



HAL
open science

Les perturbateurs endocriniens : enjeux pour le consommateur et défis scientifiques

Catherine Viguié, Nicole Picard-Hagen, Véronique V. Gayrard-Troy

► To cite this version:

Catherine Viguié, Nicole Picard-Hagen, Véronique V. Gayrard-Troy. Les perturbateurs endocriniens : enjeux pour le consommateur et défis scientifiques. Carrefours de l'Innovation Agronomique, Institut National de Recherche Agronomique (INRA). UMR Toxicologie Alimentaire (1331)., 2012, Toulouse, France. hal-01191340

HAL Id: hal-01191340

<https://hal.science/hal-01191340>

Submitted on 1 Sep 2015

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

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

Les perturbateurs endocriniens : enjeux pour le consommateur et défis scientifiques

C. Viguié¹, N. Picard-Hagen¹, V. Gayrard¹

¹ UMR 1331 Toxalim, INRA INP, ENVT, 23 chemin des capelles, F-31076 Toulouse cedex 3

Correspondance : c.viguie@envt.fr

Résumé

Les perturbateurs endocriniens potentiellement associés à des problèmes de santé publique présentent une multitude d'enjeux sociétaux, législatifs et sanitaires. Actuellement aucune définition officiellement validée ne précise la nature de ces substances et leur cadre d'évaluation peut varier en fonction de leurs usages. Les systèmes endocriniens participent à la régulation de la plupart des fonctions biologiques et ils sont des acteurs clefs du développement et du maintien de l'homéostasie de l'organisme. Des perturbations de leur fonctionnement seront donc associées à de multiples effets sur la santé y compris de façon transgénérationnelle. La complexité de la régulation des différents systèmes hormonaux, de leurs interactions et de leurs effets pour maintenir l'homéostasie de l'organisme est une source de défis scientifiques majeurs. A ceci viennent s'ajouter les notions de faibles doses, de fenêtre de susceptibilité, de relation dose/réponse peu classiques dites non monotones (courbes dose/ réponse en U par exemple) et d'effets différés dans le temps rendant les investigations toxicologiques et épidémiologiques encore plus complexes et parfois en marge des approches de toxicologie classiques. Cette complexité souligne la nécessité d'élaborer des stratégies d'études pluridisciplinaires intégrant tous les niveaux de régulation du vivant jusqu'aux approches de populations.

Mots clefs : perturbateurs endocriniens, toxicologie, dangers pour la santé-évaluation

Abstract : Endocrine disruptors : issues for the consumer and scientific challenges

Endocrine disruptors are very likely to be associated to public health concerns and to numerous society, sanitary and reglementary issues. Currently, the official definition that would give the exact nature and properties of this type of substances is still debated. Furthermore, the rules for reglementary risk assessment are defined according to the uses of the substances and not to their potential deleterious effects so that endocrine disruptors can be evaluated through different instances. Endocrine systems are involved in the regulation of all biological functions and they are key actors of the organism development and the maintenance of its homeostasis. Disruption of their regulation will thus have multiple effects on health. The complexity of the endocrine regulatory pathways as well as of their interactions and their mechanisms of action on other biological functions rise many challenges for the scientific community. This is all the more complicate as scientists have to deal with so far poorly investigated concepts such as low doses, non classical, non monotonic dose/response relationship (for example U shape dose/response curve) and window of susceptibility. All these factors of complexity highlight the need for multidisciplinary research strategies integrating all the levels of regulation of the living animals and up to the population level.

Key words : endocrine disruptors, toxicology, health danger

Classiquement, les hormones, acteurs clefs des systèmes endocriniens, sont définies comme des signaux chimiques de nature endogène sécrétés dans la circulation sanguine pour agir à distance sur des tissus cibles dont l'activité est régulée par ces hormones. Les systèmes endocriniens sont des déterminants majeurs du maintien de l'homéostasie de l'organisme, de son adaptation à des conditions environnementales variables et de la capacité des individus à se reproduire.

1. Les perturbateurs endocriniens : quelle définition ?

Dans les dernières décennies, le développement, l'utilisation de plus en plus intense de produits chimiques a conduit nos sociétés industrialisées à faire face à de nouveaux enjeux sociétaux, scientifiques et sanitaires pouvant déboucher sur des problèmes de santé publique. La plupart de ces produits ont été initialement développés sans réelle évaluation de leurs potentiels en tant que facteur de risque pour l'environnement et/ou la santé. Un effet surprenant de la dissémination de ces produits dans l'environnement fut évoqué dès les années soixante à partir d'observation d'altérations de processus biologiques, notamment la reproduction, sur la faune sauvage : modifications de caractères hormono-dépendants avec des conséquences non seulement sur les populations d'animaux adultes mais également sur leur descendance (Carson, 1962). Pour la première fois, la notion de perturbation endocrinienne par des facteurs environnementaux anthropogéniques était clairement évoquée. Depuis, des données aussi bien expérimentales qu'observationnelles se sont accumulées et sont venues étayer l'hypothèse selon laquelle des contaminants environnementaux et/ou alimentaires pourraient être associés à des effets délétères sur les systèmes hormonaux des animaux et de l'homme.

Une prise de conscience des pouvoirs publics autour de cette problématique des « perturbateurs endocriniens » (PE) a donc été amorcée notamment pour faire face à l'avalanche de données suggérant un déclin de la fertilité chez l'Homme dans les pays industrialisés. Toutefois, bien que certaines instances notamment au niveau de l'Union Européenne aient classé les perturbateurs endocriniens parmi les substances hautement préoccupantes (Réglementation REACH), l'évaluation de ces produits souffre de deux handicaps majeurs : (i) une absence de définition claire et consensuelle du perturbateur endocrinien et (ii) un manque de modèles d'études validés reconnus et pertinents pour l'analyse du risque pour la santé humaine des perturbateurs endocriniens, notamment pour les fonctions autres que la reproduction.

Une définition temporaire des PE a été établie au niveau des instances internationales (Encarts 1 et 2). Une distinction claire est faite entre les substances ayant des propriétés de nature à modifier une fonction hormonale (Endocrine Active Substance) et la notion de perturbateur endocrinien. Ainsi qu'on peut le noter dans l'encart 2, la notion de « perturbateur endocrinien » est indissociable de celle d'effets délétères. De fait, la classification de perturbateur endocrinien repose donc sur la preuve d'une conséquence négative sur la santé due à la perturbation hormonale constatée.

"In this report, 'Endocrine active substance (EAS)' is used to describe any chemical that can interact directly or indirectly with the endocrine system, and subsequently result in an effect on the endocrine system, target organs and tissues. Whether the effect is adverse ("disruptive") or not will depend on the type of effect, the dose and the background physiological situation."

Encart 1 : Définition des substances actives sur les systèmes endocriniens par l'Agence Européenne de Sécurité Alimentaire. Scientific report of the Endocrine Active Substances Task Force, 2010, European Food Safety Authority, Parma, Italy

“An endocrine disrupter is an exogenous substance or mixture that alters function(s) of the endocrine system and consequently causes adverse health effects in an intact organism, or its progeny, or (sub)populations.”

Encart 2 : Définition d'un perturbateur endocrinien selon les instances de l'organisation mondiale de la santé. International Programme on Chemical Safety, 2002. Global Assessment of the State-of-the-Science of Endocrine Disruptors. World Health Organization, Geneva, Switzerland.

L'adoption d'une définition commune des perturbateurs endocriniens demeure donc une question clef au cœur du débat sur la réglementation de ces substances et représente de fait un enjeu important pour la santé publique. Une définition officielle fondée sur des critères scientifiques devrait être proposée par une commission spécialisée de l'EFSA d'ici décembre 2013.

2. Les perturbateurs endocriniens : des enjeux législatifs majeurs

La réglementation de l'usage des PE est d'autant plus difficile que ces substances peuvent être liées à une multitude d'usages différents (médicament, phytosanitaire, plasturgie, cosmétique..). L'usage d'une substance conditionne en effet la réglementation dont elle relève et les instances chargées de son évaluation. Les enjeux législatifs autour de la réglementation de ces substances sont importants pour les acteurs de tous les secteurs industriels et agricoles. Par exemple, le règlement européen régissant les pesticides et celui sur les biocides prévoient un retrait du marché des substances qualifiées perturbatrices dès 2013. Le règlement européen n°1107/2009 relatif à la mise sur le marché et l'évaluation des produits phytopharmaceutiques fixe lui un dispositif transitoire pour les PE en attendant l'établissement de la définition officielle prévue pour 2013. D'ici à 2013, le principe est qu'une substance phytosanitaire ne peut pas être approuvée si elle est considérée comme ayant des effets perturbateurs endocriniens, à moins que l'exposition de l'homme à cette substance soit négligeable.

Un règlement définissant les conditions de mise sur le marché et d'utilisation des produits biocides (insecticides, désinfectants et répulsifs), devrait entrer en vigueur d'ici fin 2013 (règlement n°528/2012). Ce règlement prévoit d'interdire les substances les plus dangereuses notamment celles reconnues Cancérigène, Mutagène ou Reprotoxiques (CMR) et celles susceptibles d'induire des problèmes de fertilité.

Le règlement Reach régissant la mise sur le marché et l'utilisation des substances chimiques produites avec un tonnage élevé (dérivés d'activités industrielles diverses) a classé les PE parmi les substances extrêmement préoccupantes. Chaque substance est évaluée au cas par cas. Les PE doivent pouvoir être définis de manière précise et détectés par des tests validés pour conduire à leur exclusion du fait de leur caractère CMR.

3. Les axes de régulation endocriniens: des acteurs clefs de l'équilibre des organismes animaux et de leur développement et des cibles multiples des xénobiotiques

3.1. Hormones et glandes endocrines

La définition des PE qui se profile ne présume en rien des mécanismes d'action potentiels sur les fonctions endocrines. Ainsi à l'heure actuelle, on considère qu'un PE peut interagir avec absolument tous les niveaux de régulation d'une fonction endocrine. Dans ce contexte, la notion de PE dépasse très largement les concepts d'agoniste et/ou d'antagoniste qui présupposent une interaction de la substance avec un ou des récepteurs des hormones.

Classiquement, les hormones sont définies comme des signaux chimiques de nature endogène secrétés dans la circulation sanguine pour agir à distance sur des tissus cibles dont l'activité est régulée par ces hormones. Il a longtemps été considéré que la synthèse de ces facteurs chimiques était le fait de types cellulaires précis au sein d'organes spécialisés, « les glandes endocrines », tels que la thyroïde, les gonades, les glandes surrénaliennes, les parathyroïdes, le pancréas, l'hypophyse ; Figure 1). Cependant, il est très vite apparu que des organes qui jusqu'alors n'étaient pas considérés à proprement parlé comme des glandes endocrines pouvaient également synthétiser et sécréter des hormones. Le foie par exemple est un site important de production d'Insuline-Like Growth Factor (IGF), hormone agissant comme un facteur de croissance, le tissu adipeux produit lui la leptine une hormone clef dans la régulation du métabolisme et dans le dialogue entre métabolisme et régulation endocrinienne. La multiplicité des tissus pouvant produire des facteurs hormonaux augmente d'autant le nombre de cibles potentielles des PE.

Globalement, les systèmes endocriniens sont les garants du maintien de l'équilibre de l'organisme. Ils régulent en effet toutes les grandes fonctions biologiques (croissance, métabolisme, développement, reproduction...). Ils sont également au cœur de transitions biologiques importantes telles que la puberté, la grossesse et l'allaitement, le vieillissement. Enfin ces systèmes sont critiques pour le développement foetal faisant de cette étape de la vie une période d'extrême susceptibilité à toute perturbation hormonale.

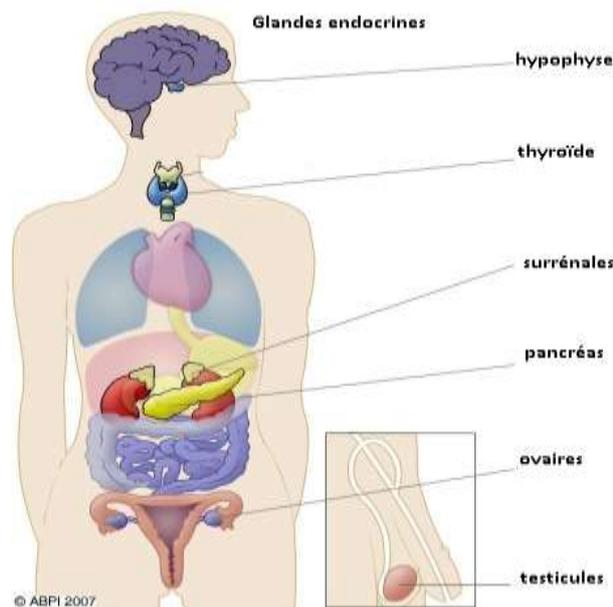


Figure 1 : Représentation schématique des principales glandes endocrines chez l'être humain.

3.2. Les perturbateurs endocriniens : agonistes/antagonistes des hormones

Les hormones agissent sur les tissus cibles par le biais de récepteurs cellulaires. L'activité et la fonctionnalité de ces récepteurs conditionnent la capacité de l'hormone à réguler l'activité de ce tissu et donc la sensibilité de l'organe cible. Ces systèmes de récepteurs sont en principe hautement spécifiques des hormones qui sont leurs ligands naturels. Toutefois cette spécificité est rarement absolue et un même récepteur peut lier plusieurs types d'hormones voire des substances exogènes. Les interactions entre substances exogènes (xénobiotiques) et des récepteurs des hormones et/ou des voies de signalisation associées sont un des premiers mécanismes d'action qui a été envisagé pour les PE. Ainsi, les principaux tests validés pour l'évaluation des perturbateurs endocriniens, notamment par l'Organisation de Coopération et de Développement Economiques (OCDE), visent à évaluer le potentiel

de liaison des molécules à des récepteurs des hormones stéroïdes sexuelles (œstrogène, androgène notamment) et leurs effets agoniste ou antagoniste. Par exemple, le bisphénol A (BPA) molécule clef de l'industrie du plastique et polluant alimentaire majeur du fait de son utilisation pour le conditionnement de denrées alimentaires est décrit de par sa capacité de liaison à des récepteurs des œstrogènes comme un œstrogénomimétique (Chapin *et al.*, 2008), c'est-à-dire une substance pouvant reproduire les effets des œstrogènes naturels. Cette même molécule est aussi décrite comme un antagoniste potentiel des hormones thyroïdiennes (Zoeller, 2010) qui pourrait agir au niveau du récepteur de ces hormones en augmentant le recrutement dans la cellule de facteurs agissant comme des corépresseurs du récepteur (Heimeier *et al.*, 2009 ; Moriyama *et al.*, 2002). Certains dérivés des polychlorobiphényles (PCB), polybromodiphényléthers (PBDE) et phtalates sont décrits comme des ligands potentiels des récepteurs nucléaires des hormones thyroïdiennes (Zoeller, 2010).

3.3. Les perturbateurs endocriniens, agents de modulation de la régulation neuroendocrinienne

La régulation des fonctions endocrines repose sur un axe de régulation dont l'architecture est commune à l'ensemble des systèmes endocriniens (Figure 2). Cette organisation repose sur des interactions permanentes entre le cerveau, notamment l'hypothalamus, et une glande endocrine majeure située à la base du cerveau qui constitue la plaque tournante de cette régulation, l'hypophyse (Larsen *et al.*, 2003).

Le cerveau intègre les stimuli internes ou externes et les traduit en termes de synthèse et sécrétion de neurohormones (hormones produites par des cellules nerveuses) au niveau de l'hypothalamus. Ces neurohormones sont directement acheminées à l'hypophyse, leur organe cible, grâce à un réseau vasculaire particulier, le système porte hypothalamo hypophysaire. Au niveau de l'hypophyse, elles peuvent inhiber ou plus fréquemment stimuler la synthèse et la sécrétion des hormones hypophysaires qui vont en retour contrôler l'activité de tissus et glandes endocrines plus périphériques et/ou directement des fonctions biologiques.

Deux systèmes hormonaux échappent toutefois à cette organisation. Il s'agit des systèmes à ocytocine et à vasopressine. Ces neurohormones sont en effet directement sécrétées dans la circulation sanguine générale à partir de la post hypophyse. Les hormones produites par l'hypophyse et les glandes endocrines périphériques vont pouvoir agir via leur récepteur selon des mécanismes de rétrocontrôles sur l'hypothalamus et/ ou l'hypophyse afin de garantir le maintien de l'équilibre du système. Il est donc facile de concevoir qu'une substance interagissant avec le ou les récepteurs de ces différents types d'hormones puisse induire un déséquilibre des axes de régulations à différents niveaux.

Très peu d'études se sont focalisées sur l'impact éventuel de perturbateurs endocriniens sur cette étape de régulation hypothalamo-hypophysaire. L'axe gonadotrope qui gère la fonction de reproduction à travers la régulation de sa neurohormone GnRH (Gonadotrophin releasing hormone) est celui qui a fait l'objet de la plupart des investigations dans ce domaine avec à la fois des approches modélisatrices *in vivo* (Collet *et al.*, 2010) des études histologiques sur l'expression de neuromédiateurs régulant les neurones à GnRH et/ou l'expression de récepteurs à l'œstradiol (Mahoney et Padmanabhan, 2010 ; Patisaul *et al.*, 2009) et des modèles *in vitro* de neurones à GnRH en culture (Pillon *et al.*, 2012).

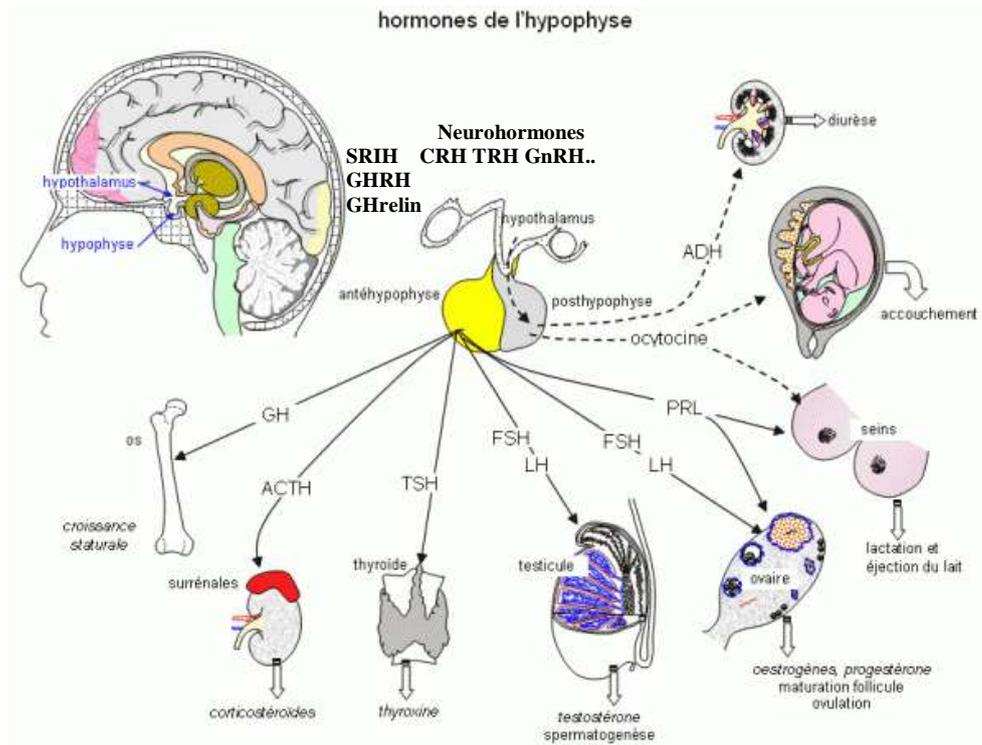


Figure 2 : Représentation schématique des principaux axes de régulation neuroendocrinienne

3.4. Les perturbateurs endocriniens, des agents de modulation du transport et du métabolisme des hormones

Une fois sécrétée dans la circulation sanguine, la plupart des hormones périphériques sont prises en charge par des protéines de transport pouvant exprimer différents degrés d'affinité et de spécificité pour une hormone donnée (Larsen *et al.*, 2003). Ces systèmes de transport lorsqu'ils impliquent des protéines de forte affinité telles que la SHBG (Sex Hormone Binding Globulin) pour les stéroïdes sexuels, la CBG (Corticosteroid Binding Globulin) pour le transport des hormones de la glande surrénalienne notamment le cortisol, la TBG (Thyroxine Binding Globulin) et/ou la transthyréthine pour les hormones thyroïdiennes, sont considérés comme des acteurs clés de la régulation des fonctions endocrines. Ces transporteurs contribuent en effet à la régulation du catabolisme des hormones, leur expression est en général associée à un temps de demie vie plus long de l'hormone dans la circulation sanguine. De plus, ils limitent la fraction libre en hormone qui est la fraction bioactive, tout en constituant un réservoir d'hormone relativement stable. De même que pour les récepteurs des hormones, la spécificité des protéines de transport n'est pas absolue et certains xénobiotiques peuvent se lier à ces protéines et ainsi entrer en compétition avec les hormones endogènes. Un certain nombre de PE potentiels ou reconnus sont décrits comme des ligands de protéines de transport. Par exemple, les métabolites hydroxylés des PBDE et des PCB et le tetrabromobisphenol A utilisés pour augmenter la résistance au feu de différents composés sont décrits comme des ligands des protéines de liaison des hormones thyroïdiennes (Marchesini *et al.*, 2008 ; Meerts *et al.*, 2000).

Enfin, la dégradation de ces hormones et leur élimination peuvent également être modulées par des substances exogènes à travers notamment l'induction de systèmes enzymatiques (Kelly, 2000). Par exemple, une induction de systèmes enzymatiques hépatiques de conjugaison (sulfoconjugaison,

glucuroconjugaison) peut conduire à une élimination accrue des hormones thyroïdiennes. Chez certaines espèces sensibles, notamment des espèces n'exprimant pas ou peu des protéines de transport spécifiques des hormones thyroïdiennes, cela peut conduire à une diminution des concentrations circulantes en hormones qui va elle-même être à l'origine de la mise en place par l'organisme d'un ensemble de mécanismes compensateurs tout au long de l'axe de régulation de la fonction visant à augmenter la synthèse et la libération de ces hormones. Un tel mécanisme a été décrit chez le rat de laboratoire pour le fipronil, un insecticide très largement utilisé en médecine vétérinaire et en phytosanitaire. (Leghait *et al.*, 2009 ; Roques *et al.*, 2012).

4. Les Perturbateurs endocriniens : des enjeux individuels aux enjeux populationnels

La notion d'effet délétère est essentielle à la définition des PE. Ces conséquences négatives peuvent se décliner à différents niveaux, de l'individu à une population notamment lorsqu'il s'agit de systèmes endocriniens impliqués dans la reproduction. Le consommateur peut donc percevoir le risque associé à des pollutions par des PE à différents niveaux : du risque pour la santé humaine au risque écotoxicologique potentiellement associé au déclin d'une espèce dont la fertilité serait globalement affectée (Hutchinson *et al.*, 2000).

Le risque écotoxicologique est en effet réel et avéré pour certaines espèces de vertébrés et invertébrés en milieu aquatique (Kloas *et al.*, 2009). Ainsi la pollution et les PE sont incriminés dans les altérations de la différenciation sexuelle de certains reptiles aquatiques chez qui la différenciation sexuelle est sous le contrôle de la température (Guillette et Gunderson, 2001) des phénomènes d'imposex, imposition de caractères mâles chez des individus femelles, chez des gastéropodes prosobranches lors d'exposition au tributyl-étain (composé de peintures antisalissures pour bateaux - par exemple, TBT) (Ketata *et al.*, 2008), des inversions du sex ratio dans des populations de poissons (Kloas *et al.*, 2009). Une étape clef du développement de certains amphibiens, la métamorphose du têtard en adulte, est sous contrôle strict des hormones thyroïdiennes. Il est donc envisageable qu'un rejet dans l'environnement de perturbateurs thyroïdiens potentiels puisse à terme lourdement impacter la survie de ces espèces (Carey et Bryant, 1995).

En ce qui concerne le risque pour la santé humaine, les effets délétères peuvent s'exprimer de multiples façons, des troubles du développement physique et neurocognitif, aux troubles de la puberté et de la fertilité, à l'augmentation de l'incidence de cancers à déterminisme hormonal (certains cancers du sein, de la thyroïde ou de l'appareil génital...). Cependant toutes ces pathologies sont multifactorielles et peuvent procéder d'un développement insidieux conduisant à des effets différés dans le temps voir transgénérationnels. Par exemple, l'utilisation du diethyl stilbestrol (DES), un puissant œstrogène de synthèse, à des fins thérapeutiques pendant la grossesse est actuellement reconnue comme un facteur causal du développement de certains cancers de l'appareil génital chez des jeunes femmes dont les mères ont été traitées au DES. Le rôle des hormones thyroïdiennes sur le développement du cerveau est bien établi depuis qu'un lien a été fait entre le syndrome de crétinisme et des hypothyroïdies sévères pendant la grossesse. Les effets de modifications subtiles et subcliniques, donc, le plus souvent non diagnostiquées, de la fonction thyroïdienne pendant la grossesse sont beaucoup plus difficiles à étudier. Plusieurs études concourent à établir un lien entre une hypothyroxinémie (niveaux faibles de thyroxine circulante) chez les femmes enceintes et les fonctions neurologiques de leurs descendants (Zoeller *et al.*, 2002). En dépit de ce constat, les perturbateurs thyroïdiens font l'objet de beaucoup moins d'étude que les agents reprotoxiques et le cadre conceptuel de leur évaluation demeure imprécis et très largement insuffisant.

Ces enjeux pour le consommateur sont d'autant plus importants que ces effets PE sont le plus souvent liés à une contamination insidieuse qu'il ne peut pas appréhender/maîtriser et touchant parfois des pratiques de vie courantes ou essentielles (se nourrir par exemple) et qu'il y aurait un risque réel pour la descendance. Ces aspects peuvent conduire à une perception exacerbée du risque de la part du consommateur, peu ou mal informé. La voie alimentaire est une voie majeure de dissémination des PE par contamination de la chaîne alimentaire à tous les niveaux de production. Beaucoup de PE potentiels (Tableau 1) appartiennent à la catégorie des pesticides et peuvent donc avoir des usages phytosanitaires et peuvent à ce titre se retrouver dans la chaîne alimentaire. De plus des agents pharmaceutiques peuvent être à l'origine d'une contamination environnementale non négligeable notamment à travers la pollution de l'eau et ainsi se retrouver dans la chaîne alimentaire. C'est le cas notamment de stéroïdes sexuels synthétiques à visée contraceptive. Des composés industriels, tels que le BPA et les phtalates, peuvent entrer dans la chaîne alimentaire via des processus de transformation et/ou de conditionnement des denrées alimentaires.

Le lait maternel est souvent une source de contamination du très jeune enfant surtout pour les substances de nature lipophiles. Ces types de contamination peuvent expliquer les expositions chroniques et à bas bruits affectant tous les âges. En matière de PE, il est fréquent que des effets sur une fonction hormonale soient d'autant plus délétères qu'ils s'inscrivent dans la chronicité notamment quand la fonction altérée régule des processus biologiques sur le long terme tel que le développement.

PRINCIPALES SOURCES DES PERTURBATEURS ENDOCRINIENS CONFIRMÉS OU POTENTIELS	
<i>Produits pharmaceutiques</i>	DES (Distilbène), éthynil-œstradiol (contraceptif), kétokonazole (traitement du pityriasis, pommade)...
<i>Produits dentaires</i>	Bisphénol A
<i>Produits vétérinaires</i>	DES, trenbolones (augmentent la masse musculaire)...
<i>Produits de combustion</i>	Dioxines, furanes, HAP (hydrocarbure aromatique polycyclique)...
<i>Produits à usage industriel ou domestique</i>	Phtalates, bisphénol A, styrène (polystyrène)... Polybromodiphényl éthers (PBDE), polychlorobiphényles, organoétains... Alkylphénols, parabens (conservateurs dans les produits de beauté)... Arsenic, cadmium...
<i>Produits phytosanitaires</i>	Organochlorés (DDT, chlordécone...) Vinchlozoline (retirée en avril 2007), linuron (herbicide)...
<i>Phytoestrogènes</i>	Isoflavones (soja, trèfle)...
<i>Mycotoxines</i>	Zéaralénone...
Source : L. Mûligner, P. Kählel : Perturbateurs endocriniens, concepts et réalité. Archives des maladies professionnelles et de l'environnement 2008	

Tableau 1 : Principaux perturbateurs endocriniens d'origine environnementale, naturelle (phytoestrogènes) et/ou alimentaire.

5. Les enjeux et défis scientifiques des perturbateurs endocriniens.

5.1. Complexité des régulations endocriniennes

Les paragraphes précédents donnent un aperçu de la complexité de la régulation des fonctions endocrines et de leurs multiples effets sur l'organisme. Cette complexité est d'autant plus importante qu'aucun de ces systèmes n'agit comme un acteur isolé et que leur équilibre repose également en partie sur leurs interactions et le développement de stratégie compensatoire ou d'évitement de l'organisme. Il est donc extrêmement difficile de prédire l'ensemble des conséquences fonctionnelles sur une ou des fonctions endocrines d'un phénomène initial, qui va solliciter une cascade d'évènements biologiques. Le même niveau de complexité se retrouve lorsqu'il s'agit d'évaluer les conséquences finales en termes d'homéostasie tissulaire, donc les effets néfastes pour la santé, pré-requis dans la définition des PE, d'une modification d'un équilibre hormonal. Un même mécanisme initial va pouvoir être associé à de multiples effets au niveau de différents organes et/ou fonctions. Ainsi, un certain nombre de composés oestrogénomimétiques sont décrits comme pouvant avoir des effets sur le tractus génital, le comportement, la reproduction, des processus de cancérogénèse.

Afin de pouvoir faire face à cette complexité, des systèmes d'étude *in vitro* permettant de cibler de façon plus spécifique un type de mécanisme donné ont été établis. Par exemple, on dispose à l'heure actuelle de modèle de culture de neurones à GnRH permettant d'appréhender les effets possible sur la différenciation de ces neurones de l'axe gonadotrope, de cultures d'hépatocytes pour étudier le métabolisme de certaines hormones, de cellules hypophysaires, d'approche en cristallographie basée sur la structure tridimensionnelle des récepteurs des hormones permettant de prédire *in silico* la capacité d'une molécule à se lier à ces récepteurs (Delfosse *et al.*, 2012)... Toutefois, la réponse finale requiert des approches intégratives incluant tous les niveaux de régulation et donc des approches nécessairement *in vivo*. Une question clef à ce niveau réside dans le choix du modèle le plus pertinent par rapport à l'homme en termes de régulation de la fonction étudiée mais également en termes de métabolisation du ou des toxiques évalués. Ainsi, les modèles rongeurs, modèles de référence en toxicologie, ne sont pas nécessairement les mieux adaptés. Par exemple, en ce qui concerne la fonction thyroïdienne, les rongeurs sont souvent décriés du fait de leurs disparités par rapport à l'être humain en ce qui concerne les protéines de transport spécifiques des hormones thyroïdiennes et/ou l'ontogénie de la fonction thyroïdienne.

Une stratégie pour aborder cette complexité repose dans des approches dites à haut débit et sans hypothèse *a priori*. Ces approches nées des énormes progrès technologiques dans le domaine de la biologie moléculaire et analytique ont pour principe de base de passer au crible l'ensemble d'un processus biologique à une échelle moléculaire et à déterminer des profils d'expression différentielle dans des organes et/ou des cellules en culture en réponse à une exposition à un ou des toxiques. Par exemple, ces méthodes permettent d'avoir une vue d'ensemble des modifications générées par un traitement au niveau de l'expression d'un génome (transcriptomique), ou de profils métaboliques globaux (métabolomique), ou de profils d'expression de protéines (protéomique), ou de modifications de type épigénomique ... Pour aussi prometteuses qu'elles puissent être, ces approches se heurtent encore à des difficultés notamment du point de vue de l'interprétation des résultats (analyse statistique adaptée au traitement d'un très grand nombre de données sur un nombre limité d'individus, analyse des liens possibles entre modifications de profils d'expression et réseaux fonctionnels).

Enfin, elles peuvent générer des hypothèses de travail très élaborées et intégrées (réseaux) mais ne permettent que très rarement d'établir un lien fonctionnel en l'absence d'évaluation de paramètres biologiques ultimes telle que la modification d'une fonction biologique.

5.2. Les effets dose (concentration) / réponse non monotones

La toxicologie classique repose sur des concepts de proportionnalité entre les doses et les effets (« la dose fait le poison »). Les relations dose-réponse dites monotones à la base de ces concepts sont faciles à étudier et à modéliser et permettent de déterminer des variables quantitatives caractérisant les effets d'un toxique sur un paramètre biologique donné, sous forme de doses ou de concentrations (EC₅₀ ou IC₅₀, DL₅₀...) telle que la puissance d'une molécule (dose ou concentration permettant d'atteindre 50% des effets maximaux) ou d'effet maximal possible (efficacité de la molécule ; Figure 3)

Cependant dans le cadre de l'évaluation des PE, des phénomènes de relation dose-réponse non monotones sont décrits (Welshons *et al.*, 2003). Ces phénomènes se caractérisent par une relation dose-effet avec perte de la relation de proportionnalité entre les effets et les doses/concentrations (Figure 3). Ce type de relation est beaucoup plus difficile à appréhender, nécessite d'évaluer beaucoup plus de doses et requiert un traitement statistique complexe. En outre, les procédures en vigueur dans les évaluations du risque et les démarches normatives visant à établir des valeurs toxicologiques de référence (VTR) telle que la « No Observed Adverse Effect Level » NOAEL par exemple ne peuvent s'appliquer dans le cadre de ce type de réponse ou de faibles doses peuvent avoir des effets plus importants que des doses fortes ou moyennes.

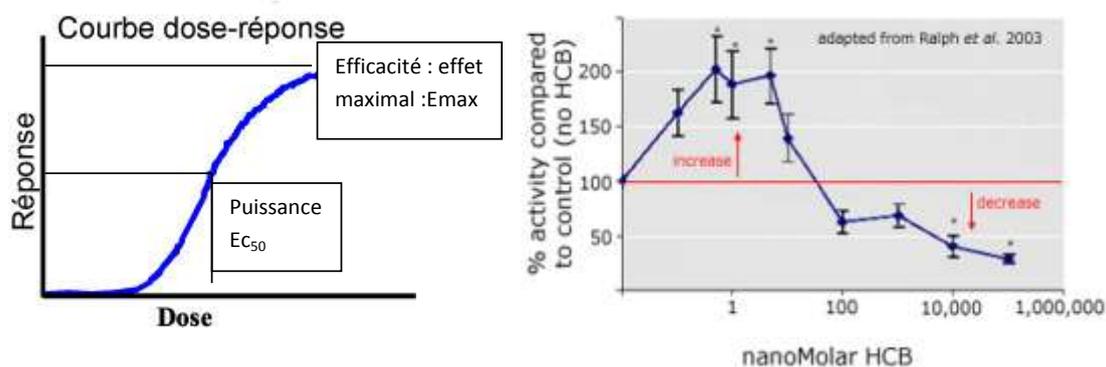


Figure 3 : Représentation schématique d'une relation dose réponse dite monotone (les effets augmentent avec la dose) à gauche et exemple d'une courbe dose réponse non monotone d'un perturbateur endocrinien sur un marqueur comportemental à droite.

La relation dose-réponse revêt donc une importance capitale dans l'analyse des toxiques endocriniens. Cependant, les concentrations ambiantes des toxiques endocriniens sont très faibles, ce qui explique l'utilisation de l'expression " effets à faible dose " dans les études sur la perturbation endocrinienne, et les relations dose-réponse qui ont été établies pour de perturbateurs endocriniens présumés l'ont été à partir de concentrations beaucoup plus élevées que celles normalement présentes dans l'environnement. Donc, l'établissement de corrélation entre une contamination probable (présence de facteurs de risque de contamination) et/ou avéré (exposition interne évaluée) par des perturbateurs endocriniens et la manifestation d'effets indésirables à caractère hormono-dépendants chez les êtres humains constitue une étape incontournable et un des enjeux majeurs de l'évaluation des perturbateurs endocriniens.

5.3. L'approche épidémiologique : enjeux et défis

La constatation de l'augmentation forte de l'incidence de certaines pathologies pouvant avoir un déterminisme hormonal dont des cancers, au-delà du vieillissement de la population et des biais de diagnostic (amélioration de la prise en charge médicale), à laquelle s'ajoute un questionnement fort

sur une possible diminution de la fertilité humaine et les soupçons qui pèsent sur un certain nombre de substances chimiques présentes dans l'environnement conduisent à mettre en cause les perturbateurs endocriniens. Face à ce constat, certains scientifiques cherchent dans les approches épidémiologiques (cohorte ou cas témoin) un moyen d'établir une relation de cause à effet entre une exposition à des perturbateurs endocriniens potentiels (effets démontrés en conditions expérimentales) et ces pathologies. Toutefois, s'il est clair que l'épidémiologie peut sans aucun doute permettre d'établir des corrélations, l'établissement de lien de causalité avec ce type d'approche est beaucoup plus difficile et doit répondre à des critères stricts.

La temporalité des événements observés est un obstacle majeur. Il est en effet bien établi que les effets des PE peuvent être liés à une exposition durant une période critique et s'exprimer de façon différée dans le temps. Ainsi, les approches d'épidémiologie cherchant à relier une exposition à un temps donné avec un effet contemporain peuvent ne pas être adaptées. Il faudrait alors disposer de dispositifs permettant un suivi longitudinal des populations sur une ou plusieurs générations. Les facteurs de confusion sont également nombreux. Au premier rang de ces facteurs de confusion, on trouve des facteurs environnementaux, psychosociaux, alimentaire et de co-exposition à une multitude de PE potentiels.

5.4. Métabolisme et pharmacocinétique

Les substances endogènes et exogènes, y compris les hormones et les toxiques endocriniens, sont "transformés" par l'organisme, ce qui en modifie la distribution et l'élimination. Dans le cas de contamination de la chaîne alimentaire ces biotransformations peuvent être initiées dans le compartiment digestif sous l'action de la flore digestive ou même sous l'action des cellules épithéliales du tube digestif. Il est d'ailleurs intéressant de noter que le tube digestif s'il constitue indéniablement la première barrière lors de contamination orale est également une cible privilégiée des PE et notamment de PE oestrogénomimétiques tels que le BPA (Braniste *et al.*, 2010). La "pharmacocinétique" désigne le devenir et/ou le taux de fluctuation d'une substance dans un système biologique, sous l'effet de son absorption, de sa distribution, de sa liaison, de son élimination et de sa biotransformation. Ces processus (distribution, liaison, transformation et élimination) sont importants pour déterminer, non seulement le mécanisme d'action des hormones, mais aussi la quantité ou concentration efficace d'hormone qui est biodisponible (assimilable par voie biologique). La pharmacocinétique d'une substance exogène, y compris les perturbateurs endocriniens, est particulièrement importante à l'évaluation de son potentiel biologique. À titre d'exemple, l'exposition à un produit chimique toxique qui est métabolisé (éliminé) immédiatement, avant d'agir sur les récepteurs endocriniens, risque peu de perturber le système endocrinien. De même, si le produit chimique toxique est présent en quantités insuffisantes au site du récepteur cible, les hormones endogènes pourront faire concurrence aux ligands exogènes et les empêcher d'agir. L'évaluation pharmacocinétique des PE se confronte à un obstacle majeur : il s'agit de travailler dans le registre des faibles doses. Dans ces conditions, les scientifiques se trouvent vite limités du fait des limites de détection des techniques analytiques. A ce sujet, il est intéressant de noter que ces techniques analytiques se doivent d'être ultraperformantes et de souscrire à des critères stricts de développement et de validation définis à l'échelon européen (Décision CE/2002/657). A l'heure actuelle, les développements méthodologiques pour l'analyse à l'**état de traces** de substances hormonales, de contaminants organiques et/ou de migrants dans les denrées alimentaires d'origine animale ou végétale sont essentiellement basés sur la spectrométrie de masse sous toutes ses formes (basse et haute résolution, simple ou en tandem, quadripolaire ou magnétique, de rapport isotopique, couplée à la chromatographie liquide ou en phase gazeuse). Le Laboratoire d'études des résidus et contaminants dans les aliments (LABERCA), un laboratoire sous tutelle de l'INRA et de la Direction générale de l'Enseignement et de la Recherche du Ministère de l'Agriculture (site ONIRIS) est

actuellement le Laboratoire National de Référence pour les dioxines, PCB-dl, PCB-ndl, HAP, Mélamine. La détection des PE peut aussi être réalisée sur la base de tests biologiques sensibles visant plus à détecter les propriétés hormonales d'une substance ou d'un milieu complexe mélange de plusieurs substances qu'à identifier et quantifier précisément une substance donnée.

Conclusion

Les enjeux des perturbateurs endocriniens sont nombreux et peuvent se décliner à différents niveaux d'organisation de nos sociétés : individuels pour le consommateur, populationnel, législatif, industriel... La complexité des régulations biologiques sollicitées lors de l'exposition à ces substances et la multiplicité des effets potentiels qui peuvent être différés dans le temps et/ou dépendre de la période d'exposition sont autant de défis pour la communauté scientifique et soulignent le besoin d'établir des stratégies scientifiques pluridisciplinaires permettant la confrontation des données observationnelles chez l'homme, des données expérimentales *in vivo* chez l'animal et *in vitro* dans différents modèles. Une grande question demeure actuelle : comment intégrer les stratégies développées pour répondre à ces défis scientifiques dans le cadre conceptuel de l'évaluation réglementaire des perturbateurs endocriniens.

Références bibliographiques

- Braniste V., Jouault A., Gaultier E., Polizzi A., Buisson-Brenac C., Leveque M., Martin P.G., Theodorou V., Fioramonti J., Houdeau E., 2010. Impact of oral bisphenol A at reference doses on intestinal barrier function and sex differences after perinatal exposure in rats. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107:448-453
- Carey C., Bryant C.J., 1995. Possible interrelations among environmental toxicants, amphibian development, and decline of amphibian populations. *Environ Health Perspect* 103 Suppl 4:13-17
- Carson R. ed., 1962. *Silent spring*. Boston New York : Mariner Book Houghton Mifflin Company
- Chapin R.E., Adams J., Boekelheide K., Gray L.E., Jr., Hayward S.W., Lees P.S., McIntyre B.S., Portier K.M., Schnorr T.M., Selevan S.G., Vandenberg J.G., Woskie S.R., 2008. NTP-CERHR expert panel report on the reproductive and developmental toxicity of bisphenol A. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol* 83:157-395
- Collet S.H., Picard-Hagen N., Vigié C., Lacroix M.Z., Toutain P.L., Gayraud V., 2010. Estrogenicity of Bisphenol A: A Concentration-Effect Relationship on Luteinizing Hormone Secretion in a Sensitive Model of Prepubertal Lamb. *Toxicological Sciences* 117:54-62
- Delfosse V., Grimaldi M., Pons J.L., Boulahtouf A., le Maire A., Cavailles V., Labesse G., Bourguet W., Balaguer P., 2012. Structural and mechanistic insights into bisphenols action provide guidelines for risk assessment and discovery of bisphenol A substitutes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109:14930-14935
- Guillette L.J. Jr., Gunderson M.P., 2001. Alterations in development of reproductive and endocrine systems of wildlife populations exposed to endocrine-disrupting contaminants. *Reproduction* 122:857-864
- Heimeier R.A., Das B., Buchholz D.R., Shi Y.B., 2009. The Xenoestrogen Bisphenol A Inhibits Postembryonic Vertebrate Development by Antagonizing Gene Regulation by Thyroid Hormone. *Endocrinology* 150:2964-2973
- Hutchinson T.H., Brown R., Brugger K.E., Campbell P.M., Holt M., Lange R., McCahon P., Tattersfield L.J., van Egmond R., 2000. Ecological risk assessment of endocrine disruptors. *Environ Health Perspect* 108:1007-1014

- Kaneko M., Okada R., Yamamoto K., Nakamura M., Moscom G., Polzonetti-Magni A.M., Kikuyama S., 2008. Bisphenol A acts differently from and independently of thyroid hormone in suppressing thyrotropin release from the bullfrog pituitary. *General and Comparative Endocrinology* 155:574-580
- Ketata I., Denier X., Hamza-Chaffai A., Minier C., 2008. Endocrine-related reproductive effects in molluscs. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 147:261-270
- Kloas W., Urbatzka R., Opitz R., Wurtz S., Behrends T., Hermelink B., Hofmann F., Jagnytsch O., Kroupova H., Lorenz C., Neumann N., Pietsch C., Trubiroha A., Van Ballegooy C., Wiedemann C., Lutz I., 2009. Endocrine disruption in aquatic vertebrates. *Ann N Y Acad Sci* 1163:187-200
- Larsen P.R., Kronenberg H.M., Melmed S., Polonsky K.S. eds., 2003. *Williams Textbook of Endocrinology*. 10th ed: Saunders
- Leghait J., Gayrard V., Picard-Hagen N., Camp M., Perdu E., Toutain P.L., Viguie C., 2009. Fipronil-induced disruption of thyroid function in rats is mediated by increased total and free thyroxine clearances concomitantly to increased activity of hepatic enzymes. *Toxicology* 255:38-44
- Mahoney M.M., Padmanabhan V., 2010. Developmental programming: Impact of fetal exposure to endocrine-disrupting chemicals on gonadotropin-releasing hormone and estrogen receptor mRNA in sheep hypothalamus. *Toxicology and Applied Pharmacology* 247:98-104
- Marchesini G.R., Meimaridou A., Haasnoot W., Meulenberg E., Albertus F., Mizuguchi M., Takeuchi M., Irth H., Murk A.J., 2008. Biosensor discovery of thyroxine transport disrupting chemicals. *Toxicol Appl Pharmacol* 232:150-160
- Meerts I.A., van Zanden J.J., Luijckx E.A., van Leeuwen-Bol I., Marsh G., Jakobsson E., Bergman A., Brouwer A., 2000. Potent competitive interactions of some brominated flame retardants and related compounds with human transthyretin in vitro. *Toxicol Sci* 56:95-104
- Kelly G.S., 2000. Peripheral metabolism of thyroid hormones: a review. *Altern Med Rev* 5:306-333
- Moriyama K., Tagami T., Akamizu T., Usui T., Saijo M., Kanamoto N., Hataya Y., Shimatsu A., Kuzuya H., Nakao K., 2002. Thyroid hormone action is disrupted by bisphenol A as an antagonist. *J Clin Endocrinol Metab* 87:5185-5190
- Patisaul H.B., Fortino A.E., Polston E.K., 2006. Neonatal genistein or bisphenol-A exposure alters sexual differentiation of the AVPV. *Neurotoxicology and Teratology* 28:111-118
- Patisaul H.B., Todd K.L., Mickens J.A., Adewale H.B., 2009. Impact of neonatal exposure to the ER alpha agonist PPT, bisphenol-A or phytoestrogens on hypothalamic kisspeptin fiber density in male and female rats. *Neurotoxicology (Amsterdam)* 30:350-357
- Pillon D., Cadiou V., Angulo L., Duittoz A.H., 2012. Maternal exposure to 17-alpha-ethinylestradiol alters embryonic development of GnRH-1 neurons in mouse. *Brain Res* 1433:29-37
- Roques B.B., Lacroix M.Z., Puel S., Gayrard V., Picard-Hagen N., Jouanin I., Perdu E., Martin P.G., Viguie C., 2012. CYP450-dependent biotransformation of the insecticide fipronil into fipronil sulfone can mediate fipronil-induced thyroid disruption in rats. *Toxicol Sci* 127:29-41
- Welshons W.V., Thayer K.A., Judy B.M., Taylor J.A., Curran E.M., vom Saal F.S., 2003. Large effects from small exposures. I. Mechanisms for endocrine-disrupting chemicals with estrogenic activity. *Environ Health Perspect* 111:994-1006
- Zoeller T.R., Dowling A.L., Herzig C.T., Iannacone E.A., Gauger K.J., Bansal R., 2002. Thyroid hormone, brain development, and the environment. *Environ Health Perspect* 110 Suppl 3:355-361
- Zoeller T.R., 2010. Environmental chemicals targeting thyroid. *Hormones (Athens)* 9:28-40

CIAG

CARREFOURS
DE L'INNOVATION AGRONOMIQUE



Actes du colloque

28 novembre 2012

École d'ingénieurs de Purpan

Toulouse

Pour des aliments sains : savoir maîtriser les risques en alimentation



INRA