

34

Études épidémiologiques

Au cours des dix dernières années, quelques études épidémiologiques ont été réalisées pour documenter l'impact sanitaire potentiel de l'exposition aux phtalates dans l'espèce humaine, notamment pour apprécier les conséquences d'une exposition sur la fonction de reproduction chez l'homme et la femme. Ce chapitre envisage d'abord les effets des expositions *in utero* et à la naissance puis des expositions postnatales.

Études chez le nouveau-né et l'enfant

Quatre études sont rapportées concernant la recherche d'effets après exposition *in utero* et néonatale aux phtalates.

Cryptorchidie, fonction leydigienne

Main et coll. (2006) ont étudié la teneur en phtalates du lait maternel dans un groupe de 62 nouveau-nés présentant une cryptorchidie et 68 nouveau-nés témoins dans le cadre d'une étude binationale (Finlande et Danemark) (tableau 34.1). Après standardisation des modalités de l'examen clinique, les nouveau-nés sont examinés à la naissance et au troisième mois. Six métabolites de phtalates ont été dosés dans le lait maternel, MMP, MEP, MBP, MBzP, MEHP, MINP, correspondant respectivement aux phtalates parents suivants : DMP, DEP, DBP, BBP, DEHP, DINP. À l'exception du MMP, tous ces phtalates ont été détectés dans le lait maternel. Par ailleurs, un dosage de FSH, LH, SHBG, testostérone, inhibine, a été effectué chez les nouveau-nés à 3 mois. L'index de testostérone libre a été apprécié par le rapport testostérone x 100/SHBG. Cette étude ne met pas en évidence d'association significative entre les phtalates contenus dans le lait maternel et la présence ou l'absence de cryptorchidie. En revanche, une association est retrouvée avec certains indicateurs de la fonction leydigienne : le ratio LH/index de testostérone libre est significativement augmenté avec les concentrations de MMP, MEP et MBP. Le MBP est corrélé négativement avec l'index de testostérone libre et MINP est corrélé positivement avec la LH. Le MEP et le MBP sont également positivement corrélés avec le taux de SHBG. Les auteurs concluent que la fonction leydigienne semble atteinte lors de l'exposition pré- et périnatale aux phtalates.

Tableau 34.1 : Effets des phtalates au cours d'une exposition *in utero* ou périnatale sur l'appareil de reproduction

Référence Type d'étude Pays	Population/Dosage métabolites	Métabolites recherchés	Résultats
Main et coll., 2006	62 nouveau-nés avec cryptorchidie	MMP, MEP, MBP, MBzP	Pas d'association avec cryptorchidie Ratio LH/index de testostérone libre ↑ (MMP, MEP et MBP ↑)
Cas-témoins Finlande et Danemark	68 nouveau-nés témoins (lait maternel)	MEHP MINP	LH↑ (MINP↑) SHBG↑ (MEP, MBP↑) Testostérone libre↓ (MBP↑)
Swan et coll., 2008	106 nouveau-nés mâles (urine maternelle 28,6 semaines d'aménorrhée)	MEP, MBP MEHP, MEHHP, MEOHP	Distance anogénitale ↓ (MEHP, MEHHP, MEOHP, MEP et MBP ↑) Trouble de la descente testiculaire et largeur du pénis (MEHP)
Huang et coll., 2009	65 mères Urines et fluide de l'amniocen- tèse (16-20 semaines de gestation)	MBP, MEHP, MEP, MBzP, MMP	Distance anogénitale plus courte chez les filles (MBP et MEHP dans le fluide amniotique)
Ormond et coll., 2009	471 enfants avec hypospadias 490 témoins	Pas de dosages Matrice emploi- exposition	Hypospadias Corrélation exposition phtalates (expo- sés vs non exposés : OR=3,12 ; IC 95 % [1,04-11,46])

Effet sur la distance anogénitale

Le groupe de Swan (Swan et coll., 2008) étudie les liens entre exposition prénatale aux phtalates et la distance anogénitale chez 106 nourrissons mâles examinés entre 2 et 36 mois lors de la première visite postnatale (moyenne : 12,8 mois). Les dosages de métabolites MEP, MBP, MEHP, MEHHP et MEOHP (correspondant respectivement aux phtalates parents suivants : DEP, DBP et DEHP pour les trois derniers) sont effectués dans les urines à 28,6 semaines d'aménorrhée en moyenne. Les concentrations des métabolites sont distribuées en quartiles et un score total prenant en compte tous les phtalates est calculé (score de 0 à 15). Les seins, testicules, pénis sont examinés chez le nouveau-né ainsi que la distance anogénitale. Les concentrations urinaires (MEP, MBP, MEHP, MEHHP, MEOHP) sont inversement corrélées avec la distance anogénitale. Les concentrations urinaires moyennes des métabolites du DEHP (MEHP, MEHHP, MEOHP) et de MEP sont supérieures dans le groupe avec une distance anogénitale plus courte.

Dans le groupe des nouveau-nés ayant une distance anogénitale courte, il n'y a pas de mère avec un score total de phtalates bas alors qu'il n'y a qu'une mère avec score total haut dans le groupe avec distance anogénitale longue

($p < 0,001$). Par ailleurs, la concentration de MEHP est en relation avec un trouble de la descente testiculaire (testicule non descendu ou rétractile) et la largeur du pénis est inversement corrélée avec la concentration du MEHP et avec la somme des métabolites du DEHP.

L'équipe de Huang (Huang et coll., 2009) s'intéresse également à l'exposition prénatale aux phtalates et aux résultats de l'examen du nouveau-né. Pour apprécier l'exposition prénatale, des dosages des métabolites MMP, MEP, MBP, MEHP, MBzP (correspondant aux phtalates parents suivants : DMP, DEP, DBP, DEHP, BBP) sont effectués au moment de l'amniocentèse dans les urines et le fluide amniotique (16-20 semaines de gestation) chez 65 mères retenues pour l'étude car présentant une amniocentèse normale. Soixante-quatre nouveau-nés sont suivis (31 filles, 33 garçons). Les MBP et MEHP sont détectés respectivement dans 100 % (médiane 85,5 µg/l et 81,3 µg/l pour les filles et les garçons) et dans plus de 90 % (médiane 24 µg/l et 22,1 µg/l pour les filles et les garçons) des échantillons de liquide amniotique. Les autres métabolites sont à l'état de traces dans le fluide de l'amniocentèse. Dans les urines, le taux de détection est de 100 % pour le MBP, 98 % pour le MEHP, 96 % pour le MEP, 86 % pour le MMP, et 63 % pour le MBzP. Ainsi, cette étude confirme l'exposition de la mère et probablement du fœtus durant la grossesse.

L'examen des nouveau-nés met en évidence une distance anogénitale plus courte dans le groupe à haute concentration de MBP dans le fluide amniotique comparé au groupe à concentration plus basse (groupes dichotomisés en fonction de la médiane de MBP) chez les nouveau-nés filles (13,9 *versus* 17,6 mm, $p=0,024$). Le même profil est retrouvé pour le MEHP amniotique. L'index de distance anogénitale en fonction du poids ou de la taille est également plus court dans le groupe à haute concentration en MBP chez les filles. À l'inverse, chez les garçons, cette différence n'est pas observée. Les auteurs suggèrent une plus grande sensibilité des fœtus féminins à un effet anti-androgène des phtalates pour expliquer la différence d'effet retrouvée en fonction du sexe. Il faut noter malgré les résultats intéressants l'effectif réduit de cette étude (31 filles, 33 garçons).

Si de nombreuses questions restent posées (par exemple comment expliquer les différences en fonction du sexe dans l'étude de Huang), les résultats de l'étude de Swan, qui présente l'effectif le plus important de garçons examinés, suggère de par le raccourcissement de la distance anogénitale, une action des phtalates sur l'androgénisation du fœtus. D'autres études sur des effectifs plus larges sont nécessaires pour confirmer ces premiers résultats.

Hypospadias

Ormond et coll. (2009) ont analysé le risque d'hypospadias chez les enfants dont la mère a été exposée professionnellement pendant la grossesse à des perturbateurs endocriniens. Dans cette étude cas-témoins, 471 enfants souffrant d'hypospadias nécessitant un acte chirurgical, et 490 enfants témoins

nés dans la même région et à la même époque, ont été sélectionnés. Les mères ont été interrogées par téléphone d'après un questionnaire standard permettant entre autres d'apprécier l'occupation professionnelle des mères et l'exposition domestique et environnementale aux agents chimiques. L'analyse fait ressortir un lien avec l'exposition aux produits capillaires (exposés *versus* non exposés : OR=2,4 ; IC 95 % [1,4-4,2]). Une matrice emploi-exposition a été utilisée pour caractériser l'exposition professionnelle aux phtalates et a rapporté une prévalence de cette exposition inférieure à 5 %. Un risque augmenté d'hypospadias associé à l'exposition professionnelle aux phtalates (exposés *versus* non exposés : OR=3,1 ; IC 95 % [1,0-11,5]) a ainsi été estimé en s'appuyant sur des effectifs limités (14 cas et 4 témoins exposés).

Autres effets sur différents paramètres de développement chez le nouveau-né

Étudiant des effets d'une possible exposition aux phtalates sur le développement, Wolff et coll. (2008), dans une étude transversale, ont recherché 10 métabolites de phtalates et également 5 phénols dans les urines de respectivement 382 et 367 femmes enceintes. Un quart des prélèvements ont été collectés entre 25 et 30 semaines d'aménorrhée, 45 % entre 31 et 35 semaines, et 30 % entre 36 et 40 semaines d'aménorrhée. Après analyse intégrant de nombreux paramètres, les métabolites de bas poids moléculaire des phtalates sont associés positivement avec l'âge gestationnel et avec la circonférence crânienne, l'effet étant cependant modéré.

Latini et coll. (2003) ont étudié les concentrations de DEHP et de son métabolite MEHP dans le sang du cordon de 84 nouveau-nés à la maternité de Brindisi. Un ou les deux phtalates étaient présents dans 88,1 % des échantillons avec des concentrations moyennes de $1,19 \pm 1,15$ mg/l pour le DEHP et $0,52 \pm 0,61$ mg/l pour le MEHP. Les nouveau-nés avec un sang du cordon présentant du MEHP ont eu une durée de gestation plus courte que lorsque le MEHP n'était pas détecté dans le sang ($38,2 \pm 2,3$ *versus* $34,9 \pm 1,4$ semaines d'aménorrhée). Les auteurs émettent l'hypothèse que les phtalates pourraient induire une inflammation utérine qui est un facteur de risque connu de prématurité.

Zhang et coll. (2009), à Shangai, s'intéressent aux relations entre phtalates et poids de naissance. Ainsi, les cas représentent 88 nouveau-nés à faible poids de naissance (âge gestationnel ≥ 37 semaines, poids < 2 500 g) 113 nouveau-nés à poids normal (≥ 2 500 g et âge gestationnel ≥ 37 semaines) constituant le groupe témoin. Des prélèvements de sang du cordon, du méconium et du sang maternel sont effectués. Trois phtalates communs (DEP, DBP et DEHP) et deux de leurs métabolites (MBP et MEHP) sont recherchés dans le sang du cordon et le méconium ainsi que dans le sang maternel. Plus de 70 % des échantillons ont des niveaux quantifiables de phtalates. Seuls le MBP et le MEHP sont détectés dans le méconium. Le groupe des nouveau-nés de petits

poids a de plus hautes concentrations de DBP et MEHP dans le sang du cordon comparé au groupe à poids normal (respectivement médianes de 1,8 mg/l *versus* 2,7 mg/l, $p < 0,01$ et 1,1 mg/l *versus* 2,5 mg/l, $p < 0,001$). Dans le méconium, les valeurs de MBP et MEHP sont deux fois plus élevées dans le groupe de petit poids comparé au groupe témoin ($p < 0,005$). Après prise en compte des possibles variables de confusion, les auteurs suggèrent que l'exposition au DBP *in utero* (sang cordon, méconium) est associée avec un plus faible poids de naissance et l'exposition au DEHP avec une taille plus petite. Le fait d'être dans le 4^e quartile pour le DBP et le MEHP dans le sang du cordon augmente le risque d'avoir un poids de naissance inférieur à 2 500 g (respectivement OR=3,54, [1,54-6,15], $p=0,008$; OR=2,05, [1,17-3,70], $p=0,05$). Dans le méconium, ce risque est également augmenté pour le MBP (OR=4,66 ; [2,14-6,85] ; $p < 0,001$) et le MEHP (OR=3,23 ; [1,31-5,94] ; $p=0,04$). Les auteurs concluent que l'exposition à ces phtalates est associée, avec un effet dose, à un plus bas poids de naissance chez le nouveau-né.

Études chez les adolescents

Dans une étude cas-témoins, Durmaz et coll. (2010) ont analysé le taux plasmatique de DEHP et MEHP chez 39 adolescents atteints de gynécomastie et 20 sujets témoins ne souffrant d'aucun désordre hormonal. Le DEHP était détecté dans tous les échantillons et son métabolite MEHP également, sauf dans un échantillon témoin. Il existe une corrélation positive avec les taux plasmatiques de DEHP et MEHP ; ces taux sont significativement plus élevés chez les adolescents souffrant de gynécomastie (DEHP : $4,66 \pm 1,58$ *versus* $3,09 \pm 0,90$ mg/l, respectivement cas et témoins (OR=2,77 ; IC 95 % [1,48–5,21]) ; MEHP : $3,19 \pm 1,41$ *versus* $1,37 \pm 0,36$ mg/l (OR=24,76 ; IC 95 % [3,5–172,6])). Il n'existe aucune corrélation avec les taux d'hormones (FSH, LH, SHBG, testostérone totale et libre). Cette étude réalisée sur un petit nombre de sujets est la première recherchant les liens entre phtalates et gynécomastie chez l'adolescent. Elle doit être confortée par des travaux sur des effectifs plus importants avec notamment l'analyse des rapports hormonaux souvent étudiés dans la gynécomastie.

Études chez l'homme adulte

Effet sur les paramètres du sperme

Plusieurs études ont recherché les relations entre exposition aux phtalates et appareil de reproduction chez l'homme adulte (tableau 34.II). Le protocole de ces études était différent (études transversales, études cas-témoins, études

exposés/non exposés) ainsi que les indicateurs étudiés (paramètre du sperme, ADN du spermatozoïde, hormones).

Rozati et coll. (2002) en Inde, rapportent les concentrations séminales de polychlorobiphényles (PCB) et de phtalates dans un groupe de 21 hommes inféconds (cas) ayant une altération d'un ou plusieurs paramètres du sperme mais en l'absence de toute cause ou de pathologie identifiée. Les résultats sont comparés à ceux du groupe témoin composé de 32 hommes féconds (témoins) ayant un spermogramme normal, n'ayant pas d'antécédent d'exposition à un facteur de risque ni de maladie. Les PCB sont détectés dans le plasma séminal des hommes inféconds (moyenne $7,63 \pm 5,35$ mg/l) mais pas dans celui des hommes féconds. Les concentrations séminales de PCB sont négativement corrélées avec le volume de l'éjaculat, la mobilité progressive des spermatozoïdes, la vitalité, mais corrélées positivement avec la présence d'ADN simple brin témoignant de l'altération de l'ADN du gamète.

Les concentrations séminales de phtalates sont significativement augmentées dans le groupe des hommes inféconds comparé au groupe des hommes féconds ($2,03 \pm 0,21$ versus $0,06 \pm 0,02$). Les concentrations de phtalates sont corrélées négativement avec le pourcentage de spermatozoïdes morphologiquement normaux ($r = -0,77$, $p < 0,01$) et positivement avec l'altération de l'ADN du gamète ($r = 0,85$, $p < 0,01$). Les concentrations de PCB et de phtalates sont plus élevées chez les inféconds urbains consommant du poisson que chez les inféconds ruraux consommateurs de poisson, suivi des inféconds urbains végétariens et des inféconds ruraux végétariens témoignant probablement de l'influence du mode de vie et de l'alimentation sur les concentrations séminales de PCB et de phtalates.

L'étude de Zhang (Zhang et coll., 2006), à Shanghaï, a également rapporté les concentrations de phtalates dans le plasma séminal. Dans cette étude transversale, 52 hommes consultant l'Institut of « *Planned Parenthood Research* » sont inclus sans que soient précisées les caractéristiques de ces hommes. Chez 37 hommes, les phtalates sont détectés dans le sperme avec des concentrations moyennes de 0,47 mg/l (mini-maxi : 0,13-1,32) pour le DEP, 0,16 mg/l (0,09-0,57) pour le DBP et 0,28 mg/l (0,08-0,98) pour le DEHP. Les auteurs rapportent une corrélation positive entre le temps de liquéfaction du sperme et les concentrations séminales des trois phtalates (coefficients de corrélations de l'ordre de 0,45 ; $p < 0,01$). A l'inverse, une corrélation négative est retrouvée entre le volume du sperme et la concentration séminale en DBP ($-0,38$, $p < 0,05$) et le DEHP ($-0,37$, $p < 0,05$). Enfin, une corrélation positive entre la concentration séminale de DEHP et le nombre de spermatozoïdes morphologiquement anormaux est rapportée ($+0,36$, $p < 0,05$). Par ailleurs, les auteurs suggèrent un lien entre la concentration de phtalates et la vitalité des spermatozoïdes. Cette étude montre la présence de phtalates dans le plasma séminal de la majorité des hommes étudiés mais le manque de précision concernant le recrutement de ces hommes, les méthodes d'analyse du sperme ainsi que la présentation des résultats rendent l'interprétation des résultats difficile même

si une relation avec le temps de liquéfaction du sperme et le volume de l'éjaculat pourrait éventuellement suggérer une action des phtalates sur les glandes du tractus génital masculin.

Le groupe de Russ Hauser, de l'école de santé publique à Harvard, Boston, a publié de nombreux articles sur les paramètres du sperme et les phtalates (Duty et coll., 2003a et b ; Hauser et coll., 2006 ; Hauser et coll., 2007 ; Hauser et coll., 2008). Les dosages des phtalates ont été effectués dans les urines d'hommes réalisant une exploration de sperme dans un laboratoire d'andrologie en raison d'une infécondité de couple. L'étude de 2006 (Hauser et coll., 2006) étendant les études antérieures, présente un effectif de 463 hommes recrutés entre janvier 2000 et mai 2004. Utilisant l'HPLC à haute performance et la spectrométrie de masse en tandem, le MEP (métabolite du DEP) est détecté dans 100 % des échantillons, les MBP, MBzP, MEHHP, MEOHP (métabolites du DBP, BBP et DEHP respectivement) dans environ 95 % des échantillons, le MEHP et le MMP (métabolite du DEHP et DMP respectivement) dans respectivement 83 et 76 % des échantillons d'urines. Le groupe d'hommes ayant des paramètres du sperme normaux sert de groupe de comparaison. Les auteurs excluent les patients présentant une azoospermie ou les patients diabétiques et tiennent compte de l'âge, du délai d'abstinence et de la consommation tabagique dans leurs analyses. Ils retrouvent une relation entre la concentration de MBP dans les urines (découpage en quartiles) et la concentration ainsi que la mobilité des spermatozoïdes. L'augmentation de la concentration de MBP augmente le risque d'avoir une concentration anormale (OR par quartile de MBP : 1,1, 3,1, 2,5, 3,3 ; $p=0,04$ pour la tendance) ou une mobilité anormale (OR par quartile de MBP : 1,0, 1,5, 1,5, 1,8 ; $p=0,04$ pour la tendance). Une évolution similaire pour le MBzP est suggérée avec la concentration de spermatozoïdes (OR par quartile de MBzP : 1,0, 1,1, 1,1, 1,9 ; $p=0,13$ pour la tendance). Ces résultats confirment ceux qui avaient été présentés dans les précédentes études de ce groupe.

Récemment, Russ Hauser (Hauser et coll., 2008), analysant de nouveau leur travail antérieur souligne l'intérêt du rapport MEHP/MEHP+MEOHP+MEHHP, qui serait un meilleur indicateur de la toxicité des phtalates car étant également un reflet de la détoxification. Ainsi une analyse intégrant ces paramètres apparaît souhaitable sur une large population. Par ailleurs, la question de doser d'autres substances exogènes apparaît également licite dans la mesure où des actions synergiques (en moins ou en plus) pourraient être mises en jeu.

Ce même groupe (Duty et coll., 2003a) a étudié les relations entre la concentration de phtalates urinaires et l'altération de l'ADN des spermatozoïdes appréciées par un test très sensible et utilisé en génotoxicité : le *Comet assay*. Ce test basé sur l'électrophorèse de cellules évalue la fragmentation de l'ADN par observation de la migration des fragments d'ADN réalisant l'image d'une comète d'où son nom. Plusieurs paramètres sont établis à partir de l'image de la comète comme sa densité, sa longueur et plusieurs rapports entre la densité

et la longueur. Après exclusion de 27 sujets ayant des densités urinaires en dehors des valeurs normales, les auteurs recherchent chez 141 hommes recrutés dans le laboratoire d'andrologie, les liens entre concentration de phtalates ou métabolites urinaires (MMP, MEP, MBP, MBzP, MEHP) et les altérations de l'ADN du gamète mâle. L'étendue de la comète (reflet de l'altération de l'ADN) évaluée grâce à un analyseur d'image est significativement associée à la concentration urinaire de MEP : +3,6 μm (IC 95 % : 0,74-6,47) pour chaque augmentation de quartile de MEP. L'intégration des 27 sujets exclus dans la première analyse renforce les résultats. Il n'y a pas de lien entre les autres phtalates étudiés et les résultats du *Comet assay*.

Cette dernière étude est complétée et étendue dans le travail publié en 2007 (Hauser et coll., 2007) portant sur 379 hommes et prenant en compte également l'étude des MEHHP et MEOHP urinaires. La concentration urinaire de MEP est associée à une augmentation de l'altération de l'ADN évaluée par le *Comet assay* comme rapporté dans la première étude. Une augmentation de quartile de la concentration de MEP se traduit par une augmentation de l'étendue de la comète de 6,6 μm (IC 95 % : 0,94-12,3 μm ; $p=0,02$). Le MEHP est positivement corrélé avec la longueur de la queue de la comète (3,06 μm , IC 95 % [1,33-4,79], $p=0,0006$). MBP et MBzP sont corrélés positivement avec respectivement le pourcentage d'ADN dans la queue de la comète et l'étendue de la comète traduisant la fragmentation de l'ADN du gamète. Le MMP est lui inversement corrélé avec les deux derniers paramètres. Les métabolites oxydés du DEHP, soient le MEHHP et le MEOHP, semblent avoir un effet protecteur, leur concentration urinaire étant négativement corrélée à l'altération de l'ADN.

Les auteurs émettent l'hypothèse que les métabolites oxydés du DEHP sont des témoins de son métabolisme et modifient le risque pour l'ADN du spermatozoïde. Le pourcentage de MEHP (égal à $[\text{MEHP}/\text{MEOHP} + \text{MEHHP} + \text{MEHP}] \times 100$) traduisant le métabolisme du DEHP présente une relation plus importante avec l'altération de l'ADN du spermatozoïde (par exemple, une augmentation d'un quartile de la concentration de MEHP est associée à une augmentation de 15 μm de l'étendue de la comète (IC 95 %: 7,9-22 μm). Les auteurs soulignent que les relations retrouvées entre concentration urinaire de certains métabolites et les altérations de l'ADN du spermatozoïde le sont pour des concentrations comparables à celles de la population générale.

Une étude réalisée dans la région des grands lacs aux États-Unis chez 45 hommes recrutés dans une clinique d'infertilité (Wirth et coll., 2008), trouve une corrélation significative négative entre MEP urinaire et la concentration de spermatozoïdes ($r=-0,37$, $p=0,01$) et le pourcentage de spermatozoïdes morphologiquement normaux ($r=-0,38$, $p=0,01$).

Dans le modèle de régression multiple, le fait d'avoir des concentrations urinaires de MEP au-dessus de la médiane augmente le risque d'avoir une concentration de spermatozoïdes basse (OR=6,5 ; IC 95 % [1,0-43,6]). La

concentration de MCPP (3cx-MNOP) est associée au risque d'avoir moins de spermatozoïdes morphologiquement normaux (OR=7,6 ; IC 95 % [1,7-33,3]). Pour le DEHP et le MEP, les risques d'avoir une concentration de spermatozoïdes basse (OR=5,4 ; IC 95 % [0,9-30,8]) et un nombre de spermatozoïdes morphologiquement normaux (OR=3,4 ; IC 95 % [0,9-13,8]) approchent la significativité.

Jönsson et coll. (2005), dans une étude incluant 234 jeunes suédois recrutés au moment de la visite médicale pour le service militaire, âgés de 18 à 21 ans, mesurent les phtalates dans les urines (MEP, MBP, MBzP, MEHP et acide phtalique), les paramètres du sperme, la qualité de la chromatine par le SCSA (*sperm chromatine structure assay*) ainsi que les marqueurs des glandes du tractus génital dans le plasma séminal et des paramètres hormonaux (FSH, LH, testostérone, TEBG, inhibine) sanguins. Un examen andrologique était effectué avec la mesure du volume testiculaire par échographie. Chez ces hommes jeunes, les concentrations urinaires de métabolites des phtalates semblent dans le même ordre de grandeur que celles retrouvées dans les études américaines sauf pour le MEP qui a des valeurs élevées. La détection dans les urines est moins fréquente que dans les échantillons américains, probablement en raison de seuils de détection plus élevés. Les sujets étant dans le 4^e quartile pour la concentration de MEP ont un volume testiculaire plus élevé (différence moyenne de 3,2 ml ; 0,4-6,0) mais moins de spermatozoïdes mobiles (-8,8 % ; 0,8-17) et une concentration plasmatique de LH abaissée (-0,7 UI/l ; 0,1-1,2). À l'inverse, un sujet dans le 4^e quartile pour la concentration en acide phtalique a un volume testiculaire plus élevé (+3,8 ml ; 0,9-6,8) et plus de spermatozoïdes mobiles (+9,4 % ; 3,7-15). Aucune corrélation n'est retrouvée entre la concentration urinaire de phtalates et la qualité de la chromatine appréciée par le SCSA. Les auteurs concluent que les résultats observés ne permettent pas d'affirmer que l'exposition aux phtalates représente un risque pour la reproduction contrairement aux études réalisées aux États-Unis.

Les résultats de cette étude ne sont pas en accord avec les études du groupe de Hauser, de Wirth, de Rozati et de Zhang, qui retrouvent des relations entre concentration urinaire ou séminale de certains métabolites de phtalates et certains paramètres du sperme. Par ailleurs, cette dernière étude ne retrouve pas de relation entre phtalates et la qualité nucléaire du spermatozoïde (chromatine étudiée par le test SCSA) alors que des relations sont retrouvées dans l'étude de Rozati (test proche du SCSA) ou dans l'étude du groupe de Hauser dans laquelle la fragmentation de l'ADN est mise en évidence (*Comet assay*). Ces différences peuvent s'expliquer par les populations étudiées, les seuils de détection des phtalates, le nombre de phtalates recherchés ainsi que par les méthodes d'analyse des résultats.

Une étude réalisée en Allemagne (Herr et coll., 2009) dans une population de 349 hommes consultant pour infécondité de couple a analysé la concentration urinaire de DEHP et quatre de ses métabolites (MEHP, MEHHP,

MEOHP et MECPP) et leur relation avec la concentration de spermatozoïdes, le pourcentage de spermatozoïdes mobiles ou de forme normale. Chez la majorité des hommes (236/349), la concentration de spermatozoïdes est supérieure à 20 millions par ml alors que pour la mobilité et le pourcentage de spermatozoïdes normaux la majorité des hommes présente des valeurs abaissées. Il existe une grande variabilité dans les concentrations de phtalates dans les urines avec des valeurs élevées dans le 4^e quartile. Le seul résultat significatif témoigne d'une augmentation du risque de présenter une diminution de la concentration de spermatozoïdes entre le 1^{er} et 2^e quartile de la concentration urinaire en phtalates. L'absence d'un effet dose (significativité non retrouvée) pour les fortes concentrations en phtalates limite nettement ce résultat. Les auteurs concluent en l'absence de relations entre la concentration urinaire des métabolites des phtalates dosés et les paramètres du sperme étudiés. Ils suggèrent que le type de population d'hommes inféconds avec une cause plurifactorielle de l'infécondité pourrait biaiser les résultats.

L'étude de Won Han (Han et coll., 2009), si elle n'étudie pas les paramètres du sperme, met en évidence, chez 99 hommes jeunes (20-25 ans) en bonne santé, la présence de phtalates et métabolites dans plus de 90 % des plasma séminaux. Les concentrations moyennes sont de 0,61 mg/l pour le DEHP, 1,07 mg/l pour le MEHP, 0,003 mg/l pour le DBP, 0,06 mg/l pour le MBP et 0,39 mg/l pour l'acide phtalique. Cette étude complète les autres travaux analysant les phtalates et métabolites dans le plasma séminal (Rozati et coll., 2002 ; Zhang et coll., 2006) qui retrouvaient un lien entre certains paramètres du sperme et la concentration de phtalates dans le plasma séminal. La mesure des phtalates dans le plasma séminal apparaît une piste intéressante qui mériterait d'être explorée sur de grandes séries en rapportant la concentration des xénobiotiques dans ce compartiment aux caractéristiques du sperme et notamment les caractéristiques nucléaires du gamète mâle.

Tableau 34.II : Études chez l'homme adulte

Référence Type d'étude Pays	Population (milieu étudié)	Métabolites analysés	Paramètres étudiés	Résultats et commentaires
Rozati et coll., 2002 Cas/témoin Inde	21 hommes infertiles avec altération sperme sans étiologie 32 hommes féconds avec sperme normal (plasma séminal)	PE Féconds : 0,06±0,02 µg/ml Infertiles : 2,03±0,21 µg/ml	Paramètres du sperme : concentration, mobilité, morphologie, ADN	Phtalate chez infertiles corrélation – avec morphologie corrélation – anomalies tête corrélation + avec ADN simple brin

Référence Type d'étude Pays	Population (milieu étudié)	Métabolites analysés	Paramètres étudiés	Résultats et commentaires
Duty et coll., 2003a Transversale États-Unis	141 hommes Labo- ratoire andrologie Exploration infécondité (Urines)	MEP, MMP (100 % des sujets) MEHP, MBP (75 % des sujets) MBzP, MINP, MCHP (95 % des sujets)	ADN des spermato- zoïdes : test de la Comète	Interquartile MEP corrélation + avec longueur de la comète
Duty et coll., 2003b Transversale États-Unis	168 hommes Laboratoire andrologie Exploration infécondité Résultats identiques après exclusion Azoospermes et diabétiques (Urines)	MEP (100 % des sujets) MMP, MBP, MBzP (95 % des sujets) MEHP (75 % des sujets)	Paramètres du sperme : concentra- tion, mobilité, mor- phologie	MBP>médiane : x2,4 risque d'avoir % mobiles bas Tertile MBzP OR↑ concentration basse (1, 1,4, 5,5 ; p=0,02) Tertile MBP OR↑ concentration basse (1, 1,4, 3,3 p=0,07) Tertile MBP OR↑ mobilité (1, 1,8, 3,0 ; p=0,02) Dose réponse
Duty et coll., 2005 Transversale États-Unis	295 hommes Laboratoire andrologie Exploration infécondité (Urines)	MEP (100 % des sujets) MBP (99 % des sujets) MBzP, MMP, MEHP (95 % des sujets)	Hormones : LH, FSH, inhibine, testo- stérone, TEBG, testostérone libre	MBzP corrélée négativement à FSH MBP corrélée posi- tivement avec l'inhi- bine
Jönsson et coll., 2005 Transversale Suède	234 hommes jeunes conscrits service militaire (Urines)	MEP, MBP, MBzP, MEHP, acide phta- lique concentration dans le même ordre que population amé- ricaine	Paramètres du sperme : concentra- tion, mobilité, mor- phologie Hormones : FSH, LH, TEBG, testostérone, inhi- bine	MBP, MBzP, MEHP : pas de relation avec paramètres étudiés Haut quartile MEP ↑ volume des testicules ↓ CASA mobilité ↓ LH Haut quartile acide phtalique → ↑ volume des testicules ↑ % mobiles

Référence Type d'étude Pays	Population (milieu étudié)	Métabolites analysés	Paramètres étudiés	Résultats et commentaires
Zhang et coll., 2006 Transversale Shanghai	52 hommes <i>Institute of planned parenthood research</i> (pas de précision) (Plasma séminal)	DEP, DBP, DEHP (100 % des échantillons) DEP : 0,47 mg/l DBP : 0,16 mg/l DEHP : 0,28 mg/l médiane 0,30 (0,08-1,32) µg/l	Paramètres du sperme : concentra- tion, mobilité, mor- phologie	Les 3 : corrélation + avec temps liquéfaction DBP, DEHP : corré- lation – avec volume
Pan et coll., 2006 Cas/témoïn Shanghai	74 exposés travail plastique 63 non exposés (Urines)	MEHP et MBP : tous les échantillons sauf 1 non exposé Exposés vs non exposés MBP : 644,3 vs 129,6 µg/g creat MEHP : 567,7 vs 5,7 µg/g creat	Hormones LH FSH, testosté- rone libre, E2	Testostérone libre : exposés et non exposés 8,4±1,5 vs 9,7±1,4 pg/ml corrélation – total phtalates (r=-0,26, p=0,02) corrélation – MEHP (p<0,01)
Hauser et coll., 2006 Transversale États-Unis	463 hommes Laboratoire andrologie Extension étude de 2003 et 2004 (Urines)	MEP (100 %), MBP (97 %), MBzP (94 %), MMP (76 %), MEHP (83 %), MEHHP et MEOHP (95 %)	Paramètres du sperme : concentra- tion, mobilité, morphologie Groupe référence : hommes avec les 3 paramètres normaux (normes OMS)	MBP ↑ quartile : ↑ OR concentration basse (1, 3, 1, 2,5, 3,3) MBP : ↑ OR mobi- lité basse (1, 1,5, 1,5, 1,8) MBzP (plus haut quartile) : ↑ OR concentration basse (1, 1,1, 1,1, 1,9)
Hauser et coll., 2007 Transversale États-Unis	379 hommes Laboratoire andrologie Avril 2000 – mai 2004 (Urines)	MEP (100 %), MBP et MBzP (90 %), MMP et MEHP (75 %), MEHHP et MEOHP (95 %)	ADN des spermato- zoïdes : test de la comète	MEP, MBzP, MBP associés à dom- mage ADN MEP ↑ : ↑ extension comète, MEHP ↑ : ↑ extension comète, % ADN dans queue comète

Référence Type d'étude Pays	Population (milieu étudié)	Métabolites analysés	Paramètres étudiés	Résultats et commentaires
Hauser et coll., 2008 Re-analyse États-Unis	Étude 2006 (sperme) Étude 2007 (ADN spz) (Urines)	% MEHP = $100 \times$ MEHP/(MEHP + MEHHP + MEOHP)	Paramètres du sperme : concentra- tion, mobilité Morphologie ADN des spermato- zoïdes : test de la comète	% MEHP chaque quartile : OR 1,0, 1,3, 1,6, 1,5 pour mobilité réduite MEHP associé avec % queue comète (altération ADN) Inverse pour MEHHP et MEOHP : % MEHP meilleur indicateur métabo- lisme
Wirth et coll., 2008 Transversale États-Unis	45 hommes inféconds sans cause connue d'infertilité (Urines)	MEP, MBP, MiBP, MBzP, MEHP, MEOHP et MEHHP (100 %), MMP (72 %), MCP (89 %)	Paramètres du sperme : concentra- tion, mobilité, mor- phologie	MEP corrélation – concentration corrélation – % mor- phologie normale MEP au-dessus médiane OR : 6,5 (1-43,6) concentra- tion basse MCP au-dessus médiane OR : 7,6 (1,7-33,3) ; % mor- phologie normale basse DEHP – concentra- tion limite NS DEP – % morpholo- gie normale limite NS
Herr et coll., 2009 Transversale Allemagne	349 hommes consultants pour infécondité (Urines)	MEHP MEHHP MEOHP MECPP	Paramètres du sperme : concentra- tion, mobilité, mor- phologie	Pas d'effet significatif

MEP : Monoéthyl phtalate ; MBP : Monobutyl phtalate ; MBzP : Monobenzyl phtalate ; MMP : Monométhyl phtalate ; MEHP : Mono-(2-éthylexyl) phtalate ; MEHHP : Mono-(2-éthyl-5-hydroxyhexyl) phtalate ; MEOHP : Mono-(2-éthyl-5-oxohexyl) phtalate ; CASA : *Computer assisted sperm analysis*

Effets sur les hormones de la reproduction

À Boston, le groupe de Hauser (Duty et coll., 2005) a étudié les hormones de la sphère reproductive (FSH, LH, SHBG, testostérone, inhibine, index d'androgène libre) chez 295 hommes consultant au laboratoire d'andrologie pour infécondité de couple ainsi que les concentrations urinaires de phtalates

(MMP, MBP, MEP, MBzP, MEHP). Ils trouvent une relation négative entre MBzP et FSH et une relation à la limite de la significativité entre MBP et inhibine. La concentration de MBzP passant du 1^{er} quartile au dernier quartile est associée à une diminution de FSH (OR=0,9 ; IC 95 % [0,84-0,96] ; p=0,003). Un changement de quartile pour la concentration de MBP entraîne une augmentation de l'inhibine de 7,33 ng/l (IC 95 % [-0,55-15,21] ; p=0,07).

Cette étude montre des relations entre certains métabolites et les concentrations de FSH et d'inhibine, mais ces relations ne sont pas du tout le reflet d'une action délétère des phtalates sur des hormones témoignant avant tout du bon fonctionnement de la spermatogenèse. Par ailleurs, il faut souligner la particularité de la population étudiée consultant pour infécondité et chez laquelle une proportion d'hommes présente des taux de FSH au-dessus de la limite supérieure de la normale. Enfin, une corrélation négative est retrouvée entre la concentration en MEHP et celle en testostérone ($r=-0,17$, $p<0,005$).

Plus intéressante semble l'étude de type exposés/non exposés réalisée en Chine (Pan et coll., 2006). Soixante quatorze hommes exposés au sein d'une usine de PVC au DBP et au DEHP sont comparés à 63 hommes non exposés appariés sur l'âge et la consommation tabagique. Les concentrations urinaires des métabolites MBP (DBP) et MEHP (DEHP) et les concentrations plasmatiques de FSH, LH, testostérone et œstradiol sont déterminées. Le MBP et le MEHP sont détectés chez tous les hommes à l'exception d'un homme non exposé. Les travailleurs exposés ont des taux de MBP et MEHP significativement plus élevés que les non exposés, traduisant ainsi la réalité de l'exposition (respectivement 644,3 *versus* 129,6 µg/g de créatinine pour MBP et 565,7 *versus* 5,7 µg/g de créatinine pour le MEHP). Une corrélation négative entre la concentration en testostérone et la concentration urinaire de MBP ($r=-0,24$; $p=0,006$) et MEHP ($r=-0,24$; $p=0,005$) est mise en évidence. Les exposés ont un taux de testostérone significativement plus bas que les non exposés ($8,4\pm 1,5$ *versus* $9,7\pm 1,4$ µg/l, $p=0,019$). La corrélation négative avec la testostérone est en accord avec celle retrouvée dans l'étude de Duty (Duty et coll., 2005). A l'inverse, l'étude de Jönsson rapportée au-dessus n'a pas mis en évidence de corrélation entre les phtalates urinaires et la testostérone.

Études chez la femme

Une seule étude citée plus haut (Huang et coll., 2009) a cherché à évaluer les conséquences d'une exposition *in utero* aux phtalates sur le développement de l'appareil génital des nouveau-nés de sexe féminin. D'autres études s'intéressant à la fertilité et l'appareil reproducteur de la femme ont évalué les risques de puberté précoce ou d'endométriose en relation avec les concentrations plasmatiques ou urinaires de phtalates ou de leurs métabolites.

Puberté précoce

Parce qu'une forte incidence de thélarche prématuré (développement mammaire avant l'âge de 8 ans sans autre manifestation de puberté) est observée sur l'île de Porto Rico depuis plusieurs décennies, des chercheurs ont comparé un groupe de 41 filles atteintes, d'âge médian 20 mois, à un groupe témoin de 35 filles ayant consulté dans les mêmes hôpitaux pour des soins généraux pédiatriques et d'âge médian de 46 mois (Colón et coll., 2000). À partir de dosages sanguins, ils ont observé des niveaux de phtalates plus élevés dans le groupe des fillettes atteintes que dans le groupe témoin. La validité de cette observation a cependant été très critiquée par d'autres auteurs en raison de contamination possible du matériel utilisé pour réaliser les dosages sanguins (Hauser et Calafat, 2005). D'autres études plus récentes ont ainsi tenté d'examiner l'association entre l'exposition aux phtalates et le risque de puberté précoce chez les filles en utilisant des dosages urinaires de métabolites de phtalates.

Lomenick et coll. (2010) ont recruté 28 filles atteintes de puberté précoce centrale (CPP, défini dans cette étude par un développement mammaire, la présence de poils pubiens entre 2 et 8 ans et des tests hormonaux) et 28 filles sans CPP de même âge et groupe ethnique. L'âge moyen des filles était d'environ 7 ans et 71 % des fillettes étaient d'origine caucasienne. L'étude n'a pas observé de différence de concentration urinaire entre les deux groupes de fillettes pour les 9 métabolites de phtalates analysés (MBP, MEP, MBzP, MCP, MECPP, MEHHP, MEHP, MEOHP, MIBP). Une étude taiwanaise (Chou et coll., 2009) a dosé 4 métabolites (MMP, MBP, MBzP, MEHP) de phtalates dans les urines de 26 fillettes atteintes de CPP (défini par un développement mammaire avant 8 ans, une croissance osseuse avancée et des tests hormonaux), de 30 fillettes atteintes de thélarche prématuré isolé (développement mammaire uniquement) et de 33 fillettes témoins (sans signe physique de développement pubertaire) recrutées lors d'examens médicaux scolaires. L'âge moyen des fillettes était respectivement de 8,0, 6,7 et 8,2 ans. L'étude n'a montré aucune différence des niveaux urinaires entre le groupe de fillettes CPP et le groupe de fillettes témoins. En revanche, une concentration de MMP plus élevée a été observée chez les fillettes avec un thélarche prématuré en comparaison du groupe témoin. Outre les effectifs modestes et les critères variables de définition de puberté précoce présentés par ces deux études, une autre limite importante est le caractère rétrospectif du prélèvement urinaire recueilli pour mesurer l'exposition potentiellement mise en cause dans l'apparition précoce de signes de puberté.

L'étude de Wolff et coll. (2010) à partir de trois sites d'étude aux États-Unis a examiné le poids, la taille, le développement mammaire et la pilosité pubienne de fillettes âgées de 6 à 9,5 ans ; un prélèvement urinaire a été obtenu pour 1 151 fillettes (93 %) ; différentes informations ethniques, socio-démographiques, médicales et d'exposition ont été obtenues par un questionnaire complété par les parents. Un an après, lors d'une deuxième visite, le

poids, la taille, le développement mammaire (n=985) et la pilosité pubienne (n=967) ont été examinés à nouveau pour la majorité de ces fillettes. Neuf métabolites urinaires de phtalates étaient dosés distinguant les molécules de haut poids moléculaire (MBzP, MCP, MEHP, MEOHP, MEHHP, MECPP) de celles de faible poids moléculaire (MEP, MBP, MIBP). Comme attendu, les métabolites étaient détectés dans la plupart des échantillons urinaires. Les auteurs ont observé que la somme des concentrations de phtalates de faible poids moléculaire était associée positivement (mais de force faible) avec les stades de développement mammaire et de pilosité pubienne. En revanche, une association négative était observée entre la somme des concentrations de phtalates de haut poids moléculaire et les stades de pilosité pubienne. Les auteurs concluent que les composés qui possèdent une activité hormonale et qui sont retrouvés à des concentrations élevées aujourd'hui, comme les phtalates, peuvent jouer un rôle (même faible) dans le développement pubertaire. Ces composés étant ubiquistes, ce faible rôle pourrait concerner une proportion significative de la population. Les auteurs précisent que le rôle attendu des phtalates sur le développement pubertaire n'était pas évident au vu des effets divergents de ces composés en toxicologie animale. L'effet opposé, suggéré dans cette étude, entre les molécules de phtalates de haut et de faible poids moléculaire sur le développement pubertaire (pilosité pubienne) n'a pas pu être expliqué par les auteurs. Ils notent cependant que les modalités et l'intensité des expositions ambiantes (air, poussières...) diffèrent selon les deux groupes de molécules. Les auteurs ajoutent que la période péripubertaire n'est probablement pas la seule fenêtre d'exposition critique pour le développement pubertaire ; les expositions pendant la grossesse et postnatales pourraient exercer un effet sur le développement de l'enfant. Finalement, les résultats de cette étude doivent être confirmés par d'autres études pour être concluants. Les mécanismes d'action et les périodes critiques d'exposition à ces composés sur le développement pubertaire devront de plus être élucidés.

Endométriose

Trois études évaluant l'impact possible d'une exposition des femmes aux phtalates sur le risque d'endométriose ont été répertoriées (Cobellis et coll., 2003 ; Reddy et coll., 2006 ; Itoh et coll., 2009) (tableau 34.III).

L'étude italienne de Cobellis et coll. (2003) a inclus 35 femmes atteintes de lésions endométriosiques et 24 femmes sans endométriose diagnostiquée. Elles ont été recrutées parmi des femmes consultant pour des problèmes de kystes ovariens ou de douleurs pelviennes régulières, mais sans difficulté *a priori* de reproduction. À partir de dosages sanguins, l'étude a mis en évidence la présence de DEHP et MEHP pour la majorité des femmes. Elle montrait un niveau médian de DEHP plus élevé dans le groupe des femmes atteintes d'endométriose (0,57 mg/l) que dans le groupe des femmes en bonne santé (0,18 mg/l). En revanche, aucune différence des niveaux médians n'a été

observée pour le MEHP, impliquant une absence de corrélation entre les niveaux des deux composés pour cette étude.

L'étude indienne de Reddy et coll. (2006) a inclus 49 femmes infertiles atteintes d'endométriose pelvienne diagnostiquée par coelioscopie à l'hôpital, ainsi que 38 femmes infertiles et 21 femmes fertiles ayant subi une coelioscopie pour d'autres problèmes gynécologiques. À partir de dosages sanguins, l'étude a montré des niveaux moyens de DEHP, DNOP, BBP et DBP plus élevés dans le groupe des femmes atteintes d'endométriose (respectivement 2,44, 3,32, 0,66 et 0,44 mg/l) que dans les deux groupes de femmes sans endométriose observant ainsi des niveaux moyens similaires. Une tendance à l'augmentation des niveaux sanguins pour ces composés était suggérée avec le degré de sévérité d'endométriose.

Ces deux études suggérant un lien positif entre l'exposition à plusieurs phtalates et le risque d'endométriose possèdent cependant quelques limites importantes. Elles s'appuient sur des dosages sanguins de phtalates qui ont une demi-vie très courte (<1 heure pour le DEHP). La mesure de l'exposition rétrospective, au moment de l'examen clinique, est ainsi problématique. De plus, les phtalates dosés peuvent être issus du matériel utilisé pour les prélèvements sanguins. Cobellis et coll. (2003) précisent par exemple que le prélèvement sanguin a pu avoir lieu le jour précédent la chirurgie coelioscopique, pouvant suggérer une contamination des prélèvements pour ces patientes. Aucune autre information permettant d'exclure une contamination, différentielle ou non, des prélèvements sanguins n'est apportée par ces deux études. De plus, les résultats de ces deux études sont descriptifs et ne tiennent pas compte de facteurs de confusion possibles, excepté l'âge des femmes.

Une troisième étude (Itoh et coll., 2009) a proposé d'évaluer l'association entre les dosages urinaires de phtalates et le degré de sévérité d'endométriose parmi 137 femmes japonaises en âge de procréer, ayant consulté pour infertilité et ayant subi un examen coelioscopique. Les participantes étaient interviewées avec un questionnaire standardisé permettant de prendre en compte différents facteurs de confusion. Les premières urines du matin étaient recueillies avant la coelioscopie. L'étude a montré que les 6 métabolites analysés dans les urines (MEP, MBP, MEHP, MEHHP, MEOHP, MBzP) étaient retrouvés dans tous les échantillons ou presque (97 % pour le MBzP). Les niveaux médians les plus élevés de ces métabolites étaient observés chez les patientes atteintes d'endométriose les plus sévères. Les analyses prenant en compte les variabilités individuelles de dilution urinaire (avec la créatinine) n'ont cependant pas mis en évidence de relation dose-réponse.

En résumé, les résultats de cette troisième étude ne confirment pas ceux suggérés par les études italienne et indienne. Les preuves de l'existence possible d'un lien entre phtalates et endométriose sont à ce jour très limitées.

Tableau 34.III : Études des relations entre phtalates et effets sur l'appareil reproducteur femelle

Référence Type d'étude Pays	Effet étudié	Population	Composés dosés (matrice)	Résultats et commentaires
Colón et coll., 2000 Cas-témoins Porto-Rico	Thélarche précoce	41 filles atteintes (20 mois)/ 35 témoins (36 mois)	DEHP (sérum)	Niveaux plus élevés chez les fillettes atteintes Étude controversée
Lomenick et coll., 2010 Cas-témoins États-Unis	Puberté précoce centrale (CPP)	28 filles atteintes/28 témoins	MBP, MBzP, MCPP, MECPP, MEHHP, MEHP, MEOHP, MEP, MIBP (urines)	Niveaux urinaires comparables entre les deux groupes Mesure d'exposition rétrospective (prélèvement urinaire à l'inclusion)
Chou et coll., 2009 Cas-témoin Taïwan	Puberté précoce centrale (CPP)	26 filles atteintes/30 thélarche précoce isolé /33 témoins	MMP, MBP, MBzP, MEHP (urines)	Aucune différence entre les groupes CPP et témoins Niveaux de MMP plus élevés chez le groupe thélarche prématuré vs groupe témoin Mesure d'exposition rétrospective
Wolff et coll., 2010 Cohorte États-Unis	Développement mammaire et pilosité pubienne	Environ 1 000 fillettes	MBzP ^a , MCPP ^a , MEHP ^a , MEOHP ^a , MEHHP ^a , MECPP ^a , MEP ^b , MBP ^b , MBP ^b (urines)	Somme des niveaux de phtalates de faible poids moléculaire corrélée positivement (force faible) avec les stades de développement mammaire et de pilosité pubienne Somme des niveaux de phtalates de haut poids moléculaire corrélée négativement aux stades de pilosité pubienne
Cobellis et coll., 2003 Cas-témoin Italie	Endométriose	35 femmes atteintes/24 témoins	DEHP, MEHP (sang)	Niveaux DEHP plus élevés chez les femmes atteintes. Pas de différence pour le MEHP Exposition rétrospective Contamination par matériel utilisé ? Absence de prise en compte de facteurs de confusion
Reddy et coll., 2006 Cas-témoin Inde	Endométriose	49 femmes atteintes/59 témoins	DEHP, DBP, BBP, DNOP, DEHP (sang)	Niveaux augmentés avec degré de sévérité. Pas de différence entre cas et témoins Exposition rétrospective Absence de prise en compte de facteurs de confusion
Itoh et coll., 2009 Transversale Japon	Endométriose	137 femmes atteintes et infertiles	MEP, MBP, MEHP, MEHHP, MEOHP, MBzP (urines)	Pas de relation entre niveaux urinaires et degré de sévérité

Référence Type d'étude Pays	Effet étudié	Population	Composés dosés (matrice)	Résultats et commentaires
Huang et coll., 2009 Transversale Taiwan	Distance anogénitale	31 fillettes	MBP/MEHP (urine mères (n=65) et liquide amniotique)	Distance anogénitale plus courte chez les filles les plus exposées Plus grande sensibilité des fœtus féminins à un effet anti-androgène des phtalates ?

^a Haut poids moléculaire ; ^b Faible poids moléculaire

En conclusion, les études réalisées chez l'homme ou la femme montrent que certains phtalates sont retrouvés dans les urines, le plasma sanguin, et également dans le plasma séminal.

Une étude (Swan et coll., 2008) a montré pour la première fois une relation entre les métabolites (MEP, MBP, MEHP) et en particulier les métabolites oxydés (MEHHP, MEOHP), et la distance anogénitale chez le garçon à la naissance.

Chez les fillettes, un effet sur la puberté précoce a été essentiellement analysé et les résultats restent divergents.

Il y a, à ce jour, des preuves très limitées pour conclure à l'existence d'un rôle des phtalates sur la survenue des anomalies de l'appareil génital du petit garçon (hypospadias, cryptorchidie). D'autres études sont nécessaires pour confirmer ou infirmer le rôle possible de l'exposition aux phtalates sur la distance anogénitale et sur le risque de puberté précoce (en particulier chez les fillettes).

La majorité des études chez l'homme adulte retrouvent un lien entre les concentrations de phtalates et une altération des paramètres du sperme dont la concentration et la morphologie des spermatozoïdes ainsi qu'une augmentation de la fragmentation de l'ADN du gamète mâle. Cependant, quelques études ne mettent pas en évidence d'effets des phtalates sur les paramètres du sperme. Par ailleurs, une étude de type exposé/non exposé met en évidence une relation entre des concentrations élevées de phtalates et des concentrations basses de testostérone.

Il faut souligner la difficulté de réaliser une synthèse tant sont différentes les modalités des études (transversale, cas/témoin, exposé/non exposé), les populations étudiées, la méthodologie des dosages et leurs limites de détection ainsi que dans les critères de jugement (*end points*) pris en compte. Par ailleurs, ces études s'intéressent aux phtalates et n'abordent pas les autres facteurs xénobiotiques auxquels les hommes pourraient être exposés. Il semblerait souhaitable de pouvoir réaliser de larges études prenant en compte comme critère de jugement les paramètres de la fonction de reproduction comme les aspects quantitatifs mais également qualitatifs du gamète mais en recherchant l'exposition à plusieurs xénobiotiques et facteurs de risques pour la spermatogénèse.

Peu d'études ont évalué le rôle possible de l'exposition aux phtalates sur la santé reproductive des femmes. Seul le risque d'endométriose a été spécifiquement évalué et les preuves apportées par ces quelques études de l'existence possible d'un lien entre phtalates et endométriose sont insuffisantes. Les effets de l'exposition aux phtalates sur la fonction ovulatoire et certains niveaux hormonaux (œstradiol, progestérone, LH, FSH) suggérés dans les études animales ne sont pas relatés chez la femme.

BIBLIOGRAPHIE

CHOU YY, HUANG PC, LEE CC, WU MH, LIN SJ. Phthalate exposure in girls during early puberty. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2009, **22** : 69-77

COBELLIS L, LATINI G, DE FELICE C, RAZZI S, PARIS I, et coll. High plasma concentrations of di-(2-ethylhexyl)-phthalate in women with endometriosis. *Hum Reprod* 2003, **18** : 1512-1515

COLON I, CARO D, BOURDONY CJ, ROSARIO O. Identification of phthalate esters in the serum of young Puerto Rican girls with premature breast development. *Environ Health Perspect* 2000, **108** : 895-900

DURMAZ E, ÖZMERT EN, ERKEKOGLU P, GIRAY B, DERMAN O, et coll. Plasma phthalate levels in pubertal gynecomastia. *Pediatrics* 2010, **125** : e122-e129

DUTY SM, SINGH NP, SILVA MJ, BARR DB, BROCK JW, et coll. The relationship between environmental exposures to phthalates and DNA damage in human sperm using the neutral comet assay. *Environ Health Perspect* 2003a, **111** : 1164-1169

DUTY SM, SILVA MJ, BARR DB, BROCK JW, RYAN L, et coll. Phthalate exposure and human semen parameters. *Epidemiology* 2003b, **14** : 269-277

DUTY SM, CALAFAT AM, SILVA MJ, RYAN L, HAUSER R. Phthalate exposure and reproductive hormones in adult men. *Hum Reprod* 2005, **20** : 604-610

HAN SW, LEE H, HAN SY, LIM DS, JUNG KK, et coll. An exposure assessment of di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) and di-n-butyl phthalate (DBP) in human semen. *J Toxicol Environ Health A* 2009, **72** : 1463-1469

HAUSER R. Urinary phthalate metabolites and semen quality : a review of a potential biomarker of susceptibility. *Int J Androl* 2008, **31** : 112-117

HAUSER R, CALAFAT AM. Phthalates and human health. *Occup Environ Med* 2005, **62** : 806-818

HAUSER R, MEEKER JD, DUTY S, SILVA MJ, CALAFAT AM. Altered semen quality in relation to urinary concentrations of phthalate monoester and oxidative metabolites. *Epidemiology* 2006, **17** : 682-691

HAUSER R, MEEKER JD, SINGH NP, SILVA MJ, RYAN L, et coll. DNA damage in human sperm is related to urinary levels of phthalate monoester and oxidative metabolites. *Hum Reprod* 2007, **22** : 688-695

HERR C, ZUR NA, KOCH HM, SCHUPPE HC, FIEBER C, et coll. Urinary di-(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP)-Metabolites and male human markers of reproductive function. *Int J Hyg Environ Health* 2009, **212** : 648-653

HUANG PC, KUO PL, CHOU YY, LIN SJ, LEE CC. Association between prenatal exposure to phthalates and the health of newborns. *Environ Int* 2009, **35** : 14-20

ITOH H, IWASAKI M, HANAOKA T, SASAKI H, TANAKA T, et coll. Urinary phthalate monoesters and endometriosis in infertile Japanese women. *Sci Total Environ* 2009, **408** : 37-42

JONSSON BA, RICHTHOFF J, RYLANDER L, GIWERCMAN A, HAGMAR L. Urinary phthalate metabolites and biomarkers of reproductive function in young men. *Epidemiology* 2005, **16** : 487-493

LATINI G, DE FC, PRESTA G, DELVA, PARISI, et coll. In utero exposure to di-(2-ethylhexyl)phthalate and duration of human pregnancy. *Environ Health Perspect* 2003, **111** : 1783-1785

LOMENICK JP, CALAFAT AM, MELGUIZO CASTRO MS, MIER R, STENGER P, et coll. Phthalate exposure and precocious puberty in females. *J Pediatr* 2010, **156** : 221-225

MAIN KM, MORTENSEN GK, KALEVA MM, BOISEN KA, DAMGAARD IN, et coll. Human breast milk contamination with phthalates and alterations of endogenous reproductive hormones in infants three months of age. *Environ Health Perspect* 2006, **114** : 270-276

ORMOND G, NIEUWENHUIJSEN MJ, NELSON P, TOLEDANO MB, ISZATT N, et coll. Endocrine disruptors in the workplace, hair spray, folate supplementation, and risk of hypospadias : case-control study. *Environ Health Perspect* 2009, **117** : 303-307

PAN G, HANAOKA T, YOSHIMURA M, ZHANG S, WANG P, et coll. Decreased serum free testosterone in workers exposed to high levels of di-n-butyl phthalate (DBP) and di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) : a cross-sectional study in China. *Environ Health Perspect* 2006, **114** : 1643-1648

REDDY BS, ROZATI R, REDDY BV, RAMAN NV. Association of phthalate esters with endometriosis in Indian women. *BJOG* 2006, **113** : 515-520

ROZATI R, REDDY PP, REDDANNA P, MUJTABA R. Role of environmental estrogens in the deterioration of male factor fertility. *Fertil Steril* 2002, **78** : 1187-1194

SWAN SH. Environmental phthalate exposure in relation to reproductive outcomes and other health endpoints in humans. *Environ Res* 2008, **108** : 177-184

SWAN SH, MAIN KM, LIU F, STEWART SL, KRUSE RL, et coll. Decrease in anogenital distance among male infants with prenatal phthalate exposure. *Environ Health Perspect* 2005, **113** : 1056-1061

WIRTH JJ, ROSSANO MG, POTTER R, PUSCHECK E, DALY DC, et coll. A pilot study associating urinary concentrations of phthalate metabolites and semen quality. *Syst Biol Reprod Med* 2008, **54** : 143-154

WOLFF MS, ENGEL SM, BERKOWITZ GS, YE X, SILVA MJ, et coll. Prenatal phenol and phthalate exposures and birth outcomes. *Environ Health Perspect* 2008, **116** : 1092-1097

WOLFF MS, TEITELBAUM SL, PINNEY SM, WINDHAM G, LIAO L, et coll. Investigation of relationships between urinary biomarkers of phytoestrogens, phthalates, and phenols and pubertal stages in girls. *Environ Health Perspect* 2010, **118** : 1039-1046

ZHANG YH, ZHENG LX, CHEN BH. Phthalate exposure and human semen quality in Shanghai : a cross-sectional study. *Biomed Environ Sci* 2006, **19** : 205-209

ZHANG Y, LIN L, CAO Y, CHEN B, ZHENG L, et coll. Phthalate Levels and Low Birth Weight : A Nested Case-Control Study of Chinese Newborns. *J Pediatr* 2009, **155** : 500-504