

Les hormones cachées ou les perturbateurs endocriniens

NORA BENACHOUR ET GILLES-ERIC SERALINI

Laboratoire Estrogènes et Reproduction EA 2608 et CRIIGEN,
Institut de Biologie IBFA, Université de Caen

résumé

Les perturbateurs endocriniens (PE) sont des substances chimiques, pour la plupart d'origine artificielle dits xénobiotiques, qui peuvent interférer avec la synthèse, le stockage, le transport dans l'organisme, le métabolisme, la fixation, l'action ou l'élimination des hormones. Ont été démontrés comme PE chez les mammifères des **pesticides** (herbicides, insecticides, fongicides, raticides...etc.), des **plastifiants** (phtalates, PCB), des **résidus du pétrole** et autres produits chimiques résidus industriels, des **métaux lourds** et des **médicaments**. Il y a de plus des familles naturelles de produits à action estrogénique, telles que les phytoestrogènes qui sont présents dans des végétaux dont le soja (isoflavonoïdes) ou dans des baies, des fruits, des graines, des légumes (lignanes). Ces PE sont aujourd'hui présents dans tous nos organismes, une première liste non exhaustive et leurs mécanismes d'actions seront détaillés ici.

mots-clés

Perturbation hormonale
Perturbation endocrine
Disruption
Pesticides
Polluants



Définition des perturbateurs endocriniens

Ces substances (*tableau 1*) peuvent agir sur le système endocrinien constitué de diverses glandes sécrétrices réparties dans l'organisme, très développé chez l'Homme, au moins dans une dizaine de tissus, et entraîner des perturbations, parfois graves, de leurs fonctions hormonales⁽¹⁾ touchant les fonctions de reproduction et/ou provoquant les pathologies hormono-dépendantes, et donc induisant des effets nocifs sur la santé d'un organisme intact, de ses descendants et des sous-populations. Récemment, un grand nombre d'études dans plusieurs populations (Japon, Argentine, Royaume Uni, Turquie...) font état de la présence de ces substances chimiques dans le lait maternel, le sérum, le sang, les urines, les cheveux et les ongles dans tous les organismes et les formes de vie⁽²⁻⁸⁾. Le fœtus humain lui-même est déjà contaminé sur ses gènes⁽⁹⁾.



Mécanismes d'actions des perturbateurs endocriniens

Il est difficile de faire la part entre les différents modes d'actions des PE, comme il est difficile de prévoir à quelle dose et à partir de quelle durée d'exposition, et au bout de combien de temps après, ou à quel moment du développement ou du cycle physiologique, sur quel sexe, sur combien de générations, un PE aura un impact *in vivo*. De plus, le système hormonal formant un réseau complexe d'interactions, nous avons résumé ci-dessous à la fois les effets directs et indirects des PE, qui ne s'excluent pas les uns les autres (*Figure 1*).

Parmi les effets des hormones stéroïdes plus récemment caractérisés, on connaît les effets nerveux (neurostéroïdes) et membranaires⁽¹⁰⁻¹²⁾. La connaissance détaillée des mécanismes moléculaires d'actions des PE, comme les progrès remarquables accomplis ces dernières années en endocrinologie comparée, lesquels dissèquent les raisons cellulaires et génétiques des différences entre espèces⁽¹³⁻¹⁴⁾ permettent aujourd'hui de tracer des parallèles ou pas entre les perturbations hormonales diverses provoquées par une même famille de produits sur la faune sauvage et d'élevage, ou les humains.

Fongicides			
Bénomyl	Hexachlorobenzène	Nabam	Vinclozoline
Etridiazole	Mancozeb	Pentachloronitrobenzène	Zineb
Fenanimol	Maneb	Triadiméfon	Zira
Fembuconazole	Metiram	Oxyde de Tributylétain (TBTO)	
Herbicides			
Acetochlore	Ethiozine	Oxyacetamide	Triazines (Atrazine)
Alachlore	Glufosinate -ammonium	Paraquat	2,4,5-Trichlorophénol
Amitrole (aminotriazole)	Loxynil	Picloram	Trochlorobenzène
Bromacil	Molinate	Prodiamine	Simazine
Bromoxynil	Nitrofen	Terbutryn	Roundup
2,4-Dichlorophénol	Oryzalin	Thiazopyr	
Insecticides			
Aldicard	p,p'-DDD	Endosulfan (mélange)	b-HCH
Aldrin	p,p'-DDE	α -Endosulfan	Lindane (g -HCH)
Bifénthrin	p,p'-DDE	β -Endosulfan	Methoxychlor
Carbaryl	p,p'-DDT	Endrin	Pyrethrines
Chlordécone (Kepone)	p,p'-DDT	Fenvalerate	Toxaphène
Dibromochloropropane (DBCP)	Dimethoate	Heptachlore et H -epoxide	Transnonachlor
DDT et ses métabolites	Dinitrophénol	Hexachlorocyclohexane (HCH)	Ronnel (fenchlorfos)
Autres pesticides			
Ethylène thiourée	Pentachlorobenzène	Pentachlorophénol	Piperonyl butoxide
Produits industriels			
Alkylphénols		Dioxines (dibenzo -p-dioxin polychlorés, DDPC)	
4-OH-Alkylphénol		Furanes	
Nonylphénol (NP)		Hydrocarbures polycycliques aromatiques (HPA)	
Nonylphénol ethoxylate (NP2EO)		Hydroxy hydroquinones	
Nonylphénol ethoxylate carboxylate (NP1EC)		Méthylcolanthrène (MCA)	
Pentaphénol		Phthalates:	
p-tert pentylphénol (TPP)		Benzylbutylphthalate (BBP)	
Benzopyrene		Di-n-butylphthalate (DnBP)	
Biphényles polybromés (BPB)		Phénol	
Biphényles polychlorés (BPC)		Diphényl ether polychlorés	
Arochlore 1221		Phénylphenols	
Arochlore 1254		Resorcinol	
Bisphénol -A (BPA)		Tetrachloro -benzyltoluenes	
BPA diméthacrylate		Thiocyanate	
t-Butylhydroxyanisole (BHA)		Vinylacetate	
Substances végétales (mycoestrogènes et phytoestrogènes) et estrogènes naturels			
Coumestanes (coumestrol)		Daïdzeine	Genisteine
Isoflavones (légumineuses, soja)		Equol	Lignanes (lentilles, lin)
Médicaments et autres estrogènes synthétiques			
Cimétidine		Estrogènes dans le lait de vache et ses dérivés	
Diéthylstilbestrol (DES)		Estrogènes recyclés dans l'eau	
Ethinylestradiol -17 α (EE2)		Estrogènes des produits cosmétiques et shampooings	
Estrogènes promouvant la croissance des viandes/volaille		Estrogènes contraceptifs	
Métaux lourds et autres			
Aluminium	Cadmium	Mercur	Plomb

Tableau 1 : Liste non exhaustive des composés retrouvés dans l'environnement et connus ou suspectés pour avoir une activité hormonale, en particulier comme perturbateurs endocriniens et de la reproduction. On y trouve de très nombreux xénobiotiques, aux côtés d'hormones naturelles apportées sous forme médicamenteuse ou dans l'alimentation. En gras, substances étudiées dans notre laboratoire.

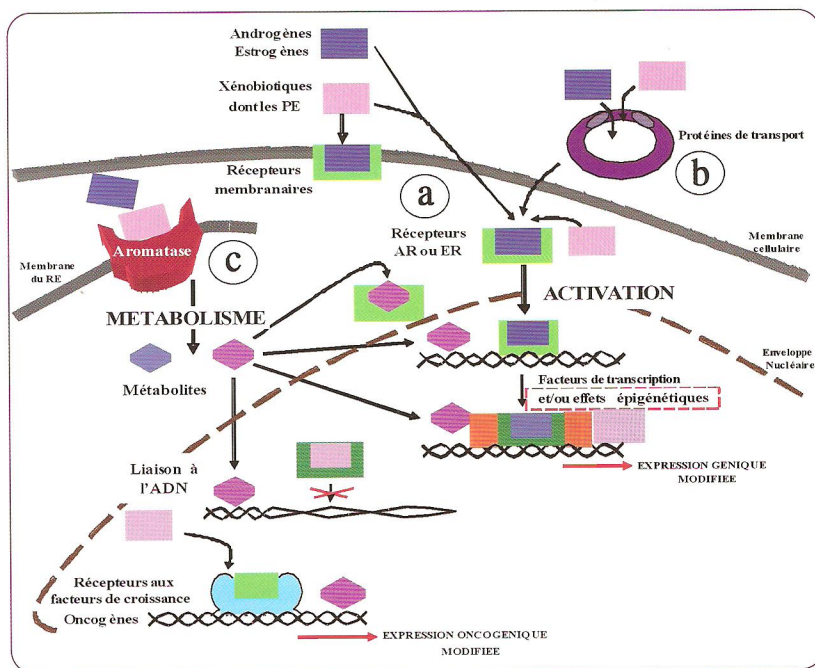


Figure 1 : Schéma simplifié illustrant les effets potentiels des xénobiotiques sur le système endocrinien (androgéno ou estrogéno-dépendant en particulier). Les récepteurs membranaires ou nucléaires ^(a), les protéines de transport ^(b), mais aussi les enzymes de la stéroïdogénèse dont l'aromatase ^(c), sont des cibles potentielles des xénobiotiques. De plus, les enzymes peuvent les métaboliser en composés susceptibles de transactiver des récepteurs (aux androgènes, estrogènes ou aux facteurs de croissance...) ou de perturber d'autres composés également capables de modifier l'expression de gènes, par exemple impliqués dans le développement de cancers.

Les xénobiotiques peuvent aussi se lier directement à l'ADN, ou changer son habillage chimique par les effets épigénétiques plus récemment caractérisés.

Ces dernières années les études se sont multipliées pour démontrer l'action des PE sur les récepteurs aux hormones, les plus classiquement étudiés (Figure 1) ^(a). En se liant ainsi à ces derniers, les substances toxiques peuvent avoir un effet compétitif avec les hormones endogènes et déclencher la cascade habituelle de signaux intracellulaires à l'origine de l'expression des gènes et de la synthèse de protéines. Comme il est montré pour le Chlordécone, Méthoxychlore, Octylphénol et Nonylphénol, les Polychlorobiphényles ⁽¹⁵⁾ et par exemple l'herbicide Atrazine ⁽¹⁶⁾.

D'autres études se sont focalisées sur la capacité des PE à lier les protéines de transport (Figure 1) ^(b) comme la « Sex Hormone Binding Globulin, SHBG » ou la « Corticosteroid Binding Globulin, CBG » ⁽¹⁷⁻¹⁹⁾, ces protéines sériques à biosynthèse hépatique, responsables du transport et de la modulation de l'activité de la vaste majorité des stéroïdes circulants vers leurs sites d'action. C'est le cas pour le DDT et ses dérivés, certains dérivés des Polychlorobiphényles, le

Méthoxychlore, l'Atrazine, le Lindane, le Pentachlorophénol, l'Octylphénol et le Nonylphénol ⁽²⁰⁾. Certains phytoestrogènes comme la Génistéine ont aussi la capacité de se lier à la SHBG ⁽²¹⁾. Une liaison faible d'un xénobiotique, dans le foie par exemple, organe de détoxification où il s'accumule, à une protéine de transport dont le site de biosynthèse est justement le foie, peut l'amener vers les gonades où le flux de stéroïdes produits déplacera le xénobiotique, déversé plutôt alors dans les glandes sexuelles.

Cependant, un autre site d'action moléculaire des PE a été récemment caractérisé par certaines équipes portant sur leurs effets sur la synthèse des hormones. Nos travaux au laboratoire portent sur une enzyme déterminante et cruciale de la stéroïdogénèse appelée **aromatase** (Figure 1) ^(c), le point d'impact potentiel encore peu étudié. En effet, l'aromatase est l'une des cibles potentielles négligées des PE par le fait qu'elle maintient l'équilibre hormonal androgéno-estrogénique, et également parce qu'elle fait partie de la superfamille des cytochromes P450 intervenant dans le métabolisme des xénobiotiques. C'est le point de synthèse incontournable et **irréversible** de la conversion des androgènes en estrogènes. Nous avons ainsi prouvé des modulations à ce niveau pour le **Bisphénol-A** et du **Lindane** ⁽²²⁾, le **TBTO** ⁽²³⁾, l'**Atrazine**, la **Vinclozoline**, le **DDT** et son métabolite **DDE**, le médicament **DES**, les polychlorobiphényles

(l'Aroclor 1254) et les herbicides à base de glyphosate, les plus utilisés dans le monde, aujourd'hui, comme par exemple le **Roundup** de Monsanto ⁽²⁴⁻²⁶⁾.

Les xénobiotiques peuvent aussi se lier directement à l'ADN, ou changer son habillage chimique et causer ainsi des anomalies du fonctionnement génétique et de la régulation d'expression des gènes ou des perturbations épigénétiques. Skinner & Anway ⁽²⁷⁾ ont mis en évidence ces mécanismes invisibles au niveau de la séquence ADN en suivant 4 générations de rats dont la 1^{ère} génération a été exposée *in utero* au fongicide Vinclozoline. Ce mécanisme épigénétique implique la méthylation de l'ADN ⁽²⁸⁾. Ces actions épigénétiques créent des effets transgénérationnels et soulignent les risques à très long terme des PE sur différents processus comme le comportement et le déterminisme sexuels, les anomalies phénotypiques touchant la prostate et les reins, les défauts de la spermatogénèse, l'altération des grossesses et l'apparition des cancers ⁽²⁹⁻³²⁾.



Conclusion

En quatre décennies, la prise de conscience des réseaux complexes endocriniens a conduit à un développement accru des recherches dans ce domaine ; et certaines substances, parmi les plus problématiques, ont été retirées du marché, mais **certains pesticides ou autres produits persistants et bioaccumulables restent toujours des contaminants redoutables**. Ainsi, de nombreux polluants stables sont encore détectés non seulement chez les animaux sauvages et dans toute la chaîne alimentaire, dans les laits humains, le sang et les urines à travers toute la planète, comme dans de nombreuses nappes phréatiques et aliments. De plus,

même si les effets à court terme ont pu être généralement étudiés grâce aux travaux des toxicologues, le potentiel réel d'actions synergiques, additives, agonistes ou antagonistes, à long terme ou différées, et de bioaccumulation, de ces PE reste très débattu, peu étudié, et ainsi souvent négligé. Les études épidémiologiques sont globalement inadaptées à ces mises en évidence, étudiant plutôt les effets courts termes spécifiques d'un facteur facilement identifiable, voire auto-multiplicatif, comme les microorganismes pathogènes. Pourtant, les effets des PE sont différents du court terme, au moins en culture de cellules comme nous l'avons montré au laboratoire (22,24-26), non linéaires et reliés au sexe. ■

Conflits d'intérêts : aucun

RÉFÉRENCES

1. Toppari J, Larsen JC, Christiansen P, et coll. Male reproductive health and environmental xenoestrogens. *Environ Health Perspect* 1996 ; 104 : 741-803.
2. Cok I, Hakan Satioglu M. Polychlorinated biphenyl levels in adipose tissue of primiparous women in Turkey. *Environ Int* 2004 ; 30(1):7-10.
3. Kalantzi OI, Martin FL, Thomas GO, et coll. Different levels of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and chlorinated compounds in breast milk from two U.K. Regions. *Environ Health Perspect* 2004 ; 112(10):1085-91.
4. Huwe JK, Smith DJ. Laboratory and on-farm studies on the bioaccumulation and elimination of dioxins from a contaminated mineral supplement fed to dairy cows. *J Agric Food Chem* 2005 ; 53(6):2362-70.
5. Hickie BE, Muir DC, Addison RF, et coll. Development and application of bioaccumulation models to assess persistent organic pollutant temporal trends in arctic ringed seal (*Phoca hispida*) populations. *Sci Total Environ* 2005 ; 335:413-26.
6. Calafat AM, Kuklenyik Z, Reidy JA, et coll. Urinary Concentration of Bisphenol A and 4-Nonylphenol in a Human Reference Population. *Environ Health Perspect* 2005 ; 113(4):391-95.
7. Minh TB, Watanabe M, Kajiwara N, et coll. Human blood monitoring program in Japan: contamination and bioaccumulation of persistent organochlorines in Japanese residents. *Arch Environ Contam Toxicol* 2006 ; 51(2):296-313.
8. Muñoz-de-Toro M, Beldomenico HR, Garcia SR, et coll. Organochlorine levels in adipose tissue of women from a littoral region of Argentina. *Environ Res* 2006 ; 102(1):107-12.
9. Séralini GE. Livre : Génétiquement Incorrect. Ed Champs/Flammarion 2003 : pp. 322.
10. Improbata-Brears T, Whorton AR, Codazzi F, et coll. Estrogen-induced activation of mitogen-activated protein kinase requires mobilization of intracellular calcium. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999 ; 96(8):4686-91.
11. Losel RM, Falkenstein E, Feuring M, et coll. Nongenomic steroid action: controversies, questions, and answers. *Physiol Rev* 2003 ; 83(3):965-1016.
12. Wehling M, Losel R. Non-genomic steroid hormone effects: membrane or intracellular receptors? *J Steroid Biochem Mol Biol* 2006 ; 102(1-5):180-3.
13. Michell AR. Comparative clinical science: The medicine of the future. *Vet J* 2005 ; 170:153-62.
14. Luetjens CM, Weinbauer GF, Wistuba J. Primate spermatogenesis: new insights into comparative testicular organisation, spermatogenic efficiency and endocrine control. *Biol Rev Camb Philos Soc* 2005 ; 80(3):475-88.
15. Mendola P, Buck GM, Sever LE, et coll. Consumption of PCB-contaminated freshwater fish and shortened menstrual cycle length. *Am J Epidemiol* 1997 ; 146:955-60.
16. Sanderson JT, Seinen W, Giesy JP, et coll. 2-chloro-s-triazine herbicides induce aromatase (CYP19) activity in H295R human adrenocortical carcinoma cells: a novel mechanism for estrogenicity. *Toxicol Sci* 2000 ; 54(1):121-127.
17. Séralini GE, Pugeat M. Les protéines de transport des hormones stéroïdes in *Endocrinologie masculine*. Coll. "Progrès en" andrologie, Doin Ed Paris (1996) ; 6 (chap.9) : 115-128.
18. Séralini GE. A new role for corticosteroid binding globulin (CBG), member of SERPIN superfamily. *C R Soc Biol Fil* 1991 ; 185 (6) : 500-509.
19. Séralini GE. Regulation factors of corticosteroid-binding globulin: lesson from ontogenesis. *Horm Res* 1996 ; 45 (3-5) : 192-196.
20. Hodgert J, Zacharewski TR, Hammond GL. Interactions between human plasma sex hormone-binding globulin and xenobiotic ligands. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2000 ; 75(2-3):167-76.
21. Déchaud H, Ravard C, Claustrat F, et coll. Xenoestrogen interaction with human sex hormone-binding globulin (hSHBG). *Steroids* 1999 ; 64(5):328-34. Anway MD, Cupp AS, Uzumcu M, et coll. Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility. *Science* 2005 ; 308(5727):1466-9.
22. Nativelle-Serpentini C, Richard S, Séralini GE, et coll. Aromatase activity modulation by lindane and bisphenol-A in human placental JEG-3 and transfected kidney E293 cells. *Toxicol In Vitro* 2003 ; 17:413-22.
23. Le Curieux-Belfond O, Moslemi S, Mathieu M, et coll. Androgen metabolism in oyster *Crassostrea gigas*: evidence for 17 β -HSD activities and characterization of an aromatase-like activity inhibited by pharmacological compounds and a marine pollutant. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2001 ; 78:359-366.
24. Richard S, Moslemi S, Sipahutar H, et coll. Differential effects of glyphosate and roundup on human placental cells and aromatase. *Environ Health Perspect* 2005 ; 113:716-720.
25. Benachour N, Moslemi S, Sipahutar H, et coll. Cytotoxic effects and aromatase inhibition by xenobiotic endocrine disruptors alone and in combination. *Toxicol Applied Pharmacol* 2007a ; 222:129-140.
26. Benachour N, Sipahutar H, Moslemi S, et coll. Time and Dose-Dependent Effects of Roundup on Human Embryonic and Placental Cells and Aromatase Inhibition. *Arch Environ Contam Toxicol* 2007b ; 53(1):126-133.
27. Skinner MK, Anway MD. Seminiferous cord formation and germ-cell programming: epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors. *Ann NY Acad Sci* 2005 ; 1061:18-32.
28. Anway MD, Cupp AS, Uzumcu M, et coll. Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility. *Science* 2005 ; 308(5727):1466-9.
29. Crews D, McLachlan JA. Epigenetics, evolution, endocrine disruption, health, and disease. *Endocrinology* 2006 ; 147(6 Suppl):S4-10.
30. Crews D, Gore AC, Hsu TS, et coll. Transgenerational epigenetic imprints on mate preference. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007 ; 104(14):5942-6.
31. Anway MD, Skinner MK. Epigenetic programming of the germ line: effects of endocrine disruptors on the development of transgenerational disease. *Reprod Biomed Online* 2008 ; 16(1):23-5.
32. Nilsson EE, Anway MD, Stanfield J, et coll. Transgenerational epigenetic effects of the endocrine disruptor vinclozolin on pregnancies and female adult onset disease. *Reproduction* 2008 ; 135(5):713-21.