

# Etude de l'exposition aux mélanges binaires de perturbateurs endocriniens

Radhouane CHAKROUN | r\_chakroun@yahoo.fr

Institut de santé et de sécurité au travail - Laboratoire de toxicologie professionnelle - Tunis - Tunisie

Mots clés : **Bisphénol A, butylparabène, diéthylstilbestrol, effets, exposition simultanée, gallate de propyle, hydroxyanisole butylé, hydroxytoluène butylé, mélanges, perturbateurs endocriniens**

Les perturbateurs endocriniens (PE<sup>\*</sup>) peuvent être présents, de manière naturelle ou du fait d'une contamination, dans différents milieux (air, eaux, aliments, produits ou articles de consommation...). Les effets de ces PE suscitent une grande inquiétude pour la santé publique, notamment par rapport aux effets sur la fonction de reproduction masculine. De nombreuses études se sont penchées sur les effets individuels de ces substances. Cependant, dans les conditions réelles de la vie, l'Homme est exposé simultanément à de nombreux PE. L'étude de l'exposition simultanée à plusieurs PE est d'une importance cruciale pour une meilleure évaluation des risques sanitaires potentiels.

La première étude sélectionnée pour cette note concerne les effets de l'exposition simultanée au bisphénol A (BPA) et au diéthylstilbestrol (DES<sup>\*</sup>) sur le système reproducteur mâle des rats. Le BPA est très utilisé dans la fabrication de plastiques polycarbonates, alors que le DES est un estrogen de synthèse qui a été prescrit dans le passé aux femmes enceintes se plaignant de fausses couches répétitives et qui a été aussi utilisé en alimentation animale. Dans la deuxième étude, des cellules cancéreuses humaines ont été utilisées pour évaluer les effets anti-androgéniques individuels et des mélanges binaires de quatre PE très utilisés dans les industries agro-alimentaires et cosmétiques.

## Effets de l'exposition simultanée par voie orale à de faibles doses de bisphénol A et de diéthylstilbestrol sur le système reproducteur mâle de rats Sprague-Dawley

Jiang X. et al. (2016). Low-dose and combined effects of oral exposure to bisphenol A and diethylstilbestrol on the male reproductive system in adult Sprague-Dawley rats. *Environ Toxicol Pharmacol*, vol. 43: p. 94-102.

### Résumé

Cette étude avait pour objectif d'étudier les effets de l'exposition simultanée à faibles doses de bisphénol A (BPA) et de diéthylstilbestrol (DES) sur le système reproducteur mâle des rats Sprague-Dawley. Des groupes de huit rats ont ainsi été exposés pendant huit semaines par voie orale (gavage) au BPA et au DES dissous dans de l'huile de maïs respectivement à des doses de 0,5 ou 5 mg/Kg/j et 0,05 ou 0,5 µg/Kg/j, ou au mélange des deux composés (0,5 mg/kg/j BPA + 0,05 µg/kg/j DES ou 5 mg/kg/j BPA + 0,5 µg/kg/j DES). Le groupe témoin a reçu uniquement de l'huile de maïs. Les résultats mettent en évidence une baisse de la mobilité des spermatozoïdes pour tous les groupes exposés. Alors que le DES seul n'a pas d'effet, le BPA aux deux doses testées induit une augmentation d'anomalies morphologiques des spermatozoïdes et la co-exposition entraîne un effet synergique. Les lésions histologiques étaient également plus significatives chez les groupes co-exposés par rapport aux groupes mono-exposés. Les auteurs rapportent une diminution significative des concentrations sériques moyennes de testostérone et de l'hormone lutéotrope chez certains groupes mono ou co-exposés au mélange (BPA 5 mg/Kg/j + DES 0,5 µg/Kg/j) par rapport au groupe témoin. Les concentrations sériques moyennes d'œstradiol ont au contraire enregistré une aug-

mentation significative chez les rats exposés au DES (0,05 µg/Kg/j) et au mélange (BPA 5 mg/Kg/j + DES 0,5 µg/Kg/j). Néanmoins, l'exposition simultanée au BPA et au DES n'a pas eu d'effet sur les concentrations sériques de ces hormones par rapport aux groupes mono-exposés. Aucun effet lié à la co-exposition, ni dose-dépendant, ni additif ou synergique n'a été observé. Des lésions au niveau des tubes séminifères ont été observées, ainsi qu'au niveau de l'ultrastructure des cellules de Sertoli et des cellules de Leydig, en particulier au niveau du réticulum endoplasmique (RE<sup>\*</sup>) pour tous les groupes traités. L'étude du mécanisme d'action au niveau du réticulum endoplasmique a mis en évidence une augmentation significative du facteur de transcription CHOP, marqueur de stress du RE chez les groupes exposés aux deux composés, seuls ou en mélange.

### Commentaire

Les effets de l'exposition individuelle au BPA et au DES ont été largement étudiés. Ces études ont mis en évidence l'effet perturbateur endocrinien (PE) des deux composés. Or, il est connu que la relation dose-effet pour les PE n'est pas de type classique et peut varier de manière importante selon les niveaux d'exposition (courbes dose-effet en forme de « U » ou « U » inversée) (1). De plus, les effets dus à l'exposition concomitante aux deux substances et plus particulièrement aux faibles doses demeurent encore mal connus. Cette étude présente l'avantage d'avoir non seulement confirmé les effets reprotoxiques des deux composés aux faibles doses, mais elle a également mis en évidence d'une part, une implication du RE dans le mécanisme d'action et surtout, un effet toxique significativement plus élevé sur l'appareil reproductif mâle des rats exposés aux mélanges de BPA et DES par rapport aux groupes de rats mono-exposés. Néanmoins, il est difficile d'extrapoler à l'Homme les effets observés. En effet,

une étude réalisée sur des testicules de fœtus humains et de rongeurs en culture a montré que les cellules humaines sont plus sensibles au BPA que les cellules de rats de souche Wistar et de souris alors que le DES affecte la sécrétion de testostérone dans les cultures de testicules de rats et de souris, mais pas dans celles de testicules fœtaux humains (2). En outre, le mécanisme d'interaction entre les deux composés mériterait de plus amples investigations.

### Etude *in vitro* des effets anti-androgéniques individuels et combinés de certains additifs alimentaires et agents conservateurs utilisés dans les produits cosmétiques

Pop A. et al. (2016). Individual and combined *in vitro* (anti)-androgenic effects of certain food additives and cosmetic preservatives. *Toxicol In Vitro*, vol. 32: p. 269-77.

#### Résumé

De nombreux produits cosmétiques ou alimentaires peuvent contenir des substances pouvant jouer le rôle de perturbateurs endocriniens. Le but de cette étude était d'évaluer les effets individuels et des mélanges binaires du butylparabène (BuPB<sup>\*</sup>), de l'hydroxyanisole butylé (BHA<sup>\*</sup>), de l'hydroxytoluène butylé (BHT<sup>\*</sup>) et du gallate de propyle (PG<sup>\*</sup>). L'étude a été réalisée sur la lignée MDA-kb2 de cellules cancéreuses de sein humain. Lorsque ces cellules sont exposées à un agoniste du récepteur d'androgènes (AR<sup>\*</sup>), le gène rapporteur s'exprime en codant pour la luciférase<sup>\*</sup>, enzyme dont l'activité peut être évaluée par mesure de la luminescence.

Les auteurs rapportent une faible activité anti-androgénique du BuPB, du BHA et du BHTet des mélanges binaires de ces composés (BuPB + BHA, BuPB + BHT et BHA + BHT) en présence d'un agoniste fort des récepteurs aux androgènes, la DHT<sup>\*</sup>. En effet, pour les cellules exposées aux mélanges binaires contenant du BuPB avec BHA ou BHT, une baisse du signal (induit par la DHT) atteint la ligne de base. Cette baisse était moins forte (jusqu'à 15%) pour les cellules exposées au mélange BHA+BHT. Les modèles mathématiques d'addition des concentrations et d'addition des effets ont été évalués par rapports aux résultats expérimentaux. Une bonne corrélation a été obtenue entre ces résultats et les estimations basées sur le modèle d'addition des concentrations. Cette corrélation était très significative pour les mélanges BuPB + BHT, BuPB + BHA, et BHA+BHT.

#### Commentaire

Dans cette étude, les activités anti-androgéniques de quatre perturbateurs endocriniens parmi les plus utilisés dans les industries alimentaires et de produits cosmétiques ont été étudiées. Les produits ont été testés individuellement afin de déterminer les concentrations à tester qui n'altèrent pas la viabilité cellulaire de la lignée utilisée. Ceci a néanmoins limité la gamme des concentrations pouvant être testées. L'évaluation des modèles mathématiques a montré une corrélation très significative pour les mélanges BuPB+BHT, BuPB+BHA, et BHA+BHT, ce qui suggère que ces composés agiraient sur l'activité anti-androgénique d'une manière additive. Cependant, les mélanges binaires contenant du PG n'ont pas pu être évalués car ce composé produit individuel-

lement un très faible effet ne permettant pas de déterminer la concentration efficace médiane ou la concentration inhibitrice médiane nécessaire à l'évaluation des modèles mathématiques. L'emploi d'une autre lignée cellulaire plus sensible pourrait pallier ce problème.

Par ailleurs, dans cette étude, seuls les mélanges binaires ont été testés, alors que l'exposition réelle pourrait être plus complexe. En effet, l'Homme peut être exposé simultanément à plusieurs PE via son alimentation, l'utilisation de produits cosmétiques ou provenant de son environnement. En outre, l'utilisation d'une lignée cellulaire cancéreuse avec un système de gène rapporteur, bien que très utile pour tester les potentialités d'interactions entre un récepteur et ses ligands, ne peut rendre compte des interactions biochimiques et physiologiques susceptibles de se produire chez l'Homme.

#### CONCLUSION GÉNÉRALE

Les deux études présentées ont évalué le potentiel de perturbateur endocrinien et/ou reprotoxique\* de mélanges binaires de substances auxquelles la population générale est exposée via son alimentation ou son environnement. La première a mis en évidence un effet toxique significativement plus élevé sur l'appareil reproductif mâle de rats exposés aux mélanges de BPA et DES par rapport aux groupes de rats mono-exposés, alors que la deuxième a montré que les mélanges binaires de BuPB, BHT et BHA pourraient exercer un effet anti-androgénique additif. Dans les deux cas, les résultats suggèrent que l'exposition simultanée à ces produits engendrerait des interférences pouvant aboutir à l'accroissement de l'effet toxique initial observé en mono-exposition.

L'étude des effets de mélanges plus complexes dont le choix pourrait être guidé par les données récentes d'exposome humain, permettraient de se rapprocher des conditions réelles de l'exposition humaine à ces produits et offrirait aux préventeurs des informations très utiles pour une évaluation plus pertinente des risques.

## GENERAL CONCLUSION

*Both studies presented in this note have evaluated endocrine disruptive or reprotoxic effects of binary mixtures of substances to which the general population is exposed through the diet or the environment. The first study has shown that combined exposure to BPA and DES resulted in significantly higher toxic effects on the male rat's reproductive system. Similarly, the second paper reported that exposure to binary mixtures of BuPB, BHT and BHA could produce additive anti-androgenic effect. In both cases, these results suggest that simultaneous exposure to these compounds could generate interferences that enhance the initial toxic effect observed in single exposure essays. Based on recent human exposome, investigating more complex mixtures would provide more useful information and allow a more efficient chemical hazards prevention.*

## Lexique

**Androgen receptor (AR)**: récepteur aux androgènes.

**Butylparabène (BuPB)**: agents de conservation très utilisés dans les produits de beauté et qui appartient à la famille des parabènes.

**Butylated hydroxyanisole (BHA)**: hydroxyanisole butylé, mélange des deux isomères 2-BHA et 3-BHA, très utilisé comme conservateur alimentaire, et également dans les produits cosmétiques.

**Butylated hydroxytoluene (BHT)**: hydroxytoluène butylé, utilisé comme conservateur alimentaire et anti-oxydant dans les produits cosmétiques.

**Bisphénol A (BPA)**: substance utilisée comme réactif de réticulation dans la fabrication des matières plastiques polycarbonates et des résines époxy. La DJA a été abaissée de 50 à 4 µg/Kg/j par l'EFSA en janvier 2015.

**Diéthylstilbestrol (DES)**: molécule de synthèse ayant des propriétés œstrogéniques, qui était prescrit aux femmes enceintes pour prévenir les fausses-couches récurrentes, et qui s'est avéré être reprotoxique et un contaminant pour l'environnement.

**5-alpha-Dihydrotestosterone (DHT)**: hormone androgène qui a une forte affinité pour les récepteurs androgènes.

**Luciférase**: enzyme qui catalyse la réaction d'oxydation de la luciférine en oxyluciférine. Il en résulte l'émission d'un photon dont la lumière résultante est jaune-verte. Le gène de la luciférase est utilisé en biologie moléculaire comme marqueur. Il est inséré à l'intérieur d'un autre gène, et si ce dernier est activé, le gène marqueur est transcrit et traduit en même temps que le gène dans lequel il a été inséré.

**Perturbateur endocrinien (PE)**: substance ou mélange exogène, possédant des propriétés susceptibles d'induire une perturbation endocrinienne dans un organisme intact, chez ses descendants ou au sein de (sous)-populations.

**Propyl gallate (PG)**: gallate de propyle, anti-oxydant utilisé comme additif alimentaire pour prévenir l'oxydation des matières grasses.

**Réticulum endoplasmique (RE)**: organe propre aux cellules eucaryotes. Il participe à la production de macromolécules, la modification des protéines et le transfert de substances vers l'appareil de Golgi.

**Reprotoxique**: ce qui est toxique pour la reproduction, c'est-à-dire pouvant altérer la fertilité de l'homme ou de la femme, ou altérer le développement de l'enfant à naître (avortement spontané, malformation...).

## Publications de référence

**1 Vandenberg LN, Colborn T, et al.** Hormones and endocrine-disrupting chemicals: low-dose effects and nonmonotonic dose responses. *Endocr Rev* 2012;33 (3):378-455.

**2 N'Tumba-Byn T, Moison D, et al.** Differential effects of bisphenol A and diethylstilbestrol on human, rat and mouse fetal leydig cell function. *PLoS One* 2012;7 (12):

## Autres publications identifiées

**Fournier K, Tebby C, Zeman F, et al.** Multiple exposures to indoor contaminants: Derivation of benchmark doses and relative potency factors based on male reprotoxic effects. *Regul Toxicol Pharmacol* 2016; 74 :23-30.

*Une benchmark dose (BMD), et les facteurs de puissance relatifs, sont déterminés pour un mélange de composés organiques semi-volatils que l'on trouve dans les habitations et qui ont le même mode d'action pour leur effet sur le système reproductif masculin. Parmi les 58 composés identifiés, 18 induisent une diminution de la testostérone (taux sériques). Parmi ces 18 substances, il est montré que le bisphénol A et le benzo[a]pyrène induisent la plus forte baisse de testostérone.*

**Gao CJ, Liu LY, Ma WL, et al.** Phthalate metabolites in urine of Chinese young adults: Concentration, profile, exposure and cumulative risk assessment. *Sci Total Environ* 2016; 543 (Pt A):19-27.

*Quatorze métabolites de phtalates ont été analysés dans 108 échantillons urinaires obtenus chez de jeunes adultes chinois. Le mBP et le miBP étaient les composés les plus abondants (48% du total des concentrations). L'évaluation du risque cumulé a montré que la moitié de la population étudiée présentait un indice de risque supérieur à la valeur limite.*

## Liens d'intérêts :

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt