

Perturbateurs endocriniens, phytoestrogènes et Métabolisme

Serge Nef
Département de médecine génétique & développement
Faculté de médecine de l'université de Genève



Swiss MedLab
Berne, le 13 juin 2012

Perturbateurs endocriniens: définition



"Exogenous agents that interfere with the synthesis, secretion, transport, binding, action or elimination of natural hormones in the body that are responsible for the maintenance of homeostasis, reproduction, development, and/or behavior"



"Une substance exogène qui interfère avec la production, la sécrétion, le transport, le métabolisme, la liaison, l'action ou l'élimination des hormones naturelles responsables de la maintenance de l'homéostasie et de la régulation des processus de développement"

Type de perturbateurs endocriniens

Activité	agoniste	antagoniste	exemples
Oestrogénique	++++	++	BPA, DES, DDT, ECB
Androgénique	++	++++	Stigmalstérol, tributyl-Sb, pp'-DDE, linuron, vinclozoline, phtalates,...
Progestative	?	?	
Glucocorticoïde	?	?	arsenic
Minéralocorticoïde	?	?	
Rétinoïde	?	?	
Tyroïdienne	?	?	PCBs

Perturbateurs endocriniens

Période de susceptibilité

- les stades de développement embryonnaire, fœtale, perinatale sont très sensibles à des perturbations par des EDCs
- Pathologies adultes peuvent être une conséquence d'exposition à des perturbateurs endocriniens lors de périodes pré- ou postnatales

Conséquences potentielles

- Reproducteur (spermiogramme, puberté précoce, cryptorchidie, hypospadias, etc)
- métabolisme (obésité, diabète)
- Déclin des fonctions neurologiques/comportement
- Cancers (seins, utérins, testiculaire, prostate, thyroïde,...)

Mélanges/doses

- Exposition simultanée à de multiples perturbateurs endocriniens
- effets pathologiques à des doses très faibles

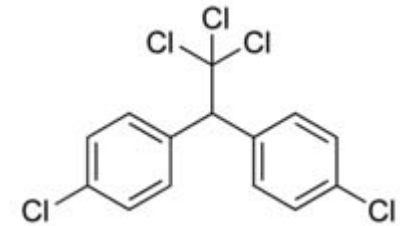
Endocrine disruptors include

- Pesticides, fungicides and herbicides (DDT, methoxychlor, vinclozolin, atrazine, kepone, dieldrin, lindane to name a few).
- Products associated with plastics (bisphenol A).
- Pharmaceuticals (ethynylestradiol, DES).
- Ordinary household products (breakdown products of detergents and surfactants, including nonylphenol).
- Industrial chemicals (PCBs).
- UV screens
- Flame retardants
- Phytoestrogens



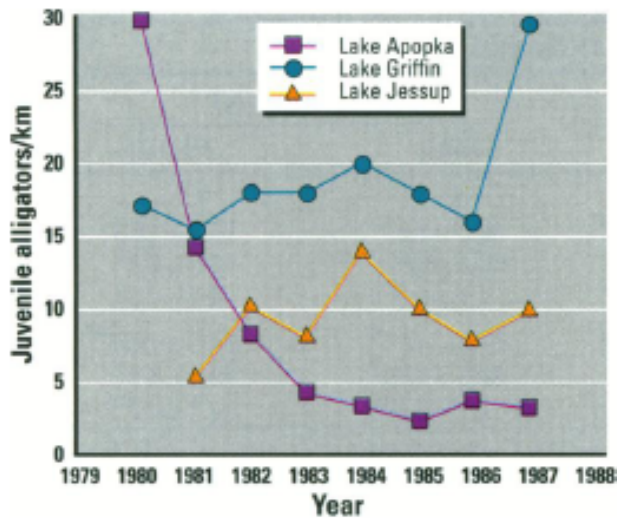
DDT/DDE

DDT is an organochloride insecticide used worldwide in the 1940s and 1950s to combat lice and mosquitos responsible for the spread of human diseases such as typhus, and malaria.



Dichloro-diphenyl-trichloroethane (DDT)

DDT is also an endocrine disruptor with estrogenic activities



Alligator (lake Apopka, a DDT contaminated lake in Florida Florida): males: poorly developed testes, low testosterone levels, small penises
• Females: increased E2 levels (2 fold), abnormal ovarian morphology (polynuclear oocytes,...)
Guillette et al, *EHP*, 1994



Diethylstilbestrol (DES)



"Really?"

Yes...
desPLEX®
to prevent ABORTION, MISCARRIAGE and
PREMATURE LABOR

*recommended for routine prophylaxis
in ALL pregnancies . . .*

96 per cent live delivery with **desPLEX**
in one series of 1200 patients⁴—
— bigger and stronger babies, too.⁵

No gastric or other side effects with **desPLEX**
— in either high or low dosage^{2,4,5}

DES is a synthetic estrogen given to pregnant women to prevent abortion, pre-eclampsia and complication during pregnancy

DES daughters develop many different cancer such as vaginal and cervical clear-cell adenocarcinoma, fertility problem, ectopic pregnancy, miscarriage, and premature birth

DES sons have higher risk of developing reproductive defects such as cryptorchidism, hypospadias, low sperm count

Some studies show that DES can affect the 3rd generation (offspring of DES daughters and sons) (e.g. Klip H et al. 2002, Lancet)

Bisphénol A (BPA)

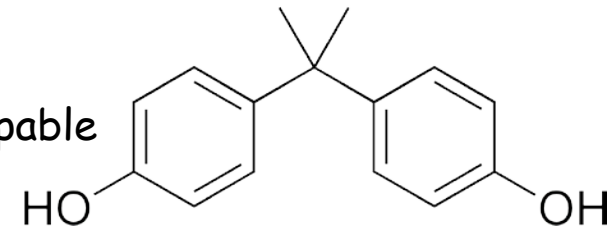


- le bisphénol A est un perturbateur endocrinien œstrogéno-mimétique capable de se lier à ERalpha.

- Employé dans la fabrication des plastiques (polycarbonates et résine époxy)

- Retrouvé dans CD/DVD, boîtes de conserve, voiture, avion, bouteilles,...

- Production annuelle: 3.8 millions T



- Affecte la reproduction, le système nerveux, le métabolisme, hyperplasie (glande mammaire) à des doses 10x inférieures au LOAEL (EPA, 50 mg/kg/jour)

- 90% des personnes ont des taux détectables de BPA (env. 2.5 0.7 µg/L urine)

- Exemple 1: portion quotidienne de soupe en boîte durant 5 jours: ↑↑ 20 x BPA dans les urines (JAMA 2011)

- Exemple 2: Singes rhésus: exposition fœtale à du BPA (0.7 µg/L sérum) induit un ↑ des bourgeons mammaires et un développement global de la glande mammaire plus avancé (PNAS 2012)

Perturbateurs endocriniens et xénoestrogènes

- Principalement des molécules de synthèse produit par chimie organique
- Sources connues des xénoestrogènes:
 - Pesticides (DDT, methoxychlore, képone, dieldrine, lindane, etc).
 - Produits associés aux plastiques (bisphénol A).
 - Produits pharmaceutiques (estrogènes, distilbène).
 - Produits du ménage courant (produit par dégradation de détergents, de surfactants. Ex: le nonylphénol).
 - Produits industriels (PCBs).
 - Filtres UV pour crèmes solaires
 - **Phytoestrogènes**



Que sont les phytoestrogènes ?

- groupe de composés non stéroïdaux
- possèdent des effets oestrogéniques ou anti-oestrogéniques
- plusieurs centaines de composés

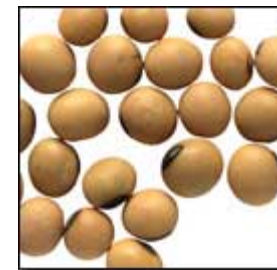
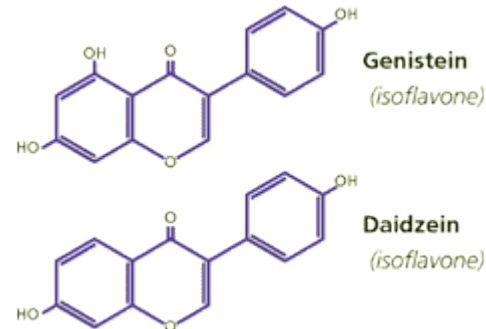
-Les phytoestrogènes sont présents dans les végétaux: fruits, feuilles, graines

- Classification:
- isoflavones (graines de soja)
 - lignans (graines de lin)
 - coumestans (luzerne)

- Les humains sont principalement exposés à des phytoestrogènes de type isoflavones dû à la consommation importante de produits dérivés du soja



Luzerne

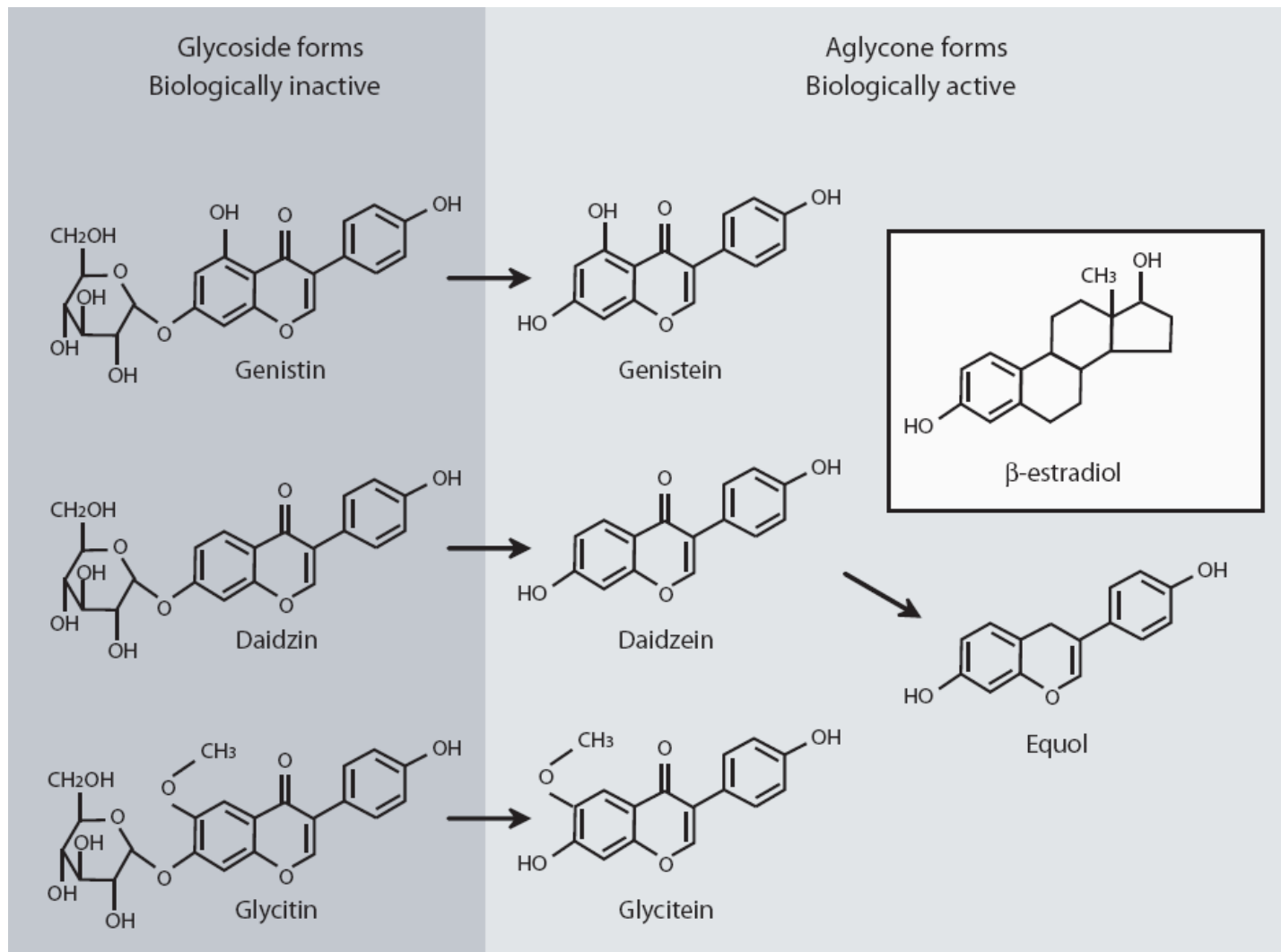


soja



trèfle rouge

Métabolisme intestinal des isoflavones



- isoflavones: 0.5-3 g/kg
- les isoflavones sont ingérées sous forme glycosilées (biol. inactives)
- hydrolyse des isoflavones conjuguées dans le tube digestif par des β -glucosidases bactériennes libérant des isoflavones biol. actives
- l'équol représente env. 70-90% des isoflavones circulantes chez les rongeurs.
- Seul 30% des humains consommant des produits dérivés du soja produisent de l'équol

Affinités de liaison relative pour ER α et ER β

- Les isoflavones se lient aux 2 récepteurs aux estrogènes; l'affinité pour ER β est plus grande que pour ER α (essais *in vitro*)
- Les isoflavones peuvent activer une transcription ER-dépendante
- La génistéine possède les caractéristiques d'un modulateur sélectif des ERs (SERM)

	ERα	ERβ
17 β -estradiol	100	100
17 α -estradiol	7	7
DES	236	221
4-OH-tamoxifen	257	232
Coumestrol	20	140
Génistéine	4	87
Daidzéine	0.1	0.5
Bisphenol A	0.01	0.01
Méthoxychlore	<0.01	<0.01
O,p'-DDT	0.01	0.02
nonylphénol	0.05	0.09

Isoflavones

RBA was calculated as ratio of concentrations of E2 or competitor required to reduce the specific radioligand binding by 50% (= ratio of IC₅₀ values).

From Kuiper et al Endocrinology 1998

L'impact des phytoestrogènes



"clover disease"

- 1940: découverte de problème de fertilité chez des moutons nourris aux trèfles rouges

- Le trèfle rouge possède des teneurs en phytoestrogènes jusqu'à 50 fois plus élevées que la luzerne (formononétine et biochanine)

- L'effet oestrogénique affecte principalement les moutons

- infertilité temporaire ou permanente chez la brebis:

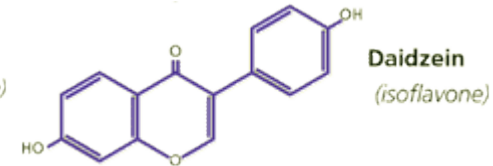
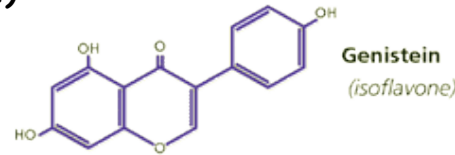
- Diminution du nombre d'agneaux
- Echec des premières fécondations
- Faible activité ovarienne
- Épaississement et fusion des plis du col de l'utérus. Col court et élargit, kystes utérins, etc)



Phytoestrogènes, estradiol et métabolisme

Concentration plasmatique des isoflavones chez l'humain

- diète riche en soja (0.5-5 μM)
- diète sans soja ($\leq 40\text{nM}$)



L'estradiol est un régulateur important du tissu adipeux et joue un rôle important dans l'homéostasie du glucose et de la sensibilité à l'insuline

métabolisme
lipidique

- L'absence d'estrogènes ou de réponse aux estrogènes augmente la déposition de tissus adipeux (souris invalidées pour le gène $\text{ER}\alpha$, ou l'aromatase)
- Une réduction de la masse de tissus adipeux est observée chez les femmes ménopausées sous traitement hormonal de substitution

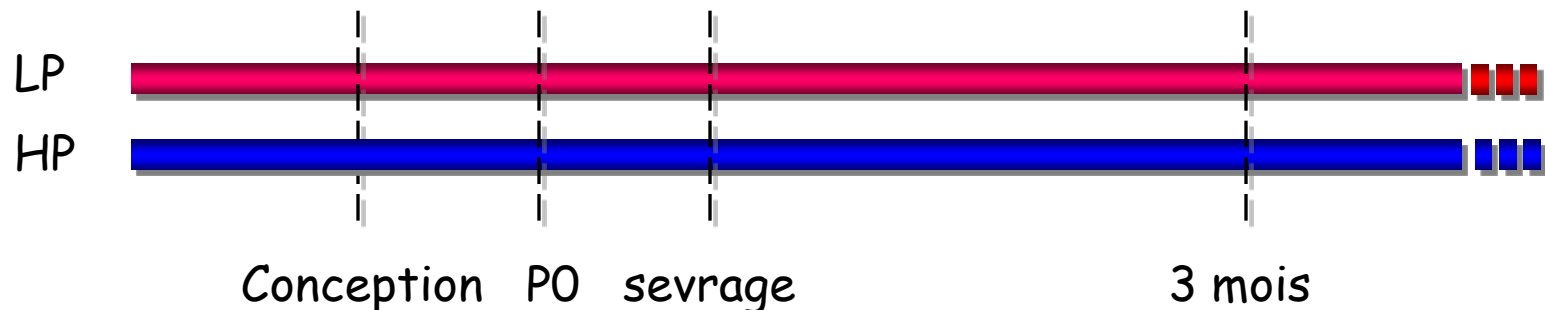
métabolisme
du glucose

- Souris $\text{ER}\alpha$ ko: résistance à l'insuline et intolérance au glucose
- Les femmes postménopausées développent une résistance à l'insuline et augmente le risque de diabète
- Un traitement hormonal substitutif diminue les risques et augmente la sensibilité à l'insuline

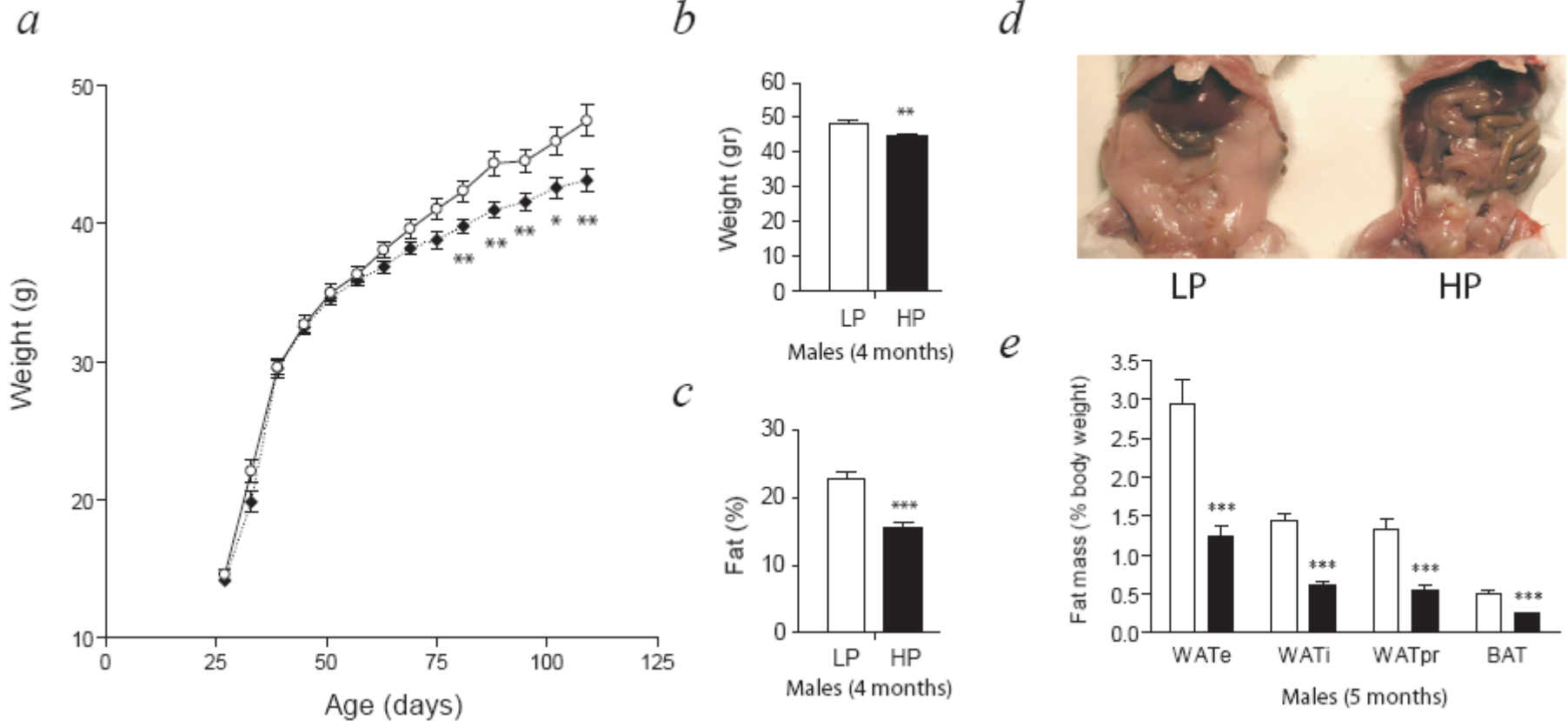
Design expérimental

Investiguer les effets du soja et de l'exposition aux phytoestrogènes sur le métabolisme du glucose et des lipides chez les souris mâles.

Souris: mâles, souche CD1
Environnement: cages et bouteilles en polystyrène
Nutrition: nourris dès la conception avec une nourriture riche (HP) ou pauvre (LP) en phytoestrogènes de soja



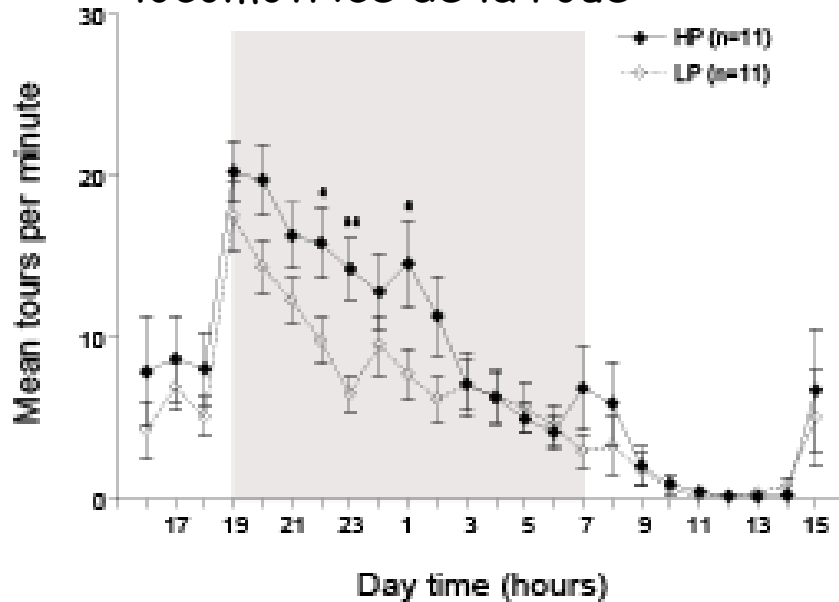
Réduction de la masse des tissu adipeux chez les souris nourries au phytoestrogènes



≥ 50% de diminution des tissus adipeux blanc et brun

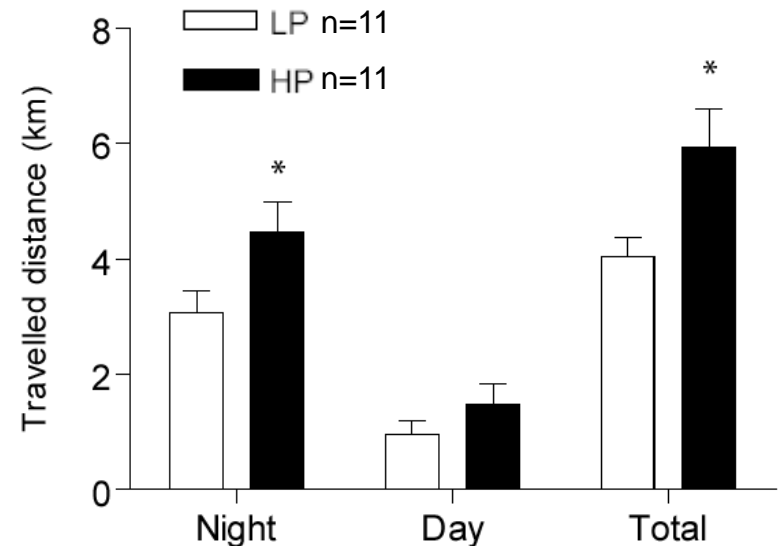
Augmentation de l'activité motrice chez les souris nourries aux phytoestrogènes et soja

Test d'activité locomotrice de la roue



- ◆ 45% d'augmentation de l'activité motrice chez les souris HP
- ◆ Ces données sont consistantes avec différents rapports montrant qu'un traitement aux estrogènes stimule l'activité locomotrice chez la souris

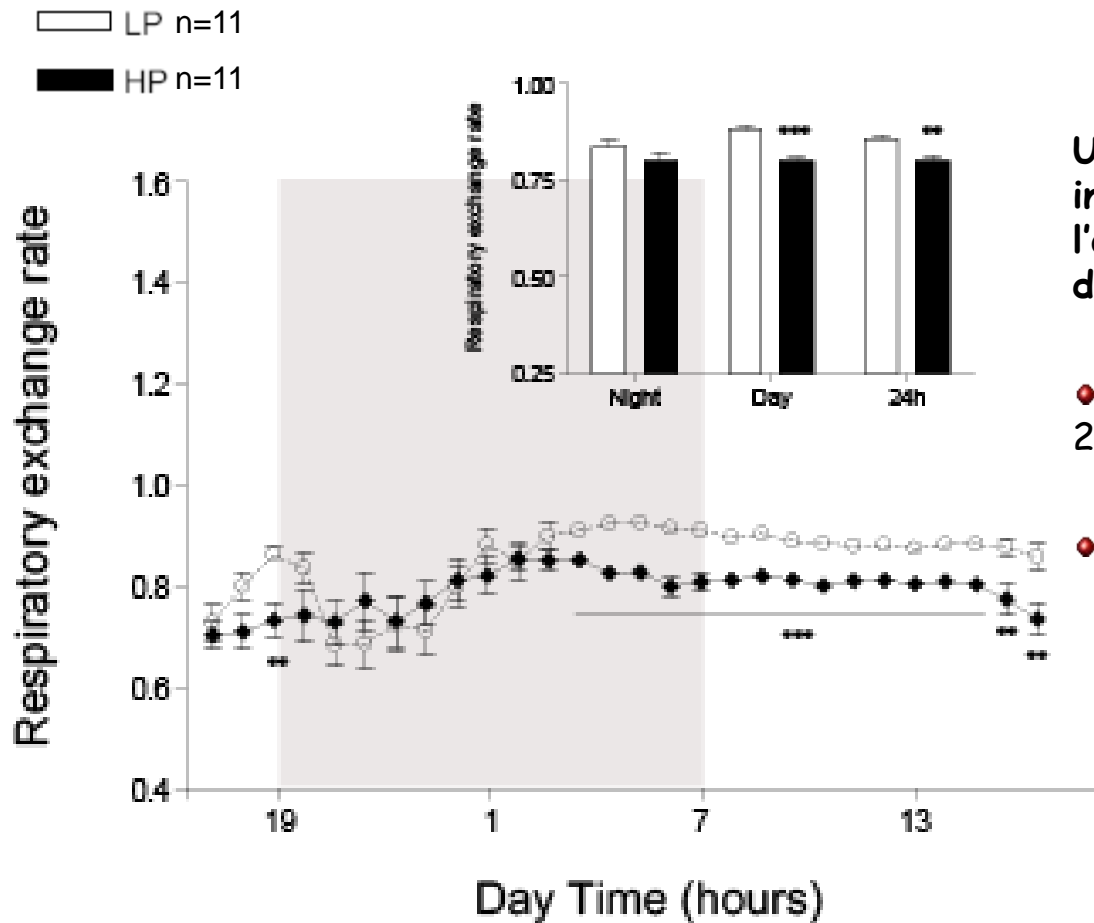
Cette augmentation de l'activité motrice contribue à la diminution de la masse adipeuse



* $p \leq 0.05$

Cederroth et al. *Env. Health Persp.* 2007 ** $p \leq 0.001$

Les souris HP utilisent préférentiellement les lipides comme substrat d'oxydation



Une diminution de la masse graisseuse indique soit une augmentation de l'oxydation des a. gras ou/et de la dépense énergétique

♦ calorimétrie indirecte sur une période de 24h par mesure de l' O₂ et du CO₂.

♦ RER: rapport d'échange resp. = CO₂/O₂

- RER Glycogène = 1
- RER Glucose = 1
- RER sucrose = 1
- RER protéines = 0.8
- RER lipides = 0.7

Les souris nourries au soja et phytoestrogènes utilise une plus grande proportion de lipides comme substrats d'oxydation durant la phase de repos

* p ≤ 0.05

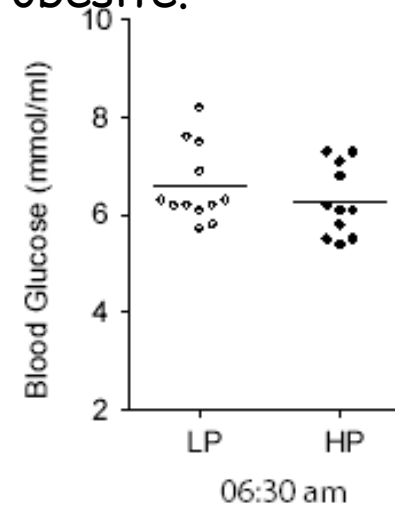
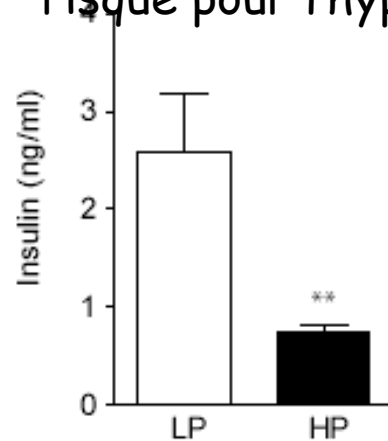
** p ≤ 0.001

*** p ≤ 0.0001

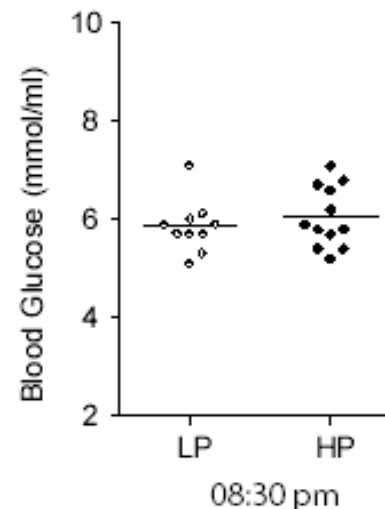
Réduction des taux d'insuline circulante chez les souris HP

La diminution de la sensibilité au glucose est considérée comme un des premiers signes métaboliques du diabète de type 2 et est un des facteurs de risque pour l'hypertension et l'obésité.

□ LP n=11
■ HP n=11

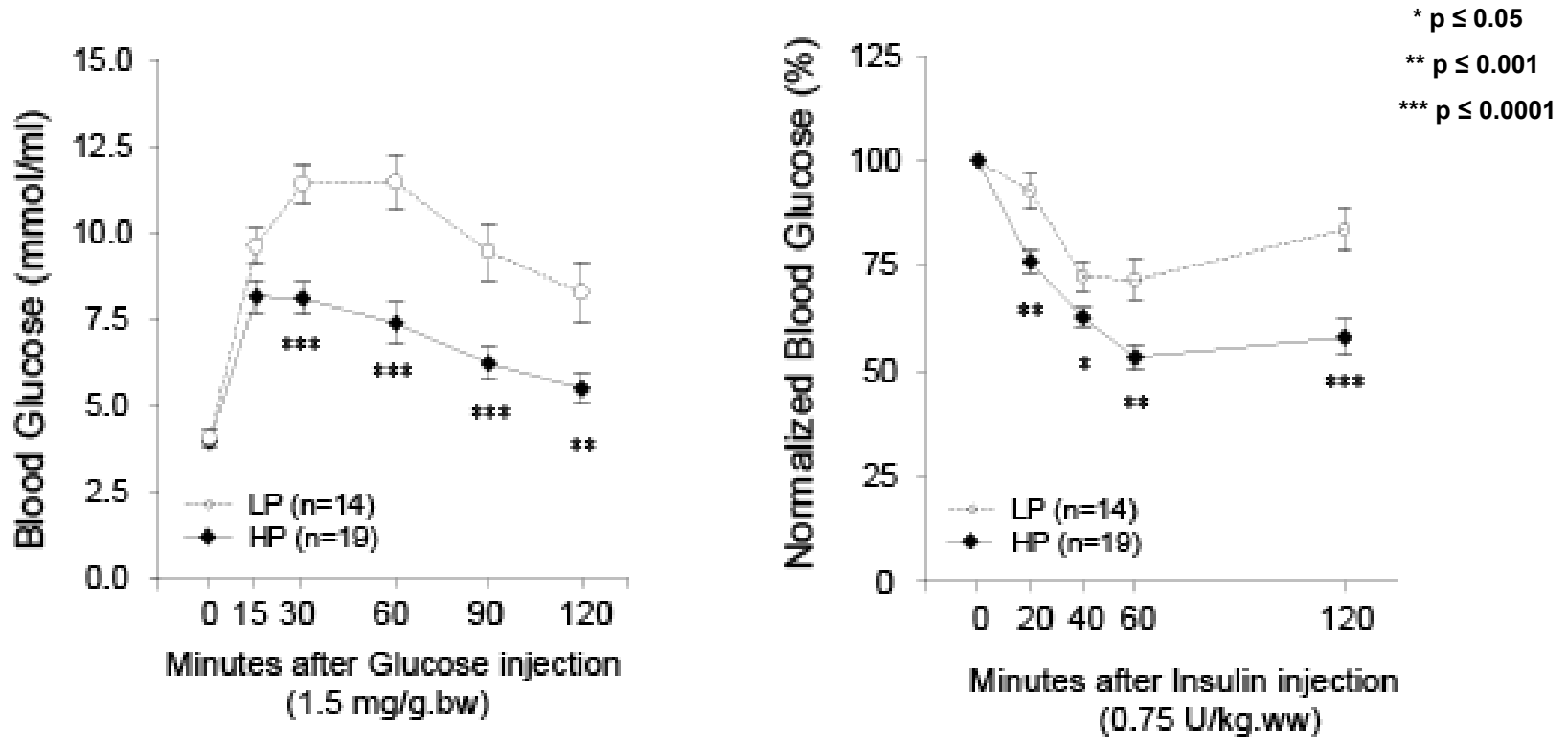


Serait il possible que l'exposition au soja et phytoestrogènes affecte la sensibilité à l'insuline ?



** p ≤ 0.001

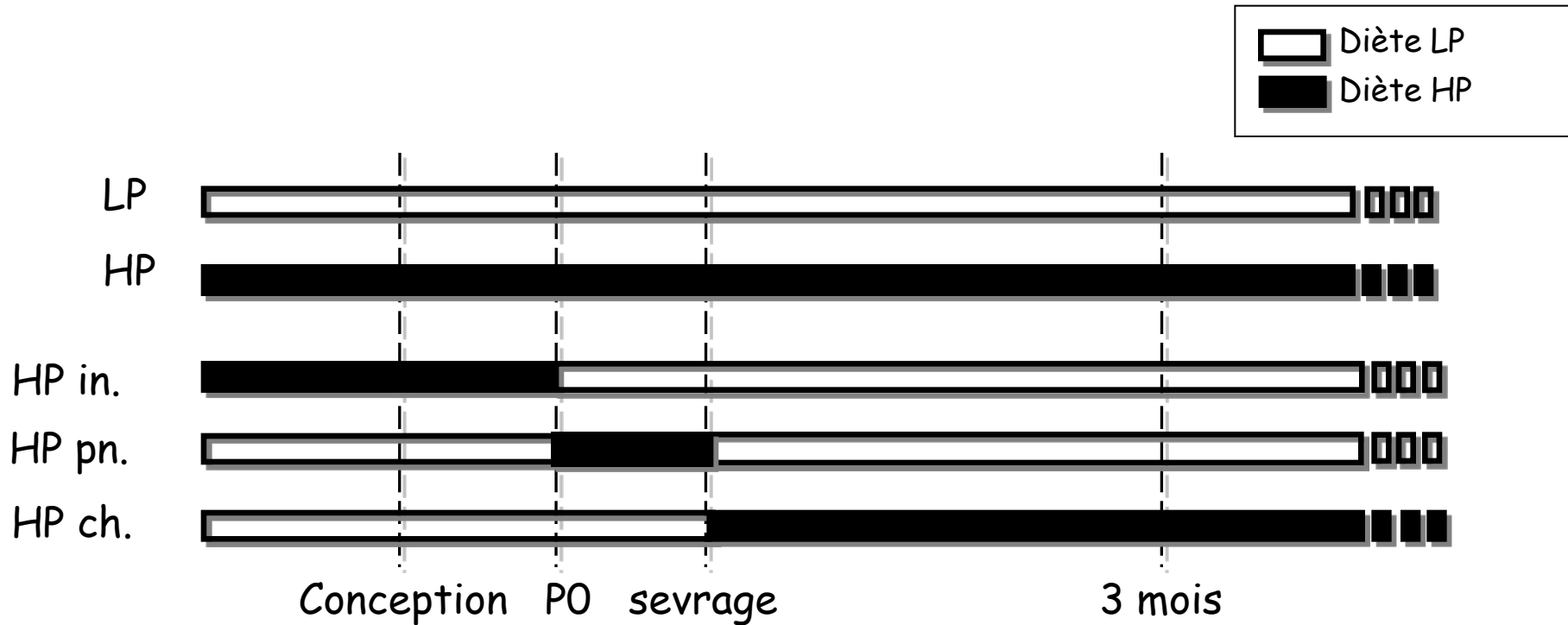
Test de tolérance au glucose (GTT)



Amélioration de la tolérance au glucose et de la sensibilité à l'insuline chez les souris HP

- dans les muscles squelettiques
- potentialisation de la voie de signalisation PI3K/Akt

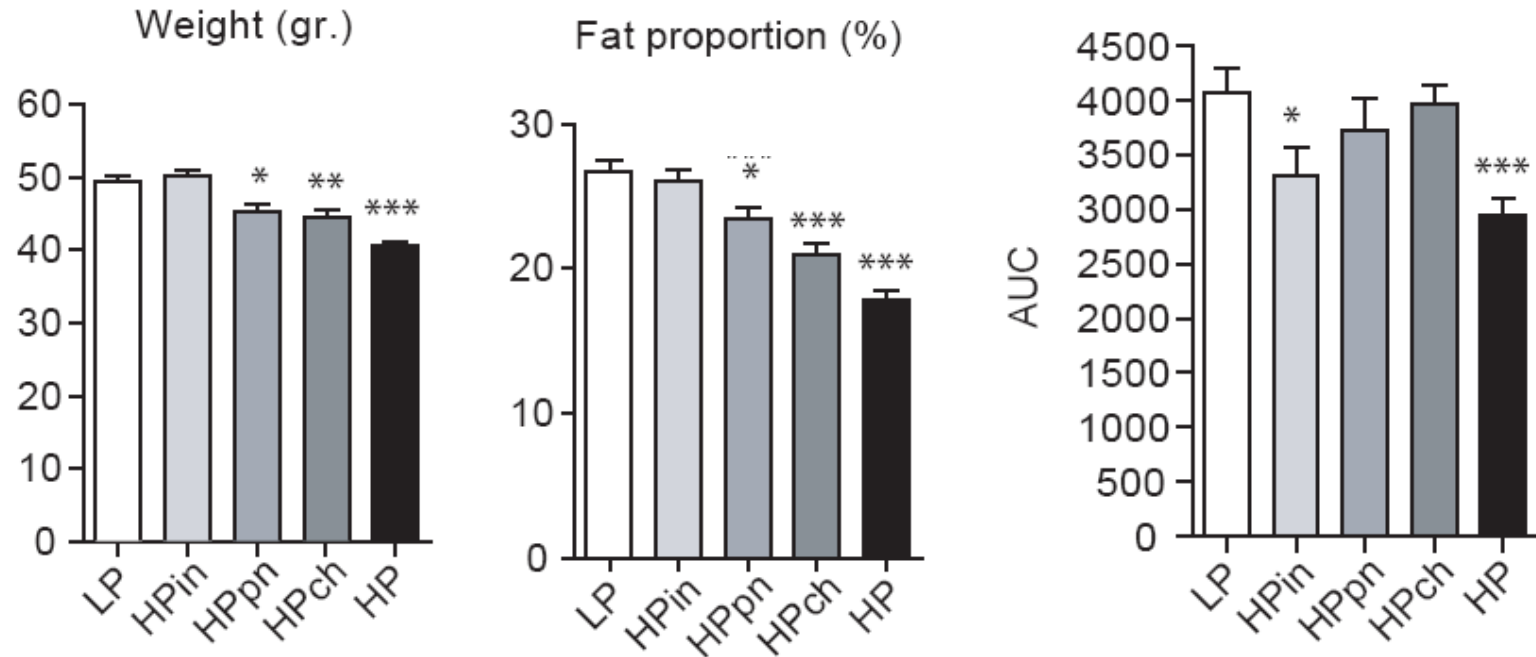
Objectifs: quel est la période de sensibilité au soja/phytoestrogènes ?



mesures:

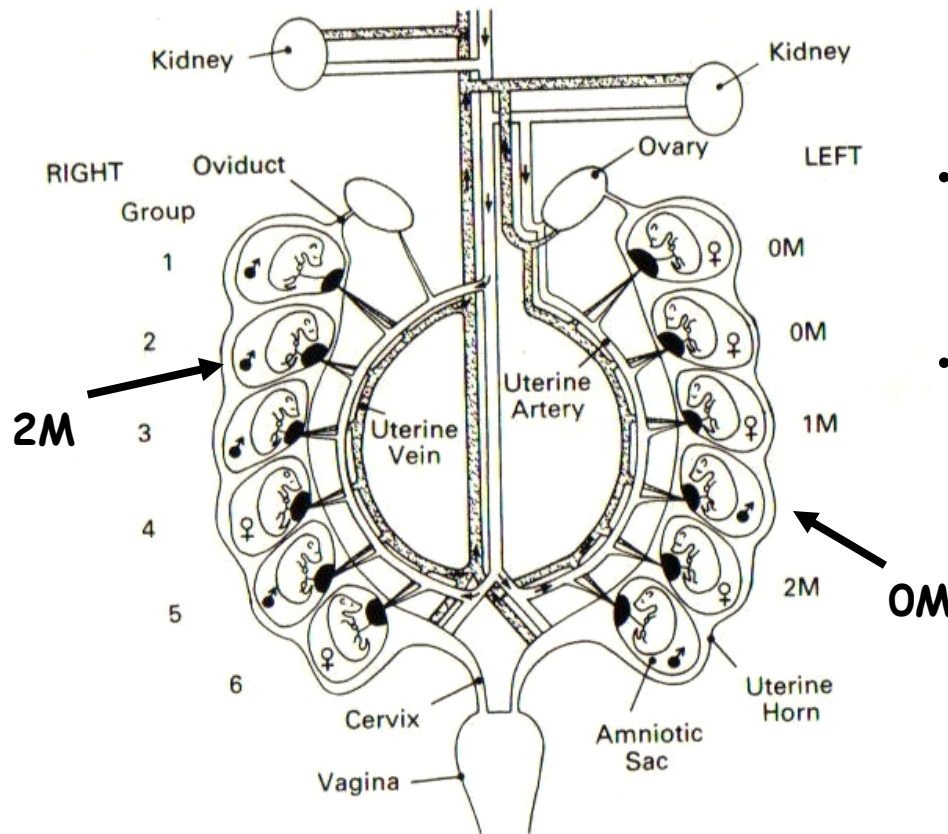
- poids et adiposité
- tolérance au glucose

L'exposition postnatale induit une réduction du tissu adipeux...



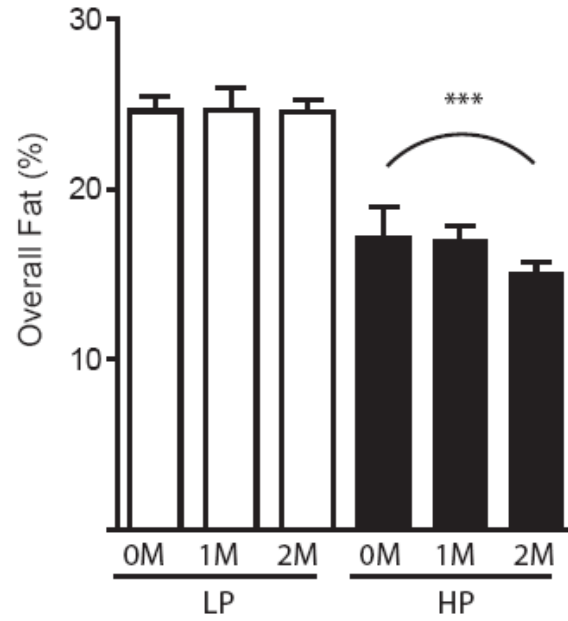
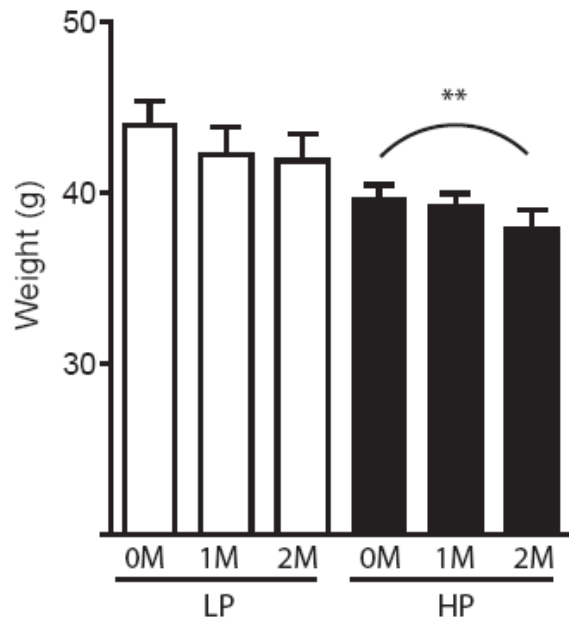
... mais l'exposition foetale améliore la tolérance au glucose

La position intrautérine



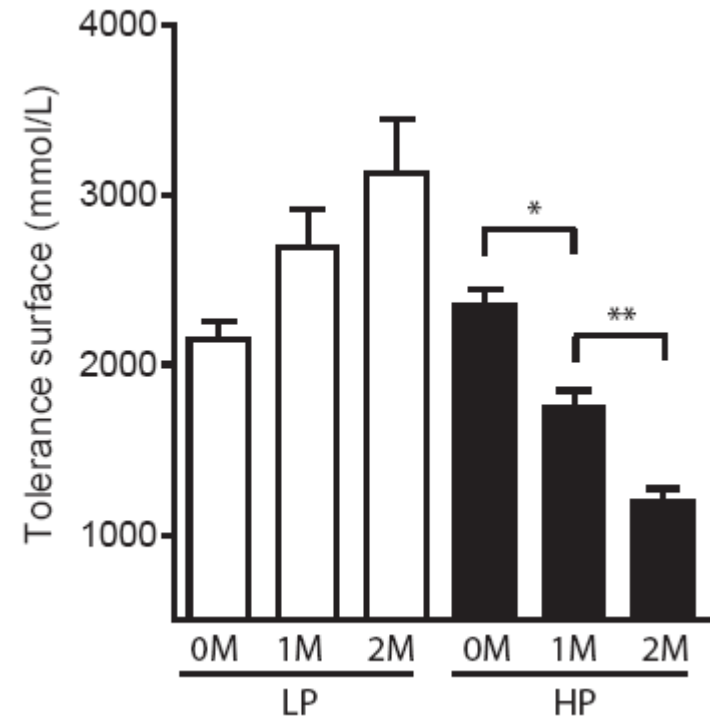
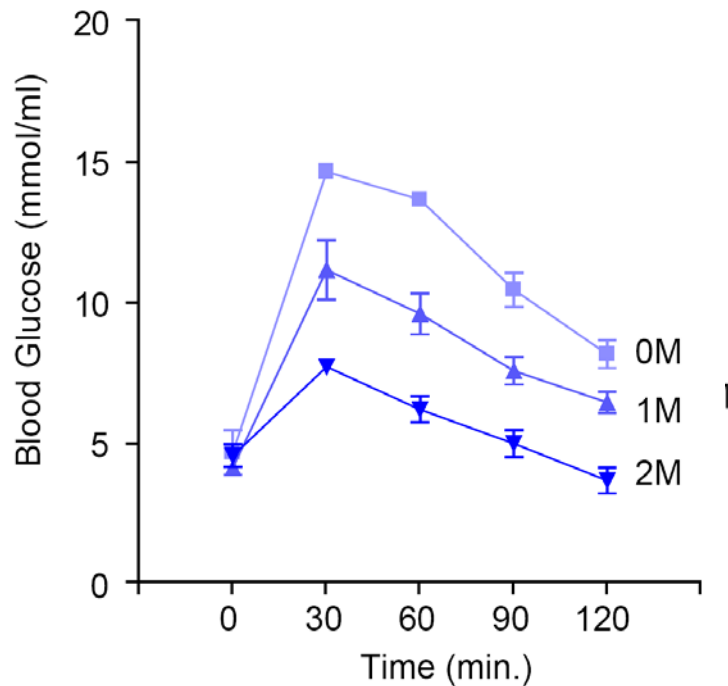
- Chez les rongeurs, l'environnement hormonal *in utero* est variable et dépend du sexe des foetus adjacents
- Le rapport T/E2 est plus élevé dans le sang et le fluide amniotique des foetus 2M
- conséquences: les foetus femelles 2M développent des caractéristiques mâles tant au niveau anatomique (\uparrow AGD), physiologique (retard de l'ouverture vaginale) que comportemental (\uparrow agressivité)

Effets sur la masse corporelle et adipeuse



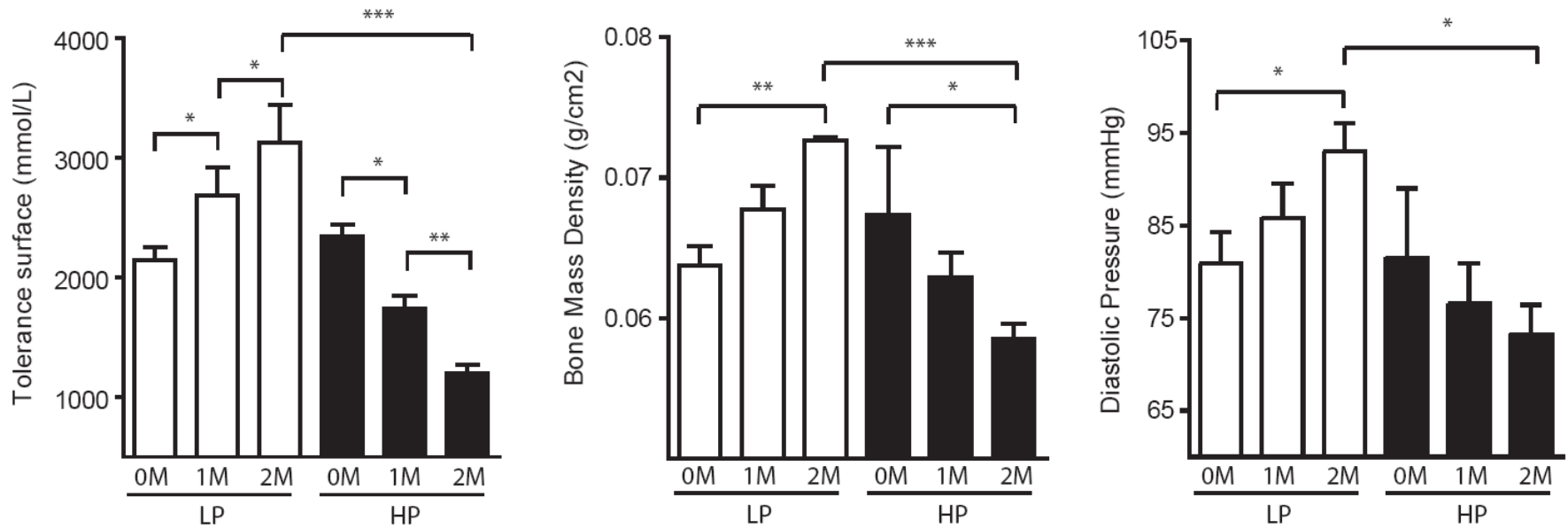
L'environnement utérin n'influence pas la masse corporelle et adipeuse

Effets sur la tolérance au glucose...



L'environnement hormonal lors de la période fœtale influence la tolérance au glucose chez la souris adulte

... ainsi que d'autres paramètres régulé par les oestrogènes



L'environnement hormonal lors de la période foetale peut influencer la susceptibilité à développer une pathologie métabolique chez l'adulte

Remerciements



UNIVERSITÉ DE GENÈVE

Département de Génétique Médicale et
Développement

Serge Nef

Christopher R. Cederroth

Françoise Kuhne

Jean-Luc Pitetti

Marilena Papaioannou

Rime Madani

Financements:

The NRP50 on endocrine disruptors

The Sir Jules Thorn Foundation

Fondation Gertrude von Meissner

Département de Physiologie Cellulaire et
Métabolisme

Françoise Rohner-Jeanrenaud

Marcella Klein

Michelangelo Foti

Manlio Vinciguerra

Paolo Meda

Asllan Gjinovci

Richard W. James

National Center for Toxicological Res.

Jefferson, Arkansas

Daniel R. Doerge



Back up

