

Article général publié dans :

Spectra Analyses, (1999), 208, 5/6, 19-22

Les micropolluants à effets modulateurs endocriniens

Pr. Yves Levi

Faculté de Pharmacie, Université Paris Sud

Laboratoire Santé Publique – Environnement

5 rue J.B. Clément, 92296 Chatenay-Malabry, France

yves.levi@cep.u-psud.fr

Résumé

La présence, dans l'environnement de polluants à effets modulateurs endocriniens provoque chez les animaux des perturbations de la fonction sexuelle et de la reproduction. L'impact sur l'homme n'est certainement pas négligeable *via* notre alimentation, les particules de l'air, l'eau ou les matériaux qui nous entourent. Ce problème est exemplaire car il illustre parfaitement le fait que l'analyse de l'environnement nécessite que les laboratoires disposent, non seulement de méthodes chromatographiques ou spectrométriques sophistiquées, mais aussi d'outils d'évaluation des effets biologiques globaux comme la toxicité aiguë, la génotoxicité et les effets perturbateurs endocriniens. Parmi la liste des xénoestrogènes figurent des pesticides organochlorés, des détergents, des plastifiants, des métaux lourds. Protéger notre santé signifie protéger notre environnement en mettant en œuvre tous les moyens analytiques permettant d'accéder aux molécules responsables ou, à défaut, en évaluant indirectement les perturbations biologiques qui leur sont liées.

Mots clés : Environnement, xénoestrogènes, modulateurs endocriniens, pollution, reproduction, cancer

Summary

The presence, in the environment, of endocrine disruptors pollutants induces to wild animals perturbations of the sexual function and the reproduction. The impact on man is not certainly negligible *via* our feeding, air particles, water or materials that surround us. This problem is exemplary because it illustrates perfectly the fact that the analysis of the environment necessitates that laboratories have, not only sophisticated chromatographic or spectrometric methods, but also global tools evaluating biological effect as the acute toxicity, genotoxicity and endocrine disrupting effects. Among the list of xenoestrogens figure organochlorine pesticides, detergents, plasticizers, heavy metals. Protecting our health means protecting our environment by implementing all analytical tools allowing access to responsible molecules or by evaluating, indirectly, their biological effects.

Keywords : Environment, xenoestrogens, endocrine disruptors, pollution, reproduction, cancer

Quel que soit le domaine à analyser dans notre environnement -air, eau, aliments, matériaux-, les laboratoires doivent disposer d'une large gamme de méthodes analytiques portant sur des paramètres physico-chimiques organiques et minéraux ou microbiologiques, mais il leur est aussi indispensable de maîtriser des méthodes biologiques globales capables d'évaluer les effets toxiques de polluants. Ainsi, même sans identification précise du toxique, le laboratoire peut évaluer l'impact de la pollution sur les organismes testés. Ces effets doivent pouvoir être extrapolés à l'homme et prendre en compte tout l'écosystème qui soutient notre vie biologique. Les progrès considérables accomplis dans la mise au point des méthodes chromatographiques ne permettent pas de détecter rapidement, et à moindre coût, toute la gamme des substances polluantes et ne peuvent en aucun cas donner une évaluation des effets synergiques ou antagonistes des polluants toxiques sur un organisme.

Après la période des premières méthodes biologiques globales de détection de la toxicité aiguë, sont venus les progrès accomplis dans l'évaluation de la toxicité chronique et de la génotoxicité. Toutes ces mesures sont réalisées sur des mammifères, crustacés, algues, plantes ou cellules en culture avec une extrapolation parfois délicate à l'organisme humain. L'épidémiologie permet de compléter cette panoplie analytique grâce aux conclusions obtenues directement sur l'homme dans le cadre de ses activités et de son habitat.

Depuis la publication de quelques articles précurseurs au début des années 1970-80 démontrant des effets oestrogènes du DDT et des PCB (1) ou encore une féminisation d'embryons de mouettes par le DDT (2), il apparaît vers 1993-1994 de nombreuses publications sur l'importance des risques sanitaires et environnementaux des modulateurs endocriniens et leur impact sur le système reproducteur des animaux supérieurs. C'est ainsi qu'à partir d'observations réalisées sur des populations animales dans leur milieu naturel, s'est développée une préoccupation croissante de la communauté scientifique sur le rôle joué par des polluants organiques ou minéraux sur la modulation des systèmes participant à la régulation des processus de reproduction ainsi que les cancers hormonaux dépendants. Les plus grands organismes ayant un pouvoir de recommandation ou de réglementation de l'environnement comme l'Agence de Protection de l'Environnement des Etats Unis (USEPA), l'OCDE, le Ministère Français de l'Environnement, financent des études pour évaluer l'importance des risques et organisent des conférences de consensus permettant la publication d'excellents rapports de synthèse sur le sujet (3, 4, 5). De leur côté, les industriels de la chimie fine se sont groupés au sein du CEFIC pour initier des programmes de recherche pour un montant de 7 millions de dollars sur 3 ans depuis 1997 dans divers pays du globe. Enfin les associations de protection de la nature et des consommateurs sont en alerte et publient des documents de synthèse (6).

Ce thème est important, -et même peut être exemplaire-, à plusieurs titres :

- Certains de ces composés ont déjà été étudiés et sont déjà connus pour leurs effets toxiques sur le métabolisme humain. Un nouveau chapitre accusateur leur est donc ajouté ce qui peut conduire à de nouvelles normes ou à l'arrêt de l'usage et de la commercialisation.

- Certains sont souvent présents dans notre environnement et figurent parmi les polluants persistants dans notre alimentation mais, en absence de norme, aucun contrôle n'est effectué.
- Plusieurs familles chimiques doivent être recherchées ce qui complique les analyses et augmente encore le coût de l'expertise.
- Les effets biologiques induits concernent des domaines très médiatiques, et d'un abord parfois délicat, tels que la reproduction humaine et les cancers.
- Cette problématique concerne de très nombreux domaines industriels : industries du traitement des eaux, agro-alimentaire, industrie des matériaux, producteurs de matières plastiques, papeteries, chimie fine...

Un modulateur endocrinien peut être défini comme une substance exogène à l'organisme considéré et qui interfère sur la synthèse, l'excrétion, le transport, les liaisons, l'action ou l'élimination d'hormones naturelles qui sont, entre autre, responsables dans le corps, de l'homéostasie, de la reproduction et/ou du développement. Ces hormones, transportées en faible quantité dans le sang, agissent sur des sites récepteurs situés dans les tissus ou des organes et permettent ainsi l'exercice harmonieux de fonctions importantes du corps. Le système endocrinien comporte certains organes producteurs d'hormones comme, en particulier, la thyroïde, le pancréas, l'hypophyse ou encore les organes reproducteurs (testicules ou ovaires).

Selon les divers auteurs, les dénominations désignant ces polluants varient et l'on trouve notamment pour les anglo-saxons le terme "Endocrine disruptors" traduit parfois par "disrupteurs endocriniens" alors que le terme de "xénoestrogènes" est assez fréquemment publié.

L'activité oestrogène de ces molécules est généralement beaucoup plus faible que celle de l'hormone de référence humaine, le 17estradiol. Le mode d'action des xénoestrogènes est assez complexe et passerait, non seulement par une liaison puis une activation des récepteurs appelés ER et ER, mais aussi d'autres récepteurs non identifiés (7).

Les risques sanitaires pour l'homme doivent prendre en compte la globalité des effets des xénoestrogènes au sein de son corps comme son accumulation dans les tissus graisseux, tous les éléments qui peuvent justifier une augmentation des doses et de la durée du contact avec son organisme mais aussi l'impact sur son environnement, la persistance du polluant, l'écotoxicité générale et toutes les perturbations de sa chaîne alimentaire.

La liste des xénoestrogènes est en augmentation et les principaux groupes de molécules connues sont présentés dans le tableau I. Il faut aussi noter qu'il existe des oestrogènes naturels sous forme de phytoestrogènes présents notamment dans le soja ou les betteraves.

Alkylphénols (penta à nonyl)

Bisphénol A

2,4 dichlorophénol

Diethylhexyladipate

2,3,7,8 TCDD

2,3,7,8 Tetrachlorodibenzofuranne

Polychlorobiphényles

Octachlorostyrène

Hexachlorobenzène

Pentachlorophénol

Heptachlor epoxyde, Kelthane, Kepone, Malathion, Mancozebe, Maneb, Methomyl, Mirex, Parathion, Permethrine, Pyrethroides de synthèse, Toxaphène, Zineb, Ziram.

Esters de phtalates

DEHP, BBP, DBP, DPP, DHP, DPrP, DCHP, DEP

Autres

Styrène (dimères et trimères)

Benzo(a)pyrène

Pesticides

2,4,5 T, 2,4 D, Alachlor, Aldicarb, Amitrole, Atrazine, Benomyl, HCH, Carbaryl, Chlordane, Cypermethrine, DDT et métabolites, Dicofol, Dieldrine, Endosulfan, Ethylparathion, Lindane, Heptachlore,

Métaux lourds

Cadmium, Plomb, Mercure

Tableau I : composés à effets modulateurs endocriniens potentiel (D'après 8)

A l'USEPA, le groupe spécialisé "Endocrine Disrupter Screening and Testing Advisory Committee (EDSTAC) a recommandé et obtenu la mise en œuvre d'une vérification systématique des 15 000 substances chimiques communément utilisées aux plus gros tonnages aux USA afin d'évaluer les effets modulateurs endocriniens et constituer une base de donnée complète (9). Un rapport intermédiaire devrait être présenté au sénat américain en août 2000 (10).

Effets sur la faune

Les effets observés sur des animaux portent sur des dysfonctionnement de la fonction thyroïdienne chez des oiseaux et des poissons, une baisse de fertilité chez des oiseaux, des poissons ou des mammifères, une baisse du taux de fécondité chez des oiseaux, des poissons ou des reptiles, une certaine "démasculinisation" et "féminisation" chez les poissons et des gastropodes ou encore une altération de la fonction immunitaire chez des oiseaux et des mammifères

Il serait fastidieux d'énumérer toutes les observations réalisées sur des animaux dans leur biotope naturel ou lors d'expériences de laboratoire. L'excellente revue de Crisp *et al.* (3) rassemble toutes ces données jusqu'en 1997. Quelques exemples peuvent être cités :

Le TBT ou tributylétain utilisé dans les peintures antiagrégation biologique sur les coques de navires a induit des changements de sexe chez des gastéropodes marins observés sur les côtes de Grande Bretagne ou dans le pacifique à des concentrations très faibles de l'ordre du nanogramme/litre. Ces produits à base d'étain se retrouvent dans certains coquillages consommés par l'homme

Chez les poissons, les études de Purdom *et al.* en 1994 (11) ont alerté l'opinion en raison de l'observation de poissons présentant les doubles caractéristiques mâles et femelle en aval de stations d'épuration. Les substances en causes seraient des nonylphénols dont les effets estrogéniques ont été démontrés *in vitro*.

En Floride, le déversement accidentel de pesticides organochlorés dans des lacs (dicofol, DDT, DDE..) a induit des effets biologiques perceptibles chez les alligators avec en particulier une diminution de la taille du pénis, et des malformations des testicules. Ces alligators présentaient un taux très faible de testostérone et la présence d'oestrogène en plus grande proportion. Des observations similaires ont été réalisées sur des tortues de ces lacs. Chez les oiseaux se nourrissant de poissons pollués par du DDT et du DDE persistant dans les Grands lacs américains malgré l'interdiction d'usage depuis de nombreuses années, les chercheurs observent une baisse de la capacité de maturation des œufs et de succès de reproduction.

Enfin, chez les mammifères, de nombreuses expériences menées sur des hamsters, des souris ou des rats démontrent l'impact de nombre de ces polluants sur la malformation des testicules, les modifications de cycle de reproduction ou la baisse de fertilité.

Impact sur la santé humaine

Chez la femme, les risques concernent majoritairement les pathologies de l'utérus et des ovaires, le cancer du sein et les avortements spontanés. Par exemple, l'exposition périnatale au DES (Diethylstilbestrol) ou au methoxychlore modifie le cycle naturel chez les femmes adultes. Pour le moment le rôle des xénoestrogènes dans le cancer du sein n'est pas démontré mais les expériences sur animaux incitent à penser que la présence de xénoestrogènes dans notre alimentation pourrait agir et expliquer l'augmentation de l'incidence de ces cancers depuis une cinquantaine d'année (12)

Chez l'homme, on évoque les cancers des testicules et de la prostate sans que des preuves suffisantes n'existent actuellement et permettent de chiffrer le risque attribuable aux modulateurs endocriniens. De nombreuses analyses des données des banques du sperme des pays industrialisés ont permis de constater une baisse du nombre moyen de spermatozoïdes produit par homme au cours des dernières décennies avec des différences de plus de 50% entre régions et une chute d'environ 2% par an. les chercheurs établissent le lien avec la présence de micropolluants environnementaux, même si les résultats contradictoires appellent à des études complémentaires afin de confirmer cette baisse spermatique humaine et son éventuel impact sur la fertilité masculine. (13).

Compte tenu du niveau de connaissance actuel de l'impact sanitaire de la présence des polluants modulateurs endocriniens dans notre environnement, les comités d'experts publient des conclusions qui marquent à la fois le danger de la présence de ces molécules, le besoin d'amplifier considérablement les recherches mais aussi la prudence sur l'extrapolation de résultats obtenus *in vitro* ou sur animaux.

Méthodes d'évaluation

Les méthodes d'études les plus pratiquées sont rassemblées dans un rapport très complet édité par l'OCDE (4) dont une grande quantité de méthodes *in vivo* sur mammifères (rats, souris, hamsters, chiens ..) sur lesquels peuvent être examinés de très nombreux paramètres permettant d'évaluer la fonction reproductive des adultes (Poids des gonades et histopathologie, dosage sanguin des hormones sexuelles, spermatogénèse, durée de gestation, avortements, fécondité, capacité de lactation) mais aussi les effets sur des portées obtenues après exposition des parents à des polluants (Sex-ratio, poids foetal, malformations, maturation sexuelle..). Des essais sont aussi pratiqués sur poissons où l'on mesure la production de vitellogénine ou l'inversion de sexe chez les males.

In vitro les méthodes utilisent des lignées cellulaires de cancer de sein humain (MCF-7, cellules d'utérus, d'ovaires ..) mais aussi une méthode sur levure clonée avec les récepteurs oestrogène ou androgène humains.

Toutes ces méthodes sont plus ou moins fiables, complexes coûteuses et, même si l'OCDE donne des recommandations et si les spécialistes s'accordent pour dire que seules les méthodes *in vivo* sont, pour le moment celles qui donnent une réponse la plus fiable, il n'existe pas encore de batterie de méthodes analytiques standardisée. Des comparaisons, effectuées par Andersen *et al.* (14) entre plusieurs méthodes *in vitro* montrent qu'il est encore nécessaire de procéder à des essais interlaboratoires avant de disposer de méthodes validées.

Ainsi, une nouvelle gamme de tests biologiques devrait voir le jour pour le suivi de la qualité de l'environnement. Il reste que si ces méthodes analytiques sont trop délicates, longues et coûteuses, le nombre de déterminations sera restreint, les possibilités limitées à quelques laboratoires spécialisés et la fabrication de biocapteurs trop difficile. C'est pourquoi nous devrions observer une démarche similaire à ce qui a pu se produire dans le passé pour la toxicité aiguë ou la génotoxicité c'est à dire un travail de fond en laboratoire spécialisé pour isoler des fractions actives, identifier les composés en cause puis procéder à des analyses chromatographiques avec couplage GC-MS ou HPLC-MS.

Sur le plan analytique, une fois ces molécules et familles de molécules suspectes identifiées l'analyse traditionnelle permet de déceler les zones contaminées et de procéder aux traitements d'élimination. Dans les autres cas (mélanges, effets synergiques, métabolites, sous-produits du traitement) les analyses biologiques restent les seules possibles. Compte tenu de l'augmentation des programmes de recherche sur ce thème actuellement dans le monde, nous devrions voir apparaître de nouvelles méthodes analytiques mais aussi un consensus sur les techniques les plus fiables au coût optimum.

Conclusions

Une grande quantité de produits chimiques de synthèse qui polluent l'environnement et quelques substances naturelles ont la capacité de modifier le fonctionnement hormonal. Des phénomènes de baisses de fertilité, des malformations, des féminisations et des baisses du taux d'immunité ont été observés sur des animaux intoxiqués et des effets similaires ont été démontrés sur des animaux de laboratoire. Chez l'homme, des effets similaires ont déjà été constatés avec des molécules telles que le Diethylstilbestrol.

Chacun de nous est concerné car les polluants d'une région du globe se diffusent dans toutes les autres régions notamment via les animaux et l'alimentation. Dans certains cas les animaux et l'homme ont sûrement atteint la limite de leur capacité à inactiver ou détoxifier ces molécules. Il faut intensifier nos recherches pour faire l'inventaire des produits actuellement utilisés ou persistants dans l'environnement, standardiser des méthodes rapides et fiables d'évaluation, déterminer une liste internationale de polluants prioritaires et examiner leur présence dans notre environnement pour mettre en place les procédures nécessaires à leur élimination et empêcher leur dispersion.

En France, le Conseil Supérieur d'Hygiène Public de France a publié un avis le 8 décembre 1998 donnant, notamment, des recommandations sur la nécessité de développer des programmes de recherche coordonnés traitant des aspects expérimentaux, toxicologiques, épidémiologiques et cliniques des effets de l'environnement sur la fonction de reproduction, de mettre en place des outils pour mesurer les expositions et les effets des facteurs de risque suspectés et organiser la surveillance épidémiologique des pathologies liées et mettre en place une veille sociologique.

Constatant que les phytoestrogènes du soja consommés par les populations asiatiques auraient un effet protecteur contre le cancer du sein alors que les traitements hormonaux substitutifs chez les femmes ménopausées augmentent le risque de ce même cancer, il importe absolument d'éviter la "chimiphobie irrationnelle" en favorisant des études fiables et rigoureuses permettant la définition objective des risques liés à la pollution de notre environnement par des polluants persistants.

Bibliographie

- 1- Bitman J., Cecil H.C. (1970) Estrogenic activity of DDT analogs and polychlorobiphenyls. *J. Agr. Food Chem.*, 18, 1108-1112
- 2- Fry D.M., Toone C.K. (1981) DDT-Induced feminization of gull embryos. *Science*, 213, 21, 922-924
- 3- Crisp T.M., Clegg E.D., Cooper R.L., Anderson D.G. *et al.* (1997) Special report on environmental endocrine disruption : an effects assessment and analysis. U.S.E.P.A. Ed., EPA/630/R-96/012
- 4 -OCDE (1997) Draft detailed review paper: appraisal of test methods for sex-hormone disrupting chemicals. OCDE Ed. 290 p., www.oecd.org/ehs
- 5 -Environment Agency (1998) Endocrine-disrupting substances in the environment: What should be done ?. Consultative report. www.environment-agency.gov.uk
- 6 -WWF : site internet www.wwfcanada.org/hormone-disruptors.htm
- 7 -Gillesby B.E., Zacharewski R. (1998) Exoestrogens: mechanisms of action and strategies for identification and assessment. *Environm. Toxicol. Chem.*, 17, 1, 3-14
- 8 - Pontius F.W. (1996) SDWA Advisor on CD Rom, AWWA Editeur
- 9 -Renner R. (1998) Draft report urges inclusion of mixtures in endocrine disrupter testing program. *Environm. Sci. Technol.*, 4, 168 A
- 10 -Hileman B. (1998) Chemical testing plan draws praise. *Chem. Engin. News*, 12 octobre, 18

- 11 - Purdom C.E., Hardiman P.A., Bye V.J., Eno N.C., Tyler C.R., Sumpter J.P. (1994) Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works. *Chem. Ecol.*, 8, 275-285
- 12 -Davis D.L., Bradlow L. (1995) Estrogènes et cancer du sein. *Pour la science*, 218, 12, 74-80
- 13 -Jégou B. (1996) Les homme deviennent-ils moins fertiles?. *La Recherche*, 288, 6, 60-65
- 14 - Andersen H.R., Andersson A.M., Arnold S.F., Autrup H., Barfoed M., Beresford N.A. *et al.* (1999) Comparison of short-term estrogenicity tests for identification of hormone-disrupting chemicals. *Environm. Health Persp.*, 107, suppl 1, 89-108