



HAL
open science

Perturbateurs endocriniens et preuves épidémiologiques en santé au travail: nécessité et défis méthodologiques

Jean-Bernard Henrotin

► **To cite this version:**

Jean-Bernard Henrotin. Perturbateurs endocriniens et preuves épidémiologiques en santé au travail: nécessité et défis méthodologiques. *Environnement, Risques & Santé*, 2017, 16 (5), pp.479-490. <hal-01655327>

HAL Id: hal-01655327

<https://hal.science/hal-01655327v1>

Submitted on 4 Dec 2017

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

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



HAL Authorization

**Perturbateurs endocriniens et preuves épidémiologiques en santé au travail:
nécessité et défis méthodologiques**

(Endocrine disruptors and epidemiological evidence: methodological challenges)

RUBRIQUE: synthèse

AUTEUR : Henrotin Jean-Bernard

Adresse professionnelle : Institut National de Recherche et Sécurité, Département
Epidémiologie en Entreprise, 1 rue du Morvan, CS 60027, 54519 vandoeuvre-Les-Nancy
Cedex

Tél : 03 83 50 86 12

Fax : 03 83 50 20 15

Email : jeanbernardhenrotin@wanadoo.fr

Mots clés : perturbateurs endocriniens chimiques ; exposition professionnelle ; étude observationnelle.

Key words : disruptors; endocrine; occupational exposure; observational study.

Résumé

Concernant les perturbateurs endocriniens, si les études expérimentales animales sont conséquentes avec en conclusion des effets biologiques et nocifs sur les organismes vivants solidement argumentés, il en est tout autrement pour les études épidémiologiques, notamment en santé en travail. Globalement le niveau de preuve de ces études est plutôt faible pour établir une relation de cause à effet. Si par nature les études épidémiologiques observationnelles sont porteuses de limites méthodologiques, celles sur les PE présentent des complications spécifiques. Il est proposé dans cette présentation de rapporter les préoccupations clef rencontrées dans la mise en place d'étude épidémiologique sur les PE notamment en milieu de travail.

Des interrogations existent quant à la survenue d'effets des PE pour des faibles concentrations d'exposition voire très faibles concentrations. Quantifier ces faibles doses et pouvoir montrer des différences d'effets entre groupes exposé et non exposé est un premier défi méthodologique. Trouver des groupes contrôles pertinents en est un autre du fait de l'existence d'un bruit de fond d'exposition au PE en population générale. Expérimentalement, il apparaît que les très faibles effets non repérables de certains PE peuvent se combiner (effets additifs ou synergiques) et si ceux-ci sont présents en nombre suffisant avoir un effet propre repérable. Ainsi, la possibilité d'effets combinés de PE peut augmenter le niveau de risque dans le groupe contrôle et diminuer encore la possibilité de mettre en évidence un effet. De ce constat, une autre conséquence est à déduire. Les études épidémiologiques en général se focalisent sur la recherche d'effet propre molécule par molécule. En phase avec les résultats expérimentaux, certaines études épidémiologiques ne rapportent pas d'association pour des PE testés individuellement mais rapportent des associations positives pour des combinaisons de PE. Si ces résultats ne permettent pas de

conclusions définitives, les outils d'investigations des expositions de mélange de substances (mixture) doivent être développés. Prendre en compte l'existence de courbes dose-réponse non monotones est un autre souci de taille. Elles peuvent expliquer des résultats paradoxaux comme des effets plus forts à faibles doses qu'à fortes doses et des résultats divergents entre études épidémiologiques. Des effets différents suivant le moment de l'exposition est une autre particularité partagée pour un certain nombre de PEs. Sur le plan méthodologique et concernant l'impact sur un organisme en développement (e.g. fœtus), pouvoir être en capacité de mesurer les niveaux d'exposition durant des fenêtres de temps relativement précises se présente comme un enjeu fort pour démontrer un lien entre PEs et évènement de santé.

Ces complications spécifiques expliquent sans doute le faible nombre d'études épidémiologiques en santé au travail sur les PEs. Au regard de la complexité des mécanismes de régulation de l'organisme humain et des différences inter-espèces, les modèles animaux peuvent ne pas être toujours pertinents. Il existe particulièrement pour l'étude des PEs une difficulté d'extrapoler à l'Homme les données animales. Pour évaluer l'importance de ce facteur de risque émergent en termes d'impact sur la santé humaine, le développement d'étude épidémiologique est une impérieuse nécessité.

Abstract

If in animal it exist strong evidence about biological and adverse effects after exposure of EDs, this is different in human. In human, there are few epidemiological studies and globally, level of evidence is weak. All human observational studies have limitation, but studies of EDs have specific complications compared of other risk factors. In this presentation, we discuss some key issues about EDs which should be considered to design epidemiological studies.

Questions exist concerning the occurrence of effects of PEs for low concentrations. To quantify these low doses and to show differences in effects between exposed and unexposed groups is a first methodological challenge. To find relevant control groups is another challenge due to the existence of a background noise of PEs exposure from general population. From experimental evidence, it appears that hardly observable effects of some PEs can be combined (additive or synergistic effects) and if they are present in sufficiently large number, may have a detectable own effect. Also, the possibility of combined effects for some ED can increase the level of risk in control group and thus reduce the possibility to show an effect. Based on this observation, another consequence may be deduced. Generally, epidemiological studies focus on the search for own effects molecule per molecule. In agreement with experimental results, epidemiological studies do not report association with individually tested PEs but report positive associations with combinations of PEs. If these results do not allow definitive conclusions, tools to investigate exposures of cumulative substances (mixture) must be developed. To take into account the existence of non-monotonic dose response curves is another major concern. They can explain paradoxical results as stronger effects at low doses than at high doses and divergent results between epidemiological studies. Different effects explained by the timing of exposure are

another shared characteristic between some PEs. In methodological terms, concerning the impact on developing organisms (e.g. fetus), to be able to measure the levels of exposure during precise windows of time is a strong challenge to demonstrate a link between EDs and health event.

These specific complications may explain the weak number of epidemiological studies in occupational health about EDs. Given the complexity of human body and interspecies differences, animal models might not always be relevant. For the study of EDs, there are particularly some difficulties to extrapolate animal data to human. Thus, to assess the importance of this emerging risk factor in terms of impact on human health, the development of epidemiological study is an urgent need.

La question d'effets sur la santé chez l'homme de substances ayant des propriétés potentielles de perturbations endocriniennes¹ (SPPE) est une question relativement récente et les connaissances sont à développer [1]. Ces SPPE agiraient dans l'organisme, en perturbant l'action des hormones au niveau des récepteurs, en inhibant ou stimulant leur production ou leur métabolisme ou en interférant avec leur transport dans la circulation sanguine [1, 2]. Leurs modes d'action attendus sont très différents des mécanismes de toxicité classique plus directe conduisant au dysfonctionnement ou à la mort cellulaire (e.g. agents mutagènes ou génotoxiques) [1, 2]. Ils réinterrogeraient pour certains les approches classiques de toxicologie comme, par exemple, la « dose fait le poison » par des modalités d'action plus subtiles [3-5]. Si les études expérimentales animales sont conséquentes avec en conclusion des effets biologiques et nocifs sur les organismes vivants solidement argumentés, il en est tout autrement pour les études épidémiologiques, plus rares [6], notamment en santé au travail [7]. Globalement le niveau de preuve de ces études épidémiologiques est plutôt faible pour établir une relation de cause à effet et ne permet pas d'évaluer l'importance de ce facteur de risque émergent en termes d'impact sur la santé humaine [1, 6, 7]. En général, des études observationnelles telles que les études cas-témoins ou de cohortes sont les principales sources chez l'homme pour établir un lien de causalité entre un facteur de risque et une maladie [8]. Si par nature les études épidémiologiques observationnelles sont porteuses de limites méthodologiques, les études chez l'homme sur les SPPE présentent des difficultés spécifiques et plus particulièrement si on veut démontrer l'implication d'une exposition présente en milieu de travail. L'impact des SPPE est majoritairement étudié sous l'angle des conséquences à des expositions environnementales

¹ Dans cet article, l'expression «substances ayant des propriétés potentielles de perturbations endocriniennes (SPPE) » suppose qu'il existe au moins pour une substance des arguments expérimentaux in vitro ou in vivo d'activité(s) endocrinienne(s) sans préjuger pour autant de preuves d'effets biologiques ou délétères chez l'homme. Le propos dans cet article est placé dans la situation où il n'y a pas forcément de preuves épidémiologiques et que l'on souhaite en apporter.

et très peu sous l'angle des expositions professionnelles. C'est pourquoi l'objectif de cet article est de décrire les principales préoccupations rencontrées dans la mise en place d'études épidémiologiques sur les SPPE en milieu de travail en s'appuyant sur des exemples de la sphère reproductive.

Montrer des effets à basses doses

Des effets à basses doses de SPPE sont évoqués chez l'homme [3, 5, 9-11]. Cela concernerait des niveaux de doses d'exposition situés dans les limites auxquelles la population générale est exposée ou de doses inférieures aux seuils utilisés traditionnellement dans le cadre des protocoles en toxicologie animale : « no observed adverse effect level » (NOAEL) ; « lowest observed adverse effect level » (LOAEL) [5, 11]. Cela viserait alors des niveaux de l'ordre du microgramme jusqu'au milligramme par kilo, voire moins comme, par exemple, pour certains composés de type dioxine-like (du nanogramme/kg ou picogramme/kg) [5, 10]. Pour repère, les doses testées traditionnellement en toxicologie portent rarement sur des doses inférieures au milligramme/kg [5, 10]. Pour expliquer ces hypothèses, il est rappelé que les hormones naturelles circulent dans le sang à des concentrations extrêmement basses, soit par exemple dans une plage de 10-900 pg/ml pour l'oestradiol, de 300-10000 pg/ml pour la testostérone ou de 8-27 pg/ml pour la T4 [5]. De plus, les concentrations hormonales biologiquement actives (fraction non liée aux protéines plasmatiques) sont sur des ordres de grandeur encore plus faibles, de l'ordre par exemple pour l'oestradiol de 0,1 à 9 pg/ml [5]. Les récepteurs spécifiques d'une hormone donnée possèdent une haute affinité pour leur ligand. Il n'est pas nécessaire que tous les récepteurs soient occupés pour obtenir une action proche du maximum (de 0,1 à 10 %) [5, 11]. Tout concourt physiologiquement, pour que les

hormones naturelles soient actives à très basses doses. Sur ces bases, le système endocrinien est étroitement impliqué dans la régulation des étapes normales du développement par la survenue de changements dans les niveaux hormonaux sur de brèves périodes (voir ci-après le processus de masculinisation et pic de production de testostérone chez le fœtus mâle) [4, 11]. Ainsi, des petites modifications des niveaux d'une hormone à une période inopportune sont susceptibles d'avoir un impact négatif et irréversible sur le développement. Par exemple, certaines études rapportent pour les jumeaux dizygotes de sexes opposés, une influence des jumeaux mâles sur le phénotype des jumeaux filles (poids de naissance [12], aptitude reproductive [13], ratio de la longueur de doigts [14]). Ainsi, les fœtus mâles adjacents dans l'utérus influenceraient via l'exposition à la testostérone le phénotype des fœtus féminins [5, 11]. Ce constat se pose pour certains auteurs comme un exemple d'effets inopportuns d'une exposition hormonale à basse dose chez l'homme [5, 11]. Ainsi, si des SPPE empruntent aux hormones ce mécanisme d'action médié par le système hormonal, des effets à faibles doses peuvent être attendus [2, 5].

Soulever la possibilité d'effets à basses doses se présente comme un enjeu très important en termes d'évaluation de risque en santé au travail, car cela rendrait nécessaire la recherche d'effets éventuels chez l'homme, sur une étendue plus large de niveaux d'exposition et inférieure à celles retenues dans les analyses de toxicologie classique. Ceci pourrait amener à questionner en milieu de travail, pour certaines molécules, les seuils de sécurité à choisir (valeur limite réglementaire d'exposition, définie sur des relations dose-réponse), ou de s'assurer de l'absence d'effets à ces niveaux faibles d'exposition (e.g. exposition aux oestrogènes synthétiques chez des salariés d'une entreprise pharmaceutique [15]). Par ailleurs, du fait de l'utilisation régulière et spécifique de substances dans les activités professionnelles, il peut être attendu des expositions en milieu de travail

supérieures à celles observées en population générale [11, 16] (par exemple : fréquence d'utilisation de cosmétiques en milieu de travail (coiffeur, esthéticienne) par rapport à la population générale [17]). En cela, les études en population professionnelle par rapport à la population générale devraient rechercher des effets pour des étendues particulières d'exposition de faibles doses qui mériteraient une évaluation spécifique (voir chapitre « Courbe dose-réponse non monotone »).

Toutefois, la possibilité d'effets à basses doses de xénobiotique chez l'homme, résultat de perturbations du système endocrinien, reste discuté [3, 18]. Ce sont surtout les résultats d'études chez l'animal qui argumentent ces hypothèses comme, par exemple, ceux sur le bisphénol A. VomSaal et Welshons [19] ont mené une revue des études examinant les effets à basses doses du bisphénol A. Ils rapportent avoir identifié plus de 100 études signalant des effets en dessous de « lowest observed adverse effect level » (LOAEL) et 40 études observant des effets nocifs en dessous de la dose journalière admissible (< 50 mg/kg/jour) fixée par l'U.S. Environmental Protection Agency (EPA) et l'U.S. Food and Drug Administration (FDA). Cette question des effets à basses doses se présente pour l'instant comme une hypothèse de recherche qu'il faut encore valider chez l'homme et s'offre comme un vrai défi à relever pour les chercheurs impliqués sur la question des SPPE [18, 20]. Déjà si effet il y avait, il est attendu dans les études observationnelles sur les SPPE chez l'homme, du fait de l'implication de mécanismes biologiques, des niveaux d'effets plutôt faibles à modérés (RR < 2, voir figure 1A) [21], comme semble le confirmer un certain nombre de revues examinant le lien entre SPPE et événement de santé reproductif sans pour autant en affirmer la causalité [22-24]. Ensuite sur le plan méthodologique, cela implique la nécessité d'une évaluation de bonne qualité de l'exposition [20, 25, 26]. En effet ici, les erreurs de classement ou de mesure de l'exposition peuvent mener à des sous-

estimations des rapports de risque avec une perte de puissance statistique (e.g. erreurs non différentielles, dans le meilleur des cas, car réparties aléatoirement aussi bien dans les groupes des cas et des témoins ou dans les groupes des exposés et des non exposés) [20, 25, 26]. Pour répondre à cette préoccupation, au-delà de l'importance d'avoir les effectifs nécessaires (attendus plutôt larges [23, 25]) pour disposer de la puissance statistique suffisante, la question des modalités de mesure de l'exposition se pose [25]. Les évaluations indirectes des expositions effectuées seules comme, par exemple, par questionnaires (expert, autoévaluation par le sujet lui-même) peuvent manquer de précision (manque d'objectivité, incertitude sur l'exposition) et se révéler insuffisantes pour permettre des comparaisons fines [7, 26]. Les approches qualitatives (e.g. emploi exposé/emploi non exposé), si elles ont leurs intérêts, peuvent s'exposer ici à des problèmes spécifiques d'analyse (voir chapitre « Bruit de fond » et « Courbe dose-réponse non monotone ») et surtout ne pas permettre l'examen d'une relation dose-réponse sans sources d'information supplémentaire [20]. Par ailleurs, les voies d'exposition aux SPPE sont souvent multiples (respiratoire, digestive, cutanée) et bien souvent ne sont pas de sources uniquement professionnelles (voir chapitre « Bruit de fond »). Ainsi, l'approche quantitative s'appuyant sur le dosage de biomarqueurs individuels de SPPE ou de leurs métabolites dans les matrices biologiques (sang, urine, etc.) pour estimer une dose interne d'exposition est à privilégier [6, 7]. Dans ce cas, la difficulté de l'approche est dépendante, entre autres, de la variabilité de l'exposition et de la durée de la demi-vie de la SPPE [26]. Si une exposition est stable, une ou quelques mesures peuvent être suffisantes pour estimer une dose interne. Également, pour des substances avec des demi-vies longues, il peut être attendu un effet « lissage » de la variabilité de l'exposition où, par exemple, pour des demi-vies > 40 heures moins de 50 % de la variabilité sera transmise [26]. Au contraire, pour des substances avec des demi-vies de

moins de cinq heures l'effet « lissage » sera négligeable et toute la variabilité de la concentration environnementale sera transmise à l'indicateur. C'est pourquoi les biomarqueurs d'exposition à demi-vie longue de plusieurs mois, voire très longue de plusieurs années comme certains polluants persistants chez l'homme (e.g. dioxines [27], certains métaux [28]), peuvent fournir de précieuses informations quantitatives [26]. Il est également possible d'utiliser ces informations pour estimer des doses d'exposition passées en utilisant des modèles spécifiques de pharmacocinétique à base physiologique [29]. Pour les catégories de substances à demi-vie courte dans l'organisme, la variabilité des niveaux d'exposition peut être grande au cours d'un jour donné mais aussi d'un jour à l'autre (e.g. phtalates, bisphénol A, etc.). Ainsi, évaluer l'exposition à partir d'un seul dosage pendant la grossesse sera insuffisant en général pour estimer une exposition présente ou a fortiori passée [6, 20, 25, 26], et des prélèvements répétés dans la période critique adéquate seront nécessaires mais plus compliqués à mettre en place [6, 26].

Globalement, quel que soit le type de substances (demi-vie courte ou longue) une bonne caractérisation de l'exposition à faible dose peut nécessiter de coûteux efforts logistiques (procédure invasive, choix du nombre et du moment des prélèvements) [7, 20]. Par ailleurs, l'objectif de mesurer des faibles doses demande de disposer de techniques de laboratoire d'analyses performantes renvoyant aux problèmes de limites de détection analytique [9, 26]. Il faut que la différence de doses entre deux groupes soit supérieure aux limites de détection pour être mise en évidence.

Bruit de fond –effet des mélanges

Mettre en évidence les effets d'une exposition professionnelle à une SPPE demande d'extraire ce signal d'un bruit fond ambiant d'exposition aux SPPE et de leurs effets en population générale. En effet, il est constaté que la population générale est exposée à une multitude de substances connues ou inconnues, présentant ou soupçonnées de présenter des propriétés de perturbation endocrinienne [9, 16, 30]. Notons que pour une partie de ces substances seulement, on dispose de tests capables d'identifier clairement des effets endocriniens sur un organisme intact [9]. Par ailleurs, les sources d'exposition aux SPPE ne sont pas toujours connues par manque d'information sur les ingrédients contenus dans les produits de consommation courante [9, 31] (e.g. produits cosmétiques [17, 32]). Cette exposition au bruit de fond ambiant à des SPPE a été mise en évidence pendant la grossesse [33-35]. À titre d'exemple, il a été détecté dans 99-100 % d'échantillons biologiques (sanguins ou urinaires) de 268 femmes enceintes représentatives de la population américaine, la présence de phtalates, de métaux, de phénols, de pesticides, de retardateurs de flammes, de polychlorobiphényles, d'hydrocarbures aromatiques polycycliques, de composés perfluorés et de perchlorates [34]. Certaines substances peuvent traverser le placenta et sont retrouvées dans le liquide amniotique, le sang de cordon et le méconium, signant une imprégnation du fœtus [36]. Si l'exposition à une SPPE présente dans ce bruit de fond peut avoir un effet, qu'en est-il de l'impact d'un mélange de plusieurs SPPE en termes d'effets [6, 9] ? Il apparaît que les faibles effets de certains SPPE peuvent se combiner (effets additifs ou synergiques) et si ceux-ci sont présents en nombre suffisant, ils peuvent au final avoir un effet propre repérable qui n'existait pas pour chaque molécule [5, 9, 16, 37]. Des études chez l'animal viennent argumenter cette hypothèse [7, 37], concernant par exemple des mélanges d'anti-androgènes [38] ou de xénoestrogènes [39, 40]. Cette préoccupation peut être illustrée à partir de l'exemple donné par Kortenkamp [37] présenté dans la figure 2

où des PE présentant les mêmes mécanismes d'action pourraient avoir des effets additifs. En revanche, la situation pourrait être différente pour un mélange de substances présentant des mécanismes d'action différents voire opposés [37]. En phase avec ces constats expérimentaux, des études épidémiologiques ne rapportent pas d'association pour des SPPE testés individuellement mais rapportent des associations positives pour des combinaisons de substances [37] : cryptorchidies et huit pesticides persistants [41] ; décroissance de la distance ano-génitale et quatre phtalates [42] ; cryptorchidies et sept retardateurs de flammes [43]. Cependant, certaines faiblesses méthodologiques mises en évidence dans ces études ne permettent pas de conclusions définitives.

Ainsi, devant ce constat de bruit de fond et d'effets mixture, la difficulté de trouver des groupes témoins non exposés aux SPPE constitue comme un problème méthodologique important [7, 9]. Il n'est pas à exclure que ce bruit de fond provoque un certain risque pour la santé (figure 1C). Compte tenu des faibles niveaux à partir desquels on attend un éventuel effet de SPPE (voir discussion hypothèse faible dose ci-dessous) et si l'on veut montrer un effet par comparaison entre une population exposée et non exposée (figure 1B), objectiver une différence statistiquement significative peut s'avérer difficile. Plus les niveaux de risque seront proches, plus il sera nécessaire de disposer d'effectifs importants. La non-prise en compte d'effets de mélange peut aussi conduire à une sous-estimation de l'exposition dans un groupe exposé (figure 1D), avec le risque de sous-estimer l'indicateur d'effet. Plusieurs auteurs soulignent que les études épidémiologiques se focalisent en général sur la recherche d'effet propre molécule par molécule [7, 37] et qu'il est particulièrement pertinent d'étudier les expositions à des mélanges de SPPE [7, 9, 37]. En milieu de travail, la question se pose dans les secteurs professionnels exposés à de multiples substances comme le secteur de la

coiffure [17]. Plusieurs auteurs insistent sur la nécessité de développer de meilleurs outils pour évaluer les effets d'expositions à des substances cumulées (mixture) [7, 16, 37].

Courbe dose-réponse non monotone

L'existence de courbes dose-réponse non monotones (DRNM) serait une autre explication à la survenue d'effets à basses doses [5, 16]. Dans une courbe DRNM, la pente de la courbe change de signe à l'intérieur de l'étendue de doses examinées (figure 3). La courbe DRNM peut avoir des formes complexes ou plus simples comme une forme en U ou en \cap [2, 5, 11]. Pour cette dernière très fréquente en endocrinologie expérimentale, une conséquence pourrait être le constat, par exemple, que les effets à faibles doses soient plus importants qu'à fortes doses [44]. Ceci peut être illustré par la courbe dose-réponse d'effet du tamoxifène [5]. Le tamoxifène est un médicament utilisé dans le cancer du sein pour bloquer l'action des oestrogènes sur les cellules mammaires qui contiennent des récepteurs. Aux doses thérapeutiques, c'est un antioestrogène par inhibition compétitive de la liaison de l'estradiol avec ses récepteurs : il permet de ralentir ou d'arrêter la croissance tumorale. En revanche, on a rapporté aussi que le tamoxifène peut temporairement en début de traitement (et à faible dose) exercer une faible activité oestrogénique et ainsi provoquer une augmentation de la croissance tumorale [5]. Au final, l'effet du tamoxifène sur la croissance présente une courbe dose-réponse où les faibles doses induisent un risque supérieur à celui induit aux plus fortes doses. Une implication en milieu de travail en termes d'évaluation de risque est que les fortes doses ne pourraient pas être utilisées pour fixer avec fiabilité les effets de faibles doses d'exposition (doses les plus courantes et fréquentes) [11]. Il faudrait donc rechercher spécifiquement des effets dans des gammes d'exposition à faibles doses.

Sur le plan méthodologique, l'existence de courbes dose-réponse non monotones peut rendre plus difficile la mise en évidence d'effets basés sur la comparaison de risques comme le montre la [figure 3](#). C'est pour certains auteurs la difficulté majeure dans la recherche d'un lien entre l'exposition à certaines SPPE et la survenue d'un événement de santé [7]. La mesure d'un effet s'appuyant sur la comparaison des risques entre deux populations peut mener à une variété de résultats ([figure 3](#)). Ceci pourrait expliquer des résultats divergents entre études épidémiologiques examinant les mêmes substances et événements de santé mais sur des populations caractérisées par des étendues d'exposition différentes [5, 7]. En effet, dans les études observationnelles, la distribution des niveaux d'exposition est donnée dans une population et non choisie comme dans les études expérimentales animales [5]. Dans la [figure 3](#), un exemple fictif de courbe dose-réponse d'un xénobiotique de type SPPE (exemple inspiré des articles [5, 7]) est présenté. Pour des expositions à faibles doses, la courbe dose-réponse présente une forme en \cap expliquée par un mécanisme de type SPPE tel que décrit précédemment. Pour des expositions à plus fortes doses, comme après la survenue d'un accident industriel par exemple, du fait de l'implication de mécanismes de toxicité directe, la relation dose-réponse pourrait être linéaire ([figure 3](#)). L'étendue d'exposition est visible sur la figure pour quatre populations (groupe A à D). Les populations A, C et D présentent en fonction de leur étendue d'exposition des relations dose-réponse monotones croissantes pour certaines (population A et D) ou décroissantes (population C). Pour l'exposition à des doses modérées (population B), la relation est une courbe en \cap , donc non monotone. Si ce constat était confirmé, cela imposerait de devoir étudier les expositions à des SPPE en milieu de travail dans les étendues considérées comme non toxiques par les études toxicologiques.

Fenêtres critiques d'exposition

Une SPPE peut, par principe, agir sur un individu de tout âge : fœtus, nouveau-né, enfant, adolescent, adulte ou senior [9]. Cependant, on attend une force d'effet différente selon le moment où survient l'exposition [9]. Chez l'homme, au moins deux types d'impact sont attendus : troubles du développement et perturbations de l'homéostasie [7, 9, 11].

Les effets de l'exposition à des anti-androgènes sur la sphère reproductive mâle durant la vie foetale (figure 4) constituent un premier exemple. Un pic de production de testostérone au cours de la vie foetale (entre la 8^e et la 15^e semaine de gestation) explique la masculinisation du tractus génital externe [1]. Ainsi, l'exposition à un ou des anti-androgène(s) spécifiquement durant cette fenêtre étroite de masculinisation pourrait perturber de manière irréversible le développement des organes génitaux masculins, et induire la survenue d'hypospadias par exemple, ou a minima une diminution de la distance anogénitale [1]. En revanche, une exposition survenant en dehors de cette période n'aura pas ces effets. D'une manière générale, un organisme en développement (fœtus, nouveau-né) sera extrêmement sensible aux SPPE avec des effets attendus irréversibles pour des concentrations beaucoup plus basses que pour un organisme adulte [2, 4, 5, 9, 11, 16, 45]. La pharmacocinétique des substances chimiques dans un organisme en développement (fœtus, nouveau-né) est très différente de celle que l'on observe chez un adulte [11]. Chaque organe possédant ses propres trajectoires de développement, les fenêtres de sensibilité pourront aussi varier d'un tissu à l'autre [9]. Les organismes des enfants et des adolescents étant en développement, cette classe d'âge appartient aussi aux populations sensibles aux SPPE [2, 4, 9]. Après exposition à des SPPE durant la période de développement précoce (vie foetale), on peut attendre des effets repérables peu après la naissance comme les malformations. On attend cependant aussi des effets différés, détectés

à l'âge adulte : cancer du testicule, faible qualité du sperme, syndrome des ovaires polykystiques, fibrome utérin, etc. [7, 9, 16, 46]. Par ailleurs, les constats d'exposition de femmes enceintes au distilbène suggèrent que les effets de SPPE pourraient être transgénérationnels via notamment des mécanismes épigénétiques [46].

Sur le plan méthodologique et concernant l'impact sur le développement, pouvoir mesurer les niveaux d'exposition dans des fenêtres relativement précises d'exposition est essentiel pour démontrer un lien entre SPPE et événement de santé [6, 7, 20]. Dans l'exemple ci-dessus, il faudrait disposer de mesures quantitatives de l'exposition durant le premier trimestre ou tout du moins de données d'exposition fortement corrélées avec ce premier trimestre [1]. Cela pourrait être le cas pour les SPPE présentant des demi-vies longues de plusieurs mois, voire années, comme pour certains polluants persistants (dioxines, perfluorés, polychlorobiphényles, pesticides, etc.). En revanche, pour des substances aux demi-vies courtes, de quelques heures voire quelques jours (phtalates, bisphénol A), il est attendu de grandes fluctuations de la dose interne d'une journée à l'autre, rendant difficile l'évaluation moyenne de l'exposition sur une période de temps donnée [6]. Ce problème se posera d'autant plus que l'événement de santé mesuré survient avec un temps de latence élevé après l'exposition (plusieurs années). C'est le cas, par exemple, de la mise en évidence d'une relation entre l'exposition aux anti-androgènes durant la période foetale et la survenue de cancer du testicule chez les jeunes adultes [1]. Ce constat amène à envisager des études de suivi longitudinales avec recueil de mesures d'exposition dans les périodes critiques adéquates (étude de cohorte) [1, 7, 9, 46]. Ceci peut orienter aussi vers la mise en place de bio-banque qui permettra des dosages ultérieurs. Toutes ces solutions demandent des moyens humains et logistiques importants et des délais d'obtention de résultats qui se comptent en dizaine d'années. Sur ces bases, on conçoit que

pour définir l'impact de SPPE durant le développement, il faille mobiliser et mutualiser les compétences nutritionniste, toxicologue, épidémiologiste, clinicien, endocrinologue, etc.) et les moyens [7, 9, 46].

Le deuxième type d'impact (perturbations de l'homéostasie) concerne plus particulièrement un organisme mature apte à proposer une régulation physiologique pour maintenir certains paramètres biologiques à des niveaux satisfaisants pour son bon fonctionnement [7, 9]. Pour une SPPE donnée, la notion de « perturbation homéostasique » peut renvoyer au constat d'une modification biologique sans qu'un effet délétère sur l'organisme soit observé [7]. On serait alors dans une situation de « réponse adaptative » de l'organisme. Toutefois, la notion d'effet biologique ou d'effet délétère reste à expliciter. Dans ce cadre, l'impact sur un organisme mature (plutôt adulte) se ferait pour des expositions à de plus hautes concentrations de SPPE que pour un organisme en développement (foetus) notamment précoce [2, 7, 46]. Par ailleurs, les effets sur l'adulte dureraient tant que durerait l'exposition [2, 7, 9, 46].

Sur le plan méthodologique, les études humaines se focalisant sur la mise en évidence de « perturbations homéostatiques » pourraient être menées en premier, en dosant des paramètres biologiques dans la même période de temps que l'exposition aux SPPE sans avoir recours à de longue étude de cohorte [7]. Toutefois, la démonstration d'une « perturbation homéostasique » basée sur le dosage d'un biomarqueur n'exclut pas la possibilité d'effets liés à une exposition chronique durant plusieurs années. La « réponse adaptative » pourrait progressivement se muer en « réponse délétère » si les capacités de contrôle ne sont plus correctement opérationnelles [7]. Également, certaines populations pourraient se montrer plus sensibles que d'autres (femmes ménopausées, seniors, adolescents). Sur ces bases (expositions chroniques), pour montrer l'absence d'effets de

santé à long terme, des études de suivi à long terme s'avèreraient en second nécessaires [7]. Le milieu de travail se trouve particulièrement concerné. On peut en effet y rencontrer des expositions chroniques sur plusieurs années et à des niveaux plus forts qu'en population générale dans des gammes d'exposition différentes.

Facteurs de confusion potentiels

Un autre constat concernant les expositions chimiques environnementales est que celles-ci ne sont pas réparties de manière identique dans les populations. Une étude américaine menée entre 2001 et 2010 rapporte que la population adulte de niveaux socio-économiques les plus élevés présentent, en rapport avec leurs habitudes de vie (consommation de poisson, soins dentaires, consommation de légumes du jardin, utilisation plus large de certains produits cosmétiques, de crèmes de protection solaire), des taux sanguins plus hauts de mercure, arsenic, césium, thallium, composés perfluorés, et certains types de phtalates et de benzophénone-3 [47]. À l'inverse, pour les niveaux socio-économiques les plus faibles, on observait des niveaux plus élevés de plomb, cadmium, antimoine, bisphénol A et d'autres types de phtalates, lesquels pouvaient être en partie expliqués par des habitudes de vie différentes en termes de tabagisme, de tâches au travail ou de modes d'alimentation [47]. Dans une autre étude, les niveaux d'exposition à certains biomarqueurs d'exposition aux phtalates variaient selon l'âge, le sexe, l'ethnie et la corpulence (enfant, adulte) [48]. Ainsi, ces variations de niveaux d'exposition à des SPPE dans des sous-groupes de population générale peuvent être le reflet de modes de consommation et de vie différents et des expositions environnementales plus spécifiques (trafic routier, sites industriels, usine d'incinération, etc.) [9, 20, 30].

La présence de facteurs de confusion résiduels ou non contrôlés constitue un risque pour la validité des études épidémiologiques observationnelles en général [20, 25, 26, 49] et pour les SPPE en particulier [7, 21], ceci d'autant plus que l'on essaie de mettre en évidence des risques faibles. Non contrôlé, un facteur de confusion peut expliquer l'association entre une exposition étudiée et une maladie. Pour cela, ce facteur de confusion doit être associé à la fois à la maladie et à l'exposition tout en n'étant pas un facteur intermédiaire dans une éventuelle relation causale entre une maladie et une exposition [20]. Du fait des distributions non homogènes des SPPE environnementales (bruit de fond) dans des sous-groupes de population générale, la probabilité qu'un lien mis en évidence entre une SPPE et un problème de santé soit expliqué par un facteur de confusion est élevée [7].

Sur cette base une attention particulière doit être portée à la construction des groupes (e.g. exposés et non exposés, cas et témoins) pour qu'ils soient les plus similaires possibles (à l'exception du facteur évalué), et au recueil de facteurs individuels qui peuvent à la fois déterminer l'exposition à des SPPE et des effets délétères de santé [20]. Cela peut inclure : l'âge, le genre, la génétique, le statut socio-économique, les habitudes de vie (alimentation, tabagisme, activité physique, hobbies), les déterminants psychosociaux, les comorbidités, la prise de médicaments et éventuellement le statut épigénétique [7, 30], mais aussi des facteurs physiologiques individuels comme le niveau de masse grasse par exemple [50]. Les facteurs de confusion potentiels peuvent être pris en compte dans les analyses (e.g. ajustement dans des modélisations) ou par les protocoles d'étude (appariement, restriction) [20].

Ces mesures, classiques en épidémiologie, sont d'autant plus efficaces que le facteur de confusion est identifié et notamment les co-expositions chimiques [20]. Et c'est là,

comme déjà précisé, un problème majeur du fait de l'existence de bruit de fond d'exposition aux SPPE.

Dans leur revue sur les effets anti-androgéniques des phtalates, Habert et al. [51] présentent un ensemble d'études épidémiologiques rapportant des liens entre certains phtalates et la réduction de la distance ano-génitale (marqueur d'effet anti-androgénique durant la grossesse) [42, 52, 53]. Ils rapportent également un plus haut risque de survenue d'hypospadias chez des garçons dont les mères avaient été exposées professionnellement aux phtalates (notamment durant le premier trimestre de grossesse) incluant des coiffeuses, des esthéticiennes, des chercheuses en chimie, des opératrices sur ligne, des opératrices pharmaceutiques, des assembleuses électriques et des assistances de fabrication, comparativement à des femmes non exposées aux phtalates au travail [54]. Ici, il est précisé que la principale limite de ces études épidémiologiques est la présence de facteurs de confusion ; les sujets qui sont exposés aux phtalates peuvent être aussi exposés à d'autres facteurs anti-androgéniques [51]. En particulier, l'exposition aux phtalates est souvent associée à une exposition au bisphénol A [55], un puissant inhibiteur de l'activité cellulaire des cellules de Leydig foetales humaines [51, 56], et des hauts niveaux de bisphénol A plasmatiques ont été associés à la survenue d'hypospadias [57].

Ainsi pour pouvoir augmenter le niveau de preuve des études épidémiologiques notamment en milieu professionnel, l'obtention d'informations sur des co-expositions chimiques est nécessaire, avec au mieux, un dosage de co-polluants dans les matrices biologiques des sujets étudiés. Mais cette possibilité peut s'avérer particulièrement coûteuse en temps et en argent en fonction du nombre de substances à tester et du nombre de sujets nécessaires pour l'étude. De plus, si l'on vise des schémas d'études adaptés pour argumenter la causalité (e.g. cohorte), ces préoccupations ne sont valables que dans la

perspective d'un suivi longitudinal avec des recueils d'informations complémentaires prévus au départ du suivi. Ces préoccupations rejoignent les commentaires sur l'importance des moyens humains et logistiques à mettre en place déjà présentés dans le chapitre « Fenêtres critiques d'exposition ». Cependant, même en disposant des ressources nécessaires, quand une population d'étude est exposée à de multiples agents et que ces expositions sont hautement corrélées, il peut être extrêmement difficile de dissocier individuellement les effets par les analyses statistiques [20, 58]. Ceci n'implique pas pour autant un manque d'intérêt des résultats car comme déjà précisé au chapitre « Bruit de fond – Effet des mélanges », il est particulièrement pertinent d'étudier les expositions à des mélanges de SPPE [6, 7, 9, 59].

Conclusion

Si l'existence de substances ayant des propriétés de SPPE est bien démontrée à partir des données expérimentales in vitro et in vivo, les preuves de ces propriétés chez l'homme manquent. Si cet article insiste particulièrement sur les difficultés à réaliser des études épidémiologiques sur les perturbateurs endocriniens, leur développement est une nécessité pour développer les connaissances et mieux maîtriser leurs effets, notamment en milieu de travail.

Remerciements et autres mentions

Financement : aucun ; liens d'intérêts : l'auteur déclare ne pas avoir de lien d'intérêt.

Références

- (1) Gore AC, Chappell VA, Fenton SE, Flaws JA, Nadal A, Prins GS, Toppari J, Zoeller RT. EDC-2: The Endocrine Society's Second Scientific Statement on Endocrine-Disrupting Chemicals. *Endocr Rev.* 2015;36(6):E1-E150.
- (2) Schug TT, Janesick A, Blumberg B, Heindel JJ. Endocrine disrupting chemicals and disease susceptibility. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2011;127(3-5):204-15.
- (3) Beausoleil C, Ormsby JN, Gies A, Hass U, Heindel JJ, Holmer ML *et al.* Low dose effects and non-monotonic dose responses for endocrine active chemicals: science to practice workshop: workshop summary. *Chemosphere.* 2013;93(6):847-56.
- (4) Futran Fuhrman V, Tal A, Arnon S. Why endocrine disrupting chemicals (EDCs) challenge traditional risk assessment and how to respond. *J Hazard Mater.* 2015;286:589-611.
- (5) Vandenberg LN , Colborn T , Hayes TB , Heindel JJ , Jacobs DR Jr , Lee DH *et al.* Hormones and Endocrine-Disrupting Chemicals: Low-Dose Effects and Nonmonotonic Dose Responses. *Endocr Rev.* 2012; 33(3): 378–455.
- (6) Slama R, Cordier S. Impact of chemical and physical environmental factors on the course and outcome of pregnancy. *J Gynecol Obstet Biol Reprod.* 2013 ;42(5):413-44.
- (7) Lee DH, Jacobs DR Jr. Methodological issues in human studies of endocrine disrupting chemicals. *Rev Endocr Metab Disord.* 2015;16(4):289-97.
- (8) Rothman KJ, Greenland S, Lash TS. *Modern epidemiology.* 3rd ed. Philadelphia: Lipponcott Williams & Wilkins, 2008.
- (9) Bergman Å, Heindel JJ, Jobling S, Kidd KA, Zoeller RT. State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals 2012 Summary for Decision-Makers. Geneva: UNEP and WHO UNEP, 2012.
- (10) Conseil supérieur de la santé. Perturbateurs endocriniens: effet à faible dose, relation dose-effet non monotone et périodes critiques de sensibilité, 2013 (publication no 8915).

- (11) Welshons WV, Thayer KA, Judy BM, Taylor JA, Curran EM, vom Saal FS. Large effects from small exposures. I. Mechanisms for endocrine-disrupting chemicals with estrogenic activity. *Environ Health Perspect.* 2003;111(8):994-1006.
- (12) Glinianaia SV, Magnus P, Harris JR, Tambs K. Is there a consequence for fetal growth of having an unlike-sexed cohabitant in utero? *Int J Epidemiol.* 1998;27(4):657-9.
- (13) Lummaa V, Pettay JE, Russell AF. Male twins reduce fitness of female co-twins in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(26):10915-20.
- (14) van Anders SM, Vernon PA, Wilbur CJ. Finger-length ratios show evidence of prenatal hormone-transfer between opposite-sex twins. *Horm Behav.* 2006;49(3):315-9.
- (15) Quinn MM, Wegman DH, Greaves IA, Hammond SK, Ellenbecker MJ, Spark RF *et al.* Investigation of reports of sexual dysfunction among male chemical workers manufacturing stilbene derivatives. *Am J Ind Med.* 1990;18(1):55-68.
- (16) Diamanti-Kandarakis E, Bourguignon JP, Giudice LC, Hauser R, Prins GS, Soto AM *et al.* Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement. *Endocr Rev.* 2009;30(4):293-342.
- (17) Henrotin JB, Picot C, Bouzlama M, Collot-Fertey D, Radauceanu A, Labro MT *et al.* Reproductive disorders in hairdressers and cosmetologists: a meta-analytical approach. *J Occup Health.* 2015;57(6):485-96.
- (18) Beronius A, Vanderberg LN. Using systematic reviews for hazard and risk assessment of endocrine disrupting chemicals. *Rev Endoc Metab Disord.* 2015;16(4):273-87.
- (19) vom Saal FS, Welshons WV. Large effects from small exposures. II. The importance of positive controls in low-dose research on bisphenol A. *Environ Res.* 2006;100(1):50-76.
- (20) Christensen K, Christensen CH, Wright JM, Galizia A, Glenn BS, Scott CS *et al.* The Use of Epidemiology in Risk Assessment: Challenges and Opportunities. *Hum Ecol Risk Assess.* 2015;21(6):1644-1663.

- (21) Engel SM, Wolff MS. Causal inference considerations for endocrine disruptor research in children's health. *Annu Rev Public Health*. 2013;34:139-58.
- (22) Rocheleau CM, Romitti PA, Dennis LK. Pesticides and hypospadias: a meta-analysis. *J Pediatr Urol*. 2009;5(1):17-24.
- (23) Birks L, Casas M, Garcia AM, Alexander J, Barros H, Bergström A *et al*. Occupational Exposure to Endocrine-Disrupting Chemicals and Birth Weight and Length of Gestation: A European Meta-Analysis. *Environ Health Perspect*. 2016 May 6. [Epub ahead of print]
- (24) Nieuwenhuijsen MJ, Dadvand P, Grellier J, Martinez D, Vrijheid M. Environmental risk factors of pregnancy outcomes: a summary of recent meta-analyses of epidemiological studies. *Environ Health*. 2013;12:6.
- (25) Hémon D. Research in environmental epidemiology: selected methodological aspects. *Rev Epidem et Santé publ*. 1995;43:395-411.
- (26) Nieuwenhuijsen MJ, Droz P. Exposure assessment in occupational and environmental epidemiology. Oxford: Oxford University Press, 2003.
- (27) Flesch-Janys D, Steindorf K, Gurn P, Becher H. Estimation of the cumulated exposure to polychlorinated dibenzo-p-dioxins/furans and standardized mortality ratio analysis of cancer mortality by dose in an occupationally exposed cohort. *Environ Health Perspect*. 1998;106 Suppl 2:655-62.
- (28) Merzenich H, Hartwig A, Ahrens W, Beyersmann D, Schlepegrell R, Scholze M *et al*. Biomonitoring on carcinogenic metals and oxidative DNA damage in a cross-sectional study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2001;10(5):515-22.
- (29) Verner MA, Charbonneau M, López-Carrillo L, Haddad S. Physiologically based pharmacokinetic modeling of persistent organic pollutants for lifetime exposure assessment: a new tool in breast cancer epidemiologic studies. *Environ Health Perspect*. 2008;116(7):886-92.
- (30) Bijlsma N, Cohen MM. Environmental Chemical Assessment in Clinical Practice: Unveiling the Elephant in the Room. *Int J Environ Res Public Health*. 2016;13(2):181.

- (31) Dodson RE, Nishioka M, Standley LJ, Perovich LJ, Brody JG, Rudel RA. Endocrine disruptors and asthma-associated chemicals in consumer products. *Environ Health Perspect.* 2012 ;120(7):935-43.
- (32) Parlett LE, Calafat AM, Swan SH. Women's exposure to phthalates in relation to use of personal care products. *J Expo Sci Environ Epidemiol.* 2013 ;23(2):197-206.
- (33) Zeman FA, Boudet C, Tack K, Floch Barneaud A, Brochot C, Péry AR *et al.* Exposure assessment of phthalates in French pregnant women: results of the ELFE pilot study. *Int J Hyg Environ Health.* 2013;216(3):271-9.
- (34) Woodruff TJ, Zota AR, Schwartz JM. Environmental chemicals in pregnant women in the United States: NHANES 2003-2004. *Environ Health Perspect.* 2011;119(6):878-85.
- (35) Stapleton HM, Eagle S, Anthopolos R, Wolkin A, Miranda ML. Associations between polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants, phenolic metabolites, and thyroid hormones during pregnancy. *Environ Health Perspect.* 2011;119(10):1454-9.
- (36) Barr DB, Bishop A, Needham LL. Concentrations of xenobiotic chemicals in the maternal-fetal unit. *Reprod Toxicol.* 2007;23(3):260-6.
- (37) Kortenkamp A. Low dose mixture effects of endocrine disruptors: implications for risk assessment and epidemiology. *Int J Androl.* 2008;31(2):233-40.
- (38) Hass U, Scholze M, Christiansen S, Dalgaard M, Vinggaard AM, Axelstad M *et al.* Combined exposure to anti-androgens exacerbates disruption of sexual differentiation in the rat. *Environ Health Perspect.* 2007;115 Suppl 1:122-8.
- (39) Silva E, Rajapakse N, Kortenkamp A. Something from "nothing"--eight weak estrogenic chemicals combined at concentrations below NOECs produce significant mixture effects. *Environ Sci Technol.* 2002;36(8):1751-6.
- (40) Rajapakse N, Silva E, Kortenkamp A. Combining xenoestrogens at levels below individual no-observed-effect concentrations dramatically enhances steroid hormone action. *Environ Health Perspect.* 2002;110(9):917-21.

- (41) Damgaard IN, Skakkebaek NE, Toppari J, Virtanen HE, Shen H, Schramm KW *et al.* Cryptorchidism Study Group. Persistent pesticides in human breast milk and cryptorchidism. *Environ Health Perspect.* 2006;114(7):1133-8.
- (42) Swan SH, Main KM, Liu F, Stewart SL, Kruse RL, Calafat AM *et al.* Decrease in Anogenital Distance among Male Infants with Prenatal Phthalate Exposure. *Environ Health Perspect.* 2005; 113(8): 1056–1061.
- (43) Main KM, Kiviranta H, Virtanen HE, Sundqvist E, Tuomisto JT, Tuomisto J *et al.* Flame Retardants in Placenta and Breast Milk and Cryptorchidism in Newborn Boys. *Environ Health Perspect.* 2007; 115(10): 1519–1526.
- (44) vom Saal FS, Timms BG, Montano MM, Palanza P, Thayer KA, Nagel SC *et al.* Prostate enlargement in mice due to fetal exposure to low doses of estradiol or diethylstilbestrol and opposite effects at high doses. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997;94(5):2056-61.
- (45) Palanza P, Nagel SC, Parmigiani S, vom Saal FS. Perinatal exposure to endocrine disruptors: sex, timing and behavioral endpoints. *Current Opinion in Behavioral Sciences* 2016;7:69–75.
- (46) Barouki R, Gluckman PD, Grandjean P, Hanson M, Heindel JJ. Developmental origins of non-communicable disease: implications for research and public health. *Environ Health.* 2012;27;11:42.
- (47) Tyrrell J, Melzer D, Henley W, Galloway TS, Osborne NJ. Associations between socioeconomic status and environmental toxicant concentrations in adults in the USA: NHANES 2001-2010. *Environ Int.* 2013;59:328-35.
- (UNEP 2012) UNEP/WHO. State of the science of endocrine disrupting chemicals 2012. 2012.
- (48) Silva MJ, Barr DB, Reidy JA, Malek NA, Hodge CC, Caudill SP, Brock JW *et al.* Urinary levels of seven phthalate metabolites in the U.S. population from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999-2000. *Environ Health Perspect.* 2004;112(3):331-8.
- (49) Checkoway H, Pearce N, Kriebel D. *Research methods in occupational epidemiology.* Oxford: Oxford university press, 2004.

- (50) La Merrill M, Emond C, Kim MJ, Antignac JP, Le Bizec B, Clément K *et al.* Toxicological function of adipose tissue: focus on persistent organic pollutants. *Environ Health Perspect.* 2013 ;121(2):162-9.
- (51) Habert R, Livera G, Rouiller-Fabre V. Man is not a big rat: concerns with traditional human risk assessment of phthalates based on their anti-androgenic effects observed in the rat foetus. *Basic Clin Androl.* 2014; 24: 14.
- (52) Bustamante-Montes LP, Hernández-Valero MA, Flores-Pimentel D, García-Fábila M, Amaya-Chávez A, Barr DB *et al.* Prenatal exposure to phthalates is associated with decreased anogenital distance and penile size in male newborns. *J Dev Orig Health Dis.* 2013;4(4):300-6.
- (53) Suzuki Y, Yoshinaga J, Mizumoto Y, Serizawa S, Shiraishi H. Foetal exposure to phthalate esters and anogenital distance in male newborns. *Int J Androl.* 2012;35(3):236-44
- (54) Ormond G, Nieuwenhuijsen MJ, Nelson P, Toledano MB, Iszatt N, Geneletti S *et al.* Endocrine disruptors in the workplace, hair spray, folate supplementation, and risk of hypospadias: case-control study. *Environ Health Perspect.* 2009;117(2):303-7.
- (55) Braun JM, Kalkbrenner AE, Calafat AM, Bernert JT, Ye X, Silva MJ *et al.* . Variability and predictors of urinary bisphenol A concentrations during pregnancy. *Environ Health Perspect.* 2011;119(1):131-7.
- (56) N'Tumba-Byn T, Moison D, Lacroix M, Lecureuil C, Lesage L, Prud'homme SM *et al.* Differential effects of bisphenol A and diethylstilbestrol on human, rat and mouse fetal leydig cell function. *PLoS One.* 2012;7(12):e51579.
- (57) Choi H, Kim J, Im Y, Lee S, Kim Y. The association between some endocrine disruptors and hypospadias in biological samples. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng.* 2012;47(13):2173-9
- (58) Billionnet C, Sherrill D, Annesi-Maesano I; GERIE study. Estimating the health effects of exposure to multi-pollutant mixture. *Ann Epidemiol.* 2012 ;22(2):126-41.
- (59) Kortenkamp A. Ten years of mixing cocktails: a review of combination effects of endocrine-disrupting chemicals. *Environ Health Perspect.* 2007;115 Suppl 1:98-105.

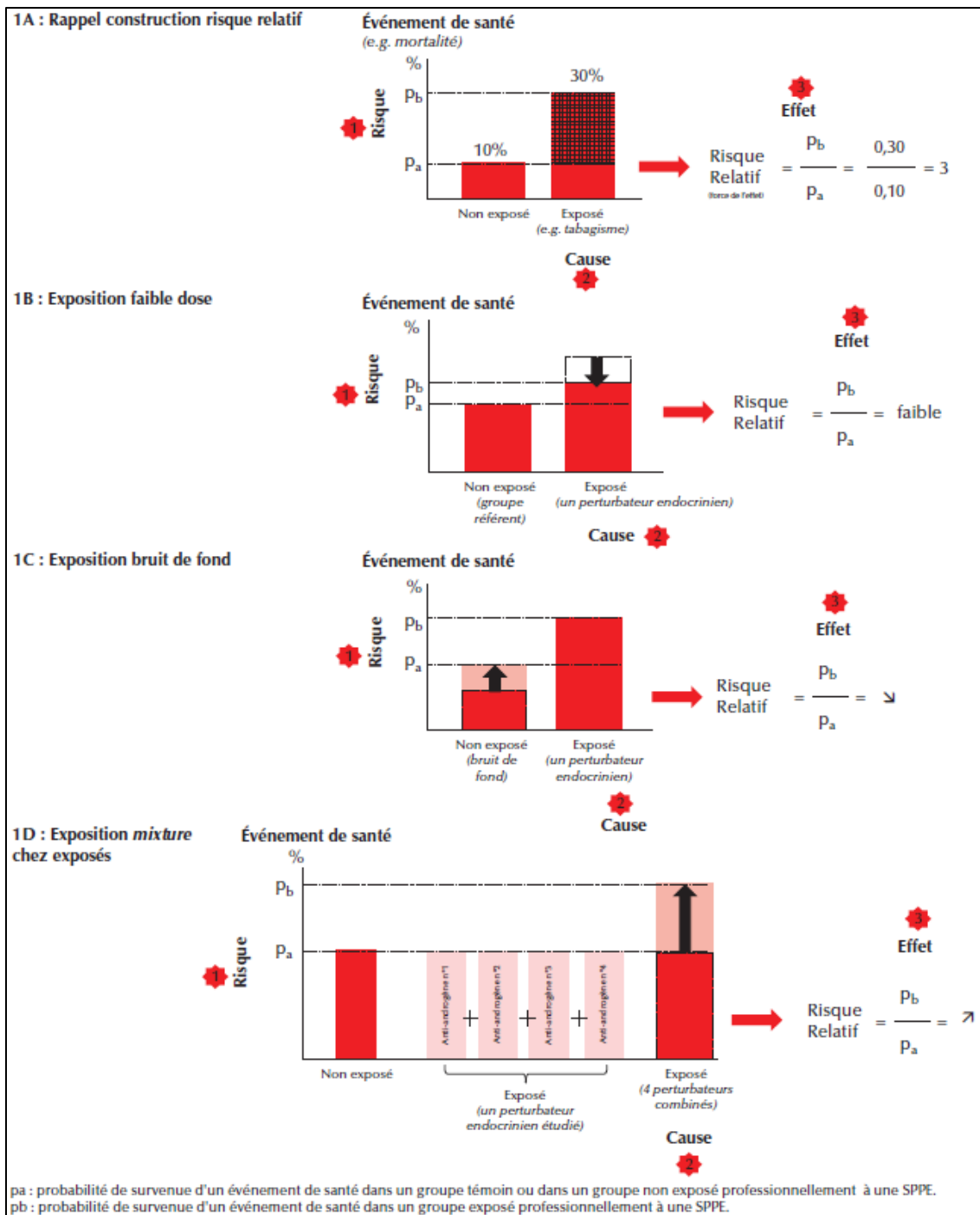


Figure 1. Difficultés attendues dans la mesure d'effet dans une étude épidémiologique sur les perturbateurs endocriniens (schéma explicatif – données fictives)

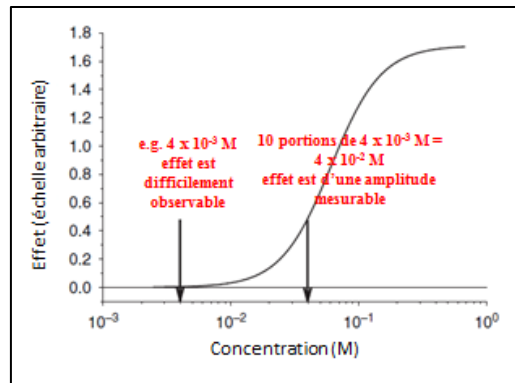


Figure 2. Exemple effet mixture [37]

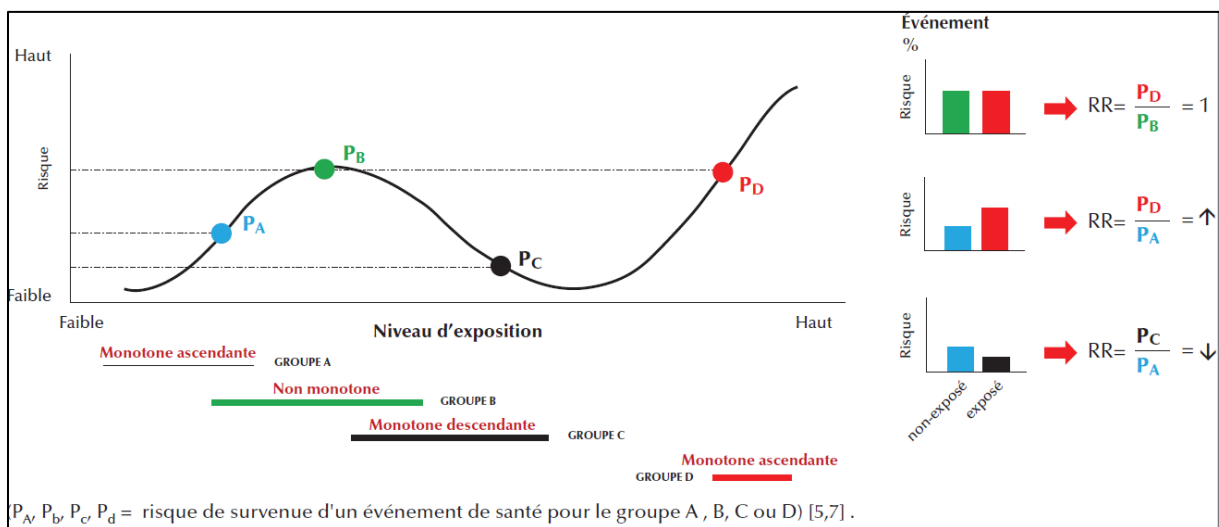


Figure 3. L'existence d'une courbe dose-réponse non monotone peut rendre difficile la mise en évidence d'effet basé sur la comparaison des risques

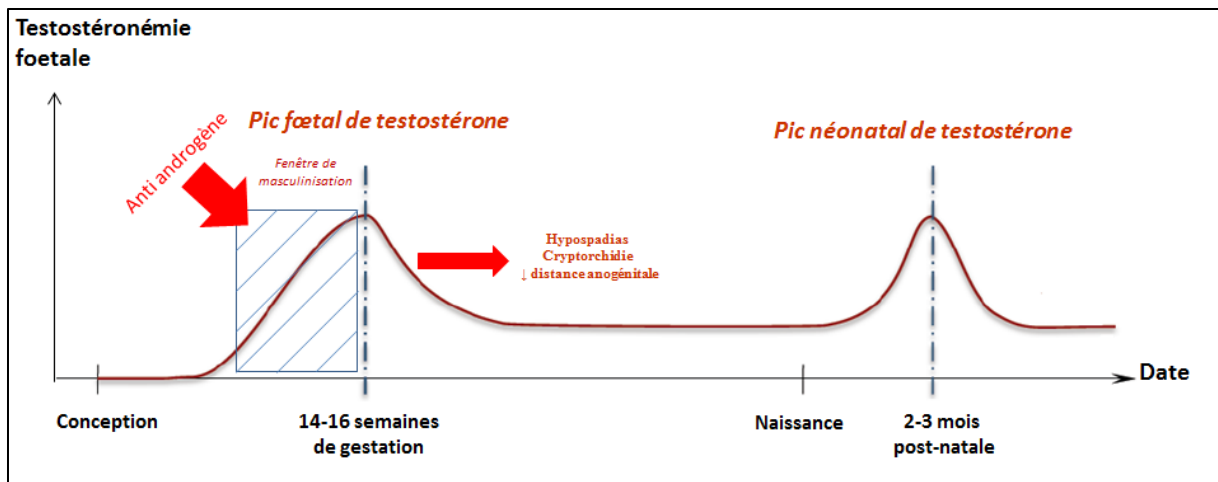


Figure 4. Exemple d'effets de l'exposition à des anti-androgènes durant la période foetale [1]