

Université de Montréal

Relation entre l'exposition aux parabènes et les hormones de la reproduction :
une étude chez les jeunes filles canadiennes

Par

Margot Guth

École de Santé Publique
Faculté des études supérieures et postdoctorales

Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de Maîtrise ès Science (M.Sc)
en santé publique
option recherche

Mai, 2020

© Margot Guth, 2020

Université de Montréal
École de Santé Publique

Ce mémoire intitulé

**Relation entre l'exposition aux parabènes et les hormones de la reproduction :
une étude chez les jeunes filles canadiennes**

Présenté par

Margot Guth

A été évalué par un jury composé des personnes suivantes

Ludwig Vinches

Président-rapporteur

Maryse Bouchard

Directrice de recherche

Lise Parent

Membre du jury

Résumé

Contexte: Les parabènes sont des substances antibactériennes et antifongiques utilisées comme conservateurs dans de nombreux produits d'usage courant (cosmétiques, soins personnels, pharmaceutiques et alimentaires). Des études *in vitro* et *in vivo* ont signalé les effets de perturbation endocrinienne des parabènes, soulevant des inquiétudes quant à leurs risques potentiels pour la santé humaine.

Objectif: Évaluer l'association entre les concentrations urinaires de parabènes et les concentrations sériques d'hormones de la reproduction (estradiol, progestérone, hormone folliculostimulante et hormone lutéinisante) chez les jeunes filles de la population générale canadienne.

Méthodes: Les données de l'Enquête canadienne sur les mesures de la santé (2014 – 2015) concernant les filles âgées entre 6 et 17 ans ont été utilisées pour cette étude. L'association entre les concentrations urinaires de parabènes et des hormones a été analysée par régression linéaire multivariée, en ajustant pour les covariables suivantes : âge, indice de masse corporelle, ethnicité, revenu, et saison lors de la collecte des échantillons urinaires et sanguins.

Résultats: Les 382 participantes incluses dans cette étude étaient majoritairement blanches (76%), avaient un indice de masse corporelle normal (73%) et des niveaux détectables d'au moins un parabène (92 %). Des concentrations de parabènes plus élevées étaient associées à des concentrations d'hormones de la reproduction significativement inférieures pour l'estradiol, et les hormones folliculostimulante et lutéinisante; il n'y avait pas d'association pour la progestérone. Un doublement des concentrations des parabènes urinaires était associé à des concentrations inférieures d'estradiol de 5,8% (IC à 95% -9,3; -2,1), d'hormone folliculostimulante inférieure de 4,2% (IC à 95% -7,9; -0,3) et d'hormone lutéinisante inférieure de 10,8% (IC à 95% -17,4; -3,7).

Discussion: Cette étude montre que l'exposition aux parabènes était associée à des concentrations circulantes plus faibles d'hormones de la reproduction chez des jeunes filles de la population générale. Le devis transversal ne permet pas de réaliser d'inférences causales. Néanmoins, ces résultats concordent avec les études animales et suggèrent que l'exposition aux parabènes pendant le développement puisse altérer le fonctionnement du système reproducteur. Des études longitudinales permettraient de confirmer, ou non, ces résultats.

Mots-clés: parabènes, perturbateur endocrinien, fille, hormones sexuelles, estradiol, progestérone, gonadotrophines, hormone folliculostimulante, hormone lutéinisante, puberté

Abstract

Background: Parabens are chemical substances used as preservatives for their antibacterial and antifungal properties in many everyday products (personal care, cosmetics, pharmaceutical and food). Several *in vitro* and *in vivo* studies have shown their endocrine disrupting potential, raising some concerns for potential adverse human health effects.

Objective: To assess the cross-sectional association between urinary concentration of parabens and serum reproductive hormones (estradiol, progesterone, follicle stimulating hormone and luteinizing hormone) in girls in the general Canadian population.

Methods: Data from the Canadian Health Measures Survey (2014 – 2015) on girls aged 6-17 were used for this study. Associations between hormones and parabens were analyzed with multivariable linear regressions, adjusting for potential confounders (i.e., age, body mass index, ethnicity, household income, and sampling season).

Results: The girls and teens included in the study (n=382) were mostly white (76%), had a normal body mass index (73%), and detectable levels of at least one paraben (92%). We observed significantly lower concentrations of reproductive hormones with higher paraben concentrations; there was no association with progesterone concentrations. A doubling in urinary parabens was associated with lower estradiol by 5.8% (95% CI -9.3, -2.1), lower FSH by 4.2% (95% CI -7.9, -0.3), and lower LH by 10.8% (95% CI -17.4, -3.7).

Discussion: This study shows that exposure to parabens is associated with lower circulating levels of reproductive hormones in young girls in the general population. The cross-sectional design does not allow to make causal inferences. However, these results are consistent with animal studies and suggest that exposure to parabens during development may affect the functioning of the reproductive system. Future studies should employ a longitudinal design to verify these results.

Keywords: parabens, endocrine disruptor, girl, sex steroids hormones, estradiol, progesterone, gonadotropins, FSH, LH, puberty

Table des matières

Résumé	i
Abstract	iii
Table des matières	iv
Liste des tableaux	vii
Liste des figures	viii
Liste des sigles et des abréviations	ix
Dédicace	x
Remerciements	xi
Avant-propos	12
CHAPITRE I. Introduction	14
CHAPITRE II. Recension des écrits	17
2.1 Le système endocrinien et reproducteur.....	17
2.1.1 <i>Le système endocrinien</i>	17
2.1.2 <i>Le système reproducteur féminin</i>	18
2.1.3 <i>Les hormones sexuelles féminines</i>	19
2.2 Les parabènes	21
2.2.1 <i>Exposition de la population</i>	22
2.2.1.1 Dose quotidienne d'exposition et dose journalière absorbée admissibles aux parabènes	24
2.2.1.2 Déterminants de l'exposition	24
2.2.2 <i>Réglementation de l'utilisation des parabènes</i>	25
2.2.3 <i>Absorption, distribution, métabolisation et élimination des parabènes</i>	26
2.3 Les parabènes : des perturbateurs endocriniens	29
2.3.1 <i>Études toxicologiques sur les parabènes</i>	30
2.3.1.1 Activité œstrogénique	30
2.3.1.2 Effets toxiques sur le système reproducteur des animaux femelles	31
2.3.2 <i>Études humaines sur les parabènes</i>	33
2.3.2.1 Les parabènes et le système reproducteur féminin.....	33
2.3.2.2 Les parabènes et le système reproducteur chez les jeunes filles	35
2.3.2.3 Les parabènes et le système reproducteur masculin.....	36
2.3.1.1 <i>Limites des données de la littérature et justification de la présente étude</i>	37
CHAPITRE III. Objectif	40
CHAPITRE IV. Méthodologie	41
4.1 Sources des données.....	41
4.1.1 <i>Considérations éthiques</i>	42
4.1.2 <i>Population à l'étude : critères de sélection et d'exclusion</i>	42
4.1.3 <i>Mesure des concentrations de parabènes et de la créatinine urinaires</i>	44

4.2	Analyses statistiques	46
4.2.1	<i>Analyses descriptives</i>	46
4.2.2	<i>Covariables et facteurs de confusion potentiels</i>	46
4.2.3	<i>Analyses de l'association entre les parabènes urinaires et les hormones</i>	49
4.2.4	<i>Analyses de sensibilités</i>	49
CHAPITRE V. Résultats		52
	Article Scientifique	52
CHAPITRE VI. Discussion générale		90
6.1	Rappel des principaux résultats.....	90
6.1.1	<i>Niveau d'exposition aux parabènes</i>	90
6.1.2	<i>Mise en contexte de nos résultats avec la littérature épidémiologique</i>	92
6.1.3	<i>Mise en contexte de nos résultats avec la littérature toxicologique</i>	96
6.2	Forces et limites de l'étude.....	98
6.3	Retombées de l'étude	100
CHAPITRE VII. Conclusion		101
Bibliographie		102
Annexes		i

Liste des tableaux

ARTICLE

Table 1. Description of characteristics of study participants and Σ parabens concentrations standardized for creatinine in urine (n=382).

Table 2. Distribution of serum reproductive hormone concentrations in female study participants (n = 382).

Table 3. Distribution of urinary parabens in female study participants (n = 382).

Table 4. Spearman correlations between urinary concentrations of creatinine-standardized parabens (n = 382).

Table 5. Spearman correlations between serum reproductive hormones (n = 382).

Table 6. Change (in %) and 95% CI in serum hormone concentrations for a doubling in urinary paraben concentrations (n=382). Estimates were adjusted for age, ethnicity, household income, BMI, and season of clinic visit.

Table 7. Results of logistic regressions between urinary paraben concentrations and odds of detection of reproductive hormones for a one ln-unit increase in parabens (in $\mu\text{g/g}$ creatinine for individual parabens, and in $\mu\text{mol/mol}$ creatinine for Σ parabens). Estimates were adjusted for age, ethnicity, household income, BMI, and season of clinic visit (n=382).

Table S1. Change (in %) and 95% CI in serum hormone concentrations for a doubling in urinary paraben in an analysis restricted to girls 6 to 11 years (n=227). Estimates were adjusted for age, BMI, season of clinic visit, household income, ethnicity, and prenatal exposure to cigarette smoke.

Table S2. Change (in %) and 95% CI in serum hormone concentrations for a doubling in urinary paraben standardized for specific gravity (n= 382). Estimates were adjusted for age, BMI, and season of clinic visit, household income, and ethnicity.

Liste des figures

Figure 1. Système endocrinien.

Figure 2. Structures chimiques des quatre principaux parabènes.

Liste des sigles et des abréviations

Σ : Somme des concentrations

CDC : *Centers for Disease Control and Prevention*

CEM : Centre d'examen mobile

CHMS : *Canadian Health Measures Survey*

CIQSS : Centre interuniversitaire québécois de statistiques sociales

ECMS : Enquête canadienne des mesures de santé

EPA : US Environmental Protection Agency

FDA : US Food and Drug Administration

JECFA : Comité d'experts de l'alimentation et l'agriculture et de l'OMS sur les additifs alimentaires

LOD : Limite de détection

OMS : Organisation mondiale de la santé

SPSS : *Statistical Package for Social Sciences*

UNEP : Programme des Nations unies pour l'environnement

Dédicace

À Germain et Rolande, toujours dans mes pensées.

Remerciements

Je tiens à remercier vivement,

Maryse Bouchard, ma directrice de recherche, pour sa disponibilité, sa compréhension, son soutien constant, pour avoir su me guider tout au long de la construction de mon mémoire, mais également pour m'avoir inspirée et donné envie d'aller plus loin dans le domaine passionnant qu'est l'épidémiologie environnementale ;

Le **Département de santé environnementale et santé au travail**, pour m'avoir octroyé une bourse m'ayant permis de me consacrer pleinement à mes études ;

Le **CIQSS** et à **Santé Canada**, pour m'avoir permis d'accéder aux données de l'ECMS ;

Tyler Pollock, Mandy Fisher et Tye E. Arbuckle, pour leurs conseils avisés et leur aide quant à la construction de ce travail de recherche ;

Mon conjoint et partenaire de vie, **Jean**, pour sa patience à toute épreuve, pour m'avoir épaulée tout au long de cette aventure et pour vouloir me pousser toujours plus loin ;

Ma **famille**, et particulièrement mes parents pour leur soutien infailible, et pour tout le reste ;

Mes **ami(e)s**, de France ou du Québec, toujours disponibles, pour leurs conseils et leurs encouragements, et particulièrement mon amie **Morgane**, pour ses conseils avisés, et qui a été une véritable source de motivation au quotidien ;

Et tous ceux dont j'ai croisé le chemin, et qui ont apporté leur contribution, petite ou grande, à l'élaboration de mon mémoire.

Avant-propos

Depuis 1950, plus de 140 000 nouveaux produits chimiques et pesticides ont été élaborés. Parmi eux, 5 000 ont été abondamment fabriqués, et sont aujourd'hui largement répandus dans l'environnement, entraînant une exposition humaine universelle et quasi quotidienne à ces substances (Cicoella, 2018). Cependant, face à l'augmentation de l'incidence de pathologies et des troubles hormono-dépendants (Multigner et Kadhel, 2008), des inquiétudes concernant les risques associés à l'exposition à certaines de ces substances ont émané de la communauté scientifique (Witorsch et Thomas, 2010). En fait, ces substances chimiques sont soupçonnées d'avoir des effets, principalement délétères, sur la vie et la santé humaine et animale (Hampl et al., 2016).

En 2012, un groupe d'experts du Programme des Nations unies pour l'environnement (UNEP) et de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a estimé qu'environ 800 produits chimiques ont été recensés comme ayant, ou suspectés d'avoir, la capacité d'interférer avec les récepteurs hormonaux, la synthèse et la conversion hormonale. Actuellement, peu d'entre eux ont été analysés dans des études scientifiques permettant d'affirmer, ou d'infirmer, leurs effets endocriniens sur l'organisme (United Nations Environment Programme [UNEP], Organisation mondiale de la santé [OMS], 2013). Ces substances sont qualifiées depuis la fin du XX^e siècle de **perturbateurs endocriniens**, pour leur capacité à induire des effets nocifs en altérant l'activité d'un ou plusieurs systèmes hormonaux (Multigner et Kadhel, 2008). Ces préoccupations concernent, entre autres, les parabènes (Witorsch et Thomas, 2010). D'ailleurs, depuis 2016, les parabènes figurent sur la liste des perturbateurs endocriniens identifiés ou présumés comme tels publiée par l'UNEP, après examen approfondi des connaissances scientifiques disponibles (UNEP, 2016).

Le présent travail de recherche vise à améliorer les connaissances sur les liens entre l'exposition aux parabènes et les concentrations d'hormones de la reproduction. Le premier chapitre de ce mémoire introduit le contexte et les intérêts de recherche liés à cette problématique de santé publique. Le second chapitre présente une recension des écrits

disponibles sur les deux aspects principaux de la recherche, soit le système endocrinien féminin qui contrôlent la fonction reproductrice ainsi que l'exposition aux parabènes et leur toxicité. À la suite, l'objectif de recherche sera énoncé. Le quatrième chapitre présente une description détaillée des méthodes de recherche utilisées pour mener à bien nos travaux. Le cinquième chapitre est l'étude comme telle, présentée sous forme d'article scientifique et destinée à être soumise pour publication auprès de la revue scientifique *Human Reproduction*. Enfin, le dernier chapitre est une discussion générale du travail de recherche, de ses forces et de ses limites ainsi que les futurs besoins de recherche identifiés.

CHAPITRE I. Introduction

Depuis 1920, les parabènes sont employés comme agents de conservation pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques. Tout d'abord utilisés comme conservateurs dans les produits pharmaceutiques (Liebert, 1984), leur utilisation est rapidement étendue aux produits de soins personnels et alimentaires. En effet, leur large spectre d'activités contre les levures, moisissures et bactéries, leur stabilité chimique, leur faible degré de toxicité systémique et allergénique, ainsi que leur faible coût de production - entre autres - (Bledzka et al., 2014), expliquent la grande popularité de ces conservateurs à travers le monde (Nowak et al., 2018). À l'heure actuelle, les parabènes sont principalement employés dans les produits de soins personnels (Janjua et al., 2007). En fait, ils sont régulièrement présents dans la composition des dentifrices, déodorants, anti-transpirants, crèmes de beauté, écrans solaires, gels de bain et de nombreux produits cosmétiques (Fan et al., 2010). Ainsi, les parabènes peuvent fréquemment entrer en contact avec la peau, les cheveux et le cuir chevelu, les lèvres, les muqueuses (buccales, oculaires et vaginales), les aisselles et les ongles (Soni et al., 2005). Début 2010, ils apparaissaient dans la formulation de plus de 80% des produits cosmétiques sur le marché (Adamo et al., 2011). Par conséquent, il semble que les femmes soient plus grandement exposées aux parabènes que les hommes, du fait de leur plus grande utilisation de cosmétiques (Wang et al., 2013).

Après exposition via diverses sources, les parabènes sont absorbés puis métabolisés par l'organisme avant d'être éliminés dans l'urine (Nowak et al., 2018). Ainsi, des niveaux décelables de parabènes urinaires permettent d'identifier une exposition récente à ces derniers (Statistique Canada, 2018). La biosurveillance (c.-à-d., la mesure des concentrations d'une substance dans l'organisme) permet d'obtenir des données de référence précises et directes sur leurs concentrations (Gouvernement du Canada, 2020a). Elle constitue alors l'« étalon-d'or » de l'évaluation de l'exposition humaine à ces substances (Sexton et al., 2004). Comme le montrent les données de biosurveillance d'Europe (Frederiksen et al., 2014; Santé Publique France, 2019), d'Amérique du Nord (Centers for Disease Control and Prevention [CDC], 2017;

Santé Canada, 2017) et d'Asie du Sud (Kang et al., 2016; Shirai et al., 2013) - entre autres, l'exposition aux parabènes est quasi omniprésente dans la population mondiale. Par exemple, les données de l'Enquête canadienne sur les mesures de la santé (ECMS) indiquent que la majorité (93%) des Canadiens de 3 à 79 ans avait des concentrations de parabènes détectables dans l'urine (Statistique Canada, 2018). Les enfants ne sont pas épargnés par cette exposition. Avec une fréquence de détection de 96% de parabènes urinaires, les enfants (3 à 5 ans) représentent la proportion de la population ayant la fréquence de détection la plus élevée (ibid.).

L'innocuité des parabènes a été remise en question en 2004 par une étude ayant rapporté la présence de parabènes dans des tumeurs du sein d'une vingtaine de patientes cancéreuses (Darbre et al., 2004). Il a été suggéré que l'application de déodorant, utilisé fréquemment à proximité du tissu mammaire, pourrait être en cause. Bien que la fiabilité des résultats de ces travaux ait été remise en question, en lien avec certaines limites méthodologiques et analytiques (Jeffrey et Williams, 2004), ils ont incité la recherche à s'intéresser aux liens possibles entre l'exposition aux parabènes et le cancer du sein. Ceci a également ouvert la voie aux questionnements du grand public concernant les parabènes et leur potentiel toxique sur la santé humaine. D'ailleurs, de nombreux produits sur le marché sont maintenant étiquetés comme étant « sans parabène », ce qui est devenu un argument marketing pour favoriser la vente de ces produits.

Plusieurs études *in vitro* et *in vivo* ont été menées pour étudier la toxicité des parabènes. Leurs résultats suggèrent que ces derniers possèdent une activité œstrogénique (Oishi, 2001; Lemini et al., 2003; Vo et Jeung, 2009) et pourraient altérer le fonctionnement hormonal et ainsi, être à l'origine de troubles endocriniens (Giulivo et al., 2016). En résumé, les parabènes sont suspectés d'être des perturbateurs endocriniens. Des études animales chez des rongeurs femelles ont notamment mis en évidence une modification des concentrations d'hormones de la reproduction (Guerra et al. (2017) et du développement des organes reproducteurs (Boberg et al. (2016) après exposition aux parabènes. Bien que difficilement transférables à l'être humain, ces résultats questionnent sur les répercussions de l'exposition aux parabènes sur la santé humaine et particulièrement, sur le système reproducteur. En effet, de nombreuses fonctions et propriétés physiologiques sont liées à l'équilibre du système endocrinien.

Les conséquences de l'exposition environnementale à de faibles concentrations de parabènes sur la santé humaine sont encore mal connues (CDC, 2017). L'enfance et la puberté – entre autres – sont des phases critiques du développement et de la maturation de l'organisme, et de ce fait, sont des périodes particulièrement sensibles aux perturbations hormonales (Beszterda et Franski, 2018). L'exposition aux perturbateurs endocriniens pendant ces périodes peut altérer le développement normal de l'appareil reproducteur, la synthèse hormonale et entraîner au long terme des dysfonctionnements du système reproducteur et des troubles de la fertilité (ibid.). Des études épidémiologiques menées dans différents pays ont noté une augmentation de l'incidence des troubles et pathologies du système reproducteur, tels qu'un dérèglement du calendrier pubère chez les filles et garçons, des malformations génitales, l'endométriose, le syndrome des ovaires polykystiques et des cancers hormono-dépendants (endomètre, ovaires, sein, testicules) (ibid.). Les modèles animaux ont permis d'établir un lien entre un déséquilibre des hormones sexuelles et l'apparition de ce type de pathologies (Bois, 2013).

À notre connaissance, peu d'études épidémiologiques ont investigué le lien entre l'exposition aux parabènes et le système reproducteur féminin, et aucune ne s'est directement intéressée au rôle de la régulation des hormones de la reproduction sur le développement et le fonctionnement du système reproducteur féminin. La population étant exposée très fréquemment aux parabènes, il apparaît alors essentiel d'améliorer nos connaissances sur les liens entre l'exposition aux parabènes et les hormones de la reproduction chez les filles et adolescentes.

CHAPITRE II. Recension des écrits

Cette recension des écrits avait pour objectif de passer en revue les conséquences de l'exposition aux parabènes sur le système reproducteur féminin, par l'intermédiaire des hormones de la reproduction. En ce sens, la recension des écrits se focalise sur la littérature portant sur des sujets de sexe féminin.

2.1 Le système endocrinien et reproducteur

2.1.1 *Le système endocrinien*

Le système endocrinien est un système complexe qui permet une communication efficace entre les différentes parties du corps (Bartke et Constanti, 2003). Il est composé des glandes endocrines, c'est-à-dire les organes ayant la capacité de sécréter des hormones : l'hypophyse, l'hypothalamus, la thyroïde et la parathyroïde, le thymus, les glandes surrénales, le pancréas, les ovaires et les testicules (ibid.) (Figure 1).

Ces hormones sont des messagers chimiques déversés dans la circulation sanguine, en réponse à un stimulus (Bartke et Constanti, 2003). Elles sont ensuite transportées jusqu'aux cellules cibles qui possèdent à leurs surfaces des récepteurs spécifiques (protéiniques ou glycoprotéiniques) – les récepteurs hormonaux, avec lesquels les hormones vont se lier pour transmettre leurs signaux à la cellule, et ainsi déclencher une réponse biologique (Ellison, 2003).

Le système endocrinien, par le biais des hormones, contrôle les cinq fonctions physiologiques principales : la croissance et le développement de l'organisme, la régulation de la composition en électrolytes du corps, le contrôle du métabolisme énergétique et la reproduction (Bartke et Constanti, 2003). Son bon fonctionnement est donc essentiel au maintien de l'équilibre biologique et des processus physiologiques de l'organisme.

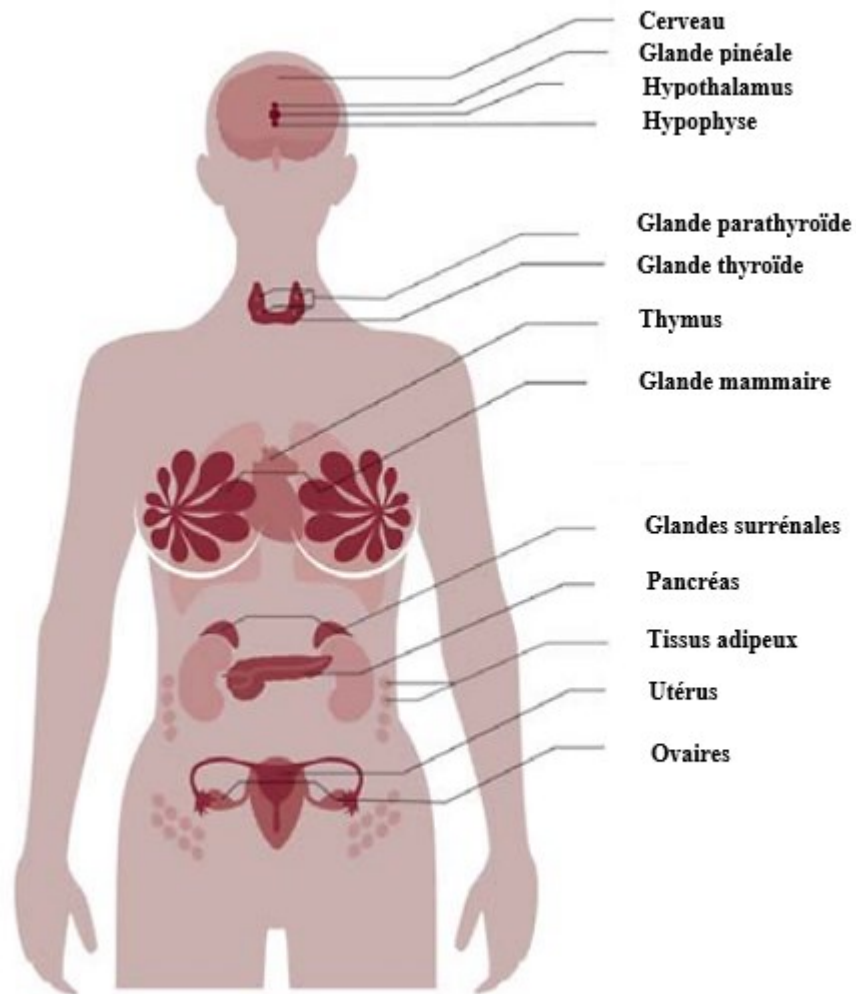


Figure 1. Système endocrinien

Source: (Gore et al., 2014)

2.1.2 *Le système reproducteur féminin*

La régulation du système de la reproduction commence au niveau de l'hypothalamus. En effet, le complexe hypothalamo-hypophysaire, sous le contrôle du système nerveux, interagit de manière étroite avec le système endocrinien, via les gonades, pour permettre la sécrétion des hormones nécessaires au système de la reproduction : les hormones de la reproduction (Klein, 2003).

Le système de reproduction est donc dirigé par l'axe hypothalamo-hypophysogonadique. Sous l'influence de cellules neurosécrétrices, la synthèse et la sécrétion de l'hormone de libération des gonadotrophines hypophysaires sont initiées par l'hypothalamus. En réponse, l'hypophyse stimulera la sécrétion de l'hormone lutéinisante et de l'hormone folliculostimulante, qui à leur tour favoriseront le développement des follicules, l'ovulation, le maintien du corps jaune et stimuleront la sécrétion d'hormones sexuelles par les ovaires (Luderer et al., 2019).

Ainsi, les gonadotrophines – hormone lutéinisante et hormone folliculostimulante – contrôlent les fonctions de la reproduction (Soldin et al., 2005). Des anomalies dans leurs concentrations peuvent refléter des anomalies des systèmes reproducteurs chez les enfants des deux sexes, d'infertilité et de dérèglement du moment de l'entrée en puberté (ibid.).

2.1.3 Les hormones sexuelles féminines

Les hormones sexuelles – aussi nommées stéroïdes sexuelles – féminines sont synthétisées par l'ovaire et les glandes surrénales, et parfois par le placenta chez la femme enceinte (Holst et al., 2004), en réponse à la stimulation des gonadotrophines selon un rythme cyclique allant de la puberté à la ménopause (Bidet et al., 2020). Les hormones sexuelles sont toutes dérivées du cholestérol (Holst et al., 2004).

La stéroïdogénèse (synthèse des stéroïdes sexuels) produit alors deux stéroïdes sexuels principaux : les progestagènes (prégnénolone et progestérone) et les œstrogènes (incluant l'estradiol, l'estriol et l'estrone). A leur tour, les hormones sexuelles contrôlent la synthèse et la sécrétion des gonadotrophines, en exerçant un rétrocontrôle hormonal – en alternant contrôle positif et négatif – sur l'hypophyse et l'hypothalamus (ibid.). L'estradiol (17 β - estradiol), en tant qu'œstrogène le plus puissant de la régulation du système reproducteur, régule le développement et le maintien des organes reproducteurs (Yasar et al., 2017), via leur récepteur intracellulaire (Luderer et al., 2019).

Il existe deux types de récepteurs aux œstrogènes : le récepteur aux œstrogènes α et le récepteur aux œstrogènes β (Watanabe et al., 2013). Ils présentent tous deux une affinité similaire pour les œstrogènes mais présentent des distributions tissulaires et des fonctions

physiologiques distinctes (Couse et Korach, 1999). Ainsi, le récepteur aux œstrogènes α prédomine dans l'utérus, les glandes mammaires, l'hypophyse, les muscles squelettiques, le tissu adipeux et les os, alors que le récepteur aux œstrogènes β s'exprimera majoritairement au niveau des systèmes ovarien, pulmonaire, cardiovasculaire et nerveux central chez la femme (Yasar et al., 2017).

En somme, de nombreux processus de reproduction dépendent de cet équilibre hormonal et sa dérégulation peut avoir des effets importants, notamment sur la croissance, la puberté, le comportement, la gamétogenèse et la fertilité (Chapin et al., 1996). D'ailleurs, un groupe d'experts international a récemment identifié la modification de la production, de la sécrétion ou du métabolisme des hormones de la reproduction comme étant l'une des principales caractéristiques à utiliser pour identifier les produits chimiques provoquant une toxicité pour la reproduction chez les femmes (Luderer et al., 2019).

2.2 Les parabènes

Les parabènes – ou *para*-hydroxybenzoates – sont une famille de molécules chimiques formées par les esters de l'acide *para*-hydroxybenzoïque (Nowak et al., 2018). Les parabènes les plus couramment utilisés sont le méthylparabène, l'éthylparabène, le propylparabène et le butylparabène (Fransway et al., 2019). Leur première utilisation remonte au milieu des années 20, où ils ont été employés comme agents conservateurs dans des produits pharmaceutiques (Sabalitschka, 1930).

Ils peuvent être classés en deux groupes sur la base de leurs structures chimiques, notamment le groupe alkyle (Figure 2). Le premier groupe comprend les parabènes à chaînes *courtes* que sont le méthylparabène et l'éthylparabène. Le deuxième groupe comprend les parabènes à chaînes *longues* et inclut le propylparabène et le butylparabène.

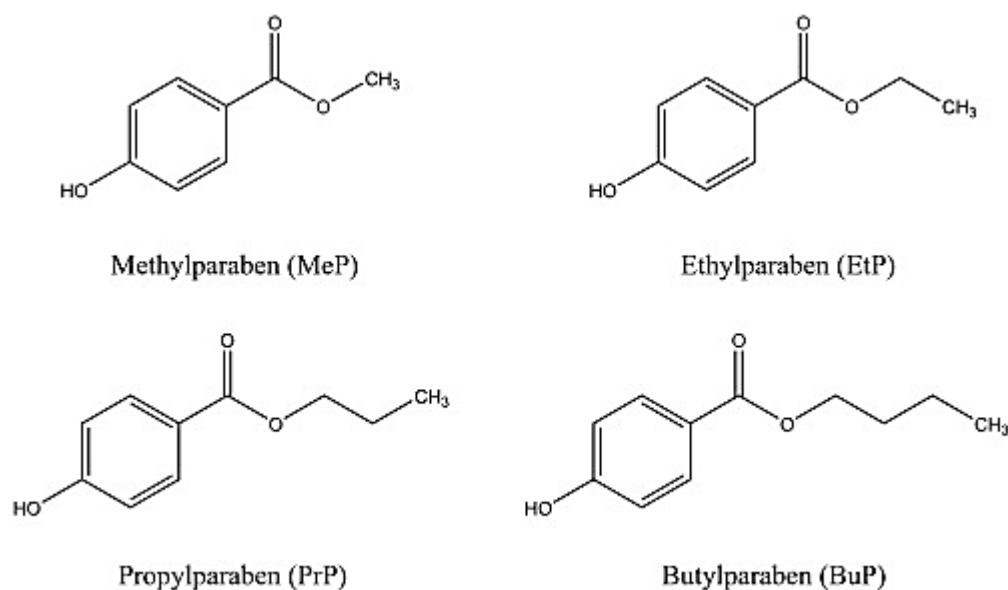


Figure 2. Structures chimiques des quatre principaux parabènes.

Source: (Boberg et al., 2010)

Les propriétés antibactériennes des parabènes sont proportionnelles à la longueur de leur chaîne (Bledzka et al., 2014). De ce fait, on considère par exemple que le butylparabène est un conservateur quatre fois plus puissant que l'éthylparabène (ibid.). Toutefois, leur solubilité dans l'eau décroît avec l'augmentation de la taille de la chaîne alkyle (Nowak et al., 2018). Plusieurs parabènes sont souvent utilisés dans un produit donné, et parfois même avec d'autres antimicrobiens dans les produits (Fransway et al., 2019).

2.2.1 Exposition de la population

Les parabènes sont utilisés principalement comme agents conservateurs, mais aussi comme ingrédients parfumants et exhausteurs de goût (Gouvernement du Canada, 2020). Les produits de soins personnels (particulièrement les cosmétiques), les produits pharmaceutiques et les aliments et boissons sont les principales sources d'exposition humaine (Bledzka et al., 2014). Néanmoins, les parabènes utilisés dans les produits de soins personnels et cosmétiques, constituent la première source d'exposition humaine. Ainsi, la voie cutanée est la voie d'exposition principale (Nowak et al., 2018). On les retrouve notamment comme agents de conservation et substances parfumantes dans la formulation des cosmétiques, des crèmes hydratantes, le maquillage, les produits pour cheveux, le dentifrice et les produits de rasage (Gouvernement du Canada, 2020). Santé Canada estime qu'au Canada, les parabènes sont généralement utilisés dans les formulations des cosmétiques et produits de soins à des concentrations ne dépassant pas 0,5% (Gouvernement du Canada, 2019). Pendant quelques années, en faisant fi de l'eau, les parabènes sont considérés comme l'ingrédient le plus utilisé dans les formulations des produits cosmétiques (Janjua et al., 2007).

Différents parabènes (méthylparabène, propylparabène et butylparabène) ont été retrouvés dans des produits pharmaceutiques canadiens, notamment les antidiarrhéiques, les antiacides et autres médicaments contre les brûlures d'estomac, les produits de contraste radiologiques, les médicaments contre la toux à base de plantes et les suspensions analgésiques pour enfants (Santé Canada, 2020). Ils ont également été retrouvés dans la formulation de certains produits de santé

naturels (ibid.). Dans une étude américaine, les parabènes ont été retrouvés dans 20% des échantillons de produits pharmaceutiques, dont 44 % de produits liquides (c.-à-d., les sirops) (Moreta et al., 2015). En outre, les produits pharmaceutiques liquides présentaient les plus hautes concentrations de parabènes détectés, pouvant aller jusqu'à 2 mg/g (ibid.)

Les parabènes sont également utilisés comme additifs alimentaires, et leur utilisation semble toucher de nombreuses catégories d'aliments (Soni et al., 2005). Aux États-Unis, l'exposition aux parabènes par ingestion semble être encore croissante, du fait de leur utilisation comme substitut au sucre – le sucre étant régulièrement utilisé comme un conservateur alimentaire (Danish Ministry of the Environment EPA, 2013). *A contrario*, en Europe, l'exposition par la voie alimentaire semble connaître un recul. Cela est probablement dû au durcissement de la réglementation de l'utilisation des parabènes dans l'industrie agroalimentaire (Santé publique France, 2019).

Les parabènes peuvent être également synthétisés naturellement par les plantes et les bactéries (Nowak et al., 2018). Ils sont ainsi retrouvés dans les baies, les fruits, le vin et la vanille (Gouvernement du Canada, 2020). Cependant, cette source d'exposition ne contribue que de manière marginale à l'exposition humaine (Nowak et al., 2018).

Les parabènes ont aussi été détectés dans plusieurs compartiments de l'environnement (Bledzka et al., 2014). Ils ont été mesurés dans des échantillons de poussière et d'air intérieur de foyers canadiens (Fan et al., 2010). La présence de parabènes a été détectée dans les eaux de surface de plusieurs pays (c.-à-d., Royaume-Uni (Kasprzyk-Hordern et al., 2008), Inde (Ramaswamy et al., 2011), Japon (Terasaki et al., 2012), États-Unis (Renz et al., 2013) etc.), résultant probablement de leur utilisation considérable dans les produits de soins personnels et autres cosmétiques (Bledzka et al., 2014) et dans l'eau du robinet d'une ville allemande (Ferreira et al., 2011). D'autres études signalent également leur présence dans les eaux usées, les sols, dans le milieu marin et la chair d'animaux aquatiques (Bledzka et al., 2014; Xue et al., 2017).

2.2.1.1 Dose quotidienne d'exposition et dose journalière absorbée admissibles aux parabènes

Une étude ayant comparé les concentrations urinaires entre sept différents pays d'Asie, de la Grèce et des États-Unis, a estimé les doses quotidiennes absorbées pour les différentes populations et les a comparées aux doses journalières absorbées acceptables fixées par la *European Food Safety Authority* (Honda et al., 2018). Les doses journalières absorbées admissibles étant de 10 mg/kg/jour pour le méthylparabène et l'éthylparabène, et de 0.1 mg/kg/jour pour le propylparabène (ibid.), sur la base d'effets observés sur plusieurs paramètres reproducteurs chez le rat (Soni et al., 2005).

En résumé, les valeurs médianes des concentrations des doses absorbées de méthylparabène et d'éthylparabène de l'ensemble des pays étudiés étaient environ quatre fois inférieures aux doses journalières absorbées admissibles. Cependant, les valeurs médianes des concentrations de propylparabène étaient proches des recommandations des doses journalières absorbées admissibles, ce qui indique une marge de sécurité réduite. La population est exposée au propylparabène à une dose approchant la dose maximale sécuritaire. De plus, les concentrations en parabènes de quatre échantillons d'urine de Chine et deux de Corée du Sud dépassaient les doses recommandées (Honda et al., 2018).

2.2.1.2 Déterminants de l'exposition

À partir des données de biosurveillance des États-Unis, certaines études scientifiques ont identifié différents facteurs socio-économiques comme étant des déterminants du niveau de l'exposition de la population aux parabènes. Premièrement, des différences significatives dans les concentrations urinaires des parabènes en fonction du sexe et de l'ethnie ont été identifiées. En effet, les adolescentes et les femmes adultes présentaient des concentrations supérieures aux hommes du même âge (Calafat et al., 2010; Frederiksen et al., 2014). Ensuite, les personnes noires avaient des concentrations beaucoup plus élevées que les autres groupes ethniques, et cela pour tous les groupes d'âge (ibid.). Ces différences seraient imputables à une utilisation

plus fréquente de produits de soins personnels (de cheveux, de peau ou cosmétiques) contenant des parabènes chez ces groupes de population. Enfin, les personnes aux revenus plus élevés présentaient des niveaux d'exposition aux parabènes supérieurs à celles avec des revenus moyen et faible (Calafat et al., 2010).

2.2.2 Réglementation de l'utilisation des parabènes

Au Canada, actuellement, aucun des parabènes couramment utilisés n'a été classé comme étant une substance d'intérêt prioritaire (en se basant sur des considérations environnementales ou pour la santé humaine). Toutefois, il a été prévu en 2015 d'effectuer une évaluation préalable des risques que représentent les parabènes pour la santé humaine (Gouvernement du Canada, 2020). En ce sens, Santé Canada réalise actuellement une évaluation quant à l'utilisation des parabènes sous toutes ses formes (Santé Canada, 2020).

Aux États-Unis, dans un premier temps, les parabènes sont classés comme des substances généralement reconnues comme étant sans danger par la Food and Drug Administration (Soni et al., 2005). Entre autres, le méthylparabène et le propylparabène sont approuvés en tant qu'additifs alimentaires, à des concentrations allant jusqu'à 0,1%. Le méthylparabène, le propylparabène et le butylparabène sont autorisés à être utilisés comme substances aromatisantes ou adjuvants dans la nourriture et les boissons, dans des quantités inférieures à 20 ppm. Ils sont également autorisés à être utilisés comme conservateurs dans d'autres substances aromatisantes ou adjuvantes (ibid.). En 1974, le JEFCA définit la dose journalière admissible à 10 mg/kg/jour pour le méthylparabène, l'éthylparabène et le propylparabène (ibid.). Du fait d'études *in vivo* récentes ayant identifié un effet délétère du propylparabène sur le système reproducteur, le propylparabène a ensuite été retiré de la liste des substances autorisées à être employées comme additifs alimentaires (Nowak et al., 2018).

En 2008, puis en 2012, le groupe d'experts américains chargé de l'analyse des ingrédients cosmétiques (*Cosmetic Ingredient Review*) définit à nouveau l'utilisation actuelle dans les

cosmétiques, aux taux de concentrations susmentionnées, des parabènes comme étant sans danger (Gouvernement du Canada, 2019).

Ceci contraste avec la position de la Commission européenne, qui a décidé de limiter l'utilisation des parabènes en 2015, suite aux nombreuses études identifiant les parabènes comme des composés chimiques préoccupants. Suivant les recommandations du Comité scientifique de la sécurité des consommateurs de l'Union européenne (UE), l'utilisation de l'isopropylparabène, d'isobutylparabène, du phénylparabène, du benzylparabène et du pentylparabène sont formellement interdits (Sasseville et al., 2015). Ainsi, la limite de 0,14% est fixée pour le propylparabène et le butylparabène destinés aux applications cutanées. Ils sont totalement interdits dans tous les produits de soins utilisés en application sans rinçage destinés aux enfants de moins de 3 ans (ibid.). Le règlement concernant le méthylparabène et l'éthylparabène ne change pas et reste ainsi fixé à 0,4% pour un seul parabène et à 0,8% pour les mélanges de parabènes (ibid.). Ainsi, en Europe, les parabènes, utilisés comme conservateurs dans les produits de soins personnels et les cosmétiques, ne doivent pas dépasser la concentration de 0,4% pour un parabène unique, et de 0,8% pour les mélanges de parabènes (Soni et al., 2005). La FDA et Santé Canada, recommandent aux fabricants de suivre les mêmes dosages que ceux établis par l'Union européenne (Bledzka et al., 2014).

2.2.3 Absorption, distribution, métabolisation et élimination des parabènes

Après exposition par voie orale, cutanée, respiratoire ou par ingestion, les parabènes sont absorbés par l'organisme (Bledzka et al., 2014). Une fois absorbés, les parabènes sont majoritairement hydrolysés. Les parabènes ingérés sont rapidement absorbés au niveau du tractus gastro-intestinal (Bledzka et al., 2014) puis hydrolysés par les carboxylestérases dans les intestins et le foie (Pažoureková et al., 2013), alors que ceux absorbés par voie cutanée sont hydrolysés par les carboxylestérases de la peau (ibid.). L'acide *p*-hydroxybenzoïque constitue l'un des principaux produits de l'hydrolyse des parabènes (Ye et al., 2006) et peut ensuite être

conjugué à la glycine, au glucuronide et au sulfate (Cashman et Warshaw, 2005; Soni et al., 2005).

Dans une étude menée chez les rats, après exposition à des doses de 100 mg, le méthylparabène, le propylparabène et le butylparabène étaient hautement biodisponibles (c.-à-d., proportion détectable dans la circulation sanguine) après administration par voie orale et sous-cutanée, et partiellement biodisponibles après administration par application cutanée (Aubert et al., 2012). En résumé, il semble que les parabènes soient plus facilement absorbés après une administration par voie orale et sous-cutanée qu'après une application cutanée. L'acide *p*-hydroxybenzoïque a été détecté de manière systématique dans la circulation sanguine, quelque que soit le mode d'administration utilisé (ibid.). Le processus d'hydrolyse des parabènes par l'organisme permet de réduire la concentration biodisponible de parabènes libres dans l'organisme, et réduit ainsi le risque d'effets potentiellement délétères liés à l'exposition aux parabènes (Ye et al., 2006).

Néanmoins, l'efficacité de l'hydrolyse de l'organisme est largement influencée par le tissu impliqué et la longueur de la chaîne alkyle du parabène (Ozaki et al., 2013). Il semble qu'après exposition et absorption cutanée, de faibles concentrations de méthylparabène non hydrolysé puissent être retrouvées, et ainsi, qu'une fraction de parabènes libres puisse être biodisponible (Pažoureková et al., 2013). En outre, une barrière cutanée abîmée peut augmenter la dose absorbée de méthylparabène (ibid.).

Le principal mode d'élimination des parabènes est la voie urinaire, et se fait majoritairement au cours des 24 premières heures (Bledzka et al., 2014; Boberg et al., 2010). Dans une étude animale, des traces minimales de parabènes ont également été retrouvées dans les fèces et les tissus (Aubert et al., 2012). La demi-vie varie considérablement entre les différents parabènes; passant de 22 minutes pour le méthylparabène, à 35 minutes pour l'éthylparabène, et 69 minutes pour le propylparabène, jusqu'à 87 minutes pour le butylparabène (Abbas et al., 2010). Du fait de leur demi-vie relativement courte, ils sont considérés comme non persistants dans l'organisme (Janjua et al., 2008). Les parabènes apparaissent plus régulièrement sous leurs formes hydrolysées et/ou conjuguées dans l'urine (Ye et al., 2006), bien que de petites quantités de parabènes urinaires non hydrolysés aient également été retrouvées (Aubert et al., 2012). La

détection de parabènes non hydrolysés dans les tissus et l'urine humaine soutient également la voie cutanée comme la principale voie d'exposition humaine (Darbre et Harvey, 2008). En effet, les parabènes absorbés par ingestion sont rapidement métabolisés par voie hépatique et intestinale, ce qui réduit considérablement la possibilité de trouver des parabènes urinaires non hydrolysés, issus de cette source d'exposition (ibid.). De plus, une autre étude scientifique est arrivée à la conclusion que les concentrations identifiées étaient significativement associées à l'utilisation de lotions pour la peau, indiquant alors qu'une exposition fréquente, sur une base quotidienne ou plus, permet le maintien de concentrations élevées de parabènes malgré leur demi-vie courte (Sandanger et al., 2011).

En 2016, une étude d'intervention a été menée pour évaluer l'exposition aux parabènes provenant des produits de soins personnels. L'intervention, menée auprès de 100 filles d'origine latine vivant à Salinas Valley (Californie), a consisté à substituer les produits de soins personnels habituels des filles par des produits exempts de parabènes. Après trois jours, une diminution de la concentration urinaire de 44-55% de méthylparabène et de propylparabène a été observée (Harley et al., 2016). Étonnamment, une hausse des concentrations urinaires d'éthylparabène et de butylparabène a été observée au cours de l'intervention. Cela pourrait être expliqué par le fait que les produits chimiques utilisés comme substituts aux parabènes, ne soient finalement pas exempts de ces derniers (ibid.).

2.3 Les parabènes : des perturbateurs endocriniens

L'expression de « perturbateur endocrinien » fait aujourd'hui partie intégrante du langage public et scientifique. Ce concept a été mis en avant dans les années 1990 après des observations d'altérations des organes sexuels, ainsi que de la reproduction chez plusieurs espèces animales (Colborn et al., 1993). Ces problèmes, liés à l'altération du fonctionnement hormonal, ont été attribués à l'exposition à différents polluants chimiques présents dans l'environnement. Dès lors, l'intérêt de la communauté scientifique pour cette thématique n'a cessé de croître.

Au Canada, la Loi canadienne sur la protection de l'environnement de 1999 désigne ces produits comme des **substances hormonoperturbantes** et les définit comme étant des,

« Substance ayant le pouvoir de perturber la synthèse, la sécrétion, le transport, la fixation, l'action ou l'élimination des hormones naturelles dans un organisme ou sa descendance, qui assurent le maintien de l'homéostasie, de la reproduction, du développement ou du comportement de l'organisme. » (Gouvernement du Canada, 1999)

Pour sa part, l'OMS retient la définition utilisée lors du *Intergovernmental Panel on Climate Change* de 2002,

« Le perturbateur endocrinien est une substance ou un mélange exogène qui modifie, la ou les fonctions du système endocrinien, et entraîne par conséquent des effets néfastes sur la santé d'un organisme intact, de sa descendance ou de (sous-) populations ». [traduction libre] (International Programme on Chemical Safety, 2002)

En 2012, l'OMS et l'UNEP qualifient les perturbateurs endocriniens comme étant « une menace mondiale qui doit être résolue » [traduction libre] (UNEP, OMS, 2013)

Durant les deux dernières décennies, de nombreux articles scientifiques ont classé les parabènes comme appartenant à la famille des composés chimiques perturbateurs du système endocrinien (Nowak et al., 2018). En effet, les parabènes sont des xénoœstrogènes (Vo et al., 2010). En somme, ils possèdent la capacité d'imiter les œstrogènes naturels de l'organisme

(ibid.) et ainsi de venir perturber le bon fonctionnement du système hormonal. Ces allégations sont majoritairement basées sur des preuves issues d'études toxicologiques *in vitro* et *in vivo*.

2.3.1 Études toxicologiques sur les parabènes

2.3.1.1 Activité œstrogénique

Dès la fin du 20^{ème} siècle (Routledge et al., 1998), les parabènes ont été explicitement signalés comme étant des substances perturbant le système endocrinien. Ainsi, les parabènes agissent comme agonistes complets (Bledzka et al., 2014), c'est-à-dire qu'ils interagissent de manière compétitive avec les récepteurs aux œstrogènes α et β en imitant l'action des œstrogènes naturels (Watanabe et al., 2013). L'activité œstrogénique des parabènes est considérée comme faible, étant 10 000 fois (butylparabène, propylparabène,) et 50 000 fois (méthylparabène, éthylparabène) inférieures à celle du 17 β -estradiol (Routledge et al., 1998). Cependant, les parabènes causent des altérations endocriniennes via d'autres mécanismes que l'activation des récepteurs aux œstrogènes. Par exemple, les parabènes, en imitant l'action des œstrogènes naturels, peuvent induire un changement dans la fonction enzymatique (par une stimulation ou inhibition) nécessaire à la synthèse hormonale, ou bien en modifiant les fractions des formes libres biodisponibles, et de ce fait altérer le système hormonal (Whitehead et Rice, 2006). Plusieurs parabènes inhibent les 17 β -HSD1 et 17 β -HSD2 (17 β -hydroxystéroïdes déshydrogénases de types 1 et 2), des enzymes qui régulent l'équilibre entre les différentes formes d'œstrogènes (Engeli et al., 2017). Ainsi, des dérégulations des concentrations d'œstrogènes circulantes peuvent s'ensuivre (ibid.). Similairement, il semble également que les parabènes soient capables d'inhiber les sulfotransférases des œstrogènes de la peau, processus qui permet la catalyse des œstrogènes libres en œstrogènes conjugués (estrone et estradiol) (Prusakiewicz et al., 2007). Cela peut alors mener à une augmentation des concentrations d'œstrogènes de la peau (Prusakiewicz et al., 2007). *A contrario*, une capacité *anti*-œstrogénique des parabènes a également été observée. En effet, les parabènes ont démontré une capacité d'inhibition de l'aromatase, enzyme responsable de la conversion des androgènes en œstrogènes

dans une étude *in vitro* (Van Meeuwen et al., 2008). Cependant, les concentrations rapportées par les auteurs étaient nettement supérieures à celles observables en condition d'exposition réelle (ibid.).

Une étude *in vivo*, menée sur le système de la truite arc-en-ciel sexuellement immature, a également mis en évidence l'action œstrogénique des parabènes (Alslev et al., 2005). En ce sens, une exposition de poissons zèbres juvéniles au propylparabène a entraîné une diminution significative de la production de vitellogénine, protéine utilisée ici comme marqueur de la production d'œstrogènes, suggérant ainsi un potentiel *anti*-œstrogénique du propylparabène (Mikula et al., 2006). Par la suite, ces auteurs ont mené une seconde étude *in vivo*, toujours chez des poissons zèbres juvéniles (Mikula et al., 2009). Cette fois-ci, aucune modification des concentrations en vitellogénine n'a été identifiée après exposition au propylparabène. Cependant, le propylparabène semble avoir influencé les processus de différenciation sexuelle, en augmentant significativement le nombre d'individus femelles comparativement au groupe témoin (ibid.).

En 2008, une revue récapitulant la littérature nouvellement parue depuis 2004 et concernant la toxicité endocrinienne des parabènes est publiée. En résumé, concernant les essais sur l'activité agoniste des œstrogènes des parabènes, seule 1 étude *in vitro* sur 25 et 7 études *in vivo* sur 30 ont montré des résultats négatifs (Darbre et Harvey, 2008).

2.3.1.2 Effets toxiques sur le système reproducteur des animaux femelles

De nombreuses études animales ont également signalé les effets œstrogéniques des parabènes sur le développement des organes reproducteurs des rongeurs.

Des chercheurs ont évalué l'impact d'une exposition sous-cutanée durant 3 journées consécutives à différents parabènes, chez des souris immatures, ovariectomisées adultes et des rats Wistar femelles immatures (Lemini et al., 2003). Une augmentation significative du poids utérin a été identifiée dans les groupes de souris immatures et ovariectomisées, résultats corrélés

positivement avec la longueur de la chaîne alkyle du parabène utilisé (ibid.). Par la suite, cette même étude a été réalisée à nouveau afin de mettre en évidence les changements histologiques et morphologiques utérin dans le groupe de souris ovariectomisées (Lemini et al., 2004). Ainsi, des augmentations significatives du poids de l'épithélium utérin (des cellules luminales et glandulaires) et de la largeur du myomètre ont pu être observés (ibid.). Aussi, une administration sous-cutanée de butylparabène (3 jours) a été associée à une augmentation significative du poids utérin chez des rats femelles immatures (Vo et Jeung, 2009). Des résultats similaires ont été observés, soit une augmentation significative du poids utérin chez des rates immatures après 3 jours d'exposition au méthylparabène et à l'éthylparabène, via une administration intra gastrique (Sun et al., 2016). En outre, les doses testées dans cette étude étaient relativement proches des doses journalières jugées comme acceptables par le comité d'experts de l'alimentation et de l'agriculture et de l'OMS sur les additifs alimentaires (JECFA) (ibid.). Une autre étude suggère que l'exposition aux parabènes pendant les périodes néonatales peut provoquer des anomalies dans le système reproducteur féminin et ainsi, perturber la folliculogenèse en raison d'une régulation déséquilibrée des stéroïdes (Ahn et al., 2012). En effet, les cellules situées autour de l'ovocyte (la granulosa) des follicules primordiaux incorrectement développés, sont incapable de synthétiser les hormones sexuelles (ibid.). Toutes ces observations d'études animales suggèrent des effets toxiques de différents parabènes sur le système reproducteurs féminins, et notamment sur les organes sensibles aux perturbations endocriniennes (Boberg et al., 2010). Cependant d'autres études ont rapporté des résultats contraires, n'indiquant aucun changement dans le poids utérin après exposition par voie orale au propylparabène (Sivaraman et al., 2018), au méthylparabène et au butylparabène (Soni et al., 2005) ou par voie sous-cutanée au butylparabène (Kang et al., 2002; Shaw et DeCatanzaro, 2009; Guerra et al., 2016) ou au propylparabène (Vo et Jeung, 2009).

Diverses perturbations endocriniennes ont également été notées dans une étude menée sur des rates durant la période juvénile-péripubère (Vo et al., 2010). En effet, leur exposition à une forte dose de méthylparabène (1000 mg/kg de poids corporel/jour) a entraîné un retard significatif dans la date d'ouverture vaginale, une diminution du cycle œstral, et une modification significative du poids des ovaires. Outre cela, des modifications morphologiques

de l'utérus et histopathologiques (c.-à-d., des tissus) des ovaires (diminution des corps jaunes, augmentation du nombre de follicules kystiques et amincissement de l'épithélium folliculaire), probablement consécutives à la diminution significative des concentrations d'œstradiol, ont été observées (ibid.). Similairement, des rates prépubères ayant été exposées au butylparabène ont présenté une augmentation significative du développement des glandes mammaires et du poids ovarien (Boberg et al., 2016). De plus, l'expression de l'aromatase prépubère a été affectée même aux concentrations administrées (voie orale) les plus faibles de butylparabène (ibid.). Ainsi, les résultats de cette étude vont dans le sens d'un dérèglement du développement et des fonctions du système reproducteur féminin en lien avec une exposition aux parabènes.

En résumé, bien qu'équivoques, les études *in vitro* et *in vivo* fournissent des indications précieuses sur le potentiel de perturbateur endocrinien des parabènes, ainsi que sur les différents mécanismes d'actions pouvant entraîner des anomalies dans le développement et le fonctionnement du système reproducteur féminin. Cependant, les dosages utilisés dans ces études sont souvent bien supérieurs aux doses réelles, et de ce fait, sont difficilement généralisables à l'homme ne permettant pas d'estimer les risques de l'exposition de la population aux parabènes.

2.3.2 *Études humaines sur les parabènes*

2.3.2.1 Les parabènes et le système reproducteur féminin

À ce jour, les effets de l'exposition environnementale à de faibles niveaux de parabènes sur la santé humaine sont encore mal connus (CDC, 2017b). La plupart des études *in vivo* publiées ont rapporté des conséquences dommageables sur le système reproducteur des animaux femelles. Les études épidémiologiques ayant investigué le lien entre l'exposition aux parabènes et leurs effets sur la santé reproductive humaine féminine, ont été menées auprès de populations très diverses (p.ex., femmes enceintes, patientes de cliniques de fertilité souhaitant être enceinte, jeunes filles et adolescentes). De ce fait, les issues de santé étudiées sont également très variées (réserve ovarienne, durée du cycle ovarien etc.).

Une étude de cohorte prospective de 192 femmes cherchant un traitement de fertilité dans un centre hospitalier de Boston (États-Unis), a étudié l'association entre les concentrations de parabènes urinaires (méthylparabène, propylparabène et butylparabène) et les marqueurs de la réserve ovarienne (concentrations d'hormone folliculo-stimulante, nombre de follicules antraux, et volume ovarien) (Smith et al., 2013). Le propylparabène (mais pas les autres parabènes) était associé négativement au nombre de follicules antraux, et positivement à la concentration de l'hormone folliculo-stimulante. Ces résultats suggèrent ainsi que le propylparabène peut contribuer au vieillissement ovarien chez la femme, par l'altération de la réserve ovarienne (ibid.). Une étude menée chez 128 étudiantes japonaises a observé un raccourcissement de la durée du cycle ovarien chez les femmes présentant des concentrations de parabènes urinaires élevées (éthylparabène et butylparabène) (Nishihama et al., 2016). Une durée de cycle menstruel plus court pouvant être associée à des problèmes de fertilité (ibid.), ces résultats suggèrent également des problèmes de santé reproductive féminine en lien avec une exposition aux parabènes.

Par la suite, deux études ont évalué les liens entre les concentrations de parabènes et les concentrations circulantes d'hormones de la reproduction chez les femmes. Une première étude a été menée chez des femmes en âge de procréer (n=143), et a montré que la concentration urinaire de parabènes était associée à une augmentation significative de l'estradiol, mais l'association était fortement atténuée après l'ajustement pour les facteurs de confusion (la créatinine, l'âge, l'origine ethnique et l'IMC) (Pollack et al., 2018). La seconde, menée chez des femmes enceintes (n=602), a rapporté une association entre la concentration de parabènes urinaires et des concentrations plus basses d'estriol à 16-20 semaines, puis à des concentrations plus élevées de cette même hormone à 24-28 semaines de gestation (Aker et al., 2019). Bien que les implications cliniques de ces résultats ne soient pas claires, il est possible que cette réduction des hormones stéroïdes sexuelles puisse avoir des répercussions néfastes puisqu'une régulation précise des hormones est essentielle au maintien et au bon déroulement de la grossesse (Aker et al., 2016).

2.3.2.2 Les parabènes et le système reproducteur chez les jeunes filles

Des anomalies du fonctionnement du système reproducteur féminin, et des conséquences de ce dysfonctionnement en lien avec une exposition aux parabènes ont été rapportées par les études épidémiologiques. Cependant, il est important de souligner qu'il existe des périodes de sensibilité développementale considérées comme plus critiques aux dérèglements induits par les perturbateurs endocriniens (Diamanti-Kandarakis et al., 2009). L'enfance et la période de la puberté sont des périodes particulièrement vulnérables aux effets des perturbateurs endocriniens (Beszterda et Franski, 2018). En outre, les dérèglements causés à l'organisme pendant le développement peuvent se produire à des doses d'exposition inférieures que chez les adultes (Mantovani et Fucic, 2014).

Les tendances des vingt dernières années suggèrent que le calendrier pubertaire pourrait être modifié chez les filles (Greenspan et Lee, 2018). L'âge moyen des premiers signes de puberté chez les filles (pousse du bourgeon mammaire, apparition des poils pubien) a diminué, tandis que les derniers stades de la puberté (ménarche - apparition des premières règles) sont au contraire observés à un âge plus avancé (Fudvoye et al., 2019). Bien que la génétique, l'obésité infantile et l'origine ethnique soient des déterminants importants du moment de la puberté, plusieurs études confirment que l'exposition aux perturbateurs endocriniens peut interférer avec le début de la puberté (Jacobson-Dickman et Lee, 2009). De tels changements peuvent avoir des conséquences sur la reproduction au long terme (Fudvoye et al., 2019). En effet, l'âge d'entrée en puberté a été associé à des troubles du fonctionnement psychosocial à l'adolescence et à l'âge adulte, à un risque accru de troubles cardio-vasculaires (Watkins et al., 2017; Zhu et Chan, 2017), ainsi qu'une augmentation du risque de développer un cancer hormono-dépendant (Mouritsen et al., 2010).

Trois études épidémiologiques ayant investigué la relation entre l'exposition aux parabènes et le moment d'apparition de la puberté, deux longitudinales et une transversale, ont été identifiées. La première, a étudié l'exposition *in utero* et prépubère aux phtalates, aux phénols et aux parabènes et leurs associations avec le moment de la puberté chez 338 enfants (dont 179 filles) issus d'une cohorte de grossesse à Salinas Valley en Californie (Harley et al.,

2019). L'exposition prénatale aux parabènes n'était pas associée au développement pubertaire, mais des concentrations urinaires plus élevées de méthylparabène à l'âge de 9 ans étaient associées à un développement plus précoce des seins et des poils pubiens et à la ménarche (premières règles) (ibid.). Cependant, les auteurs de l'étude soulignent qu'il est possible que cette association soit expliquée par une causalité inverse : les filles qui sont pubères plus tôt que les autres, peuvent être plus à même d'utiliser des produits de soins personnels qui contiendraient des parabènes (ibid.). La seconde, une étude prospective menée chez des jeunes filles américaines, n'a signalé aucune association entre les concentrations urinaires de parabènes, mesurées vers 6 – 8 ans, puis vers 11 ans et le développement pubertaire (c.-à-d., à l'âge à la ménarche et le développement du bourgeon mammaire) (Wolff et al., 2017). La dernière, une étude transversale, n'a signalé aucune association entre les parabènes urinaires et la ménarche chez les adolescentes de 12 à 16 ans d'après l'enquête nationale sur la santé et la nutrition (NHANES, 2003-2008) (Buttke et al., 2012).

2.3.2.3 Les parabènes et le système reproducteur masculin

Pour ouvrir la réflexion, il est intéressant de souligner qu'une augmentation des troubles du système reproducteur masculin a également été observée durant ces dernières décennies (Skakkebaek et al., 2016). Plusieurs études épidémiologiques ont suggéré que l'exposition à des produits perturbateurs du système endocrinien a pu contribuer à l'augmentation de l'incidence des pathologies du système reproducteur masculin (Mauduit et al., 2006; Thankamony et al., 2016).

Plusieurs études *in vivo* ont identifié un effet anti-androgénique des parabènes, se manifestant par une diminution significative du poids de l'épididyme, de la réserve de spermatozoïdes et une baisse significative de la concentration sanguine de testostérone chez le rat ou la souris mâle (Kang et al., 2002; Oishi 2002a, 2002b). Chez l'homme adulte, une diminution de la qualité du sperme et des concentrations sériques de testostérone a été observée (Jurewicz et al., 2017). Ces résultats n'ont cependant pas été observés dans toutes les études (Meeker et al., 2011; Nishihama et al., 2017). Au-delà des troubles du système reproducteur observés après exposition aux parabènes chez l'homme adulte, des expositions *in utero* peuvent

également avoir des conséquences sur le développement du système reproducteur masculin. Une étude cas-témoin récente a observé des associations entre les concentrations sériques maternelles de (n-)propylparabène et une distance anogénitale plus courte chez les nourrissons – de la naissance jusqu’à l’âge de 24 mois (Fisher et al., 2020). La distance anogénitale est un marqueur d’exposition aux androgènes durant la période fœtale, pouvant être associée à la survenue d’autres troubles du développement du système reproducteur masculin (c.-à-d., cryptorchidie, hypospadias, réduction de la qualité du sperme à l’âge adulte) (Thankamony et al., 2016). Les études épidémiologiques sur les anomalies du fonctionnement du système reproducteur chez les enfants et adolescents en lien avec une exposition aux parabènes concernent majoritairement les filles. À notre connaissance, une seule étude épidémiologique a investigué le lien entre l’exposition aux parabènes et le moment d’apparition de la puberté chez les garçons. L’exposition prénatale aux parabènes n’était pas associée au développement pubertaire, mais des concentrations urinaires plus élevées de propylparabène à l’âge de 9 ans étaient associées à une survenue plus précoce du développement génital chez les garçons (Harley et al., 2019). Concernant les hormones de la reproduction masculine, une étude menée chez les garçons âgés de 6 à 19 ans n’a pas trouvé d’association entre les concentrations urinaires de parabènes et les concentrations sériques de testostérone (Scinicariello et Buser, 2016).

En conclusion, il existe des données dans la littérature suggérant qu’il existe potentiellement un lien entre l’exposition à des perturbateurs endocriniens et des répercussion sur le développement et le fonctionnement du système reproducteur masculin. De ce fait, il semblerait intéressant d’étudier l’effet d’une exposition aux parabènes sur les concentrations sériques d’hormones de la reproduction chez les jeunes garçons. Toutefois, nous avons fait le choix de nous concentrer exclusivement sur les jeunes filles dans ce projet de recherche de maîtrise.

2.1.1 Limites des données de la littérature et justification de la présente étude

Cette revue de littérature avait pour objectif d’identifier les enjeux actuels concernant l’utilisation des parabènes. Les études toxicologiques, basées sur des études *in vivo* ou *in vitro*,

indiquent que l'exposition aux parabènes peut perturber différents processus physiologiques impliqués dans la régulation hormonale. Cependant, ces études peuvent difficilement être utilisées pour estimer les risques de l'exposition au sein de la population, du fait de limites propres aux études toxicologiques. Les études toxicologiques se basent sur des modèles animaux expérimentaux reflétant difficilement les conditions réelles d'exposition humaine. En effet, ces expositions peuvent être discontinues et à des doses variables. Aussi, les études animales sont habituellement menées sur du court terme, tandis que chez les humains, l'exposition dans des conditions réelles se fait sur des années. En outre, il existe des différences biologiques notables entre les animaux et les humains, et ainsi, les conclusions issues des modèles animaux ne sont pas directement transférables aux humains.

Aussi, il manque des données issues d'études épidémiologiques, du fait que les préoccupations concernant les risques liés à l'exposition aux parabènes soient encore relativement récentes. Pourtant, les jeunes filles apparaissent comme particulièrement vulnérables aux effets des perturbateurs endocriniens. Il apparaît essentiel de l'investiguer plus précisément. Certaines études épidémiologiques ayant analysé la relation entre l'exposition aux parabènes sur le système reproducteur chez les jeunes filles ont utilisé la classification clinique de Tanner (Harley et al., 2019; Wolff et al., 2017). La classification clinique de Tanner est utilisée pour évaluer l'avancée du développement physiologique durant la puberté et se base sur l'observation clinique de changements anatomiques signalant l'apparition des caractéristiques sexuelles secondaires, comme les poils pubiens et le développement mammaire (Watts, 1984). Or, le développement pubertaire est caractérisé par des changements hormonaux apparaissant plus tôt que les changements anatomiques observables. Par exemple, chez les jeunes filles, les niveaux d'œstradiol sont normalement bas. À l'approche de la puberté, l'hypophyse sécrète de l'hormone lutéinisante et de l'hormone folliculostimulante qui stimulent les ovaires à produire de l'œstradiol. Ces changements hormonaux induisent plusieurs changements morphologiques, tels que le développement du bourgeon mammaire, la pousse du poil pubien et des changements dans la distribution de la graisse corporelle chez les filles pubères. Par conséquent, la mesure des concentrations d'hormones de la reproduction peut servir de biomarqueur de la perturbation endocrinienne, et ainsi, permettre d'évaluer de manière plus précoce le développement pubère que le permet l'observation clinique (Fudvoye et al., 2019). Ainsi, il serait alors pertinent de

réaliser une étude à partir des mesures biologiques des concentrations d'hormones de la reproduction pour étudier l'effet de perturbateur endocrinien des parabènes sur le système reproducteur féminin. Une seule étude a évalué le lien entre l'exposition aux parabènes et les concentrations d'hormones de la reproduction, mais l'échantillon de seulement 25 filles était très limité, et aucun ajustement statistique pour les variables de confusion n'a été appliqué (Ihde et al., 2015).

CHAPITRE III. Objectif

L'objectif de notre étude était d'étudier, de manière transversale, l'association entre les concentrations urinaires de parabènes (méthylparabène, éthylparabène, propylparabène et butylparabène) et les concentrations sériques d'hormones sexuelles (estradiol et progestérone) et de gonadotrophines (hormones folliculostimulante et hormone lutéinisante) chez les filles et adolescentes de la population générale.

CHAPITRE IV. Méthodologie

4.1 Sources des données

Notre étude est une analyse de type transversale, portant sur la mesure de l'association entre les concentrations urinaires de parabènes et les hormones de la reproduction. Pour ce faire, nous avons utilisé les données du 4^{ème} cycle de l'Enquête canadienne sur les mesures de santé (ECMS). L'ECMS est une enquête transversale continue, qui vise à obtenir des informations représentatives à l'échelle nationale sur l'état de santé et le bien-être de la population canadienne. Elle est menée par Statistique Canada, en partenariat avec Santé Canada et l'Agence de la santé publique du Canada (Santé Canada, 2017). Il s'agit d'une étude à participation volontaire se déroulant en plusieurs cycles, planifiés de 2007 à 2023 (ibid.).

Le cycle 4 s'est déroulé sur 2 années consécutives (janvier 2014 à décembre 2015). L'ECMS a utilisé une stratégie d'échantillonnage stratifié à trois degrés (1^{er} degré : site de collecte, 2^{ème} degré : le logement et 3^{ème} degré : l'individu (une ou deux personnes de chaque logement)). Ainsi, 5794 participants âgés de 3 à 79 ans et vivant dans les 10 provinces ont été recrutés pour le cycle 4. Les participants ont été répartis en 6 groupes d'âge, séparés en fonction du sexe : 3-5 ans; 6-11 ans, 12-19 ans; 20-39 ans; 40-59 ans et 60-79 ans. Approximativement, 4 % de la population cible n'a pas été inclus dans l'échantillon, soit les personnes vivant dans les trois territoires, les personnes vivant dans les réserves et autres peuplements autochtones des provinces, les membres à temps plein des Forces canadiennes, la population vivant en établissement et les habitants de certaines régions éloignées (Statistique Canada, 2014). Cela s'explique par le fait que des enquêtes et des projets de recherche de biosurveillance menés en partenariat avec Santé Canada, portent directement sur les sous-populations exclues de l'ECMS (Santé Canada, 2017).

Les données ont été collectées dans les 16 sites situés aux travers des sept provinces du Canada : la Nouvelle-Écosse, le Nouveau-Brunswick, le Québec, l'Ontario, le Saskatchewan, l'Alberta et la Colombie-Britannique (Statistique Canada, 2014). Les informations ont été

recueillies par le biais d'entrevues auprès des ménages, menées par des professionnels formés à cet effet. Par la suite, des mesures physiques directes et des prélèvements biologiques ont été collectés dans les cliniques d'examen mobile (CEM) (Statistique Canada, 2014).

Un certain nombre de substances chimiques, sélectionnées au préalable en fonction des risques qu'elles présentent pour la santé, ont été quantifiées dans des sous-échantillons de la population. Ainsi, 2 500 participants dans chacun des sous-échantillons de contaminants environnementaux (sang et urine) ont été recrutés par un échantillonnage aléatoire simple (Statistique Canada, 2014). Les données issues des prélèvements biologiques ont été stockées dans des bio-banques. Un total de 54 substances chimiques a été mesuré dans les échantillons biologiques et mis à disposition des chercheurs préalablement accrédités par Statistique Canada (c.-à-d., ayant obtenu une cote de sécurité et signé un contrat de recherche avec Statistique Canada) (ibid.).

4.1.1 Considérations éthiques

Chaque participant âgé de 14 ans et plus a fourni un consentement éclairé par écrit pour participer à l'enquête. Pour les enfants de moins de 14 ans, un parent ou un tuteur légal a accompagné l'enfant au CEM, et a donné son consentement écrit pour la participation de l'enfant. L'enfant a également donné son consentement oral. L'ECMS a obtenu l'approbation éthique du comité d'éthique de la recherche de Santé Canada et de l'Agence de la santé publique du Canada (Santé Canada, 2017). Cette étude a été approuvée par le comité d'éthique de la recherche clinique de l'Université de Montréal (voir Annexe A).

4.1.2 Population à l'étude : critères de sélection et d'exclusion

L'objectif étant l'étude des hormones de la reproduction féminine, nous avons sélectionné uniquement les participantes de sexe féminin. De plus, nous avons sélectionné les participantes âgées entre 6 à 17 ans, ce qui correspond à la période du développement pubère, et celles chez qui les concentrations de parabènes urinaires ont été mesurées (sous-échantillon

pour mesure des contaminants environnementaux dans l'urine, soit 50% de l'échantillon entier). Les parabènes étant excrétés par voie urinaire, il est important de tenir compte du degré variable de dilution des urines et ainsi de standardiser les concentrations de parabènes en fonction de l'excrétion de la créatinine (c.-à-d., par les concentrations de créatinine urinaire) (Truchon et al., 2014). En effet, la créatinine urinaire est produite de manière constante, issue d'une dégradation non enzymatique de la créatine et de la créatine phosphate musculaire (ibid.). Cette substance est éliminée dans l'urine principalement par filtration glomérulaire (ibid.). Ainsi, la correction par la créatinine urinaire permet d'ajuster pour les concentrations urinaires d'autres substances éliminées par la fonction rénale, afin de tenir compte du degré de dilution urinaire individuel (ibid.).

Finalement, nous avons appliqué les critères d'exclusion suivants :

- i. Avoir pris des médicaments contenant des hormones stéroïdes sexuelles ou pouvant affecter l'activité de ces hormones au cours du dernier mois (c.-à-d., celles ayant déclaré utiliser des médicaments avec les *Anatomical Therapeutic Chemical Classification codes* (code de classification thérapeutique de l'OMS) suivants : **G02B** - Contraceptifs à usage topique et **G03** - Hormones sexuelles et modulateurs du système génital (Statistique Canada, 2017)) ;
- ii. Avoir un test de grossesse positif, puisque les hormones étudiées sont fortement influencées par la grossesse ;
- iii. Avoir une concentration de créatinine urinaire <10 mg/dL ou >300 mg/dL, ces concentrations pouvant être considérées comme au-delà des normes biologiques (Deierlein et al., 2017) ;
- iv. Avoir des données manquantes sur les covariables retenues dans les modèles d'analyse statistique (c.-à-d., indice de masse corporelle (IMC), revenu du ménage et origine ethnique).

Afin de respecter les normes de confidentialité du centre interuniversitaire québécois de statistiques sociales (CIQSS), le nombre exact de participants exclus pour chaque critère ne peut

être divulgué, car il était inférieur à 30. Au total, 35 filles ont été exclues sur la base de l'ensemble des critères d'exclusion. Notre échantillon final était de 382 filles.

4.1.3 Mesure des concentrations de parabènes et de la créatinine urinaires

Les échantillons urinaires ont été collectés au CEM. Les participantes avaient reçu au préalable la consigne de s'abstenir d'uriner 2 heures avant leur visite au CEM (Statistique Canada, 2014). Les échantillons d'urine ont été récoltés au début de miction, et recueillis dans des contenants (VWR) de 120 mL (Santé Canada, 2017). Après la collecte, les échantillons d'urine ont été fractionnés en aliquotes dans des tubes plus petits et stockés à une température de -30 ° C avant d'être expédiés sur de la glace sèche aux laboratoires de l'Institut national de santé publique du Québec (INSPQ) pour y être analysés (Statistique Canada, 2014). Le volume optimal de l'échantillon envoyé au laboratoire de référence était de 1,0 mL pour les parabènes (Santé Canada, 2017). Pour l'analyse, les parabènes ont été soumis à une hydrolyse enzymatique - par l'enzyme β -glucuronidase, et ont ensuite été acidifiés et préconcentrés par extraction en phase solide (ibid.). Enfin, les concentrations totales (c.-à-d., formes libres et conjuguées mesurées ensemble) de parabènes ont été analysées à l'aide d'un chromatographe en phase liquide (UPLC Waters Acquity), combiné à un spectromètre de masse en tandem (Waters Quattro Premier XE) (ibid.). Les parabènes urinaires apparaissent principalement sous leurs formes conjuguées (Ye et al., 2006). Aussi, les concentrations urinaires de parabènes totales ont été utilisées comme biomarqueurs d'expositions spécifiques dans notre étude.

Similairement à des études précédemment menées (Liu et al., 2019; Quiros-Alcala et al., 2018), nous avons calculé la somme molaire des quatre parabènes, corrigée par la créatinine urinaire (\sum parabènes ; $\mu\text{mol/mol}$ créatinine) (en utilisant les poids moléculaires (g/mol) suivants; méthylparabène : 152,15 ; éthylparabène : 166,18 ; propylparabène : 180,20 ; butylparabène : 194,23 et créatinine urinaire : 113,12) (Santé Canada, 2017). De plus, la concentration de créatinine urinaire a été mesurée pour tenir compte de la dilution urinaire, à

l'aide de la méthode colorimétrique basée sur la réaction de Jaffé en point final, sur un auto-analyseur chimique Hitachi 917 (Institut National de Santé Publique, 2008).

Les limites de détection (LOD) étaient de 1,3 µg/L pour le méthylparabène, de 0,3 µg/L pour le propylparabène, de 0,9 µg/L pour l'éthylparabène et de 0,3 µg/L pour le butylparabène (Santé Canada, 2017).

4.1.4 Mesure des concentrations sériques d'hormones de la reproduction

Les échantillons de sang ont été prélevés par un phlébotomiste agréé, via la technique de la ponction veineuse uniformisée (Santé Canada, 2017). Pour ce faire, des tubes Vacutainer Becton Dickinson ont été utilisés (ibid.). Les volumes de sangs récoltés variaient en fonction de l'âge de la participante. Ainsi, pour les filles âgées de 6 à 11 ans, un volume de 28,5 mL a été récolté, comparément aux participantes âgées de 12 à 13 ans, et de 14 à 19 ans chez qui un volume de 8,8 mL et de 52,8 mL a été récolté, respectivement (Santé Canada, 2017). Les échantillons de sang ont été mesurés dans les CEM de l'ECMS et congelés à -30°C, avant d'être acheminés jusqu'aux laboratoires d'analyses (ibid.). L'analyse a été faite par dosage immunologique compétitif sur l'analyseur Siemens ADVIA Centaur XP (Siemens 2011). Les méthodes d'analyses suivantes ont été utilisées : CHMS.E2-XP.V2 (Health Canada, 2014a) pour l'E2, CHMS.FSH-XP.V2 (Health Canada, 2014b) pour l'hormone folliculostimulante, CHMS.LH-XP.V2 (Health Canada, 2014c) pour l'hormone lutéinisante et CHMS.PRGE-XP.V2 (Health Canada, 2014d) pour la P4. Les hormones ont été dissociées des protéines de liaison pour être quantifiées par immuno-essai compétitif à partir d'anticorps monoclonaux anti-estradiol (Health Canada, 2014a), anticorps polyclonaux anti-hormone folliculostimulante (Health Canada, 2014b), anticorps monoclonaux anti- hormone lutéinisante (Health Canada, 2014c) et des anticorps monoclonaux anti-progestérone (Health Canada, 2014d).

Les valeurs des LOD de 0,07 UI / L pour l'hormone lutéinisante, de 0,3 UI / L pour l'hormone folliculostimulante, de 45 pmol / L pour l'estradiol et de 1 nmol / L pour la progestérone (Health Canada, 2014a, 2014b, 2014c, 2014d).

4.2 Analyses statistiques

4.2.1 *Analyses descriptives*

Les distributions des concentrations des parabènes urinaires et des hormones de la reproduction ont été examinées et présentaient toutes deux une asymétrie à droite. De ce fait, leurs valeurs ont été transformées en logarithmes naturels (ln), permettant de normaliser la distribution des données, avant d'être analysées. Les concentrations de parabènes ont été corrigées par la créatinine urinaire afin de tenir compte du degré de dilution urinaire (Truchon et al., 2014). Les concentrations de parabènes avaient de nombreuses valeurs inférieures à la limite de détection (LOD). Comme recommandé par l'ECMS (Statistique Canada, 2014), les concentrations de parabènes inférieures à la LOD ont été imputées par la LOD divisée par deux. Les concentrations d'hormones de la reproduction inférieures à la LOD ont également été imputées par la LOD divisée par deux. Nous avons utilisé les coefficients de corrélation de Spearman pour évaluer les relations entre les parabènes corrigées par la créatinine urinaire et entre les hormones de la reproduction.

4.2.2 *Covariables et facteurs de confusion potentiels*

En nous basant sur des études antérieures (Buttke et al., 2012; Frederiksen et al., 2014; Wolff et al., 2017; Harley et al., 2019), nous avons considéré plusieurs variables comme variables de confusion potentielles dans la relation entre les concentrations urinaires de parabènes et les concentrations sériques d'hormones de reproduction: l'âge, l'IMC, le revenu du ménage, l'origine ethnique, l'exposition à la fumée de cigarette au domicile, la saison lors de la collecte des échantillons ainsi que l'heure lors de la visite à la clinique.

L'âge, l'IMC, le revenu du ménage et l'origine ethnique sont tous quatre des facteurs connus pour être associés aux concentrations sériques d'hormones de la reproduction (Ukkola et al. 2001; Braithwaite et al. 2009). L'âge, le revenu du ménage et l'origine ethnique peuvent aussi influencer le niveau d'exposition aux parabènes (Calafat et al., 2010; Frederiksen et al., 2014). Les personnes noires semblent avoir des concentrations beaucoup plus élevées de

parabènes urinaires que les autres groupes ethniques (ibid.). Ces différences seraient imputables à une utilisation plus fréquente de produits de soins personnels (de cheveux, de peau ou cosmétiques) contenant des parabènes chez ces groupes de population. Les personnes aux revenus plus élevés présentaient des niveaux d'exposition aux parabènes supérieurs à celles avec des revenus moyen et faible (Calafat et al., 2010). En outre, des modifications des concentrations des hormones de la reproduction ont été observées chez des jeunes filles à l'approche de la puberté, après avoir été exposées à la fumée de cigarette (6-11 ans) (Gollenberg et al., 2015). Nous avons inclus la saison comme un facteur de confusion potentiel du fait de la différence d'utilisation de certains produits contenant des parabènes en fonction des saisons (c.-à-d., notamment l'utilisation des crèmes solaires qui augmente considérablement en été) (Scinicariello et Buser, 2016). De plus, il semble exister des variations saisonnières des concentrations d'hormones sexuelles sériques et notamment des concentrations d'estradiol (Bjørnerem et al., 2006). Il a donc été suggéré de tenir compte de la saison lors de l'analyse et de l'interprétation des résultats des concentrations d'estradiol (ibid.). Le même raisonnement a été appliqué pour l'heure lors de la visite à la clinique (c.-à-d., heure du prélèvement), les concentrations de parabènes et d'hormones de la reproduction pouvant varier au cours de la journée.

En résumé, nous avons sélectionné les facteurs de confusion potentiels dans l'association d'intérêt, basé sur un examen attentif de la littérature et sur une réflexion critique approfondie. Cette étape est essentielle dans des études observationnelles, puisque le fait de ne pas ajuster pour un facteur de confusion, ou au contraire, d'ajuster pour une variable qui n'est vraiment un facteur de confusion, peut conduire à des conclusions imprécises ou invalides (Correia et al., 2020). Ensuite, nous avons sélectionné les variables qui seront effectivement retenues dans nos modèles de régression au moyen l'approche empirique suivante :

- i. Premièrement nous avons identifié les variables associées à la fois avec la variable dépendante et la variable indépendante et pouvant donc être des variables de confusion dans l'association entre ces deux variables. Pour ce faire, nous avons utilisé des analyses univariées (test du chi carré, analyse de la variance unidirectionnelle ou corrélation de Spearman, en fonction du type de variable (catégoriques ou continues). Ces analyses

nous ont permis d'identifier les variables associées à la fois aux concentrations urinaires de la somme molaire totale de parabènes (\sum parabènes) corrigées par la créatinine urinaire et au moins à une concentration d'une hormone de la reproduction (ln-transformées). Les variables ayant une *p-value* < 0,2 ont été retenues (c.-à-d., l'origine ethnique (exceptée pour l'hormone lutéinisante) et la saison lors de la collecte des échantillons uniquement dans le modèle avec l'estradiol). Au préalable, nous avons vérifié que les données des covariables respectaient les présuppositions statistiques nécessaires pour la réalisation des tests univariés. Le test de Shapiro-Wilk a été utilisé pour s'assurer de la normalité et le test de Levene pour vérifier la condition d'homogénéité des variances. Certaines covariables présentaient des variances hétérogènes, nous avons donc utilisé la correction de Welch (c.-à-d. en utilisant les variances individuelles des deux groupes) pour interpréter ces données.

- ii. Deuxièmement, chaque variable de confusion potentielle restante a été ajoutée individuellement au modèle avec l'origine ethnique (et la saison lors de la collecte des échantillons pour le modèle avec l'estradiol). Celles qui ont modifié le coefficient d'association de \sum parabènes corrigés par la créatinine urinaire de plus de 10 % ont été retenues (c.-à-d. âge, IMC, revenu du ménage (sauf pour l'hormone folliculostimulante), saison lors de la collecte des échantillons (sauf pour l'hormone lutéinisante) et origine ethnique pour l'hormone lutéinisante). Bien qu'étant un seuil fixé arbitrairement, la méthode « du critère de 10% » permet de comparer les coefficients d'association de la variable d'intérêt (concentrations de parabènes), avant et après inclusion de la variable de confusion. Si le coefficient de la variable d'intérêt varie de plus/moins 10%, alors la variable est considérée comme une variable de confusion et est incluse dans le modèle final.

Afin d'obtenir des résultats cohérents pour toutes les hormones, nous avons fait le choix d'ajuster tous les modèles pour les mêmes facteurs de confusion - à savoir l'âge, le revenu du ménage, l'origine ethnique, l'IMC et la saison lors de la collecte des échantillons. L'âge et l'IMC ont été modélisés comme variables continues. Les autres variables ont été modélisées comme variables catégorielles, comme suit: revenu du ménage ([<50 000 CAD]; [50 000 - 99 999

CAD]; [$>100\ 000$ CAD]), l'origine ethnique (blanc; autre), exposition à la fumée de cigarette au domicile (oui / non), saison lors de la collecte des échantillons (printemps [mars à mai]; été [juin à août]; automne [septembre à novembre]; hiver [décembre à février]), et heure lors de la visite à la clinique ([6h-12h] / [13-19h]).

4.2.3 *Analyses de l'association entre les parabènes urinaires et les hormones*

Nous avons examiné les associations entre les parabènes individuels et \sum parabènes et les hormones de la reproduction (estradiol, progestérone, hormone lutéinisante et hormone folliculostimulante), à partir d'analyses de régression linéaires multiples, ajustées pour les facteurs de confusion.

Afin de rendre ces résultats plus faciles à interpréter, nous avons utilisé les coefficients de régression (β) issus de nos modèles de régression linéaire multiple (UCLA, s.d.) pour calculer le changement des concentrations d'hormone en pourcentage. Étant donné que les concentrations de parabènes et d'hormones étaient toutes deux ln-transformées, nous avons appliqué la formule suivante : $2^{\beta} \times 100 = \%$ de changement des concentrations des hormones de la reproduction (ibid.).

Certaines hormones présentaient de faibles fréquences de détection. Nous avons donc utilisé des modèles de régression logistique pour analyser la relation entre la concentration urinaire de parabènes et la détection des hormones (variables binaires : hormone détectée / non-détectée). Ces modèles ont aussi été ajustés pour les mêmes facteurs de confusion que dans les modèles de régression linéaire multiples.

4.2.4 *Analyses de sensibilités*

Nous avons effectué deux analyses de sensibilité. Premièrement, nous avons effectué une analyse de sensibilité incluant uniquement les filles âgées de 6 à 11 ans ($n = 227$). En effet,

certaines variables de confusion potentiellement importantes n'étaient disponibles que pour ce groupe d'âge (c.-à-d. exposition prénatale à la fumée de cigarette, poids à la naissance, naissance avant la date prévue, l'admission à l'unité de soins néonataux spéciaux, la durée de l'allaitement). Nous avons inclus ces variables dans la liste des facteurs de confusion potentiels et appliqué la même stratégie que celle précédemment utilisée pour l'inclusion des covariables dans le modèle principal. Au final, le même ensemble de covariables que dans l'analyse principale a été retenu (c'est-à-dire l'âge, le revenu du ménage, l'origine ethnique, l'IMC et la saison lors de la collecte des échantillons), seule la variable d'exposition prénatale à la fumée de cigarette est venue s'ajouter aux autres covariables de ce modèle.

Deuxièmement, nous avons réexécuté les modèles en utilisant cette fois-ci les concentrations de parabènes corrigées par la densité spécifique plutôt que par la créatinine urinaire, pour tenir compte des degrés de dilution de l'urine. En effet, il semble que la densité spécifique soit moins influencée par l'âge, le sexe et la masse musculaire que la créatinine urinaire (Barr et al., 2005). Pour calculer les concentrations de parabènes corrigées par la densité spécifique, nous avons utilisé la formule suivante :

$$C_{corr} = \frac{Ci(\bar{d}-1)}{(d-1)} \quad (\text{Truchon et al., 2014})$$

C_{corr} : concentration corrigée de parabènes urinaires

Ci : concentration de parabènes urinaires

\bar{d} : densité spécifique moyenne de la population (1 020 µg / L)

d : densité spécifique d'urine analysée

Dans nos analyses, nous avons fait le choix de ne pas utiliser les poids d'échantillonnages fournis par Statistique Canada, permettant de tenir compte du plan d'enquête complexe de l'ECMS. En effet, la pondération des données peut entraîner une analyse statistique inefficace en raison de la grande variabilité des poids attribués, surtout lorsqu'il y a peu de degrés de liberté, comme c'est le cas dans l'ECMS. Ces poids d'enquête sont utiles lorsqu'il s'agit d'obtenir des statistiques descriptives sur les caractéristiques de la population (c.-à-d. les niveaux d'exposition) représentatives de la population Canadienne. Cependant, l'objectif de notre étude était plutôt d'obtenir des estimations valides des paramètres d'association pour les concentrations

de parabènes et des hormones. Il est important de noter que notre analyse non pondérée devrait permettre d'obtenir des estimations d'association correctement estimées puisque nos modèles ont été ajustés pour les variables utilisées au préalable pour définir les poids d'échantillonnages (c.-à-d. l'âge, le sexe et l'origine ethnique) (Korn et Graubard, 1991).

Nous avons fixé le seuil de signification statistique à $p\text{-value} < 0,05$, et tous les tests étaient bilatéraux. Toutes les analyses statistiques ont été effectuées en utilisant la version 24.0 de SPSS Statistics pour Windows (IBM Corporation, 2016).

CHAPITRE V. Résultats

Article Scientifique

CONTRIBUTION DES AUTEURS

Margot Guth :

- A obtenu le certificat d'éthique de l'Université de Montréal pour la recherche ;
- A réalisé la revue de la littérature et l'identification des études-clés pour la recherche ;
- A préparé la base de données (identification des variables d'intérêt, recodage, calculs des concentrations de parabènes, correction des concentrations de parabènes par la créatinine urinaire/densité urinaire);
- A réalisé les analyses statistiques des données, en lien avec sa directrice de recherche ;
- A rédigé la première ébauche de l'article, en lien avec sa directrice de recherche ;
- A intégré les retours de ses co-auteurs, en lien avec sa directrice de recherche.

Tyler Pollock :

- A participé à l'édition du manuscrit ;
- A contribué à l'interprétation des résultats de la recherche.

Mandy Fisher :

- A participé à l'édition du manuscrit ;
- A contribué à l'interprétation des résultats de la recherche.

Tye E. Arbuckle :

- A participé à l'édition du manuscrit ;
- A contribué à l'interprétation des résultats de la recherche.

Maryse F. Bouchard :

- A conçu l'étude ;

- A financé l'étude ;
- A obtenu l'accès aux données auprès de CIQSS ;
- A réalisé le plan d'analyse statistique, et a supervisée la réalisation des analyses statistiques ;
- A supervisé l'interprétation des résultats;
- A participé à l'édition du manuscrit.

**Concentrations of urinary parabens and reproductive hormones in girls 6 to 17 years
living in Canada**

Margot Guth ¹, Tyler Pollock ², Mandy Fisher ², Tye E. Arbuckle ², Maryse F. Bouchard ¹

^{1.} Department of Environmental and Occupational Health, School of Public Health, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada; CHU Sainte-Justine Research Centre Mother and Child University Hospital Center

^{2.} Environmental Health Science and Research Bureau, Health Canada, Ottawa, Ontario, Canada

Corresponding author: maryse.bouchard@umontreal.ca

Maryse Bouchard

Département de santé environnementale et santé au travail

École de santé publique

Université de Montréal

C.P. 6128, succursale Centre-ville

Montreal (Quebec) H3C 3J7

Acknowledgements: M.F. Bouchard holds the Canada Research Chair on Environmental Contaminants and Populations' Health. The analysis presented in this paper was conducted at the Quebec Interuniversity Centre for Social Statistics (QICSS) which is part of the Canadian

Research Data Centre Network (CRDCN). The services and activities provided by the QICSS are made possible by the financial or in-kind support of the Social Sciences and Humanities Research Council (SSHRC), the Canadian Institutes of Health Research (CIHR), the Canada Foundation for Innovation (CFI), Statistics Canada, the Fonds de recherche du Québec and the Quebec universities. The views expressed in this paper are those of the authors, and not necessarily those of the CRDCN or its partners.

Conflicts of interest: The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

* Article soumis pour publication à la revue *Human Reproduction*

ABSTRACT

Study question: Are urinary concentrations of parabens associated with serum concentrations of estradiol, progesterone, follicle stimulating hormone [FSH], and luteinizing hormone [LH] in girls ages 6 to 17 years.

Summary answer: Higher levels of urinary parabens were associated with lower levels of estradiol, FSH, and LH.

What is known already: Parabens are chemical substances used as preservatives for their antibacterial and antifungal properties in many personal care products, and sometimes in pharmaceutical and food products. Concerns for adverse human health effects arise from animal studies showing endocrine disrupting effects, such as changes in the timing of puberty and alterations in reproductive hormone activity.

Study design, size, duration: Cross-sectional of urinary parabens and serum hormones, using data from the Canadian Health Measures Survey (2014 – 2015). The association between concentrations of creatinine-standardized urinary parabens and serum hormone concentrations was analyzed with multivariable linear regressions, adjusting for potential confounders (i.e., age, body mass index, ethnicity, household income, sampling season; prenatal exposure to cigarette smoke for girls 6 to 11 years).

Participants/materials, setting, methods: The 382 girls and teens included in the study had a mean age of 11.0 years; 76% were white and 73% had a body mass index in the range normal/underweight. Almost all participants (92%) had at least one paraben detected in their urine.

Results: Participants with higher urinary paraben concentrations had significantly lower serum concentrations of estradiol, LH, and FSH, but not of progesterone. A doubling in the sum of urinary parabens was associated with lower estradiol by 5.8% (95% CI -9.3, -2.1), lower FSH by 4.2% (95% CI -7.9, -0.3), and lower LH by 10.8% (95% CI -17.4, -3.7). The analysis of individual compounds showed that all four parabens were similarly associated with lower levels of estradiol, FSH, and LH. We further analyzed younger girls (6 to 11 years) and found that urinary parabens were similarly associated with lower estradiol and LH (doubling in the sum of parabens associated with lower estradiol by 5.9% [95% CI -10.5, -1.0] and lower LH by 10.9% [95% CI -20.2, -0.6]). In this younger subgroup, the association estimate for FSH, however, was attenuated and no longer statistically significant.

Discussion: We observed that exposure to parabens was associated with reduced levels of circulating reproductive hormones, suggesting that these chemicals could alter the development and function of the endocrine system in girls. Further prospective research using long-term assessment of parabens exposure and of reproductive development may better determine endocrine disrupting effects of parabens.

Keywords: parabens, endocrine disruptors, estradiol, progesterone, follicle stimulating hormone, luteinizing hormone, girls, puberty

INTRODUCTION

Exposure to parabens is very common in human populations, since these chemicals are added to several personal care products and cosmetics (e.g., toothpastes, lotions, sunscreens), as well as drugs and processed food. The most commonly used parabens are methylparaben, ethylparaben, propylparaben, and butylparaben. Parabens are alkyl esters of *p*-hydroxybenzoic acid and are used as preservatives in products, due to their antibacterial and antifungal properties (ECCC, HC 2020). Exposure is widespread, as demonstrated by high detection rates in biomonitoring data from Canada, U.S., and France (CDC 2017; Health Canada 2017; Santé Publique France 2019; Statistics Canada 2018). Methylparaben and propylparaben are two of the most used parabens with detection frequencies above 80% in the U.S. and Canada, while butylparaben and ethylparaben are detected less frequently. Furthermore, women and female adolescents have higher levels of exposure than male adolescents and adults, which has been linked with more frequent use of personal care products containing parabens (Calafat et al. 2010; Fisher et al. 2017).

Concerns for adverse human health effects arise from experimental studies showing endocrine disrupting effects of parabens. Although parabens exert very weak estrogenic activity (Nowak et al. 2018; Watanabe et al. 2013), they could alter the endocrine function through other mechanisms such as changes in enzyme function implicated in estrogen synthesis (Engeli et al. 2017). Several animal studies investigated the effect of exposure to parabens during the development, a period of heightened susceptibility to endocrine disruptors, and reported alterations of reproductive organ development (Boberg et al. 2016), timing of puberty (Vo et al. 2010), and folliculogenesis (Ahn et al. 2012) in female rats.

The effects of environmental exposure to low levels of parabens on human health are poorly understood, particularly during childhood and around the time of puberty (Seltenrich 2019). Only a handful of studies have examined the association between paraben exposure and reproductive development, and most reported no association between parabens and age at menarche, breast development, or pubic hair growth (Binder et al. 2018; Buttke et al. 2012; Wolff et al. 2015; Wolff et al. 2017). One other study reported no association between prenatal exposure to parabens and pubertal development, whereas higher urinary concentrations of paraben in children, measured at around 9 years of age, were associated with earlier puberty (Harley et al. 2019). However, no study has yet investigated exposure to parabens in relation with concentrations of female reproductive hormones in childhood. Estradiol levels are normally low in young girls, and as puberty approaches, the pituitary gland secretes LH and FSH, which stimulate the ovaries to make estradiol. Hence, hormone levels could represent early biomarkers of endocrine disruption that would precede pubertal development observable with clinical observation (Fudvoye et al. 2019). In the present study, we aimed to study the cross-sectional association between urinary concentrations of parabens and serum concentrations of reproductive hormones (i.e., estradiol, progesterone, FSH, and LH) in Canadian girls from the general population.

METHODS

1. Source of data

We used data from the Canadian Health Measures Survey (CHMS, cycle 4), a complex-design survey led by Statistics Canada and Health Canada to evaluate the general health and chemical exposures of the Canadian population. Information was collected over the 2-year collection period, from January 2014 to December 2015, through a household interview, direct physical measurements and analysis of biological samples collected at a mobile examination center. The survey used a multistage sampling strategy to recruit 5794 participants aged 3 to 79 years, representative of the non-institutionalized Canadian population (Health Canada 2017). Participants were recruited from 16 sites, including larger and smaller population densities, selected from within the five standard regional boundaries used by Statistics Canada (Atlantic, Quebec, Ontario, the Prairies, and British Columbia). Detailed methods of respondent selection, data collection, and laboratory analyses are described elsewhere (Statistics Canada 2017). We accessed the data through Statistics Canada's Research Data Centers. Ethics approval for the CHMS was obtained from the Health Canada and Public Health Agency of Canada Research Ethics Board. Each study participant 14 years and older provided written informed consent to participate in the survey. For children under 14 years of age, a parent or legal guardian was present with the child at the mobile examination center and provided written consent for the child's participation and the child provided assent. Furthermore, we obtained approval for this study from the Université de Montréal's research ethics committee.

2. Study participants: selection and exclusion criteria

For the present study, we selected female participants from cycle 4 of the CHMS database, between the ages 6 and 17 years, in order to capture the developmental period before and around the time of puberty. Our sample included participants with available urinary paraben concentration measurements, which were performed in a sub-sample comprising 50% of the survey participants. Further, we applied these exclusions:

- i. taking medication containing sex steroid hormones or that may affect the activity of these hormones during the last month, i.e., codes G02B (contraceptives for topical use) and G03 (sex hormones and modulators of the genital system) from the Anatomical Therapeutic Chemical Classification (WHO 2020);
- ii. positive pregnancy test;
- iii. urinary creatinine concentration indicating urine too diluted (<10 mg/dL) or too concentrated (>300 mg/dL) for accurate analysis (Deierlein et al. 2017);
- iv. data unavailable on covariates included in the models (i.e., body mass index (BMI), household income, and ethnicity)

Altogether, approximately 35 girls were excluded, leaving 382 girls for the analysis. In order to respect the confidentiality standards of Statistics Canada, the exact number of participants excluded for each criterion cannot be displayed because this number was smaller than 30.

3. Measurement of urinary parabens and creatinine

Spot urine samples were collected by each participant (first-catch urine) in 120 mL urine specimen containers. Guidelines were provided to participants asking them to abstain from urinating 2 hours prior to their visit to the mobile examination center, where this urine sample was collected. After collection, urine samples were divided into aliquots, frozen to -30°C and shipped on dry ice to the Institut national de santé publique du Québec (INSPQ) for analysis (Statistics Canada 2017). Four parabens concentrations were measured in urine samples: methyl-, propyl-, ethyl-, and butylparaben. Urine samples were subjected to enzymatic hydrolysis by β -glucuronidase enzyme and then acidified and preconcentrated by solid phase extraction, and the concentration of total parabens (free plus conjugated) was analyzed using a liquid chromatograph (UPLC Waters Acquity), combined with a tandem mass spectrometer (Waters Quattro Premier XE) (Health Canada 2017). The limit of detection (LOD) were $1.3\ \mu\text{g/L}$ for methylparaben, $0.9\ \mu\text{g/L}$ for ethylparaben, $0.3\ \mu\text{g/L}$ for propylparaben, and $0.3\ \mu\text{g/L}$ for butylparaben. Values below the LOD were imputed as $\text{LOD}/2$. A study with repeated measurements concluded that urinary parabens are fair biomarkers of longer-term exposure, based on intraclass correlation of 0.31 for three successive measures of parabens in girls over a period of four years (Wolff et al. 2017). Similar to previous studies (Liu et al. 2019; Quiros-Alcala et al. 2018), we calculated the molar sum of the four parabens (\sum parabens) using the following molecular weights (g/mol); methyl-: 152.15, ethyl-: 166.18, propyl-: 180.20, butylparaben: 194.23 and urinary creatinine: 113.12).

In separate aliquots from the same sample, urinary creatinine concentration was measured using the colorimetric end-point Jaffe method on a Hitachi 917 chemistry autoanalyzer. Paraben concentrations were standardized for urinary creatinine to account for differences in urine dilution. The LOD for creatinine was 5 mg/dL (Health Canada 2017).

Quality control samples were done at each site, consisting of three field blanks, blind replicates, and blind control samples. The quality control samples were sent to the laboratory with regular specimen shipments. Quality control sample results were sent to Statistics Canada's CHMS headquarters where they were assessed to determine the accuracy of the methodology based on the defined analyte concentration. The replicates were used to assess the precision of the analysis in pre-established acceptable ranges. If required, feedback was provided quickly to the reference laboratory for review and remedial action.

4. Measurement of serum reproductive hormones

Blood samples were collected by a phlebotomist using standard venipuncture in Becton Dickinson Vacutainers. Samples were frozen at -30° C before being routed to the testing laboratory at Health Canada, Ottawa (Statistics Canada 2017). Samples were analyzed by the Nutrition Research Division at Health Canada using an Advia Centaur XP, a clinical immunochemistry analyzer (Siemens Healthcare Diagnostics, Erlangen, Germany). Steroids were dissociated from binding proteins and quantified by competitive immunoassay using an anti-estradiol monoclonal antibody, an anti-progesterone monoclonal antibody, an antibody polyclonal anti-FSH and monoclonal anti-LH antibody. The LOD were 0.07 IU/L for LH, 0.3

IU/L for FSH, 45 pmol/L for estradiol and 1 nmol/L for progesterone. Values below the LOD were imputed as LOD/2.

5. Covariates and possible confounders

Several variables were considered as potential confounding variables in the relationship between concentrations of urinary parabens and serum reproductive hormones, based on previous studies (Buttke et al. 2012; Frederiksen et al. 2014; Harley et al. 2019; Wolff et al. 2017). These variables were available for the entire study sample: age, BMI, household income, ethnicity, exposure to cigarette smoke at home, season at visit to the clinic, and time of day of the clinic visit. Age and BMI were modeled as continuous values and all other variables were modeled in categories, as follow: household income ($[< 50,000 \text{ CAD}] / [50,000 - 99,999 \text{ CAD}] / [\geq 100,000 \text{ CAD}]$), ethnicity (white / other), time of day to clinic visit ($[6\text{h}-12\text{h}] / [13-19\text{h}]$), season at clinic visit (spring [March to May] / summer [June to August] / fall [September to November] / winter [December to February]), exposure to cigarette smoke at home (yes / no)).

The selection of potential confounders to include in our final models was done in two steps. First, we identified variables associated with creatinine-standardized \sum parabens and at least one hormone, both variables transformed in their natural logarithm, in univariate analysis. We selected variables with $p < 0.2$ (chi-square test, one-way analysis of variance, or Spearman correlation depending on whether variables were categorical or continuous). Only the variable for ethnicity was included in models after this first step. Second, each other potential confounder was added individually to the model with ethnicity, and we selected those that changed the

association coefficient with creatinine-standardized \sum parabens by greater than 10% for at least one hormone. With this second step we identified the following variables: age, household income, BMI, and season at clinic visit.

Furthermore, some additional variables were available only for girls ages 6 to 11 years: prenatal exposure to cigarette smoke, birth weight, birth before the expected date, admittance to the special neonatal care unit, and breastfeeding duration. In a separate analysis restricted to girls in this age range, we included these variables in the list of potential confounders and applied the above-strategy for covariates selection. This resulted in the same set of covariates as for the entire sample, and in addition, prenatal exposure to cigarette smoke was also selected for inclusion in the models.

6. Statistical analysis

Distributions of urinary parabens and serum reproductive hormones were examined and were converted to their natural logarithms before statistical analyses due to their positive asymmetric distribution. We used Spearman correlations to assess relationships among the creatinine-standardized paraben concentrations. We examined the associations between individual urinary parabens and \sum parabens and reproductive hormones (estradiol, progesterone, FSH, and LH) with multivariable linear regression analysis, adjusting for confounding factors. To obtain consistent results for all the hormones, all models were adjusted for the set of same confounders, i.e, age, household income, ethnicity, BMI, and season at clinic visit. In order to make these results easier to interpret, we used regression coefficients (β) from regression analyses to

calculate the percent change in hormone concentration, setting the increase in exposure as a doubling in paraben levels. We applied the following formula: $2^{\beta} \times 100 = \% \text{ change in hormones}$ (UCLA 2020). Furthermore, since estradiol and LH were only detected in 68% and 53% of participants, respectively, we ran logistic regression analyses to estimate the odds of detection in relation with urinary paraben concentrations, adjusting for the same confounding factors as in the previous models. We did not run logistic regression of FSH and progesterone since they were detected in the vast majority of participants (i.e., 94% and 85%, respectively).

We conducted two sensitivity analyses. First, we performed a sensitivity analysis including only girls aged 6 to 11 years ($n = 227$) because a number of potentially important confounding variables were available only for this age group. However, only prenatal exposure to cigarette smoke met the criteria for confounding variable and was added to the model. Second, we re-ran models using parabens standardized based on specific gravity (Just et al. 2010) to adjust for urine dilution because it is less influenced by age and muscle mass than creatinine (Barr et al. 2005).

Our analyses did not use the weights provided by Statistics Canada to account for the complex survey design. The weighted method may result in an inefficient analysis due to the large variability in assigned weights, especially when there are few degrees of freedom, as in the CHMS. These survey weights are useful to obtain descriptive statistics on population characteristics (i.e., exposure levels) that are representative of the Canadian population. However, our goal was rather to obtain valid estimates of association parameters for parabens

and hormone levels. It is important to note that our unweighted analysis should yield correctly estimated association estimates since our models were adjusted for the variables used to define the weights (i.e., age, sex, and ethnicity) (Korn and Graubard 1991).

We set the threshold for statistical significance at $p < 0.05$, and all tests were two-sided. All statistical analyses were performed using the IBM SPSS Statistics for Windows, Version 24.0 (IBM Corporation 2016).

RESULTS

Description of the study population, urinary paraben and serum reproductive hormone concentrations

The descriptive characteristics of the study population were examined and presented in **Table 1**. The 382 study participants had a mean age of 11.0 (\pm 3.1) years. They reported being white in majority (76%), and the household income was above 100k CAD for 41% of them. The majority of girls in the sample had a BMI in the categories underweight or normal weight (73%), whereas a smaller fraction had a BMI corresponding to the range for overweight (14%) and obese (13%). About 10% of participants were exposed to cigarette smoke at home. Higher concentrations for the sum of urinary parabens were observed in girls in the older age group (13 – 17 years), in those of non-white ethnicity, and in girls tested during spring and summer.

Table 1. Description of characteristics of study participants and urinary Σ parabens concentrations standardized for creatinine ($n=382$).

Participant characteristics	<i>n</i> (%)	Σ Parabens
		GM ($\mu\text{mol/mol}$ creatinine)
Age		
6 – 9 years	127 (33%)	10.3
10 – 12 years	133 (35%)	9.4
13 –17 years	122 (32%)	15.5
Household income		
0 – 49,999 CAD	100 (26%)	12.6
50k – 99,999 CAD	125 (33%)	12.2
\geq 100k CAD	157 (41%)	10.1
Ethnicity		
White	290 (76%)	9.3
Other	92 (24%)	21.7
BMI		
Underweight / normal ^a	277 (73%)	11.2
Overweight	55 (14%)	15.0
Obese	50 (13%)	9.1
Time of the day at clinic visit		
Morning	206 (54%)	11.0
Afternoon	176 (46%)	11.8
Season at clinic visit		
Spring	110 (29%)	14.6
Summer	97 (25%)	12.7
Autumn	104 (27%)	9.5
Winter	71 (19%)	8.8

GM: Geometric mean

^a The categories underweight and normal were grouped to comply with the CHMS criteria for data reporting since the number of participants in the underweight category was small

Geometric means, detection frequencies and selected percentiles of urinary parabens and serum reproductive hormone concentrations are presented in **Tables 2 and 3**, respectively. Methylparaben and propylparaben were highly detected in the study population, with 92% for methylparaben and 83% for propylparaben, whereas ethylparaben and butylparaben were less often detected (32% and 19%, respectively). Methylparaben was found in much higher concentration, with a GM of 11.2 $\mu\text{g/L}$ compared with less than 2 $\mu\text{g/L}$ for the other parabens.

All reproductive hormones were detected in more than half of the study population. FSH and progesterone were highly detected (in 94% and 85% of samples, respectively), whereas estradiol and LH were less often detected (in 68% and 53% of samples, respectively).

Table 2. Distribution of urinary paraben concentrations in study participants ($n = 382$).

	Units	Frequency of detection (%)	GM	Percentiles			
				25	50	75	90
Methylparaben	$\mu\text{g/L}$	92%	11.2	3.3	9.7	32.0	157.0
	$\mu\text{g/g creatinine}$		10.7	3.5	8.5	28.6	124.1
Ethylparaben	$\mu\text{g/L}$	32%	n/c	0.5	0.5	1.3	5.0
	$\mu\text{g/g creatinine}$		n/c	0.3	0.6	1.3	4.0
Propylparaben	$\mu\text{g/L}$	83%	1.9	0.4	1.4	5.6	37.1
	$\mu\text{g/g creatinine}$		1.8	0.5	1.2	5.5	25.3
Butylparaben	$\mu\text{g/L}$	19%	n/c	0.2	0.2	0.2	1.4
	$\mu\text{g/g creatinine}$		n/c	0.2	0.3	1.0	0.1
Σ Parabens	$\mu\text{mol/L}$	n/a	0.1	0.0	0.1	0.3	1.3
	$\mu\text{mol/mol creatinine}$		11.4	3.6	8.8	26.5	112.3

n/a: not applicable

n/c: not calculated for parabens detected in < 50% of samples

GM: Geometric mean

Table 3. Distribution of serum reproductive hormone concentrations in study participants ($n = 382$).

	Frequency of detection (%)	GM	Percentiles			
			25	50	75	90
Estradiol (pmol/L)	68%	80.1	21.8	82.5	188.5	376.0
FSH (IU/L)	94%	2.56	2.00	3.00	5.00	7.00
LH (IU/L)	53%	0.41	0.04	1.00	4.00	8.00
Progesterone (nmol/L)	85%	1.40	1.00	1.00	2.00	3.00

GM: Geometric mean

Spearman correlations between parabens or reproductive hormones are shown in Supplementary Material (**Tables S1 and S2**). All paraben pairs correlated significantly ($p < 0.01$). Methylparaben and propylparaben were strongly correlated ($r = 0.77$). Ethylparaben and butylparaben were moderately correlated ($r = 0.55$). Others pairing combinations of the four parabens were weakly correlated, with a r between 0.19 to 0.26. All hormone pairs correlated significantly ($p < 0.01$). LH and estradiol, and LH and FSH were highly correlated ($r = 0.82$ and $r = 0.76$, respectively). The other pairs of hormones were moderately correlated (r ranged from 0.23 to 0.61).

Associations between urinary concentrations of parabens and serum reproductive hormones

Results of the multivariable regression analysis between urinary parabens and serum reproductive hormones are presented in **Table 4**. No significant associations were observed between parabens and progesterone concentrations. However, we observed that higher urinary paraben concentrations were generally associated with lower concentrations of serum estradiol, FSH, and LH. A doubling in \sum paraben concentration was associated with lower estradiol by 5.8% (95% CI -9.3, -2.1), lower FSH by 4.2% (95% CI -7.9, -0.3), and lower LH by 10.8% (95% CI -17.4, -3.7). The analysis of individual parabens showed that all four parabens were similarly associated with lower concentrations of estradiol, FSH, and LH. For instance, a doubling in urinary methylparaben, ethylparaben, propylparaben, or butylparaben concentrations was significantly associated with lower estradiol by about 4 to 5%. Likewise, all four parabens were associated with lower levels of LH and FSH, and most of these associations

were statistically significant. The largest percent decrease in hormone concentration associated with parabens was for LH, which varied between 4.3 and 12.9%, depending on the parabens.

Table 4. Change (in %) and 95% CI in serum hormone concentrations for a doubling in urinary paraben concentrations ($n = 382$), adjusting for age, ethnicity, household income, BMI, and season of clinic visit.

	% change (95% CI)			
	Estradiol	Progesterone	FSH	LH
Methylparaben	-4.8 (-8.3, -1.2)	-2.0 (-5.8, 1.9)	-3.1 (-6.8, 0.6)	-9.4 (-15.9, -3.1)
Ethylparaben	-5.5 (-9.5, -1.5)	-2.0 (-6.3, 2.5)	-5.0 (-9.1, -0.8)	-12.8 (-19.8, -5.1)
Propylparaben	-3.7 (-6.8, -0.6)	-0.4 (-3.6, 3.1)	-3.2 (-6.4, -0.0)	-4.3 (-10.3, -1.9)
Butylparaben	-5.4 (-9.8, -0.8)	-0.3 (-5.1, 4.8)	-6.1 (-10.4, -1.5)	-12.9 (-20.7, -4.5)
Σ Parabens	-5.8 (-9.3, -2.1)	-1.9 (-5.7, 2.2)	-4.2 (-7.9, -0.3)	-10.8 (-17.4, -3.7)

We used logistic regression to estimate odd ratios for detectable concentrations of estradiol and LH, in association with urinary paraben concentrations (**Table 5**). The results indicated associations similar to those of linear regressions, as the four parabens were associated with decreased odds for detectable levels of estradiol and LH. ORs ranged from 0.79 to 0.86 for estradiol, and from 0.60 to 0.89 for LH (for a one ln-unit increase in individual parabens, expressed as $\mu\text{g/g}$ creatinine). A one ln-unit increase in Σ paraben concentrations (expressed as $\mu\text{mol/mol}$ creatinine) was associated with significantly decreased odds for detectable estradiol levels (OR: 0.79; 95% CI: 0.64, 0.98) and for detectable LH levels (OR: 0.75; 95% CI: 0.58, 0.97).

Table 5. ORs of detection of reproductive hormones for a one ln-unit increase in urinary parabens (in $\mu\text{g/g}$ creatinine for individual parabens, and in $\mu\text{mol/mol}$ creatinine for Σ parabens), adjusted for age, ethnicity, household income, BMI, and season of clinic visit ($n=382$).

	OR (95% CI)	
	Estradiol	LH
Methylparaben	0.83 (0.68, 1.02)	0.79 (0.62, 1.01)
Ethylparaben	0.79 (0.62, 1.01)	0.60 (0.44, 0.82)
Propylparaben	0.83 (0.70, 0.99)	0.89 (0.73, 1.09)
Butylparaben	0.86 (0.66, 1.13)	0.65 (0.46, 0.92)
Σ Parabens	0.79 (0.64, 0.98)	0.75 (0.58, 0.97)

Sensitivity Analyses

We conducted two sensitivity analyses. First, we re-ran models including only girls 6 to 11 years ($n = 227$), since information on early life factors were available only for this age group. These models were adjusted for prenatal exposure to cigarette smoke, in addition to previously used covariates. The results for the association between parabens and estradiol and LH were similar to the main analysis (**Table S3**). For instance, a doubling in Σ paraben concentrations was associated with lower estradiol by 5.9% (95% CI -10.5, -1.0) and lower LH by 10.9% (95% CI -20.2, -0.6). This compares to reductions in estradiol of 5.8% and 10.8% in the main analysis, respectively. The association estimate for FSH, however, were attenuated and no longer statistically significant. As in the main analysis, parabens were not associated with progesterone concentrations.

Second, we re-ran models using paraben levels standardized for urine dilution using specific gravity rather than creatinine ($n = 382$) (**Table S4**). Similar to the main analysis, we observed

associations between urinary paraben concentrations and lower estradiol, FSH and LH, but no association with progesterone. The association estimates were of magnitudes similar to those from the main analysis (i.e., differences less than 20%) for estradiol and LH, and most associations remained statistically significant. The association estimates for FSH were attenuated to a greater extent compared to the main analysis, and only butylparaben remained significantly associated with this hormone.

DISCUSSION

In this study, we report that exposure to parabens was associated with lower circulating levels of the female reproductive hormones in girls from the general population. The results were consistent across the four parabens analyzed, showing lower serum estradiol, LH and FSH with higher urinary paraben concentrations. The analysis revealed that a doubling in the sum of the four measured urinary parabens was associated with 4-5% decrease in FSH and estradiol, and a 10% decrease in LH. Ethylparaben and butylparaben were seldom detected; hence, the results for these specific substances are less reliable. A sizeable fraction of participants had undetectable levels of some hormones, but we found consistent results when analyzing endocrine outcomes as detectable/undetectable levels (i.e., girls with higher urinary parabens had smaller odds of having detectable concentrations of estradiol and LH). Our results on the higher urinary concentration of parabens in non-white study participants also point to much greater exposure levels in this group of the population. Previous studies also reported higher exposure to parabens in non-whites (Calafat et al. 2010; James-Todd et al. 2016), raising concerns for their potential role in the race-related disparities in adverse reproductive health outcomes such as infertility and pregnancy complications (James-Todd et al. 2016). Urinary concentrations of methylparaben and propylparaben were strongly correlated in our study, consistent with the fact that they are the most used parabens in combination in cosmetic products (Nowak et al. 2018). Reproductive hormones also correlated with each other, which is expected given the regulation mechanisms driving the synthesis of sex hormones and gonadotropins (Swierkowski-Blanchard and Wainer 2017).

Since this is the first study to assess the association between exposure to parabens and female reproductive hormones in girls, our findings cannot be directly compared with previous epidemiological studies. However, a few studies investigated whether exposure to parabens could be linked to pubertal development (Binder et al. 2018; Buttke et al. 2012; Harley et al. 2019; Wolff et al. 2015; Wolff et al. 2017). These studies yielded null findings, except one investigation that reported that higher urinary levels of methylparaben and propylparaben at age 9 years was associated with earlier pubertal development (Harley et al. 2019). The authors interpreted this as resulting from reverse causation, since girls further along in their sexual development might use more paraben-containing personal care products, resulting in higher urinary paraben concentrations. Although the present study used a cross-sectional design, it is difficult to explain how lower hormone levels (estradiol, FSH, LH) might cause behavioral changes leading to higher exposure to parabens. Hence, the associations reported here seem unlikely to be due to reverse causation. Unlike previous studies relying on clinical scales or questionnaires to assess the timing of puberty, we used measurement of serum hormone, which are earlier markers of puberty development since hormone levels start rising before the development of secondary sexual characteristics (Biro et al. 2014). Furthermore, hormone concentrations might be measured with greater precision than the timing of puberty, which is usually assessed using Tanner staging. This clinical assessment consists of repeated examinations performed at regular intervals (e.g., nine months), to approximate the age at which puberty milestones are attained (i.e., development of breasts and pubic hair, and menstruation) (Tanner 1986). Some imprecision is expected with Tanner staging since these milestones happen at an unknown time between two examinations.

Other epidemiological studies have assessed the relationships between exposure to parabens and reproductive hormones, but the study populations composed of pregnant women (Aker et al. 2016; Aker et al. 2019) or women seeking fertility treatments (Jurewicz et al. 2020; Smith et al. 2013) were too different from our sample of girls from the general population to allow meaningful comparison. Still, it is interesting to note that a significant inverse relationship was reported between urinary propylparaben concentrations and estradiol concentrations (as well as the number of antral follicles) in female fertility clinic patients (Jurewicz et al. 2020; Smith et al. 2013).

Our study has a number of limitations and strengths. First, misclassification of exposure might occur since parabens are rapidly metabolized in the body and only one measurement of urinary parabens was performed in this study. Second, reproductive hormone levels in post-menarcheal girls vary during the menstrual cycle (Watkins et al. 2017), which we could not take into account since our study also included pre-menarcheal girls. As for misclassification of exposure, such nondifferential errors should bias association estimates toward the null. Third, our cross-sectional study only assessed exposure at one point in time, which corresponded to a different age among study participants, whose age ranged from 6 to 17 years. Research has yet to determine whether certain developmental time windows (i.e., age), if any, are more relevant for potential paraben-induced endocrine disruption. However, the results were consistent, if somewhat attenuated, when restricting the analysis to girls with a narrower age range (i.e., 6 – 11 years). Finally, our study was based on a good sample size, approaching 400 girls, with information available for several important factors that were taken into account in the analyses to reduce the potential for confounding bias.

Several biological mechanisms might underlie an association between exposure to parabens and reproductive hormone levels. Of particular interest, *in vitro* testing revealed that parabens inhibited the activity of 17 β -HSD2, an enzyme implicated in estrogen synthesis (Engeli et al. 2017). Animal studies reported observations consistent with decreased circulating levels of sexual hormones and delayed puberty with paraben exposure. For instance, oral exposure to certain parabens was associated with a significant delay in vaginal opening as well as a decrease in serum estradiol levels in female rats in the juvenile-pubertal period (Vo et al. 2010). A recent risk assessment of parabens by the Government of Canada reviewed current evidence – mostly from animal studies – and concluded that the margins of exposure between the critical effect level and estimates of exposure to certain products are considered ‘potentially inadequate to account for uncertainties in the health effects and exposure databases’ (ECCC, HC 2020).

This is the first study to report that exposure to parabens is associated with lower levels of female reproductive hormones in girls. The associations reported here represent subclinical changes that do not constitute overt abnormalities in pubertal development. However, these findings could be important because changes in circulating hormone levels might have further repercussions on the development and functioning of the reproductive system, which might only occur later (Giulivo et al. 2016).

Conclusions

In this study, exposure to parabens was associated with lower levels of female reproductive hormones in girls and teens ages 6 to 17 years living in Canada. These findings provide some suggestive evidence for endocrine disruption from exposure to parabens. Future investigations to ascertain possible parabens-related alterations in sexual development should use a prospective design with repeated measures of urinary parabens and female reproductive hormones during development.

Authors' contribution

- Margot Guth: Prepared the dataset, did the statistical analyses, made substantial contribution to the interpretation of the data, drafted the manuscript, edited it critically for important intellectual content, approved the final version
- Tyler Pollock: Made substantial contribution to the interpretation of the data, revised and edited the manuscript critically for important intellectual content, and approved the final version
- Mandy Fisher: Made substantial contribution to the interpretation of the data, revised and edited the manuscript critically for important intellectual content, and approved the final version
- Tye E. Arbuckle: Made substantial contribution to the interpretation of the data, revised and edited the manuscript critically for important intellectual content, and approved the final version
- Maryse F. Bouchard: Had the original idea for the study (conception and design), obtained access to the data, created the statistical analysis plan, supervised analysis, edited the manuscript critically for important intellectual content, and approved the final version

Data availability

Data cannot be shared for ethical/privacy reasons: The data underlying this article cannot be shared publicly due to the privacy of individuals that participated in the study.

REFERENCES

Ahn HJ, An BS, Jung EM, Yang H, Choi KC, Jeung EB. 2012. Parabens inhibit the early phase of folliculogenesis and steroidogenesis in the ovaries of neonatal rats. *Mol Reprod Dev* 79:626-636.

Aker AM, Watkins DJ, Johns LE, Ferguson KK, Soldin OP, Anzalota Del Toro LV, et al. 2016. Phenols and parabens in relation to reproductive and thyroid hormones in pregnant women. *Environ Res* 151:30-37.

Aker AM, Ferguson KK, Rosario ZY, Mukherjee B, Alshawabkeh AN, Calafat AM, et al. 2019. A repeated measures study of phenol, paraben and triclocarban urinary biomarkers and circulating maternal hormones during gestation in the Puerto Rico PROTECT cohort. *Environ Health* 18:28.

Barr DB, Wilder LC, Caudill SP, Gonzalez AJ, Needham LL, Pirkle JL. 2005. Urinary creatinine concentrations in the u.S. Population: Implications for urinary biologic monitoring measurements. *Environ Health Perspect* 113:192-200.

Binder AM, Corvalan C, Calafat AM, Ye X, Méricq V, Pereira A, et al. 2018. Childhood and adolescent phenol and phthalate exposure and the age of menarche in latina girls. *Environ Health* 17:32.

Biro FM, Pinney SM, Huang B, Baker ER, Walt Chandler D, Dorn LD. 2014. Hormone changes in peripubertal girls. *J Clin Endocrinol Metab* 99:3829-3835.

Boberg J, Axelstad M, Svingen T, Mandrup K, Christiansen S, Vinggaard AM, et al. 2016. Multiple endocrine disrupting effects in rats perinatally exposed to butylparaben. *Toxicol Sci* 152:244-256.

Buttke DE, Sircar K, Martin C. 2012. Exposures to endocrine-disrupting chemicals and age of menarche in adolescent girls in NHANES (2003-2008). *Environ Health Perspect* 120:1613-1618.

Calafat AM, Ye X, Wong LY, Bishop AM, Needham LL. 2010. Urinary concentrations of four parabens in the u.S. Population: Nhanes 2005-2006. *Environ Health Perspect* 118:679-685.

CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2017. Parabens factsheet : National biomonitoring program. https://www.cdc.gov/biomonitoring/Parabens_FactSheet.html (accessed July 6, 2020).

Deierlein AL, Wolff MS, Pajak A, Pinney SM, Windham GC, Galvez MP, et al. 2017. Phenol concentrations during childhood and subsequent measures of adiposity among young girls. *Am J Epidemiol* 186:581-592.

Engeli RT, Rohrer SR, Vuorinen A, Herdlinger S, Kaserer T, Leugger S, et al. 2017. Interference of paraben compounds with estrogen metabolism by inhibition of 17beta-hydroxysteroid dehydrogenases. *Int J Mol Sci* 18:2007.

ECCC (Environment and Climate Change Canada and Health Canada), HC (Health Canada). Draft screening assessment - Parabens group. 2020. <https://www.canada.ca/en/environment->

climate-change/services/evaluating-existing-substances/draft-screening-assessment-parabens-group.html#toc10 (accessed July 6, 2020).

Fisher M, MacPherson S, Braun JM, Hauser R, Walker M, Feeley M, et al. 2017. Paraben concentrations in maternal urine and breast milk and its association with personal care product use. *Environ Sci Technol* 51:4009-4017.

Frederiksen H, Jensen TK, Jorgensen N, Kyhl HB, Husby S, Skakkebaek NE, et al. 2014. Human urinary excretion of non-persistent environmental chemicals: An overview of danish data collected between 2006 and 2012. *Reproduction* 147:555-565.

Fudvoye J, Lopez-Rodriguez D, Franssen D, Parent AS. 2019. Endocrine disrupters and possible contribution to pubertal changes. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 33:101300.

Giulivo M, Lopez de Alda M, Capri E, Barcelo D. 2016. Human exposure to endocrine disrupting compounds: Their role in reproductive systems, metabolic syndrome and breast cancer. A review. *Environ Res* 151:251-264.

Harley KG, Berger KP, Kogut K, Parra K, Lustig RH, Greenspan LC, et al. 2019. Association of phthalates, parabens and phenols found in personal care products with pubertal timing in girls and boys. *Hum Reprod* 34:109-117.

Health Canada. 2017. Fourth report on human biomonitoring of environmental chemicals in Canada: Results of the Canadian Health Measures Survey cycle 4 (2014-2015).

<https://www.canada.ca/en/health-canada/services/environmental-workplace-health/reports->

publications/environmental-contaminants/fourth-report-human-biomonitoring-environmental-chemicals-canada.html (accessed July 6, 2020).

IBM Corporation. 2016. IBM SPSS statistics for Windows, version 24.0. Available: ibm.com/support/pages/ibm-spss-statistics-24-documentation.

James-Todd TM, Chiu YH, Zota AR. 2016. Racial/ethnic disparities in environmental endocrine disrupting chemicals and women's reproductive health outcomes: Epidemiological examples across the life course. *Curr Epidemiol Rep* 3:161-180.

Jurewicz J, Radwan M, Wielgomas B, Karwacka A, Klimowska A, Kaluzny P, et al. 2020. Parameters of ovarian reserve in relation to urinary concentrations of parabens. *Environ Health* 19:26.

Just AC, Adibi JJ, Rundle AG, et al. 2010. Urinary and air phthalate concentrations and self-reported use of personal care products among minority pregnant women in New York city. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 20(7):625-633.

Korn EL, Graubard BI. 1991. Epidemiologic studies utilizing surveys: Accounting for the sampling design. *Am J Public Health* 81:1166-1173.

Liu W, Zhou Y, Li J, Sun X, Liu H, Jiang Y, et al. 2019. Parabens exposure in early pregnancy and gestational diabetes mellitus. *Environ Int* 126:468-475.

Nowak K, Ratajczak-Wrona W, Gorska M, Jablonska E. 2018. Parabens and their effects on the endocrine system. *Mol Cell Endocrinol* 474:238-251.

Quiros-Alcala L, Buckley JP, Boyle M. 2018. Parabens and measures of adiposity among adults and children from the u.S. General population: NHANES 2007-2014. *Int J Hyg Environ Health* 221:652-660.

Santé Publique France. 2019. Imprégnation de la population française par les parabènes. Programme national de biosurveillance, Esteban 2014-2016.

<https://www.santepubliquefrance.fr/determinants-de-sante/exposition-a-des-substances-chimiques/perturbateurs-endocriniens/documents/rapport-synthese/impregnation-de-la-population-francaise-par-les-parabenes-programme-national-de-biosurveillance-esteban-2014-2016> (accessed July 6, 2020).

Seltenrich N. 2019. Chemical exposures and pubertal timing: New evidence in a complex area. *Environ Health Perspect* 127:74003.

Smith KW, Souter I, Dimitriadis I, Ehrlich S, Williams PL, Calafat AM, et al. 2013. Urinary paraben concentrations and ovarian aging among women from a fertility center. *Environ Health Perspect* 121:1299-1305.

Statistics Canada. 2017. Canadian Health Measures Survey (CHMS) data user guide: Cycle 4.

Statistics Canada. 2018. Paraben concentrations in Canadians, 2014 and 2015.

<https://www150.statcan.gc.ca/n1/pub/82-625-x/2018001/article/54919-eng.htm> (accessed July 6, 2020).

Swierkowski-Blanchard N, Wainer R. 2017. La reproduction humaine et son contrôle hormonal. *Actualités Pharmaceutiques* 56:18-22.

Tanner JM. 1986. Normal growth and techniques of growth assessment. *Clin Endocrinol Metab* 15:411-451.

UCLA (University of California, Los Angeles). 2020. How do I interpret a regression model when some variables are log transformed? <https://stats.idre.ucla.edu/other/mult-pkg/faq/general/faqhow-do-i-interpret-a-regression-model-when-some-variables-are-log-transformed/> (accessed July 6, 2020).

van Kerkhof LW, Van Dycke KC, Jansen EH, Beekhof PK, van Oostrom CT, Ruskovska T, et al. 2015. Diurnal variation of hormonal and lipid biomarkers in a molecular epidemiology-like setting. *PLoS One* 10:e0135652.

Vo TT, Yoo YM, Choi KC, Jeung EB. 2010. Potential estrogenic effect(s) of parabens at the prepubertal stage of a postnatal female rat model. *Reprod Toxicol* 29:306-316.

Watanabe Y, Kojima H, Takeuchi S, Uramaru N, Ohta S, Kitamura S. 2013. Comparative study on transcriptional activity of 17 parabens mediated by estrogen receptor alpha and beta and androgen receptor. *Food Chem Toxicol* 57:227-234.

Watkins DJ, Sanchez BN, Tellez-Rojo MM, Lee JM, Mercado-Garcia A, Blank-Goldenberg C, et al. 2017. Phthalate and bisphenol a exposure during in utero windows of susceptibility in relation to reproductive hormones and pubertal development in girls. *Environ Res* 159:143-151.

WHO (World Health Organization). 2020. Anatomical therapeutic chemical classification

Wolff MS, Teitelbaum SL, McGovern K, Pinney SM, Windham GC, Galvez M, et al. 2015. Environmental phenols and pubertal development in girls. *Environ Int* 84:174-180.

Wolff MS, Pajak A, Pinney SM, Windham GC, Galvez M, Rybak M, et al. 2017. Associations of urinary phthalate and phenol biomarkers with menarche in a multiethnic cohort of young girls. *Reprod Toxicol* 67:56-64.

Supplementary Material

Table S1. Spearman correlations between urinary concentrations of creatinine-standardized parabens ($n = 382$).

	Ethylparaben	Methylparaben	Butylparaben	Propylparaben
Ethylparaben		0.26 **	0.55 **	0.23 **
Methylparaben	0.26 **		0.19 **	0.77 **
Butylparaben	0.55 **	0.19 **		0.20 **
Propylparaben	0.23 **	0.77 **	0.20 **	

** $p < 0.01$

Table S2. Spearman correlations between serum reproductive hormones ($n = 382$).

	Estradiol	FSH	LH	Progesterone
Estradiol		0.61 **	0.82 **	0.49 **
FSH	0.61 **		0.76 **	0.23 **
LH	0.82 **	0.76 **		0.42 **
Progesterone	0.49 **	0.23 **	0.42 **	

** $p < 0.01$

Table S3. Sensitivity analysis restricting sample to girls ages 6-11 years. Change (in %) and 95% CI in serum hormone concentrations for a doubling in urinary paraben in an analysis restricted to girls 6 to 11 years ($n = 227$), adjusting for age, BMI, season of clinic visit, household income, ethnicity, and prenatal exposure to cigarette smoke.

	% of change (95% CI)			
	Estradiol	Progesterone	FSH	LH
Methylparaben	-4.9 (-9.4, -0.2)	-0.5 (-4.8, 4.0)	-0.7 (-6.2, 5.2)	-9.7 (-18.7, 0.4)
Ethylparaben	-3.0 (-8.7, 3.0)	-1.1 (-6.4, 4.5)	0.1 (-6.8, 7.5)	-10.0 (-21.1, 2.6)
Propylparaben	-5.0 (-8.7, -1.0)	0.3 (-3.4, 4.1)	-1.6 (-6.2, 3.3)	-1.6 (-6.2, 3.3)
Butylparaben	-2.9 (-9.3, 4.1)	0.1 (-5.0, 7.7)	-3.6 (-11.1, 4.5)	-15.0 (-26.7, -1.3)
Σ Parabens	-5.9 (-10.5, -1.0)	0.1 (-4.4, 4.9)	-1.7 (-7.4, 4.3)	-10.9 (-20.2, -0.6)

Table S4. Sensitivity analysis adjusting using specific gravity for urine dilution. Change (in %) and 95% CI in serum hormone concentrations for a doubling in urinary paraben standardized for specific gravity ($n = 382$). Estimates were adjusted for age, BMI, and season of clinic visit, household income, and ethnicity.

	% of change (95% CI)			
	Estradiol	Progesterone	FSH	LH
Methylparaben	-4.2 (-7.7, -0.6)	-2.3 (-6.1, 1.5)	-2.3 (-6.0, 1.4)	-7.2 (-13.7, -0.1)
Ethylparaben	-5.5 (-9.7, -1.1)	-2.8 (-7.3, 1.9)	-4.5 (-8.9, 0.0)	-11.1 (-18.8, -2.8)
Propylparaben	-3.3 (-6.3, -0.1)	-0.6 (-3.9, 2.7)	-2.6 (-5.7, 0.6)	-2.6 (-8.6, 3.7)
Butylparaben	-4.9 (-9.4, -0.1)	-1.0 (-5.9, 4.2)	-5.3 (-9.8, -0.4)	-10.3 (-18.5, -1.2)
Σ Parabens	-5.2 (-8.8, -1.5)	-2.2 (-6.1, 1.8)	-3.3 (-7.2, 0.6)	-8.4 (-15.2, -1.1)

CHAPITRE VI. Discussion générale

À ce jour, très peu d'études épidémiologiques ont investigué le lien entre l'exposition aux parabènes et les hormones de la reproduction, et aucune étude n'a été menée chez les filles et adolescentes de la population générale. Nos résultats suggèrent que l'exposition aux parabènes était associée à une diminution des concentrations de trois hormones de la reproduction féminines, soit l'estradiol, l'hormone lutéinisante et l'hormone folliculostimulante. Ainsi, notre étude vient s'ajouter à la littérature déjà disponible, qui informe du rôle possible des parabènes dans la perturbation du système endocrinien féminin.

6.1 Rappel des principaux résultats

6.1.1 Niveau d'exposition aux parabènes

La majorité des filles et adolescentes âgées de 6 à 17 ans présentaient des niveaux décelables pour au moins un parabène. Le méthylparabène (92%) et le propylparabène (83%) étaient les parabènes les plus fréquemment détectés dans la population étudiée. Deux études récentes (Harley et al., 2019; Quiros-Alcala et al., 2018), comparables en termes d'âge de population avec notre présente étude, ont étudié le niveau d'exposition aux parabènes dans des cohortes d'enfants (âgés de 9 ans et de 6 à 19 ans, respectivement) aux États-Unis. Le méthylparabène et le propylparabène y ont été détectés chez plus de 95% des participants. L'éthylparabène a été détecté à une fréquence de 39,2 % dans la cohorte d'enfants issue de la *National Health and Nutrition Examination Survey* (Quiros-Alcala et al., 2018), tandis qu'il a été détecté à une fréquence de 32 % dans notre étude. La fréquence de détection du butylparabène (19%) identifiée dans notre étude est plus basse comparée à celle retrouvée dans l'étude de Quiros-Alcala et al. (2018) (40,0 %). L'étude de Harley et al. (2019), pour sa part, nous informe uniquement que le butylparabène a été retrouvé dans moins de 40% des échantillons.

La comparaison du niveau d'exposition aux parabènes entre différentes populations, ou en fonction de différentes caractéristiques des individus, peut être faite sur la base des concentrations retrouvées dans l'urine, qui est l'approche communément utilisée dans la littérature. Ceci permet d'obtenir une estimation sur les quantités de parabènes qui ont été absorbées par l'organisme au cours des heures précédant l'exposition. Aussi, les concentrations retrouvées pour le méthylparabène (5,4 µg/L (Quiros-Alcala et al., 2018) et 0,045 µg/g créatinine (Harley et al., 2019) (convertis dans les mêmes unités de mesure)) et le propylparabène (0,005 µg/g créatinine (Harley et al., 2019)) chez les enfants aux États-Unis sont plus faibles que celles mesurées dans notre échantillon (c-à-d., 1,85 µg/L (1,76 µg/g créatinine) de propylparabène et 11,23 µg/L (10,68 µg/g créatinine) de méthylparabène). Cependant, notre échantillon présentait une large étendue d'âge (6 à 16 ans) par rapport à la première étude (9 ans) (Harley et al., 2019). Il est très probable que le profil d'exposition diffère fortement en fonction de l'âge, et qu'il soit alors difficile de comparer les concentrations identifiées chez une fille de 9 ans à celles retrouvées chez une adolescente de 16 ans. Cette hypothèse semble d'ailleurs cohérente avec les résultats d'une autre étude, où l'exposition aux parabènes semblait augmenter avec l'âge (Santé Publique France, 2019). En plus de l'âge, la localisation géographique semble être un déterminant de l'exposition. Par exemple, l'exposition à certains parabènes était plus faible dans une étude menée en France (6-17 ans) (Santé Publique France, 2019) et au Danemark (6-20 ans) (Frederiksen et al., 2014) que dans notre étude. Nous avons mesuré des concentrations médianes de méthylparabène de 9,65 µg/L dans notre échantillon, tandis que des concentrations médianes identifiées dans l'étude française et l'étude danoise étaient de 3,10 µg/L et de 7,70 µg/L, respectivement. Il semble que les niveaux d'exposition aux parabènes soient supérieurs dans les pays Nord-Américains comparativement aux pays européens. Cela pourrait être en partie expliqué par une réglementation européenne plus stricte concernant l'usage des parabènes dans l'alimentation (Santé Publique France, 2019).

D'autres études réalisées sur des échantillons de populations différentes, nous ont permis également de comparer les niveaux d'exposition entre les filles/adolescentes et les adultes. Une étude menée aux États-Unis (Pollack et al., 2018) sur un échantillon de femmes âgées de 18 à 44 ans, présentait des concentrations de parabènes urinaires largement plus élevées en

comparaison à celles retrouvées dans notre étude, notamment concernant les concentrations de méthylparabène et le propylparabène. Cette observation reflète des niveaux d'exposition plus élevés chez les femmes adultes, pouvant probablement s'expliquer par une utilisation plus importante de produits de soins personnels et/ou cosmétiques que chez les participantes plus jeunes de notre étude. En outre, le méthylparabène et le propylparabène semblent être les parabènes les plus souvent utilisés en combinaison dans les produits cosmétiques (Nowak et al., 2018). D'autres études ont d'ailleurs souligné que le niveau de parabènes absorbés semblait augmenter avec l'utilisation de cosmétiques et de lotions (Meeker et al., 2013; Sandanger et al., 2011). En ce sens, il semble que les femmes, plus grandes consommatrices de produits cosmétiques, soient plus exposées aux parabènes que les hommes (Calafat et al., 2010). Cette observation semble également pouvoir se retrouver dans certaines études portant sur des populations plus jeunes. Une étude de cohorte danoise, chez des enfants et adolescents âgés de 5 à 20 ans, a retrouvé une différence dans les concentrations urinaires de parabènes entre les sexes, puisque les filles excrétaient des quantités significativement plus élevées de méthylparabène et de propylparabène que les garçons (Frederiksen et al., 2014).

En résumé, il semble que le niveau d'exposition aux parabènes varie considérablement en fonction de la population (âge, sexe etc.) et du pays à l'étude. Notre étude présente des données suggérant que les filles et adolescentes de la population canadienne sont sujettes à une exposition généralisée et courante aux parabènes. Ces mesures (fréquences de détection et concentrations en parabènes) sont essentielles pour étudier le lien entre les concentrations absorbées et l'effet toxique des parabènes sur l'organisme.

6.1.2 Mise en contexte de nos résultats avec la littérature épidémiologique

D'emblée, soulignons que notre étude présente des données nouvelles concernant le rôle de l'exposition aux parabènes sur les concentrations d'hormones de la reproduction et de ce fait, qu'il a été difficile de comparer directement nos résultats à ceux d'autres études épidémiologiques disponibles.

Nous n'avons pas observé d'association entre les concentrations de parabènes et les concentrations de progestérone. En période prépubère, l'ovaire ne sécrète pas de progestérone (Letombe et al., 2019). On estime, qu'entre 8 et 15 ans, les concentrations de progestérone sont multipliées par 2 ou 3 (ibid). Cette hormone, en association avec les œstrogènes, régule les fonctions de l'appareil reproducteur pendant le cycle menstruel (Health Canada, 2014d). Elle est synthétisée par le corps jaune en seconde partie du cycle menstruel chez la femme, et est responsable de la préparation du corps (utérus et seins) pour la grossesse (Holst et al., 2004). Parallèlement à nos résultats, une étude longitudinale menée sur une population de femme en âge de procréer et pré-ménopausées ayant étudié les associations entre les concentrations de parabènes – entre autres – et les concentrations d'hormones de la reproduction, n'a pas identifié de lien entre les parabènes et les concentrations de progestérone (Pollack et al., 2018).

Néanmoins, nous avons observé que des niveaux de parabène urinaires plus élevés (c.-à-d., pris individuellement et Σ parabènes) étaient généralement associés à des concentrations sériques plus faibles d'estradiol, d'hormone folliculostimulante et d'hormone lutéinisante. La plus forte diminution des taux d'hormones de la reproduction en lien avec les parabènes, a été observée pour l'hormone lutéinisante. Plusieurs autres études devront être menées pour valider ces résultats et pour comprendre les mécanismes entrant potentiellement en jeu. De plus, la signification clinique de ces résultats – s'il y en a une - reste à établir car la diminution des concentrations d'hormones de la reproduction pourrait possiblement contribuer à l'apparition de nombreuses anomalies de l'appareil reproducteur féminin, puisque son développement et son fonctionnement sont intimement liés à l'équilibre de ces concentrations hormonales (Giulivo et al., 2016). Il est cependant difficile de déterminer précisément quels seront les effets d'une diminution des hormones de la reproduction sur le système reproducteur féminin. Les concentrations hormonales sont intrinsèquement liées entre elles. En fait, il existe un phénomène de rétrocontrôle – positif et négatif – exercé en alternance par les gonades sur le complexe hypothalamo-hypophysaire (Swierkowski-Blanchard et Wainer, 2017). Ce phénomène permet aux gonades de contrôler leurs propres sécrétions, et induit une variation cyclique des concentrations des hormones sexuelles et des gonadotrophines nécessaires au fonctionnement du système reproducteur féminin (ibid.). Toutefois, on sait qu'une atteinte endocrinienne du

système reproducteur peut provoquer des dysovulations (trouble/absence d'ovulation au cours du cycle menstruel) (Swierkowski-Blanchard et Wainer, 2017). Des déséquilibres hormonaux en gonadotrophines, dans le cas d'un déficit, vont altérer le déroulement de l'ovulation. En effet, l'hormone folliculostimulante stimule le développement des follicules et l'hormone lutéinisante est en partie responsable de l'ovulation du follicule (ibid.). *A contrario*, un taux trop élevé d'hormone lutéinisante est souvent retrouvé dans le cadre du syndrome des ovaires polykystiques (Imaouen et al., 2017). D'ailleurs, les anomalies de l'ovulation font partie des principales causes de l'infertilité féminine (Swierkowski-Blanchard et Wainer, 2017). D'autres études ont identifié des liens entre certains changements dans les concentrations d'hormones et des dysfonctionnements du système reproducteur, par exemple des cycles menstruels plus courts en lien avec des concentrations plus élevées d'estradiol (Mumford et al., 2012), ou une altération de la réserve ovarienne en lien avec une augmentation de l'hormone folliculostimulante (Jurewicz et al., 2020; Smith et al., 2013). D'autre part, la réserve ovarienne est régulièrement utilisée comme marqueur de la fertilité féminine (Jurewicz et al., 2020).

Une étude précédente a rapporté que des concentrations de parabènes urinaires plus élevés étaient associées à un développement pubertaire plus précoce (Harley et al., 2019). Toutefois, ils ont nuancé leurs conclusions en expliquant que cela pourrait être interprété comme résultant d'une causalité inverse, les filles plus avancées dans leur développement sexuel pourraient utiliser plus fréquemment des produits contenant du parabène (ibid.). Dans l'hypothèse que l'exposition aux parabènes puisse (partiellement) expliquer la survenue précoce de la puberté, cela n'est pas forcément incompatible avec les résultats retrouvés dans notre étude. Chez la fille, la puberté précoce se définit comme l'apparition de caractères sexuels avant l'âge de huit ans (Brauner et al., 2005). En fait, il existe différents types de pubertés précoces, la puberté précoce centrale (c.-à-d., l'activation précoce de l'axe hypothalamo-hypophysogonadique) et la puberté précoce périphérique (c.-à-d., une apparition précoce des caractères sexuels secondaires sans augmentation de la sécrétion des gonadotrophines) (Brauner et al., 2005). L'exposition à un perturbateur endocrinien œstrogénique pourrait provoquer l'apparition d'une puberté précoce périphérique, en interagissant avec les différents tissus sensibles aux hormones sexuelles (tissu utérin, vaginal ou mammaire) (Rasier et al., 2006). Dans un même

temps, il pourrait empêcher l'activation de la puberté centrale, et donc de la stéroïdogénèse, par l'inhibition de la sécrétion des gonadotrophines (ibid.). Ainsi, seuls les signes d'une puberté précoce périphériques peuvent être observables (ibid.). Notre étude complète les connaissances disponibles concernant l'impact de l'exposition aux parabènes sur l'apparition de la puberté, en ajoutant des données biologiques (c-à-d., les concentrations des hormones de la reproduction) en lien avec les effets cliniques observables dans les autres études ayant étudié cette question.

Dans l'objectif d'investiguer le rôle potentiel des parabènes – entre autres – sur le système reproductif féminin, plusieurs études ont été menées chez des femmes au profil très différent de celui des participantes de notre étude : des femmes enceintes (Aker et al., 2019), des patientes de clinique de fertilité (Smith et al., 2013; Jurewicz et al., 2020) ou encore des étudiantes en cycle universitaire (Nishihama et al., 2016). De plus, ces études ne portaient pas sur les concentrations d'hormones circulantes, mais se sont intéressées à d'autres indicateurs en lien avec l'activité des hormones de la reproduction, comme la longueur du cycle menstruel (Nishihama et al., 2016) ou certains paramètres de la réserve ovarienne (Jurewicz et al., 2020; Smith et al., 2013). Ainsi, des concentrations urinaires de parabènes plus élevées étaient associées à un cycle menstruel plus court (Nishihama et al., 2016). Des changements dans certains paramètres de la réserve ovarienne, c'est-à-dire dans le nombre de follicules antraux et les concentrations d'estradiol ont également été observés (Smith et al., 2013; Jurewicz et al., 2020). En ce sens, ayant également observé que des niveaux de parabènes urinaires plus élevés étaient associés à des concentrations sériques plus faibles d'estradiol, nos résultats semblent cohérents.

Nos résultats semblent concorder avec certaines des observations rapportées par Aker et al. (2019) de leur étude prospective de femmes enceintes. Les parabènes urinaires étaient associés à certains niveaux d'hormones pendant la grossesse, bien que les résultats semblent dépendre du stade de la grossesse. En effet, le méthylparabène et le propylparabène étaient associés négativement à l'estriol à 16-20 semaines, puis positivement associés à l'estriol à 24-28 semaines de gestation (Aker et al. 2019). Encore une fois, la comparaison de résultats chez les femmes enceintes avec notre étude sur les jeunes filles et les adolescentes, n'est pas simple. Néanmoins, la comparaison de nos résultats à ceux de l'étude précédente, suggère qu'il existe

potentiellement des profils d'associations différents entre les parabènes et les hormones en fonction des caractéristiques et du portrait hormonal du sujet exposé. Bien qu'on puisse difficilement comparer les observations cliniques des études précédemment rapportées aux observations biologiques rapportées dans notre présente étude, de plus qui concerne des populations différentes en termes d'âge, notre étude vient tout de même s'ajouter aux évidences scientifiques qui y sont soulevées. Ces évidences scientifiques vont dans le sens d'une perturbation endocrinienne du système reproducteur féminin, se manifestant par des anomalies fonctionnelles.

6.1.3 *Mise en contexte de nos résultats avec la littérature toxicologique*

Nos résultats paraissent cohérents avec les observations d'études *in vitro* et animales sur l'effet de l'exposition aux parabènes sur les niveaux d'hormones de reproduction. Dans un essai sur des rates pré-pubères (Vo et al., 2010), les concentrations d'œstradiol ont été réduites après administration par voie orale de certains parabènes (c.-à-d. l'éthylparabène et l'isopropylparabène). Cette étude a également rapporté que l'exposition aux parabènes entraînerait un retard d'ouverture vaginale (Vo et al., 2010). Or, le système reproducteur des rates partage de nombreuses similarités avec celui des femmes (Rasier et al., 2006). L'ouverture vaginale semble être liée, dans les deux espèces, à une augmentation des œstrogènes sériques et ainsi, représente le stade initial de début de la puberté féminine (ibid.). Ceci suggère alors que l'exposition aux parabènes, par l'intermédiaire d'une diminution des concentrations d'estradiol, pourrait retarder le début de la puberté (Vo et al., 2010). Leur hypothèse étant que l'exposition aux parabènes au long terme pourrait affecter le système nerveux central et ainsi, interférer avec l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique et les niveaux d'hormones de la reproduction (Vo et al., 2010). Fait intéressant, d'autres études ont fait le lien entre anomalies dans les organes reproducteurs féminins et perturbation des sécrétions de gonadotrophines (Kato et al., 2003) et de l'ovulation (Rubin et al., 2006), ce qui va également dans le sens de conséquences délétères des parabènes sur le système reproducteur féminin. Aussi, des changements significatifs du poids ovarien par le méthylparabène (et isopropylparabène) et du poids des glandes surrénales

par le méthylparabène, l'éthylparabène et le propylparabène ont également été observés dans cet essai sur des rates pré-pubères (Vo et al., 2010). Ces deux glandes endocriniennes étant impliquées dans la stéroïdogénèse, les altérations de leurs morphologies peuvent entraîner des problèmes fonctionnels et donc participer aux effets nocifs observés sur la réactivité hormonale (Vo et al., 2010).

Aussi, les observations d'une étude *in vitro* suggèrent que le butylparabène pourrait interférer avec le transport du cholestérol vers la mitochondrie, perturbant alors la stéroïdogénèse (Taxvig et al., 2008). En effet, les stéroïdes sexuels sont issus d'une transformation enzymatique du cholestérol (Holst et al., 2004). D'ailleurs, une diminution, bien que non significative, de la production d'estradiol après exposition au butylparabène a été observée dans un test de synthèse des stéroïdes (Taxvig et al., 2008). Ces résultats apparaissent cohérents avec nos observations, sachant que les plus fortes associations entre les parabènes (pris individuellement) et les hormones ont été observées pour le butylparabène.

Autre résultat intéressant, une exposition combinée du butylparabène et du phtalate, impactant de manière significative la stéroïdogénèse ovarienne (réduction des concentrations d'estradiol) a été identifiée (Guerra et al., 2016). La diminution des concentrations sériques d'estradiol suggère alors une coupure dans le processus de maturation des follicules ovariens, contribuant ainsi au dysfonctionnement du système reproducteur féminin (ibid.). Les humains sont exposés à de nombreuses substances chimiques environnementales qui peuvent contribuer au dysfonctionnement reproducteur et certains peuvent avoir un effet additif sur l'organisme (Guerra et al., 2016).

6.2 Forces et limites de l'étude

Du fait de ses forces, cette présente étude contribue de manière originale à la littérature disponible sur le potentiel de perturbation endocrinienne des parabènes. D'abord, à notre connaissance, il s'agit de la première étude à avoir examiné les liens entre l'exposition aux parabènes et les concentrations d'hormones reproductrices féminines chez des jeunes filles et des adolescentes. Cette approche présente plusieurs avantages. Par exemple, contrairement à notre étude, plusieurs études se sont intéressées au lien entre l'exposition aux parabènes et l'amorce de la puberté, par l'utilisation de la classification clinique de Tanner. Cette classification de Tanner, permet de coter l'avancée du développement physiologique durant la puberté, en se basant notamment sur l'apparition des caractéristiques sexuelles secondaires (développement du bourgeon mammaire, apparition des poils pubien etc.). Or, l'apparition des caractères sexuels secondaires est initiée par la sécrétion des hormones lutéinisante et folliculostimulante par l'hypophyse, et suite à cela, provoquée par la sécrétion d'estradiol par les ovaires. Par conséquent, l'utilisation de concentrations d'hormones de la reproduction peut servir de biomarqueurs de la perturbation endocrinienne et ainsi, permettre d'évaluer de manière plus précoce les troubles du développement pubère que le permet l'observation clinique (Fudvoye et al., 2019).

Ensuite, la taille de notre échantillon était substantielle, avec un nombre de participantes approchant 400. Par comparaison, les autres études ayant examiné les parabènes en lien avec des résultats de santé en rapport avec des perturbations endocriniennes avaient des tailles d'échantillon beaucoup plus modestes (p.ex., n = 143 (Pollack et al., 2018), n = 128 (Nishihama et al., 2016), n = 193 (Smith et al., 2013) etc.). De plus, notre évaluation était basée sur l'exposition aux quatre parabènes les plus utilisés dans les produits, et de ce fait, représente assez bien l'exposition réelle de la population générale. En ce sens également, l'utilisation des données de biosurveillance permet la mesure de l'exposition, et ainsi évalue l'exposition aux parabènes provenant de différentes sources et voies d'exposition. Finalement, les études épidémiologiques de type observationnelle (c-à-d., de devis non expérimental) peuvent être sujettes à des biais de confusion causés par divers facteurs, qui peuvent être en fait responsable des associations observées. Or, nous avons des données sur plusieurs variables importantes qui auraient pu

introduire un biais de confusion et conséquemment, nous les avons incluses dans nos modèles d'analyses statistiques afin de contrôler leur effet potentiel.

Il y avait également plusieurs limites à la présente étude. Premièrement, les parabènes sont rapidement métabolisés par l'organisme, ce qui peut rendre un prélèvement urinaire unique insuffisant pour représenter les concentrations urinaires de parabènes à plus long terme. Néanmoins, une étude ayant examiné la variabilité intra-individuelle des concentrations urinaires de parabènes a conclu qu'ils étaient de bons biomarqueurs d'exposition (Wolff et al., 2017). En effet, le coefficient de corrélation intra-classe était de 0,31 pour trois mesures successives de parabènes (Σ parabènes) effectuées chez 309 filles sur une période de quatre ans. De plus, notre étude a évalué l'exposition à un seul moment donné chez les participantes, et comme la fourchette d'âge était relativement large (6 à 17 ans), cette exposition avait lieu à des stades du développement pubère différents. La littérature sur la perturbation endocrinienne insiste sur le fait que les contaminants environnementaux peuvent affecter différemment le moment de la mise en place de la puberté, en fonction de la période de vie et du développement durant laquelle se fait l'exposition (Parent et al., 2015). Les périodes fœtales et néonatales sont considérées essentielles à la différenciation sexuelle (ibid.) Une exposition aux perturbateurs endocriniens durant ces deux fenêtres de susceptibilité, peuvent avoir des répercussions au long terme, et notamment sur le développement pubertaire (Parent et al., 2015). Pour exemple, une exposition prénatale au triclosan (un antibactérien oestrogénique retrouvé également régulièrement dans les produits de soins personnels) a été associée à une apparition précoce des premières règles chez les filles (Harley et al., 2019). Cela dit, dans le cas des parabènes, aucune fenêtre temporelle de développement (c.-à-d., l'âge) n'a été clairement identifiée comme plus pertinente pour étudier les effets potentiels de perturbation endocrinienne. En outre, les concentrations d'hormones de la reproduction retrouvées chez les filles déjà menstruées pouvaient être influencées par la phase de leur cycle menstruel au moment du prélèvement sanguin (Watkins et al., 2017), ce qui pourrait impacter les résultats obtenus. Du fait du devis transversal de notre étude, il existait également un risque que nos résultats soient dus à un phénomène de causalité inverse, c'est-à-dire, que les filles présentant un développement pubère plus avancé et donc des concentrations d'hormones de la reproduction plus élevées, utilisent des plus grandes quantités de produits de soins personnels et autres cosmétiques, et de ce fait, soient

plus exposées. Or, nos observations suggèrent qu'une exposition plus élevée était associée à une diminution des concentrations sériques d'hormones. En ce sens, il nous semble que l'hypothèse de causalité inverse ne permet pas ici d'expliquer nos résultats.

6.3 Retombées de l'étude

Aujourd'hui, il existe peu de données sur l'évaluation du risque engendré par l'exposition aux parabènes sur la santé humaine. Or, ce sont les données issues des études épidémiologiques, qui sont les plus pertinentes pour renseigner sur le risque réel de l'exposition aux parabènes. Il subsiste encore de nombreux doutes quant à l'innocuité des parabènes, et de ce fait, des inquiétudes se font entendre, aussi bien de la communauté scientifique que de la population générale, face à l'exposition courante et répétée aux parabènes. En ce sens, les données issues de la présente étude peuvent renseigner le public général sur les risques qu'ils peuvent encourir suite à l'utilisation de certains produits contenant des parabènes et ainsi, les aider à faire des choix de consommation éclairés. En outre, nos données peuvent être utiles dans les processus d'évaluation de risques pour les décideurs de la santé publique. D'ailleurs, en mars 2020, Santé Canada et environnement et Changement climatique Canada ont publié un rapport d'évaluation préalable sur les parabènes dans le cadre du Plan de gestion des produits chimiques de 2006. Ainsi, trois des parabènes étudiés dans ce travail de recherche, à savoir le méthylparabène, le propylparabène, le butylparabène et un autre parabène (c.-à-d., l'isobutylparabène) ont été classés comme agents pouvant nuire à la santé humaine, se manifestant – entre autres – par des répercussions sur le développement et/ou la reproduction (Gouvernement du Canada, 2020). Ainsi, nos résultats pourraient participer à la prise de décision finale de Santé Canada, en ajoutant un argument en faveur de la limitation et/ou de l'interdiction de l'usage des parabènes dans certains produits d'utilisation courante.

CHAPITRE VII. Conclusion

Les parabènes sont des substances présentes dans plusieurs produits d'usage courant et la vaste majorité de la population canadienne y est donc exposée. Certaines données, très partielles, ont suggéré que ces produits puissent agir sur le système endocrinien. Néanmoins, très peu d'études ont été menées chez l'humain pour vérifier cette hypothèse. Notre recherche avait pour objectif d'étudier l'association entre les concentrations urinaires des parabènes et les concentrations d'hormones féminines. Pour ce faire, nous avons utilisé une étude transversale au moyen des données d'une grande enquête populationnelle menée au Canada. Nos résultats supportent l'hypothèse qu'il puisse y avoir une perturbation endocrinienne due à l'exposition aux parabènes chez les filles et les adolescentes de 6 à 17 ans. En effet, une augmentation de deux fois l'exposition aux parabènes était associée à une diminution d'environ 4-5 % des concentrations d'estradiol et d'hormone folliculostimulante, ainsi qu'à une diminution de 10 % de l'hormone lutéinisante. Cependant, du fait de son devis transversal, il est impossible de conclure uniquement sur la base de notre étude s'il existe un lien de causalité entre l'exposition aux parabènes et la diminution des concentrations d'hormones de la reproduction. De plus, les implications cliniques, s'il y en a, sont également complexes à définir. Néanmoins, une régulation précise de ces hormones est nécessaire pour assurer le fonctionnement normal des différents processus physiologiques. Le système hormonal est complexe, et une perturbation de celui-ci par des substances pourrait avoir des conséquences sur le long terme, comme des troubles de la fertilité ou l'apparition d'autres problèmes de santé hormono-dépendants par exemple. Ainsi, d'autres études épidémiologiques devront être menées en vue de déterminer au mieux, si et comment, les parabènes agissent sur les concentrations circulantes d'hormones de la reproduction chez les filles et les adolescentes. Les études futures devraient utiliser un devis longitudinal, permettant des mesures répétées de l'exposition aux parabènes et des fonctions endocriniennes tout au long du développement.

Bibliographie

- Abbas, S., Greige-Gerges, H., Karam, N., Piet, M. H., Netter, P. et Magdalou, J. (2010). Metabolism of parabens (4-hydroxybenzoic acid esters) by hepatic esterases and UDP-glucuronosyltransferases in man. *Drug Metab Pharmacokinet*, 25(6), 568-577. doi: 10.2133/dmpk.dmpk-10-rg-013
- Adamo, C., Antignac, J., Auger, J., Balaguer, P., Bourc'his, D., Bujan, L., . . . Slama, R. (2011). *Reproduction et environnement (Les éditions Inserm^e éd., p. 735 pages)*. Paris: Institut national de la santé et de la recherche médicale.
- Ahn, H. J., An, B. S., Jung, E. M., Yang, H., Choi, K. C. et Jeung, E. B. (2012). Parabens inhibit the early phase of folliculogenesis and steroidogenesis in the ovaries of neonatal rats. *Mol Reprod Dev*, 79(9), 626-636. doi: 10.1002/mrd.22070
- Aker, A. M., Ferguson, K. K., Rosario, Z. Y., Mukherjee, B., Alshawabkeh, A. N., Calafat, A. M., . . . Meeker, J. D. (2019). A repeated measures study of phenol, paraben and Triclocarban urinary biomarkers and circulating maternal hormones during gestation in the Puerto Rico PROTECT cohort. *Environ Health*, 18(1), 28. doi: 10.1186/s12940-019-0459-5
- Aker, A. M., Watkins, D. J., Johns, L. E., Ferguson, K. K., Soldin, O. P., Anzalota Del Toro, L. V., . . . Meeker, J. D. (2016). Phenols and parabens in relation to reproductive and thyroid hormones in pregnant women. *Environ Res*, 151, 30-37. doi: 10.1016/j.envres.2016.07.002
- Alslev, B., Korsgaard, B. et Bjerregaard, P. (2005). Estrogenicity of butylparaben in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* exposed via food and water. *Aquat Toxicol*, 72(4), 295-304. doi: 10.1016/j.aquatox.2005.01.005

- Aubert, N., Ameller, T. et Legrand, J. J. (2012). Systemic exposure to parabens: pharmacokinetics, tissue distribution, excretion balance and plasma metabolites of [14C]-methyl-, propyl-and butylparaben in rats after oral, topical or subcutaneous administration. *Food Chem Toxicol*, 50(3-4), 445-454. doi: 10.1016/j.fct.2011.12.045
- Aylward, L. L., Hays, S. M., et Zidek, A. (2017). Variation in urinary spot sample, 24 h samples, and longer-term average urinary concentrations of short-lived environmental chemicals : Implications for exposure assessment and reverse dosimetry. *J Expo Sci Environ Epidemiol*, 27(6), 582-590. doi: 10.1038/jes.2016.54
- Barr, D. B., Wilder, L. C., Caudill, S. P., Gonzalez, A. J., Needham, L. L. et Pirkle, J. L. (2005). Urinary creatinine concentrations in the U.S. population: implications for urinary biologic monitoring measurements. *Environ Health Perspect*, 113(2), 192-200. doi: 10.1289/ehp.7337
- Bartke, A. et Constanti, A. (2003). *Basic Endocrinology: For Students of Pharmacy and Allied Health*. (2^e éd.). Londres: CRC Press.
- Beszterda, M. et Franski, R. (2018). Endocrine disruptor compounds in environment: As a danger for children health. *Pediatr Endocrinol Diabetes Metab*, 24(2), 88-95. doi: 10.18544/PEDM-24.02.0107
- Bidet, D., Gagnault, J. C., Perronnet, J. et Philibert, D. (2020, 31/03/2020). STÉROÏDES. Repéré le 06 mars 2020 à <http://www.universalis.fr/encyclopedie/steroides/>
- Bjørnerem, Å., Straume, B., Øian, P., et Berntsen, G. K. R. (2006). Seasonal Variation of Estradiol, Follicle Stimulating Hormone, and Dehydroepiandrosterone Sulfate in Women and Men. *J Clin Endocrinol Metab*, 91(10), 3798-3802. doi: 10.1210/jc.2006-0866
- Bledzka, D., Gromadzinska, J. et Wasowicz, W. (2014). Parabens. From environmental studies to human health. *Environ Int*, 67, 27-42. doi: 10.1016/j.envint.2014.02.007

- Boberg, J., Axelstad, M., Svingen, T., Mandrup, K., Christiansen, S., Vinggaard, A. M. et Hass, U. (2016). Multiple Endocrine Disrupting Effects in Rats Perinatally Exposed to Butylparaben. *Toxicol Sci*, 152(1), 244-256. doi: 10.1093/toxsci/kfw079
- Boberg, J., Taxvig, C., Christiansen, S. et Hass, U. (2010). Possible endocrine disrupting effects of parabens and their metabolites. *Reprod Toxicol*, 30(2), 301-312. doi: 10.1016/j.reprotox.2010.03.011
- Bois, F. Y. (2013). Modélisation de la perturbation de la synthèse des hormones ovariennes par les produits chimiques chez les mammifères (p. 32-33). Verneuil-en-Halatte: Institut national de l'environnement industriel et des risques
- Braithwaite, Dejana, Dan H. Moore, Robert H. Lustig, Elissa S. Epel, Ken K. Ong, David H. Rehkopf, May C. Wang, Suzanne M. Miller, et Robert A. Hiatt. 2009. « Socioeconomic Status in Relation to Early Menarche among Black and White Girls ». *Cancer Cause Control* 20(5):713-20. doi: 10.1007/s10552-008-9284-9
- Brauner, R., Couto-Silva, A.-C., Chemaitilly, W., Adan, L. et Trivin, C. (2005). Pubertés précoces centrales des filles: prédiction de l'étiologie. *Arch. pédiatrie*, 12(11), 1661-1664. doi: 10.1016/j.arcped.2005.09.003
- Buttke, D. E., Sircar, K. et Martin, C. (2012). Exposures to endocrine-disrupting chemicals and age of menarche in adolescent girls in NHANES (2003-2008). *Environ Health Perspect*, 120(11), 1613-1618. doi: 10.1289/ehp.1104748
- Calafat, A. M., Ye, X., Wong, L. Y., Bishop, A. M. et Needham, L. L. (2010). Urinary concentrations of four parabens in the U.S. population: NHANES 2005-2006. *Environ Health Perspect*, 118(5), 679-685. doi: 10.1289/ehp.0901560
- Cashman, A. L. et Warshaw, E. M. (2005). Parabens: a review of epidemiology, structure, allergenicity, and hormonal properties. *Dermatitis*, 16(2), 57-66; quiz 55-56.

- Centers for Disease Control and Prevention. (2017, April 7a). National Biomonitoring Program: Parabens factsheet . Repéré le 4 Février 2020 à https://www.cdc.gov/biomonitoring/Parabens_BiomonitoringSummary.html
- Chapin, R. E., Stevens, J. T., Hughes, C. L., Kelce, W. R., Hess, R. A. et Daston, G. P. (1996). Endocrine modulation of reproduction. *Fundam Appl Toxicol*, 29(1), 1-17. doi: 10.1006/faat.1996.0001
- Cicolella, A. (2018). Santé environnementale et maladies chroniques, le coût de l'inaction. *L'Economie politique*, 4(80), 17-29. doi: 10.3917/leco.080.0017.
- Colborn, T., Vom Saal, F. S. et Soto, A. M. (1993). Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environ Health Perspect*, 101(5), 378-384. doi: 10.1289/ehp.93101378
- Correia, K. F., Dodge, L. E., Farland, L. V., Hacker, M. R., Ginsburg, E., Whitcomb, B. W., Wise, L. A., & Missmer, S. A. (2020). Confounding and effect measure modification in reproductive medicine research. *Hum Reprod* (Oxford, England), 35(5), 1013-1018. doi: 10.1093/humrep/deaa051
- Couse, J. F. et Korach, K. S. (1999). Estrogen receptor null mice: what have we learned and where will they lead us? *Endocr. Rev.*, 20(3), 358-417. doi: 10.1210/edrv.20.3.0370
- Danish Ministry of the Environment EPA. (2013). Survey of parabens *Part of the LOUS-review* (Dorthe Nørgaard Andersen and Poul Bo Larsen DHI° éd.). Copenhagen K, Denmark: Environmental Project No. 1474, 2013.
- Darbre, P. D., Aljarrah, A., Miller, W. R., Coldham, N. G., Sauer, M. J. et Pope, G. S. (2004). Concentrations of parabens in human breast tumours. *J Appl Toxicol*, 24(1), 5-13. doi: 10.1002/jat.958

- Darbre, P. D. et Harvey, P. W. (2008). Paraben esters: review of recent studies of endocrine toxicity, absorption, esterase and human exposure, and discussion of potential human health risks. *J Appl Toxicol*, 28(5), 561-578. doi: 10.1002/jat.1358
- Deierlein, A. L., Wolff, M. S., Pajak, A., Pinney, S. M., Windham, G. C., Galvez, M. P., . . . Teitelbaum, S. L. (2017). Phenol Concentrations During Childhood and Subsequent Measures of Adiposity Among Young Girls. *Am J Epidemiol*, 186(5), 581-592. doi: 10.1093/aje/kwx136
- Diamanti-Kandarakis, E., Bourguignon, J. P., Giudice, L. C., Hauser, R., Prins, G. S., Soto, A. M., . . . Gore, A. C. (2009). Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement. *Endocr Rev*, 30(4), 293-342. doi: 10.1210/er.2009-0002
- Ellison, P. T. (2003). *On fertile ground: A natural history of human reproduction*. Harvard University Press.
- Engeli, R. T., Rohrer, S. R., Vuorinen, A., Herdinger, S., Kaserer, T., Leugger, S., . . . Odermatt, A. (2017). Interference of Paraben Compounds with Estrogen Metabolism by Inhibition of 17beta-Hydroxysteroid Dehydrogenases. *Int J Mol Sci*, 18(9). doi: 10.3390/ijms18092007
- Fan, X., Kubwabo, C., Rasmussen, P. et Jones-Otazo, H. (2010). Simultaneous quantitation of parabens, triclosan, and methyl triclosan in indoor house dust using solid phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J. Environ. Monit.*, 12(10), 1891-1897. doi: 10.1039/c0em00189a
- Ferreira, A. M. C., Möder, M. et Laespada, M. E. F. (2011). GC-MS determination of parabens, triclosan and methyl triclosan in water by in situ derivatisation and stir-bar sorptive extraction. *Anal. Bioanal. Chem.*, 399(2), 945-953. doi: 10.1007/s00216-010-4339-7
- Fisher, B. G., Thankamony, A., Mendiola, J., Petry, C. J., Frederiksen, H., Andersson, A. M., Juul, A., Ong, K. K., Dunger, D. B., Hughes, I. A., et Acerini, C. L. (2020). Maternal

serum concentrations of bisphenol A and propyl paraben in early pregnancy are associated with male infant genital development. *Hum. Reprod.*, 35(4), 913-928. doi: 10.1093/humrep/deaa045

Fransway, A. F., Fransway, P. J., Belsito, D. V., Warshaw, E. M., Sasseville, D., Fowler, J. F., Jr., . . . Reeder, M. J. (2019). Parabens. *Dermatitis*, 30(1), 3-31. doi: 10.1097/DER.0000000000000429

Frederiksen, H., Jensen, T. K., Jorgensen, N., Kyhl, H. B., Husby, S., Skakkebaek, N. E., . . . Andersson, A. M. (2014). Human urinary excretion of non-persistent environmental chemicals: an overview of Danish data collected between 2006 and 2012. *Reproduction*, 147(4), 555-565. doi: 10.1530/REP-13-0522

Fudvoye, J., Lopez-Rodriguez, D., Franssen, D. et Parent, A. S. (2019). Endocrine disrupters and possible contribution to pubertal changes. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 33(3), 101300. doi: 10.1016/j.beem.2019.101300

Giulivo, M., Lopez de Alda, M., Capri, E. et Barcelo, D. (2016). Human exposure to endocrine disrupting compounds: Their role in reproductive systems, metabolic syndrome and breast cancer. A review. *Environ Res*, 151, 251-264. doi: 10.1016/j.envres.2016.07.011

Gore, A. C., Crews, D., Doan, L. L., La Merrill, M., Patisaul, H. et Zota, A. (2014). Introduction to endocrine disrupting chemicals (EDCs): A guide for public interest organizations and policy-makers (p. 69): Endocrine Society and IPEN.

Gouvernement du Canada. (2019, 23 août). Innocuité des ingrédients cosmétiques. Repéré le 01 Avril 2020 à <https://www.canada.ca/fr/sante-canada/services/securite-produits-consommation/cosmetiques/etiquetage/inocuite-ingredients.html#a5>

Gouvernement du Canada. (2020, 14 mars). Loi canadienne sur la protection de l'environnement (1999): Avis du Gouvernement. *Gazette du Canada. Partie I*, 154(11).

- Greenspan, L. C. et Lee, M. M. (2018). Endocrine disruptors and pubertal timing. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 25(1), 49-54. doi: 10.1097/MED.0000000000000377
- Guerra, M. T., Furlong, H. C., Kempinas, W. G. et Foster, W. G. (2016). Effects of in vitro exposure to butylparaben and di-(2 ethylhexyl) phthalate, alone or in combination, on ovarian function. *J Appl Toxicol*, 36(9), 1235-1245. doi: 10.1002/jat.3335
- Guerra, M. T., Sanabria, M., Cagliarani, S. V., Leite, G. A., Borges, C. D. et De Grava Kempinas, W. (2017). Long-term effects of in utero and lactational exposure to butyl paraben in female rats. *Environ Toxicol*, 32(3), 776-788. doi: 10.1002/tox.22277
- HAMPL, R., Kubatova, J. et Starka, L. (2016). Steroids and endocrine disruptors--History, recent state of art and open questions. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 155(Pt B), 217-223. doi: 10.1016/j.jsbmb.2014.04.013
- Harley, K. G., Berger, K. P., Kogut, K., Parra, K., Lustig, R. H., Greenspan, L. C., . . . Eskenazi, B. (2019). Association of phthalates, parabens and phenols found in personal care products with pubertal timing in girls and boys. *Hum Reprod*, 34(1), 109-117. doi: 10.1093/humrep/dey337
- Harley, K. G., Kogut, K., Madrigal, D. S., Cardenas, M., Vera, I. A., Meza-Alfaro, G., . . . Parra, K. L. (2016). Reducing Phthalate, Paraben, and Phenol Exposure from Personal Care Products in Adolescent Girls: Findings from the HERMOSA Intervention Study. *Environ Health Perspect*, 124(10), 1600-1607. doi: 10.1289/ehp.1510514
- Health Canada. (2014a). CHMS reference laboratory analytical procedure manual for estradiol in serum on AVIDA Centaur XP (CHMS.E2-XP.V2).
- Health Canada. (2014b). CHMS reference laboratory analytical procedure manual for follicle-stimulating hormone in serum on AVIDA Centaur XP (CHMS.FSH-XP.V2).
- Health Canada. (2014c). CHMS reference laboratory analytical procedure manual for luteinizing hormone in serum on AVIDA Centaur XP (CHMS.LH-XP.V2).

- Health Canada. (2014d). CHMS reference laboratory analytical procedure manual for progesterone in serum on AVIDA Centaur XP (CHMS.PRGE-XP.V2).
- Holst, J. P., Soldin, O. P., Guo, T. et Soldin, S. J. (2004). Steroid hormones: relevance and measurement in the clinical laboratory. *Clin Lab Med*, 24(1), 105-118. doi: 10.1016/j.cll.2004.01.004
- Honda, M., Robinson, M. et Kannan, K. (2018). Parabens in human urine from several Asian countries, Greece, and the United States. *Chemosphere*, 201, 13-19. doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.02.165
- IBM Corporation. (2016) IBM SPSS Statistics for Windows. (Version 24.0). Armonk, NY: IBM Corp. Repéré à <https://www.ibm.com/support/pages/downloading-ibm-spss-amos-24>
- Ihde, E. S., Loh, J. M. et Rosen, L. (2015). Association of environmental chemicals & estrogen metabolites in children. *BMC Endocr Disord*, 15, 83. doi: 10.1186/s12902-015-0079-1
- Imaouen, M., Hassani, F. A. et El Ouahabi, H. (2017). *Le syndrome des ovaires polykystiques (SOPK): caractéristiques cliniques, hormonales et métaboliques (à propos de 63 cas)*. Communication présentée Ann Endocrinol, Poitiers.
- Institut National de Santé Publique. (2008). Analytical method for the determination of urine creatinine on Hitachi 917 (C-530), condensed version for the CHMS. Québec, QC: Laboratoire de toxicologie
- International Programme on Chemical Safety. (2002). Global assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors. Geneva: World Health Organization, the International Labour Organisation and the United Nations Environment Programme.

- Jacobson-Dickman, E. et Lee, M. M. (2009). The influence of endocrine disruptors on pubertal timing. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 16(1), 25-30. doi: 10.1097/med.0b013e328320d560
- Janjua, N. R., Frederiksen, H., Skakkebaek, N. E., Wulf, H. C. et Andersson, A. M. (2008). Urinary excretion of phthalates and paraben after repeated whole-body topical application in humans. *Int J Androl*, 31(2), 118-130. doi: 10.1111/j.1365-2605.2007.00841.x
- Janjua, N. R., Mortensen, G. K., Andersson, A. M., Kongshoj, B., Skakkebaek, N. E. et Wulf, H. C. (2007). Systemic uptake of diethyl phthalate, dibutyl phthalate, and butyl paraben following whole-body topical application and reproductive and thyroid hormone levels in humans. *Environ Sci Technol*, 41(15), 5564-5570. doi: 10.1021/es0628755
- Jeffrey, A. M. et Williams, G. M. (2004). The paper by Darbre et al. (2004) reports the measurement of parabens in 20 human breast tumors. *J Appl Toxicol*, 24(4), 301-303; author reply 303-304; discussion 307-310. doi: 10.1002/jat.987
- Jurewicz, J., Radwan, M., Wielgomas, B., Karwacka, A., Klimowska, A., Kaluzny, P., . . . Hanke, W. (2020). Parameters of ovarian reserve in relation to urinary concentrations of parabens. *Environ Health*, 19(1), 26. doi: 10.1186/s12940-020-00580-3
- Jurewicz, J., Radwan, M., Wielgomas, B., Klimowska, A., Kałużny, P., Radwan, P., Jakubowski, L., & Hanke, W. (2017). Environmental exposure to parabens and sperm chromosome disomy. *Int J Environ Health Res*, 27(5), 332-343 .doi: 10.1080/09603123.2017.1339784
- Kang, H. S., Kyung, M. S., Ko, A., Park, J. H., Hwang, M. S., Kwon, J. E., . . . Hwang, I. G. (2016). Urinary concentrations of parabens and their association with demographic factors: A population-based cross-sectional study. *Environ Res*, 146, 245-251. doi: 10.1016/j.envres.2015.12.032

- Kang, K. S., Che, J. H., Ryu, D. Y., Kim, T. W., Li, G. X. et Lee, Y. S. (2002). Decreased sperm number and motile activity on the F1 offspring maternally exposed to butyl p-hydroxybenzoic acid (butyl paraben). *J Vet Med Sci*, 64(3), 227-235. doi: 10.1292/jvms.64.227
- Kasprzyk-Hordern, B., Dinsdale, R. M. et Guwy, A. J. (2008). The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs in surface water in South Wales, UK. *Water Res*, 42(13), 3498-3518. doi: 10.1016/j.watres.2008.04.026
- Kato, H., Ota, T., Furuhashi, T., Ohta, Y. et Iguchi, T. (2003). Changes in reproductive organs of female rats treated with bisphenol A during the neonatal period. *Reprod Toxicol*, 17(3), 283-288. doi: 10.1016/s0890-6238(03)00002-9
- Klein, C. E. (2003). *The Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis (Holland-Frei Cancer Medicine)*. Hamilton (ON): Decker Periodicals Publ Incorporated.
- Korn, E. L. et Graubard, B. I. (1991). Epidemiologic studies utilizing surveys: accounting for the sampling design. *Am J Public Health*, 81(9), 1166-1173. doi: 10.2105/ajph.81.9.1166
- Lemini, C., Hernandez, A., Jaimez, R., Franco, Y., Avila, M. E. et Castell, A. (2004). Morphometric analysis of mice uteri treated with the preservatives methyl, ethyl, propyl, and butylparaben. *Toxicol Ind Health*, 20(6-10), 123-132. doi: 10.1191/0748233704th202oa
- Lemini, C., Jaimez, R., Avila, M. E., Franco, Y., Larrea, F. et Lemus, A. E. (2003). In vivo and in vitro estrogen bioactivities of alkyl parabens. *Toxicol Ind Health*, 19(2-6), 69-79. doi: 10.1191/0748233703th177oa
- Letombe, B., Catteau-Jonard, S. et Robin, G. (2019). *Endocrinologie en gynécologie et obstétrique*. Elsevier Health Sciences.

- Liebert, M. A. (1984). Final Report on the Safety Assessment of Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben, and Butylparaben. *J Am Coll Toxicol*, 3(5), 63.
- Liu, W., Zhou, Y., Li, J., Sun, X., Liu, H., Jiang, Y., . . . Xu, S. (2019). Parabens exposure in early pregnancy and gestational diabetes mellitus. *Environ Int*, 126, 468-475. doi: 10.1016/j.envint.2019.02.040
- Luderer, U., Eskenazi, B., Hauser, R., Korach, K. S., McHale, C. M., Moran, F., . . . Zhang, L. (2019). Proposed key characteristics of female reproductive toxicants as an approach for organizing and evaluating mechanistic data in hazard assessment. *Environ Health Perspect*, 127(7), 075001. doi: 10.1289/EHP4971
- Mauduit, C., Florin, A., Amara, S., Bozec, A., Siddeek, B., Cunha, S., Meunier, L., Selva, J., Albert, M., Vialard, F., Bailly, M., et Benahmed, M. (2006). Effets à long terme des perturbateurs endocriniens environnementaux sur la fertilité masculine. *Gynécol Obstét & Ferti*, 34(10), 978-984. doi 10.1016/j.gyobfe.2006.08.010
- Mantovani, A. et Fucic, A. (2014). Puberty dysregulation and increased risk of disease in adult life: possible modes of action. *Reprod Toxicol*, 44, 15-22. doi: 10.1016/j.reprotox.2013.06.002
- Meeker, J. D., Cantonwine, D. E., Rivera-Gonzalez, L. O., Ferguson, K. K., Mukherjee, B., Calafat, A. M., . . . Cordero, J. F. (2013). Distribution, variability, and predictors of urinary concentrations of phenols and parabens among pregnant women in Puerto Rico. *Environ Sci Technol*, 47(7), 3439-3447. doi: 10.1021/es400510g
- Meeker, J. D., Yang, T., Ye, X., Calafat, A. M., et Hauser, R. (2011). Urinary concentrations of parabens and serum hormone levels, semen quality parameters, and sperm DNA damage. *Environ Health Perspect*, 119(2), 252-257. doi: 10.1289/ehp.1002238

- Mikula, P., Dobsikova, R., Svobodova, Z. et Jarkovsky, J. (2006). Evaluation of xenoestrogenic potential of propylparaben in zebrafish (*Danio rerio*). *Neuro Endocrinol Lett*, 27 104-107. doi: 10.1016/j.toxlet.2006.07.011
- Mikula, P., Kružiková, K., Dobšíková, R., Haruštiaková, D. et Svobodová, Z. (2009). Influence of propylparaben on vitellogenesis and sex ratio in juvenile zebrafish (*Danio rerio*). *Acta. Vet. Brno.*, 78(2), 319-326. doi: 10.2754/avb200978020319
- Moreta, C., Tena, M. T. et Kannan, K. (2015). Analytical method for the determination and a survey of parabens and their derivatives in pharmaceuticals. *Environ Res*, 142, 452-460. doi: 10.1016/j.envres.2015.07.014
- Mouritsen, A., Aksglaede, L., Sorensen, K., Mogensen, S. S., Leffers, H., Main, K. M., . . . Juul, A. (2010). Hypothesis: exposure to endocrine-disrupting chemicals may interfere with timing of puberty. *Int J Androl*, 33(2), 346-359. doi: 10.1111/j.1365-2605.2010.01051.x
- Multigner, L. et Kadhel, P. (2008). Perturbateurs endocriniens, concepts et réalité. *Archives des Maladies Professionnelles et de l'Environnement*, 69(5), 710-717. doi: 10.1016/j.admp.2008.09.004
- Mumford, S. L., Steiner, A. Z., Pollack, A. Z., Perkins, N. J., Filiberto, A. C., Albert, P. S., . . . Schisterman, E. F. (2012). The utility of menstrual cycle length as an indicator of cumulative hormonal exposure. *J Clin Endocrinol Metab*, 97(10), E1871-1879. doi: 10.1210/jc.2012-1350
- Nishihama, Y., Yoshinaga, J., Iida, A., Konishi, S., Imai, H., Yoneyama, M., . . . Shiraishi, H. (2016). Association between paraben exposure and menstrual cycle in female university students in Japan. *Reprod Toxicol*, 63, 107-113. doi: 10.1016/j.reprotox.2016.05.010
- Nishihama, Y., Toshima, H., Yoshinaga, J., Mizumoto, Y., Yoneyama, M., Nakajima, D., Shiraishi, H., et Tokuoka, S. (2017). Paraben exposure and semen quality of Japanese

male partners of subfertile couples. *Environ Health Prev*, 22(1), 5.

doi:10.1186/s12199-017-0618-7

Nowak, K., Ratajczak-Wrona, W., Gorska, M. et Jablonska, E. (2018). Parabens and their effects on the endocrine system. *Mol Cell Endocrinol*, 474, 238-251. doi:

10.1016/j.mce.2018.03.014

Oishi, S. (2001). Effects of butylparaben on the male reproductive system in rats. *Toxicol Ind Health*, 17(1), 31-39. doi: 10.1191/0748233701th093oa

Oishi, S. (2002a). Effects of propyl paraben on the male reproductive system. *Food Chem Toxicol*, 40(12), 1807-1813. doi: 10.1016/S0278-6915(02)00204-1

Oishi, S. (2002b). Effects of butyl paraben on the male reproductive system in mice. *Arch Toxicol*, 76(7), 423-429. doi: 10.1007/s00204-002-0360-8

Ozaki, H., Sugihara, K., Watanabe, Y., Fujino, C., Uramaru, N., Sone, T., . . . Kitamura, S. (2013). Comparative study of the hydrolytic metabolism of methyl-, ethyl-, propyl-, butyl-, heptyl- and dodecylparaben by microsomes of various rat and human tissues. *Xenobiotica*, 43(12), 1064-1072. doi: 10.3109/00498254.2013.802059

Parent, A. S., Franssen, D., Fudvoye, J., Gerard, A. et Bourguignon, J. P. (2015).

Developmental variations in environmental influences including endocrine disruptors on pubertal timing and neuroendocrine control: Revision of human observations and mechanistic insight from rodents. *Front Neuroendocrinol*, 38, 12-36. doi:

10.1016/j.yfrne.2014.12.004

Pažoureková, S., Hojerová, J., Klimová, Z. et Lucová, M. (2013). Dermal absorption and hydrolysis of methylparaben in different vehicles through intact and damaged skin: using a pig-ear model in vitro. *Food Chem Toxicol*, 59, 754-765. doi:

10.1016/j.fct.2013.07.025

- Pollack, A. Z., Mumford, S. L., Krall, J. R., Carmichael, A. E., Sjaarda, L. A., Perkins, N. J., . . . Schisterman, E. F. (2018). Exposure to bisphenol A, chlorophenols, benzophenones, and parabens in relation to reproductive hormones in healthy women: A chemical mixture approach. *Environ Int*, *120*, 137-144. doi: 10.1016/j.envint.2018.07.028
- Prusakiewicz, J. J., Harville, H. M., Zhang, Y., Ackermann, C. et Voorman, R. L. (2007). Parabens inhibit human skin estrogen sulfotransferase activity: possible link to paraben estrogenic effects. *Toxicology*, *232*(3), 248-256. doi: 10.1016/j.tox.2007.01.010
- Quiros-Alcala, L., Buckley, J. P. et Boyle, M. (2018). Parabens and measures of adiposity among adults and children from the U.S. general population: NHANES 2007-2014. *Int J Hyg Environ Health*, *221*(4), 652-660. doi: 10.1016/j.ijheh.2018.03.006
- Ramaswamy, B. R., Shanmugam, G., Velu, G., Rengarajan, B. et Larsson, D. G. (2011). GC-MS analysis and ecotoxicological risk assessment of triclosan, carbamazepine and parabens in Indian rivers. *J Hazard Mater*, *186*(2-3), 1586-1593. doi: 10.1016/j.jhazmat.2010.12.037
- Rasier, G., Toppari, J., Parent, A. S. et Bourguignon, J. P. (2006). Female sexual maturation and reproduction after prepubertal exposure to estrogens and endocrine disrupting chemicals: a review of rodent and human data. *Mol Cell Endocrinol*, *254-255*, 187-201. doi: 10.1016/j.mce.2006.04.002
- Renz, L., Volz, C., Michanowicz, D., Ferrar, K., Christian, C., Lenzner, D. et El-Hefnawy, T. (2013). A study of parabens and bisphenol A in surface water and fish brain tissue from the Greater Pittsburgh Area. *Ecotoxicology*, *22*(4), 632-641. doi: 10.1007/s10646-013-1054-0
- Routledge, E. J., Parker, J., Odum, J., Ashby, J. et Sumpter, J. P. (1998). Some alkyl hydroxy benzoate preservatives (parabens) are estrogenic. *Toxicol Appl Pharmacol*, *153*(1), 12-19. doi: 10.1006/taap.1998.8544

- Rubin, B. S., Lenkowski, J. R., Schaeberle, C. M., Vandenberg, L. N., Ronsheim, P. M. et Soto, A. M. (2006). Evidence of altered brain sexual differentiation in mice exposed perinatally to low, environmentally relevant levels of bisphenol A. *Endocrinology*, *147*(8), 3681-3691. doi: 10.1210/en.2006-0189
- Sabalitschka, T. (1930). Application of ethyl p-hydroxybenzoate in maintenance of sterility, in sterilization and in disinfection. *Arch. Pharm.*, *268*, 653-673. doi: 10.1002/ardp.19302680905
- Sandanger, T. M., Huber, S., Moe, M. K., Braathen, T., Leknes, H., Lund, E. J. J. o. E. S. et Epidemiology, E. (2011). Plasma concentrations of parabens in postmenopausal women and self-reported use of personal care products: the NOWAC postgenome study. *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology*, *21*(6), 595-600. doi: 10.1038/jes.2011.22
- Santé Canada. (2017). Quatrième rapport sur la biosurveillance humaine des substances chimiques de l'environnement au Canada: Résultats de l'Enquête canadienne sur les mesures de la santé Cycle 4 (2014 à 2015). Ottawa (Ont).
- Santé Canada. (2020, 13 Mars). Parabènes. Repéré le 4 avril 2020 à <https://www.canada.ca/fr/sante-canada/nouvelles/2020/03/parabenes.html>
- Santé Publique France. (2019). Imprégnation de la population française par les parabènes: Programme national de biosurveillance, Esteban 2014-2016. Dans S. Environnement (dir.), (p. 41). Saint-Maurice.
- Sasseville, D., Alfalah, M. et Lacroix, J. P. (2015). "Parabenoia" Debunked, or "Who's Afraid of Parabens?". *Dermatitis*, *26*(6), 254-259. doi: 10.1097/DER.0000000000000147
- Scinicariello, F., et Buser, M. C. (2016). Serum Testosterone Concentrations and Urinary Bisphenol A, Benzophenone-3, Triclosan, and Paraben Levels in Male and Female Children and Adolescents : NHANES 2011–2012. *Environ Health Perspect*, *124*(12), 1898-1904. doi: 10.1289/EHP150

- Sexton, K., L. Needham, L. et L. Pirkle, J. (2004). Human Biomonitoring of Environmental Chemicals: Measuring chemicals in human tissues is the "gold standard" for assessing people's exposure to pollution. *Am. Sci.*, 92(1), 38-45.
- Shaw, J. et DeCatanzaro, D. (2009). Estrogenicity of parabens revisited: impact of parabens on early pregnancy and an uterotrophic assay in mice. *Reprod Toxicol*, 28(1), 26-31. doi: 10.1016/j.reprotox.2009.03.003
- Shirai, S., Suzuki, Y., Yoshinaga, J., Shiraishi, H. et Mizumoto, Y. (2013). Urinary excretion of parabens in pregnant Japanese women. *Reprod Toxicol*, 35, 96-101. doi: 10.1016/j.reprotox.2012.07.004
- Sivaraman, L., Pouliot, L., Wang, B., Brodie, T., Graziano, M. et McNerney, M. E. (2018). Safety assessment of propylparaben in juvenile rats. *Regul Toxicol Pharmacol*, 92, 370-381. doi: 10.1016/j.yrtph.2017.12.009
- Skakkebaek, N. E., Rajpert-De Meyts, E., Buck Louis, G. M., Toppari, J., Andersson, A.-M., Eisenberg, ... Juul, A. (2016). Male Reproductive Disorders and Fertility Trends : Influences of Environment and Genetic Susceptibility. *Physiol Rev*, 96(1), 55-97. doi: 10.1152/physrev.00017.2015
- Smith, K. W., Souter, I., Dimitriadis, I., Ehrlich, S., Williams, P. L., Calafat, A. M. et Hauser, R. (2013). Urinary paraben concentrations and ovarian aging among women from a fertility center. *Environ Health Perspect*, 121(11-12), 1299-1305. doi: 10.1289/ehp.1205350
- Soldin, O. P., Hoffman, E. G., Waring, M. A. et Soldin, S. J. (2005). Pediatric reference intervals for FSH, LH, estradiol, T3, free T3, cortisol, and growth hormone on the DPC IMMULITE 1000. *Clin Chim Acta*, 355(1-2), 205-210. doi: 10.1016/j.cccn.2005.01.006

- Soni, M. G., Carabin, I. G. et Burdock, G. A. (2005). Safety assessment of esters of p-hydroxybenzoic acid (parabens). *Food Chem Toxicol*, 43(7), 985-1015. doi: 10.1016/j.fct.2005.01.020
- Statistique Canada. (2014, 15 avril). Enquête canadienne sur les mesures de la santé (ECMS) - Information détaillée pour janvier 2014 à décembre 2015 (Cycle 4). Repéré le 18 Février 2020 à https://www23.statcan.gc.ca/imdb/p2SV_f.pl?Function=getSurvey&Id=148760
- Statistique Canada. (2017). Guide de l'utilisateur des données de l'Enquête canadienne sur les mesures de la santé (ECMS) : Cycle 4 (p. 168).
- Statistique Canada. (2018, 22 Février). Concentrations de parabènes chez les Canadiens, 2014 et 2015. Repéré le 8 Février 2020 à <https://www150.statcan.gc.ca/n1/fr/pub/82-625-x/2018001/article/54919-fra.pdf?st=b55X3uyO>
- Sun, L., Yu, T., Guo, J., Zhang, Z., Hu, Y., Xiao, X., . . . Li, J. (2016). The estrogenicity of methylparaben and ethylparaben at doses close to the acceptable daily intake in immature Sprague-Dawley rats. *Sci Rep*, 6, 25173. doi: 10.1038/srep25173
- Swierkowski-Blanchard, N. et Wainer, R. (2017). La reproduction humaine et son contrôle hormonal. *Actualités Pharmaceutiques*, 56(570), 18-22. doi: 10.1016/j.actpha.2017.09.005
- Taxvig, C., Vinggaard, A. M., Hass, U., Axelstad, M., Boberg, J., Hansen, P. R., . . . Nellemann, C. (2008). Do parabens have the ability to interfere with steroidogenesis? *Toxicol Sci*, 106(1), 206-213. doi: 10.1093/toxsci/kfn148
- Terasaki, M., Takemura, Y. et Makino, M. J. E. c. l. (2012). Paraben-chlorinated derivatives in river waters. *IO*(4), 401-406.

Thankamony, A., Pasterski, V., Ong, K. K., Acerini, C. L., et Hughes, I. A. (2016). Anogenital distance as a marker of androgen exposure in humans. *Andrology*, 4(4), 616-625. doi: 10.1111/andr.12156

Truchon, G., Huard, M., Lévesque, M., Sauvé, J. F., Larivière, P. et Tardif, R. (2014). Surveillance biologique de l'exposition professionnelle: Quel mode de correction urinaire choisir lors de prélèvements ponctuels? (p. 41). Montréal (Qc): Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail

Ukkola, O., Gagnon, J., Rankinen, T., Thompson, P. A., Hong, Y., Leon, A. S., Rao, D. C., Skinner, J. S., Wilmore, J. H., & Bouchard, C. (2001). Age, body mass index, race and other determinants of steroid hormone variability : The HERITAGE Family Study. *Eur J Endocrinol*, 145(1), 1-9. doi: 10.1530/eje.0.1450001

United Nations Environment Programme et The International Panel on Chemical Pollution. (2016). Overview report i: a compilation of lists of chemicals recognised as endocrine disrupting chemicals (edcs) or suggested as potential edcs.

United Nations Environment Programme et World Health Organization. (2013). State of the science of endocrine disrupting chemicals - 2012: an assessment of the state of the science of endocrine disruptors prepared by a group of experts for the United Nations Environment Programme (UNEP) and WHO (WHO Library Cataloguing-in-Publication Data^e éd.).

University of California Los Angeles (UCLA): Statistical Consulting Group. FAQ: How do I interpret a regression model when some variables are log transformed? Repéré le 05 Décembre 2019 à <https://stats.idre.ucla.edu/other/mult-pkg/faq/general/faqhow-do-i-interpret-a-regression-model-when-some-variables-are-log-transformed/>

University of California Los Angeles (UCLA): Statistical Consulting Group. (s.d.). FAQ: How do I interpret a regression model when some variables are log transformed? Repéré le

05 Décembre 2019 à <https://stats.idre.ucla.edu/other/mult-pkg/faq/general/faqhow-to-interpret-a-regression-model-when-some-variables-are-log-transformed/>

- Van Meeuwen, J. A., Van Son, O., Piersma, A. H., De Jong, P. C. et Van den Berg, M. (2008). Aromatase inhibiting and combined estrogenic effects of parabens and estrogenic effects of other additives in cosmetics. *Toxicol Appl Pharmacol*, 230(3), 372-382. doi: 10.1016/j.taap.2008.03.002
- Vo, T. T. et Jeung, E. B. (2009). An evaluation of estrogenic activity of parabens using uterine calbindin-d9k gene in an immature rat model. *Toxicol Sci*, 112(1), 68-77. doi: 10.1093/toxsci/kfp176
- Vo, T. T., Yoo, Y. M., Choi, K. C. et Jeung, E. B. (2010). Potential estrogenic effect(s) of parabens at the prepubertal stage of a postnatal female rat model. *Reprod Toxicol*, 29(3), 306-316. doi: 10.1016/j.reprotox.2010.01.013
- Wang, L., Wu, Y., Zhang, W. et Kannan, K. (2013). Characteristic profiles of urinary p-hydroxybenzoic acid and its esters (parabens) in children and adults from the United States and China. *Environ Sci Technol*, 47(4), 2069-2076. doi: 10.1021/es304659r
- Watanabe, Y., Kojima, H., Takeuchi, S., Uramaru, N., Ohta, S. et Kitamura, S. (2013). Comparative study on transcriptional activity of 17 parabens mediated by estrogen receptor alpha and beta and androgen receptor. *Food Chem Toxicol*, 57, 227-234. doi: 10.1016/j.fct.2013.03.036
- Watkins, D. J., Sanchez, B. N., Tellez-Rojo, M. M., Lee, J. M., Mercado-Garcia, A., Blank-Goldenberg, C., . . . Meeker, J. D. (2017). Phthalate and bisphenol A exposure during in utero windows of susceptibility in relation to reproductive hormones and pubertal development in girls. *Environ Res*, 159, 143-151. doi: 10.1016/j.envres.2017.07.051
- Watts, E. S. (1984). Atlas of children's growth. By J. M. Tanner and R. H. Whitehouse. . *American Journal of Physical Anthropology*, 64(3), 323-324. doi: 10.1002/ajpa.1330640316

- Whitehead, S. A. et Rice, S. (2006). Endocrine-disrupting chemicals as modulators of sex steroid synthesis. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 20(1), 45-61. doi: 10.1016/j.beem.2005.09.003
- Witorsch, R. J. et Thomas, J. A. (2010). Personal care products and endocrine disruption: A critical review of the literature. *Crit Rev Toxicol*, 40 Suppl 3(sup3), 1-30. doi: 10.3109/10408444.2010.515563
- Wolff, M. S., Pajak, A., Pinney, S. M., Windham, G. C., Galvez, M., Rybak, M., . . . Environment Research, P. (2017). Associations of urinary phthalate and phenol biomarkers with menarche in a multiethnic cohort of young girls. *Reprod Toxicol*, 67, 56-64. doi: 10.1016/j.reprotox.2016.11.009
- Xue, X., Xue, J., Liu, W., Adams, D. et Kannan, K. (2017). Trophic magnification of parabens and their metabolites in a subtropical marine food web. *Environ. Sci. Technol.*, 51(2), 780-789. doi: 10.1021/acs.est.6b05501
- Yasar, P., Ayaz, G., User, S. D., Gupur, G. et Muyan, M. (2017). Molecular mechanism of estrogen-estrogen receptor signaling. *Reprod Med Biol*, 16(1), 4-20. doi: 10.1002/rmb2.12006
- Ye, X., Bishop, A. M., Reidy, J. A., Needham, L. L. et Calafat, A. M. (2006). Parabens as urinary biomarkers of exposure in humans. *Environ Health Perspect*, 114(12), 1843-1846. doi: 10.1289/ehp.9413
- Zhu, J. et Chan, Y. M. (2017). Adult Consequences of Self-Limited Delayed Puberty. *Pediatrics*, 139(6). doi: 10.1542/peds.2016-3177

Annexes

Annexe A. Certificat d'approbation éthique du Comité d'éthique de la recherche clinique



Comité d'éthique de la recherche clinique (CERC)

CERTIFICAT D'APPROBATION ÉTHIQUE

Le Comité d'éthique de la recherche clinique, selon les procédures en vigueur, en vertu des documents qui lui ont été fournis, a examiné le projet de recherche suivant et conclu qu'il respecte les règles d'éthique énoncées dans la Politique sur la recherche avec des êtres humains de l'Université de Montréal.

Projet	
Titre du projet	Relation entre exposition aux parabènes et hormones sexuelles : une étude chez les jeunes filles canadiennes
Étudiante requérante	Margot Guth , candidate à la maîtrise, École de santé publique - Département de santé environnementale et santé au travail
Sous la direction de:	Maryse Bouchard, professeure agrégée, École de santé publique - Département de santé environnementale et santé au travail, Université de Montréal
Financement	
Organisme	Non financé

MODALITÉS D'APPLICATION

Tout changement anticipé au protocole de recherche doit être communiqué au Comité qui en évaluera l'impact au chapitre de l'éthique.

Toute interruption prématurée du projet ou tout incident grave doit être immédiatement signalé au Comité.

Selon les règles universitaires en vigueur, un suivi annuel est minimalement exigé pour maintenir la validité de la présente approbation éthique, et ce, jusqu'à la fin du projet. Le questionnaire de suivi est disponible sur la page web du Comité.

Nathalie Folch, Présidente
Comité d'éthique de la recherche clinique
Université de Montréal

5 juin 2019
Date de délivrance

1er juillet 2020
Date de fin de validité

1er juillet 2020
Date du prochain suivi