

Perturbateurs de la fonction endocrinienne et santé : un point non exhaustif sur les connaissances

SOPHIE DESMOTS

Catherine BRULEZ

Emmanuel LEMAZURIER

Laboratoire de toxicologie expérimentale, Institut national de l'environnement industriel et des risques (INERIS), Parc technologique ALATA, BP 2, 60550 Verneuil en Halatte <emmanuel.lemazurier@ineris.fr>

Tirés à part :
E. Lemazurier

Résumé. Au cours de ces 20 dernières années, les inquiétudes vis-à-vis des risques, avérés ou potentiels sur l'environnement ou la santé, de l'exposition à des produits perturbateurs de la fonction endocrinienne se sont accrues. Cela a entraîné la mise en place de nouvelles recherches multidisciplinaires et de stratégies de développement de tests, de comités et de groupes d'experts, de journaux, bases de données, etc., dans le monde entier. Ces activités ont généré de nouvelles données et des controverses scientifiques. Ces dernières concernent aussi bien la définition et la détection des « perturbateurs endocriniens » que les effets néfastes observés sur la faune et supposés sur la santé humaine. En dépit du manque de consensus de la communauté scientifique, cette vague d'activité a fait progresser de manière significative notre compréhension de l'étendue et de l'ampleur des risques associés aux perturbateurs de la fonction endocrinienne. Dans cet article nous passons en revue ces connaissances et montrons non seulement que de véritables incertitudes persistent mais aussi que des questions clés restent sans réponse.

Mots clés : évaluation risque ; méthylation/ADN ; système endocrine ; santé ; xénobiotique.

Abstract. Endocrine disrupters and human health: A non-exhaustive review

Over the past two decades, concerns about the potential health and ecological impacts of exposure to endocrine-disrupting chemicals have led to the establishment of new multi-stakeholder research and testing initiatives, committees, expert groups, newsletters, databases, etc., throughout the world. These activities have generated both new data and scientific controversies, which range from the definition and detection of "endocrine disrupters" to whether they are the cause of the adverse effects observed in wildlife and assumed in humans. Despite the lack of scientific consensus, this wave of activity has significantly advanced our understanding of the scope and magnitude of risks posed by endocrine-disrupting compounds. In this article, we review this knowledge and show that many genuine uncertainties remain and key questions continue to go unanswered.

Key words: DNA/methylation; endocrine system; health; risk assessment; xenobiotics.

Définition et évaluation des effets des perturbateurs du système endocrinien

Les « perturbateurs endocriniens » font l'objet de définitions nombreuses et variées. De toutes ces définitions, il ressort que les « perturbateurs endocriniens » sont considérés comme des substances exogènes entraînant des effets néfastes sur la santé d'un organisme ou de sa descendance par suite de désordres de la fonction endocrinienne. Un « perturbateur endocrinien » devrait donc plutôt s'appeler un perturbateur de la fonction endocrinienne.

Pour bien comprendre la complexité de ce sujet, il est important de bien assimiler ce qu'est la fonction endocrinienne. En réalité, elle est multiple et il est préférable de parler de système endocrinien. Ce système regroupe un ensemble de glandes et de cellules produisant des hormones, lesquelles contrôlent de nombreuses fonctions physiologiques (figure 1). Le système endocrinien est, au même titre que le système nerveux, un système de communication au sein de l'organisme. En effet, les hormones peuvent être définies comme des signaux chimiques sécrétés dans la circulation sanguine et agissant sur des tissus distants, généralement sous forme d'une régulation. De plus, le système endocrinien utilise des signaux de proximité appelés signaux paracrines (figure 1 – cas du pancréas). Dans cet exemple précis, la formation des hormones a lieu au niveau d'un groupe de

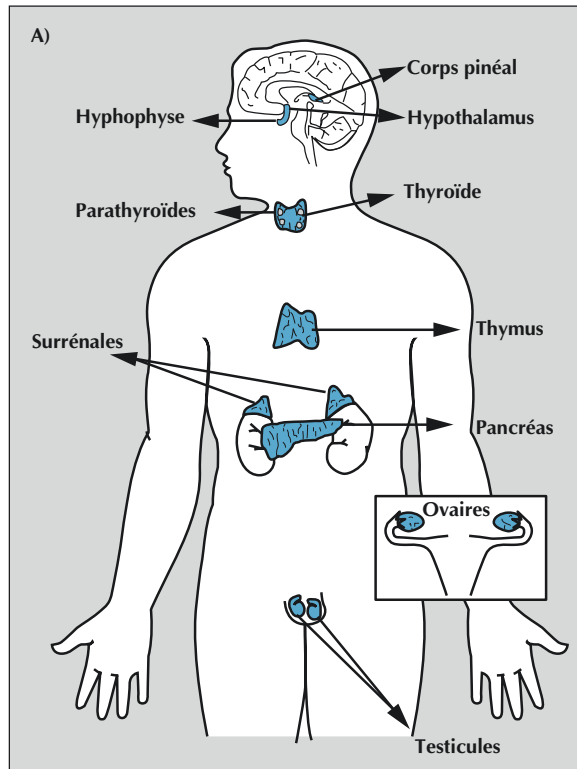


Figure 1. Le système endocrinien. a) Principaux organes composant le système endocrinien. b) Principales hormones synthétisées par les organes du système endocrinien et leur rôle. (<http://www.cegep-rimouski.qc.ca/dep/biologie/humain/glandes/glandes4.html>).

cellules localisé dans les glandes endocriniennes (*figure 1* – cas de l'hypothalamus et de l'hypophyse). Les glandes endocriniennes sont composées de cellules hautement différenciées qui synthétisent, stockent et sécrètent les hormones. La diversité des fonctions physiologiques impliquant le système endocrinien est importante, et c'est ce qui en fait un système de communication majeur. Cette diversité représente d'ailleurs la principale source de complexité lorsque l'on s'attache aux mécanismes d'action des molécules perturbatrices de la fonction endocrinienne.

Différents éléments révèlent le caractère perturbateur du système endocrinien de certaines molécules. Ces éléments ont d'abord été mis en évidence au niveau écologique. En effet, des corrélations ont été rapportées dans la population sauvage entre les effets sur la reproduction et le développement et l'exposition aux perturbateurs du système endocrinien [1]. Par exemple :

- chez les oiseaux, l'amincissement de la coquille d'œuf a été lié à l'exposition au dichlorodiphényldichloroéthylène (DDE) [2] conduisant au déclin d'un certain nombre d'oiseaux prédateurs en Europe et Amérique du nord ;
- l'altération de la reproduction des phoques gris et annelés [3] ainsi que des phoques de port (*Phoca vitulina*) exposés aux biphényles polychlorinés (PCB) et leurs métabolites de la chaîne alimentaire ;
- l'altération du développement sexuel et de sa fonction chez les alligators du lac Apopka, en Floride, suite à l'épandage de pesticides en 1980. Les effets observés ont été supposés être liés au dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) [4] ;
- des effets sur la reproduction de différentes espèces de poissons en liaison avec les effluents d'eaux usées, de l'industrie du papier et de l'industrie chimique [5] ;
- la masculinisation chez les serpents femelles exposés au tributylétain (TBT – agent anti-moussant de peinture) [6] provoquant le déclin ou l'extinction de populations locales au travers du monde.

Cependant, excepté les troubles de la reproduction et les cas de cancer chez les fils et filles nés de femmes traitées au diéthylstilbestrol (DES) [7], aucun lien causal entre l'exposition environnementale à un agent chimique spécifique et des effets néfastes sur la santé humaine, opérant *via* une perturbation endocrinienne, n'a pu être mis en évidence.

Le grand déclencheur du champ de l'étude proprement dite des perturbateurs du système endocrinien a été le travail de Colborn *et al.* [8]. Dans le livre intitulé « Our stolen future », ces auteurs racontent l'histoire de la mise en évidence des « perturbateurs endocriniens », leur mode d'action et comment s'en protéger. Ce livre de vulgarisation a donc pour sujet les menaces pour l'environnement et la santé sous-jacentes aux contaminants chimiques issus des activités humaines interférant avec les hormones dans la faune sauvage et l'homme. Dans le livre de Colborn *et al.* [9], les « perturbateurs endocriniens » sont présentés comme des molécules interférant avec le développement du fœtus humain et pouvant provoquer une diminution de la résistance aux maladies, de la fertilité et compromettre l'équilibre intellectuel et psychologique. À ce jour, ces éléments n'ont pas trouvé de preuves étayées et indiscutables (à part pour les DES). Cependant, un certain nombre de faits sont connus, à commen-

cer par la nature et le mode de fonctionnement des perturbateurs de la fonction endocrinienne chez l'animal.

Les mécanismes d'action des perturbateurs du système endocrinien

Les substances perturbatrices du système endocrinien ne sont pas nécessairement de structure proche de celles des hormones. De manière large, les perturbateurs du système endocrinien peuvent être classés en trois types :

- hormones de synthèse (agents chimiques comme le 17 α -éthynylestradiol développés pour perturber de manière intentionnelle le système endocrinien) ;
- composés naturels, comme les phytoestrogènes (génistéine, coumestrol) retrouvés dans une grande variété de plantes ;
- les produits chimiques synthétisés par l'homme, destinés à diverses applications et qui sont soupçonnés être perturbateurs du système endocrinien animal et humain. Certains de ces composés chimiques de synthèse sont des pesticides et des herbicides comme le DDT et son métabolite dichlorodiphényldichloroéthane (DDE), le dieldrine, le chlordane et l'endosulfan, des PCB et les dioxines, le bisphénol A (utilisé dans les résines époxy), des phtalates (utilisés majoritairement dans les plastiques d'utilisations variées comme les emballages alimentaires) et les éthoxylates d'alkylphénol (APE).

Les mécanismes d'action des hormones sont multiples et il existe de nombreuses réactions avec lesquelles les agents chimiques peuvent interférer (*figure 2*). Après liaison de l'hormone à son récepteur, le complexe hormone-récepteur est internalisé au sein du noyau de la cellule. Le complexe se fixe sur une région spécifique du promoteur du gène hormono-dépendant, entraînant par exemple l'expression du gène. La perturbation du système endocrinien peut prendre plusieurs formes. Ainsi, une molécule à activité perturbatrice peut agir en :

- mimant les effets des hormones naturelles (estradiol) en se fixant sur le récepteur hormonal (*figure 3-a*) ;
- antagonisant les effets des hormones naturelles par blocage de leur liaison avec le récepteur hormonal (*figure 3-b*) ;
- réagissant directement ou indirectement avec la structure de l'hormone en l'altérant (*figure 3-c*) ;
- altérant le taux de récepteur hormonal disponible et en interférant avec le transport et l'élimination des hormones (*figure 3-d*) ;
- interférant avec les activités enzymatiques concourant à la synthèse hormonale ;
- empêchant l'internalisation et donc la liaison du complexe hormone/récepteur avec l'ADN (*figure 4a*) ;
- occupant directement le site de l'élément de réponse au complexe hormone/récepteur de la région promotrice (*figure 4b-1*) ;
- modifiant la structure du site de l'élément de réponse au complexe hormone/récepteur de la région promotrice (*figure 4b-2*).

La complexité du système endocrinien couplée à la multiplicité des mécanismes d'action de ces perturbateurs rend les

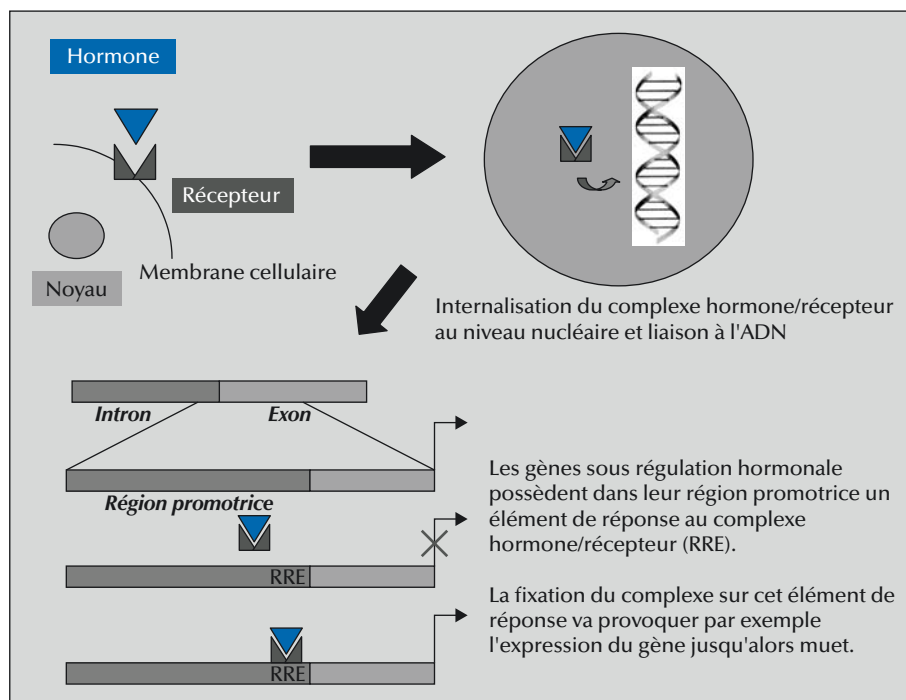


Figure 2. Mécanisme d'action des hormones depuis leur liaison au récepteur jusqu'à leur fixation à l'ADN, en passant par leur internalisation.

recherches difficiles. Cela permet en partie d'expliquer qu'aucun lien clair n'ait pu être mis en évidence entre l'exposition environnementale à ces molécules et les signes cliniques humains faisant intervenir un ou des éléments du système endocrinien.

aux tests *in vivo* et *in vitro* de la perturbation endocrinienne, il est si difficile de faire le lien avec des pathologies humaines, faisant intervenir le système endocrinien, comme les cancers hormono-dépendants (sein, testicule, prostate) ou la baisse de fertilité [10].

Les perturbateurs du système endocrinien : effets sur la santé

La question qui se pose est de savoir pourquoi, alors qu'un grand nombre de molécules chimiques offre une réponse positive

Quelles molécules pour quels effets ?

Par exemple, le rôle des xénoœstrogènes (œstrogènes exogènes) dans les cas de cancer du sein a été largement étudié dans de nombreux travaux comparant notamment les taux de PCB, de 1,1-dichloro-2,2-bis(4-chlorophényl-d₄)éthylène DDE et/ou de substances organochlorées dans les graisses ou le sérum de patientes atteintes de cancer du sein par rapport à une population

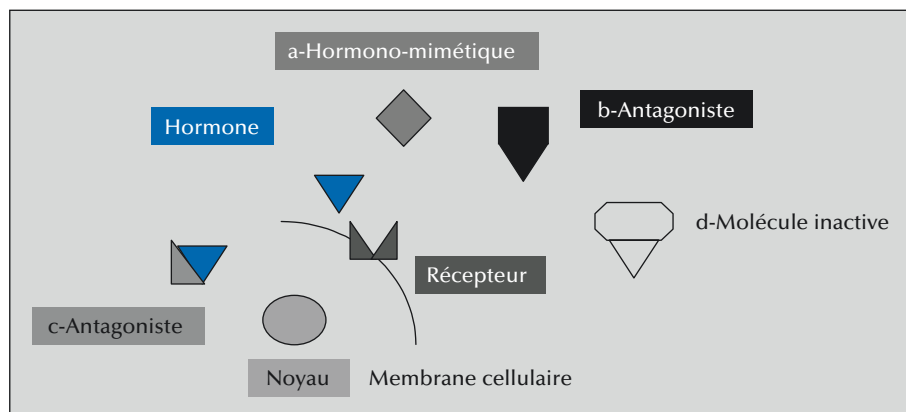


Figure 3. Mécanisme direct de perturbation de la fonction endocrinienne.

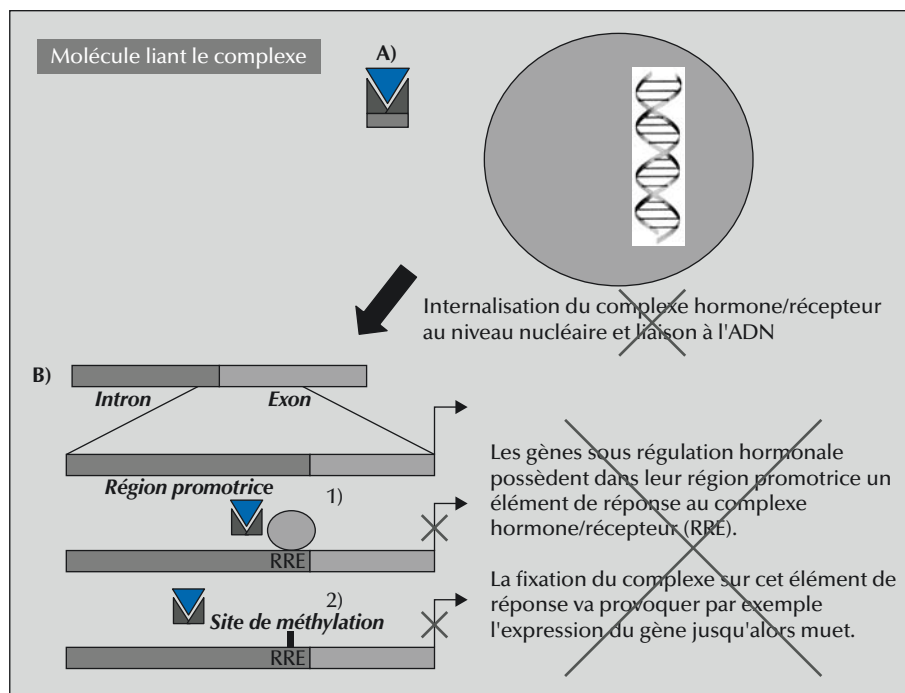


Figure 4. Mécanisme indirect de perturbation de la fonction endocrinienne, au niveau de l'internalisation du complexe hormone/récepteur (a) ou de la liaison à l'ADN de ce complexe (b).

contrôle. Les résultats sont encore controversés. En effet, pour une publication mettant en évidence un lien entre exposition et effets, une autre montre que ce lien n'existe pas [11]. Il existe plusieurs explications à cela. Ces études ont été possibles grâce à la sophistication et l'augmentation de la sensibilité des outils d'analyse pour mesurer les taux d'organochlorés des échantillons biologiques. Malheureusement, l'exposition à d'autres produits chimiques est plus difficile à mesurer, et donc la plupart des études se sont concentrées sur les composés organochlorés à cause de leur persistance et de la disponibilité des moyens d'analyse. Les outils d'analyse d'aujourd'hui induisent par eux-mêmes un biais dans l'étude des composés perturbateurs du système endocrinien.

Qualité et quantité de spermatozoïdes et syndrome de dysgénésie testiculaire (TDS)

La méta-analyse de Carlsen *et al.* [12], au sujet de la capacité de reproduction chez l'homme suggère une diminution de plus de 40 % du nombre de spermatozoïdes dans la population mondiale. L'article issu de cette étude a été un facteur important de l'inquiétude du public et des instances réglementaires au regard des impacts néfastes supposés des perturbateurs de la fonction endocrinienne. Sharpe et Skakkebaek [13] ont étendu l'inquiétude concernant le nombre de spermatozoïdes aux dysfonctionnements de plusieurs organes et tissus au niveau du tractus reproducteur mâle. Ils ont proposé la notion de *testicular dysgenesis syndrome* (TDS) pour le syndrome de dysgénésie testiculaire qui inclut le cancer du testicule, la baisse du nombre de spermatozoïdes et l'augmentation des hypospadias et de la

cryptorchidie [14]. Une hypothèse a également été faite selon laquelle ces défauts pourraient refléter « l'existence d'une cause commune » et « pourraient être le résultat d'un dysfonctionnement de la programmation embryonnaire et du développement gonadique pendant la vie fœtale » [14]. Ce groupe a ainsi conclu que « l'élévation de l'incidence des symptômes variés du TDS apparaît rapidement. L'impact étiologique des facteurs environnementaux néfastes tels que les perturbateurs de la fonction endocrinienne, agissant probablement sur une susceptibilité génétique antérieure, doit donc être considéré » [14].

Cependant, sur la base des résultats de l'étude de l'équipe Carlsen [12], plusieurs groupes ont réétudié l'évolution du nombre de spermatozoïdes, pondérant ainsi l'inquiétude soulevée. Là encore, les difficultés à apporter une réponse claire concernant le lien probable entre fertilité et exposition environnementale à des perturbateurs de la fonction endocrinienne sont multiples [11] et reposent sur :

- l'origine des échantillons : banques de sperme, études cliniques de fertilité, vasectomie ;
- les techniques de mesure utilisées : comptage direct ou assisté ;
- les variations saisonnières.

Fish *et al.* [15] ont utilisé des techniques de mesure standardisées dans le même laboratoire pour étudier les éventuelles variations du nombre de spermatozoïdes d'hommes ayant subi une vasectomie dans les États de New York, Minnesota et Californie. La moyenne du nombre de spermatozoïdes était de 131,5 ; 100,8 et 72,7 x 10⁶/mL, respectivement et restait inchangée de 1970 à 1994. Cela a permis de montrer l'impact de la situation géo-

graphique. D'ailleurs, cette observation intéressante a été faite dans un nombre important d'études sur le sujet [11]. Les raisons de ces différences sont encore inconnues. La variabilité régionale en composés organochlorés comme les PCB, le DDE et les pesticides ne permet pas de conclure à une relation de cause à effet dans le cadre du TDS [16].

Cancer et malformation de l'appareil génital mâle

La diminution du nombre de spermatozoïdes et le cancer du testicule sont deux troubles du tractus reproducteur mâle supposés faire partie du TDS. Les variations du nombre de spermatozoïdes et les taux de cancer du testicule entre différents pays/régions ont été étudiés sans toutefois apporter une réponse claire quant à une corrélation entre les changements de ces deux paramètres et la localisation géographique [17, 18]. Skakkebaek *et al.* [14] suggèrent qu'il existe une synchronisation de l'augmentation de l'incidence des troubles de la fonction de reproduction chez l'homme (cancer du testicule, anomalies génitales, baisse de la qualité du sperme, baisse de la fertilité) sur la base d'observations cliniques et épidémiologiques.

Bien que l'incidence du cancer du testicule soit en augmentation, la diminution du nombre de spermatozoïdes est plus discutable et confondue avec des effets démographiques et des données faibles sur les populations normales (non autosélectionnées). Les tendances internationales aux hypospadias et à la cryptorchidie montrent une grande variabilité entre régions/pays. Ainsi, il semble que l'augmentation des hypospadias se soit stabilisée après 1985, alors que le taux de cryptorchidie diminue depuis 1985 [19]. De plus, les études de fertilité menées en Suède et Grande-Bretagne [20, 21] n'ont pas montré de diminution temporelle. Il semble même que l'observation de la fertilité du couple (nombre de naissances par couple) montre une augmentation, même si la fertilité de l'homme a pu être montrée comme diminuant [20].

L'hypothèse de perturbateur de la fonction endocrinienne au regard de la diminution de la capacité de reproduction de l'homme suggère qu'une exposition *in utero* à des œstrogènes joue un rôle dans le TDS [14]. Swerdlow *et al.* [22] ont testé cette hypothèse en s'intéressant au taux de cancer testiculaire, affection regroupée sous le terme de TDS, chez des jumeaux dizygotés et monozygotés. En effet, des études ont montré que les taux d'œstrogènes libres sont plus élevés dans le premier groupe. Les résultats montrent une augmentation de 50 % du risque de cancer testiculaire chez les jumeaux dizygotés en comparaison des jumeaux monozygotés. Une étude récente de jumeaux au Danemark a testé directement l'incidence de l'exposition *in utero* à des œstrogènes sur le nombre et la qualité des spermatozoïdes de singletons de jumeaux mono- et dizygotés [23]. Les résultats ne montrent pas de différences significatives de la qualité du sperme entre les différents groupes d'hommes et les auteurs concluent que les concentrations prénatales d'œstrogènes ne sont pas en relation avec la diminution du nombre de spermatozoïdes chez l'adulte.

L'hypothèse suggérant que les contaminants environnementaux présentant une activité endocrinienne et ayant provoqué des

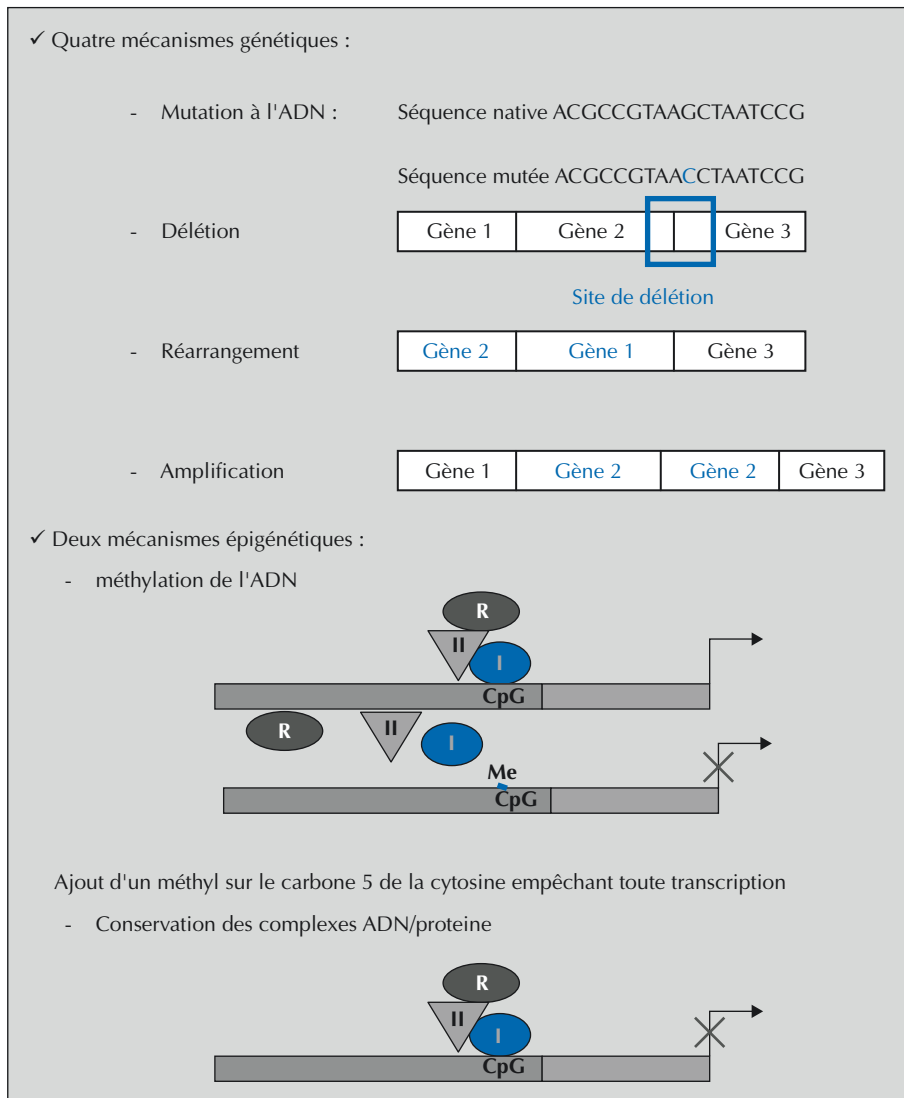
problèmes de reproduction dans la faune sauvage contribueraient à l'augmentation de l'incidence du cancer du sein chez la femme et aux troubles du tractus génital de l'homme, ne semble pas étayée. À l'exception du cancer du testicule, il ne semble pas exister d'augmentation globale des problèmes associés avec le tractus génital de l'homme. Cependant, il est clair que les cancers mammaires et testiculaires sporadiques ont dramatiquement augmenté depuis les 50 dernières années, en particulier dans les pays développés. Les facteurs environnementaux et le mode de vie qui contribuent à l'augmentation des taux de cancer du testicule et du sein sont inconnus et impliquent probablement des composés alimentaires qui, directement ou indirectement, entraînent une reprogrammation des voies sensibles qui accélèrent la carcinogenèse hormonale (exemple de l'inflammation) [11].

Les perturbateurs du système endocrinien : effet sur la plasticité génomique

Il reste évident que l'absence de corrélation claire entre l'exposition à des perturbateurs de la fonction endocrinienne et les effets sur la santé, faisant intervenir le système endocrinien, ne doit pas conduire à une conclusion trop hâtive. Le groupe de Skakkebaek [14] suggérait que ces effets pourraient être dus à l'impact de facteurs environnementaux néfastes tels que les perturbateurs de la fonction endocrinienne, agissant probablement sur une sensibilité génétique antérieure. Un axe récent de recherche vise à quantifier cette sensibilité génétique directement dépendante de la pression environnementale, l'épigénétisme (*encadré 1*).

Épigénétisme

L'expression génique n'est pas seulement déterminée par la séquence des bases de l'ADN, elle dépend également de phénomènes épigénétiques. Ces derniers sont définis comme les activités régulatrices des gènes n'impliquant pas un changement de séquence et qui peuvent persister au travers d'une ou plusieurs générations [24]. Par conséquent, l'héritage devrait être considéré sur un double niveau. En effet, une distinction doit être faite entre, d'une part, la transmission des gènes d'une génération à l'autre et, d'autre part, dans un sens somatique, les mécanismes impliqués dans la transmission d'états alternatifs de l'activité génique. L'épigénétisme décrit cette seconde transmission. On peut voir cela comme l'étude des mécanismes responsables du contrôle spatial et temporel de l'activité génique. Les exemples incluent les changements de l'expression génique au cours du développement, des motifs différents de l'expression génique entre cellules filles et cellule mère et les mécanismes qui permettent l'héritage somatique d'un ensemble de gènes actifs ou quiescents [25]. Fondamentalement, l'expression génique peut être régulée à différents niveaux (structure de l'ADN, transcription génique et/ou modifications posttranscriptionnelles). De plus, l'héritage épigénétique pourrait fonctionner afin de tamponner un système biologique évoluant contre des changements environnementaux en déplaçant des motifs d'expression génique.



Dans ce sens, l'héritage épigénétique adaptatif défie le « dogme central » selon lequel l'information est unidirectionnelle de l'ADN à la protéine. La mutation darwinienne au hasard et la sélection ne sont donc pas les seuls mécanismes d'évolution [26].

Plasticité génomique et agressions environnementales

Les observations épidémiologiques ont conduit à l'hypothèse que le risque de développer des maladies chroniques non contagieuses chez l'adulte est influencé non seulement par les facteurs génétiques et le style de vie mais également par des facteurs environnementaux agissant précocement dans la vie [27]. La recherche en biologie évolutionniste, biologie du développement et physiologie humaine et animale fournit un support pour cette idée et suggère que les processus environnementaux

influençant la propension aux maladies chez l'adulte agissent au cours des phases périconceptuelle, fœtale et infantile de la vie (figure 5). La nature de la réponse prédictive adaptative (RPA) est déterminée par l'environnement prénatal et postnatal. Le fœtus possède une gamme d'éléments homéostatiques appropriés à la vie postnatale en fonction des informations qu'il a reçues *in utero*. Si l'environnement postnatal actuel est corrélé avec la prédétermination prénatale, alors les RPA sont appropriées et le risque de maladie est réduit ; s'il n'y a pas de corrélation, alors le risque de maladie augmente. À noter que la gamme postnatale en lien avec la santé pourrait être réduite si l'environnement fœtal a été limité. C'est pourquoi les réponses plastiques réalisées durant le développement pour s'adapter immédiatement pourraient par la suite limiter la gamme des réponses adaptatives postnatales possibles [27]. De plus, ces processus sont suscepti-

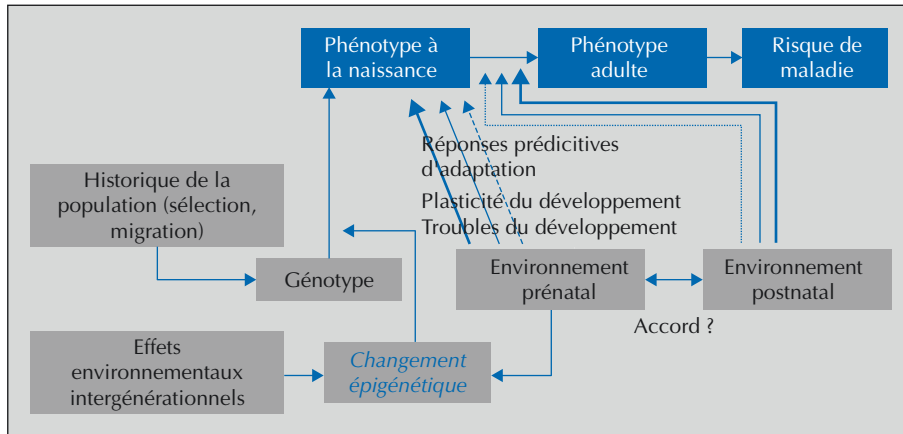


Figure 5. Nature de la réponse prédictive adaptative (RPA) déterminée par l'environnement postnatal prédéterminé et actuel (d'après [27]. Le fœtus possède une gamme d'éléments homéostatiques appropriés à la vie postnatale en fonction des informations qu'il a reçues *in utero*. Si l'environnement postnatal actuel est corrélé avec la prédétermination prénatale, alors les RPA sont appropriées et le risque de maladie est réduit ; s'il n'y a pas de corrélation, alors le risque de maladie augmente.

bles de modifier l'épigénétisme associé à l'ADN. Ces modifications structurelles fragilisent le patrimoine génétique et sont transmissibles à la descendance. Cela fournit un terrain de sensibilité lors de l'exposition à d'autres polluants des générations suivantes. Ce concept « d'origines développementales de la santé et des maladies » pourrait donc avoir des implications biologiques, médicales et socio-économiques importantes.

Rôle de la méthylation de l'ADN dans le développement de cancers

À ce titre, l'altération de la méthylation de l'ADN, un des mécanismes de l'épigénétisme, caractérisé par l'ajout d'un méthyle sur le carbone 5 de la cytosine empêchant toute transcription, semble rendre compte de certaines altérations héréditaires de l'expression génique [28]. La méthylation de l'ADN est également impliquée dans l'« impression » (*imprinting*), phénomène par lequel des gènes homologues sont exprimés différemment selon qu'ils proviennent de l'ovocyte ou du spermatozoïde [26, 29]. La méthylation a été montrée comme contribuant aux phénomènes de cancérogenèse et à certains troubles neuroaux et du développement [30]. En effet, une mauvaise régulation de l'épigénétisme peut être un facteur important sous-tendant un nombre complexe de maladies [31]. De plus, il est raisonnable d'émettre l'hypothèse que les altérations de la méthylation de l'ADN sont des mécanismes impliqués dans de nombreux types de toxicité induits par des produits chimiques.

À ce jour, le cancer est le trouble le plus communément associé à une méthylation aberrante, et les altérations de la méthylation induites par des produits chimiques peuvent jouer une variété de rôles dans la cancérogenèse [32, 33]. Actuellement, les changements de méthylation pourraient être un mécanisme impliqué à la fois dans les étapes d'initiation et de promotion de la cancérogenèse [34]. L'altération de la méthylation de l'ADN peut entraîner la cancérogenèse de différentes façons, parmi lesquelles, i) l'hypométhylation des régions promotrices provoquant une sur-expression des oncogènes ; ii) l'hyperméthylation des régions promotrices entraînant l'inhibition d'expression

des gènes suppresseurs de tumeurs ; iii) l'hyperméthylation conduisant à une augmentation de l'incidence de la désamination de la 5-méthylcytosine, formant un point de mutation (transformation de C en T) dans les gènes suppresseurs de tumeur et/ou les proto-oncogènes [35]. Un quatrième rôle de la méthylation de l'ADN impliqué dans la cancérogenèse se trouve dans l'altération de régulation des gènes « imprimés », observation commune dans certains types de cancers humains [36].

Perturbateurs de la fonction endocrinienne et méthylation

Les perturbateurs de la fonction endocrinienne font partie des substances susceptibles d'altérer la méthylation de l'ADN. McLachlan *et al.* [37] ont ainsi étudié les motifs de méthylation du promoteur du gène de la lactoferrine sur des souris traitées pendant le développement avec du DES (traitement provoquant l'expression persistante de la lactoferrine et le développement des cancers épithéliaux de l'utérus). Le motif de méthylation de l'ADN des souris traitées pendant le développement a été comparé à celui présent chez des souris traitées à l'âge adulte. Aucune persistance de l'expression génique ni aucun cancer n'ont été observés au niveau de l'utérus après traitement chez les adultes. Cinq sites CpG disponibles pour la méthylation apparaissent dans une région en amont de l'élément de réponse aux œstrogènes (ERE) dans le promoteur du gène de la lactoferrine chez la souris. Chez la souris « œstrogénisée » pendant le développement, deux sites restent non méthylés, alors que chez le témoin correspondant, seul un site CpG reste non méthylé [38]. Les souris adultes traitées avec la même dose de DES pendant le même temps d'exposition ne montrent pas de changement de leur motif de méthylation au niveau du gène de la lactotransferrine. Ceci est en accord avec l'inaptitude d'un tel traitement, chez l'adulte, à changer de manière persistante l'expression génique. Le motif de méthylation altéré, associé avec le traitement œstrogénique pendant la différenciation des cellules épithéliales de l'utérus, fournit un mécanisme d'expression irréversible d'un signal normalement réversible. Il peut également

fournir une voie possible du changement de l'épigénétisme dans la cancérogenèse hormonale.

La généralisation de ce mécanisme à la cancérogenèse hormonale requiert des études sur la méthylation et l'expression de différents gènes majeurs dans la différenciation et la prolifération. Il a été montré que les cellules du cancer du sein présentaient des gènes avec une fonction de suppresseurs de tumeurs réprimés et que cette inhibition est fonction de l'altération de la méthylation [39]. Le rôle des œstrogènes dans la méthylation ou la déméthylation de ces gènes n'est pas encore connu. Il peut tout de même être postulé que les œstrogènes associés aux voies de signalisation peuvent contribuer à la méthylation ou la déméthylation de l'ADN [40-43].

La discussion présentée ci-dessus permet de mettre en avant l'altération de la méthylation comme un mécanisme possible sous-tendant une variété d'effets toxiques induits par des agents chimiques. Ces effets peuvent survenir en conséquence de changements hérités dans le phénotype des cellules cibles. De plus, les altérations de l'expression génique dues à des mécanismes épigénétiques peuvent entraîner la mort cellulaire, et cela peut être la base d'une toxicité. Par conséquent, la mesure de l'état de méthylation de l'ADN devrait être considérée pour être incluse en tant qu'auxiliaire des tests *in vitro* et *in vivo* pour évaluer la toxicité d'un agent chimique et fournir les informations requises pour définir les conditions en dessous desquelles le composé peut être utilisé sans danger pour la santé humaine et l'environnement.

Conclusion

Bien qu'un certain nombre d'informations sur la nature et la mesure de l'hypothèse des perturbateurs de la fonction endocrinienne ait été généré au cours des 20 dernières années, des recherches plus ciblées restent nécessaires pour apporter un peu d'éclaircissement à ce problème. Les données collectées ci-dessus sont bien évidemment non exhaustives. Cependant, nous avons le sentiment qu'elles reflètent honnêtement l'état actuel de la science sur la question des perturbateurs de la fonction endocrinienne. Nous avons voulu éviter de multiplier les études sujettes encore à controverses ou celles utilisant des doses d'exposition extrêmement importantes par rapport à la réalité. Les données écotoxicologiques sur les perturbateurs de la fonction endocrinienne et le DES restent la base de l'inquiétude vis-à-vis de leurs effets sur la santé humaine. Aujourd'hui, le lien reste difficile à mettre en évidence avec des doses représentatives de la réalité. L'erreur serait de vouloir à tout prix faire le lien entre cancers hormono-dépendants et perturbateurs de la fonction endocrinienne. Il y a un réel danger à occulter les expositions multiples et surtout les notions d'effets potentialisateurs des perturbateurs de la fonction endocrinienne. Les nouvelles voies de recherche abordées dans cet article concernant ce domaine permettront de déterminer l'importance relative des perturbateurs de la fonction endocrinienne en tant que problème de santé publique. La réponse à cette question déterminera combien de nos tests toxicologiques et de mesures de risques ont besoin d'être appliqués à ce problème et jusqu'à quel point il est nécessaire de se passer de certains autres. L'approche de la plasticité génomique sera ainsi un outil utile. ■

Références

1. Vos JG, Dybing E, Greim HA, *et al.* Health effects of endocrine-disrupting chemicals on wildlife, with special reference to the European situation. *Crit Rev Toxicol* 2000 ; 30 : 71-133.
2. Blus LJ, Gish CD, Belisle AA, Prouty RM. Further analysis of the logarithmic relationship of DDE residues to eggshell thinning. *Nature* 1972 ; 240 : 164-6.
3. Hutchinson JD, Simmonds MP. Organochlorine contamination in pinnipeds. *Rev Environ Contam Toxicol* 1994 ; 136 : 123-67.
4. Guillette Jr. LJ, Gross TS, Masson GR, Matter JM, Percival HF, Woodward AR. Developmental abnormalities of the gonad and abnormal sex hormone concentrations in juvenile alligators from contaminated and control lakes in Florida. *Environ Health Perspect* 1994 ; 102 : 680-8.
5. Sumpter JP, Jobling S. Vitellogenesis as a biomarker for estrogenic contamination of the aquatic environment. *Environ Health Perspect* 1995 ; 103 (S7) : 173-8.
6. Hawkins SJ, Gibbs PE, Pope ND, *et al.* Recovery of polluted ecosystems : the case for long-term studies. *Mar Environ Res* 2002 ; 54 : 215-22.
7. Gill WB, Schumacher GF, Bibbo M, Straus FH, Schoenberg HW. Association of diethylstilbestrol exposure in utero with cryptorchidism, testicular hypoplasia and semen abnormalities. *J Urol* 1979 ; 122 : 36-9.
8. Colborn T, vom Saal FS, Soto AM. Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environ Health Perspect* 1993 ; 101 : 378-84.
9. Colborn T, Dumanoski D, Myers JP. *Our Stolen Future : are we threatening our fertility, intelligence and survival.* New York : Dutton ; Penguin Books, 1996 ; 306 p.
10. Multi-organic risk assessment of endocrine disruptors – Workshop – Mallorca, Spain - 31st March-1st April 2004. *Toxicology* 2004 ; 205 (NS) : 123-30.
11. Safe S. Endocrine disruptors and human health : is there a problem. *Toxicology* 2004 ; 205 : 3-10.
12. Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, Skakkebaek NE. Evidence for the decreasing quality of semen during the past 50 years. *BMJ* 1992 ; 305 : 609-12.
13. Sharpe RM, Skakkebaek NE. Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract. *Lancet* 1993 ; 341 : 1392-5.
14. Skakkebaek NE, Rajpert-De ME, Main KM. Testicular dysgenesis syndrome : an increasingly common developmental disorder with environmental aspects. *Hum Reprod* 2001 ; 16 : 972-8.
15. Fisch H, Goluboff ET, Olson JH, Feldshuh J, Broder SJ, Barad DH. Semen analyses in 1283 men from the United States over a 25-year period : no decline in quality. *Fertil Steril* 1996 ; 65 : 1009-14.

16. Ekblom A, Wicklund-Glynn A, Adami HO. DDT and testicular cancer. *Nature* 1996 ; 347 : 553-4.
17. Jorgensen N, Carlsen E, Ingrid N, et al. East-West gradient in semen quality in the Nordic-Baltic area : a study of men from the general population in Denmark, Norway, Estonia and Finland. *Hum Reprod* 2002 ; 17 : 219-28.
18. Bergstrom R, Adami HO, Mohner M, et al. Increase in testicular cancer incidence in six European countries : a birth cohort phenomenon. *J Natl Cancer Inst* 1996 ; 88 : 727-33.
19. Paulozzi LJ. International trends in rates of hypospadias and cryptorchidism. *Environ Health Perspect* 1999 ; 107 : 297-302.
20. Joffe M. Time trends in biological fertility in Britain. *Lancet* 2000 ; 355 : 1961-5.
21. Akre O, Cnattingius S, Bergstrom R, Kvist U, Trichopoulos D, Ekblom A. Human fertility does not decline : evidence from Sweden. *Fertil Steril* 1999 ; 71 : 1066-9.
22. Swerdlow AJ, De Stavola BL, Swanwick MA, Maconochie NE. Risks of breast and testicular cancers in young adult twins in England and Wales : evidence on prenatal and genetic aetiology. *Lancet* 1997 ; 350 : 1723-8.
23. Storgaard L, Bonde JP, Ernst E, Andersen CY, Kyvik KO, Olsen J. Effect of prenatal exposure to oestrogen on quality of semen : comparison of twins and singleton brothers. *BMJ* 2002 ; 325 : 252-3.
24. Pennisi E. Behind the scenes of gene expression. *Science* 2001 ; 293 : 1064-7.
25. Holliday R. Mechanisms for the control of gene activity during development. *Biol Rev Camb Philos Soc* 1990 ; 65 : 431-71.
26. Monk M. Epigenetic programming of differential gene expression in development and evolution. *Dev Genet* 1995 ; 17 : 188-97.
27. Gluckman PD, Hanson MA. Living with the past : evolution, development, and patterns of disease. *Science* 2004 ; 17 : 1733-6.
28. Gruenert DC, Cozens AL. Inheritance of phenotype in mammalian cells : genetic vs. epigenetic mechanisms. *Am J Physiol* 1991 ; 260 : L386-94.
29. Li E, Beard C, Jaenisch R. Role for DNA methylation in genomic imprinting. *Nature* 1993 ; 366 : 362-5.
30. Robertson KD, Wolffe AP. DNA methylation in health and disease. *Nat Rev Genet* 2000 ; 1 : 11-9.
31. Petronis A. Human morbid genetics revisited : relevance of epigenetics. *Trends Genet* 2001 ; 17 : 142-6.
32. Counts JL, Goodman JL. Alterations in DNA methylation may play a variety of roles in carcinogenesis. *Cell* 1995 ; 83 : 13-5.
33. Robertson KD, Jones PA. The human ARF cell cycle regulatory gene promoter is a CpG island which can be silenced by DNA methylation and down-regulated by wild-type p53. *Mol Cell Biol* 1998 ; 18 : 6457-73.
34. Goodman JL, Watson RE. Altered DNA methylation : a secondary mechanism involved in carcinogenesis. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2002 ; 42 : 501-25.
35. Laird PW. Oncogenic mechanisms mediated by DNA methylation. *Mol Med Today* 1997 ; 3 : 223-9.
36. Jirtle RL. Genomic imprinting and cancer. *Exp Cell Res* 1999 ; 248 : 18-24.
37. McLachlan JA, Burow M, Chiang TC, Li SF. Gene imprinting in developmental toxicology : a possible interface between physiology and pathology. *Toxicol Lett* 2001 ; 120 : 161-4.
38. Li S, Washburn KA, Moore R, et al. Developmental exposure to diethylstilbestrol elicits demethylation of estrogen-responsive lactoferrin gene in mouse uterus. *Cancer Res* 1997 ; 57 : 4356-9.
39. Ferguson AT, Evron E, Umbricht CB, et al. High frequency of hypermethylation at the 14-3-3 sigma locus leads to gene silencing in breast cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000 ; 97 : 6049-54.
40. Tomooka Y, DiAugustine RP, McLachlan JA. Proliferation of mouse uterine epithelial cells in vitro. *Endocrinology* 1986 ; 118 : 1011-8.
41. Nelson KG, Takahashi T, Bossert NL, Walmer DK, McLachlan JA. Epidermal growth factor replaces estrogen in the stimulation of female genital-tract growth and differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991 ; 88 : 21-5.
42. Ignar-Trowbridge DM, Nelson KG, Bidwell MC, et al. Coupling of dual signaling pathways : epidermal growth factor action involves the estrogen receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992 ; 89 : 4658-62.
43. Curtis SW, Washburn T, Sewall C, et al. Physiological coupling of growth factor and steroid receptor signaling pathways : estrogen receptor knockout mice lack estrogen-like response to epidermal growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996 ; 93 : 12626-30.