

Xénohormones : mode d'action et effets suspectés

**Charbel Massaad
Robert Barouki**

Les effets des agents polluants de l'environnement, comme les pesticides et les herbicides, sur la santé humaine et animale ont fait l'objet de nombreux travaux ces dernières années, et ont suscité des craintes qui ont été évoquées même dans la presse à grand public. Le mode d'action le plus souvent proposé de ces xénobiotiques est leur capacité d'interagir avec les récepteurs des hormones stéroïdes, notamment ceux des œstrogènes, et à déclencher ainsi une réponse inappropriée dans le temps et dans l'espace. Cette inquiétude a été renforcée par l'exemple « historique » d'un médicament, le diéthylstilbestrol, un mimétique de l'œstradiol, qui provoque l'apparition de cancers génitaux chez les filles exposées *in utero*. Cependant, la nocivité réelle de ces xénobiotiques de l'environnement est toujours un sujet de controverse, certains auteurs estimant qu'ils n'atteignent pas dans l'organisme des concentrations nécessaires à la manifestation de leurs effets xénohormonaux. Néanmoins, les très nombreux travaux expérimentaux sur le sujet ont ouvert un nouveau champ d'investigation sur le mode d'action des xénobiotiques qui devrait être confronté aux données cliniques et épidémiologiques.

Au cours de ces dernières années, de nombreuses études ont montré que des composés chimiques dont certains sont des médicaments ou des polluants de l'environnement, mais aussi des composés naturels présents dans les plantes, avaient la capacité de mimer les effets d'hormones stéroïdes, principalement les œstrogènes. Étant donné les effets connus de ces hormones, en particulier sur le système

reproducteur et la multiplication cellulaire, l'attention des chercheurs s'est focalisée sur les conséquences possibles de l'accumulation de ces composés sur la croissance et la maturation des gonades et sur l'axe hypothalamo-hypophysaire. Parallèlement, une série d'études épidémiologiques semble suggérer une altération des fonctions de reproduction masculine au cours des cinquante dernières années, en particulier une diminution du nombre de

ADRESSES

C. Massaad : Cnrs UPRES-A7079, Université Paris 6, 7, quai Saint-Bernard, 75252 Paris Cedex 05, France. R. Barouki : Inserm U. 490, Université René-Descartes, 45, rue des Saints-Pères, 75270 Paris Cedex 06, France.

spermatozoïdes et de la qualité spermatique, une augmentation des malformations de l'appareil de reproduction ainsi qu'une augmentation de la fréquence des cancers du testicule (*m/s* 1995, n° 4, p. 612) [1]. Ces anomalies ont été décelées dans un premier temps chez les oiseaux [2], les alligators, les chiens et les poissons [3], orientant vers une origine liée à l'environnement. Les facteurs génétiques ne sont probablement pas responsables de ces altérations parce que les phénomènes observés ont évolué rapidement (1 à 2% de variation par an). Les facteurs liés à l'environnement semblent donc être plus plausibles, en particulier parce que le testicule est l'un des organes les plus vulnérables aux rayonnements, à la chaleur et aux xénobiotiques.

La coïncidence de ces événements a poussé plusieurs chercheurs à émettre l'hypothèse d'une relation de cause à effet. D'autres chercheurs, comme B. Ames [4], critiquent vivement cette hypothèse et accordent peu de crédit aux conséquences toxicologiques de la pollution par des composés à activité xénohormonale. Ces auteurs relèvent l'absence de corrélation entre les concentrations auxquelles un effet xénohormonal est observé et celles qui sont effectivement détectées *in vivo*. Le but de cette synthèse est de passer en revue les connaissances scientifiques dans ces domaines, de proposer des mécanismes possibles et d'exposer les sujets de controverse.

Les observations cliniques

L'observation la plus frappante est l'altération du compte spermatique. Les malformations de l'appareil génital mâle ont vu aussi leur fréquence augmenter ces dernières décennies. En particulier, les cas de cryptorchidies* ont doublé en vingt ans en Angleterre et au Pays de Galles [5]. De même, une augmentation des cas d'hypospadias** a été signalée dans certains pays [6]. Enfin, on note une augmentation de l'incidence de can-

cers du testicule, de 2% à 4% par an, pour les hommes âgés de moins de 50 ans [7]. Des études sur des modèles animaux ont renforcé ces constatations. La multiplication de ces observations a été considérée comme suffisamment préoccupante pour explorer les causes possibles des phénomènes.

Divers mécanismes ont été proposés pour expliquer les effets des polluants sur la reproduction et la carcinogénèse. Le mode d'action le plus fréquemment proposé est l'activité xéno-œstrogénique, c'est-à-dire la capacité de certains composés de mimer les effets de l'œstradiol, mais d'autres mécanismes sont possibles.

Une étape importante : le DES

La découverte des effets secondaires du traitement par le DES (diéthylstilbestrol) constitue la première mise en cause d'un xénobiotique pour ses effets de type hormonal, en l'occu-

rence œstrogénique. Ce composé, utilisé il y a quelques dizaines d'années pour prévenir les risques d'avortement, s'est révélé toxique pour le fœtus, puisqu'il induisait l'apparition de cancers génitaux et des malformations génitales chez les filles des mères ayant reçu ce traitement. Dans certaines études, des altérations de la qualité du sperme ont été rapportées chez les hommes exposés pendant leur vie fœtale [8]. Le DES entraîne des effets semblables dans les modèles animaux, en particulier murins, chez lesquels les mécanismes ont été abordés. L'équipe de J.L. McLachlan a réalisé plusieurs expériences chez la souris sur les effets de l'exposition prénatale au DES [9]. L'analyse des embryons de souris gestantes traitées par le DES a révélé une régression incomplète ou retardée des canaux de Müller chez les fœtus mâles. *In vitro*, des expériences de cultures d'organes ont montré l'effet inhibiteur du DES sur la régression des canaux de Müller [10, 11]. Or, lors de la régression, le récepteur de

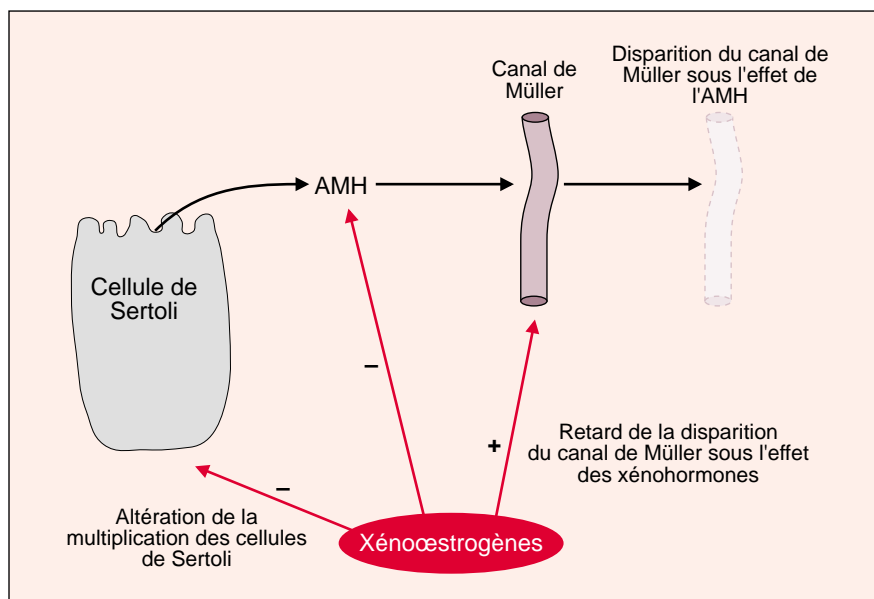


Figure 1. **Effets des xéno-œstrogènes sur le canal de Müller.** Les xéno-œstrogènes altèrent la multiplication des cellules de Sertoli qui sécrètent l'hormone anti-müllérienne (AMH). Cette hormone est responsable de la régression du canal de Müller chez le mâle. De plus, les xéno-œstrogènes inhibent directement l'expression de l'AMH. Enfin, par l'intermédiaire du récepteur de l'œstradiol présent dans l'épithélium du canal müllérien, les xéno-œstrogènes retardent la disparition de ce dernier. Toutes ces altérations vont dans le sens de la persistance du canal de Müller chez le mâle.

* Migration incomplète du testicule; ce dernier se trouve en dehors du scrotum en un point situé sur le trajet de descente normale.

** Malformation caractérisée par l'ouverture de l'urètre à la face antérieure de la verge.

l'œstradiol est retrouvé dans les canaux de Müller ainsi que dans les cellules de Sertoli qui sécrètent l'hormone antimüllérienne (AMH) (*m/s* 1990, n° 7, p. 694; 1996, n° 2, p. 255) [12]. Ainsi, les œstrogènes ou des œstrogénomimétiques peuvent affecter directement les canaux de Müller ou l'expression du gène de l'AMH au niveau des cellules de Sertoli (*figure 1*).

D'autres études ont montré que les malformations utérines observées chez les femelles pourraient être dues à la répression transitoire du facteur *Wnt7a* (*m/s* 1999, n° 5, p. 691) par le traitement au DES pendant la vie fœtale [13]. Bien qu'il ne s'agisse pas au sens strict d'un problème d'environnement, les effets du DES constituent un exemple type utilisé pour justifier la méfiance à l'égard de toute substance ayant une activité xénohormonale.

Activation illégitime du récepteur de l'œstradiol

Le récepteur de l'œstradiol appartient à la famille des récepteurs nucléaires; son ligand naturel est le 17- β œstradiol. Quand l'hormone interagit avec son récepteur spécifique, ce dernier change de conformation, se libère des protéines chaperonnes, puis se dimérise. Le complexe hormone-récepteur dimérique se lie à une séquence spécifique appelée ERE (*estrogen response element*, élément de réponse à l'œstradiol) localisée dans un promoteur cible. Les pesticides organochlorés (endosulfan, toxaphène, o,p'-DDT, dieldrine...) interagissent directement avec le récepteur de l'œstradiol, et déplacent le 17- β œstradiol de son récepteur. Le complexe pesticide-récepteur de l'œstradiol peut donc transactiver des promoteurs contenant des ERE, et activer ainsi de façon illégitime des gènes sensibles à l'œstradiol. Ces effets sont souvent observés à forte concentration et sont habituellement partiels. Par ailleurs, certains pesticides ont aussi un effet antagoniste. Le β -hexachlorocyclohexane (β -HCH) mime l'effet de l'œstradiol et stimule la prolifération des cellules MCF-7 (dont la croissance dépend de cette hormone); or, ce composé ne se lie pas au récepteur de l'œstradiol et n'active pas la transcription d'un promoteur simple contenant un ERE

consensus [14]. Le β -HCH active cependant la transcription de promoteurs complexes contenant plusieurs ERE en tandem ainsi que d'autres facteurs transcriptionnels, par un mécanisme qui reste inconnu.

Une nouvelle étape dans la compréhension des effets de l'œstradiol a été franchie avec le clonage d'un deuxième récepteur de l'œstradiol, ER β (*estrogen receptor β*) [15]. Ce récepteur est homologue au ER α au niveau du DBD (*DNA binding domain*) (98 %) et au niveau du domaine carboxy-terminal (58 %). Des expériences de *Northern blot* ont montré que ce récepteur est exprimé au niveau du thymus, de la rate, des ovaires et des testicules et probablement d'autres tissus. L'œstradiol active le récepteur ER β , cependant le niveau de transactivation relayée par le récepteur ER β est inférieur à celui du récepteur ER α . Les effets agonistes ou antagonistes spécifiques de tissu de certains composés comme le raloxifène pourraient être dus à une distribution différente des isoformes ER α et ER β [16]. Il a été montré que certains anti-œstrogènes ont des effets agonistes ou antagonistes suivant qu'ils interagissent avec ER α ou ER β . Ainsi, l'interaction des xénohormones avec l'un ou l'autre de ces récepteurs pourrait avoir des effets très divers sur les organes suivant leur distribution.

Incidence sur le cancer du sein

Les lignées de tumeurs mammaires MCF-7 et T47D, sensibles à l'œstra-

diol, se multiplient en présence de ces pesticides. Cela pourrait avoir une incidence importante sur les cancers mammaires et utérins dont certains sont hormono-dépendants. Cependant, une étude menée par Hunter *et al.* n'a pas montré de corrélation entre une exposition prolongée au DDT et une augmentation de l'incidence des cancers du sein [17]. Cette étude est controversée car d'autres auteurs ont suggéré que les composés organochlorés peuvent être présents à faibles doses dans le sang, mais être 250 à 1000 fois plus concentrés au niveau du tissu adipeux du sein. Ces composés peuvent être relargués du tissu adipeux, causant ainsi de fortes concentrations locales et entraînant une activité biologique importante. Par ailleurs, le régime alimentaire peut influencer sur le risque de cancer du sein causé par les pesticides. En effet, l'ingestion d'aliments contenant des isoflavonoïdes (graines de soja) ou de la curcumine (épices) a un effet inhibiteur sur l'activité œstrogénique des pesticides [18]. Ainsi, des femmes exposées à de fortes doses de DDT peuvent présenter des risques différents de cancers du sein en fonction de leurs habitudes alimentaires.

Inhibition de la LH et de la FSH

La LH (*luteinizing hormone*), la FSH (*follicle stimulating hormone*) et la testostérone sont les principales hormones réglant la spermatogenèse. Leur action s'opère suivant deux axes prin-

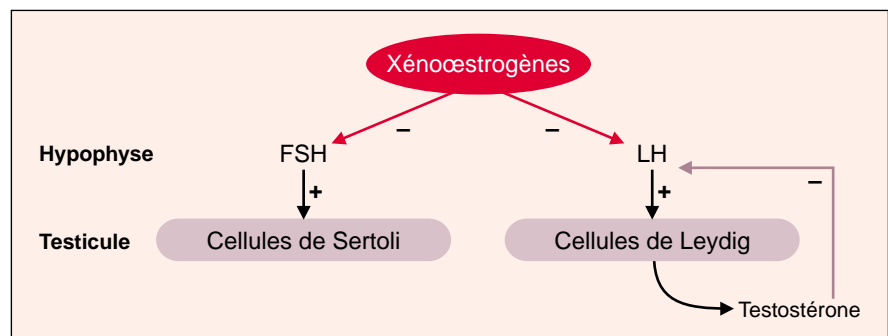


Figure 2. **Effets possibles de xéno-œstrogènes sur la sécrétion de testostérone et la multiplication des cellules de Sertoli.** Par l'intermédiaire d'un rétrocontrôle négatif, les xéno-œstrogènes inhibent les sécrétions hypophysaires de FSH et de LH. Ces hormones sont responsables de la multiplication des cellules nourricières – les cellules de Sertoli – et de la stimulation des cellules de Leydig sécrétant la testostérone.

cupaux : l'axe LH-cellules de Leydig et l'axe FSH-cellules de Sertoli.

Les cellules de Leydig possèdent à leur surface membranaire des récepteurs de la LH et sécrètent la testostérone en réponse à la LH. La testostérone, chez l'homme, comme l'œstradiol, chez la femme, inhibe la sécrétion hypophysaire de LH par un système de rétrocontrôle négatif (figure 2). Diverses observations chez l'animal suggèrent que l'œstradiol peut freiner la sécrétion de gonadotrophines chez les mâles. On a ainsi montré, chez un homme présentant une mutation dans le gène du récepteur de l'œstradiol, un taux de gonadotrophines élevé, ce qui est en accord avec un rôle des œstrogènes sur le contrôle de la sécrétion de ces hormones hypophysaires [19]. Les composés mimant les effets de l'œstradiol pourraient aussi inhiber la sécrétion de LH suivant un mécanisme semblable. Ainsi l'axe LH-cellules de Leydig-sécrétion de testostérone serait freiné [20]. Cette perturbation dans la production de testostérone peut créer une altération du compte spermatique chez l'homme adulte, semblable à celle observée dans certains pays tropicaux chez les cultivateurs de bananiers utilisant le DBCP comme pesticide [21]. Les cellules de Sertoli sont les cellules nourricières qui constituent un support physique pour le développement et la maturation des cellules germinales et synthétisent des protéines nécessaires à cette différenciation [22]. La capacité de production de spermatozoïdes est donc dépendante du nombre de cellules de Sertoli. Ces cellules se multiplient rapidement chez le rat entre le 19^e jour de la vie embryonnaire et le 15^e jour après la naissance. Leur multiplication est stimulée par la FSH [23]. Chez l'homme, la régulation de la multiplication des cellules de Sertoli pourrait être similaire [8]. Une exposition prolongée lors de la période de gestation, de l'enfance ou de la puberté, à des doses élevées de composés mimant l'effet de l'œstradiol, pourrait inhiber la sécrétion de la FSH et ainsi induire une mauvaise prolifération des cellules de Sertoli. Cela engendrerait, à l'âge adulte, une oligozoospermie ou une azoospermie irréversibles. Sharpe *et al.* ont montré qu'une exposition aux xéno-œstrogènes pendant la

période néonatale induirait une diminution drastique de la sécrétion de FSH [24, 25] (figure 1).

Les anti-androgènes

Comme nous l'avons mentionné précédemment, les androgènes, dont la testostérone, exercent un rôle important dans l'établissement des caractères sexuels primaires ou secondaires, mais aussi dans l'anabolisme protidique et la croissance osseuse. Les androgènes exercent leurs effets par l'intermédiaire d'un récepteur spécifique, le récepteur des androgènes qui appartient, lui aussi, à la superfamille des récepteurs nucléaires. De la même façon que le récepteur de l'œstradiol, le récepteur des androgènes se lie à une séquence spécifique appelée élément de réponse aux androgènes (ARE, *androgen response element*). La castration avant la puberté, ou l'administration d'antagonistes des androgènes, entraînent chez le mâle l'absence totale ou partielle d'apparition des caractères sexuels primaires et secondaires et d'autres troubles généraux [26] (figure 3).

Certains composés comme le o,p'-DDT, son métabolite le p,p'-DDE

ou la vinclozoline ont un effet anti-androgénique [27]. Ils se lient au récepteur des androgènes et bloquent sa fonction de manière identique à celle d'un antagoniste comme l'acétate de cyprotérone. L'exposition à ces composés durant la puberté ou l'âge adulte pourrait entraîner des perturbations dans l'apparition des caractères sexuels mâles.

A des concentrations élevées et en l'absence de testostérone, l'enanilide, métabolite de la vinclozoline, et l'hydroxyflutamide ont un effet agoniste sur le récepteur des androgènes. Ces composés induisent la liaison du récepteur des androgènes sur l'ARE et activent la transcription des promoteurs sensibles aux androgènes [28]. La découverte de composés ayant une activité androgénomimétique pourrait avoir une incidence importante sur le développement des cancers dépendant des androgènes comme le cancer de la prostate.

Inhibition de la synthèse de testostérone

Le kétoconazole est un imidazole antifongique qui entraînerait des gynécomasties chez certains individus traités.

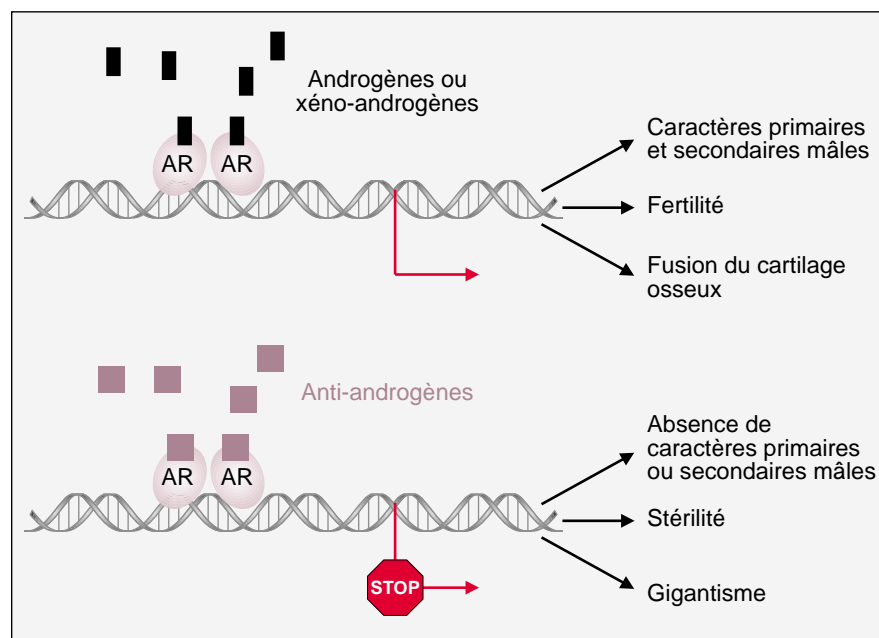


Figure 3. **Effets des substances à activité anti-androgénique.** Le récepteur des androgènes (AR) est responsable de l'apparition des caractères primaires et secondaires masculins, et de la fusion du cartilage osseux. L'inhibition des androgènes par des composés ayant une activité anti-androgénique provoque le retard ou l'absence d'apparition des caractères primaires et secondaires masculins, le gigantisme et une diminution de la fertilité masculine.

Des études chez l'homme ont montré que le traitement par le kétoconazole à forte dose s'accompagne d'une oligospermie, d'une azoospermie et d'une diminution de la libido [29]. Une étude récente chez des souris a montré que l'administration de quantités importantes de kétoconazole provoque une diminution de la fertilité, une diminution du poids des testicules, des épидидymes, des vésicules séminales et de la prostate [30]. L'effet antifongique du kétoconazole réside dans l'inhibition de l'enzyme lanostérol C-14-déméthylase dépendante du cytochrome P450. La capacité des imidazoles d'inhiber de nombreux cytochromes P450 entraîne une toxicité hépatique, une insuffisance surrénalienne et un dysfonctionnement des cellules de Leydig. Chez l'homme, la 17 α -hydroxylase, enzyme importante dans la synthèse de la testostérone, est inhibée dans les cellules de Leydig [31]. D'autres études ont montré que le kétoconazole inhibe le P-450_{ssc}, enzyme clivant la chaîne latérale du cholestérol [32]. Ces observations pourraient expliquer la toxicité testiculaire de ces composés.

Augmentation de la clairance de la testostérone

Certains pesticides comme l'endosulfan, le mirex, ou le o,p'-DDT, augmentent indirectement l'élimination des androgènes. Lors de leur accumulation dans l'organisme, les pesticides provoquent la mise en jeu des enzymes hépatiques comme l'UDP-glucuronosyltransférase et les monooxygénases. Ces enzymes jouent un rôle-clé dans la détoxification des xénobiotiques de l'organisme. Cependant, elles éliminent aussi la testostérone, et donc en diminuent la concentration circulante. Outre leurs effets toxiques, ces composés induiraient donc, chez le garçon prépubère, un retard de l'apparition des caractères masculins et, chez l'adulte, une diminution du compte spermatique [33, 34]. Plus récemment, plusieurs auteurs ont montré que certains pesticides, comme d'autres xénobiotiques, pourraient activer les récepteurs hPXR et SXR qui stimulent des cytochromes P450 responsables de la dégradation des stéroïdes endogènes et des xénobiotiques chez l'homme [35].

Pourquoi ces molécules seraient-elles plus dangereuses que les hormones correspondantes ?

L'exposition aux xénohormones lors des périodes du développement pendant lesquelles les hormones ne sont pas sécrétées peut être délétère et provoquer des malformations. De même, l'inhibition de l'effet hormonal pendant le développement peut retarder l'apparition des caractères sexuels masculins ou féminins. L'œstradiol ainsi que la testostérone sont des composés hydrophobes. Pour être transportés dans le sang, ils sont liés à des protéines plasmatiques appelées protéines vectrices des stéroïdes sexuels (*sex-steroid binding globine*-SSBG). De cette manière, ces hormones sont chélatées par les SSBG et n'agissent qu'au niveau du tissu cible. Les composés exogènes se lient peu aux protéines vectrices, et exercent leur action xénohormonale d'une façon plus importante que les hormones naturelles [8].

Comme nous l'avons mentionné, la testostérone et l'œstradiol sont éliminés par l'organisme grâce à plusieurs cytochrome P450. Certains composés chimiques exogènes ont une demi-vie beaucoup plus longue que les hormones naturelles, car l'organisme possède peu d'enzymes pour les dégrader en vue de les éliminer. Ainsi, une exposition de longue durée à de faibles doses de xénohormones peut avoir un effet cumulatif.

Les phyto-œstrogènes ont-ils un rôle protecteur ?

Les phyto-œstrogènes sont des œstrogènes naturels présents dans les végétaux (riz, graines de soja, persil, pommes, dattes, cerises, café...). A la différence des molécules synthétiques, ces composés sont rapidement dégradés puis éliminés de l'organisme.

Les opinions sur les phyto-œstrogènes sont divergentes. Certaines études ont suggéré que la consommation de phyto-œstrogènes protégerait contre certains cancers (utérus, prostate ou sein) chez l'homme. Les populations asiatiques consommant davantage de phyto-œstrogènes (déri-

vés de soja) ont une incidence moins importante de cancers hormono-dépendants que les immigrants asiatiques qui ont modifié leur régime alimentaire. Cependant, d'autres études réalisées chez des rongeurs et des bovins ont montré qu'un régime très riche en phyto-œstrogènes provoque des anomalies de reproduction.

La génistéine, phyto-œstrogène présent dans les graines de soja, exerce à faible dose (200 nM) une activité œstrogénomimétique (stimulation de la multiplication des cellules MCF-7 et induction du gène de la pS2) [36]. Cependant, à forte dose (20 μ M), ce composé arrête la division des cellules MCF-7 en bloquant le cycle cellulaire en G2-M. A ces fortes doses, la génistéine agit donc comme un agent chimiopréventif en réduisant la multiplication des cellules et en les orientant vers une maturation. Ainsi, l'administration de génistéine à des rats prépubères traités par un produit initiateur des tumeurs mammaires, le DMBA, réduit l'incidence des cancers mammaires par rapport aux rats témoins [37].

Mieux vaut prévenir que guérir

Le seul moyen dont nous disposons actuellement pour pallier les effets nocifs des xéno-œstrogènes, est d'empêcher leur utilisation. D'ici l'année 2005, l'EPA (*Environment Protection Agency*) évaluera l'activité œstrogénomimétique de 35 000 produits industriels grâce aux tests de la synthèse de vitellogénine et au *E-Screen* détaillés ci-dessous. Nous évoquerons aussi d'autres tests qui ont été mis au point.

Tests *in vivo*

Taille de l'utérus

La taille de l'utérus des rongeurs est sensible à l'œstradiol. Le produit à tester est injecté à des ratte, l'utérus est ensuite prélevé et pesé. Ce test présente plusieurs inconvénients, dont le coût et la toxicité éventuelle du produit [38].

Synthèse de la vitellogénine

Chez la truite, le gène de la vitellogénine est réglé par l'œstradiol. Son promoteur contient plusieurs ERE.

Des truites mâles sont placées dans un milieu contenant le produit à tester. Le taux de vitellogénine est ensuite dosé afin de déceler la présence d'un composé mimant l'effet de l'œstradiol [39].

Le sexe des tortues

Le sexe des tortues est déterminé par la température; les œufs incubés à une température de 26 °C donneront des mâles alors que les œufs incubés à 31 °C engendreront des femelles. Cependant, le déterminisme du sexe des tortues peut être inversé à la suite de l'ajout d'œstradiol. Ainsi, les œufs de tortue placés à 26 °C sont badi-geonnés du produit à tester, le sexe à la naissance permettra de déterminer si cette molécule a un effet xénohor- monal [40].

Tests *in vitro*

Vu les difficultés, le coût élevé et le caractère peu quantitatif des tests réalisés *in vivo*, des tests *in vitro* ont été développés.

Le test de liaison

Ce test permet de déterminer si un produit est capable de se lier au récepteur de l'œstradiol. Pour cela, la molécule est incubée avec du récepteur de l'œstradiol lié à l'œstra- diol radiomarqué; le déplacement de l'œstradiol par la molécule testée permet d'évaluer l'affinité de cette molécule pour le récepteur de l'œstradiol.

La croissance des cellules MCF-7 ou ZR-75

Comme nous l'avons mentionné pré- cédemment, la croissance des cel- lules MCF-7 et ZR-75 est stimulée par l'œstradiol. Ces cellules sont incu- bées en présence du produit à tester. Leur croissance permettra de déter- miner si la molécule testée mime l'effet de l'œstradiol [41, 42].

Les souches de levures recombinantes

Le vecteur d'expression du récepteur de l'œstradiol ainsi qu'un gène rap- porteur contenant dans son promo- teur un élément de réponse à l'œstra- diol (ERE) sont introduits dans les

levures. Ces levures sont incubées en présence de la molécule à tester. Si cette dernière mime l'effet de l'œstra- diol, elle activera le gène rapporteur. Ce test est très sensible [43].

Transfection de cellules humaines

La transfection de cellules humaines par un plasmide répondant à l'œstra- diol pourrait être un bon moyen pour détecter l'effet œstrogénomimétique de certains composés. Dans ce but, nous avons développé une séquence ERE hypersensible à l'œstradiol. Cette séquence, appelée *overERE*, est for- mée de deux ERE chevauchants; elle lie d'une manière coopérative deux dimères de récepteur de l'œstradiol de part et d'autre de la double hélice d'ADN. Ces deux séquences cheva- chantes ont un effet synergique sur la transcription; c'est donc un bon moyen de détecter de nouvelles molé- cules mimant l'effet de l'œstradiol [44]. D'autres tests très performants ont été mis au point et une comparai- son de l'ensemble de ces tests a été faite récemment [45, 46].

Tableau I

AVANTAGES ET INCONVÉNIENTS DES TESTS DE DÉTECTION DES XÉNOHORMONES PRATIQUÉS *IN VIVO* ET *IN VITRO*

Test pratiqué	Avantages	Inconvénients
Taille de l'utérus	Mime les effets <i>in vivo</i>	Toxicité du produit Coût élevé
Synthèse de vitellogénine	Test adapté aux dosages des composés présents dans l'eau	Sensibilité limitée par la détection radio-immunologique Possibilité d'interférence avec d'autres voies de signalisation
Sexe des tortues	Test adapté à l'exposition aux xéno-œstrogènes dans le règne animal	Test aléatoire et très peu quantitatif
Liaison	Rapidité Montre s'il y a une interaction directe entre le composé testé et le récepteur de l'œstradiol	Certains composés peuvent mimer l'effet de l'œstradiol sans se lier au récepteur de l'œstradiol
<i>E-Screen</i> (croissance des cellules)	Méthode rapide Métabolisme assez proche du <i>in vivo</i>	Possibilité d'interférence avec d'autres voies de signalisation
YES (levures recombinantes)	Très sensible Rapide et simple	Nombreux faux positifs
Transfection des cellules humaines	Très sensible Rapide Métabolisme proche du <i>in vivo</i>	Faux positifs

Bien qu'ils soient simples et rapides à mettre en œuvre, les tests *in vitro* présentent l'inconvénient de produire de nombreux faux-positifs. Certains composés ne présentant pas un effet œstrogénomimétique *in vitro* peuvent l'être *in vivo* à la suite de leur métabolisation. Par ailleurs, les tests *in vitro* sont tellement sensibles qu'ils peuvent induire une réponse positive alors que, *in vivo*, le composé testé n'a aucun effet xéno-œstrogénique (Tableau I).

Conclusions

Les conséquences toxicologiques de l'exposition à des xéno-œstrogènes chez l'homme demeurent très controversées. Le DES est le seul cas pour lequel une relation directe entre les effets délétères et l'administration du composé est bien établie. Étant donné l'importance du problème (augmentation des cancers et diminution de la fertilité), des travaux épidémiologiques et expérimentaux sont encore requis pour établir le rôle et le mode d'action de ces composés. Il est d'ailleurs probable que ces composés, qui sont distincts du point de vue structural, n'ont pas le même mode d'action. Certains peuvent interagir avec d'autres récepteurs que ceux des stéroïdes, par exemple les récepteurs PXR, SXR, PPAR et le récepteur Ah. De plus, ces composés sont souvent utilisés sous forme de mélanges, ce qui peut modifier leurs effets. La mise en évidence des voies de signalisation empruntées par ces composés et du dialogue possible entre ces voies est un défi important que doivent relever les chercheurs ■

RÉFÉRENCES

1. Auger J, Kunstmann JM, Czyglik F, Jouanet P. Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. *N Engl J Med* 1995; 332: 281-5.
2. Fry DM, Toone CK. DDT-induced feminization of gull embryos. *Science* 1981; 213: 922-4.
3. Munkittrick KR, Miller PA, Barton DR, Dixon DG. Altered performance of white sucker populations in the Manitowadge chain of lakes is associated with changes in benthic macroinvertebrate communities as a result of copper and zinc contamination. *Ecotoxicol Environ Saf* 1991; 21: 318-26.

4. Ames BN, Gold LS. Environmental pollution, pesticides, and the prevention of cancer: misconceptions. *Faseb J* 1997; 11: 1041-52 et 1330 (erratum).
5. Chilvers C, Pike MC, Forman D, Fogelman K, Wadsworth ME. Apparent doubling of frequency of undescended testis in England and Wales in 1962-81. *Lancet* 1984; 2: 330-2.
6. Kallen B, Bertollini R, Castilla E, et al. A joint international study on the epidemiology of hypospadias. *Acta Paediatr Scand* 1986; 324 (suppl): 1-52.
7. Adami HO, Bergstrom R, Mohner M, et al. Testicular cancer in nine northern European countries. *Int J Cancer* 1994; 59: 33-8.
8. Toppari J, Larsen JC, Christiansen P et al. Male reproductive health and environmental xenoestrogens. *Environ Health Perspect* 1996; 104 (suppl 4): 741-803.
9. Newbold RR, Bullock BC, McLachlan JA. Adenocarcinoma of the rete testis. Diethylstilbestrol-induced lesions of the mouse rete testis. *Am J Pathol* 1986; 125: 625-8.
10. McLachlan J. Rodent models for perinatal exposure to diethylstilbestrol and their relation to human disease in the male. New York: Thieme-Stratton, 1981; 148-57.
11. Visser JA, McLuskey A, Verhoef-Post M, Kramer P, Grootegoed JA, Themmen AP. Effect of prenatal exposure to diethylstilbestrol on Mullerian duct development in fetal male mice. *Endocrinology* 1998; 139: 4244-51.
12. Greco TL, Duello TM, Gorski J. Estrogen receptors, estradiol, and diethylstilbestrol in early development: the mouse as a model for the study of estrogen receptors and estrogen sensitivity in embryonic development of male and female reproductive tracts. *Endocrinol Rev* 1993; 14: 59-71.
13. Miller C, Degenhardt K, Sassoon DA. Fetal exposure to DES results in de-regulation of Wnt7a during uterine morphogenesis. *Nat Genet* 1998; 20: 228-30.
14. Steinmetz R, Young PC, Caperell-Grant A, et al. Novel estrogenic action of the pesticide residue beta-hexachlorocyclohexane in human breast cancer cells. *Cancer Res* 1996; 56: 5403-9.
15. Tremblay GB, Tremblay A, Copeland NG, et al. Cloning, chromosomal localization, and functional analysis of the murine estrogen receptor beta. *Mol Endocrinol* 1997; 11: 353-65.
16. Kuiper GG, Gustafsson JA. The novel estrogen receptor-beta subtype: potential role in the cell- and promoter-specific actions of estrogens and anti-estrogens. *FEBS Lett* 1997; 410: 87-90.
17. Hunter DJ, Hankinson SE, Laden F, et al. Plasma organochlorine levels and the risk of breast cancer. *N Engl J Med* 1997; 337: 1253-8.
18. Verma SP, Goldin BR, Lin PS. The inhibition of the estrogenic effects of pesticides and environmental chemicals by curcumin

and isoflavonoids. *Environ Health Perspect* 1998; 106: 807-12.

19. Smith EP, Boyd J, Frank GR, et al. Estrogen resistance caused by a mutation in the estrogen-receptor gene in a man. *N Engl J Med* 1994; 331: 1056-61 et 1995; 332: 131 (erratum).
20. Yoshida S, Yamada H, Sugawara I, Takeda K. Effect of dibromochloropropane (DBCP) on the hormone receptors of the male rat reproductive system. *Biosci Biotechnol Biochem* 1998; 62: 479-83.
21. Wesseling C, Ahlbom A, Antich D, Rodriguez AC, Castro R. Cancer in banana plantation workers in Costa Rica. *Int J Epidemiol* 1996; 25: 1125-31.
22. Jégou B. La cellule de Sertoli: actualisation du concept de cellule nourricière. *Med Sci* 1995; 11: 519-27.
23. Sharpe RM, Fisher JS, Millar MM, Jobling S, Sumpter JP. Gestational and lactational exposure of rats to xenoestrogens results in reduced testicular size and sperm production. *Environ Health Perspect* 1995; 103: 1136-43.
24. Sharpe RM. Declining sperm counts in men: is there an endocrine cause? *J Endocrinol* 1993; 136: 357-60.
25. Sharpe RM, Skakkebaek NE. Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract? *Lancet* 1993; 341: 1392-5.
26. LeBlanc GA, Bain LJ, Wilson VS. Pesticides: multiple mechanisms of demasculinization. *Mol Cell Endocrinol* 1997; 126: 1-5.
27. Kelce WR, Wilson EM. Environmental antiandrogens: developmental effects, molecular mechanisms, and clinical implications. *J Mol Med* 1997; 75: 198-207.
28. Wong C, Kelce WR, Sar M, Wilson EM. Androgen receptor antagonist versus agonist activities of the fungicide vinclozolin relative to hydroxyflutamide. *J Biol Chem* 1995; 270: 19998-20003.
29. Pont A, Graybill JR, Craven PC, et al. High-dose ketoconazole therapy and adrenal and testicular function in humans. *Arch Intern Med* 1984; 144: 2150-3.
30. Joshi SC, Jain GC, Lata M. Effects of ketoconazole (an imidazole antifungal agent) on the fertility and reproductive function of male mice. *Acta Eur Fertil* 1994; 25: 55-8.
31. Sikka SC, Swerdloff RS, Rajfer J. *In vitro* inhibition of testosterone biosynthesis by ketoconazole. *Endocrinology* 1985; 116: 1920-5.
32. Lambert A, Mitchell R, Robertson WR. The effect of ketoconazole on adrenal and testicular steroidogenesis *in vitro*. *Biochem Pharmacol* 1986; 35: 3999-4004.
33. Waxman DJ, Morrissey JJ, Leblanc GA. Hypophysectomy differentially alters P-450 protein levels and enzyme activities in rat liver: pituitary control of hepatic NADPH cytochrome P-450 reductase. *Mol Pharmacol* 1989; 35: 519-25.

RÉFÉRENCES

34. Ram PA, Waxman DJ. Hepatic P450 expression in hypothyroid rats: differential responsiveness of male-specific P450 forms 2a (IIA2), 2c (IIC11), and RLM2 (IIA2) to thyroid hormone. *Mol Endocrinol* 1991; 5: 13-20.
35. Bertilsson G, Heidrich J, Svensson K, et al. Identification of a human nuclear receptor defines a new signaling pathway for CYP3A induction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 12208-13.
36. Hsieh CY, Santell RC, Haslam SZ, Helfrich WG. Estrogenic effects of genistein on the growth of estrogen receptor-positive human breast cancer (MCF-7) cells *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Res* 1998; 58: 3833-8.
37. Lamartiniere CA, Murrill WB, Manzillo PA, et al. Genistein alters the ontogeny of mammary gland development and protects against chemically-induced mammary cancer in rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 1998; 217: 358-64.
38. Lan NC, Katzenellenbogen BS. Temporal relationships between hormone receptor binding and biological responses in the uterus: studies with short- and long-acting derivatives of estradiol. *Endocrinology* 1976; 98: 220-7.
39. Maitre JL, Mercier L, Dolo L, Valotaire Y. Characterization of specific receptors for estradiol, induction of vitellogenin and its mRNA in the liver of rainbow trout (*Salmo gairdnerii*). *Biochimie* 1985; 67: 215-25.
40. Crews D, Bergeron JM, Bull JJ, et al. Temperature-dependent sex determination in reptiles: proximate mechanisms, ultimate outcomes, and practical applications. *Dev Genet* 1994; 15: 297-312.
41. Soto AM, Chung KL, Sonnenschein C. The pesticides endosulfan, toxaphene, and dieldrin have estrogenic effects on human estrogen-sensitive cells. *Environ Health Perspect* 1994; 102: 380-3.
42. Jobling S, Reynolds T, White R, Parker MG, Sumpter JP. A variety of environmentally persistent chemicals, including some phthalate plasticizers, are weakly estrogenic. *Environ Health Perspect* 1995; 103: 582-7.
43. Klein KO, Baron J, Colli MJ, McDonnell DP, Cutler GB Jr. Estrogen levels in childhood determined by an ultrasensitive recombinant cell bioassay. *J Clin Invest* 1994; 94: 2475-80.
44. Massaad C, Coumoul X, Sabbah M, Gallati M, Redeuilh G, Barouki R. Properties of overlapping ERE: synergistic activation of transcription and cooperative binding of ER. *Biochemistry* 1998; 37: 6023-32.
45. Joyeux A, Balaguer P, Germain P, Bousioux AM, Pons M, Nicolas JC. Engineered cell lines as a tool for monitoring biological activity of hormone analogs. *Anal Biochem* 1997; 249: 119-30.
46. Andersen HR, Andersson AM, Arnold SF, et al. Comparison of short-estrogenicity tests for identification of hormone-disrupting chemicals. *Environ Health Perspect* 1999; 107: 89-108.

TIRÉS À PART

R. Barouki.

Summary

Mechanisms of action and suspected effects of xenohormones

During the last few years, several chemical compounds that are environmental pollutants have been shown to display xenohormonal activity, and have been called endocrine disrupters. In particular, several pesticides and herbicides bind the estrogen receptor and activate oestradiol-dependent gene promoters. It has been suggested that these compounds could account for the increase in both the male reproductive disorders as well as the incidence of testicular cancer. This hypothesis which remains controversial, is strengthened by the well known toxic effects in human and in animals of the drug diethyl stilbestrol, an estrogen mimetic. Xenohormones could act during fetal life by altering the organogenesis of the reproductive system or by disrupting the gonadotropin-steroid hormones feedback loop. Other xenobiotics could act through their anti-androgenic activity or by modifying the metabolism or the half-life of the steroid hormones. Since endocrine disrupters could prove to be harmful to man and animals, several *in vivo* or *in vitro* tests have been developed to assay for their functional activity.

LES JOURNÉES DE LA DERMATITE ATOPIQUE

Vendredi 19 et samedi 20 mai 2000

Organisateurs : AFPADA

Association française des Personnes Atteintes de Dermatite Atopique

Lieu : École Normale Supérieure de Lyon

Vendredi 19 mai

Ouverture du congrès (AFPADA) • Présentation clinique de la DA (Pr Béatrice Crickx) • Physiopathologie, Développement de l'atopie chez le fœtus, le nouveau-né et le nourrisson (Pr Thomas Bieber) • Le syndrome dermo-respiratoire (Dr Marie-Thérèse Guinépain) • Infections et DA (Pr Jean-François Stalder) • Comprendre la DA (Dr Sylvie Consoli) • Place de l'allergie dans la DA (Dr Gisèle Kanny) • Immunité muqueuse dans la DA (Dr Claude André) • Diététique de l'enfant atopique (Mme Patricia Sergeant) • Eczéma de contact et DA (Dr Annick Barbaud) • Quels tests dans la DA (Dr Michel Castelain) • Orientation professionnelle de la dermatite (Pr Christian Gérard)

Samedi 20 mai

Traitements de la DA (Pr Frédéric Cambazard) • Les Immunosuppresseurs (Pr Yves de Prost) • Photothérapie (Dr Pierre Fortier) • Étude ETAC (Pr Alain Taieb) • Perspectives thérapeutiques (Pr Jean-François Nicolas) • Table Ronde (entre les participants et les orateurs) : « Les questions que l'on se pose sur la DA »

Secrétariat Scientifique :

Association française des Personnes Atteintes de Dermatite Atopique (AFPADA)
BP 36, 77982 Saint-Fargeau-Ponthierry Cedex, France - Tél. Fax (+33) (0)1 60 65 79 05

Secrétariat Technique-Inscriptions :

Société Bawan Stratégie - Gilles Barbier - Immeuble le Rive gauche/12, rue de Cavenne/69007 Lyon, France. Tél. (+33) (0)4 78 61 09 09 - Fax : (+33) (0)4 72 71 81 06 - e-mail : bawan@mediasites.com