

# **LES PERTURBATEURS ENDOCRINIENS ET LA QUALITE DES MILIEUX AQUATIQUES**

**P. VASSEUR**

**Toxicologie, Ecotoxicologie  
CNRS UMR 7146. Lab. I.E.B.E.  
Université Paul Verlaine-Metz**



LILLE



23/10/2007

**Colborn & Clement, 1992**  
***Chemically-induced alterations in sexual and functional development: the wildlife/human connection.***  
**Princeton Scientific publishing**

**Carlsen et al., 1992**  
***Evidence for decreasing quality of semen during the past 50 years.***  
**Brit. Med. J., 305, 609-613**

**Sujet de controverse ; cependant...**

**Cependant, des expérimentations (*in vitro* & *in vivo*) démontreront que de nombreux produits chimiques rejetés dans l'environnement peuvent perturber le fonctionnement normal des systèmes endocrines, dans toute une variété d'espèces, de la vie aquatique, et de la faune sauvage.**

# Effets écologiques poissons, reptiles, invertébrés, oiseaux

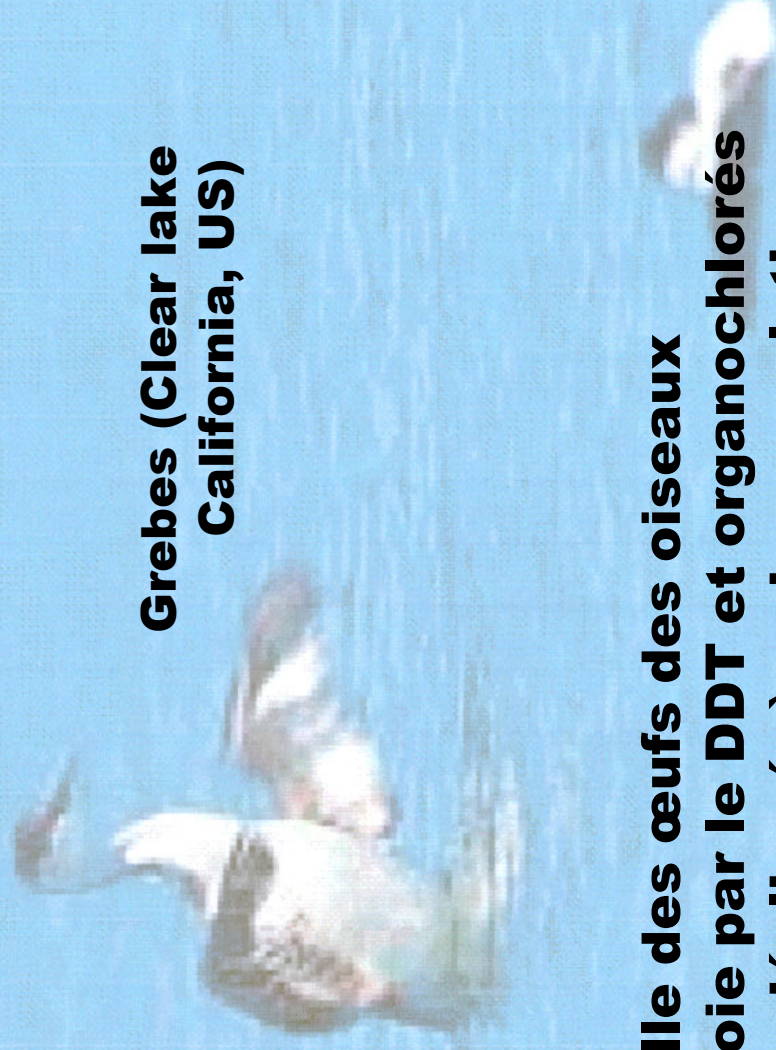
- Altération du sex-ratio dans certaines espèces
- Féminisation des mâles
- Diminution de la fertilité, du succès d'éclosion des oeufs, et diminution de la survie de la descendance
- Changement du comportement sexuel

Effets délétères attribués à :  
tributylétains (TBT = peintures marine antisalissures)  
organochlorés : DDT, DDE, PCBs, dioxine TCDD  
et certains pesticides

**Peregrine Falcon**



**Grebes (Clear lake  
California, US)**



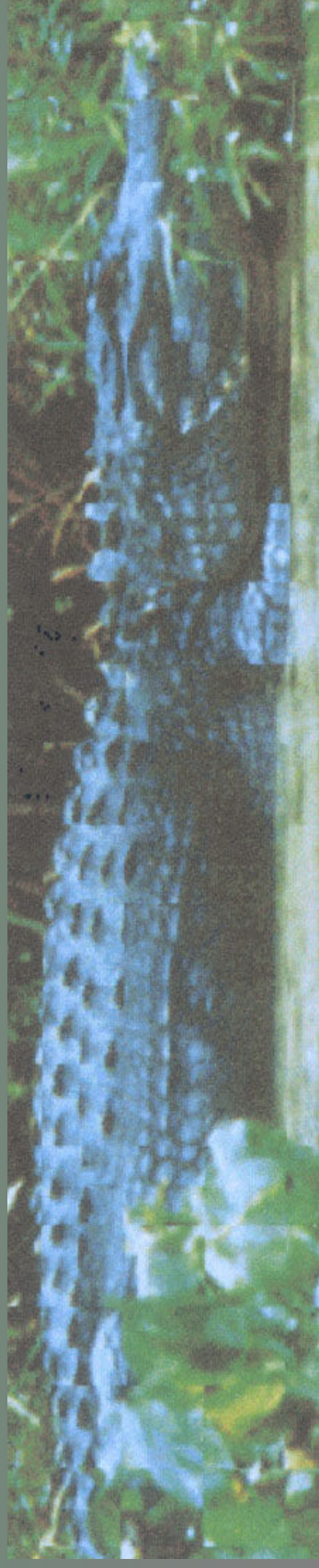
**Amincissement de la coquille des œufs des oiseaux piscivores et oiseaux de proie par le DDT et organochlorés apparentés, responsable du déclin sévère des populations en Europe et en Amérique du Nord.**

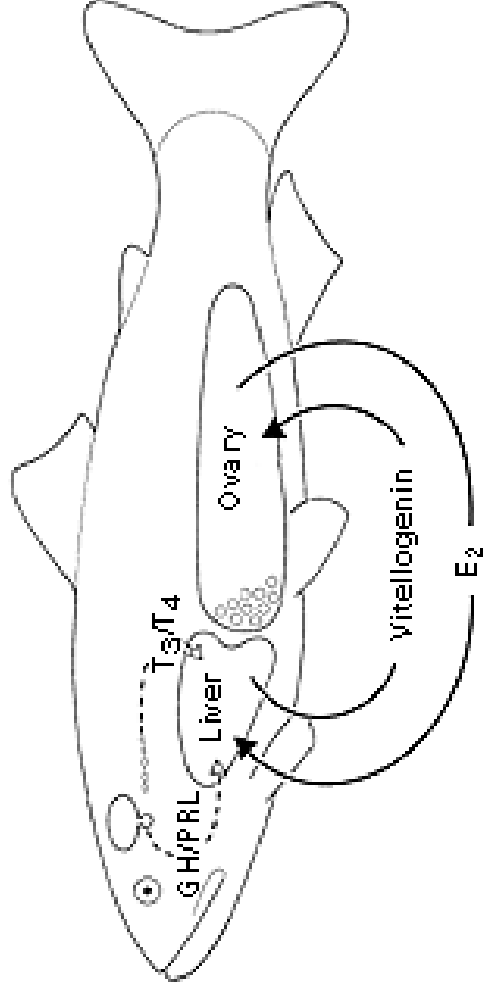
*Hickey et al. 1968, Ratcliffe 1976, Peakall 1970.*

**- Développement anormal des organes sexuels et anomalies fonctionnelles chez les alligators en Floride (Lake Apopka, US) Guillette et al., EHP 102, 8, 680-688, 1994.**

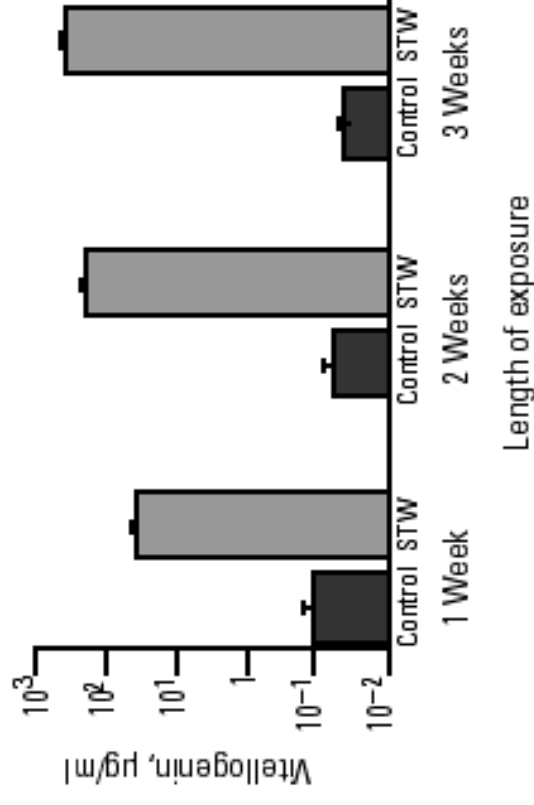
**Les effets observés estrogéniques/antiandrogéniques ont été imputés à l'exposition des œufs au DDT ou ses métabolites, (relation de causalité établie expérimentalement)**

**- Perturbations endocrines de polluants chimiques mises en évidence dans divers espèces de poissons (UK)  
Implications au niveau populationnel ?**





## Induction de la vitellogénine (Vtg) dans les poissons mâles engagés exposés aux effluents de stations d'épuration (STW)

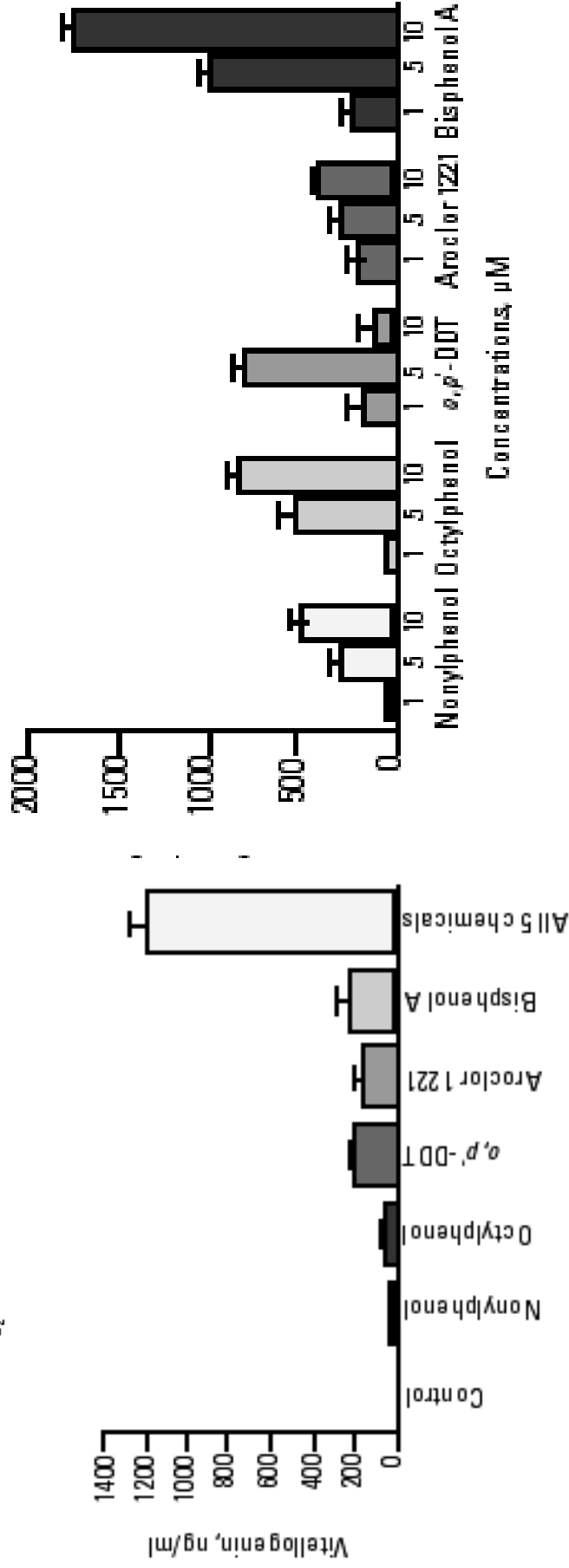
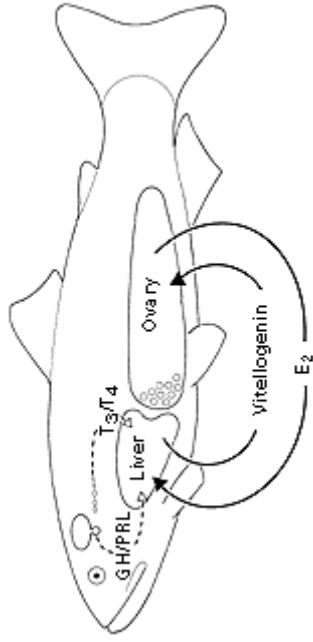


## Vitellogenesis as a Biomarker for Estrogenic Contamination of the Aquatic Environment

John P. Sumpter and Susan Jobling

Environ Health Perspect 103(Suppl 7) :173-178 (1995)

Brunel University, Uxbridge, Middlesex, United Kingdom



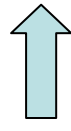
## Vitellogenesis as a Biomarker for Estrogenic Contamination of the Aquatic Environment

John P. Sumpter and Susan Jobling

Environ Health Perspect 103(Suppl 7) :173-178 (1995)

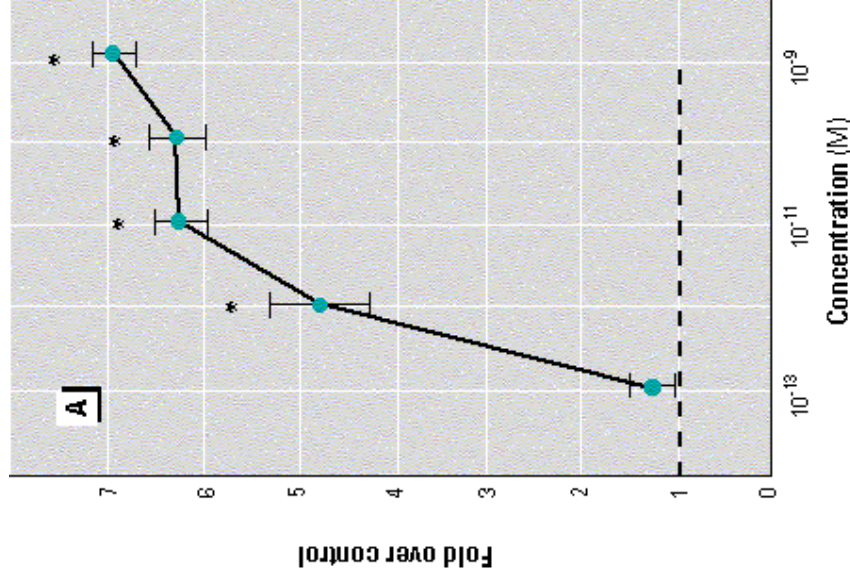
Brunel University, Uxbridge, Middlesex, United Kingdom

Prolifération cellulaire des cellules MCF-7 sensibles aux estrogènes par le **Bisphenol-A** (*Environ Health Perspect* 104:298-305, 1996)

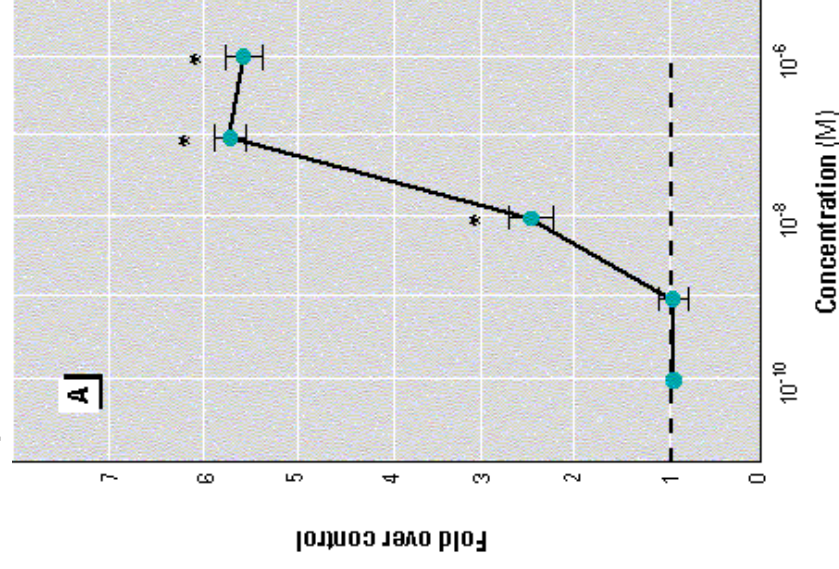


**E-screen test** développé par Soto et al, EHP 103, supp 7, 113-122, 1995

Oestradiol  $10^{-13}$  à  $10^{-9}$  M



Bisphenol A  $10^{-10}$  à  $10^{-6}$  M



**Nonyl phenol** [Soto et al, EHP 92, 167-173, 1991]

Pesticides, **endosulfan**, **toxaphene**, & **dieldrine**, [Soto et al, EHP 102,4, 380-383, 1994]

## **1995 : Consensus général sur le fait que :**

- **des polluants chimiques peuvent perturber le fonctionnement des systèmes endocrines**
- **il existe un manque de connaissance permettant de juger de l'étendue du problème**
- **un développement des recherches et des essais est nécessaire pour combler ce manque de connaissance sur :**
  - **les perturbations endocriniennes des xénobiotiques et leurs conséquences,**
  - **les niveaux d'exposition des espèces vivantes aux perturbateurs endocriniens, nécessaires à l'évaluation des risques**

*Environmental Health Perspectives 103, suppl 7, 1995  
Estrogens in the Environment : Global Health Implications*

- **1995 : Report of the Danish Environmental Protection Agency : Male reproductive health and environmental chemicals with estrogenic effects, *Miljøprojekt nr.290*. Ministry of Environment and Energy, Denmark.**
- **1997 : Special report on environmental endocrine disruption : an effects assessment and analysis. Report *EPA/630/R-96/012*. Risk assessment forum, Washington D.C., 20460 Crisp et al., 1998. *Environ. Health Perspect.*, 106, 11-56**



ARE WE THREATENING OUR FERTILITY, INTELLIGENCE,  
AND SURVIVAL?—A SCIENTIFIC DETECTIVE STORY

# OUR STOLEN FUTURE

THEO COLBORN, DIANNE DUMANDSKI,  
AND JOHN PETERSON MYERS

WITH A FOREWORD BY  
VICE PRESIDENT AL GORE



## Mobilisation Générale

- **institutions environnementales,**
  - **US-EPA : EDSTAC set in 1996 (Endocrine Disruptor Screening and Testing Advisory Committee)**
  - **Union Européenne (UE)**
- **organismes de standardisation des méthodes**
  - **OECD (Organization for Economic and Cooperation Development)**
- **industries (CEFIC– European Chemical Industry Council)**

## Plan

- Problématique et historique
- Définition / Perturbateur endocrinien
- Principales catégories chimiques
- Mode d'action
- Concentrations dans les compartiments aquatiques
- Évaluation des risques
- Difficultés relatives à l'évaluation des PE

## Définition

### **PERTURBATEUR ENDOCRINIEN** **Endocrine-disrupting chemical (EDC)** **Xeno-endocrine disruptor**

**Un agent exogène qui interfère avec la synthèse, sécrétion, transport, liaison, action ou élimination des hormones naturelles *in vivo*, qui sont responsables de la maintenance de l'homéostasie, reproduction, développement, comportement.**

Kavlock et al., *Environ Health Perspect* 104(Suppl 4) :715-740 (1996)

# **SYSTEME ENDOCRINIEN**

## **HORMONES**

- Secrétées par **glandes endocrines** (hypothalamus, hypophyse, thyroïde, pancréas, surrénales, ovaires and testicules,...)
- Transportées via le courant sanguin **à distance** au niveau des tissus et organes cibles où elles exercent leurs effets (glande mammaire, os, muscle, système nerveux, organes sexuels), à état **libre ou liées** à des transporteurs protéiques et **à très faible concentration dans le sang** (ng/ml or pg/ml)
- Structure chimique **diverse** (glycoprotéines, (poly)peptides, stéroïdes, catécholamines, aminoacides modifiés,...)
- Se lie ( **haute affinité**) à des récepteurs **spécifiques membranaires ou nucléaires pour** exercer leurs effets (régulation, croissance, différenciation, reproduction,...)

## Autres caractéristiques du système endocrine

- ☆ Importance de l'axe hypothalamo-hypophysaire et des régulations par rétrocontrôle
- ☆ La question des perturbateurs endocriniens ne se limite pas aux oestrogénomimétiques et aux effets sur la reproduction, mais inclut toute autre composante de l'ensemble du système endocrine
- ☆ Complexité des processus cellulaires de la communication **hormonale**
- ➔ Complexité des réponses aux EDC (endocrine disruptor chemicals) dépendantes du sexe-, âge-, espèce-, tissu-/organe-fenêtres critiques dans la vie d'un individu (développement, différenciation)

# Perturbateurs endocriniens potentiels

- **Hormones «naturelles»** : œstrogènes, progestérogène, testostérone, phytoœstrogènes
- **Substances** de synthèse incluant :
  - substances à **activité hormonale** de synthèse (contraceptifs, hormones de substitution, additifs à alimentation animale,...) utilisées intentionnellement pour leurs effets endocrines
  - **substances chimiques** à usage industriel, agricole, domestique incluant produits de dégradation (dioxines,...)

## Nourriture

**Phytoestrogènes** : Coumestrol, génistéine (soja)  
β-sitostérol

## Environnement

**Pesticides** : o,p-DDT, DDE et autres organochlorés  
Vinclozoline

## Polychlorobiphényles (PCB)

**Plastifiants** Bisphénol A,

**Détergents** Alkylphénols (Octylphénols, Nonylphénols)

Environmental Health Perspectives 103, Suppl 7, October 1995

**Symposium on Estrogens in the Environment, III**  
**John A. McLachlan and Kenneth S. Korach**

**Phytoestrogènes** : Coumestrol, génistéine (soja)  
β-sitostérol

**Mycotoxines** : Zearalénone

**Pesticides** : o,p-DDT, DDE et autres organochlorés  
Vinclozoline  
Atrazine,  
fongicides (-azoles), organoétoains  
méthoprène

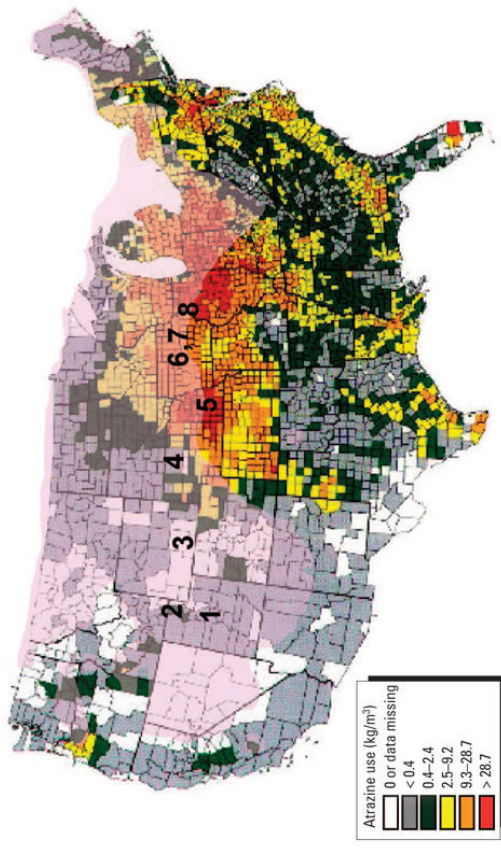
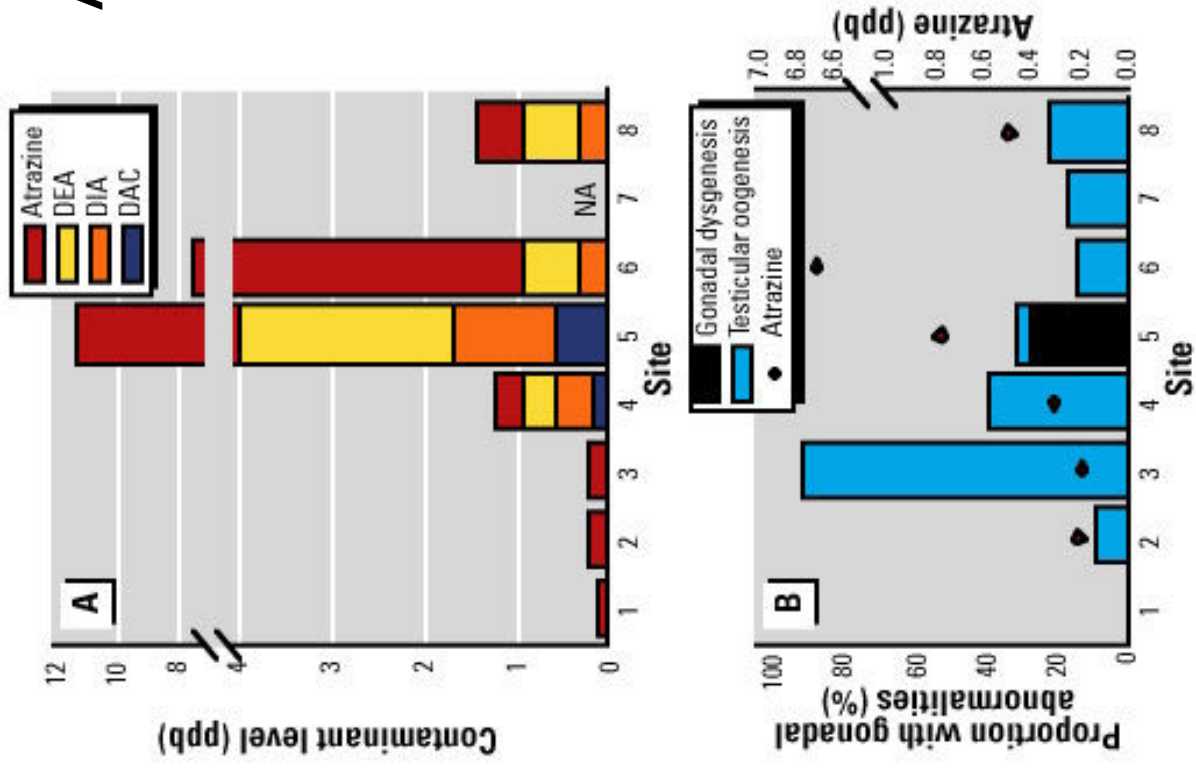
**Polychlorobiphényles (PCB) Polybromobiphényles (PBB, PBDE)**  
Dioxines TCDD

**Plastifiants** Bisphénol A, phtalates (DEHP, DBP,...)  
**Détergents** Alkylphénols (Octylphénols, Nonylphénols) et leurs  
dérivés polyéthoxylés



Hayes et al., *Environ Health Perspect* 111:568-575 (2003)

## Atrazine-Induced Hermaphroditism at 0.1 ppb in American Leopard Frogs (*Rana pipiens*): Laboratory and Field Evidence



# Mécanismes de perturbation endocrine

- **synthèse, métabolisme**      **ex: TBT /testosterone**
- **stockage**
- **transport, élimination**      **ex : PCBs/ thyroid**
- **Liaison à récepteur(s)**      **ex : TCDD/AhR**  
spécifique
- **Voies de signalisation**  
**SNC-hypothalamus-**  
**hypophyse – gl. endocrine**  
...



# **Masculinisation (imposex) des mollusques marins par le tributyl étain (TBT)**



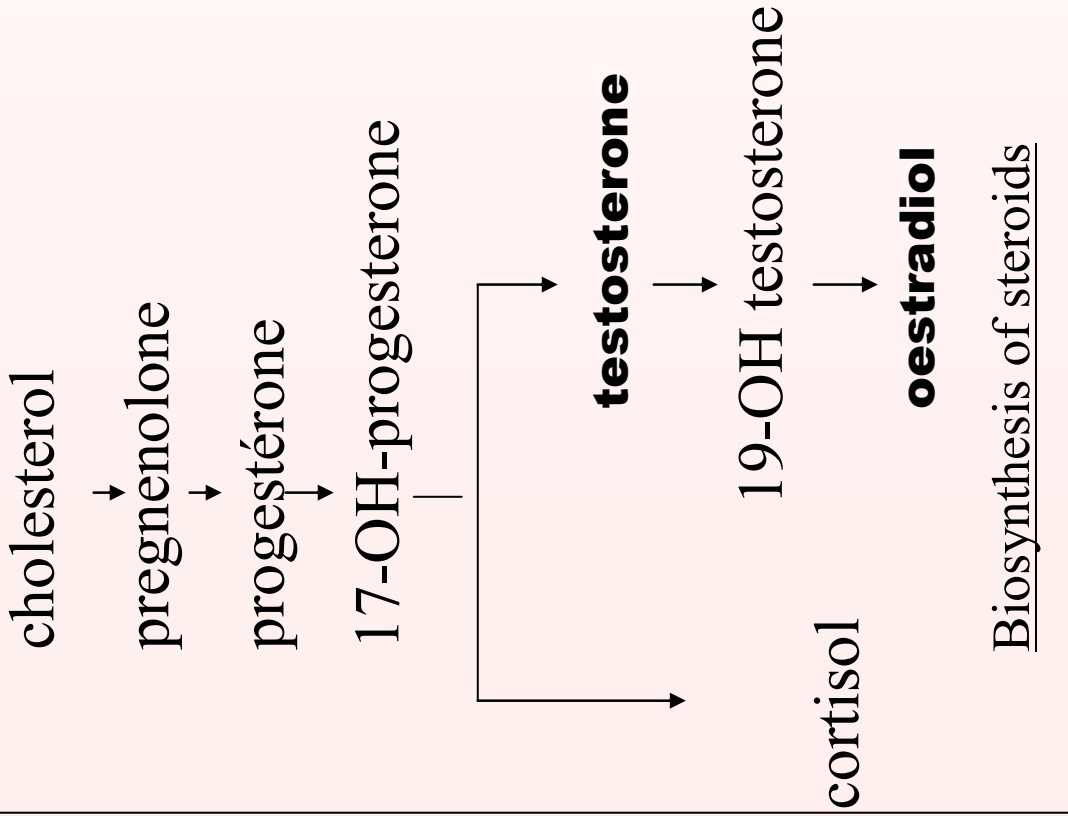
**Déclin ou extinction des populations locales dans le monde entier**

**le cas le plus évident de perturbation endocrine par un polluant chimique**

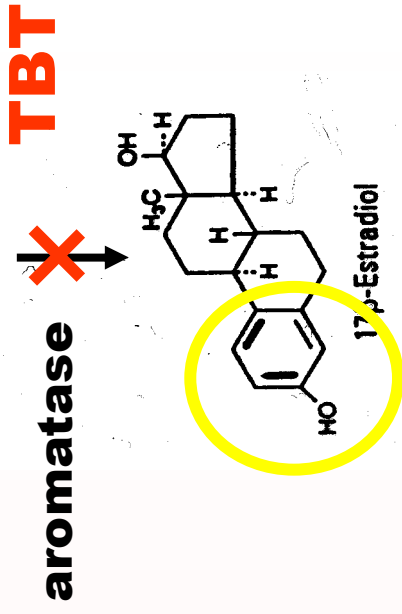
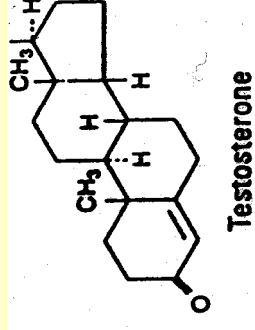
**Gibbs et al., 1987  
Bryan et al., 1988**

***Nucella lapillus***  
**(Dog whelk)**





**Mécanisme de masculinisation (imposex) des femelles des escargots marins par le TBT**



**Inhibition compétitive vis-à-vis de l'aromatase (CYP19) responsable de l'aromatisation de la testostérone, et de sa conversion en oestradiol selon Matthiessen and Gibbs (1998) et Fent, 1996.**

Hyp.

**Oberdorster et McClellan-Green, *Mar Environ Res.*, 54, 715-718 (2002)**

**TBT = neurotoxique, se localise au niveau des sites produisant un neuropeptide hormonal « Penis Morphogenic Factor » (PMF) qui induit la différenciation mâle chez les mollusques, et pourrait conduire à l'imposex chez les femelles en augmentant la libération de PMF**

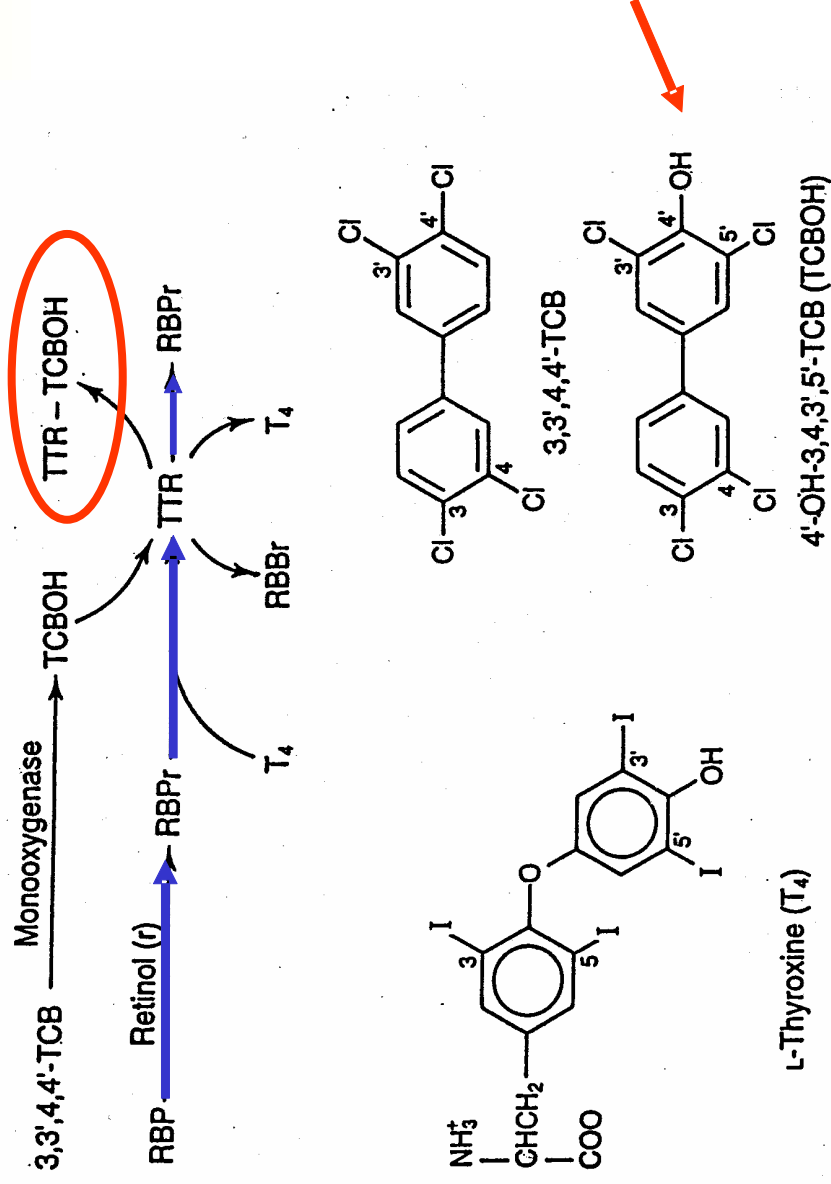
**Peptide APGWamide qui induit imposex à  $10^{-16}$  moles chez mollusque *I. obsoleta* serait le PMF**



**Chez mammifères marins (phoques de la Baltique)  
reproduction and fonction immunitaire sont affectées  
par PCBs dans la chaîne alimentaire**

***Helle et al., 1976 ; Bergman et al., 1982 ; Brouwer et al., 1989***

# INTERFERENCE des PCBs (TCBs) avec le système THYROIDIEN



TCB hydroxylée entre en compétition avec la thyroxine (T<sub>4</sub>) pour le transporteur plasmatique « transthyrétin » (TTR) (Brouwer *et al.*, 1990)

T<sub>4</sub> est rapidement glyconono-conjuguée et éliminée

**Diminution des concentrations de T<sub>4</sub>**

**→ Anomalies du développement**

## **TCDD responsable de**

**toxicité cutanée  
hépatotoxicité  
porphyries  
immunotoxicité  
tox. développement  
tox. reproduction  
cancérogène**

## **Réponses**

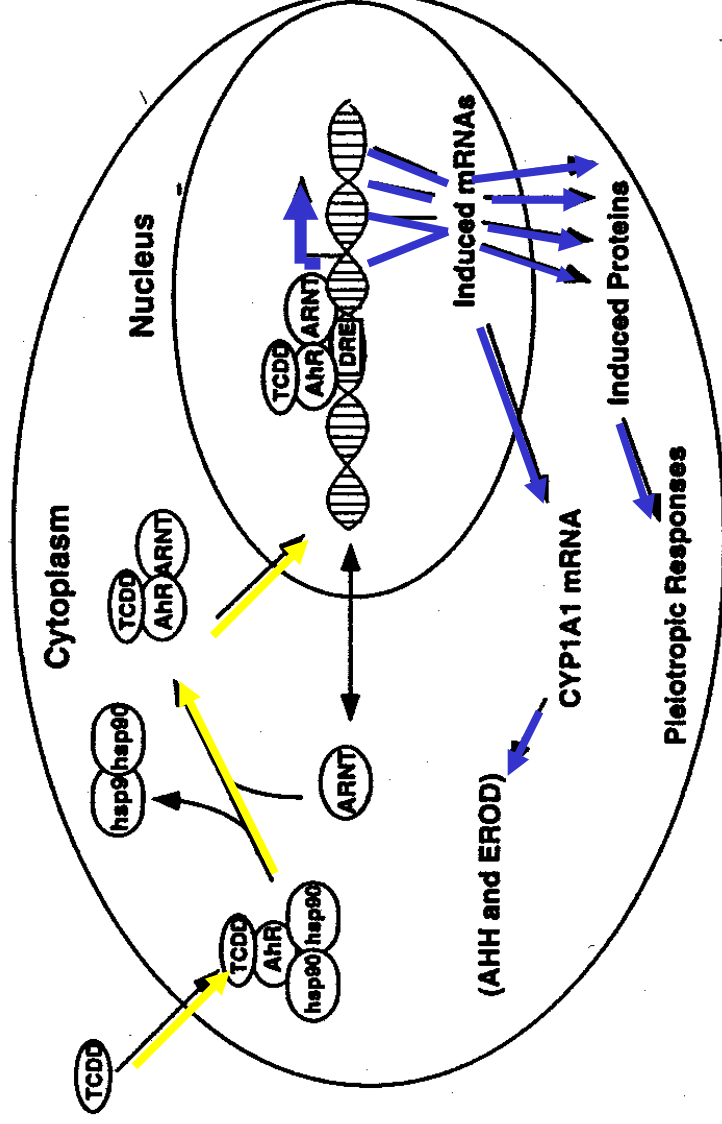
**sex-  
souche-  
espèce-  
âge-  
tissu/organe  
spécifiques**

**→ majorité des effets dûs à liaison au récepteur AhR  
qui agit comme factor de transcription  
(Hahn, 2003)**

**TCDD (et « dioxine-like » PCDD/F et PCB) induit expression de nombreux gènes :**

**CYP 1A1, CYP 1A2,**  
aldéhyde deshydrogenase,  
glutathion S-transférase ...

**suite à la LIAISON AU RECEPTEUR AhR et TRANSLOCATION au niveau nucléaire du complexe ARNT-AhR qui agit comme facteur de transcription**



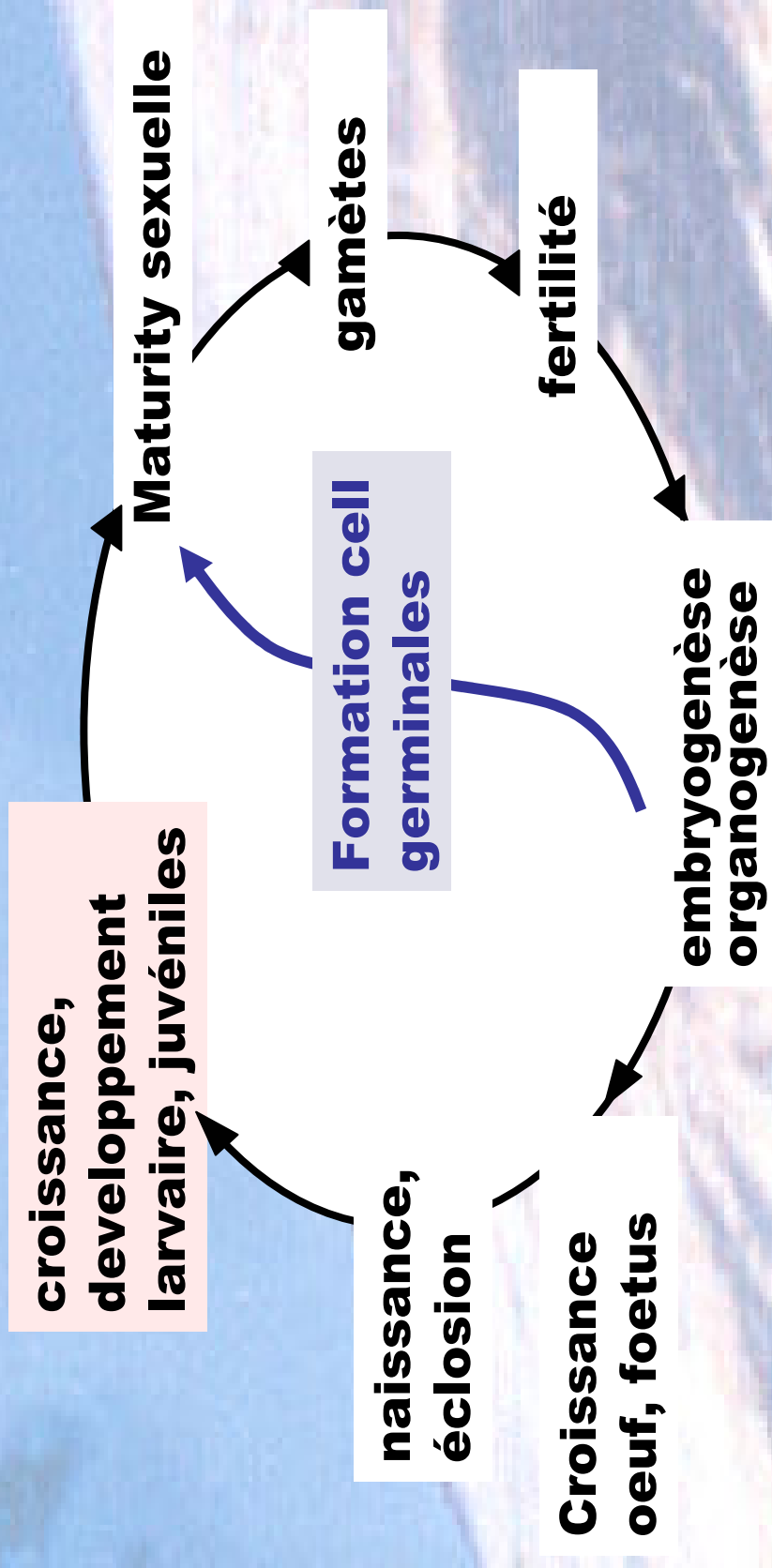
**Sower et al, 2000  
EHP,108, 1085-1090**



**Déficit en GnRH (gonadolibérine=gonadotropin-releasing hormone /hypothalamus) dans le cerveau et déficit en androgènes des gonades chez les grenouilles porteurs de ces malformations (New Hampshire, UK- prélèvements 1998)**

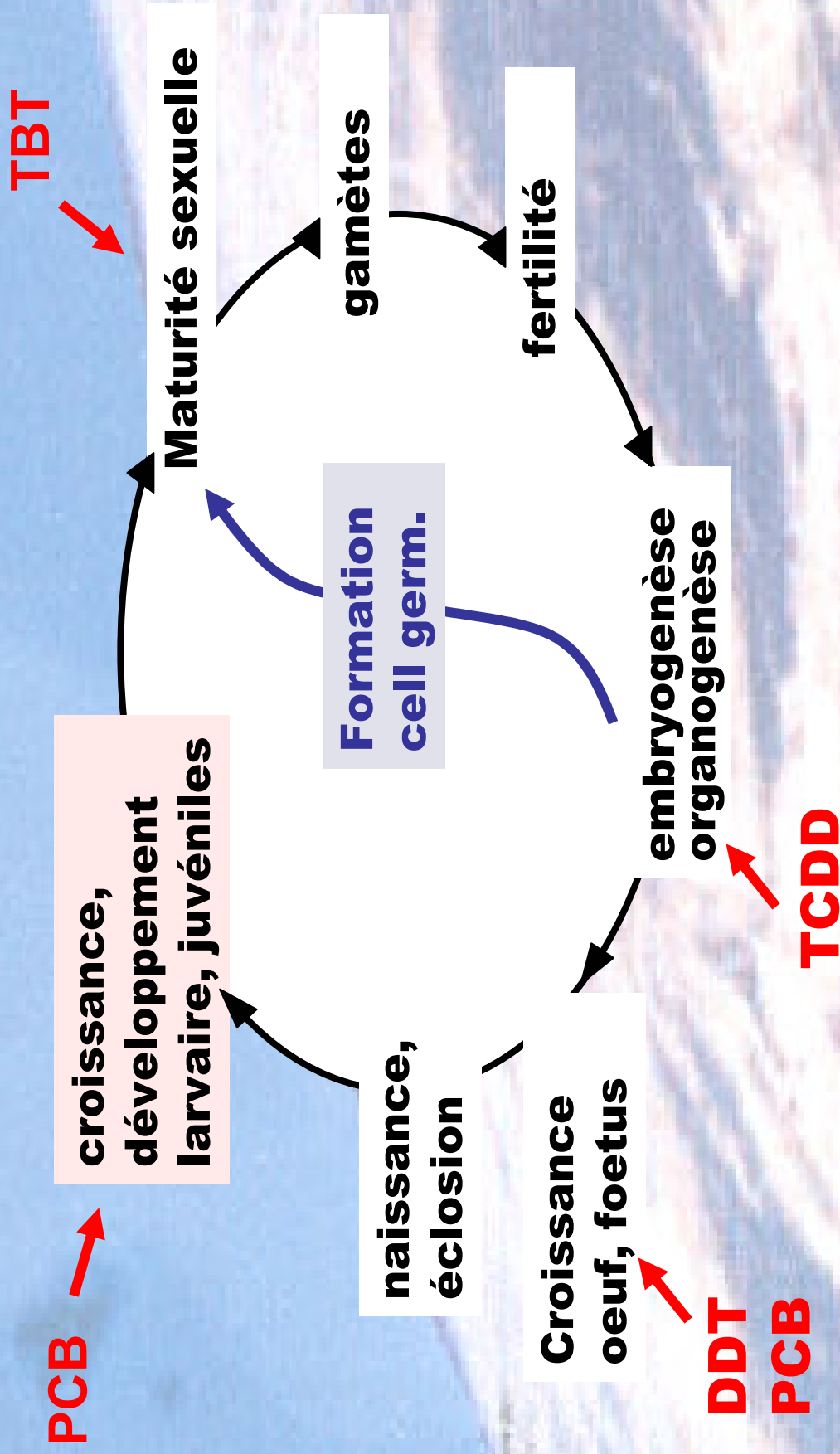
# DIFFERENTES ETAPES DU CYCLE DE LA REPRODUCTION

Cibles critiques affectant la structure des populations



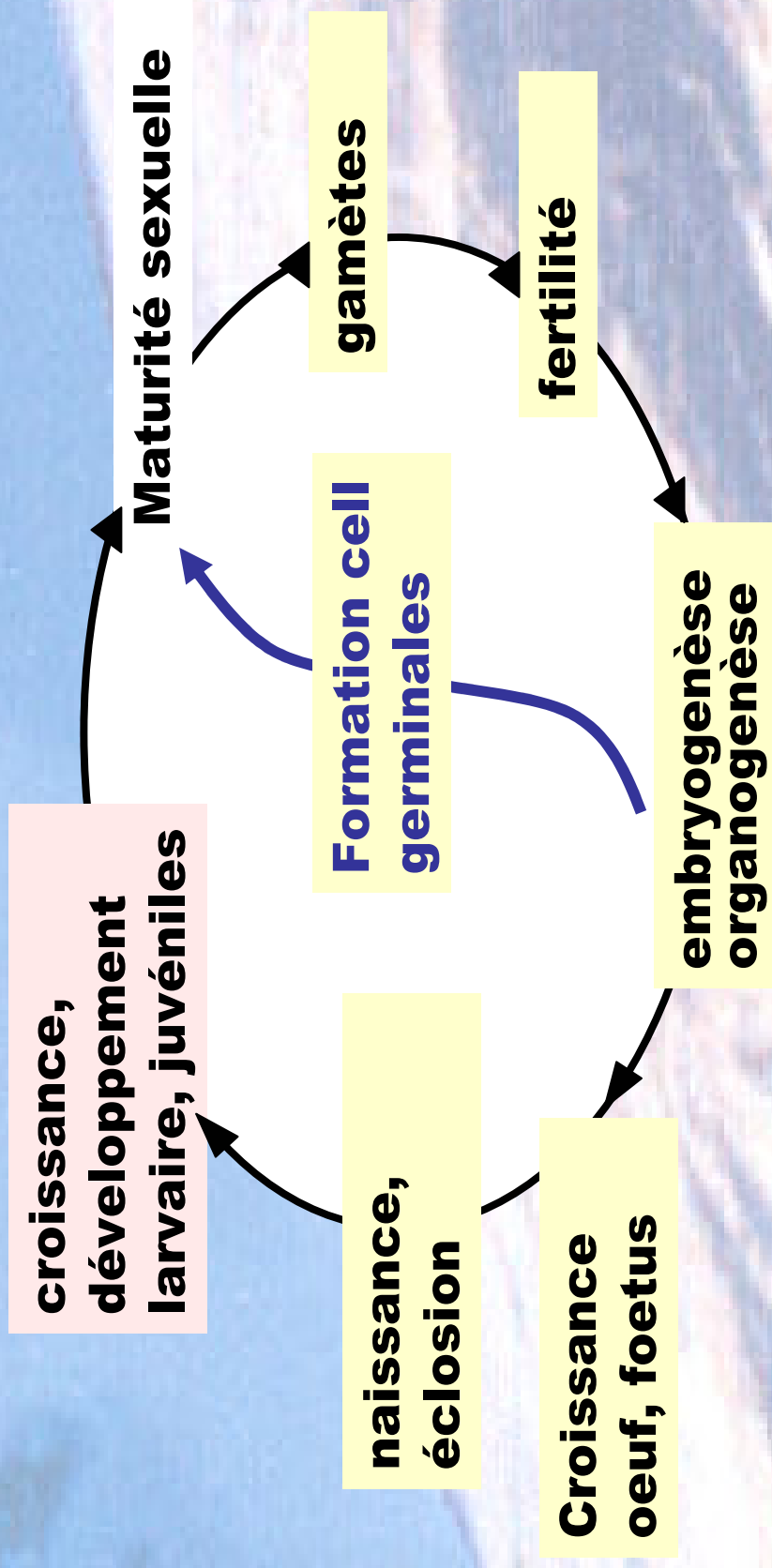
# DIFFERENTES ETAPES DU CYCLE DE LA REPRODUCTION

Cibles critiques affectant la structure des populations



# DIFFERENTES ETAPES DU CYCLE DE LA REPRODUCTION

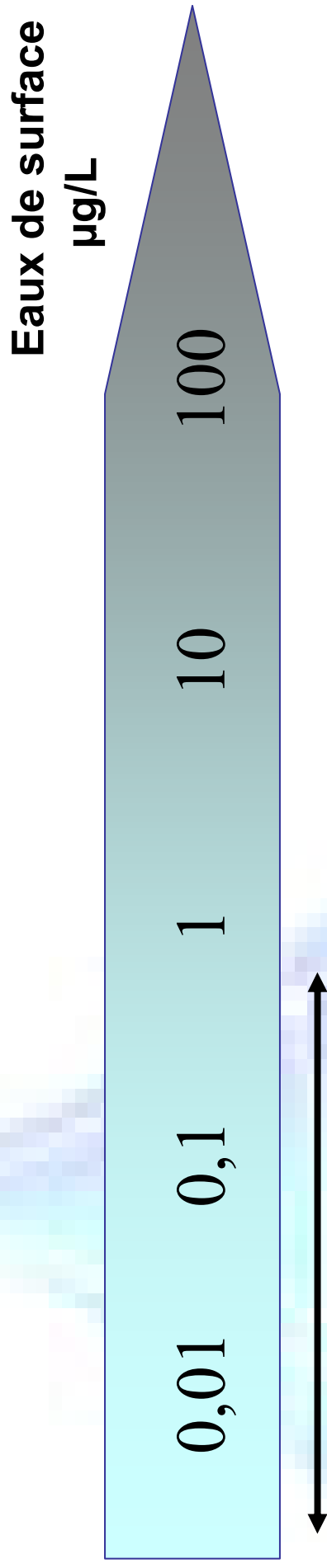
Cibles critiques affectant la structure des populations



**Taux élevé de division cell, différenciation, apoptose**

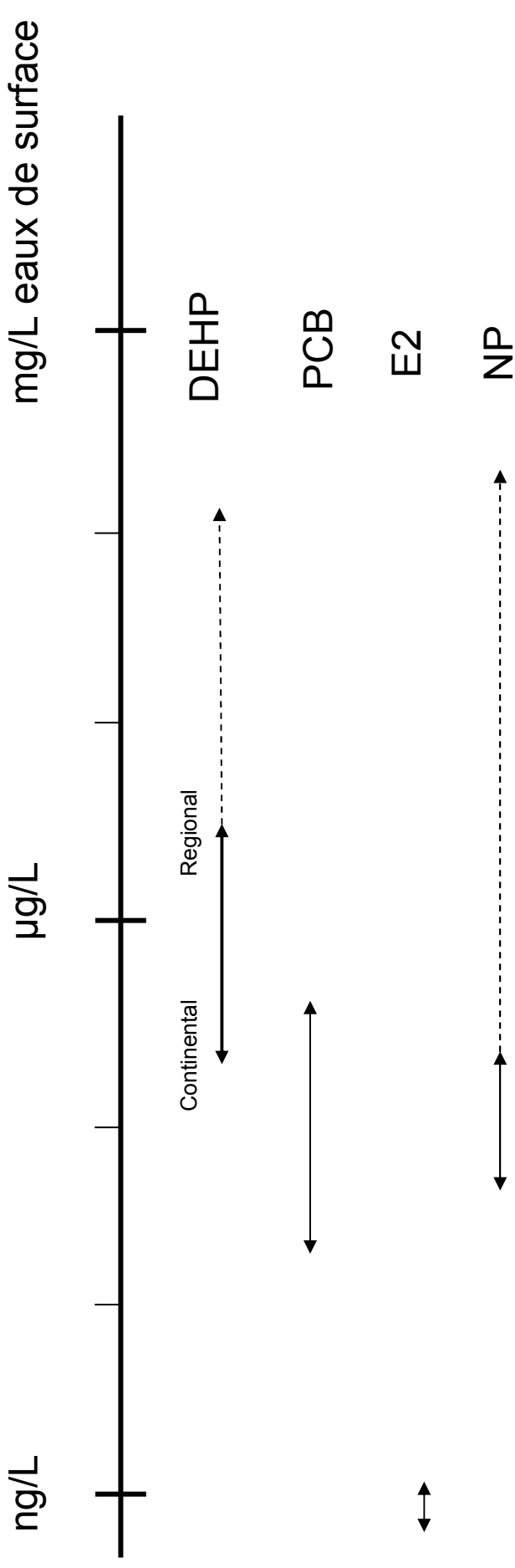
**Cytotoxiques, génotoxiques auront des effets populationnels bien que non perturbateur endocrinien stricto sensu.**

# Concentrations dans compartiments aquatiques



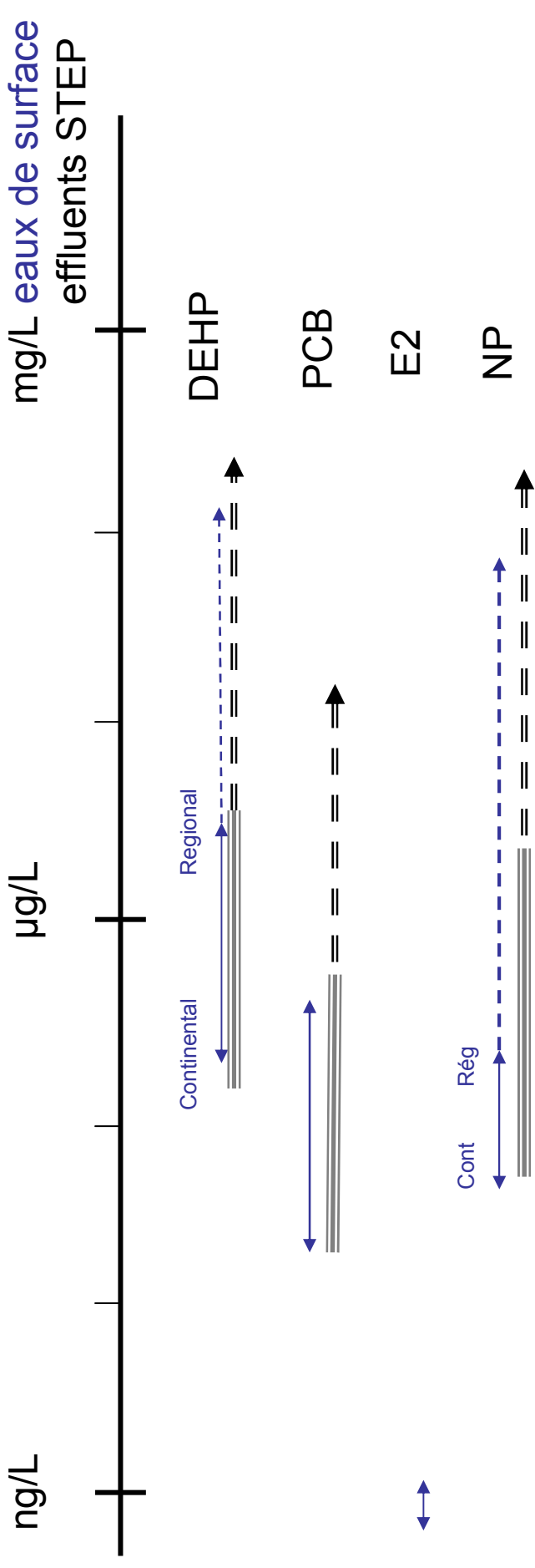
Lipophilie → concentration dans les chaînes alimentaires → effets sur prédateurs

# Concentrations dans compartiments aquatiques

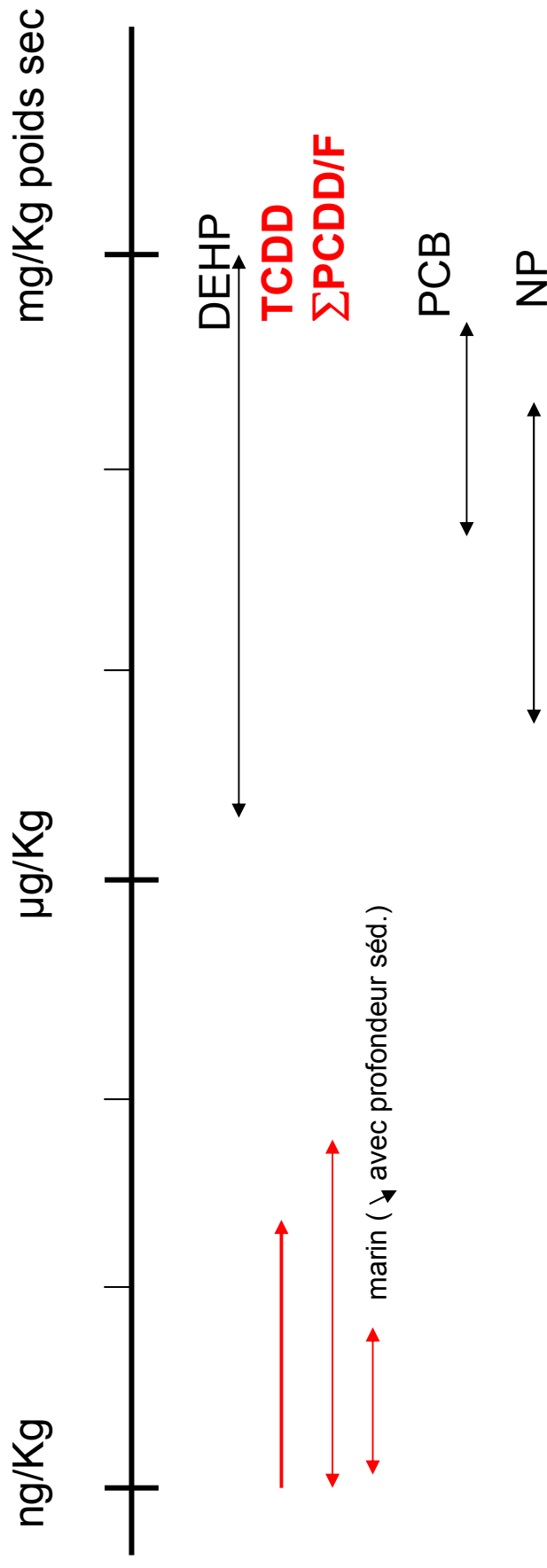


TCDD < limites de détection dans les eaux

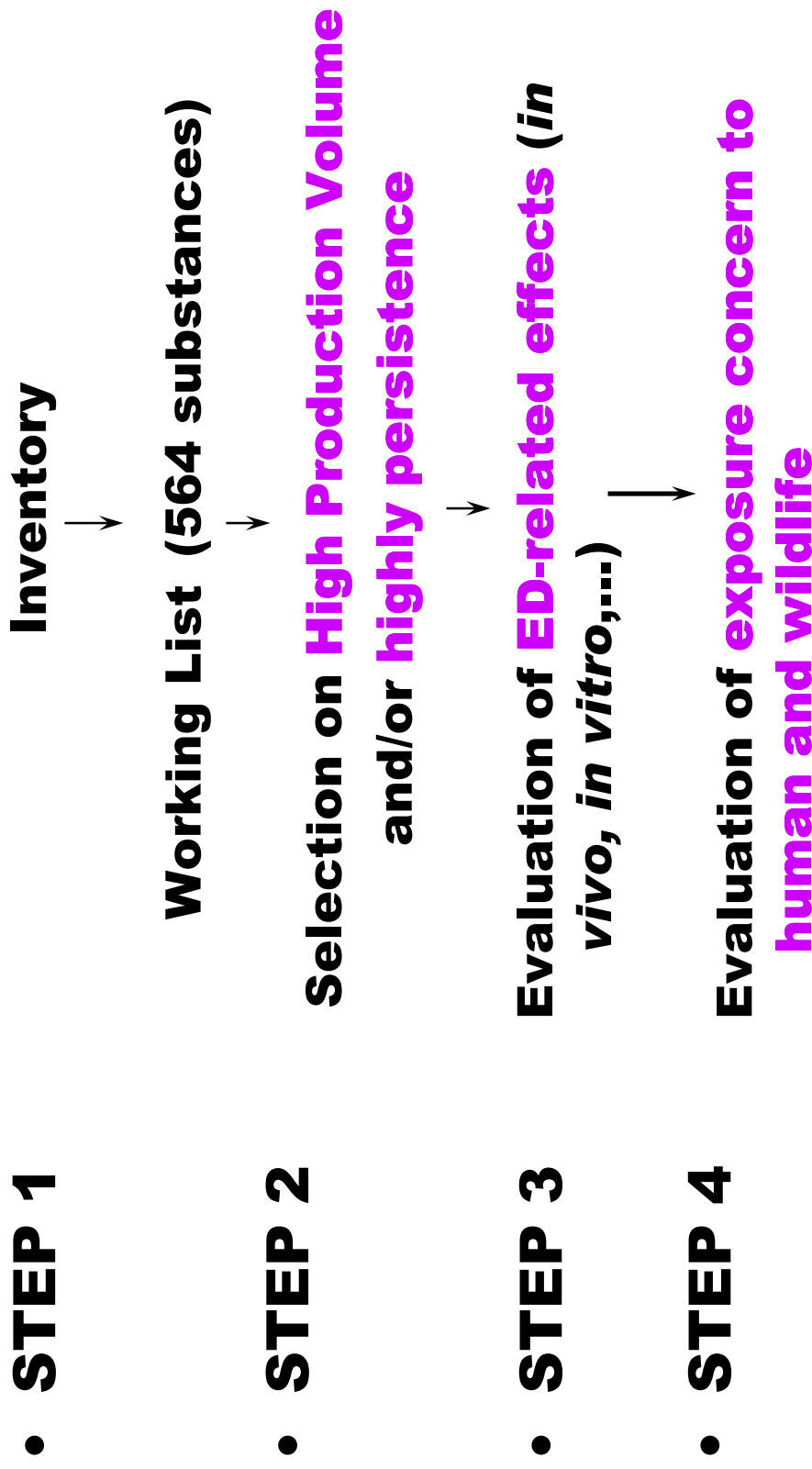
# Concentrations dans compartiments aquatiques



# Concentrations dans compartiments aquatiques sédiments de rivières = compartiment de stockage



# SCHEME OF THE PROJECT STEPS FOR ESTABLISHING A PRIORITY LIST OF SUBSTANCES (European Community, 2000)



[http://ec.europa.eu/environment/endocrine/index\\_en.htm](http://ec.europa.eu/environment/endocrine/index_en.htm)

Community Strategy for Endocrine Disrupters  
-a range of substances suspected of interfering with the hormone systems  
of humans and wildlife. COM (2001)262  
[http://ec.europa.eu/environment/docum/01262\\_en.htm](http://ec.europa.eu/environment/docum/01262_en.htm)

Strategy for endocrine disrupters COM (1999)706 -  
[http://ec.europa.eu/environment/endocrine/documents/sec\\_2004\\_1372\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/environment/endocrine/documents/sec_2004_1372_en.pdf)

ED Information on 435 substances with insufficient data  
[http://ec.europa.eu/environment/endocrine/documents/bkh\\_report.pdf](http://ec.europa.eu/environment/endocrine/documents/bkh_report.pdf)

Study on enhancing the endocrine disrupter priority list with a focus **on low  
production volume chemicals**  
ENV.D.4/ETU/2005/0028r . May 2007  
[http://ec.europa.eu/environment/endocrine/documents/final\\_report\\_2007.pdf](http://ec.europa.eu/environment/endocrine/documents/final_report_2007.pdf)

- . **DONNEES DE TOXICITE CHRONIQUE / REPRODUCTION/DEVELOPPEMENT**
- . **EXPOSITION DES PREDATEURS / CONSOMMATEURS**
- . **POLLUANTS EMERGENTS**  
Organohalogénés, Organofluorés (PFOS) « agents de surface »
- . **MECANISMES DES PERTURBATION ENDOCRINIENNES**  
restent à élucider pour la plupart (ex TCDD, phtalates,...)
- . **FONCTIONNEMENT DES SYSTEMES ENDOCRINES DES INVERTEBRES**
- . **DANGERS ET RISQUES AUX FAIBLES DOSES**
- . **RECHERCHES NECESSAIRES**

*In vitro, in vivo : détection dans les milieux aquatiques et effets*

Etudes de TERRAIN, et EXPERIMENTALES en conditions REALISTES

**Merci de votre attention**



USTL -



- 23/11/2006

