

les rencontres
scientifiques
de l'agence de l'eau

LES PERTURBATEURS ENDOCRINIENS DANS LES MILIEUX AQUATIQUES

P. VASSEUR

Ecotoxicité, Santé Environnementale
CNRS UMR 7146
Université Paul Verlaine-Metz



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.

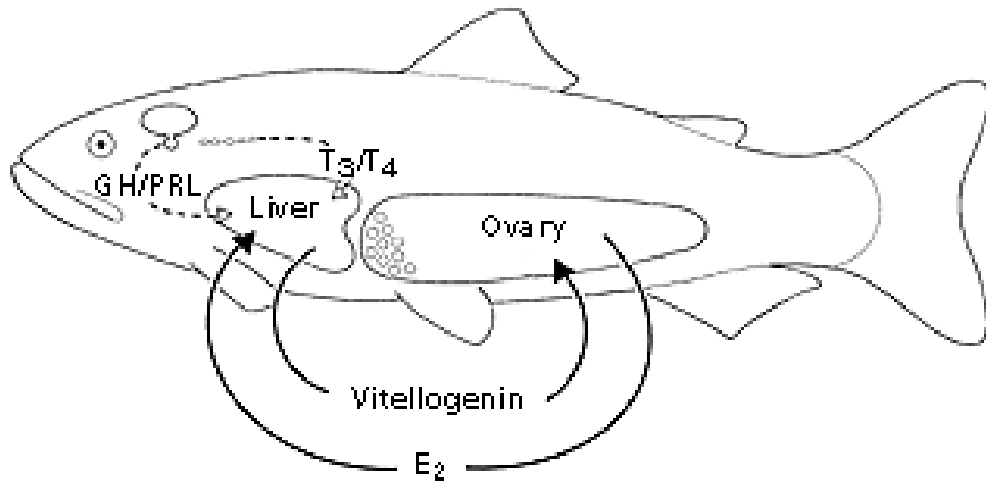
- Développement anormal des organes sexuels et anomalies fonctionnelles chez les alligators en Floride (lake Apopka, US) **Guillette et al., EHP 102, 8, 680-688, 1994.**

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

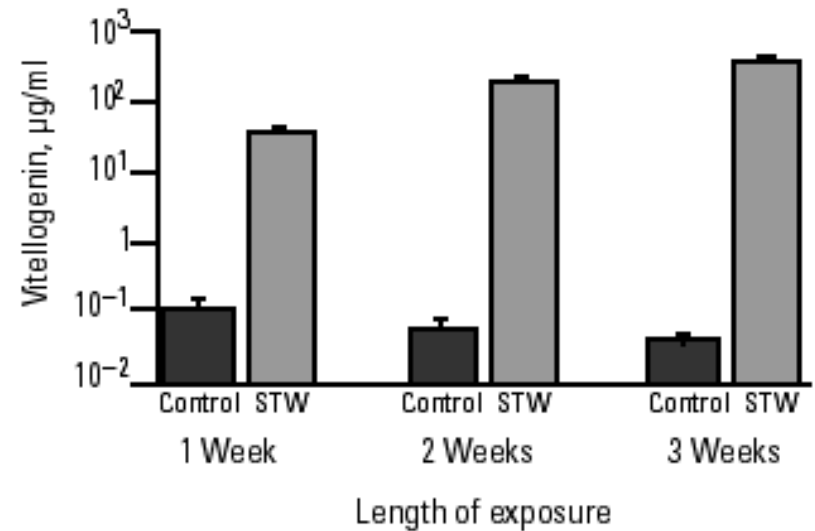
- Perturbations endocrines de polluants chimiques mises en évidence dans divers espèces de poissons (UK)

Implications au niveau populationnel ?





**Induction de la vitellogénine (Vtg)
dans les poissons encagés
exposés aux effluents
de stations d'épuration (STW)**

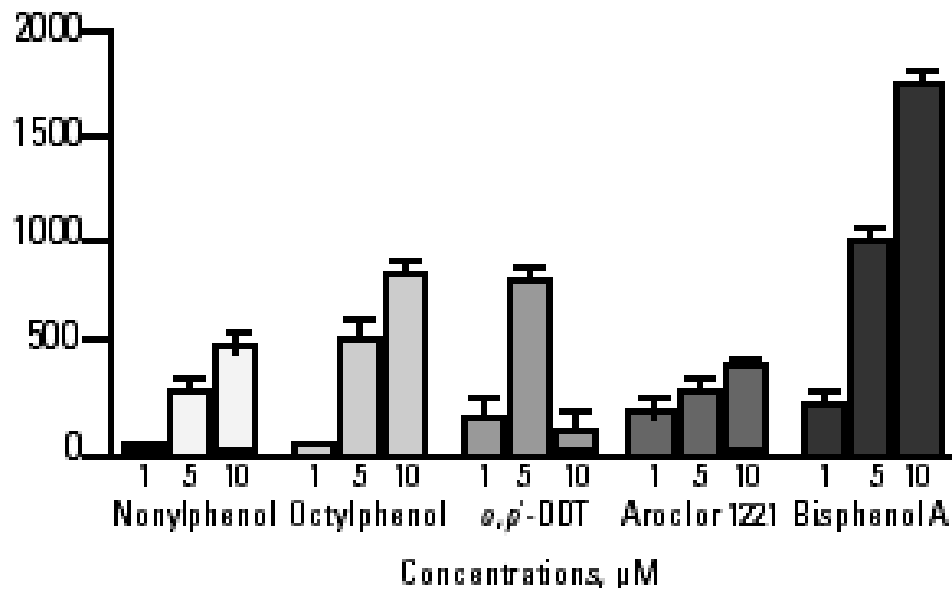
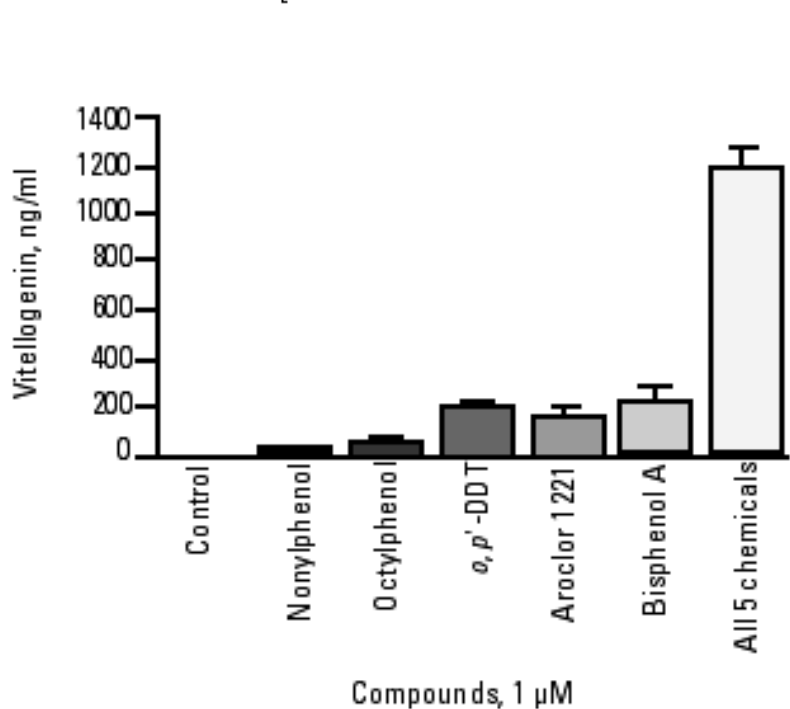
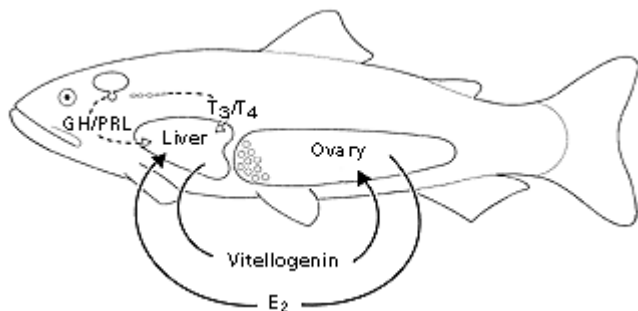


Vitellogenesis as a Biomarker for Estrogenic Contamination of the Aquatic Environment

John P. Sumpter and Susan Jobling

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

Brunel University, Uxbridge, Middlesex, United Kingdom



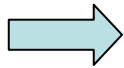
Vitellogenesis as a Biomarker for Estrogenic Contamination of the Aquatic Environment

John P. Sumpter and Susan Jobling

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

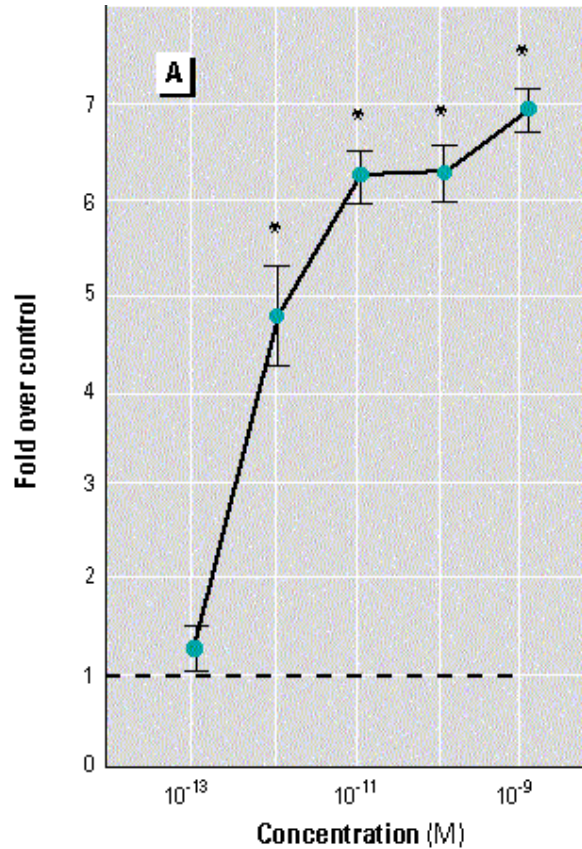
Brunel University, Uxbridge, Middlesex, United Kingdom

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

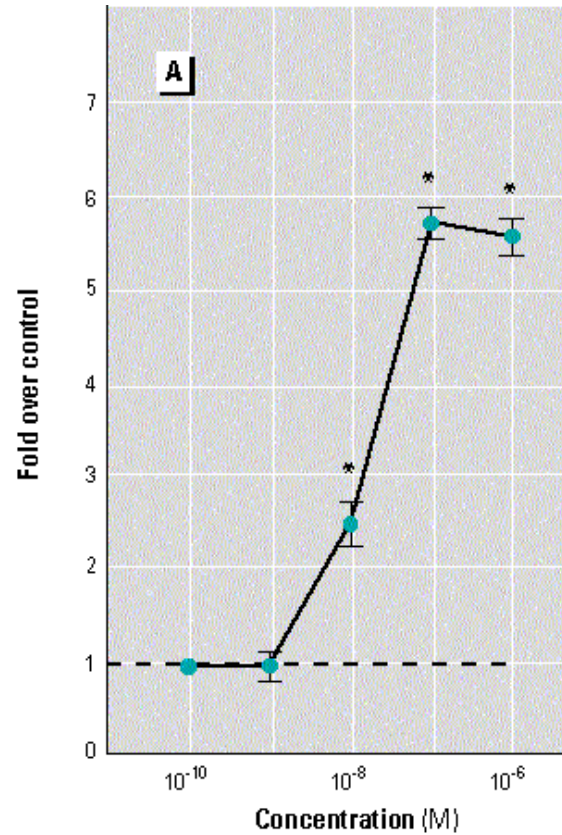


E-screen test développé par Soto et al, EHP 103, supp 7, 113-122, 1995

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

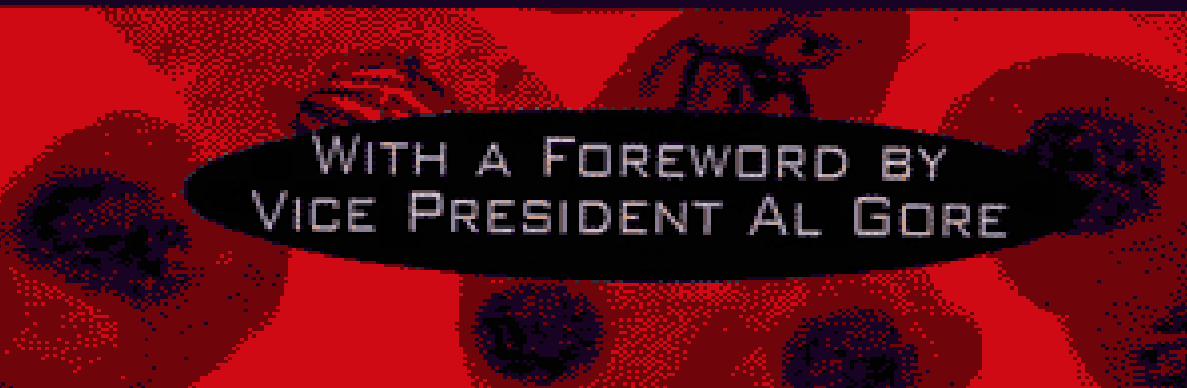


ARE WE THREATENING OUR FERTILITY, INTELLIGENCE,
AND SURVIVAL?—A SCIENTIFIC DETECTIVE STORY

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

Plan

Problématique et historique

Définition / Perturbateur endocrinien

Principales catégories chimiques

Mode d'action

Concentrations dans les compartiments aquatiques

Evaluation des risques

Difficultés relatives à l'évaluation des PE

Définition

PERTURBATEUR ENDOCRINIEN

Endocrine disruption 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)

_ENDOCRINE SYSTEM

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»** : estrogènes, progestérone, testostérone, phytoestrogènes
- **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), organoétains
méthoprène

Polychlorobiphényles (PCB)

Dioxines TCDD

Plastifiants Bisphénol A, **phtalates (DEHP, DBP,...)**

Détergents Alkylphénols (Octylphénols, Nonylphénols) et leurs
dérivés polyéthoxylés



Burkhart *et al.* EHP106, 841-848, 1998

Induction of Mortality and Malformation in *Xenopus laevis* Embryos by Water Sources Associated with Field Frog Deformities

UV, Méthoprène ?

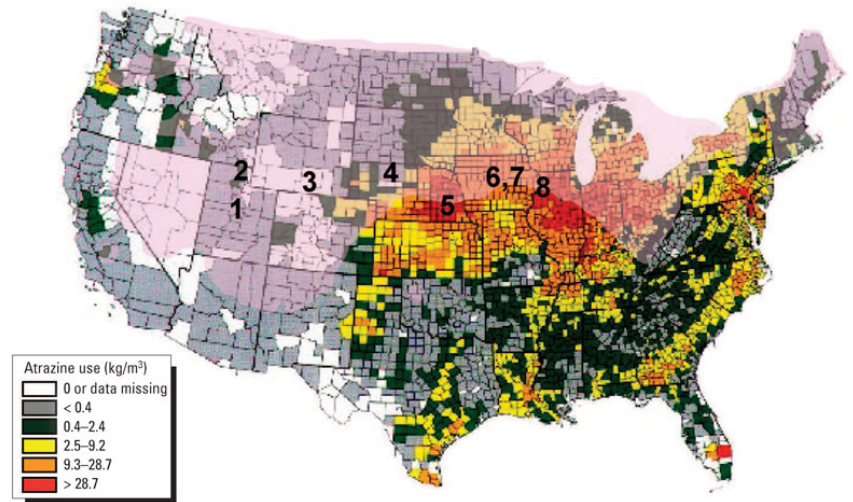
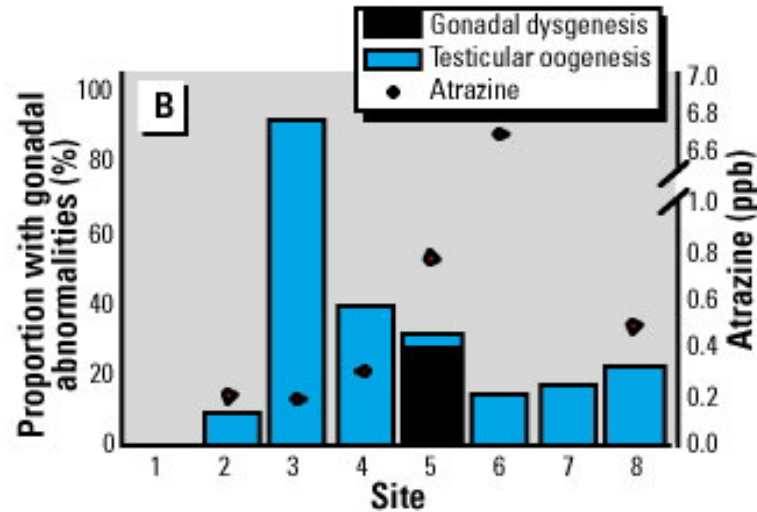
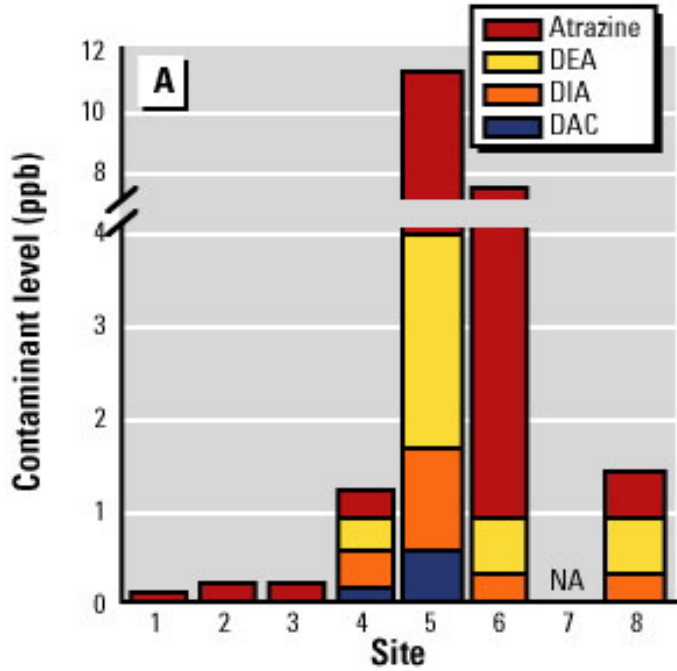
Carence minérale ?

Parasites, infections microbiennes ?

96-hr frog embryo teratogenesis assay in *Xenopus laevis* (FETAX)



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) spécifique ex : TCDD/AhR
- 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

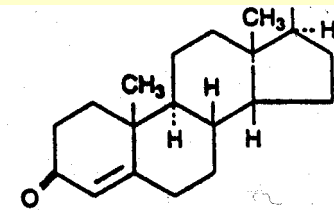
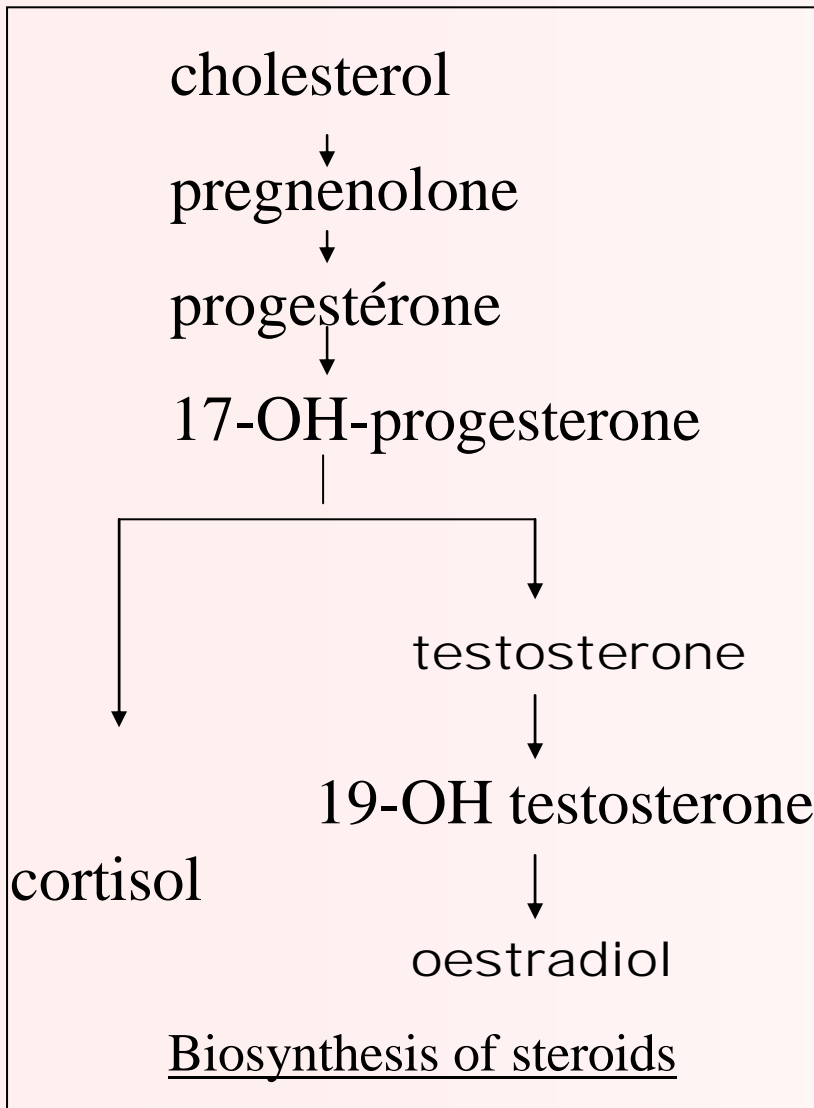
*le cas le plus évident de
perturbation endocrine
par un polluant chimique*

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

Nucella lapillus
(Dog whelk)

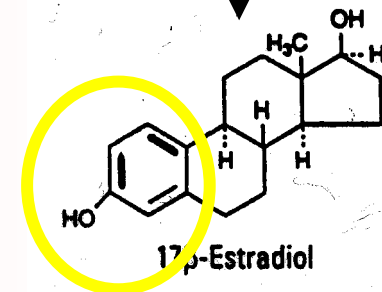


Mécanisme de masculinisation (imposex) des femelles des escargots marins par le TBT



Testosterone

aromatase **X** TBT



17 β -Estradiol

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

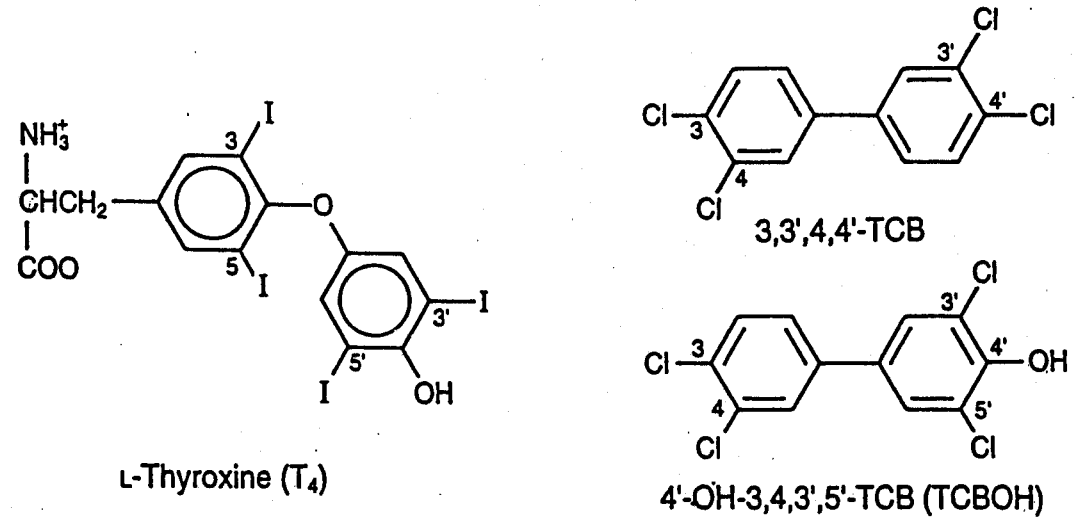
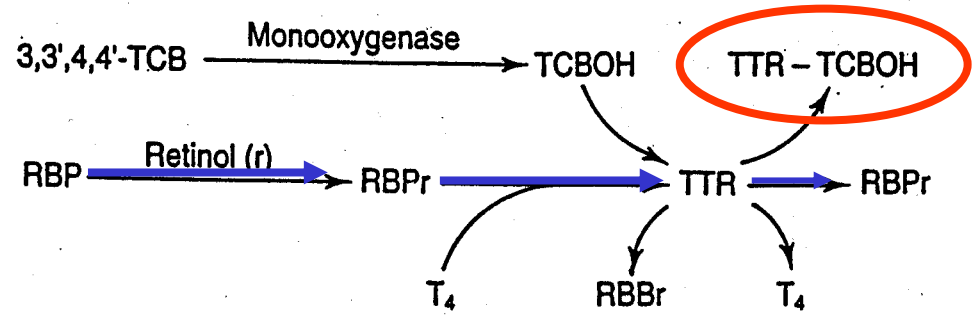
Peptide APGWamide qui induit imposex à 10^{-16} moles chez mollusque *I. obsoleta* serait le PMF



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 Hydroxyl... [4) pour le transporteur plasmatique « transthyretin » (TTR) (Brouwer et al., 1990)

T4 est rapidement glycurono-conjuguée et éliminée

Diminution des concentrations de T4

➔ Anomalies du développement

TCDD responsable de

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

Réponses

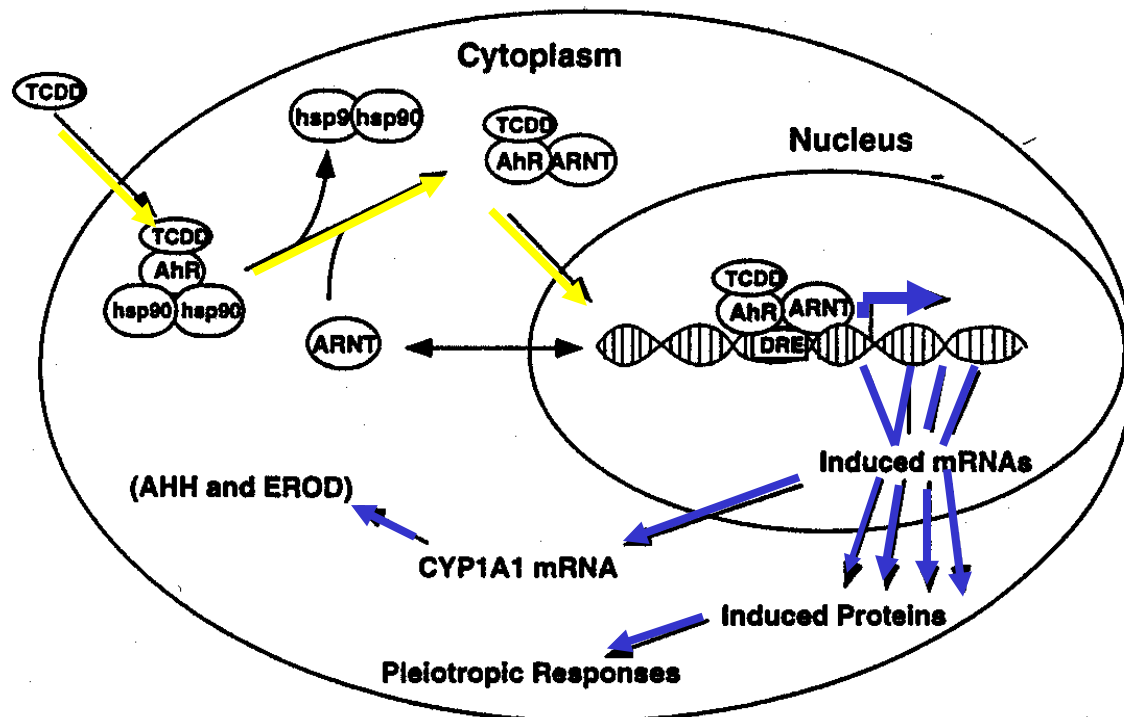
sex-
souche-
espèce- spécifiques
âge-
tissu/organe

➔ 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



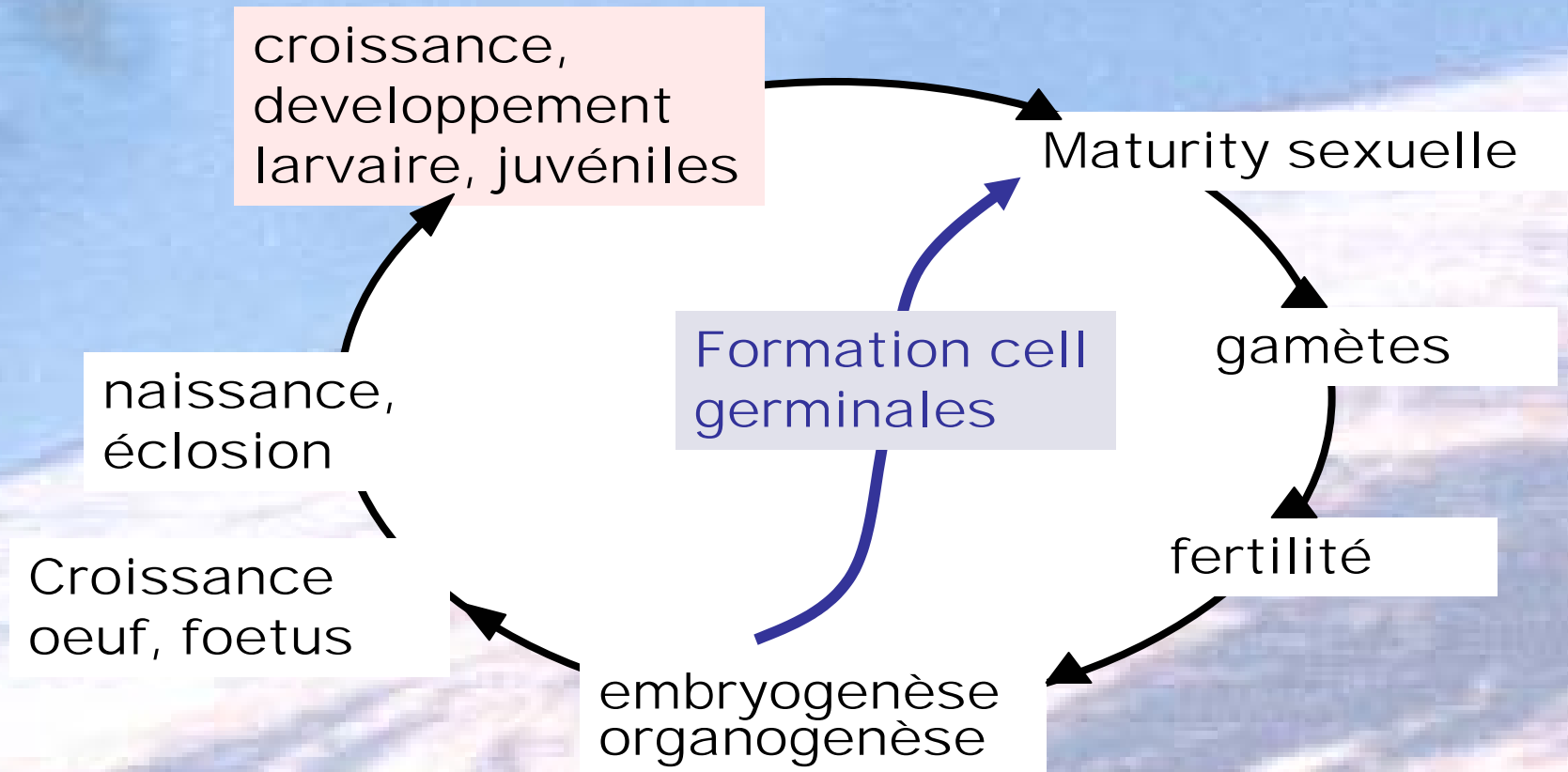


Sower *et al*, 2000
EHP,108, 1085-1090

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)

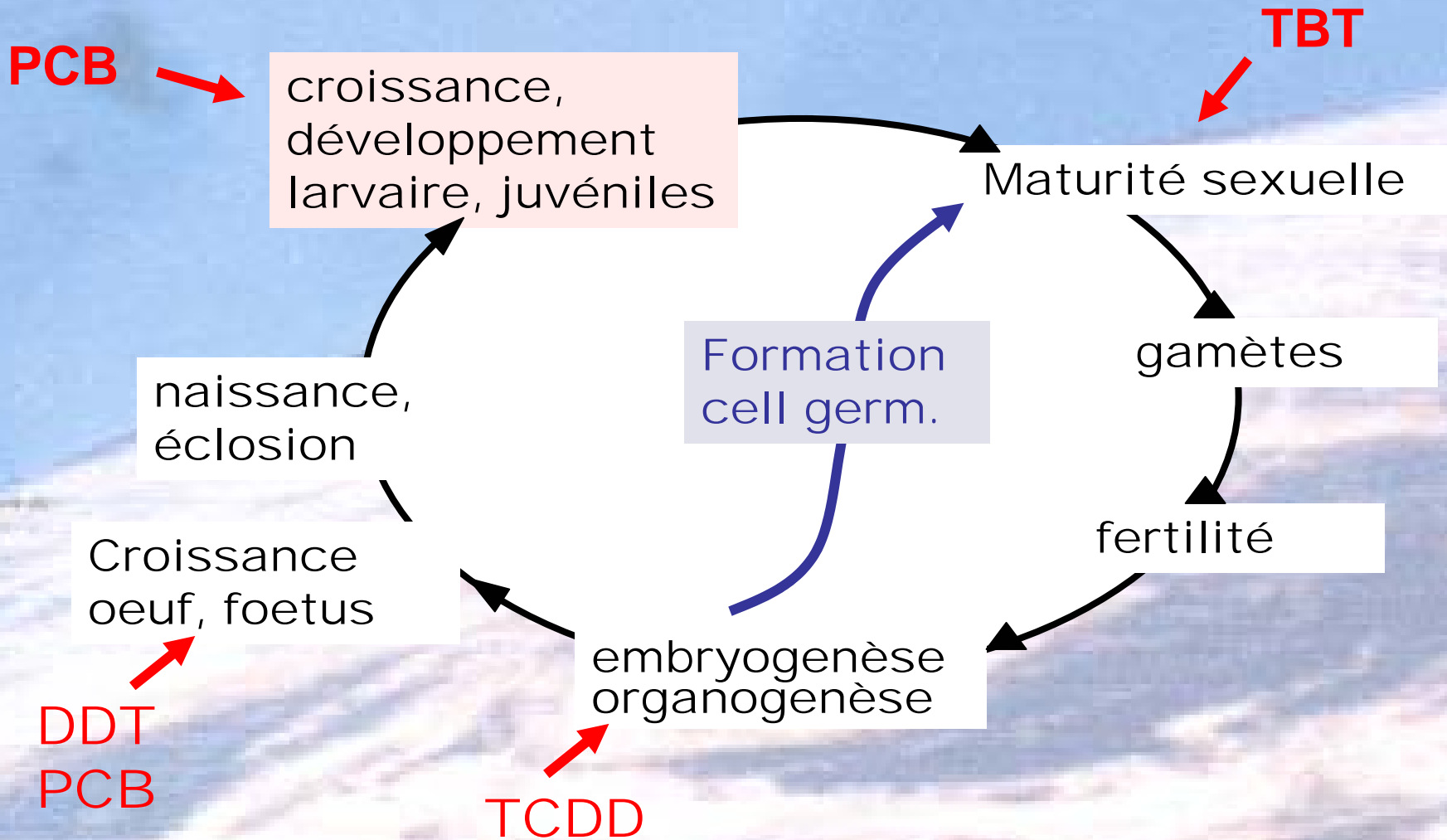
DIFFERENTES ETAPES DU CYCLE DE LA REPRODUCTION

Cibles critiques affectant la structure des populations



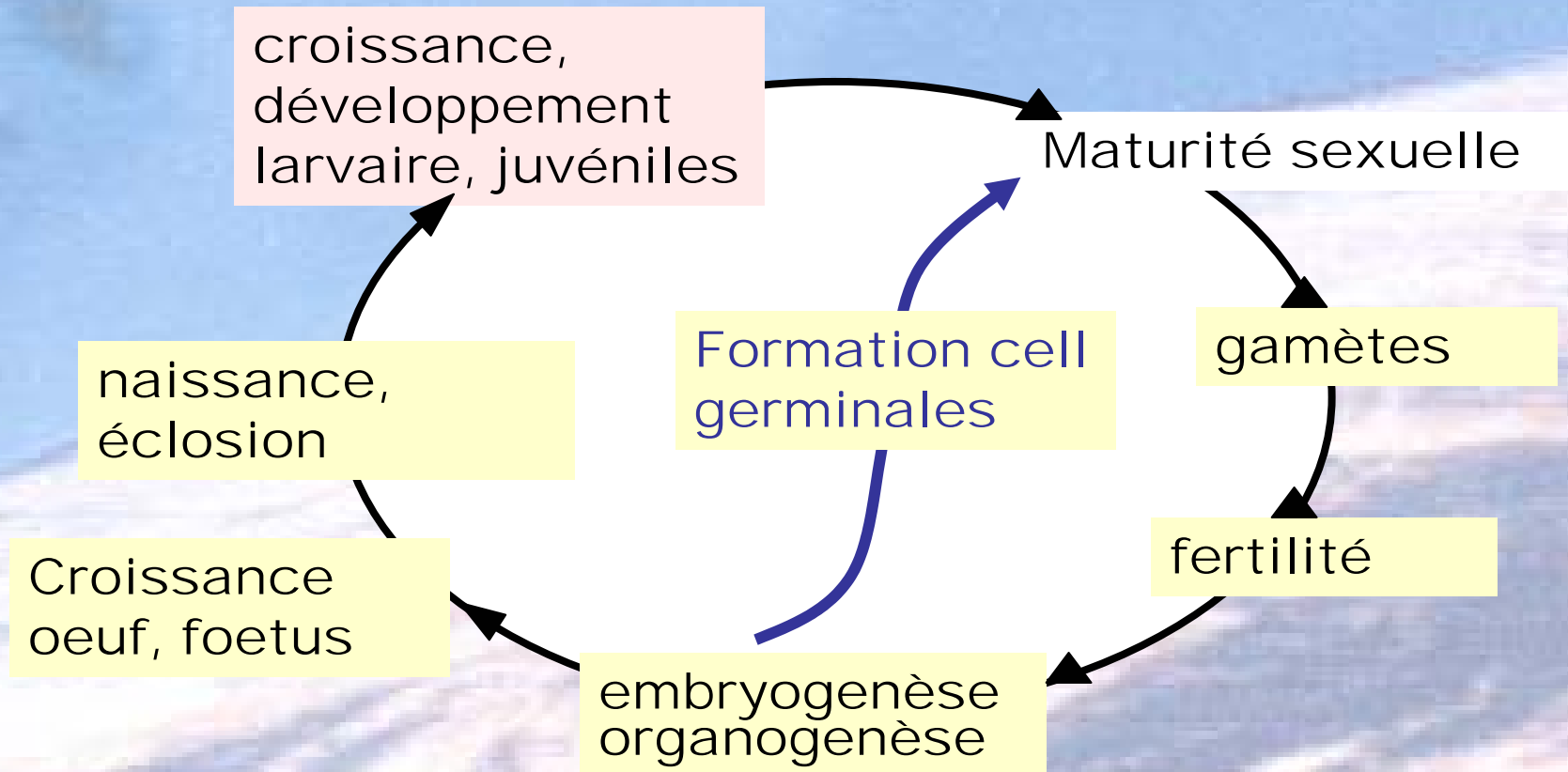
DIFFERENTES ETAPES DU CYCLE DE LA REPRODUCTION

Cibles critiques affectant la structure des populations



DIFFERENTES ETAPES DU CYCLE DE LA REPRODUCTION

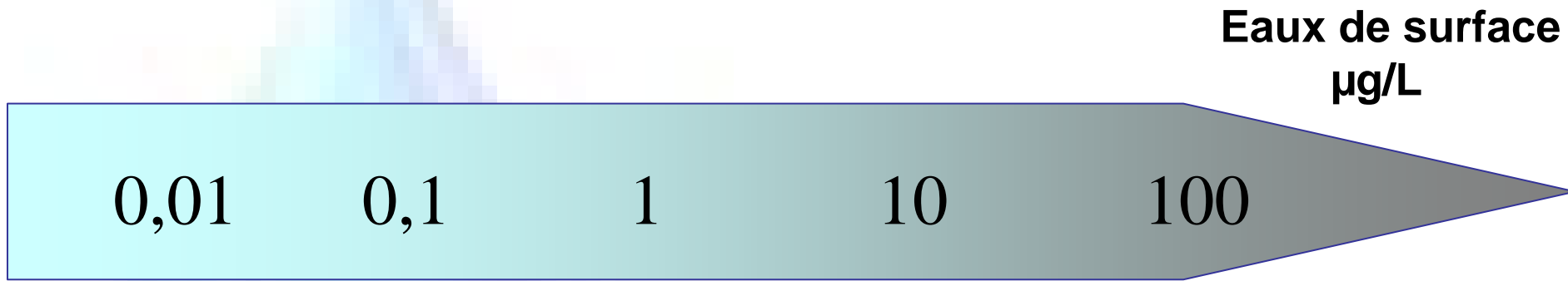
Cibles critiques affectant la structure des populations



Taux élevé de division cell, différenciation, apoptose

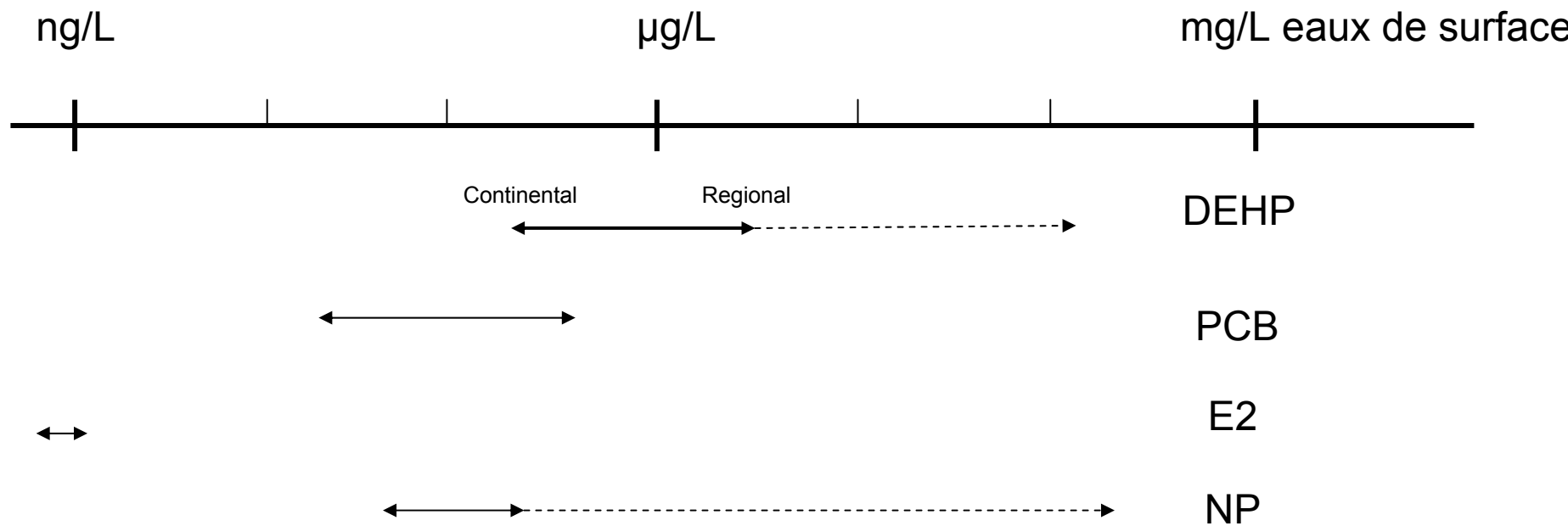
Cytotoxiques, génotoxiques auront des effets populationnels bien que non perturbateur endocrinien stricto sensu.

Concentrations dans compartiments aquatiques



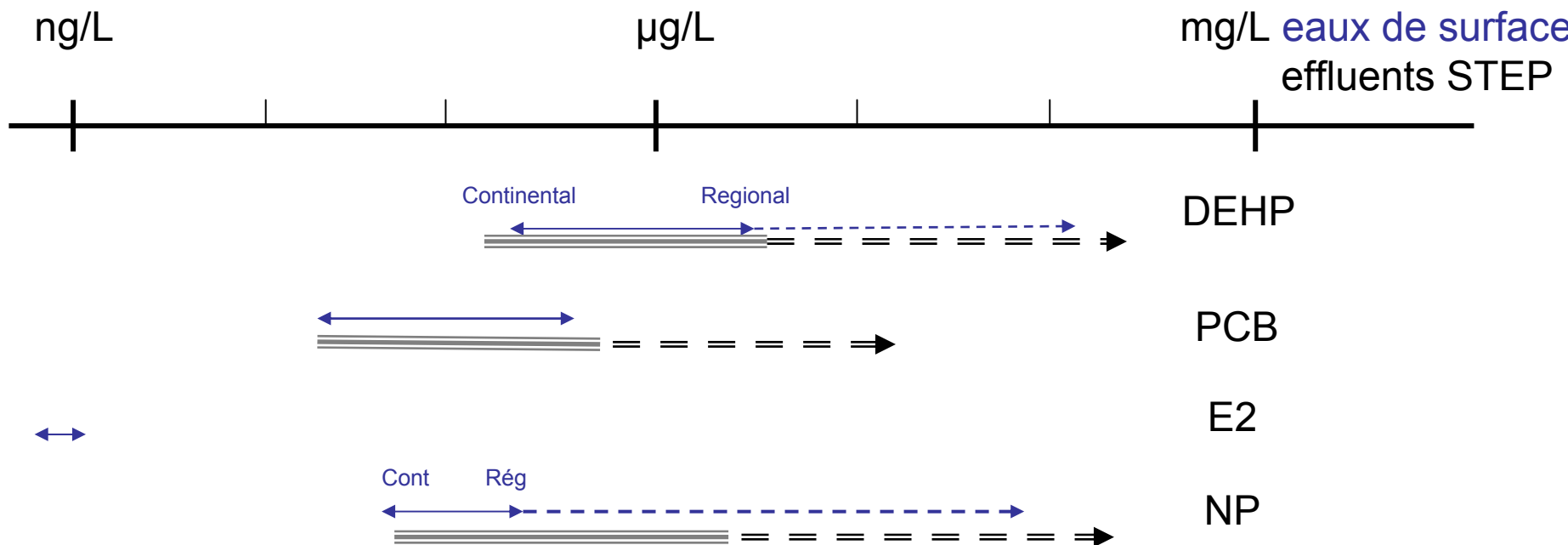
Lipophilie → concentration dans les chaînes alimentaires → effets sur prédateurs

Concentrations dans compartiments aquatiques

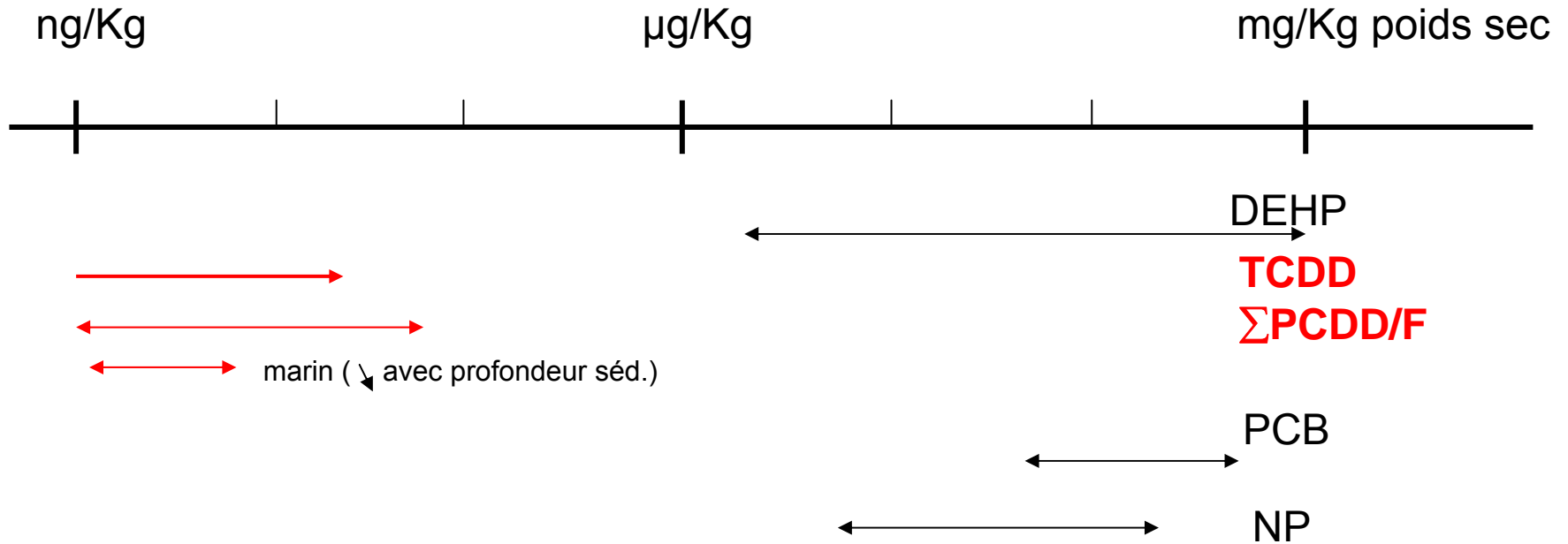


TCDD < limites de détection dans les eaux

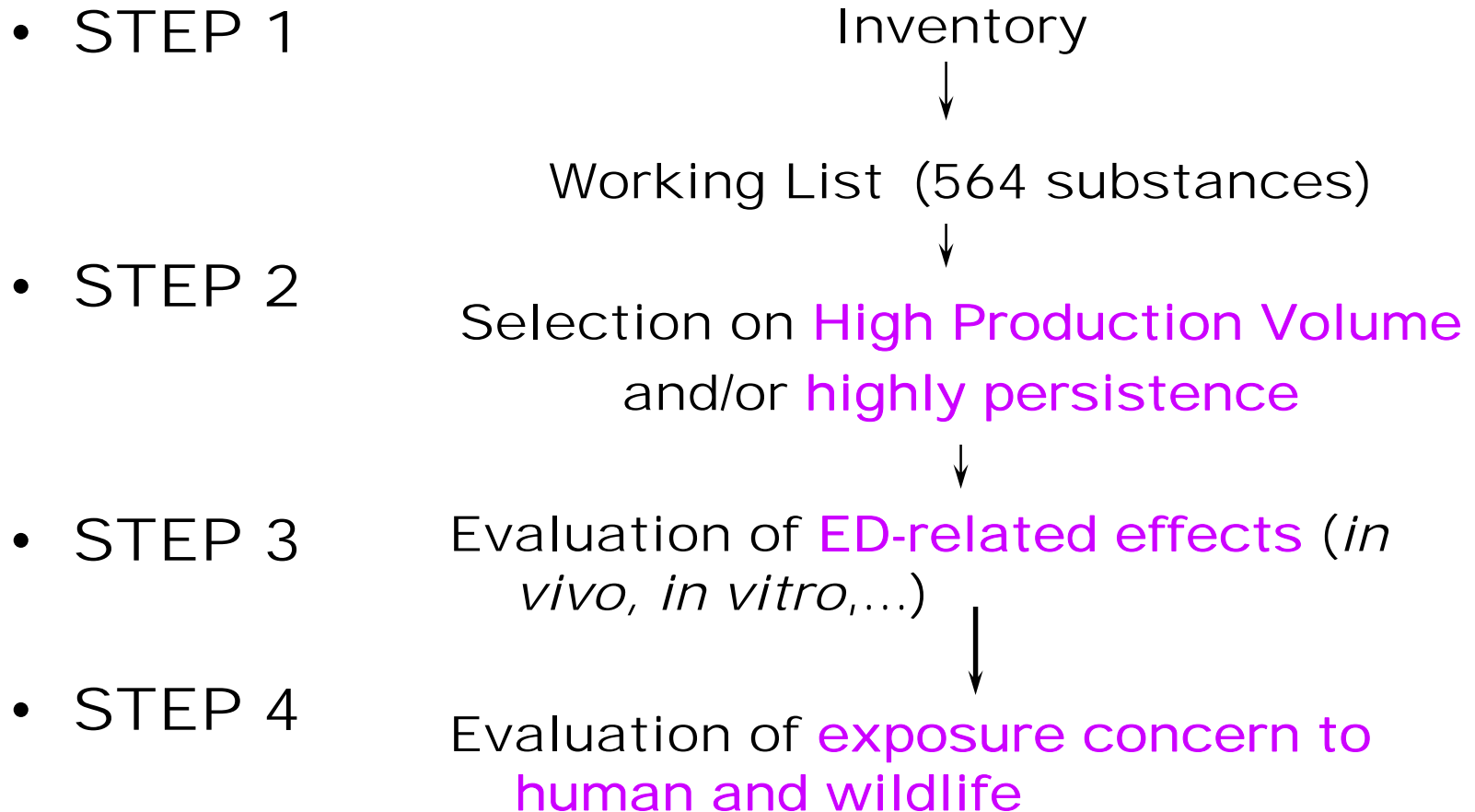
Concentrations dans compartiments aquatiques



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)



COMMUNICATION FROM THE COMMISSION TO THE COUNCIL AND THE EUROPEAN PARLIAMENT

on the implementation of the 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

Données de toxicité appropriées, suffisantes ?

→ **CHRONIQUES / REPRODUCTION / DEVELOPPEMENT**

Pour l'évaluation des dangers et des risques environnementaux ?

→ **PROTECTION DES PREDATEURS / CONSOMMATEURS**

Quid des polluants émergents ?

Organobromés (PBB) « antifeu » et organofluorés (PFOS) « agents de surface » ?

Mécanismes des perturbations endocriniennes restent à élucider **pour la plupart (ex TCDD, phtalates,...)**

Recherches nécessaires

In vitro, in vivo

Etudes de TERRAIN, et EXPERIMENTALES en conditions REALISTES

Merci de votre attention