

# Quel impact peuvent avoir les polluants environnementaux sur la santé et la fertilité ?

Patrick Balaguer

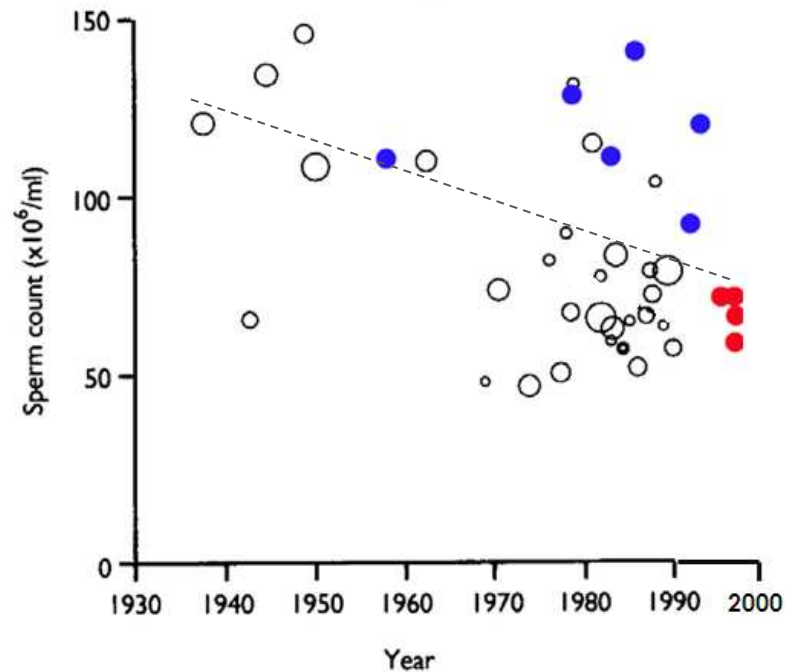
Cécile Chevrier

Inserm

# Fertilité: augmentation de certains troubles

## Qualité spermatique (concentration)

Variable selon les régions du Monde



- Mise à jour en 1993
- Mise à jour en 2002

Adapté de Jorma  
Toppari (2009)

*mean sperm density reported in 61 publications (represented by circles whose area is proportional to the logarithm of the number of subjects in study) each weighted according to number of subjects, 1938-90*

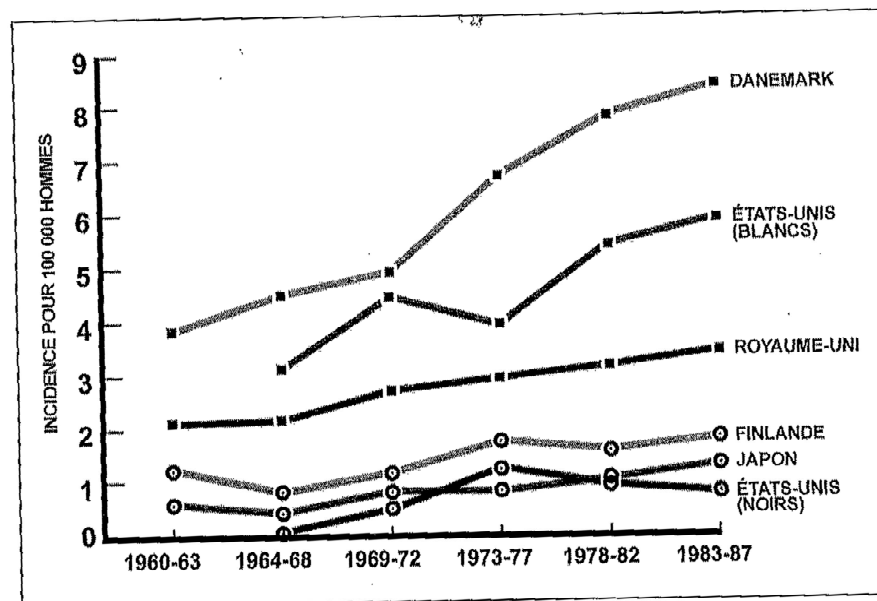
# Fertilité: augmentation de certains troubles

Qualité spermatique (concentration)

Variable selon les régions du Monde

Cancer du testicule

Figure 10 Évolution de l'incidence des cancers du testicule à la fin du XX<sup>e</sup> siècle



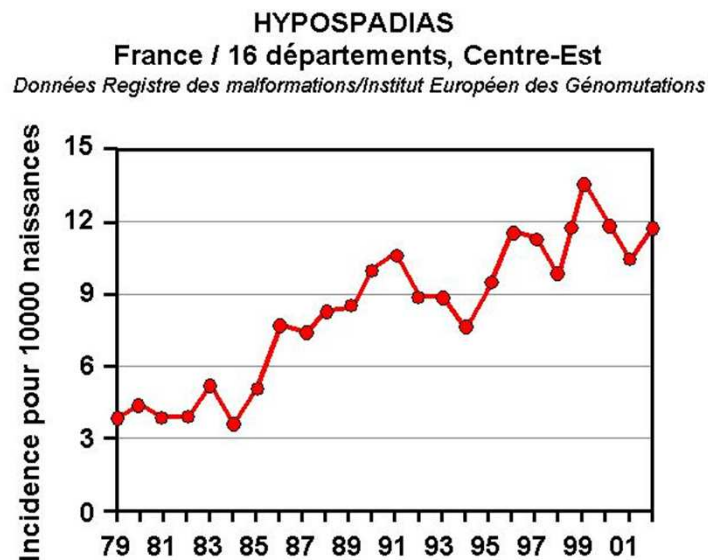
# Fertilité: augmentation de certains troubles

Qualité spermatique (concentration)

Variable selon les régions du Monde

Cancer du testicule

Malformations de l'appareil génital du petit garçon



# Fertilité: augmentation de certains troubles

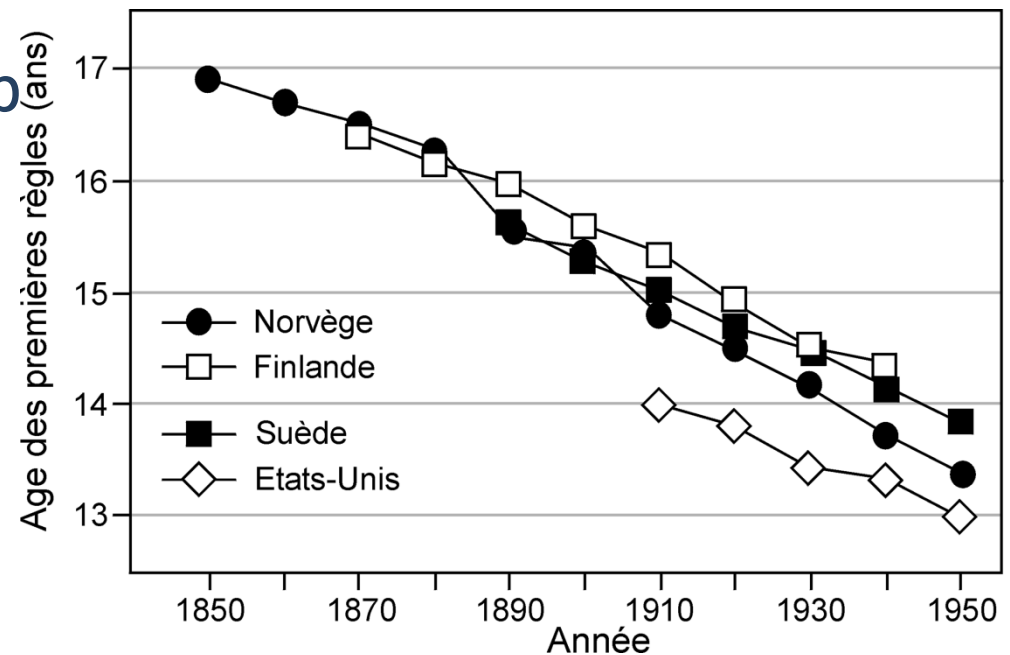
Qualité spermatique (concentration)

Variable selon les régions du Monde

Cancer du testicule

Malformations de l'ap

Puberté plus précoce



Évolution séculaire de l'âge des premières règles dans 4 pays (Expertise Collective Inserm, 2011)



# Un rôle des produits chimiques?

Depuis un siècle: création de 100 000 substances chimiques (non naturelles)

## Des intoxications majeures et probantes

1940-1977 (EU, Am.): Exposition des femmes enceintes au **distilbène**

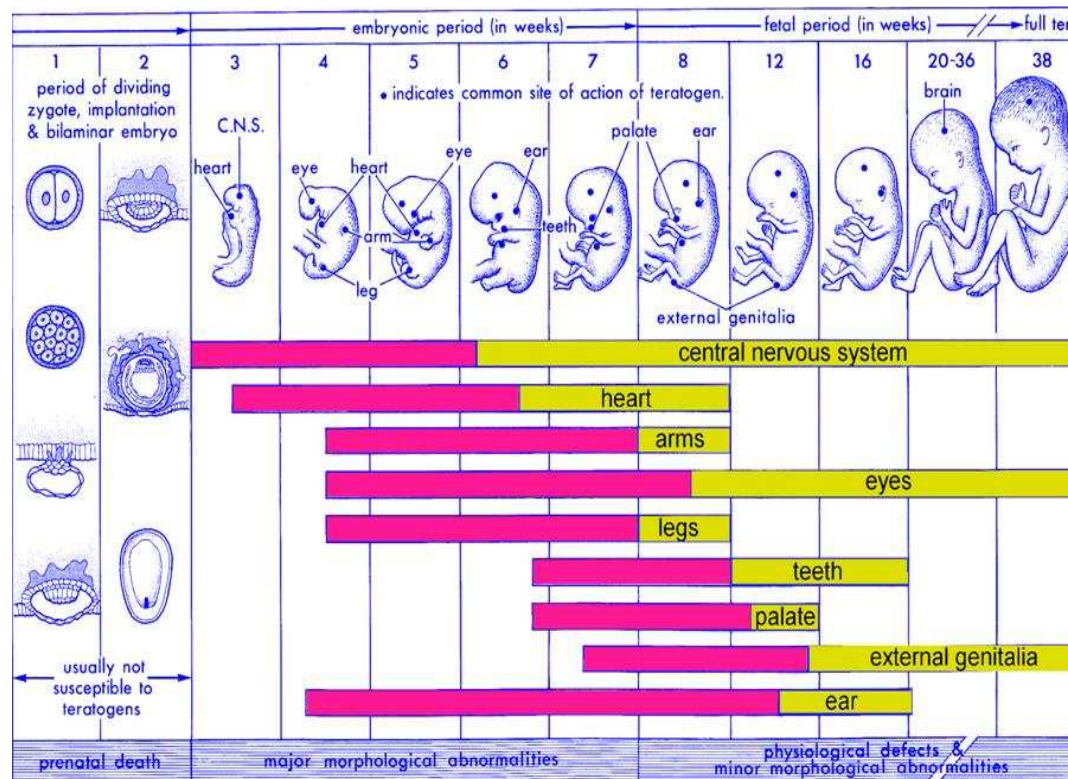
▶ malformations génitales (stérilité, cancer) chez les filles

1976 (Seveso): Explosion d'une usine à Seveso (**dioxine**)

▶ chloracné, cancers, malformations, sex ratio modifié (exposition paternelle), déclin de la fertilité des plus jeunes

# Avancées récentes sur le rôle des polluants

Importance des fenêtres d'exposition: Effets possibles à long terme d'exposition *in utero* ou pendant l'enfance



Schematic illustration of the sensitive or critical periods in human development. Red denotes highly sensitive periods; yellow indicates stages that are less sensitive to teratogens.  
 Moore KL. The Developing Human: Clinically Oriented Embryology. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1973.



# Avancées récentes sur le rôle des polluants

De nombreux mécanismes de toxicité:

Embryo-toxicité (ex: malformations...)

Spermato-toxicité (ex: ADN des spermatozoïdes altéré, anomalies chromosomiques...)

## Modifications épigénétiques

‘Marqueurs’ accroché à l’ADN qui se transmettent aux générations suivantes...

## Perturbations endocriniennes

Capacité des substances à perturber l'équilibre hormonal à des moments clés (développement )

→ *Expertise Collective Inserm 2011*





# Hypothèse de perturbation endocrinienne

Quelques exemples de perturbateurs endocriniens:

- **Polluants organiques persistants (POP)**
  - PCB (polychlorobiphényles)
  - Insecticides organochlorés (DDT, DDE, lindane)
- **Médicaments**
  - Distilbène
- **Constituants des plastiques**
  - Bisphénol A (BPA)
  - Phtalates
- **Pesticides**
  - Atrazine

# Hypothèse de perturbation endocrinienne

Quelques exemples de perturbateurs endocriniens:

- Polluants organiques persistants (POP)

PCB (polychlorobiphényles)

Insecticides organochlorés (DDT, DDE, lindane)

Interdits

- Médicaments

Distilbène

Interdits

- Constituants des plastiques

Bisphénol A (BPA)

Phtalates

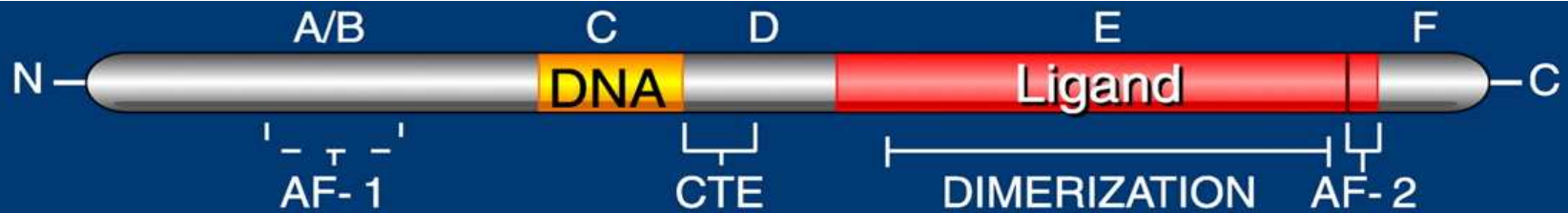
→ Expertise Collective Inserm 2011

- Pesticides

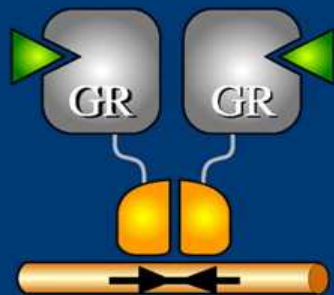
Atrazine

Interdits (EU)

# Récepteurs nucléaires cibles de molécules environnementales



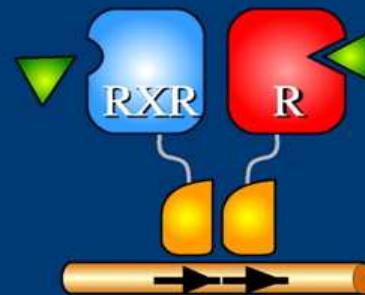
## Steroid Receptors



GR glucocorticoid  
 MR mineralcorticoid  
 PR progesterone  
**AR androgen**  
**ER  $\alpha, \beta$  estrogen**

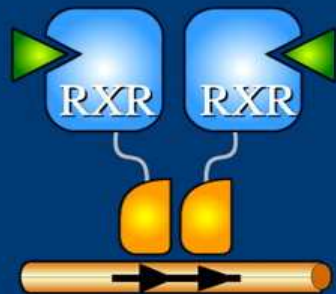
**AhR dioxine, HAP**

## RXR Heterodimers



T <sub>3</sub> R	$\alpha, \beta$	thyroid hormone
RAR	$\alpha, \beta, \gamma$	all-trans RA
VDR		1,25-(OH) <sub>2</sub> -VD
PPAR $\alpha$		fatty acids /
PPAR $\gamma$	$\beta$	15d- $\Delta^{12,14}$ -PGJ
EcR		ecdysone
FXR		bile acids
CAR		androstane
LXR		oxysterol
PXR/SXR		xenobiotics

## Dimeric Orphan Receptors



RXR 9-cis RA  
 COUP  
 HNF-4  
 TR2  
 TLX  
 GCNF

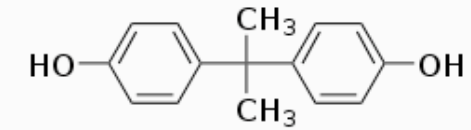
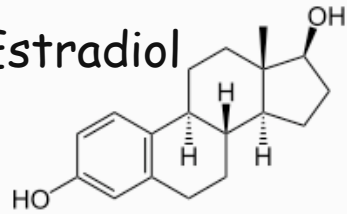
## Monomeric / Tethered Orphan Receptors



NGFI-B  
 SF-1  
 Rev-erb  
 ROR  
 ERR  $\alpha, \beta, \gamma$

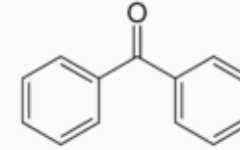
# Perturbateurs endocriniens potentiels

Estradiol

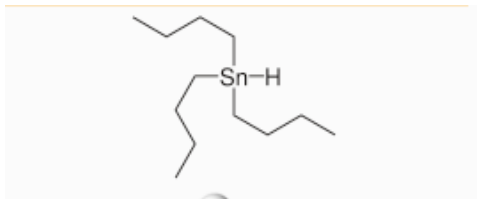


Bisphénol A (BPA)

Benzophénone (BP2)



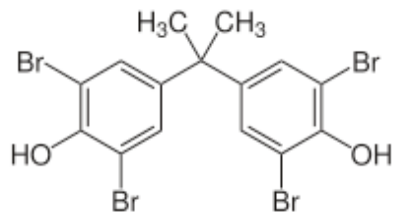
Tributylétain (TBT)



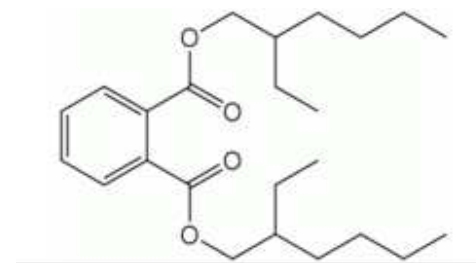
Acide perfluorooctanoïque (PFOA)



Tetrabromo bisphénol A (TBBPA)



Di ethyl hexyl phtalate (DEHP)



# Méthodes d'étude des perturbateurs endocriniens

## Méthodes *in silico* et cristallographiques

QSARs

Modélisation de la liaison du ligand au récepteur

## Méthodes *In Vitro* Biochimiques

Liaison à une protéine de transport, à une enzyme, à un récepteur

Liaison d'un corégulateur transcriptionnel à un récepteur

## Méthodes *In Vitro* Cellulaires

Expression de gènes naturels

Expression de gènes rapporteurs (luciférases)

## Méthodes *In organo* (Cultures organotypiques)

Expression de gènes naturels

## Méthodes *In vivo* (souris, poisson-zèbre, xénope)

Expression de gènes naturels

Expression de gènes rapporteurs (luciférases, GFP)

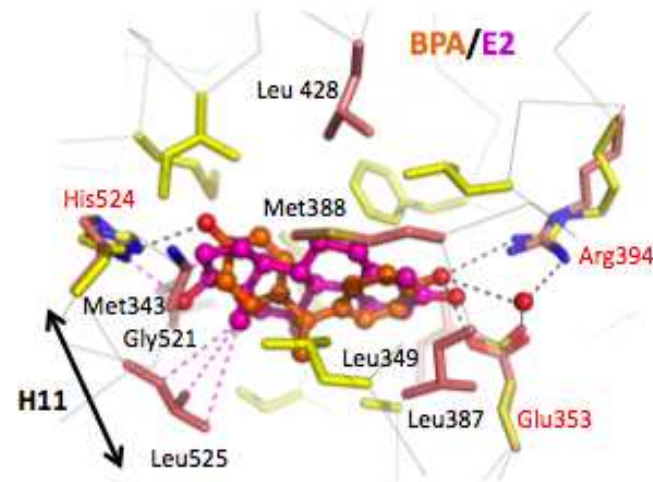
# Méthodes d'étude des perturbateurs endocriniens

Méthodes *in silico* et cristallographiques

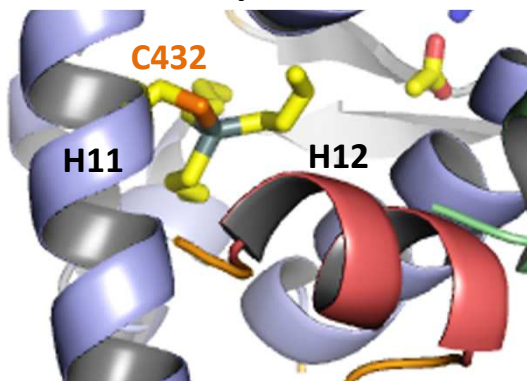
QSARs

Modélisation et cristallisation de la liaison du ligand au récepteur

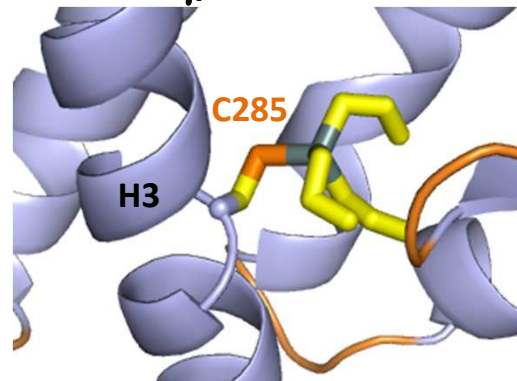
ER $\alpha$ /BPA



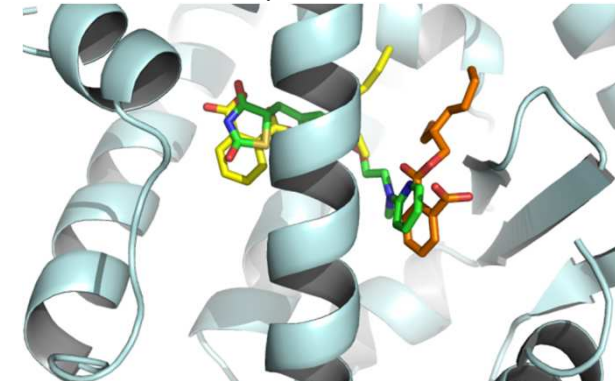
RXR $\alpha$ /TBT



PPAR $\gamma$ /TProT



PPAR $\gamma$ /2 MEHP

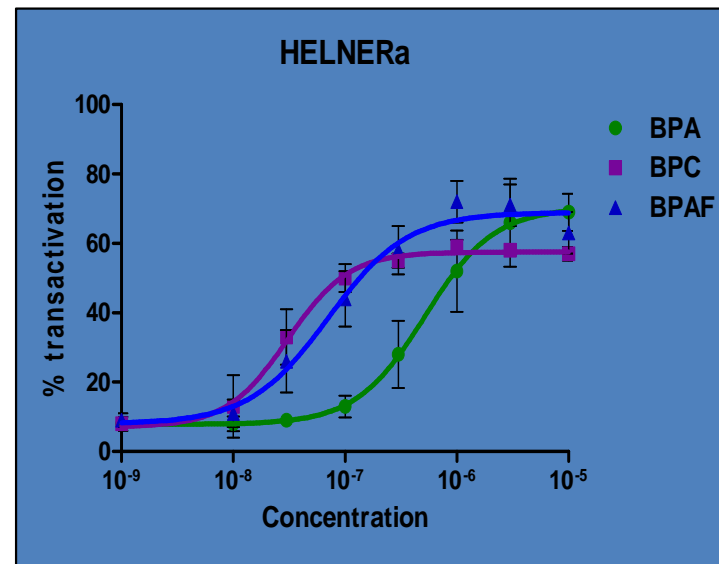
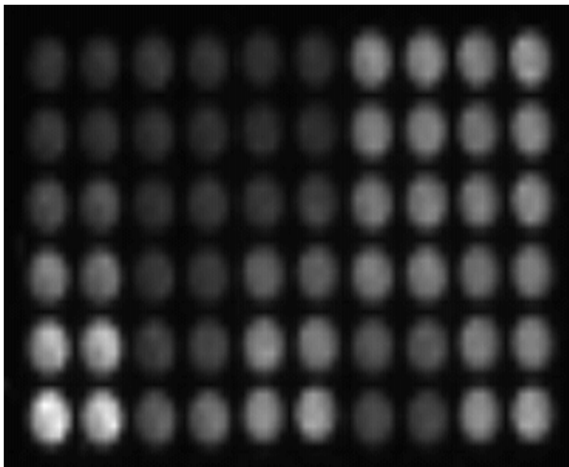


# Méthodes d'étude des perturbateurs endocriniens

## Méthodes *In Vitro* Cellulaires

Expression de gènes naturels

Expression de gènes rapporteurs (luciférases)





# Méthodes d'étude des perturbateurs endocriniens

Méthodes *In organo* (Cultures organotypiques)

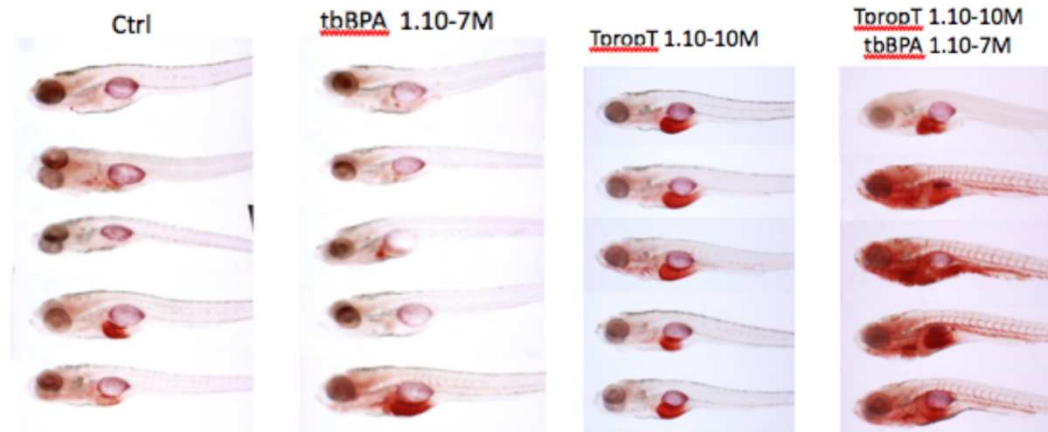
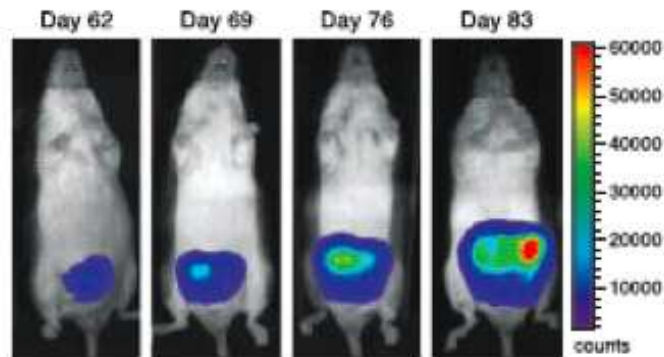
Expression de gènes naturels

Méthodes *In vivo* (souris, poisson-zèbre, xénope)

Expression de gènes naturels

Expression de gènes rapporteurs (luciférase, GFP)

## A PSA-Luciferase





## Conclusion sur les méthodes de détection de ligands de récepteurs nucléaires

**Méthodes *in silico*.** Méthodes d'avenir mais sont à améliorer, à enrichir de données obtenues avec les autres techniques.

**Méthodes *In Vitro* Biochimiques.** Très utiles pour l'étude du mécanisme d'action. Très adaptées à un criblage à haut débit.

**Méthodes *In Vitro* Cellulaires.** Très utiles pour l'étude du mécanisme d'action. Un peu plus intégratives que les tests biochimiques. Très adaptées à un criblage à haut débit.

**Méthodes *In organo* (Cultures organotypiques).** Très proches de la physiologie. Une spécialité "française" pour les perturbateurs endocriniens.

**Méthodes *in vivo*.** Lourdes, coûteuses. Elles ont évolué et deviennent plus simples et plus abordables notamment grâce aux techniques d'imagerie et aux modèles aquatiques.



# Epidémiologie et l'étude de l'impact de polluants environnementaux sur la santé

## Etude 'non expérimentale'

- ♥ Contexte réel d'expositions, multiples et de niveaux faibles (ex: polluants intérieurs dans les maisons)
- ♠ Contrôle des autres facteurs (ex: aération des maisons)

# Epidémiologie et l'étude de l'impact de polluants environnementaux sur la santé

## Etude 'non expérimentale'

- ♥ Contexte réel d'expositions, multiples et de niveaux faibles (ex: polluants intérieurs dans les maisons)
- ♠ Contrôle des autres facteurs (ex: aération des maisons)

## Divers outils de mesures d'exposition aux polluants

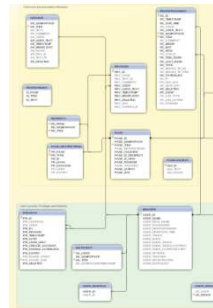
Cartes (Données Géographiques)



Questionnaire



Données de routine



Monitoring environnemental (poussière, air)



Monitoring biologique (urine, sang)



# Epidémiologie et l'étude de l'impact de polluants environnementaux sur la santé

## Etude 'non expérimentale'

- ♥ Contexte réel d'expositions, multiples et de niveaux faibles (ex: polluants intérieurs dans les maisons)
- ♠ Contrôle des autres facteurs (ex: aération des maisons)

## Divers outils de mesures d'exposition aux polluants

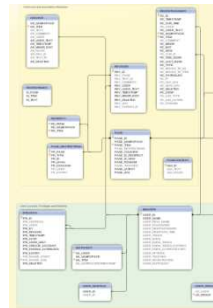
Cartes (Données Géographiques)



Questionnaire



Données de routine



Monitoring environnemental (poussière, air)



Monitoring biologique (urine, sang)



## Exemple d'exposition humaine aux perturbateurs endocriniens (France)

- Polluants organiques persistants

PCB (polychlorobiphényles)

99,5%

Insecticides organochlorés (DDT, DDE, lindane)

3%, 81%, 11%

Taux de détection  
(n=400, sang de cordon)  
Etude PELAGIE, Bretagne

- Médicaments

Distilbène

- Constituants des plastiques

Bisphénol A (BPA)

Phtalates

- Pesticides

Atrazine

## Exemple d'exposition humaine aux perturbateurs endocriniens (France)

- Polluants organiques persistants

PCB (polychlorobiphényles)

99,5%

Insecticides organochlorés (DDT, DDE, lindane)

3%, 81%, 11%

Taux de détection  
(n=400, sang de cordon)  
Etude PELAGIE, Bretagne

- Médicaments

Distilbène

- Constituants des plastiques

Bisphénol A (BPA)

98,5%

Phtalates

100%

Taux de détection  
(n=200, urines femmes enceintes)  
Etudes PELAGIE et EDEN, France

- Pesticides

Atrazine

## Exemple d'exposition humaine aux perturbateurs endocriniens (France)

- Polluants organiques persistants

PCB (polychlorobiphényles) **99,5%**

Insecticides organochlorés (DDT, DDE, lindane) **3%, 81%, 11%**

**Taux de détection  
(n=400, sang de cordon)  
Etude PELAGIE, Bretagne**

- Médicaments

Distilbène

- Constituants des plastiques

Bisphénol A (BPA) **98,5%**

Phtalates **100%**

**Taux de détection  
(n=200, urines femmes enceintes)  
Etudes PELAGIE et EDEN, France**

- Pesticides

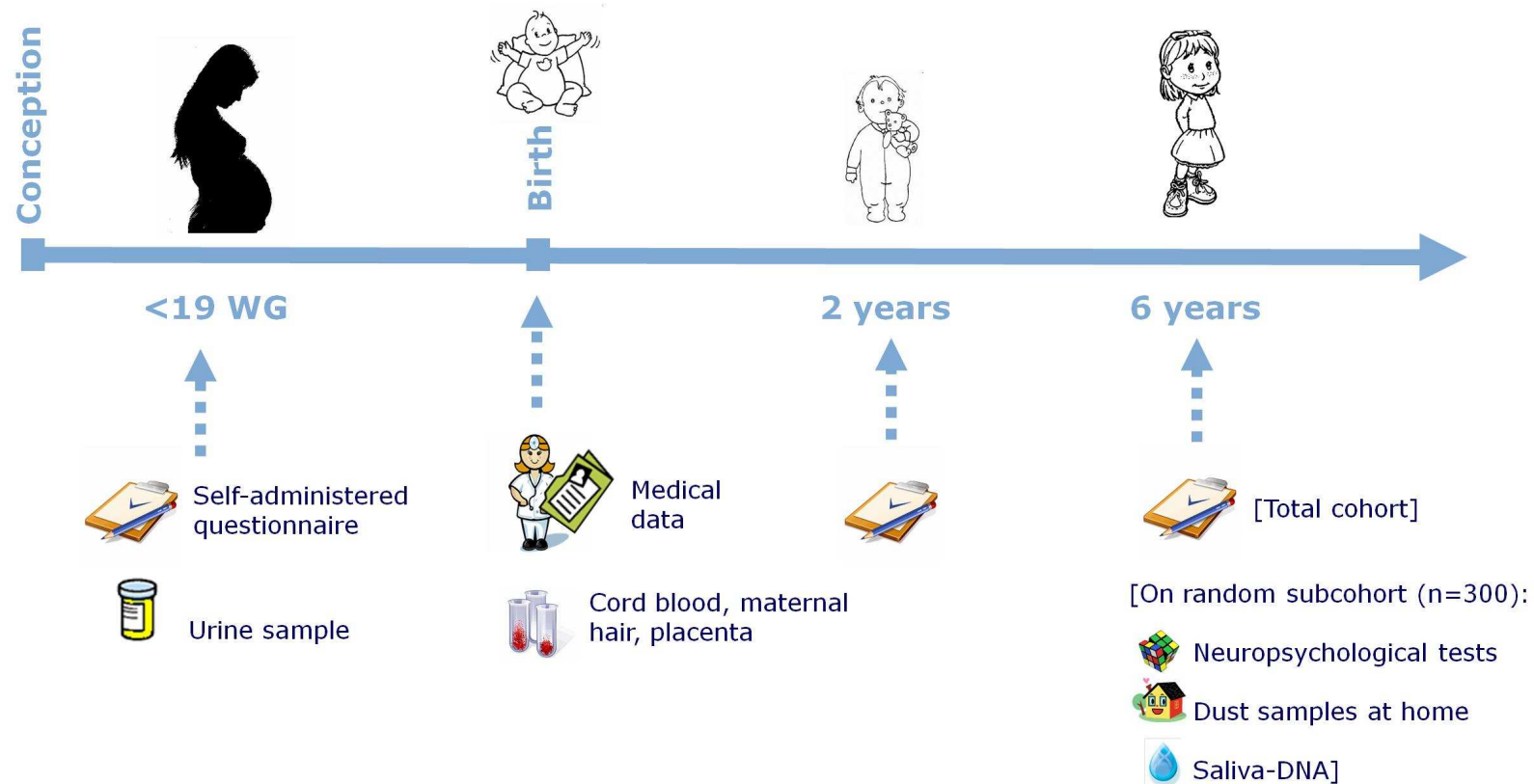
Atrazine **6%**

**Taux de détection  
(n=600, urines femmes enceintes)  
Etude PELAGIE, Bretagne**

# Epidémiologie et l'étude de l'impact de polluants sur la santé

## Etude prospective

Exemple: cohorte mère-enfants Pélagie (Bretagne, 2002)





# Etudes épidémiologiques sur les polluants et la fertilité

## Les principaux effets étudiés

- ↘ Qualité du sperme (fertilité masculine)
- Perturbations des cycles menstruels  
(fertilité féminine)
- ↘ Age à la ménopause (fertilité féminine)
- ↗ Délai pour concevoir (fertilité du couple)
- ↗ Fausse-couche (fertilité du couple)
- ↗ Malformations
- Modification du sex ratio

# Etudes épidémiologiques sur les polluants et la fertilité

## Les principaux polluants Exposition pré-conceptionnelle

PCBs (père, mère)



## Les principaux effets étudiés

↘ Qualité du sperme (fertilité masculine)

Perturbations des cycles menstruels  
(fertilité féminine)

↘ Age à la ménopause (fertilité féminine)

↗ Délai pour concevoir (fertilité du couple)

↗ Fausse-couche (fertilité du couple)

↗ Malformations

Modification du sex ratio?

# Etudes épidémiologiques sur les polluants et la fertilité

## Les principaux polluants Exposition pré-conceptionnelle

PCBs (père, mère)

Plomb (père, mère)



## Les principaux effets étudiés

↘ Qualité du sperme (fertilité masculine)

Perturbations des cycles menstruels  
(fertilité féminine)

↘ Age à la ménopause (fertilité féminine)

↗ Délai pour concevoir (fertilité du couple)

↗ Fausse-couche (fertilité du couple)

↗ Malformations

Modification du sex ratio

# Etudes épidémiologiques sur les polluants et la fertilité

## Les principaux polluants Exposition pré-conceptionnelle

PCBs (père, mère)

Plomb (père, mère)

Solvants (père, mère)

Ethers de glycol, benzène



## Les principaux effets étudiés

↘ Qualité du sperme (fertilité masculine)

Perturbations des cycles menstruels  
(fertilité féminine)

↘ Age à la ménopause (fertilité féminine)

↗ Délai pour concevoir (fertilité du couple)

↗ Fausse-couche (fertilité du couple)

↗ Malformations

Modification du sex ratio

# Etudes épidémiologiques sur les polluants et la fertilité

## Les principaux polluants Exposition pré-conceptionnelle

PCBs (père, mère)

Plomb (père, mère)

Solvants (père, mère)

Consommation de tabac  
(père, mère)



## Les principaux effets étudiés

↘ Qualité du sperme (fertilité masculine)

Perturbations des cycles menstruels  
(fertilité féminine)

↘ Age à la ménopause (fertilité féminine)

↗ Délai pour concevoir (fertilité du couple)

↗ Fausse-couche (fertilité du couple)

↗ Malformations

Modification du sex ratio

# Etudes épidémiologiques sur les polluants et la fertilité

## Les principaux polluants Exposition pré-conceptionnelle

PCBs (père, mère)

Plomb (père, mère)

Solvants (père, mère)

Consommation de tabac  
(père, mère)



## Les principaux effets étudiés

↘ Qualité du sperme (fertilité masculine)

Perturbations des cycles menstruels  
(fertilité féminine)

↘ Age à la ménopause (fertilité féminine)

↗ Délai pour concevoir (fertilité du couple)

↗ Fausse-couche (fertilité du couple)

↗ Malformations

? Fertilité de la descendance

# Bisphenol A et fertilité (Expertise Collective Inserm, 2011)

Étude	Population	Exposition			Paramètres de santé <sup>a</sup>	Résultats et remarques
		Estimation	Niveau d'exposition	Co-expositions	Estimation	
<b>Caractéristiques spermatiques</b>						
Meeker et coll., 2010b Massachusetts (États-Unis)	190 patients masculins consultant pour infertilité	Dosage urinaire (prélèvement urinaire et recueil de sperme le même jour)	Médiane et moyenne géométrique [25 <sup>e</sup> -75 <sup>e</sup> percentiles] : 1,3 [0,8-2,5] µg de BPA par l d'urine	Non décrites	Caractéristiques spermatiques	Concentration urinaire de BPA (codée en continu) associée à ↓concentration spermatique (p=0,05), ↓mobilité spermatique (p=0,10), ↓proportion de spermatozoïdes avec une morphologie considérée normale (p=0,05) ↑fragmentation de l'ADN du noyau des spermatozoïdes
Li et coll., 2010c (Chine)	218 hommes (130 exposés professionnellement et 88 non exposés professionnellement)	Activité professionnelle et validation par dosage urinaire	50 <sup>e</sup> percentile [25 <sup>e</sup> -75 <sup>e</sup> percentiles] Exposés : 39 [6-354] µg/g créatinine Non-exposés : 1 [0-18] µg/g créatinine	Autres polluants chimiques, métaux lourds	Caractéristiques spermatiques	↓concentration, de la numération totale, de la vitalité et de la mobilité spermatiques
Mendiola et coll., 2010 (États-Unis)	317 hommes partenaires de femme enceinte	Dosage urinaire (prélèvement urinaire et recueil de sperme le même jour)	50 <sup>e</sup> percentile [25 <sup>e</sup> -75 <sup>e</sup> percentiles] 1,7 [0,80-3,0] µg de BPA par l d'urine	Non décrits	Caractéristiques spermatiques	Pas d'association observée entre BPA et caractéristiques spermatiques parmi ces hommes fertiles

Étude	Population	Exposition			Paramètres de santé <sup>a</sup>	Résultats et remarques
		Estimation	Niveau d'exposition	Co-expositions	Estimation	
Li et coll., 2010b (Chine)	427 travailleurs : 174 exposés et 253 non exposés (inclut les sujets de l'étude Li et coll., 2010a)	Dosage urinaire du bisphéno	Idem	Idem	Questionnaires sur dysfonction érectile, dysfonction orgasmique, désir sexuel, satisfaction vis-à-vis de la vie sexuelle	Associations monotones entre le taux de bisphéno urinaire et les différents paramètres de dysfonction sexuelle étudiés. Résultats globalement inchangés après exclusion des hommes déclarant être exposés aux autres polluants chimiques et métaux lourds. Les tendances se maintiennent (mais intervalles de confiance plus larges) quand la population est restreinte aux hommes exposés à des niveaux environnementaux (sans exposition professionnelle)

<sup>a</sup> E2 : œstrogène ; FAI : *Free androgen index*, correspondant au ratio entre la concentration totale de testostérone et la concentration de SHBG ; FSH : hormone folliculo-stimuline ; LH : hormone lutéinisante ; SHBG : *Sex hormone binding globulin*, T : testostérone, T4, T3 ; TSH : Hormone thyroïdo-stimuline ; LOD : *limit of detection*



Étude	Population	Exposition		Paramètres de santé*	Résultats et remarques
		Estimation	Niveau d'exposition	Estimation	
<b>Fonction hormonale</b>					
Takeuchi et coll., 2004 Tokyo (Japon)	19 femmes non obèses, 7 femmes obèses avec des cycles menstruels normaux, 7 patientes souffrant d'hyperprolactinémie (Hyper-pro), 21 femmes souffrant d'aménorrhée d'origine hypothalamique (HA) et 19 femmes avec un syndrome des ovaires polykystiques (SOP), dont 6 obèses	Dosage sérique de bisphénol A	Non obèses : 0,71±0,09 Obèses : 1,04±0,09 (p<0,05) Hyper-pro : 0,83±0,12 (ns) HA : 0,84±0,10 (ns) SOP (non obèses) : 1,05±0,10 (p<0,05) SOP (obèses) : 1,17±0,16 (p<0,05)	Dosage sérique de LH, FSH, E2, T totale, T libre, A, DHEAS, prolactine, Insuline Mesure de l'IMC	Association entre le taux sérique de bisphénol A de l'ensemble de la population et la T totale, T libre, A et DHEAS <u>Étude difficile à interpréter</u> car les facteurs de confusion propres à chaque pathologie n'ont pas été pris en compte et absence d'information sur l'échantillonnage de la population
<b>Endométriose</b>					
Cobellis et coll., 2009 Naples (Italie)	Sur 69 femmes fertiles en consultation à l'hôpital 58 femmes souffrant d'endométriose 11 femmes non atteintes	Dosage sérique de bisphénol A	Détection chez 52 % des cas Aucune détection chez les témoins	Endométriose	<u>Étude difficile à interpréter</u> car les taux de détection du bisphénol A dans le sang sont faibles

Étude	Population	Exposition		Paramètres de santé <sup>a</sup>	Résultats et remarques
		Estimation	Niveau d'exposition	Estimation	
Itoh et coll., 2007 Tokyo (Japon)	Sur 166 femmes infertiles consultant à l'hôpital 140 femmes avec un diagnostic d'endométriose	Dosage urinaire de bisphénol A	Médiane [25 <sup>e</sup> -75 <sup>e</sup> percentiles] Grade 0-IV : 0,80 [0,45-1,3] µg/g créatinine Grade 0-I : 0,74 [0,45-1,21] µg/g créatinine (ns) Grade II-IV : 0,93 [0,5-01,48] µg/g créatinine (ns)	Endométriose avec détermination du grade de sévérité (0 à IV)	Pas d'association entre le taux de bisphénol A urinaire et l'endométriose <u>Étude difficile à interpréter</u> difficile car elle comporte des limites méthodologiques
<b>Cancer du sein</b>					
Yang et coll., 2009 Séoul (Corée du Sud)	70 femmes avec un cancer du sein diagnostiqué 82 femmes consultant dans le même hôpital	Dosage sérique du bisphénol A	Médiane Cas : 0,61 µg/l (test de Wilcoxon, p=0,42) Témoins : 0,03 µg/l	Cancer du sein	Pas d'association entre taux de bisphénol A et survenue de cancer du sein <u>Étude difficile à interpréter</u> car elle comporte des limites méthodologiques
<b>Survenue de fausses-couches</b>					
Suglura-Ogasawara et coll., 2005 Nagoya (Japon)	45 femmes ayant eu au moins trois fausses-couches spontanées 32 femmes n'ayant jamais accouché et sans antécédent d'infécondité	Dosage sérique du bisphénol A	Moyenne ± SD Cas : 2,59±5,23 µg/l (p=0,024) Témoins : 0,77±0,38 µg/l	Grossesses Fausses-couches spontanées	Pas d'association significative entre taux élevé de bisphénol et la survenue d'une fausse-couche selon les auteurs <u>Étude difficile à interpréter</u> car elle comporte des limites méthodologiques

<sup>a</sup> A : androstène-dione ; DHEAS : déhydroépiandrostérone ; E2 : œstrogène ; IMC : Indice de masse corporelle ; FSH : hormone folliculo-stimuline ; LH : hormone lutéinisante ; SHBG : Sex hormone binding globulin, T : testostérone, TSH : Hormone thyroïdo-stimuline

# Etudes épidémiologiques sur les polluants et la fertilité

## Les principaux polluants Exposition pré-conceptionnelle

PCBs (père, mère)

Plomb (père, mère)

Solvants (père, mère)

Consommation de tabac  
(père, mère)

Bisphenol A



## Les principaux effets étudiés

↘? Qualité du sperme (fertilité masculine)

Perturbation du cycle menstruels  
(fertilité féminine)  
**Peu d'études de bonne qualité sur la fertilité féminine**

↘ Age à la ménopause (fertilité féminine)

↗ Délai pour concevoir (fertilité du couple)

↗ Fausse-couche (fertilité du couple)

↗ Malformations

# Etudes épidémiologiques sur les polluants et la fertilité

## Les principaux polluants Exposition pré-conceptionnelle

PCBs (père, mère)

Plomb (père, mère)

Solvants (père, mère)

Consommation de tabac  
(père, mère)

Bisphenol A

Phtalates



## Les principaux effets étudiés

↘? Qualité du sperme (fertilité masculine)

Perturbation des cycles menstruels  
(fertilité féminine) **Peu d'études de bonne qualité sur la fertilité féminine**

↘ Age à la ménopause (fertilité féminine)

↗ Délai pour concevoir (fertilité du couple)

↗ Fausse-couche (fertilité du couple)

↗ Malformations

??? Fertilité de la descendance  
(malformations des organes génitaux masculins, puberté précoce fillettes)

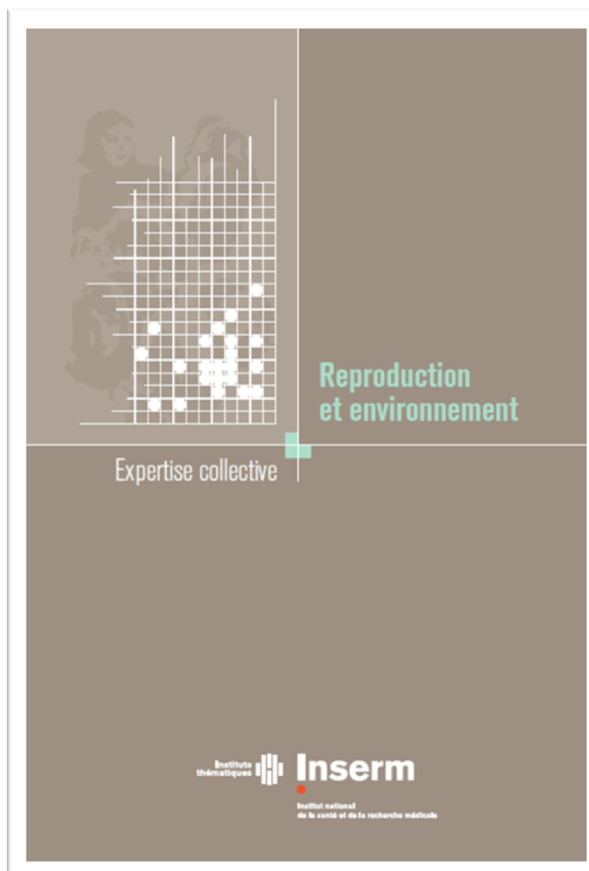
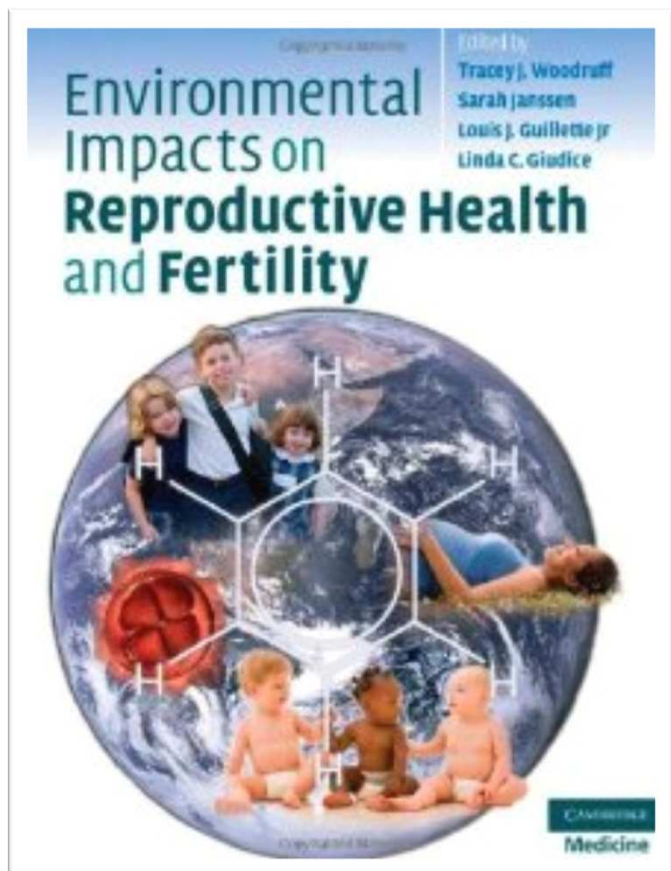


## Conclusion / Comment communiquer auprès du Grand Public

Peu probable qu'un unique polluant/facteur puisse expliquer les variations temporelles de la fertilité/développement de l'enfant

- Difficulté des polluants émergents (toxicologie en amont et aval, épidémiologie en aval)
- Existence d'incertitudes scientifiques
  - Chaque outil (toxicologie, épidémiologie, etc...) a ses limites
  - Niveau de preuves dépend de la cohérence des études scientifiques
- Echelle de la caractérisation des risques: population  $\neq$  individu  
Ex: alcool pendant la grossesse, fumée de tabac et cancer de poumon
- Elargir recommandations de précaution (femmes enceintes):
  - (tabac, alcool) + plastiques, usages à domicile d'insecticides, cosmétiques
- Attention aux produits de substitution

# Références



Remerciements à Sylvaine Cordier, Rémy Slama et au groupe de l'Expertise Collective Inserm « Reproduction et Environnement »