

Corrélations entre les métabolites urinaires et les effets chez les femmes exposées aux phtalates

Période : février 2010 à août 2010

Radhouane CHAKROUN

Institut de Santé et de Sécurité au Travail (Tunisie) – Laboratoires de Biologie et de Toxicologie Professionnelle, Unité de Recherche « Santé et Environnement du Travail », – Tunis (Tunisie)

Mots clés : Biomarqueur, Effet, Endométriose, Léiomyome, Métabolites, Perturbateurs endocriniens, Phtalates, Stéroïdogénèse, Trophoblaste, Urine

Les phtalates sont ubiquitaires dans notre environnement. Ils sont utilisés dans la fabrication d'une large variété de produits allant des matériaux de construction (cadres de fenêtre, rideau de douche, revêtement de sol...) jusqu'aux produits de consommation courante (emballages alimentaires, dispositifs médicaux, produits cosmétiques...) (Schettler, 2006).

En plus de l'exposition professionnelle, notamment dans l'industrie du PVC qui consomme la majeure partie des phtalates produits, l'exposition de la population générale est toujours d'actualité, malgré une réglementation européenne de plus en plus restrictive. Ainsi, le DEHP⁽¹⁾, le DBP⁽²⁾ et le BBP⁽³⁾ ont été interdits à l'utilisation dans les cosmétiques depuis l'année 2004 (Directive 2004/93/EC). Ces mêmes phtalates, tout comme le DINP⁽⁴⁾, DIDP⁽⁵⁾ et le DnOP⁽⁶⁾, ne peuvent pas être utilisés comme substances ou composants de préparation à des concentrations supérieures à 0,1 % en masse de matière plastifiée, dans les jouets et les articles de puériculture (Directive 2005/84/EC). En 2007, des restrictions ont également été imposées à l'utilisation des phtalates dans les matériaux de contact alimentaire. À titre d'exemple, le DEHP n'est plus autorisé dans la fabrication de joints de couvercles, mais il peut être utilisé dans les composants de contact pour aliments non gras, à condition que la migration limite de 1,5 mg/Kg d'aliment ne soit pas dépassée (Directive 2007/19/EC).

Les expérimentations animales suggèrent que les phtalates sont des perturbateurs endocriniens et peuvent affecter la fonction reproductrice en agissant comme antagonistes ou en altérant les effets des hormones stéroïdiennes endogènes. De potentiels effets chez les femelles ont pu également être identifiés : anovulation ou retard d'ovulation, prolongation du cycle œstral, diminution de la synthèse d'œstradiol, diminution du taux de progestérone sérique. Les mécanismes d'action et les effets des phtalates sur la santé humaine, en particulier chez la femme n'ont pas encore été clarifiés d'une manière satisfaisante.

Les articles sélectionnés étudient les liens pouvant exister, entre l'exposition aux phtalates et les risques d'endométriose et de léiomyome utérin ; ils explorent les marqueurs transcriptionnels de la stéroïdogénèse et de la différenciation trophoblastique par rapport aux niveaux d'exposition.

Étude de la relation entre l'exposition aux phtalates et les atteintes d'endométriose et de léiomyome utérin dans le cadre de l'enquête NHANES⁽⁷⁾

Weuve J, Hauser R, Calafat AM, Missmer SA, Wise LA. Association of Exposure to Phthalates with Endometriosis and Uterine Leiomyomata: Findings from NHANES, 1999–2004. *Environ Health Perspect.* 2010; 118: 825–832.

Analyse

Une étude transversale (Weuve *et al.*, 2010) a concerné la recherche de liens éventuels entre les concentrations des métabolites urinaires des phtalates et les antécédents d'endométriose⁽⁸⁾ et de léiomyome utérin⁽⁹⁾, rapportés parmi 1227 femmes de 20 à 54 ans, examinées dans le cadre des enquêtes périodiques nationales américaines sur la nutrition et la santé (NHANES). Ces enquêtes ont été réalisées en trois périodes de deux années, entre 1999 et 2004. Les métabolites étudiés ont été : MEHP⁽¹⁰⁾,

MBP⁽¹¹⁾, MEP⁽¹²⁾ et MBzP⁽¹³⁾. Dans les deux dernières périodes, les concentrations urinaires des isomères MNBP⁽¹⁴⁾ et MIBP⁽¹⁵⁾ ont été déterminées séparément et additionnées pour obtenir la concentration totale de MBP. Dans ces mêmes périodes, les concentrations urinaires de MEHHP⁽¹⁶⁾ et de MEOHP⁽¹⁷⁾ ont également été déterminées. Ces deux métabolites ne peuvent provenir que de l'oxydation enzymatique du DEHP. L'exposition au DEHP a également été évaluée par l'étude de la somme des concentrations molaires du MEHP, MEHHP et du MEOHP. Une analyse exploratoire supplémentaire a concerné l'évaluation du MECCP⁽¹⁸⁾, autre métabolite du DEHP dosé lors de la troisième période de l'enquête. Les antécédents d'endométriose et de fibrome utérin étaient ceux rapportés par les femmes au moment du prélèvement urinaire ; il n'y avait pas de vérification du diagnostic.

Quatre-vingt-sept (87) femmes (7 %) ont rapporté des antécédents d'endométriose et 151 (12 %) des antécédents de fibrome utérin. Les odds ratio (OR) comparant le quartile le plus

haut au quartile le plus faible des concentrations urinaires de MBP ont été respectivement 1,36 (0,77 à 2,41; IC⁽¹⁹⁾ = 95 %) pour l'endométriase; 1,56 (0,93 à 2,61; IC = 95 %) pour le léiomyome et 1,71 (1,07 à 2,75; IC = 95 %) pour les deux atteintes associées. Pour le MEHP, les OR correspondants étaient de 0,44 (0,19-1,02), 0,63 (0,35-1,12) et 0,59 (0,37-0,95). De plus, lorsque les femmes, dont le léiomyome a été diagnostiqué plus de sept années avant l'examen médical de l'enquête NHANES étaient exclues afin de minimiser les biais qui seraient dus aux délais entre le diagnostic et l'évaluation de l'exposition aux phtalates, les OR associés au MBP atteignaient 1,86 (0,94 à 3,68; IC = 95 %) pour le léiomyome et 2,16 (1,23 à 3,77; IC = 95 %) pour les deux atteintes combinées; pour le MEHP, l'OR associé au risque d'endométriase n'était plus que de 0,19 (0,05-0,78). En excluant les femmes dont l'endométriase et/ou le léiomyome ont été diagnostiqués plus de cinq années avant l'enquête, les OR associés aux deux maladies combinées obtenus pour le MEHP étaient comparables à ceux trouvés chez le groupe initial.

Les odds ratio du MEHHP et du MEOHP, ainsi que celui de la somme des concentrations des trois métabolites (MEHHP, MEOHP et MEHP) sont en accord avec les résultats obtenus pour le MEHP pour l'endométriase, mais pas pour le léiomyome.

L'analyse des résultats obtenus pour le MECCP aboutit aux mêmes constatations, avec un OR de 0,49 (0,12 à 1,93; IC = 95 %) pour l'endométriase et 1,63 (0,89 à 2,96) pour le léiomyome.

Il n'a pas été observé d'association entre les concentrations urinaires de MEP et de MBzP avec les risques d'endométriase ou de léiomyome.

Globalement, cette étude a montré une association positive faible entre les concentrations urinaires de MBP et les risques d'endométriase et de fibrome utérin, une association négative faible des concentrations urinaires de MEHP avec les mêmes risques. Pour les autres métabolites urinaires du DEHP (MEHHP et MEOHP), les résultats observés sont semblables à ceux obtenus avec le MEHP pour le risque d'endométriase, mais pas pour le risque de fibrome.

L'absence de lien entre l'exposition au DEHP et le risque d'endométriase constatée dans la présente étude à partir des résultats obtenus pour l'association MEHP - endométriase sont en contradiction avec ceux de deux études cas-témoin (Cobellis *et al.* 2003; Reddy *et al.* 2006) utilisant le dosage des concentrations sanguines de DEHP et d'une troisième (Itoh *et al.* 2009) utilisant le dosage des métabolites urinaires. Toutes trois indiquent, en effet, un excès de risque d'endométriase associé à l'exposition au DEHP. Les auteurs discutent cette discordance et indiquent de probables contaminations externes (Hauser et Calafat, 2005) dans les deux études utilisant des indicateurs sanguins. Par ailleurs, dans l'étude de Itoh *et al.* (2009), bien que les concentrations de MEHP urinaire aient été trouvées supérieures chez les sujets atteints d'endométriase comparés au groupe témoin, la différence n'était statistiquement pas significative.

L'association négative entre la concentration urinaire de MEHP et le risque de fibrome utérin a déjà été rapportée (Luisi *et al.* 2006) et elle est en accord avec des données expérimentales montrant que l'exposition au DEHP inhibe l'ovulation et diminue la production d'œstradiol et de progestérone.

Les résultats obtenus avec le MBP sont en accord avec l'étude de Reddy *et al.* (2006) pour le risque d'endométriase associé à l'exposition au DBP (Reddy *et al.*, 2006); alors que l'étude de Itoh *et al.* ne montre pas d'association entre la concentration urinaire de MBP et le risque d'endométriase (Itoh *et al.* 2009).

Ces deux études (Reddy *et al.*, 2006; Itoh *et al.*, 2009) n'ont pas observé d'association entre divers indicateurs de l'exposition au MBzP et le risque d'endométriase.

Commentaire

Utilisant les métabolites urinaires des phtalates, cette étude a mis en évidence une association entre l'exposition au phtalate de dibutyle (DBP) et l'atteinte d'endométriase et de léiomyome et l'absence de liens entre l'exposition au phtalate de benzyle et de butyle (BBP) et de phtalate de diéthyle (DEP⁽²⁰⁾) avec les deux maladies.

De la même manière, l'étude des concentrations des métabolites urinaires du DEHP a montré une association avec le fibrome et l'absence de lien avec l'atteinte d'endométriase. Les résultats de cette étude ne sont pas en accord avec ceux des études cas-témoin utilisant le dosage des concentrations sanguines de DEHP. Néanmoins, les données de la littérature incitent à privilégier l'utilisation des métabolites urinaires pour l'évaluation ou la surveillance biologique de l'exposition au DEHP plutôt que le dosage de la substance mère dans le sang qui peut être faussé par la contamination des échantillons par le matériel de prélèvement, de laboratoire ou par d'autres sources externes (Hauser et Calafat, 2005; Högberg *et al.*, 2008).

Comparée aux études antérieures, cette étude présente l'avantage d'inclure un nombre relativement important de sujets. Cependant, les antécédents médicaux ont été recueillis par questionnaire, sans vérification du diagnostic médical. En plus, les délais entre l'apparition des maladies chez les sujets étudiés et le jour où le prélèvement urinaire a été effectué peuvent aller jusqu'à 5 ans pour les cas de fibrome et 7 ans pour les atteintes d'endométriase. Or, les indicateurs biologiques dosés reflètent une exposition récente. Par conséquent, on ne peut écarter un possible biais dû à la variation des niveaux d'exposition.

Les biomarqueurs transcriptionnels de la stéroïdogenèse et de la différenciation trophoblastique dans le placenta par rapport à l'exposition aux phtalates

Adibi JJ, Whyatt RM, Hauser R, Bhat HK, Davis BJ, Calafat AM, Hoepner LA, Perera FP, Tang D, Williams PL. Transcriptional Biomarkers of Steroidogenesis and Trophoblast Differentiation in the Placenta in Relation to Prenatal Phthalate Exposure. *Environ Health Perspect.* 2010; 118: 291-296.

Analyse

Chez les rongeurs, les phtalates peuvent altérer la stéroïdogenèse et la transcription du « Peroxisome proliferator-activated receptor gamma » (PPAR- γ 21), régulateur principal de plusieurs

voies de la reproduction et du développement, comprenant la stéroïdogenèse, la différenciation, le captage et le transport des lipides, ainsi que les inflammations liées à la mise bas. Une étude américaine (Adibi *et al.*, 2010) a cherché à vérifier si de tels effets peuvent être observés chez l'homme.

Ainsi, une analyse quantitative, par PCR⁽²²⁾, de l'expression de sept gènes cibles (marqueurs de transcription de l'ARNm) a été réalisée sur des placentas récupérés à l'accouchement de 54 femmes dominicaines et afro-américaines vivant à New York. Les résultats ont été groupés par rapport à deux voies fonctionnelles : la stéroïdogenèse (aromatase - enzyme nécessaire à la conversion d'androgène en œstrogène -, cholestérol side chain cleavage enzyme, 17β-hydroxystéroïde deshydrogénase de type 1 et cytochrome p450 1B1) et la différenciation du trophoblaste (PPAR-γ, récepteur d'arylhydrocarbure et l'hormone gonadotrophine chorionique).

L'étude a mis en évidence un lien entre l'élévation des concentrations des métabolites des phtalates (MEHP, MEOHP, ΣDEHP⁽²³⁾, MNBP, MIBP et MBzP) dosés dans les échantillons urinaires prélevés au début du troisième trimestre de grossesse (concentrations ajustées sur la densité urinaire) et la diminution de l'expression des gènes cibles reflétant la différenciation du trophoblaste. L'association a été trouvée très significative ($p < 0,0001$ pour le MEOHP, $= 0,02$ pour le MEHP, le MBzP et le MIBP, $= 0,03$ pour la somme des métabolites du DEHP (MEHP + MEOHP) et $p = 0,05$ pour le MNBP). L'association est moins évidente entre les niveaux des métabolites et l'expression des gènes de la stéroïdogenèse, suggérant une relation dose-réponse non linéaire pour certains métabolites des phtalates.

Commentaire

L'étude offre une nouvelle approche utilisant les marqueurs transcriptionnels pour étudier l'effet des perturbateurs endocriniens sur les fonctions du placenta. Elle a mis en évidence une relation significative entre l'exposition aux phtalates et la différenciation trophoblastique. Cette voie paraît intéressante à explorer d'avantage en étudiant l'expression d'autres gènes, notamment ceux en relation avec la stéroïdogenèse. Ceci pourrait permettre la découverte de nouveaux biomarqueurs d'effet spécifiques pour l'évaluation des risques liés à l'exposition aux perturbateurs endocriniens.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Même si les directives européennes ont limité, voire interdit l'usage de certains phtalates pour la fabrication de certains produits de consommation (Directives 2004/93/EC; 2005/84/EC et 2007/19/EC), ces composés demeurent omniprésents dans notre environnement (tubes PVC, ustensiles de cuisine, gants...). Les effets reprotoxiques, notamment les perturbations endocriniennes chez les êtres humains, méritent d'être étudiées d'avantage. L'utilisation des métabolites urinaires des phtalates demeure très utile pour l'évaluation des niveaux d'exposition. Ce sont des indicateurs biologiques d'exposition plus fiables que les concentrations des molécules mères dans le sang qui posent le problème de la contamination des échantillons, difficilement maîtrisable. Dans les deux études présentées, le MEOHP semble être un indicateur biologique très sensible pour l'évaluation de l'exposition au DEHP.

Par ailleurs, la nouvelle approche utilisant les biomarqueurs transcriptionnels semble être intéressante. Dans le cas où sa sensibilité se trouverait vérifiée, elle ouvrirait la voie à une exploration plus poussée des effets sur le système endocrinien et pourrait aboutir à la découverte de nouveaux biomarqueurs d'effets précoces.

Lexique

- (1) DEHP: Di(2-ethylhexyl)phthalate ou Phtalate de bis(2-éthylhexyle).
- (2) DBP: Di-n-butylphthalate ou phtalate de dibutyle.
- (3) BBP: Benzyl Butyl Phthalate ou Phtalate de benzyle et de butyle.
- (4) DINP: Di-isononyl phthalate, ou Phtalate de diisononyle.
- (5) DIDP: Di-isodecyl phthalate ou Phtalate de diisodécyle.
- (6) DnOP: Di-n-octylphthalate ou Phtalate de dioctyle.
- (7) NHANES: National Health and Nutrition Examination Survey.
- (8) Endométriome: présence de cellules endométriales en dehors de la cavité utérine.
- (9) Léiomyome utérin: tumeur bénigne de tissu musculaire touchant l'utérus (Fibrome).
- (10) MEHP: mono-2-ethylhexyl phthalate ou Orthophthalate de mono(éthyl-2 hexyl), métabolite du Phtalate de bis(2-éthylhexyle), connu sous le nom de DEHP.
- (11) MBP: monobutyl phthalate ou Phtalate de monobutyle, métabolite du di-n-butylphthalate (DBP).
- (12) MEP: monoethyl phthalate, ou monoéthylphthalate, métabolite du Phtalate de diéthyle (DEP).

- (13) MBZP: monobenzyl phtalate ou Phtalate de monobenzyle, métabolite du phtalate de benzyle et de butyle.
- (14) MNBP: mono-n-butyl phtalate ou Phtalate de mono-n-butyle.
- (15) MIBP: mono-isobutyl phtalate ou Phtalate de mono-isobutyle.
- (16) MEHHP: mono-(2-ethyl-5-hydroxyhexyl) phtalate, métabolite du Phtalate de bis(2-éthylhexyle), connu sous le nom de DEHP.
- (17) MEOHP: mono-(2-ethyl-5-oxohexyl) phtalate, métabolite du Phtalate de bis(2-éthylhexyle), connu sous le nom de DEHP.
- (18) MECCP: mono(2-ethyl-5-carboxypentyl)phtalate, métabolite du Phtalate de bis(2-éthylhexyle), connu sous le nom de DEHP.
- (19) IC: intervalle de confiance.
- (20) DEP: diethyl phtalate ou Phtalate de diéthyle.
- (21) PPAR- γ : peroxisome proliferator-activated receptor gamma
- (22) PCR: polymerase chain reaction.
- (23) Σ DEHP: somme des métabolites du DEHP = MEHP+MEOHP +MEHHP+MECCP.

Revue de la littérature

Bonfeld-Jorgensen EC. Biomonitoring in Greenland: human biomarkers of exposure and effects – a short review. *Rural Remote Health.* 2010; 10: 1362.

Publications de référence

Cobellis L, Latini G, De Felice C et al. High plasma concentrations of di-(2-ethylhexyl)-phtalate in women with endometriosis. *Hum Reprod.* 2003; 18: 1512-1515.

Hauser R, Calafat AM. Phthalates and human health. *Occup Environ Med.* 2005; 62: 806-818.

Högberg J, Hanberg A, Berglund M et al. Phthalate diesters and their metabolites in human breast milk, blood or serum, and urine as biomarkers of exposure in vulnerable populations. *Environ Health Perspect.* 2008; 116: 334-339.

Itoh H, Iwasaki M, Hanaoka T et al. Urinary phthalate monoesters and endometriosis in infertile Japanese women. *Sci Total Environ.* 2009; 408: 37-42.

Luisi S, Latini G, de Felice C et al. Low serum concentrations of di-(2-ethylhexyl)phtalate in women with uterine fibromatosis. *Gynecol endocrinol.* 2006; 22: 92-95.

Reddy BS, Rozati R, Reddy BVR et al. Association of phthalate esters with endometriosis in Indian women. *Br J Obstet Gynaecol.* 2006; 113: 515-520.

Schettler T. Human exposure to phtalates *via* consumer products. *Int J Androl.* 2006; 29: 134-139.

Autres publications identifiées

Giordano F, Abballe A, De Felip E et al. Maternal Exposures to Endocrine Disrupting Chemicals and Hypospadias in Offspring. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2010; 88: 241-250.

Étude intéressante dans la mesure où elle met en évidence pour la première fois un lien entre l'exposition maternelle (concentrations élevées d'hexachlorobenzène plasmatique) et le développement de l'hypospadias chez la progéniture.

Just AC, Adibi JJ, Rundle AG et al. Urinary and air phthalate concentrations and self-reported use of personal care products among minority pregnant women in New York city. *J Expo Sci Environ Epidemiol.* 2010; 20: 625-633.

Étude de l'exposition de la population générale aux phtalates et des sources d'exposition possibles parmi les produits de consommation courante (déodorant, parfum, gels pour cheveux...) avec des prélèvements d'air et des prélèvements urinaires. Une bonne corrélation a été trouvée entre les concentrations des métabolites urinaires et les concentrations de phtalates dans l'air. Le parfum a été trouvé une source importante d'exposition au DEP.

Wolff MS, Teitelbaum SL, Pinney SM et al. Investigation of Relationships between Urinary Biomarkers of Phytoestrogens, Phthalates, and Phenols and Pubertal Stages in Girls. *Environ Health Perspect.* 2010; 118: 1039-1046.

Plusieurs études se sont intéressées aux effets des perturbateurs endocriniens chez les femmes enceintes ou allaitantes. Cette étude a concerné les effets des phtalates sur le déroulement de la puberté chez les jeunes filles. L'étude a mis en évidence une faible association entre les concentrations des métabolites urinaires des phtalates de faible poids moléculaire avec l'apparition de poils pubiens et le développement des seins.

Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Biomarker, Disruptor, Endocrine, Exposure, Human.