensitivity C-reactive protein

* Adjusted for age, gender, height, center, body mass index, smoking status and tobacco consumption (pack-years), educational level, hypertension, dyslipidemia, and alcohol consumption

[†] Sobel test for the mediation analysis

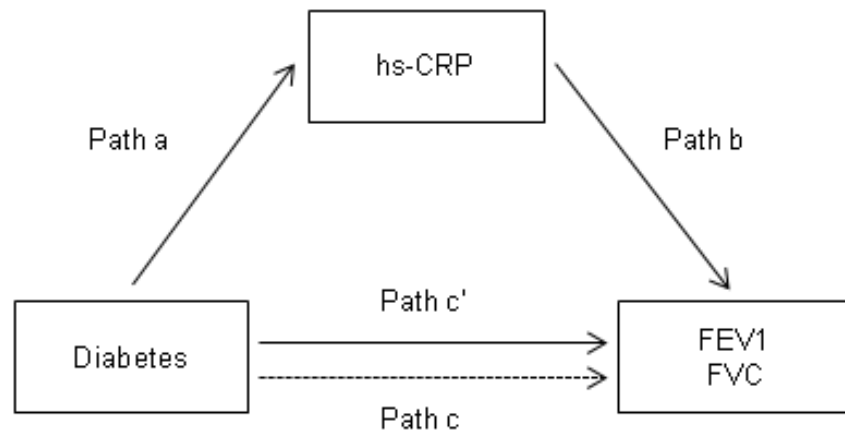
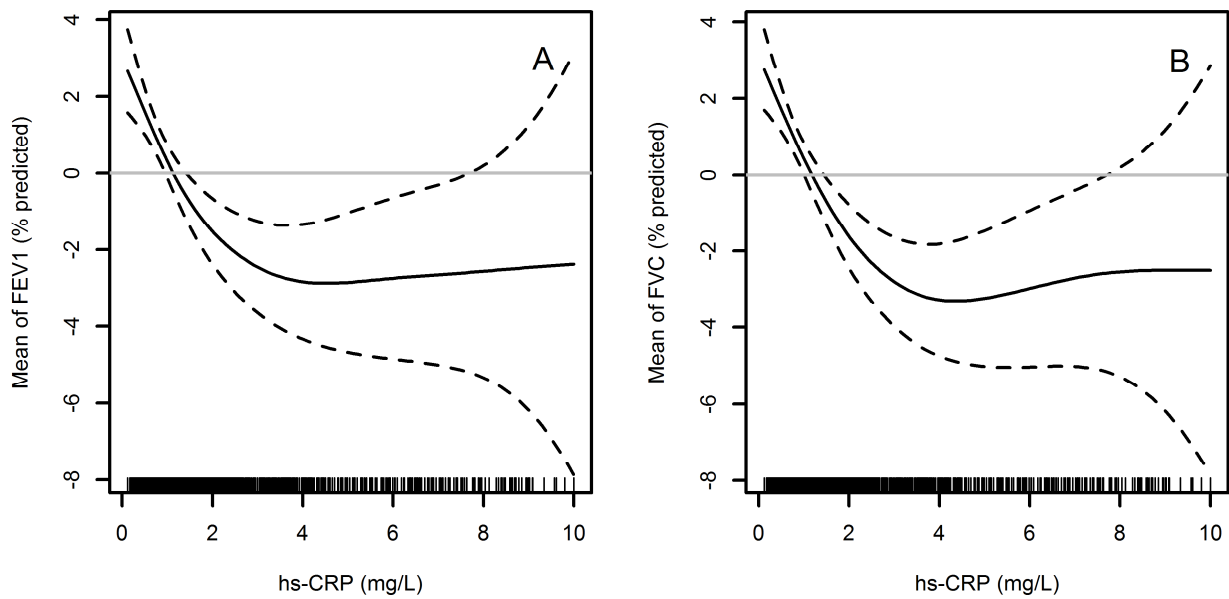


Figure 1. Graphical representation of the mediation model. Path a probes the relationship between diabetes and the hs-CRP level. Path b probes the relationship between hs-CRP and FEV1 or FVC, while controlling for diabetes. Path c probes the relationship between diabetes and FEV1 or FVC. Path c' probes the relationship between diabetes and FEV1 or FVC, while controlling for the hs-CRP level.



Supplemental figure 1. A regression spline representing the association between the high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) and the % predicted values of: (A) the forced expiratory volume in the first second (FEV1) and (B) the forced vital capacity (FVC) in a generalized additive model, while controlling for age, gender, height, center, body mass index, smoking status and tobacco consumption (pack-years), educational level, hypertension, dyslipidemia, and alcohol consumption. The y axis corresponds to the % predicted values from the mean FEV1 and FVC. The dashed lines correspond to the 95% confidence interval of the spline.

6 Cinquième étude – Impact à court terme de la pollution atmosphérique sur la fonction respiratoire

6.1 Contexte et motivation de l'étude

La pollution atmosphérique est liée aux activités naturelles et humaines (anthropiques). Les principaux polluants atmosphériques mesurés quotidiennement sont les particules en suspension, le dioxyde d'azote (NO₂), le dioxyde de soufre (SO₂), l'ozone (O₃) et le monoxyde de carbone (CO). D'autres polluants atmosphériques sont préoccupants pour la santé. Ils comprennent notamment les métaux lourds (par exemple, plomb, mercure, cadmium, nickel) et les hydrocarbures faisant partie des composés organiques volatils (COV) (par exemple, benzène et formaldéhyde) (Abelsohn et al. 2002).

Une partie des poussières en suspension est d'origine naturelle (sable du Sahara, embrun marin, pollens...). S'y ajoutent les poussières d'origine anthropique, émises notamment par les installations de combustion (chauffage), les transports (moteurs diesel), et les activités industrielles (construction, secteur minier) (www.atmo-npdc.fr). Les particules en suspension sont classées en fonction de leur taille. Les particules fines sont les plus étudiées. Il s'agit des PM₁₀ (diamètre est inférieur à 10 micromètres) et des PM_{2.5} (inférieures à 2.5 micromètres) qui pénètrent plus profondément dans l'appareil respiratoire (Abelsohn et al. 2002). Ces particules en suspension sont des indicateurs de pollution liée à la combustion de carburants et au trafic routier. Le NO₂ est issu de l'oxydation du monoxyde d'azote. Il naît de la combustion à haute température de combustibles fossiles comme le charbon, le fuel ou le pétrole. Il provient des véhicules automobiles et des appareils à combustion (d'origine industrielle ou domestique) et il est lié à la combustion de carburants et au trafic automobile. Le SO₂ provient de la combustion de combustibles fossiles contenant du soufre. Ce polluant est principalement émis par des procédés industriels (centrales thermiques, incinérateurs...). Il peut aussi provenir d'autres sources : véhicules à moteur diesel, chauffage individuel ou collectif. L'ozone est un polluant secondaire formé à partir d'autres polluants (en particulier le NO₂), sous l'effet du rayonnement solaire. Il est donc plus présent l'été. Le CO se forme lors de la combustion incomplète de matières organiques (gaz, charbon, fioul ou bois). Dans l'air ambiant, le trafic automobile en est la source principale. Les COV proviennent de la combustion de carburants, ou des évaporations lors de leur fabrication, de

leur stockage ou de leur utilisation (peintures, colles, solvants...). Dans l'air ambiant, ils sont émis principalement par les secteurs d'activités de l'industrie, de la transformation des déchets et de l'énergie. Les métaux lourds (par exemple, plomb, mercure, cadmium, nickel) sont présents naturellement dans l'atmosphère en quantités très faibles. La croûte terrestre constitue la principale source biogénique de ces polluants. Un quart de la pollution aux métaux lourds est lié à l'activité humaine. Ils proviennent de la combustion des charbons, du pétrole, d'ordures ménagères, ainsi que de certains procédés industriels (www.atmo-npdc.fr).

Les niveaux des polluants atmosphériques sont fortement associés au développement économique d'un pays. La courbe de Kuznets peut être utilisée pour étudier cette relation. Lors de la phase précoce de développement économique, le niveau de pollution de l'air est généralement faible. Toutefois, lorsque le développement économique atteint un stade intermédiaire, les niveaux de concentration des polluants atmosphériques ont tendance à augmenter, parfois fortement, si aucune mesure n'est prise. Enfin, il est possible d'observer un point d'inflexion, à un stade de développement plus élevé, grâce à une meilleure sensibilisation à l'environnement et des mesures de contrôle pertinentes prises pour protéger l'environnement (Chen & Kan 2008).

La réglementation sur les polluants atmosphériques (seuils, valeurs limites) est définie au niveau européen dans des directives, qui sont déclinées en droit français par des décrets ou des arrêtés (Directives européennes 2008/50/CE et 2004/107/CE et Décret n°2010-1250 du 21 octobre 2010 relatif à la qualité de l'air). A titre d'exemple, la valeur limite du taux de NO₂ en 2015 est de 40 µg/m³ (moyenne annuelle). Concernant les PM₁₀, la valeur limite en 2015 est de 40 µg/m³ en moyenne annuelle, et de 50 µg/m³ en moyenne journalière à ne pas dépasser plus de 35 jours/an. En France, la surveillance de la qualité de l'air est confiée à la Fédération ATMO qui anime le réseau national des Associations Agréées de Surveillance de la Qualité de l'Air (AASQA) (www.atmo-france.org).

La plupart des études ayant évalué les effets de la pollution atmosphérique porte sur les effets respiratoires et cardiovasculaires associés à l'exposition à court terme et à long terme à la pollution atmosphérique. Les effets à court terme sur la morbidité et la mortalité ont été mis en évidence à partir de centaines d'études de séries temporelles (Atkinson et al. 2014; Song et al. 2014). Les effets à long terme ont été étudiés notamment à partir d'enquêtes

épidémiologiques de cohorte (Beelen et al. 2015). Plus récemment, d'autres effets potentiels sur la santé ont été étudiés, comme ceux sur le diabète (Thiering & Heinrich 2015; Eze et al. 2015), la polyarthrite rhumatoïde (Essouma & Noubiap 2015) ou les maladies neuro-dégénératives (Numan et al. 2015).

L'exposition aux polluants atmosphérique est ainsi associée à toute une série d'effets néfastes sur la santé. Des effets biologiques (notamment stress oxydatif et inflammation (Møller et al. 2014)), des modifications physiologiques des fonctions pulmonaires et du système cardiovasculaire, ainsi que des symptômes cliniques respiratoires et cardiovasculaires ont été associés à des polluants atmosphériques, notamment les particules en suspension et les oxydes d'azote (Chen & Kan 2008). De plus, une augmentation des consultations médicales, du recours aux services d'urgence, des hospitalisations, et de la mortalité a également été associée à la pollution de l'air (Atkinson et al. 2014; Pascal et al. 2014; Pride et al. 2015; Song et al. 2014).

L'étude de l'impact sanitaire de la pollution atmosphérique (notamment d'origine industrielle) sur notre population est un objectif général de l'enquête ELISABET. Nous avons observé que la prévalence des TVO n'était pas plus élevée chez les habitants de la CUD (exposés à des émissions de polluants atmosphériques importantes) que chez ceux de la CUDL. Il ne s'agit cependant que d'un premier élément de réponse, très indirect.

Nous conduisons cette première étude complémentaire sur les impacts de la pollution atmosphérique, dont l'objectif est d'évaluer les effets à court terme de polluants (à ce stade de l'analyse, les PM10 et le NO2) sur la fonction pulmonaire et l'inflammation locale et systémique des participants à l'enquête ELISABET.

A ce stade de l'étude, j'ai défini les méthodes et conduit les analyses statistiques (préliminaires) et rédigé les premiers éléments présentés ci-dessous.

6.2 Méthodes

6.2.1 Zones et période d'étude

La définition de la zone et de la période d'étude suivait la méthodologie proposée par l'Institut de veille sanitaire (InVS) pour l'évaluation de l'impact sanitaire de la pollution atmosphérique urbaine (Ung A et al. 2013). En résumé, la zone d'étude doit être construite de telle sorte que l'exposition de la population à la pollution urbaine puisse y être

considérée comme homogène. Cela implique que la zone d'étude définie réponde aux critères suivants : zone sans rupture d'urbanisation ; où la majorité de la population séjourne en permanence ; où les niveaux de fond (c'est-à-dire les niveaux de pollution présents dans des lieux n'étant pas directement sous l'influence de sources d'émissions) de pollution atmosphérique puissent être considérés comme homogènes ; si possible, pas de particularités topographiques pouvant avoir un impact important dans la dispersion et la concentration des polluants de la zone d'étude. L'utilisation des données d'au moins deux stations de mesure de polluants par zone géographique est recommandée. Enfin, la période d'étude doit être d'une durée suffisante (3 ans), sans évènement climatique exceptionnel (Ung A et al. 2013).

Notre étude a porté sur les deux communautés urbaines de Lille (CUDL) et Dunkerque (CUD), pour la période d'inclusion des participants à l'enquête ELISABET (janvier 2011 à novembre 2013). Une cartographie des zones d'étude a été réalisée (Figure 1) à l'aide de l'outil en ligne geoportail (www.geoportail.gouv.fr). Les constructions (bâtis), les voies de circulation automobile, ainsi que les stations de mesure des polluants et les stations météorologiques ont été représentées.

6.2.2 Données de pollution atmosphérique et paramètres météorologiques

Les données quotidiennes de polluants atmosphériques (PM10, NO2 et SO2) ont été obtenues auprès de l'association de surveillance de la qualité de l'air ATMO du Nord-Pas-de-Calais pour l'ensemble des stations fixes de mesure de la zone d'étude : stations de fond urbaines et périurbaines, stations de proximité automobile et industrielle. Les stations urbaines sont souvent implantées dans des zones à forte densité de population, elles sont représentatives de la qualité de l'air ambiant urbain sans cibler l'impact d'une source d'émission particulière. Les stations périurbaines sont implantées dans les communes localisées à la périphérie des grandes villes, et ne se trouvent pas sous l'impact direct d'une source d'émission identifiée. Les stations de proximité (industrielle ou automobile) sont représentatives de l'impact sur la population d'une source d'émission identifiée : activité industrielle ou trafic automobile. Elles sont installées dans l'environnement proche de cette source d'émission (www.atmo-npdc.fr). Pour l'analyse de l'impact à court terme de la pollution atmosphérique sur la fonction pulmonaire, seules les données des stations de fond ont été utilisées, suivant les recommandations de l'InVS (Ung A et al. 2013).

Les données météorologiques quotidiennes ont été recueillies auprès de Météo-France pour les stations de Lille-Lesquin (station numéro 59343001) et de Dunkerque (station numéro 59183001). Les paramètres quotidiens recueillis étaient la hauteur des précipitations (mm), les températures moyennes sous abri (°C), la pression moyenne au niveau de la mer (HPA) et l'humidité relative moyenne (%).

6.2.3 Population d'étude

Les hommes et les femmes (âgés de 40 à 64) issus de l'enquête transversale Littoral Souffle Air Biologie Environnement (ELISABET) 2011-2013 ont été inclus dans la présente étude. Les participants ont été sélectionnés à partir de listes électorales par échantillonnage aléatoire, avec une stratification sur le sexe, l'âge et le centre (CUDL, CUD). Un questionnaire détaillé a été administré par un enquêteur qualifié. Des explorations fonctionnelles respiratoires ont été effectuées, et un échantillon de sang a été recueilli lors de la même visite (à domicile).

Les participants sans spirométrie acceptable ont été exclus, ainsi que ceux ayant une valeur manquante pour une des covariables. De plus, afin d'éviter des effets de confusion dans l'étude de l'association entre pollution atmosphérique et fonction respiratoire, les participants avec une pathologie respiratoire (auto-déclaration de toute pathologie pulmonaire, dont l'asthme, trouble ventilatoire obstructif (TVO) mesuré à la spirométrie ou infection respiratoire dans les quatre dernières semaines) ou un traitement pneumologique ont été exclus. De même, les fumeurs actifs et passifs ont été exclus.

6.2.4 Mesures de la fonction pulmonaire et covariables

Les données de fonction pulmonaire étaient les débits et volumes obtenus par spirométrie. Les examens spirométriques ont été réalisés en utilisant des spiromètres Micro 6000 (Medisoft, Sorinnes, Belgium), calibrés chaque semaine. Pour chaque participant, les examens spirométriques ont été répétés jusqu'à l'obtention de trois courbes débit-volumes acceptables. Toutes les spirométries ont été validées par un médecin spécialiste expérimenté. Les paramètres recueillis étaient : le volume expiratoire maximal à la première seconde (VEMS), la capacité vitale forcée (CVF), le débit de pointe (DEP), ainsi que les débits expiratoires maximaux à 75 % (DEM 75), 50 % (DEM50) et 25 % (DEM25) de la CVF. Les valeurs acceptables maximales de chaque paramètre ont été sélectionnées pour l'analyse (que ces valeurs soient obtenues de courbes distinctes ou de la même courbe débit-volume). Un TVO était défini par un ratio VEMS/CVF inférieur à la limite inférieure de la normale (5^{ème}

percentile) calculée à partir des équations de la Global Lung Initiative (GLI) 2012 (Quanjer, Stanojevic, et al. 2012), en l'absence de test de réversibilité.

De plus, la fraction exhalée du monoxyde d'azote (FENO) (chez les participants issus de la communauté urbaine de Dunkerque) et le taux d'éosinophiles sanguins (S-eos) ont été recueillis. Le FENO a été mesuré à l'aide de l'analyseur NIOX MINO (Aerocrine AB, Solna, Sweden) (Alving et al. 2006; Khalili et al. 2007) à un débit expiratoire constant de 50 ml/s, en accord avec les recommandations 2005 de l'ATS et de l'ERS (American Thoracic Society & European Respiratory Society 2005). L'étendue de détection était de 5-300 ppb. Les valeurs inférieures à 5 ppb ont été imputées par la valeur de 3.5 ppb ($5/\sqrt{2}$). La moyenne des deux séries de mesures a été considérée comme la variable finale. Le taux de S-eos a été mesuré avec l'analyseur LH780 (Beckman Coulter, Fullerton, California). Les populations leucocytaires ont été analysées par cytométrie de flux multidimensionnel. Les taux de protéine C réactive ultrasensible (CRP_{us}) ont été mesurés par dosage néphélométrique (BN ProSpec système, Siemens) dans un échantillon de sérum qui permettait une détection de valeurs comprises entre 0,17 à 10 mg/L. Les valeurs inférieures à la limite de détection ont été imputées par la valeur $0,17/\sqrt{2}$ mg/L.

Enfin, les covariables suivantes ont été recueillies : l'âge, le sexe, la taille, l'indice de masse corporelle (IMC), le niveau d'étude (nombre total d'année d'étude à partir de la primaire), et le statut tabagique (ancien fumeur : oui/non).

6.2.5 Analyses statistiques

Sélection des stations de mesure de la pollution atmosphérique

La sélection des stations pour cette étude suivait les recommandations de l'InVS : un chevauchement de l'étendue des interquartiles et une différence entre les moyennes n'excédant pas $15 \mu\text{g}/\text{m}^3$; un coefficient de corrélation supérieur ou égal à 0,6 entre les séries des niveaux journaliers mesurés par deux stations différentes (Ung A et al. 2013). Ainsi, les mesures quotidiennes de polluants issues de l'ensemble des stations ATMO ont été décrites (pourcentage de valeurs manquantes, moyenne (SD), médiane (IQR) et étendue). Les matrices de corrélations des mesures de polluants par les différentes stations ATMO ont été calculées : des coefficients de Pearson ont été estimés à partir des mesures log-transformées afin de normaliser leur distribution. Puis les mesures quotidiennes des stations sélectionnées ont été moyennées, permettant d'obtenir une série de données de PM₁₀ et NO₂ pour chacune des zones d'étude.

Ensuite, ces séries de mesures (issues des stations ATMO sélectionnées) ont été décrites (médiane (IQR)) par saison pour les deux zones d'étude. Les corrélations entre polluants (PMP10 et NO₂) ont été calculées pour chacun des centres. Les corrélations entre les zones d'étude pour chacun des polluants ont également été calculées. Enfin, le niveau d'autocorrélation (corrélation entre une mesure au jour J et une mesure au jour J-x) a été calculé pour une période de trois mois, pour chacun des polluants et des deux zones d'étude.

Estimation de la relation entre pollution et fonction respiratoire

La modélisation de la relation entre pollution et fonction respiratoire n'est pas encore finalisée. Nous avons choisi, à ce stade de l'analyse, de considérer comme variables à expliquer les paramètres spirométriques, mesures du FENO et taux de S-eos, ainsi que la CRPus. Les valeurs de ces variables (à l'exception du rapport VEMS/CVF) ont été log-transformées afin de normaliser leur distribution. Les variables explicatives étaient la moyenne des mesures de PM₁₀ ou de NO₂ du jour et de la veille de la date de réalisation de la spirométrie. Les valeurs de ces variables ont également été log-transformées afin de normaliser leur distribution.

Les associations brutes ont été estimées à partir de coefficients de corrélation de Pearson. Puis ces relations ont été ajustées sur les covariables suivantes : zone d'étude (CUDL/CUD), paramètres météorologiques (humidité, pression, température et précipitations), saison (hiver, printemps, été, automne), jour de la semaine, nombre de jours depuis le début de l'étude, vacances scolaires (oui/non) ainsi que sur âge, sexe, taille, IMC, niveau d'éducation, et statut tabagique (ancien fumeur : oui/non) des participants. Un modèle de régression linéaire multiple permettait de modéliser ces relations. En analyse de sensibilité, un modèle additif généralisé permettait de modéliser les valeurs de PM₁₀ ou NO₂ (et des autres variables quantitatives) par une courbe de lissage (spline autorégressif).

L'ensemble des analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R (version 3.0.1, R Core Team, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2014, <http://www.R-project.org>). Le seuil de significativité était fixé à 5 %.

6.3 Résultats préliminaires

6.3.1 Analyse des zones d'étude

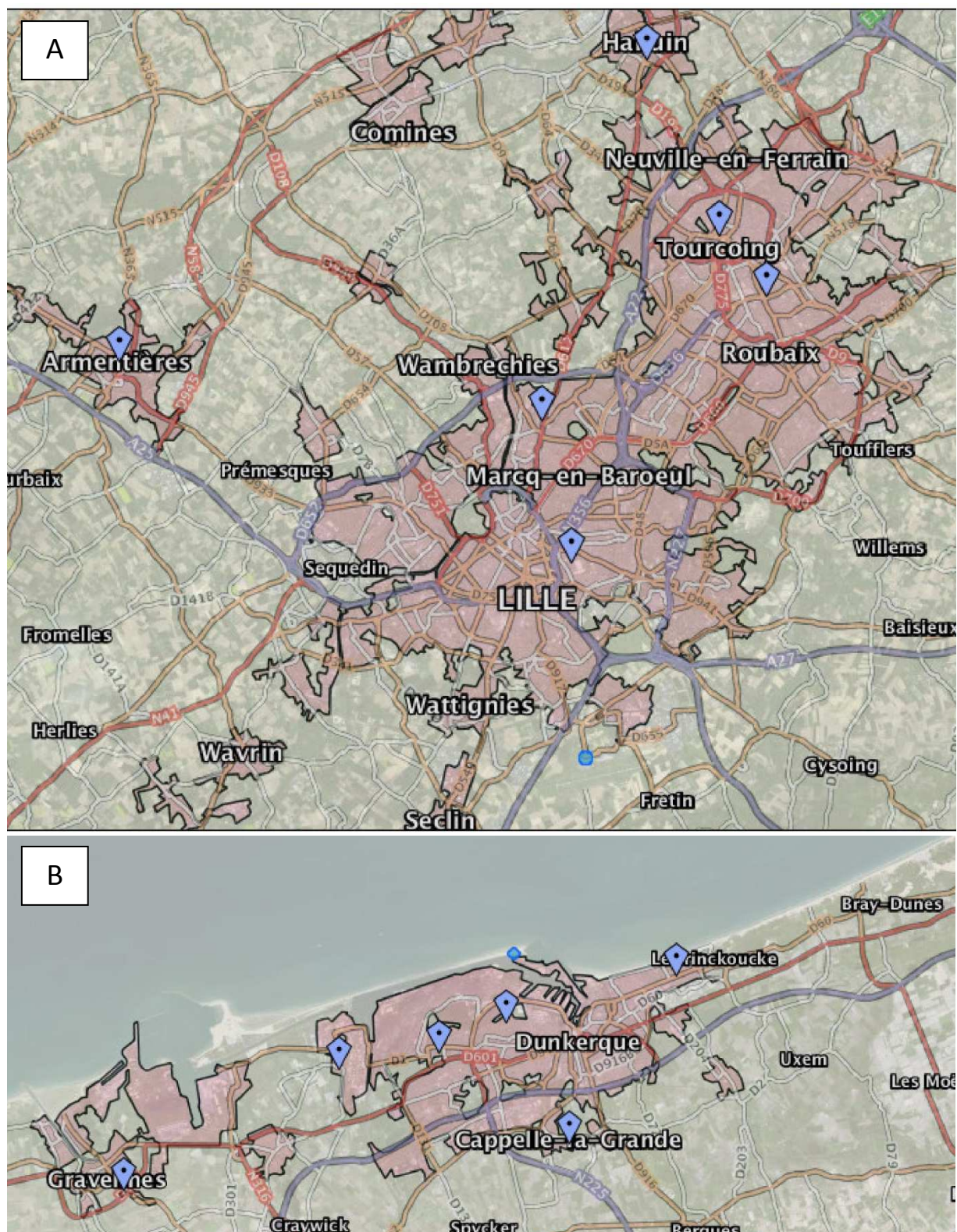


Figure 1. CUDL (A) et CUD (B), avec représentation des bâtis (zones rosées), des voies de circulation automobile, des stations ATMO de mesure des polluants (PM10 et NO2) (losanges bleus) et des stations MétéoFrance (ronds bleus) [www.geoportail.gouv.fr]

L'analyse de la première zone d'étude (CUDL) montrait une zone de bâtis dense composée de nombreuses communes, notamment Lille, Roubaix et Tourcoing. Cependant, on notait une interruption des bâtis entre ce centre urbain dense et les communes d'Armentières et de Comines. Le réseau routier, et en particulier le réseau autoroutier, est très dense au sein de la CUDL (Figure 1).

La CUD est une aire urbaine côtière centrée sur la commune de Dunkerque. On notait une interruption des bâtis entre ce centre urbain et Gravelines à l'ouest, Bray-Dunes à l'Est. Le réseau routier est également dense (en particulier l'autoroute A16 longeant la CUD) (Figure 1). De plus, on notait une présence industrielle forte au niveau du port de Dunkerque (non représenté). Les vents étaient majoritairement de sud-ouest, ayant pour conséquence d'entraîner une partie des polluants d'origine industrielle vers le large (données non présentées).

Nous avons choisi de conserver, à ce stade de l'analyse, l'ensemble des communes de nos deux zones d'étude.

6.3.2 Sélection des stations de mesure de la pollution atmosphérique

Les données de pollution atmosphérique concernant les PM10 et le NO2 pour l'ensemble des stations des deux zones d'étude (CUDL et CUD) sont décrites dans le tableau 1. Les matrices de corrélation des données de PM10 et NO2 sont présentées dans les tableaux 2 et 3, respectivement. Les résultats concernant le SO2 n'ont pas été présentés car les données quotidiennes des stations (en majorité de proximité industrielle) étaient très peu corrélées.

Les stations de fond de mesure des PM10 de la CUDL étaient celles de Lille Fives, Tourcoing, Marcq en Baroeul et Armentières. La station de Marcq en Baroeul possédait un pourcentage de valeurs manquantes très élevé (96.5 %). Les moyennes des mesures des trois autres stations étaient proches (différence maximale de $3 \mu\text{g}/\text{m}^3$). Les coefficients de corrélation entre les mesures de ces trois stations étaient tous supérieurs à 0.95. Les stations de fond de mesure des PM10 de la CUD étaient celles de Malo et St-Pol-sur-Mer Nord. La différence des moyennes entre les mesures quotidiennes de ces deux stations était de $1.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ et le coefficient de corrélation valait 0.75.

Les stations de fond de mesure du NO2 de la CUDL étaient Lille Fives, Marcq en Baroeul, Halluin et Armentières. Les moyennes des mesures de ces stations étaient proches (différence maximale de $6.9 \mu\text{g}/\text{m}^3$). Les coefficients de corrélation entre les mesures de ces

trois stations étaient tous supérieurs à 0.76. Les stations de fond de mesure du NO₂ de la CUD étaient St-Pol-sur-Mer Nord et Cappelle. La différence des moyennes entre les mesures quotidiennes de ces deux stations était de 8.7 µg/m³ et le coefficient de corrélation valait 0.85.

Pour la suite des analyses, les stations de fond décrites ci-dessus ont été sélectionnées et leurs mesures quotidiennes moyennées.

Tableau 1. Description des mesures quotidiennes de PM₁₀ et NO₂ par station ATMO (2011-2013)

Station ATMO	N (% valeurs manquantes)	Moyenne (SD)	Médiane (IQR)	Etendue
PM₁₀ (µg/m³) - CUDL				
Lille Fives	989 (6.3)	26.6 (15.4)	22 (19)	6.0 - 100.0
Roubaix Serres *	1016 (3.8)	29.4 (17)	24.3 (19)	4.0 - 121.0
Tourcoing	960 (9.1)	28.3 (16.5)	23.2 (18.9)	4.0 - 106.0
Marcq en Baroeul	37 (96.5)	18.7 (11)	16.1 (8.1)	6.3 - 58.0
Armentieres	1038 (1.7)	25.3 (16.1)	20 (18.4)	3.0 - 97.0
PM₁₀ (µg/m³) - CUD				
Malo	1052 (0.4)	25.3 (13.6)	21 (14)	5.0 - 122.8
St Pol mer Nord	998 (5.5)	23.8 (15.1)	20 (17.9)	3.0 - 104.2
Mardyck **	1027 (2.7)	21.4 (15.1)	16.4 (14.2)	2.0 - 107.0
Gravelines **	1012 (4.2)	21 (13.4)	17 (13)	2.0 - 91.3
Grande Synthe **	1026 (2.8)	26.8 (16)	23 (18)	4.0 - 119.8
NO₂ (µg/m³) - CUDL				
Lille Fives	1049 (0.7)	27.2 (11.9)	25 (16)	4.0 - 75.0
Roubaix Serres *	1025 (2.9)	34.2 (13.5)	32 (18)	7.0 - 78.0
Marcq en Baroeul	1040 (1.5)	24.9 (14.2)	22 (20)	2.0 - 78.0
Halluin	1037 (1.8)	20.3 (11)	18 (15)	0.0 - 69.0
Armentieres	989 (6.3)	23.9 (11.9)	22 (16)	4.0 - 90.0
NO₂ (µg/m³) - CUD				
St Pol mer Nord	1042 (1.3)	24.7 (12.9)	23 (17)	0.0 - 73.0
Cappelle	981 (7.1)	16 (10.9)	13 (14)	0.0 - 57.0
Mardyck **	1026 (2.8)	18.1 (13.5)	14 (18)	0.0 - 74.0
Grande synthe **	1047 (0.9)	21.7 (12.3)	20 (16)	1.0 - 76.0

* Station de proximité automobile

** Station de proximité industrielle

Tableau 2. Matrice de corrélation des mesures quotidiennes de PM10 par les stations ATMO de la CUDL et de la CUD (2011-2013)

Station ATMO	Lille Fives	Roubx Serres *	Trcg	Marc en Bl	Armt	Malo	St-Pol Mer Nord	Mdyck **	Gravl **	Grand Synth **
Lille Fives	-	0.95	0.96	0.97	0.99	0.79	0.69	0.59	0.65	0.57
Roubaix Serres *	0.95	-	0.90	0.91	0.95	0.73	0.70	0.59	0.63	0.60
Tourcoing	0.96	0.90	-	0.98	0.96	0.82	0.69	0.62	0.68	0.59
Marcq en Baroeul	0.97	0.91	0.98	-	0.97	0.81	0.66	0.57	0.65	0.60
Armentieres	0.99	0.95	0.96	0.97	-	0.85	0.73	0.63	0.72	0.61
Malo	0.79	0.73	0.82	0.81	0.85	-	0.75	0.75	0.85	0.75
St-Pol-Mer Nord	0.69	0.70	0.69	0.66	0.73	0.75	-	0.80	0.86	0.88
Mardyck **	0.59	0.59	0.62	0.57	0.63	0.75	0.80	-	0.91	0.80
Gravelines **	0.65	0.63	0.68	0.65	0.72	0.85	0.86	0.91	-	0.78
Grande Synthé **	0.57	0.60	0.59	0.60	0.61	0.75	0.88	0.80	0.78	-

* Station de proximité automobile

** Station de proximité industrielle

Tableau 3. Matrice de corrélation des mesures quotidiennes de NO2 par les stations ATMO de la CUDL et de la CUD (2011-2013)

Station ATMO	Lille Fives	Roubx Serres *	Marc en Bl	Hall	Armtr	St-Pol Mer Nord	Cappl	Mdyck **	Grand Synth **
Lille Fives	-	0.76	0.85	0.76	0.79	0.63	0.66	0.60	0.67
Roubaix Serres *	0.76	-	0.71	0.65	0.74	0.63	0.65	0.61	0.64
Marcq en Baroeul	0.85	0.71	-	0.87	0.90	0.73	0.77	0.75	0.81
Halluin	0.76	0.65	0.87	-	0.87	0.71	0.74	0.70	0.81
Armentieres	0.79	0.74	0.90	0.87	-	0.74	0.79	0.80	0.83
St-Pol-Mer Nord	0.63	0.63	0.73	0.71	0.74	-	0.85	0.73	0.85
Cappelle	0.66	0.65	0.77	0.74	0.79	0.85	-	0.85	0.87
Mardyck **	0.60	0.61	0.75	0.70	0.80	0.73	0.85	-	0.86
Grande synthé **	0.67	0.64	0.81	0.81	0.83	0.85	0.87	0.86	-

* Station de proximité automobile

** Station de proximité industrielle

Le tableau 4 décrit les séries de mesures quotidiennes moyennées issues des stations ATMO sélectionnées, par saison, ainsi que les paramètres météorologiques quotidiens. Une tendance saisonnière était notée. Les médianes (IQR) des taux de PM10 et NO2 étaient plus élevées en hiver (28 (23.4) et 32 (19) $\mu\text{g}/\text{m}^3$ pour la CUDL, respectivement ; 25 (19.1) et 25 (17) $\mu\text{g}/\text{m}^3$ pour la CUD, respectivement) qu'en été (25 (19.1) et 25 (17) $\mu\text{g}/\text{m}^3$ pour la CUDL, respectivement ; 19 (10.5) et 15 (11.3) $\mu\text{g}/\text{m}^3$ pour la CUD, respectivement).

Tableau 4. Description (médiane (IQR)) des moyennes des mesures quotidiennes de PM10, NO2 issues des stations de fond ATMO et paramètres météorologiques quotidiens issus des stations MétéoFrance (2011-2013)

	Toutes saisons	Hiver	Printemps	Eté	Automne	<i>p</i>
CUDL						
PM10 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	21.3 (17.4)	28 (23.4)	25 (21.3)	17 (9.9)	19.3 (16)	$<10^{-9}$
NO2 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	21.8 (16.3)	32 (19)	20 (12.3)	15.3 (8.5)	27.8 (13)	$<10^{-9}$
Précipitations (mm)	0.2 (2)	0 (1.4)	0 (1.5)	0.2 (1.8)	0.4 (3.2)	$<10^{-3}$
Températures sous abri ($^{\circ}\text{C}$)	11.6 (9)	4.9 (6.5)	12.4 (5.5)	17 (3.8)	8.8 (6.7)	$<10^{-9}$
Pression (mer) (HPA)	1016.3 (11.1)	1020.6 (14.3)	1015.6 (9.7)	1016.3 (8.3)	1015.1 (12.7)	$<10^{-6}$
Humidité relative (%)	79.5 (17)	87 (11)	71 (15.5)	73 (13)	86 (11)	$<10^{-9}$
CUD						
PM10 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	20.7 (14.5)	25 (19.1)	23 (17)	19 (10.5)	18.5 (10)	$<10^{-9}$
NO2 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	18.5 (15)	25 (17)	17.5 (18)	15 (11.3)	21 (12)	$<10^{-9}$
Précipitations (mm)	0.1 (1.8)	0 (1.6)	0 (1)	0 (1.2)	0.6 (3.5)	$<10^{-6}$
Températures sous abri ($^{\circ}\text{C}$)	11.4 (8.2)	6.3 (5.4)	11.4 (5)	17.1 (2.5)	10.7 (6.1)	$<10^{-9}$
Pression (mer) (HPA)	1016.2 (11.4)	1020.2 (14.3)	1015.7 (10.1)	1016 (8.7)	1014.2 (12.7)	$<10^{-9}$
Humidité relative (%)	79 (12)	84 (11)	77 (11)	76 (11)	81 (10)	$<10^{-9}$

Les coefficients de corrélation entre les zones d'étude valaient 0.79 et 0.81 pour les PM10 et le NO2, respectivement. Les coefficients de corrélation entre les mesures de PM10 et NO2 valaient 0.65 pour la CUDL et la CUD.

La figure 2 représente le niveau d'autocorrélation des mesures de PM10 et NO2 dans les deux zones d'étude. Les coefficients de corrélation entre les mesures de PM10 au jour J et J-1, J-2, J-3 valaient respectivement 0.75, 0.55 et 0.44 au niveau de la CUDL, et 0.65, 0.44, 0.32 respectivement au niveau de la CUD. Les coefficients de corrélation entre les mesures de PM10 au jour J et J-1, J-2, J-3 valaient respectivement 0.69, 0.48 et 0.41 au niveau de la CUDL, et 0.66, 0.41, 0.30 respectivement au niveau de la CUD. Le niveau d'autocorrélation des mesures de PM10 restait significatif pendant une cinquantaine de jours au niveau de la CUDL, une quinzaine au niveau de la CUD. Le niveau d'autocorrélation des mesures de NO2 restait significatif pendant une soixantaine de jours au niveau de la CUDL, une trentaine au niveau de la CUD. Par ailleurs, on notait une cyclicité hebdomadaire des mesures, particulièrement pour le NO2 dans la CUDL.

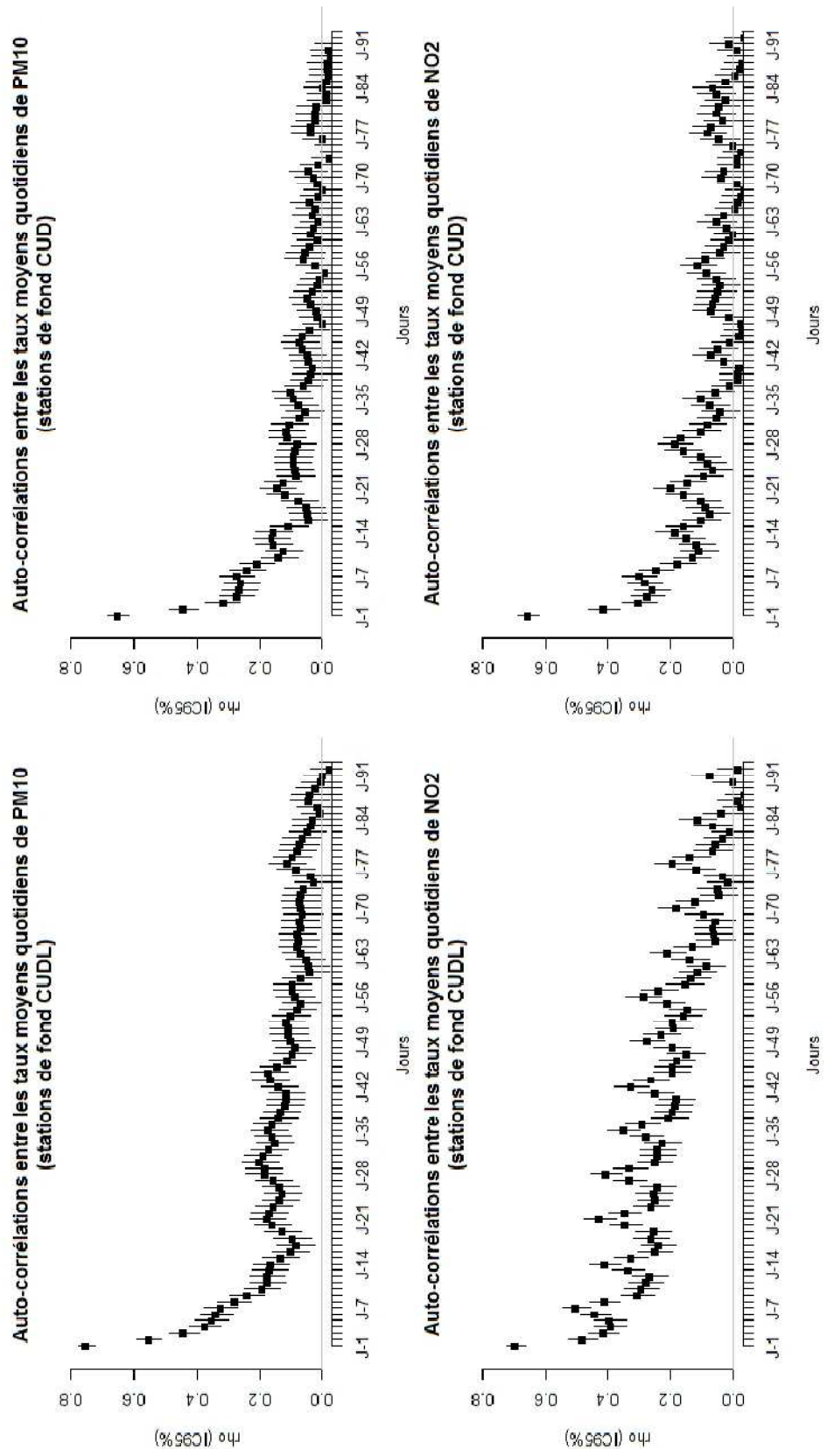


Figure 2. Autocorrélation entre les séries de mesures quotidiennes de PM10 et NO2 au niveau de la CUDL et de la CUD

6.3.3 Relation entre pollution et fonction respiratoire

Parmi les 3276 participants à l'enquête ELISABET, 1570 (47.9 %) ont été exclus : 233 sans spirométries acceptables, 143 avec au moins une valeur manquante pour l'une des covariables et 1194 avec une pathologie ou un traitement pulmonaire, un TVO ou un tabagisme actif ou passif. Au total, 1706 (52.1 %) participants ont été inclus dans cette étude.

Leurs caractéristiques sont présentées dans le tableau 5. L'âge moyen (SD) des participants était de 53.6 (7.2) ans. Il y avait 759 (44.5 %) hommes et 947 (55.5 %) femmes, 917 (53.8 %) participants issus de la CUDL et 789 (46.3 %) issus de la CUD.

Des associations brutes statistiquement significatives ont été observées entre les mesures de PM10 du jour et de la veille de la date de réalisation des examens spirométriques et les variables à expliquer suivantes : rapport VEMS/CVF, DEM25, DEP, CRPus. Concernant le NO2, des associations brutes significatives étaient observées avec les variables suivantes : rapport VEMS/CVF, DEM25, DEM50, DEP, CRPus (Tableau 5).

Le tableau 6 décrit ces associations après ajustement sur les variables suivantes : zone d'étude (CUDL/CUD), paramètres météorologiques (humidité, pression, température et précipitations), saison (hiver, printemps, été, automne), jour de la semaine, nombre de jours depuis le début de l'étude, vacances scolaires (oui/non) ainsi que sur âge, sexe, taille, IMC, niveau d'éducation, et statut tabagique (ancien fumeur : oui/non) des participants.

Les valeurs de DEM25 étaient significativement associées aux valeurs de PM10 (quartile (Q)2, Q3, Q4 vs. Q1 : -0.11 %, -2.50 %, -4.46 %, p de tendance = 0.028) et de NO2 (Q2, Q3, Q4 vs. Q1 : -0.42 %, -3.12 %, -5.65 %, p de tendance = 0.005). De plus, le rapport VEMS/CVF était associé aux valeurs de NO2 (Q2, Q3, Q4 vs. Q1 : -0.0015, -0.0056, -0.0069, p de tendance = 0.009). Enfin, les taux de CRPus étaient associés aux valeurs de PM10 (Q2, Q3, Q4 vs. Q1 : +1.27 %, +1.53 %, +8.34 %, p de tendance = 0.042). Les analyses de sensibilité conduites en modélisant ces relations à l'aide de modèles additifs généralisés retrouvaient des résultats similaires.

Tableau 5. Caractéristiques de la population et relations brutes avec les moyennes des mesures de PM10 et NO2 du jour et de la veille de la date de réalisation des examens spirométriques, n=1706.

	Statistiques descriptives	Relations brutes *			
		PM10 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	<i>p</i>	NO2 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	<i>p</i>
Age (année), moy (SD)	53.6 (7.2)				
Genre, n (%)					
masculin	759 (44.5)				
féminin	947 (55.5)				
Taille (cm), moy (SD)	168.9 (9)				
BMI (kg/m^2), moy (SD)	27 (5)				
Niveau d'études, n (%)					
< 9 ans	168 (9.9)				
9-12 ans	524 (30.7)				
12-15 ans	320 (18.8)				
15-17 ans	332 (19.5)				
> 17 ans	362 (21.2)				
Statut tabagique, n (%)					
jamais	1050 (61.6)				
ancien	656 (38.5)				
Centre, n (%)			0.335		<10 ⁻⁹
CUDL	917 (53.8)	27.8		26.2	
CUD	789 (46.3)	25.9		22.5	
Saison de réalisation de la spirométrie, n (%)			<10 ⁻⁹		<10 ⁻⁹
printemps	532 (31.2)	28.9		22.7	
été	414 (24.3)	22.0		18.2	
automne	407 (23.9)	22.8		25.7	
hiver	353 (20.7)	34.3		32.9	
VEMS/CVF, moy (SD)	0.78 (0.05)	-0.05	0.043	-0.09	<10 ⁻³
VEMS (ml), médiane (IQR)	3070 (1090)	-0.04	0.067	-0.03	0.166
CVF (ml), médiane (IQR)	3960 (1377.5)	-0.03	0.198	-0.01	0.676
DEM25 (ml/s), médiane (IQR)	1200 (680)	-0.08	<10 ⁻³	-0.09	<10 ⁻⁴
DEM50 (ml/s), médiane (IQR)	3950 (1650)	-0.03	0.202	-0.05	0.029
DEM75 (ml/s), médiane (IQR)	6725 (2460)	-0.03	0.181	-0.03	0.279
DEP (ml/s), médiane (IQR)	7930 (3100)	-0.06	0.010	-0.05	0.058
FENO (ppb), médiane (IQR)	15 (10)	0.03	0.369	0.00	0.989
b-EOS (mm/m^3), médiane (IQR)	141 (116)	0.02	0.501	-0.02	0.530
CRPus (mg/L), médiane (IQR)	0.96 (1.45)	0.06	0.021	0.05	0.042

* Tests de Kruskal-Wallis entre les mesures de PM10 ou NO2 et les variables qualitatives, coefficients de corrélation de Pearson entre les mesures de PM10 ou NO2 log-transformées et les variables quantitatives log-transformées (sauf rapport VEMS/CVF)

** n=1610

Tableau 6. Caractéristiques de la population et relations ajustées avec les moyennes des mesures de PM10 et NO2 du jour et de la veille de la date de réalisation des examens spirométriques, n=1706.

		PM10			NO2		
		Coefficient *	p tendance	p spline	Coefficient *	p tendance	p spline
VEMS/CVF	Q1	-			-		
	Q2	0.0002	0.106	0.136	-0.0015	0.009	0.017
	Q3	-0.0027			-0.0056		
	Q4	-0.0045			-0.0069		
VEMS	Q1	-			-		
	Q2	-0.37	0.918	0.561	1.71	0.991	0.729
	Q3	0.66			0.75		
	Q4	-0.15			0.46		
CVF	Q1	-			-		
	Q2	-0.43	0.526	0.531	1.87	0.250	0.460
	Q3	1.02			1.45		
	Q4	0.44			1.35		
DEM25	Q1	-			-		
	Q2	0.11	0.028	0.038	-0.42	0.005	0.004
	Q3	-2.50			-3.12		
	Q4	-4.46			-5.65		
DEM50	Q1	-			-		
	Q2	0.97	0.965	0.990	2.02	0.490	0.476
	Q3	1.57			-0.51		
	Q4	0.37			0.11		
DEM75	Q1	-			-		
	Q2	-2.03	0.883	0.611	2.40	0.726	0.347
	Q3	-0.86			-0.72		
	Q4	-0.76			0.91		
DEP	Q1	-			-		
	Q2	-3.14	0.188	0.276	1.61	0.476	0.841
	Q3	-0.96			-1.53		
	Q4	-2.33			-1.22		
CRPus **	Q1	-			-		
	Q2	1.27	0.042	0.043	1.95	0.091	0.154
	Q3	1.53			10.57		
	Q4	8.34			10.13		

* Coefficients exprimés en pourcentage d'augmentation ou de diminution des valeurs variables à expliquer log-transformées (toutes les variables à l'exception du rapport VEMS/CVF) par la formule suivante : $(\exp(\text{coefficient} - 1) \times 100$

** n=1610

Quartiles des mesures de PM10 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) : Q1=[6.15,16.6], Q2 =]16.6,21.9], Q3=]21.9,34.2], Q4=]34.2,87.4]

Quartiles des mesures du NO2 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) : Q1=[2.39,16], Q2=]16,22.4], Q3=]22.4,31.4], Q4=]31.4,73.2]

6.4 Premiers éléments de discussion

La moyenne des mesures de PM₁₀ du jour et de la veille de la date de réalisation des examens spirométriques était associée à des valeurs plus faibles du DEM₂₅ (Q4 vs. Q1 : -4,5 %, p de tendance = 0.028) et plus élevées de CRPus (Q4 vs. Q1 : +8.3 %, p de tendance = 0.042). La moyenne des mesures de NO₂ du jour et de la veille de la date de réalisation des examens spirométriques était associée à des valeurs plus faibles du DEM₂₅ (Q4 vs. Q1 : -5,6 %, p de tendance = 0.005) et du rapport VEMS/CVF (Q4 vs. Q1 : -0.0069, p de tendance = 0.009).

La méthodologie utilisée dans cette étude empruntait un certain nombre d'éléments à celle proposée par l'Institut de veille sanitaire pour conduire des évaluations de l'impact sanitaire de la pollution atmosphérique urbaine, et plus largement, sur celle des études s'appuyant sur des analyses de séries temporelles. Ainsi, la définition de la zone et de la période d'étude, de même que la sélection des stations de mesure des polluants et le traitement de ces données suivait les recommandations de l'InVS (Ung A et al. 2013).

La période d'étude (environ 3 ans) était suffisante. Concernant la validité de la zone d'étude (qui devait être considérée comme homogène pour la diffusion des polluants atmosphériques), tous les critères étaient respectés concernant la CUDL. La définition de la zone d'étude était compliquée au niveau de la CUD par la présence importante d'industries (notamment sur la zone portuaire de Dunkerque). Cependant, l'analyse de la rose des vents montrait que les vents chassaient probablement vers le large une partie des polluants émis par ces zones industrielles. Le niveau d'autocorrélation entre les données quotidiennes des polluants est d'ailleurs plus faible dans la CUDL que dans la CUD, ce qui s'explique probablement par l'action des vents dans la zone côtière de Dunkerque.

Nous n'avons pas analysé les données de SO₂, principal marqueur de la pollution d'origine industrielle. En effet, les niveaux de corrélation entre les différentes stations n'étaient pas suffisants. A ce stade de l'analyse, nous avons étudié les PM₁₀ et le NO₂, qui, bien que reflétant en partie la pollution d'origine industrielle (provenant des foyers de combustion), sont des marqueurs de la pollution d'origine automobile (les moyennes de NO₂ sont d'ailleurs plus élevées dans la CUDL que dans la CUD). Bien que n'ayant utilisé dans nos analyses que les stations de fond (au moins deux par polluant et zone d'étude), les données de PM₁₀ et de NO₂ de l'ensemble des stations de mesure de fond ou de proximité

industrielle de la CUDL étaient très corrélées. Ainsi, à partir de l'ensemble de ces éléments, nous avons validé la zone d'étude de la CUD.

A ce stade de l'analyse, il convient d'affiner la modélisation de la relation entre les mesures de polluants et les données spirométriques et d'inflammation. Nous avons pour l'instant considéré comme variables explicatives les moyennes des mesures de PM10 et NO2 du jour et de la veille de la date de réalisation des examens spirométriques. Il pourrait être intéressant d'utiliser un autre pas de temps. Nous avons ajusté les relations sur un ensemble de potentiels facteurs de confusion : la zone d'étude (CUDL/CUD), les paramètres météorologiques, la saison, le jour de la semaine, le nombre de jours depuis le début de l'étude (en raison du mode de recrutement, plus d'hommes jeunes ont été recrutés à la fin de l'enquête) et les vacances scolaires. Nous avons également ajusté l'ensemble des modèles sur l'âge, le sexe, la taille, l'IMC, le niveau d'éducation et le statut tabagique, variables habituellement liées aux données de la fonction ventilatoire. Cependant, il persiste une association statistiquement significative entre les niveaux de pollution et l'âge et le sexe des participants, même après ajustement sur l'ensemble de ces variables. Cette association est encore en cours d'exploration.

La plupart des études s'intéressant à l'impact à court terme de la pollution atmosphérique le faisait au travers de séries temporelles évaluant la relation avec des données sanitaires, comme les taux de mortalité ou d'hospitalisation (Atkinson et al. 2014; Mills et al. 2015; Buadong et al. 2009; Magas et al. 2007). Certaines études ont porté sur les associations entre les variations à court terme de taux de polluants atmosphériques et des paramètres spirométriques. A titre d'exemple, l'étude SALPADIA observait que CVF, VEMS, DEM25-75 variaient avec les taux de NO2, des poussières totales en suspension, et de l'ozone (Schindler et al. 2001). Notre étude confirmait une partie des résultats de l'étude SALPADIA, mais pour des niveaux de pollution en NO2 moins élevés (en moyenne 24,6 contre 36,6 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ dans l'étude SALPADIA, plus ancienne (recrutement réalisé en 1991)). De plus, notre étude offrait une plus longue durée d'étude : 3 ans contre une seule année. Par ailleurs, une étude longitudinale chez 21 femmes japonaises montrait que les taux élevés de particules en suspension étaient associés à des valeurs plus faibles du VEMS (Yoda et al. 2014). D'autres études observaient, contrairement à nos résultats, des associations entre l'augmentation des valeurs de FENO et des niveaux de polluants atmosphériques, tels que l'ozone (Modig et al. 2014), les particules en suspension (Kubesch et al. 2015) ou les gaz d'échappement diesel

(Barath et al. 2013). Ces résultats étaient toutefois inconsistants (Boogaard et al. 2013; Liu et al. 2013; Barath et al. 2013). Il serait malgré tout intéressant d'étudier dans notre population la relation entre ozone et FENO. Enfin, certains auteurs ont également observé une relation entre les variations à court terme de polluants atmosphériques et des marqueurs de l'inflammation systémique (Kubesch et al. 2015).

Les effets des variations des taux de PM10 et NO2 sur la fonction ventilatoire (et sur l'augmentation de la CRPus) étaient modestes. Cependant, ils ont été observés chez des sujets indemnes de pathologie pulmonaire et non-fumeurs. Ces résultats suggèrent qu'au-delà des effets bien connus des pics de pollution chez les personnes à risque, des niveaux modérés de pollution atmosphérique urbaine ont un impact même chez les sujets ne souffrant pas de pathologie sous-jacente. Ces effets sont faibles et sub-cliniques. Cependant, le fait qu'ils touchent l'ensemble de la population urbaine en fait un problème de santé publique potentiellement important.

En conclusion, les résultats de cette étude sont encore préliminaires et il convient d'être prudent quant à leur interprétation. Cependant, ils semblent suggérer qu'une exposition récente à des valeurs plus élevées de PM10 et NO2 soit associée à une diminution des valeurs du DEM25, du rapport VEMS/CVF (uniquement pour le NO2) et de la CRPus (uniquement pour les PM10), au sein de notre population d'adultes d'âge moyen sans pathologie pulmonaire du nord de la France.

7 Discussion générale

7.1 Synthèse des résultats

Ce mémoire de thèse était composé de cinq études. La première étude avait pour objectif d'estimer la prévalence, le sous-diagnostic, ainsi que les principaux facteurs de risque des TVO au sein de notre population issue des deux communautés urbaines de Lille et Dunkerque. Un total de 2263 participants (avec spirométries acceptables et reproductibles) était inclus dans cette étude, 1380 à Lille, 1283 à Dunkerque. Selon la définition utilisée, la prévalence des TVO dans la CUDL s'étendait de 10,8 % (LLN, GLI 2012) à 16 % (GOLD), celle dans la CUD s'étendait de 9,5 % (LLN, GLI 2012) à 13,7 % (GOLD). La prévalence des stades modérés à sévères des TVO dans la CUDL s'étendait de 4,8 % (LLN, GLI 2012) à 6,5 % (GOLD), celle dans la CUD s'étendait de 3,5 % (LLN, GLI 2012) à 5,2 % (GOLD).

Le taux de sous-diagnostic des TVO était proche des 75 %. Il restait supérieur à 60 % quand l'analyse était restreinte aux stades modérés à sévères. La proportion de symptômes des participants non-diagnostiqués (avec un TVO mesuré mais sans diagnostic préalable d'une pathologie responsable) était intermédiaire à celle des sujets sans TVO et des sujets avec un TVO diagnostiqué.

Les facteurs indépendamment associés aux TVO (GOLD tous stades) étaient l'âge ($p = 0,002$), le sexe masculin ($p = 0,009$), un IMC faible ($p = 0,001$) et la consommation tabagique ($p < 0,001$). La prévalence des TVO semblait légèrement plus importante dans la CUDL que dans la CUD (OR = 0,81 [0,64 ; 1,02]) mais cette association n'atteignait pas le seuil de significativité ($p = 0,079$).

La seconde étude avait pour objectif d'étudier l'évolution de la prévalence des principaux facteurs de risque cardiovasculaire dans la CUDL entre 1986 et 2013 à partir des données de quatre enquêtes transversales (MONICA₁₉₈₆₋₈₈, MONICA₁₉₉₅₋₉₆, MONALISA₂₀₀₅₋₀₇ et ELISABET₂₀₁₁₋₁₃). Entre l'enquête MONICA I et l'enquête ELISABET, la prévalence de l'hypertension artérielle a significativement diminué, aussi bien chez les hommes (de 70,5 à 42,5 %) que chez les femmes (de 56,6 à 34,3 %). La prévalence de la dyslipidémie a également diminué chez les hommes (de 71,1 à 58,3 %) et chez les femmes (de 60,9 à 41,9 %). La proportion des fumeurs actifs diminuait chez les hommes (de 44,1 à 24,7 %) mais

demeurait stable chez les femmes (environ 17 %). La prévalence du surpoids ou de l'obésité ($IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$) augmentait significativement chez les hommes (de 59,6 à 65,1 %), mais pas chez les femmes (environ 50 %). L'évolution de l'obésité seule ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$) n'était pas significative. La prévalence du diabète ne variait pas significativement entre MONICA II et ELISABET chez les hommes (de 9,5 à 10 %). A l'inverse, la prévalence du diabète chez les femmes diminuait significativement (de 8,9 à 5,4 %).

De plus, le risque d'accident coronarien fatal à 10 ans (calculé par le score SCORE) diminuait significativement sur cette période de 25 ans aussi bien chez les hommes (de 2,8 à 1,5 %) que chez les femmes (de 0,7 à 0,4 %). Cette diminution du risque cardiovasculaire était concomitante d'une diminution de la mortalité coronarienne estimée par le registre MONICA lillois. En 25 ans, le taux de mortalité coronarienne (standardisé sur l'âge) diminuait de moitié, passant de 119 à 56 décès pour 100 000 habitants chez les hommes, et de 32 à 18 décès pour 100 000 habitants chez les femmes.

Enfin, la proportion de certains FDRCV était plus élevée à Dunkerque qu'à Lille (tabagisme passif, surpoids ou obésité, activité physique basse chez les hommes ; obésité et activité physique basse chez les femmes) après ajustement sur l'âge et la CSP.

La troisième étude avait pour objectif d'étudier les interactions entre deux biomarqueurs de l'asthme (FENO et S-eos) et le statut tabagique. Un total de 1579 participants issus de la CUD a été inclus dans cette étude (812 non-fumeurs, 473 anciens fumeurs et 294 fumeurs actifs). L'échantillon était composé de 111 (7,3 %) participants atteints d'asthme.

Une interaction positive entre le statut tabagique et l'asthme allergique a été observée dans les modèles expliquant le FENO ($p = 0,003$) et les S-eos ($p = 0,001$). Ainsi, les participants souffrant d'asthme allergique avaient, comparés à ceux n'en souffrant pas, des valeurs plus élevées de FENO (+63,4 %, IC 95 % = [39; 92]) et de S-eos (+63,2 % [38,2; 92,7]) chez les non-fumeurs, mais pas chez les fumeurs actifs. Ces résultats étaient confirmés par une analyse ROC qui montrait que le FENO et les S-eos discriminaient modérément l'asthme allergique chez les non-fumeurs (AUC = 0,75 et 0,76, respectivement) et anciens fumeurs (AUC = 0,71 et 0,73, respectivement), mais pas chez les fumeurs actifs (AUC = 0,41 et 0,44, respectivement).

La quatrième étude avait pour objectif d'évaluer le rôle de médiateur de l'inflammation chronique de bas grade (mesurée par la CRPus) dans la relation entre diabète et baisse de la

fonction pulmonaire. Un total de 1878 participants sans pathologie pulmonaire ni athérosclérotique et non-fumeurs étaient inclus dans cette étude. L'effectif final incluait 164 (8,7 %) participants atteints de diabète.

L'étude de médiation retrouvait, premièrement, que le diabète était associé au taux de CRPus (+22,9 % [5,1 ; 43,6]). Deuxièmement, le taux de CRPus (> 4 vs. ≤ 1 mg/L) était associé à des pourcentages prédits plus faibles de VEMS (-4 % [-6,1; -1,9]) et de CVF (-4,4 % [-6,5; -2,3]). Troisièmement, le diabète était associé à une diminution des pourcentages prédits du VEMS (-3,5 % [-5,8; -1,3]) et de la CVF (-3,6 % [-5,9; -1,3]). Cette diminution de volume associée au diabète était réduite (-3,1 % [-5,4; -0,9] pour les deux associations) après ajustement sur la CRPus. Ainsi, la part médiée de cette association par la CRPus valait 12 % [2,4; 37] et 13 % [3,7; 39,4] pour le VEMS et la CVF, respectivement. Les analyses de sensibilité excluant les participants (i) obèses et en surpoids, (ii) fumeurs, (iii) prenant un traitement ayant un effet potentiel sur le taux de CRP, et (iv) ayant un taux de CRPus compris entre 3 et 10 mg/L, montraient des résultats similaires.

La cinquième étude avait pour objectif d'étudier l'impact à court terme de la pollution atmosphérique sur la fonction respiratoire. Les résultats de cette étude sont encore préliminaires. La zone d'étude était constituée de l'ensemble des communes des deux communautés urbaines de Lille et Dunkerque. La période d'étude était celle de l'inclusion des participants à l'enquête ELISABET (janvier 2011 à novembre 2013). A ce stade de l'analyse, les mesures de PM10 et de NO2 ont été analysées. Les critères d'éligibilité des stations de mesure du SO2 n'étaient pas atteints. La médiane des mesures quotidiennes de PM10 dans la CUDL et la CUD valait respectivement 21,3 et 20,7 µg/m³. Celle de NO2 était de 21,8 et 18,5 µg/m³, respectivement. Un total de 1706 participants à l'enquête ELISABET sans pathologie pulmonaire et non-fumeurs a été inclus dans l'analyse.

La moyenne des mesures de PM10 du jour et de la veille de la date de réalisation des examens spirométriques était associée à des valeurs plus faibles du DEM25 (Q4 vs. Q1 : -4,5 %, p de tendance = 0.028) et plus élevées de CRPus (Q4 vs. Q1 : +8.3 %, p de tendance = 0.042). La moyenne des mesures de NO2 du jour et de la veille de la date de réalisation des examens spirométriques était associée à des valeurs plus faibles du DEM25 (Q4 vs. Q1 : -5,6 %, p de tendance = 0.005) et du rapport VEMS/CVF (Q4 vs. Q1 : -0.0069, p de tendance = 0.009).

7.2 Apports et mise en perspective des résultats

Les deux premières études étaient descriptives. Les données de l'enquête ELISABET ont d'abord permis d'estimer la prévalence des TVO d'un échantillon représentatif d'adultes d'âge moyen issu de deux zones urbaines. Il s'agit des premières données françaises de prévalence des TVO mesurés sur critères spirométriques en population générale. Auparavant, Roche et al. estimaient en 2008 la prévalence des TVO (GOLD tous stades) d'une population française professionnellement active, recrutée en centres de santé, à 7,5 % (Roche et al. 2008). La prévalence observée dans cette étude était plus faible que dans notre population, ce qui s'explique probablement par un effet du travailleur sain. Deux autres études estimaient la prévalence des symptômes de bronchite chronique dans deux échantillons d'adultes en population générale à 3,4 % et 4,1 % (Ferré et al. 2012; Huchon et al. 2002). Cependant, nos résultats concordaient avec les travaux européens et américains les plus récents se basant sur des critères spirométriques sans test de réversibilité. A titre d'exemple, une étude récente estimait la prévalence des TVO tous stades (GOLD) à 14,5 % et celle des TVO modérés à sévères à 4,4 % chez 5476 américains âgés de 40 à 70 ans (Doney et al. 2014). En Angleterre, une autre étude estimait la prévalence des TVO chez 7879 sujets de 40 à 95 ans à 22,2 % (GOLD) et 13,1 % (LLN) (Scholes et al. 2014).

Il est maintenant bien connu que la BPCO, pathologie principalement responsable des TVO chez les adultes, est fortement sous-diagnostiquée (Mannino & Buist 2007; Hill et al. 2010; Soriano et al. 2010; Moreira et al. 2014; Evans et al. 2014). Les données de l'enquête ELISABET ont permis d'observer que le taux de sous-diagnostic des TVO au sein de notre population d'étude était également très élevé (environ 75 %). Cependant, un TVO est défini sur critères spirométriques et traduit un trouble fonctionnel plutôt qu'une pathologie. Ainsi, le diagnostic de BPCO nécessite, en pratique clinique, de recueillir un certain nombre d'éléments de l'anamnèse (facteurs de risque, symptômes...) en plus de la réalisation d'une spirométrie. On peut donc considérer qu'un certain nombre de participants chez lesquels nous avons mesuré un TVO ne souffrait pas d'une pathologie du type de la BPCO. Ainsi, afin de vérifier que les participants avec TVO non-diagnostiqué (avec un TVO mesuré mais sans diagnostic préalable d'une pathologie responsable) n'étaient pas des faux positifs, nous avons comparé la proportion de symptômes respiratoires entre les participants avec TVO non-diagnostiqué, diagnostiqué, et sans TVO. La proportion de symptômes chez les sujets avec TVO non-diagnostiqué était intermédiaire à celles des deux autres catégories,

suggérant que parmi les participants non-diagnostiqués, un certain nombre devait souffrir d'une pathologie sous-jacente. L'importance de ce sous-diagnostic s'explique probablement en partie par l'installation insidieuse des TVO, les patients ne reconnaissant pas leurs symptômes et considérant l'altération progressive de leur fonction pulmonaire comme un phénomène non pathologique. De plus, une meilleure formation et sensibilisation des soignants ainsi que la mise en place de stratégies de dépistage spirométrique ciblées sur les symptômes et les facteurs de risque de la BPCO (Schirrhofer et al. 2011) pourraient permettre de réduire l'impact de cette pathologie, actuellement troisième cause mondiale de mortalité (Lozano et al. 2012).

Enfin, cette étude permettait de répondre à l'objectif principal de l'enquête ELISABET qui était de comparer la prévalence des TVO des habitants de la communauté urbaine de Dunkerque (exposés à une pollution d'origine industrielle importante) à celle des habitants de la communauté Urbaine de Lille (moins exposés à la pollution d'origine industrielle). Nous n'avons pas observé de différence statistiquement significative dans la prévalence des TVO entre les deux communautés urbaines. Il semblait même que celle de la CUDL soit légèrement plus élevée que celle de la CUD (16 % vs. 13,7 %), mais sans atteindre le seuil de significativité statistique après ajustement sur un certain nombre de facteurs de confusion. Ces résultats suggèrent que la pollution atmosphérique d'origine industrielle observée à Dunkerque ne se traduit pas par une augmentation des pathologies respiratoires obstructives chez les dunkerquois. La pollution d'origine automobile, plus importante à Lille qu'à Dunkerque, pourrait également expliquer que l'on ne retrouve pas une prévalence des TVO plus élevée à Dunkerque qu'à Lille. Cette première étude devra être complétée par des études spatiales beaucoup plus précises, prenant notamment en compte le lieu d'habitation des participants. Ce type de modélisation est un travail complexe et fastidieux que nous n'avons pas encore débuté.

Les données de l'enquête ELISABET, ajoutées aux données de trois précédentes enquêtes transversales, nous ont ensuite donné l'opportunité d'étudier l'évolution de la prévalence des principaux FDRCV modifiables sur une période de 25 ans dans la communauté urbaine de Lille. Globalement, la prévalence des FDRCV diminuait ou demeurait stable (à l'exception d'une augmentation du surpoids chez les hommes). Ces résultats étaient similaires à ceux d'autres études menées en France (et de manière générale dans d'autres pays occidentaux). Néanmoins, la prévalence du diabète (environ 11 % chez les hommes et 6 % chez les

femmes) semblait plus élevée que dans d'autres études. Cependant, les différents types de diabète n'ont pas été discriminés dans cette étude, à l'inverse de beaucoup d'autres études considérant uniquement le diabète de type 2.

Le risque d'accident coronarien fatal à 10 ans (calculé par le score SCORE) diminuait de moitié, concomitamment à une diminution de la mortalité coronarienne estimée par le registre MONICA lillois. La diminution de la mortalité coronarienne, observée dans les autres registres MONICA (basés pour la plupart dans des pays occidentaux) (Tunstall-Pedoe et al. 1999; Wagner et al. 2011), peut s'expliquer par une meilleure prise en charge sanitaire, mais aussi par une amélioration de la prévention primaire (baisse de la prévalence des FDRCV, notamment) et secondaire (meilleur dépistage des maladies coronariennes). La réduction concomitante de la prévalence des FDRCV et celle des maladies coronariennes et de leur mortalité suggèrent que la prévention primaire a un impact majeur. Nos résultats suggèrent en effet que la réduction de la prévalence des FDRCV et l'amélioration de leur dépistage, de leur traitement et de leur contrôle (en particulier l'hypertension artérielle) ont largement contribué à la diminution globale du risque coronarien.

Les données de l'enquête ELISABET nous ont également permis de comparer la prévalence des FDRCV à Lille et Dunkerque. La prévalence (standardisée sur l'âge) de certains FDRCV était plus élevée à Dunkerque qu'à Lille (hypertension artérielle, tabagisme passif, surpoids ou obésité, activité physique basse chez les hommes ; surpoids ou obésité et activité physique basse chez les femmes). Après ajustement supplémentaire sur la CSP, les différences de prévalence de l'hypertension artérielle chez les hommes et du surpoids chez les femmes n'étaient plus significatives. Il est bien connu que la prévalence de l'obésité, de la faible activité physique et du tabagisme passif est fortement liée aux conditions socioéconomiques. Malgré l'ajustement sur la CSP, les différences de prévalence de ces facteurs entre les deux communautés urbaines s'expliquent probablement en partie par un effet de confusion résiduelle des conditions socioéconomiques. A titre d'exemple, la proportion d'habitants (âgés de 40 à 64 ans) avec au moins un niveau bac était de 47,8 % à Lille et de 33,4 % à Dunkerque en 2012 (www.insee.fr).

Après la réalisation de ces deux premières études descriptives, les données de l'enquête ELISABET nous ont permis d'obtenir des résultats analytiques originaux. Ainsi, dans une troisième étude, nous nous sommes intéressés à l'association entre l'asthme et deux biomarqueurs peu invasifs (FENO et S-eos) en fonction du statut tabagique. Nous avons

observé que ces deux marqueurs étaient associés à l'asthme allergique, mais uniquement chez les non (ou anciens) fumeurs, pas chez les fumeurs actifs.

De précédentes études suggéraient des relations complexes entre S-eos, asthme et tabac : si la consommation tabagique semble augmenter le taux de S-eos en population générale, cette relation semble inversée chez les asthmatiques (Sunyer et al. 2003; Telenga et al. 2013; Thomson et al. 2013). Récemment, plusieurs études ont évalué l'utilisation du taux de S-eos comme biomarqueur potentiellement intéressant dans la pathologie asthmatique (Malinowski et al. 2013; Zeiger et al. 2014; Tran et al. 2014; Lönnkvist et al. 2001; Katz et al. 2014; Busse et al. 2013). Cependant, notre étude était la première à observer que le taux de S-eos ne discrimine modérément les asthmatiques des non-asthmatiques que chez les non-fumeurs. Concernant le FENO, seuls quelques travaux avaient déjà étudié cette question clinique, mais les résultats étaient inconsistants (Malinowski et al. 2009; Spears et al. 2011; Malinowski et al. 2012; Michils et al. 2009). Bien que les résultats de notre étude transversale ne permettent pas d'apporter de conclusion sur l'utilité ou non du FENO dans la gestion prospective de l'asthme, ils ont confirmé que le FENO ne peut pas discriminer l'asthme allergique chez les fumeurs.

Le premier intérêt des résultats de notre étude est clinique. En effet il interroge la pertinence clinique de ces deux biomarqueurs chez les fumeurs asthmatiques, d'autant plus que la prévalence de la consommation tabagique chez les asthmatiques est élevée et similaire à celle rencontrée dans la population générale (James et al. 2005; Siroux et al. 2000). L'intérêt de ces résultats est également important dans le cadre d'études épidémiologiques utilisant de tels biomarqueurs comme marqueurs de l'inflammation éosinophilique. Enfin, cette étude fournit des éléments intéressants sur le plan des conséquences physiologiques de la consommation de tabac sur l'inflammation éosinophilique, évaluée par deux biomarqueurs, l'un local, l'autre systémique.

Les données de l'enquête ELISABET nous ont ensuite permis d'étudier la relation entre diabète et fonction ventilatoire, et plus particulièrement le rôle de l'inflammation dans cette relation. De nombreuses études ont observé que le diabète (et l'hyperglycémie de manière générale) était associé à une diminution des volumes pulmonaires (VEMS et CVF) suggérant que le poumon est un organe affecté par la pathologie diabétique. Plusieurs hypothèses étiologiques ont été avancées, en particulier l'inflammation systémique de bas grade (Klein et al. 2010).

Nous avons tout d'abord vérifié que le diabète était associé à des volumes pulmonaires plus faibles (-3,5 % pour le VEMS et -3,6 % pour la CVF) dans notre population d'étude. Nos résultats étaient similaires à ceux observés dans d'autres études transversales (van den Borst et al. 2010). Puis nous avons observé que l'inflammation chronique était un médiateur partiel de cette relation (c'est à dire un mécanisme au travers duquel le diabète diminuerait les volumes pulmonaires). Il s'agissait de la première étude à mettre en évidence statistiquement le rôle de médiateur partiel de l'inflammation, et à la quantifier (au travers de la mesure de la CRPus) à partir du ratio de médiation valant 12-13 %.

Enfin, une dernière étude épidémiologique (en cours de finalisation) portait sur l'impact à court terme de deux polluants atmosphériques sur la fonction pulmonaire des participants à l'enquête ELISABET indemnes de pathologie pulmonaire et non-fumeurs. La méthodologie utilisée empruntait un certain nombre d'éléments à celle proposée par l'Institut de veille sanitaire pour conduire des évaluations de l'impact sanitaire de la pollution atmosphérique. En effet, la plupart des études s'intéressant à l'impact à court terme de la pollution atmosphérique mettaient en évidence une relation avec des données sanitaires non spécifiques, comme le taux de mortalité ou les admissions aux urgences, à partir de l'étude de séries temporelles (Atkinson et al. 2014; Mills et al. 2015; Buadong et al. 2009; Magas et al. 2007).

Nos résultats sont pour l'instant préliminaires et méritent d'être interprétés avec prudence, cependant, ils semblent suggérer que les variations à court terme des valeurs de PM10 et NO2 sont associées à une diminution des valeurs du DEM25, du rapport VEMS/CVF (NO2) et de la CRPus (PM10), au sein de notre population. Ces résultats sont similaires avec d'autres (Schindler et al. 2001; Oftedal et al. 2008; Kubesch et al. 2015; Chen et al. 2015). Etant donné que les mesures de PM10 et NO2 étaient très corrélées, il semblait délicat d'identifier les effets propres à chacun des polluants. Leurs effets sur la fonction ventilatoire (et sur l'augmentation de la CRPus) semblaient être modestes, mais ils ont été observés chez des sujets indemnes de pathologie pulmonaire et non-fumeurs, et pour des concentrations modérées de polluants. Les effets que nous avons observés sont faibles et subcliniques mais ils touchent l'ensemble de la population urbaine, y compris celle ne souffrant pas de pathologie sous-jacente, ce qui en fait un problème de santé publique potentiellement important.

7.3 Conclusion générale

Les données de l'enquête ELISABET ont aidé à décrire l'état de santé respiratoire et cardiovasculaire de notre population issue des communautés urbaines de Lille et Dunkerque (nord de la France), en estimant la prévalence des troubles ventilatoires obstructifs et des principaux facteurs de risque cardiovasculaire. La prévalence des TVO s'étendait de 9,5 % à 16 % (dépendant du centre et de la définition utilisée), avec un taux de sous-diagnostic élevé. La prévalence des FDRCV diminuait globalement ces 25 dernières années à Lille, concomitamment à une diminution de la mortalité coronarienne estimée par le registre MONICA lillois.

Les données de l'enquête ELISABET ont également permis d'obtenir des résultats analytiques originaux au travers de trois autres études : (i) la fraction exhalée du NO et le taux d'éosinophiles sanguins sont associés à l'asthme allergique, uniquement chez les non-fumeurs, (ii) l'inflammation systémique de bas grade semble être un médiateur partiel dans la relation entre diabète et baisse de la fonction pulmonaire, et (iii) l'impact à court terme des PM10 et du NO2 semble (résultats préliminaires) se traduire par une baisse légère mais significative du DEM25 et du rapport VEMS/CVF (NO2), ainsi que par une augmentation des taux de CRPus (PM10).

Références (hors articles)

- Abbey, D.E. et al., 1998. Long-term particulate and other air pollutants and lung function in nonsmokers. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 158(1), pp.289–298.
- Abelsohn, A. et al., 2002. Identifying and managing adverse environmental health effects: 2. Outdoor air pollution. *CMAJ: Canadian Medical Association journal = journal de l'Association médicale canadienne*, 166(9), pp.1161–1167.
- Aggarwal, A.N. et al., 2011. Comparison of the lower confidence limit to the fixed-percentage method for assessing airway obstruction in routine clinical practice. *Respiratory care*, 56(11), pp.1778–1784.
- Alving, K., Janson, C. & Nordvall, L., 2006. Performance of a new hand-held device for exhaled nitric oxide measurement in adults and children. *Respiratory research*, 7, p.67.
- Ambrose, J.A. & Barua, R.S., 2004. The pathophysiology of cigarette smoking and cardiovascular disease: An update. *Journal of the American College of Cardiology*, 43(10), pp.1731–1737.
- American Thoracic Society & European Respiratory Society, 2005. ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide, 2005. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 171(8), pp.912–930.
- Amorim, M.M. et al., 2015. Nasal lavage is better than blood count in predicting sputum eosinophilia. *Clinical and Experimental Allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*, 45(5), pp.1006–1008.
- Anand, S.S. et al., 2008. Risk factors for myocardial infarction in women and men: insights from the INTERHEART study. *European Heart Journal*, 29(7), pp.932–940.
- Anon, 1988. The World Health Organization MONICA Project (monitoring trends and determinants in cardiovascular disease): a major international collaboration. WHO MONICA Project Principal Investigators. *Journal of clinical epidemiology*, 41(2), pp.105–114.
- Antosova, M. et al., 2009. Exhaled nitric oxide - circadian variations in healthy subjects. *European journal of medical research*, 14 Suppl 4, pp.6–8.
- Aronson, D. et al., 2006. Inverse association between pulmonary function and C-reactive protein in apparently healthy subjects. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 174(6), pp.626–632.
- Atkinson, R.W. et al., 2014. Epidemiological time series studies of PM_{2.5} and daily mortality and hospital admissions: a systematic review and meta-analysis. *Thorax*, 69(7), pp.660–665.

- ATMO Nord-Pas-de-Calais, 2006. *Bilan 2006 des mesures de métaux lourds*,
- ATMO Nord-Pas-de-Calais, 2007. *Bulletin "l'air des beffrois n°9 - hiver 2007,"*
- Backman, H. et al., 2015. Evaluation of the global lung function initiative 2012 reference values for spirometry in a Swedish population sample. *BMC Pulmonary Medicine*, 15. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4417328/> [Accessed September 21, 2015].
- Bakke, P.S. et al., 2011. Recommendations for epidemiological studies on COPD. *The European Respiratory Journal*, 38(6), pp.1261–1277.
- Barath, S. et al., 2013. Diesel exhaust but not ozone increases fraction of exhaled nitric oxide in a randomized controlled experimental exposure study of healthy human subjects. *Environmental Health: A Global Access Science Source*, 12, p.36.
- Barker, D.J. et al., 1991. Relation of birth weight and childhood respiratory infection to adult lung function and death from chronic obstructive airways disease. *BMJ (Clinical research ed.)*, 303(6804), pp.671–675.
- Bateman, E.D. et al., 2008. Global strategy for asthma management and prevention: GINA executive summary. *The European Respiratory Journal*, 31(1), pp.143–178.
- Bednarek, M. et al., 2008. Prevalence, severity and underdiagnosis of COPD in the primary care setting. *Thorax*, 63(5), pp.402–407.
- Beelen, R. et al., 2015. Natural-cause mortality and long-term exposure to particle components: an analysis of 19 European cohorts within the multi-center ESCAPE project. *Environmental Health Perspectives*, 123(6), pp.525–533.
- Beghè, B., Spanevello, A. & Fabbri, L.M., 2015. Eosinophilia in asthma: the easy way is not always the best. *The Lancet. Respiratory medicine*, 3(4), pp.260–261.
- Behrendt, C.E., 2005. Mild and moderate-to-severe COPD in nonsmokers: distinct demographic profiles. *Chest*, 128(3), pp.1239–1244.
- Bhatt, S.P. et al., 2014. Comparison of spirometric thresholds in diagnosing smoking-related airflow obstruction: authors' response. *Thorax*, 69(12), pp.1147–1148.
- Bjermer, L. et al., 2014. Current evidence and future research needs for FeNO measurement in respiratory diseases. *Respiratory Medicine*, 108(6), pp.830–841.
- Bommarito, L. et al., 2008. Exhaled nitric oxide in a population sample of adults. *Respiration*, 75(4), pp.386–392.
- Boogaard, H. et al., 2013. Respiratory effects of a reduction in outdoor air pollution concentrations. *Epidemiology (Cambridge, Mass.)*, 24(5), pp.753–761.
- Van den Borst, B. et al., 2010. Pulmonary function in diabetes: a metaanalysis. *Chest*, pp.393–406.

- Bowles, D.K. & Laughlin, M.H., 2011. Mechanism of beneficial effects of physical activity on atherosclerosis and coronary heart disease. *Journal of Applied Physiology*, 111(1), pp.308–310.
- Bowry, A.D.K. et al., 2015. The Burden of Cardiovascular Disease in Low- and Middle-Income Countries: Epidemiology and Management. *The Canadian Journal of Cardiology*, 31(9), pp.1151–1159.
- Brody, D.J. et al., 2013. Reference values and factors associated with exhaled nitric oxide: U.S. youth and adults. *Respiratory medicine*, 107(11), pp.1682–1691.
- Broisat, A. et al., 2005. Physiopathologie de la plaque d'athérome vulnérable. *Médecine nucléaire*, 29(4), pp.198–202.
- Buadong, D. et al., 2009. Association between PM10 and O3 levels and hospital visits for cardiovascular diseases in Bangkok, Thailand. *Journal of Epidemiology / Japan Epidemiological Association*, 19(4), pp.182–188.
- Buist, A.S. et al., 2007. International variation in the prevalence of COPD (the BOLD Study): a population-based prevalence study. *Lancet*, 370(9589), pp.741–750.
- Buist, A.S. et al., 2005. The Burden of Obstructive Lung Disease Initiative (BOLD): rationale and design. *COPD*, 2(2), pp.277–283.
- Busse, W. et al., 2013. High eosinophil count: a potential biomarker for assessing successful omalizumab treatment effects. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 132(2), pp.485–486.e11.
- Celli, B.R. et al., 2005. Airway obstruction in never smokers: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *The American Journal of Medicine*, 118(12), pp.1364–1372.
- Chapman, K.R. et al., 2006. Epidemiology and costs of chronic obstructive pulmonary disease. *The European respiratory journal*, 27(1), pp.188–207.
- Chen, B. & Kan, H., 2008. Air pollution and population health: a global challenge. *Environmental Health and Preventive Medicine*, 13(2), pp.94–101.
- Chen, C.-H. et al., 2015. Effects of particulate air pollution and ozone on lung function in non-asthmatic children. *Environmental Research*, 137, pp.40–48.
- Dawber, T.R., Moore, F.E. & Mann, G.V., 1957. Coronary heart disease in the Framingham study. *American Journal of Public Health and the Nation's Health*, 47(4 Pt 2), pp.4–24.
- Delmas, M.-C. & Fuhrman, C., 2010. L'asthme en France : synthèse des données épidémiologiques descriptives. *Revue des Maladies Respiratoires*, 27(2), pp.151–159.
- Delmas MC et al., 2008. *Asthme : prévalence et impact sur la vie quotidienne - Analyse des données de l'enquête décennale santé 2003 de l'Insee*, Saint-Maurice : Institut de veille sanitaire.

- Delmas MC et al., 2014. *Évolution de la prévalence de l'asthme chez l'enfant en France : enquêtes nationales de santé en milieu scolaire 2003-2008*, Available at: http://opac.invs.sante.fr/index.php?lvl=notice_display&id=12106.
- Deykin, A. et al., 1998. Expired nitric oxide after bronchoprovocation and repeated spirometry in patients with asthma. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 157(3 Pt 1), pp.769–775.
- Doney, B. et al., 2014. Prevalence of Airflow Obstruction in U.S. Adults Aged 40-79 Years: NHANES Data 1988-1994 and 2007-2010. *COPD*.
- DREAL Nord-Pas-de-Calais, 2006. *L'industrie au regard de l'environnement en 2005 (air)*,
- DREAL Nord-Pas-de-Calais, 2007. *L'industrie au regard de l'environnement en 2006*,
- Dressel, H. et al., 2008. Exhaled nitric oxide: independent effects of atopy, smoking, respiratory tract infection, gender and height. *Respiratory medicine*, 102(7), pp.962–969.
- Dweik, R.A. et al., 2011. An official ATS clinical practice guideline: interpretation of exhaled nitric oxide levels (FENO) for clinical applications. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 184(5), pp.602–615.
- Eisner, M.D. et al., 2010. An official American Thoracic Society public policy statement: Novel risk factors and the global burden of chronic obstructive pulmonary disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 182(5), pp.693–718.
- Essouma, M. & Noubiap, J.J.N., 2015. Is air pollution a risk factor for rheumatoid arthritis? *Journal of Inflammation (London, England)*, 12, p.48.
- Evans, J. et al., 2014. Estimating the prevalence of COPD in Canada: Reported diagnosis versus measured airflow obstruction. *Health reports*, 25(3), pp.3–11.
- Eze, I.C. et al., 2015. Association between ambient air pollution and diabetes mellitus in Europe and North America: systematic review and meta-analysis. *Environmental Health Perspectives*, 123(5), pp.381–389.
- Ezzati, M., 2005. Indoor air pollution and health in developing countries. *Lancet (London, England)*, 366(9480), pp.104–106.
- Fabbri, L.M. & Rabe, K.F., 2007. From COPD to chronic systemic inflammatory syndrome? *Lancet*, 370(9589), pp.797–799.
- Ferré, A. et al., 2012. Chronic bronchitis in the general population: influence of age, gender and socio-economic conditions. *Respiratory medicine*, 106(3), pp.467–471.
- Finkelstein, J., Cha, E. & Scharf, S.M., 2009. Chronic obstructive pulmonary disease as an independent risk factor for cardiovascular morbidity. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, 4, pp.337–349.

- Ford, E.S. & Mannino, D.M., 2004. Prospective association between lung function and the incidence of diabetes: findings from the National Health and Nutrition Examination Survey Epidemiologic Follow-up Study. *Diabetes Care*, 27(12), pp.2966–2970.
- Fuhrman, C. & Delmas, M.-C., 2010. Épidémiologie descriptive de la bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) en France. *Revue des Maladies Respiratoires*, 27(2), pp.160–168.
- Gall, E.T. et al., 2013. Indoor air pollution in developing countries: research and implementation needs for improvements in global public health. *American Journal of Public Health*, 103(4), pp.e67–72.
- Glantz, S.A. & Parmley, W.W., 1991. Passive smoking and heart disease. Epidemiology, physiology, and biochemistry. *Circulation*, 83(1), pp.1–12.
- GOLD report, 2015. *Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease - updated 2015*, Available at: http://www.goldcopd.org/uploads/users/files/GOLD_Report_2015_Sept2.pdf.
- Gordon, T. et al., 1977. Diabetes, blood lipids, and the role of obesity in coronary heart disease risk for women. The Framingham study. *Annals of Internal Medicine*, 87(4), pp.393–397.
- Guo, F.H. et al., 1995. Continuous nitric oxide synthesis by inducible nitric oxide synthase in normal human airway epithelium in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(17), pp.7809–7813.
- Halbert, R.J. et al., 2006. Global burden of COPD: systematic review and meta-analysis. *The European respiratory journal*, 28(3), pp.523–532.
- Hankinson, J.L., Odencrantz, J.R. & Fedan, K.B., 1999. Spirometric reference values from a sample of the general U.S. population. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 159(1), pp.179–187.
- Hill, K. et al., 2010. Prevalence and underdiagnosis of chronic obstructive pulmonary disease among patients at risk in primary care. *CMAJ: Canadian Medical Association journal = journal de l'Association médicale canadienne*, 182(7), pp.673–678.
- Hogg, J.C., 2004. Pathophysiology of airflow limitation in chronic obstructive pulmonary disease. *Lancet*, 364(9435), pp.709–721.
- Huang, W. et al., 2012. Inflammatory and oxidative stress responses of healthy young adults to changes in air quality during the Beijing Olympics. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 186(11), pp.1150–1159.
- Hubert, H.B. et al., 1983. Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26-year follow-up of participants in the Framingham Heart Study. *Circulation*, 67(5), pp.968–977.
- Huchon, G.J. et al., 2002. Chronic bronchitis among French adults: high prevalence and underdiagnosis. *The European respiratory journal*, 20(4), pp.806–812.

- James, A.L. et al., 2005. Decline in lung function in the Busselton Health Study: the effects of asthma and cigarette smoking. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 171(2), pp.109–114.
- Kalofoutis, C. et al., 2007. Type II diabetes mellitus and cardiovascular risk factors: Current therapeutic approaches. *Experimental & Clinical Cardiology*, 12(1), pp.17–28.
- Kannel, W.B., 1967. Habitual level of physical activity and risk of coronary heart disease: the Framingham study. *Canadian Medical Association Journal*, 96(12), pp.811–812.
- Kannel, W.B. et al., 1965. VASCULAR DISEASE OF THE BRAIN--EPIDEMIOLOGIC ASPECTS: THE FARMINGHAM STUDY. *American Journal of Public Health and the Nation's Health*, 55, pp.1355–1366.
- Kannel, W.B. & McGee, D.L., 1979. Diabetes and cardiovascular risk factors: the Framingham study. *Circulation*, 59(1), pp.8–13.
- Karakatsani, A. et al., 2003. Air pollution in relation to manifestations of chronic pulmonary disease: a nested case-control study in Athens, Greece. *European Journal of Epidemiology*, 18(1), pp.45–53.
- Karrasch, S. et al., 2011. Exhaled nitric oxide and influencing factors in a random population sample. *Respiratory medicine*, 105(5), pp.713–718.
- Katz, L.E. et al., 2014. Blood eosinophil count is a useful biomarker to identify patients with severe eosinophilic asthma. *Annals of the American Thoracic Society*, 11(4), pp.531–536.
- Khalili, B., Boggs, P.B. & Bahna, S.L., 2007. Reliability of a new hand-held device for the measurement of exhaled nitric oxide. *Allergy*, 62(10), pp.1171–1174.
- Kharitonov, S.A. et al., 1994. Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Lancet*, 343(8890), pp.133–135.
- Kharitonov, S.A. et al., 2003. Reproducibility of exhaled nitric oxide measurements in healthy and asthmatic adults and children. *The European respiratory journal*, 21(3), pp.433–438.
- Killian, K.J. et al., 2000. Symptom perception during acute bronchoconstriction. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 162(2 Pt 1), pp.490–496.
- Kim, S.-H. et al., 2010. Reference values and determinants of exhaled nitric oxide in healthy Korean adults. *The Journal of asthma: official journal of the Association for the Care of Asthma*, 47(5), pp.563–567.
- Klein, O.L. et al., 2010. Systematic review of the association between lung function and Type 2 diabetes mellitus. *Diabetic medicine: a journal of the British Diabetic Association*, 27(9), pp.977–987.
- Kostikas, K. et al., 2011. Exhaled nitric oxide in asthma in adults: the end is the beginning? *Current medicinal chemistry*, 18(10), pp.1423–1431.

- Kovesi, T., Kulka, R. & Dales, R., 2008. Exhaled nitric oxide concentration is affected by age, height, and race in healthy 9- to 12-year-old children. *Chest*, 133(1), pp.169–175.
- Kubesch, N.J. et al., 2015. Respiratory and inflammatory responses to short-term exposure to traffic-related air pollution with and without moderate physical activity. *Occupational and Environmental Medicine*, 72(4), pp.284–293.
- Lai, C.K.W. et al., 2009. Global variation in the prevalence and severity of asthma symptoms: phase three of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Thorax*, 64(6), pp.476–483.
- Lamprecht, B. et al., 2011. COPD in never smokers: results from the population-based burden of obstructive lung disease study. *Chest*, 139(4), pp.752–763.
- Leutenegger, M., 1995. Macroangiopathie diabétique, physiopathologie, implications thérapeutiques. *Sang Thrombose Vaisseaux*, 7(4), pp.247–56.
- Levesque, M.C. et al., 2008. Determinants of exhaled nitric oxide levels in healthy, nonsmoking African American adults. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 121(2), pp.396–402.e3.
- Levy, M.L. et al., 2006. International Primary Care Respiratory Group (IPCRG) Guidelines: diagnosis of respiratory diseases in primary care. *Primary Care Respiratory Journal: Journal of the General Practice Airways Group*, 15(1), pp.20–34.
- Liu, C. et al., 2013. Effects of air pollution on exhaled nitric oxide in children: Results from the GINIplus and LISApplus studies. *International journal of hygiene and environmental health*.
- Liu, Y. et al., 2008. Outdoor and indoor air pollution and COPD-related diseases in high- and low-income countries. *The international journal of tuberculosis and lung disease: the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease*, 12(2), pp.115–127.
- Lloyd-Jones, D.M. et al., 1999. Lifetime risk of developing coronary heart disease. *Lancet (London, England)*, 353(9147), pp.89–92.
- Lloyd-Jones, D.M. et al., 2004. Parental cardiovascular disease as a risk factor for cardiovascular disease in middle-aged adults: a prospective study of parents and offspring. *JAMA*, 291(18), pp.2204–2211.
- Lönnkvist, K. et al., 2001. Eosinophil markers in blood, serum, and urine for monitoring the clinical course in childhood asthma: impact of budesonide treatment and withdrawal. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 107(5), pp.812–817.
- Lopez, A.D. et al., 2006. Global and regional burden of disease and risk factors, 2001: systematic analysis of population health data. *Lancet (London, England)*, 367(9524), pp.1747–1757.

- Lozano, R. et al., 2012. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet (London, England)*, 380(9859), pp.2095–2128.
- Magas, O.K., Gunter, J.T. & Regens, J.L., 2007. Ambient air pollution and daily pediatric hospitalizations for asthma. *Environmental Science and Pollution Research International*, 14(1), pp.19–23.
- Malinowski, A. et al., 2009. Both allergic and nonallergic asthma are associated with increased FE(NO) levels, but only in never-smokers. *Allergy*, 64(1), pp.55–61.
- Malinowski, A. et al., 2013. Exhaled nitric oxide levels and blood eosinophil counts independently associate with wheeze and asthma events in National Health and Nutrition Examination Survey subjects. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 132(4), pp.821–827.e1–5.
- Malinowski, A. et al., 2012. The value of exhaled nitric oxide to identify asthma in smoking patients with asthma-like symptoms. *Respiratory medicine*, 106(6), pp.794–801.
- Mannino, D.M. et al., 2006. The natural history of chronic obstructive pulmonary disease. *The European Respiratory Journal: Official Journal of the European Society for Clinical Respiratory Physiology*, 27(3), pp.627–643.
- Mannino, D.M. & Buist, A.S., 2007. Global burden of COPD: risk factors, prevalence, and future trends. *Lancet*, 370(9589), pp.765–773.
- Di Marco, F. et al., 2013. Chronic obstructive pulmonary disease diagnosis: the simpler the better? Not always. *European journal of internal medicine*, 24(3), pp.199–202.
- Marks, G.B., 2012. Are reference equations for spirometry an appropriate criterion for diagnosing disease and predicting prognosis? *Thorax*, 67(1), pp.85–87.
- Marques-Vidal, P. et al., 2004. Change in cardiovascular risk factors in France, 1985-1997. *European journal of epidemiology*, 19(1), pp.25–32.
- Matsunaga, K. et al., 2010. Reference ranges for exhaled nitric oxide fraction in healthy Japanese adult population. *Allergology international: official journal of the Japanese Society of Allergology*, 59(4), pp.363–367.
- McKee, P.A. et al., 1971. The natural history of congestive heart failure: the Framingham study. *The New England Journal of Medicine*, 285(26), pp.1441–1446.
- McSharry, C.P. et al., 2005. Short and long-term effects of cigarette smoking independently influence exhaled nitric oxide concentration in asthma. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 116(1), pp.88–93.
- Menezes, A.M.B. et al., 2005. Chronic obstructive pulmonary disease in five Latin American cities (the PLATINO study): a prevalence study. *Lancet*, 366(9500), pp.1875–1881.

- Menezes, A.M.B. et al., 2004. The Platino project: methodology of a multicenter prevalence survey of chronic obstructive pulmonary disease in major Latin American cities. *BMC medical research methodology*, 4, p.15.
- Michils, A. et al., 2009. Exhaled nitric oxide as a marker of asthma control in smoking patients. *The European respiratory journal*, 33(6), pp.1295–1301.
- Miller, M.R., 2014. Comparison of spirometric thresholds in diagnosing smoking-related airflow obstruction. *Thorax*, 69(12), pp.1145–1146.
- Miller, M.R. et al., 2005. Standardisation of spirometry. *The European respiratory journal*, 26(2), pp.319–338.
- Mills, I.C. et al., 2015. Quantitative systematic review of the associations between short-term exposure to nitrogen dioxide and mortality and hospital admissions. *BMJ open*, 5(5), p.e006946.
- Modig, L. et al., 2014. Short-term exposure to ozone and levels of exhaled nitric oxide. *Epidemiology (Cambridge, Mass.)*, 25(1), pp.79–87.
- Møller, P. et al., 2014. Oxidative stress and inflammation generated DNA damage by exposure to air pollution particles. *Mutation Research. Reviews in Mutation Research*, 762, pp.133–166.
- Moreira, G.L. et al., 2014. PLATINO, a nine-year follow-up study of COPD in the city of São Paulo, Brazil: the problem of underdiagnosis. *Jornal brasileiro de pneumologia: publicação oficial da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia*, 40(1), pp.30–37.
- Numan, M.S., Brown, J.P. & Michou, L., 2015. Impact of air pollutants on oxidative stress in common autophagy-mediated aging diseases. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12(2), pp.2289–2305.
- Ober, C., 2005. Perspectives on the past decade of asthma genetics. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 116(2), pp.274–278.
- Oftedal, B. et al., 2008. Residential outdoor air pollution and lung function in schoolchildren. *Epidemiology (Cambridge, Mass.)*, 19(1), pp.129–137.
- Olin, A.C. et al., 2001. Increased nitric oxide in exhaled air after intake of a nitrate-rich meal. *Respiratory medicine*, 95(2), pp.153–158.
- Olin, A.-C. et al., 2006. Height, age, and atopy are associated with fraction of exhaled nitric oxide in a large adult general population sample. *Chest*, 130(5), pp.1319–1325.
- Pascal, M. et al., 2014. Short-term impacts of particulate matter (PM₁₀, PM_{10-2.5}, PM_{2.5}) on mortality in nine French cities. *Atmospheric Environment*, 95, pp.175–184.
- Paul, W.E. & Zhu, J., 2010. How are T(H)2-type immune responses initiated and amplified? *Nature Reviews. Immunology*, 10(4), pp.225–235.

- Pauwels, R.A. & Rabe, K.F., 2004. Burden and clinical features of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Lancet*, 364(9434), pp.613–620.
- Pellegrino, R. et al., 2005. Interpretative strategies for lung function tests. *The European respiratory journal*, 26(5), pp.948–968.
- Peters, J.M. et al., 1999. A study of twelve Southern California communities with differing levels and types of air pollution. II. Effects on pulmonary function. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 159(3), pp.768–775.
- Pigeyre, M. et al., 2011. Effects of occupational and educational changes on obesity trends in France: the results of the MONICA-France survey 1986-2006. *Preventive medicine*, 52(5), pp.305–309.
- Poirier G & Lacoste O, 2012. *Diagnostics statistiques des Contrats Locaux de Santé - CLS de la CU de Dunkerque*, ORS NPDC.
- Poirier, P. et al., 2006. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on Obesity and Heart Disease from the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation*, 113(6), pp.898–918.
- Price, J.F. et al., 1999. Relationship between smoking and cardiovascular risk factors in the development of peripheral arterial disease and coronary artery disease: Edinburgh Artery Study. *European Heart Journal*, 20(5), pp.344–353.
- Pride, K.R. et al., 2015. Association of short-term exposure to ground-level ozone and respiratory outpatient clinic visits in a rural location - Sublette County, Wyoming, 2008-2011. *Environmental Research*, 137, pp.1–7.
- Prouvost H & Declercq, 2003. Santé et environnement : une exploration des enjeux sur le territoire de la Communauté Urbaine de Dunkerque. *Observatoire Régional de la Santé - Nord Pas de Calais*. Available at: <http://www.orsnpdc.org/documents/sante-et-environnement-une-exploration-des-enjeux-sur-le-territoire-de-la-communaute-urbaine-de-dunkerque/> [Accessed October 14, 2015].
- Quanjer, P.H., Hall, G.L., et al., 2012. Age- and height-based prediction bias in spirometry reference equations. *The European respiratory journal*, 40(1), pp.190–197.
- Quanjer, P.H. et al., 1993. Lung volumes and forced ventilatory flows. *The European Respiratory Journal*, 6 Suppl 16, pp.5–40.
- Quanjer, P.H., Stanojevic, S., et al., 2012. Multi-ethnic reference values for spirometry for the 3-95-yr age range: the global lung function 2012 equations. *The European respiratory journal*, 40(6), pp.1324–1343.
- Quanjer, P.H., Stanojevic, S. & Thompson, B.R., 2014. Spirometric thresholds and biased interpretation of test results. *Thorax*, 69(12), p.1146.
- Roche, N. et al., 2008. Impact of chronic airflow obstruction in a working population. *The European respiratory journal*, 31(6), pp.1227–1233.

- Rycroft, C.E. et al., 2012. Epidemiology of chronic obstructive pulmonary disease: a literature review. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, 7, pp.457–494.
- Salvi, S.S. & Barnes, P.J., 2009. Chronic obstructive pulmonary disease in non-smokers. *Lancet*, 374(9691), pp.733–743.
- Schikowski, T. et al., 2005. Long-term air pollution exposure and living close to busy roads are associated with COPD in women. *Respiratory Research*, 6, p.152.
- Schindler, C. et al., 2001. Short-term variation in air pollution and in average lung function among never-smokers. The Swiss Study on Air Pollution and Lung Diseases in Adults (SAPALDIA). *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 163(2), pp.356–361.
- Schirnhofner, L. et al., 2011. Using targeted spirometry to reduce non-diagnosed chronic obstructive pulmonary disease. *Respiration; international review of thoracic diseases*, 81(6), pp.476–482.
- Scholes, S., Moody, A. & Mindell, J.S., 2014. Estimating population prevalence of potential airflow obstruction using different spirometric criteria: a pooled cross-sectional analysis of persons aged 40-95 years in England and Wales. *BMJ open*, 4(7), p.e005685.
- Van der Schouw, Y.T. et al., 1996. Age at menopause as a risk factor for cardiovascular mortality. *Lancet (London, England)*, 347(9003), pp.714–718.
- See, K.C. & Christiani, D.C., 2013. Normal values and thresholds for the clinical interpretation of exhaled nitric oxide levels in the US general population: results from the National Health and Nutrition Examination Survey 2007-2010. *Chest*, 143(1), pp.107–116.
- Silkoff, P.E. et al., 1999. Exhaled nitric oxide after beta2-agonist inhalation and spirometry in asthma. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 159(3), pp.940–944.
- Siroux, V. et al., 2000. Relationships of active smoking to asthma and asthma severity in the EGEA study. Epidemiological study on the Genetics and Environment of Asthma. *The European respiratory journal*, 15(3), pp.470–477.
- Song, Q. et al., 2014. The global contribution of outdoor air pollution to the incidence, prevalence, mortality and hospital admission for chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11(11), pp.11822–11832.
- Soriano, J.B. et al., 2010. Recent trends in COPD prevalence in Spain: a repeated cross-sectional survey 1997-2007. *The European respiratory journal*, 36(4), pp.758–765.
- Spears, M. et al., 2011. Bronchial nitric oxide flux (J'aw) is sensitive to oral corticosteroids in smokers with asthma. *Respiratory medicine*, 105(12), pp.1823–1830.

- Stanojevic, S. et al., 2008. Reference ranges for spirometry across all ages: a new approach. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 177(3), pp.253–260.
- Stoller, J.K. & Aboussouan, L.S., 2005. Alpha1-antitrypsin deficiency. *Lancet (London, England)*, 365(9478), pp.2225–2236.
- Sunyer, J. et al., 2006. Chronic bronchitis and urban air pollution in an international study. *Occupational and Environmental Medicine*, 63(12), pp.836–843.
- Sunyer, J. et al., 2003. Effects of asthma on cell components in peripheral blood among smokers and non-smokers. *Clinical and experimental allergy: journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*, 33(11), pp.1500–1505.
- Taylor, D.R. et al., 2007. Factors affecting exhaled nitric oxide measurements: the effect of sex. *Respiratory research*, 8, p.82.
- Taylor, D.R., Pijnenburg, M.W. & Smith, A.D., 2006. Exhaled nitric oxide measurements: clinical application and interpretation. *Thorax*, 61(9), pp.817–827.
- Telenga, E.D. et al., 2013. Inflammation and corticosteroid responsiveness in ex-, current- and never-smoking asthmatics. *BMC pulmonary medicine*, 13, p.58.
- Thiering, E. & Heinrich, J., 2015. Epidemiology of air pollution and diabetes. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*, 26(7), pp.384–394.
- Thomson, N.C. et al., 2013. Clinical outcomes and inflammatory biomarkers in current smokers and exsmokers with severe asthma. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 131(4), pp.1008–1016.
- Tilloy, E. et al., 2010. Characteristics of current smokers, former smokers, and second-hand exposure and evolution between 1985 and 2007. *European journal of cardiovascular prevention and rehabilitation: official journal of the European Society of Cardiology, Working Groups on Epidemiology & Prevention and Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology*, 17(6), pp.730–736.
- To, T. et al., 2012. Global asthma prevalence in adults: findings from the cross-sectional world health survey. *BMC public health*, 12, p.204.
- Tran, T.N. et al., 2014. High blood eosinophil count is associated with more frequent asthma attacks in asthma patients. *Annals of allergy, asthma & immunology: official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*, 113(1), pp.19–24.
- Travers, J. et al., 2007. Reference ranges for exhaled nitric oxide derived from a random community survey of adults. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 176(3), pp.238–242.
- Trupin, L. et al., 2003. The occupational burden of chronic obstructive pulmonary disease. *The European Respiratory Journal*, 22(3), pp.462–469.

- Tunstall-Pedoe, H. et al., 1999. Contribution of trends in survival and coronary-event rates to changes in coronary heart disease mortality: 10-year results from 37 WHO MONICA project populations. *Monitoring trends and determinants in cardiovascular disease. Lancet (London, England)*, 353(9164), pp.1547–1557.
- Ung A et al., 2013. *Comment réaliser une évaluation de l'impact sanitaire de la pollution atmosphérique urbaine ?*, Paris, Saint Maurice: Institut de veille sanitaire. Available at: <http://www.invs.sante.fr/Publications-et-outils/Guides/Comment-realiser-une-evaluation-de-l-impact-sanitaire-de-la-pollution-atmospherique-urbaine>.
- Vestbo, J. et al., 2013. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: GOLD executive summary. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 187(4), pp.347–365.
- Vints, A.-M. et al., 2005. Time-dependent effect of nitrate-rich meals on exhaled nitric oxide in healthy subjects. *Chest*, 128(4), pp.2465–2470.
- Vollmer, W.M. et al., 2009. Comparison of spirometry criteria for the diagnosis of COPD: results from the BOLD study. *The European respiratory journal*, 34(3), pp.588–597.
- Vos, T. et al., 2012. Years lived with disability (YLDs) for 1160 sequelae of 289 diseases and injuries 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet (London, England)*, 380(9859), pp.2163–2196.
- Wagner, A. et al., 2011. Evolution de la maladie coronaire en France de 2000 à 2007. *BEH*, (40-41), pp.415–9.
- Willerson, J.T. & Ridker, P.M., 2004. Inflammation as a cardiovascular risk factor. *Circulation*, 109(21 Suppl 1), pp.112–10.
- Willett, W.C. et al., 1987. Relative and absolute excess risks of coronary heart disease among women who smoke cigarettes. *The New England Journal of Medicine*, 317(21), pp.1303–1309.
- World Health Organization, 2013. *World Health Statistics 2013*, Available at: http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2013/en/.
- Yoda, Y. et al., 2014. Acute effects of summer air pollution on pulmonary function and airway inflammation in healthy young women. *Journal of Epidemiology / Japan Epidemiological Association*, 24(4), pp.312–320.
- Zeiger, R.S. et al., 2014. High blood eosinophil count is a risk factor for future asthma exacerbations in adult persistent asthma. *The journal of allergy and clinical immunology. In practice*, 2(6), pp.741–750.