



RISQUES LIES AUX ALKYLPHENOLS

ARTICLES PARUS D'OCTOBRE 2012 A MARS 2013
DANS LA LITTÉRATURE SCIENTIFIQUE
(Source PubMed)

Réseau Environnement Santé
148 rue du Faubourg Saint-Denis
75010 PARIS

FAITS MARQUANTS

Sur des modèles animaux a été mise en évidence l'activité œstrogénique du nonylphénol, de même que l'augmentation du risque de prolifération cellulaire dans les cancers hormono-dépendants comme celui de l'ovaire (Park MA).

Mise en évidence de manière très significative de la baisse de fertilité masculine dite idiopathique liée aux AKP sur un grand nombre de sujets (800 sujets infertiles avec groupe témoin de la même dimension) (Chen.M)

ANALYSE GÉNÉRALE

A. ETUDES CHEZ L'HOMME

1. Etudes épidémiologiques

- Mise en évidence de la baisse de la fertilité (étude sur un grand nombre de sujets).

2. Etudes d'impact

- Étude sur un éventuel impact sur la thyroïde dans le cadre de l'hypothyroïdie congénitale.

B. ETUDES CHEZ L'ANIMAL

1. Etudes expérimentales in vivo

- Stimulation de la croissance de cellules cancéreuses ovariennes sous l'effet du 4-nonylphénol chez la souris.
- Étude in vivo de la puissance œstrogénique des AKP dans la bile du mulet (poisson mullus barbatus).

C. EXPOSITION ENVIRONNEMENTALE

- Contamination de l'environnement par les alkylphénols (eaux pluviales)
- Détection d'AKP dans les eaux minérales
- Imprégnation des eaux de mer, des sédiments et des moules par des alkylphénols, en aval d'un déversoir d'eaux usées dans la région de San Francisco.

D. IMPREGNATION ANIMALE - ECOSYSTEMES

1. Biomonitoring animal

- Imprégnation des eaux de mer, des sédiments et des moules par des alkylphénols, en aval d'un déversoir d'eaux usées dans la région de San Francisco.

2. Ecotoxicologie

- Utilisation des modifications génitales d'une espèce de poisson comme indicateur de l'exposition à des produits chimiques œstrogéniques dans les eaux d'une réserve naturelle.
- Observation de l'impact des perturbateurs endocriniens sur une espèce de poisson.

E. METHODES ANALYTIQUES - BIOTECHNOLOGIES

- Détermination simultanée de la présence de BPA, d'AKP et œstrogènes dans les fruits et les légumes par chromatographie gazeuse et spectrométrie de masse avec dilution isotopique.
- Nouvelle méthode d'analyse des AKP dans l'eau (solvant, ionisation, spectroscopie).
- Utilisation de la méthode POCIS pour isoler et quantifier les AKP dans les effluents d'une station d'épuration.
- Utilisation d'un biomarqueur pour identifier l'impact des substances œstrogéniques sur l'hypophyse du rat.
- Nouvelle méthode pour détecter les alkylphénols en utilisant comme support des mollusques bivalves.
- la toxicité des AKP (4-tert-octylphénol (OP) et 4-nonylphénol (NP)) sur la protéinémie (HSA sérum albumine humaine) est mise en évidence par une technique associant un modèle moléculaire.

E. REVUE GÉNÉRALE SUR LE BPA

- Perturbateurs endocriniens : lien entre troubles induits et mécanismes d'action.
- Stress oxydant et fertilité : fausse preuve et mauvaises réponses.

F. LISTE DES ETUDES NON ANALYSEES

ANALYSE DE CHAQUE ARTICLE

A. ETUDES CHEZ L'HOMME

1. Etudes épidémiologiques

➤ Troubles de la reproduction - Baisse de la fertilité

Chen M, Tang R, Fu G, Xu B, Zhu P, Qiao S, Chen X, Xu B, Qin Y, Lu C, Hang B, Xia Y, Wang X. **Association of exposure to phenols and idiopathic male infertility.** J Hazard Mater. 2013 Feb 4. [Epub ahead of print] China.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23435201>

En bref :

Cette étude a porté sur 877 hommes souffrant d'infertilité idiopathique (sans cause connue) avec un groupe témoin de 713 sujets. Les taux urinaires de 4-tert-octylphénol (4-t-OP), 4-n-octylphénol (4-n-OP) et de 4-n-nonylphénol (4-n-NP) ainsi que les caractéristiques du sperme ont été analysés. Après analyse multivariée, les auteurs ont mis en évidence que l'exposition aux 4-t-OP, 4-n-OP et au 4-n-NP était associée avec l'infertilité masculine idiopathique. ($p < 0.0001$, respectivement 0.014 et 0.001,). Les expositions au 4-t-OP et au 4-n-NP étaient aussi associées à l'infertilité mais avec, en plus dans ces cas précis, une modification des paramètres du sperme. Toutes les associations étaient significatives.

2. Etudes d'impact

➤ Troubles de la thyroïde - hypothyroïdie congénitale

Jung H, Hong Y, Lee D, Pang K, Kim Y. **The association between some endocrine disruptors in human plasma and the occurrence of congenital hypothyroidism.** Environ Toxicol Pharmacol. 2013 Mar. Epub 2013 Jan 10. Seoul, Republic of Korea.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23376177>

En bref :

Des perturbateurs endocriniens sont présentés comme pouvant être à l'origine d'une hypothyroïdie congénitale. Les auteurs de l'article ont étudié ces alkylphénols sous l'angle de leur passage de la mère à son fœtus. Les concentrations en t-OP dans le groupe d'enfants hypothyroïdiens étaient significativement plus élevées que chez les enfants normaux. Toutefois, la comparaison des taux sanguins de ces composés chez les enfants et chez les mères a mis en évidence une faible corrélation en faveur d'un passage du t-OP de la mère à l'enfant.

3. Etudes in vitro

➤ Interactions moléculaires

Xie X, Lü W, Chen X. **Binding of the endocrine disruptors 4-tert-octylphenol and 4-nonylphenol to human serum albumin.** J Hazard Mater. 2013 Mar 15;2013.01.036. Epub 2013 Jan 26. *China*.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23416871>

En bref :

Cette étude a pour objectif d'évaluer la toxicité des AKP (4-tert-octylphénol (OP) et 4-nonylphénol (NP)) sur la protéinémie (HSA sérum albumine humaine) ; ces effets toxiques sont mis en évidence par une technique associant un modèle moléculaire, la spectroscopie avec dichroïsme circulaire, la fluorescence à l'état stable et la spectroscopie aux UV. Les résultats mettent en évidence les forces hydrophobiques et les liaisons hydrogénées sous l'effet de l'action des AKP sur la sérum albumine. Les altérations de la structure de la protéine touchent essentiellement la demi-vie du tryptophane issu de la sérum albumine, avec une action plus délétère des NP par rapport aux OP.

B. ETUDES CHEZ L'ANIMAL

1. Etudes expérimentales in vivo

a) SOURIS

➤ Cancer - prolifération cellulaire

Park MA, Choi KC. **194 a potential endocrine-disrupting chemical, 4-nonylphénol, stimulated the ovarian cancer cell growth by upregulating cell cycle via an estrogen receptor signaling pathway in cellular and animals models.** Reprod Fertil Dev. 2012 Dec. *Corée*
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23245028>

En bref :

Il s'agit d'une expérience sur des souris, sur lesquelles ont été transplantées des cellules cancéreuses BG-1. Les cellules ovariennes cancéreuses BG-1 exposées au nonylphénol sont l'objet d'un accroissement de leur prolifération préexistante comme cela se produit sous l'effet du 17 B oestradiol (E2). De plus, le nonylphénol régule à la hausse le niveau d'expression des gènes régulant le cycle cellulaire (par exemple la cycline D1 qui, en aval, est une cible des récepteurs œstrogéniques et dont la sur-expression permet l'entrée de la cellule dans le cycle cellulaire et donc la prolifération cellulaire).

b) POISSON

➤ Régulations endocrines

Martínez-Gómez C, Lamoree M, Hamers T, van Velzen M, Kamstra JH, Fernández B, Benedicto J, León VM, Vethaak AD. **Integrated chemical and biological analysis to explain estrogenic potency in bile extracts of red mullet (*Mullus barbatus*).** Aquat Toxicol. 2013 Mar 13. [Epub ahead of print] *Spain*.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23537582>

En bref :

Pour mesurer l'exposition aux oestrogènes du mullet barbatus mâle, les auteurs ont élaboré une technique visant à isoler dans sa bile des composants à l'aide d'un test utilisant in vitro le gène rapporteur ER-LUC

(œstrogène récepteur-luciférase). Ainsi, les alkylphénols (4-n-nonylphénol (4-n-NP) et 4-tertoctylphénol (4-tert-OP)) furent identifiés et mesurés. La participation relative des 4-n-NP et 4-tert-OP à la puissance de l'œstrogénicité est apparue négligeable, laissant imaginer un rôle plus important dont seraient responsables d'autres composés. Cette puissance œstrogénique est particulièrement élevée dans le lagon de la Mar Menor ($234.8 \pm 5.7 \text{ pgE2EQ}/\mu\text{l}$); d'autres recherches seront nécessaires pour expliquer cette présence d'hormones naturelles ou synthétiques dans cet endroit. Une valeur approximative de $15\text{-}16 \text{ E2EQpg}/\text{mg}$ peut être considérée comme la référence en matière d'œstrogénicité dans la bile de mulet.

C. EXPOSITION ENVIRONNEMENTALE

1. Contamination de l'eau

➤ Eaux pluviales

Kalmykova Y, Björklund K, Strömvall AM, Blom L. **Partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons, alkylphenols, BPA and phthalates in landfill leachates and stormwater.** Water Res. 20121 Dec 20. (Epub ahead of print) Suède

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23295068>

Les auteurs ont réalisé une étude sur la destinée et la répartition des AKP issus des lixiviats de décharge et des eaux pluviales. La concentration des AKP dans les eaux pluviales urbaines était plus basse que dans les lixiviats et dans les eaux pluviales issues des sites de déchets. Il n'y avait pas de différence significative de concentration pour les AKP entre les phases partiellement ou totalement dissoutes et les phases colloïdales, par opposition à ce qui se passait pour 3 hydrocarbures aromatiques polycycliques.

Les résultats indiquent que les polluants organiques des lixiviats et des eaux pluviales sont de façon prédominante sous forme colloïdale ou dissoute, se démarquant ainsi de ce qui était attendu, du fait de leur forte adhésion aux particules de matière.

➤ Eaux minérales

Dévier MH, Le Mnach K, Viglino L, Lachassagne P, Budzinski H. **Ultra-trace analysis of hormones, pharmaceutical substances, alkylphenols and phthalates in two French natural mineral waters.** Sci Total Environ. 2012 Dec 6; 443C:621-632. Doi:10.1016/j.scitotenv.2012.10.015 (Epub ahead of print) France

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23220754>

En bref :

Les auteurs ont analysé des échantillons d'eau de Volvic et d'Evian : aucun des 120 composés organiques ciblés n'a été détecté. Par contre, des traces de kétoprofène, d'acide salicylique et de caféine, mais aussi de 3 alkylphénols (4-nonyl, 4-t-octyl, 4-nonylphénol diéthoxylate) et quelques phthalates ont été détectées dans les échantillons. Pour ces derniers, ils étaient aussi présents dans les mesures de procédure à un niveau identique, et les tests ont montré l'origine environnementale de la contamination (liée au laboratoire et non à l'usine d'embouteillage, le DEHP ne provenant pas des bouteilles). Toutes ces mesures permettent de situer les analyses de traces à un niveau de l'ordre du ng/L.

➤ Eaux d'estuaire urbain

Klosterhaus SL, Grace R, Hamilton MC, Yee D. **Method validation and reconnaissance of pharmaceuticals, personal care products, and alkylphenols in surface waters, sediments, and mussels in an urban estuary.** Environ Int. 2013 Apr. Epub 2013 Feb 17. USA.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23527629>

En bref :

Du nonylphénol a été détecté dans l'eau (<2-73ng/L), dans les sédiments (22-86ng/g de poids sec), dans les moules (<0.04-95ng/g de poids frais), et du mono nonylphénol et des diethoxylates ont été détectés dans les sédiments (<1-40ng/g de poids sec) dans les moules (<5-192ng/g de poids frais). Les concentrations de ces AKP détectées sont en général inférieures à celles observées pour entraîner des effets toxiques sur les organismes aquatiques.

D. IMPREGNATION ANIMALE - ECOSYSTEMES

1) Biomonitoring animal

➤ **Moules**

Klosterhaus SL, Grace R, Hamilton MC, Yee D. **Method validation and reconnaissance of pharmaceuticals, personal care products, and alkylphenols in surface waters, sediments, and mussels in an urban estuary.** Environ Int. 2013 Apr. Epub 2013 Feb 17. USA.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23527629>

En bref :

Du nonylphénol a été détecté dans l'eau (<2-73ng/L), dans les sédiments (22-86ng/g de poids sec), dans les moules (<0.04-95ng/g de poids frais), et du mono nonylphénol et des diethoxylates ont été détectés dans les sédiments (<1-40ng/g de poids sec) dans les moules (<5-192ng/g de poids frais). Les concentrations de ces AKP détectées sont en général inférieures à celles observées pour entraîner des effets toxiques sur les organismes aquatiques.

2) Ecotoxicologie

➤ **Poisson - reproduction**

Kruger T, Barnhoorn I, Jansen van Vuren J, Bornman R. **The use of the urogenital papillae of male feral African sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*) as indicator of exposure to estrogenic chemicals in two polluted dams in an urban nature reserve, Gauteng, South Africa** Ecotoxicol Environ Saf. 2013 Jan ; 87 : 98-107. Epub 2012 Nov 3

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23127382>

En bref :

Étude des malformations urogénitales visibles chez un poisson-chat vivant dans des eaux douces pour déterminer l'exposition à des œstrogènes chimiques ; les auteurs ont comparé d'une part les données de leurs observations externes (index gonadosomatique, longueur de l'organe sexuel) et d'autre part les données issues de la bio-accumulation de nonylphénol dans la graisse mésentérique ainsi que l'aspect macroscopique des gonades. L'index gonado-somatique indique que les poissons avec des gonades interséxuées sont

vraisemblablement des mâles féminisés. Cette incertitude impose le recours à l'étude microscopique des gonades qui, seule, permet d'affirmer l'exposition aux perturbateurs endocriniens.

Puy-Azurmendi E, Ortiz-Zarragoitia M, Villagrasa M, Kuster M, Aragon P, Atinza J, Puchades R, Maquiera A, Dominguez C, Lopezde Alda M, Fernandes D, Porte C, Byona JM, Barcelo D, Cajaraville MP. **Endocrine disruption in thicklip grey mullet (chelonlabrosus) from the Urdaibai Biosphere Reserve (Bay of Biscay, Southwestern Europe)**Sci Total Environ.2012 Nov 26 (Epub ahead of print) Spain
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23195039>

En bref :

L'étude a consisté en une recherche de perturbateurs endocriniens dans les sédiments dans deux zones différentes du golfe de Gascogne (une réserve naturelle et une non-réserve).

Dans les sédiments les œstrogènes ont été retrouvés en dessous du seuil limite, par ailleurs, des taux modérés d'AKP ont été retrouvés dans les sédiments. Par contre, on a retrouvé presque exclusivement dans la zone dite « réserve de la Biosphère », et par opposition à l'autre zone, chez 33 % des poissons de l'espèce « mullet gris » des gonades intersexuées. De même, dans ce lot de poissons, on a retrouvé des taux plus élevés d'APK dans la bile. De la vitellogénine a été retrouvée non seulement chez les femelles mais aussi chez les mâles indifférenciés.

E. METHODES ANALYTIQUES - BIOTECHNOLOGIES

1) Méthodes Physicochimiques

Lu J, Wu J, Stoffella PJ, Chris Wilson P.

Isotope dilution-gas chromatography/mass spectrometry method for the analysis of alkylphenols, BPA, and oestrogens in food crops. J Chromatograph A .2012 Oct. Epub2012 Aug 17.USA

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22947482>

En bref :

Les auteurs décrivent une technique associant la chromatographie gazeuse, la spectrométrie de masse et la dilution isotopique pour déterminer simultanément la présence de BPA, d'AKP et œstrogènes dans les fruits et les légumes ; ainsi du BPA, des nonylphénols et des oestrogènes naturels furent détectés dans les échantillons de fruits et légumes provenant de marchés locaux.

Salgueiro-González N, Turnes-Carou I, Muniategui-Lorenzo S, López-Mahía P, Prada-Rodríguez D. **Membrane assisted solvent extraction coupled with liquid chromatography tandem mass spectrometry applied to the analysis of alkylphenols in water samples.** J Chromatogr A. 2013 Mar 15. Epub 2013 Jan 23. Espagne
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23394746>

En bref :

Les auteurs décrivent une nouvelle méthode analytique pour identifier et doser les AKP dans les différentes eaux. Cette technique s'appuie sur l'extraction par un solvant à partir d'un échantillon d'eau de seulement 15ml avec 500 ml d'hexane, extraction associée à une chromatographie en phase liquide, une ionisation, et une spectrométrie de masse en mode négatif (LC-ESI-MS/MS). Les analyses permettent d'évaluer la présence

de nonylphénol dans l'eau de mer.(0.13 µg L(-1)) et dans les échantillons d'eaux superficielles (0.12-0.19 µg L(-1)). La concentration la plus forte pour les eaux de boisson s'élevait à 0.25 µg L(-1).

allejo A, Prieto A, Moeder M, Usobiaga A, Zuloaga O, Etxebarria N, Paschke A. **Calibration and field test of the Polar Organic Chemical Integrative Samplers for the determination of 15 endocrine disrupting compounds in wastewater and river water with special focus on performance reference compounds (PRC).** V Water Res. 2013 Mar 5.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23517875> ad of print] Espagne

En bref :

Utilisation de la méthode POCIS (Polar Organic Chemical Integrative Samplers) pour analyser 15 perturbateurs endocriniens dont 4 AKP et des hormones stéroïdiennes dans les effluents de station d'épuration faisant appel à un traitement par les plantes. La technique du POCIS repose sur un échantillonneur prenant en compte l'intégration dans le temps et s'applique aux molécules hydrophiles présentes dans l'eau. Dans le cas présent, les concentrations retrouvées ne dépassent jamais le ng/L sauf pour le BPA.

1) Biotechnologie

Vo TT, An BS, Yang H, Jung EM, Hwang I, Jeung EB. **Calbindin-D9k as a sensitive molecular biomarker for evaluating the synergistic impact of estrogenic chemicals on GH3 rat pituitary cells.** Int J Mol Med . 2012 Nov. Epub 2012 Sep 6. Corée

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22961055>

En bref :

Les auteurs décrivent une technique d'évaluation de l'activité œstrogénique des AKP au regard des effets cocktails de plusieurs substances (BPA, parabens, 4-tert octylphenol et 4-nonylphenol), sur des cellules hypophysaires de rat. Cette activité œstrogénique est mesurée à travers l'expression d'un gène marqueur œstrogénique (le calbindin-D9k ou CaBP-9k) et du gène récepteur de la progestérone. On observe une élévation du CaBP-9k et de l'ARNm du récepteur à la progestérone. Cette technique peut servir in vitro à mesurer les effets cocktails.

Salgueiro-Gonzalkes N, Turnes-Carou I, Muniategui-Lorenzo S, Lopez-Mahia P, Prada-Rodriguez D. **Fast and selective pressurized liquid extraction with simultaneous in cell clean up for the analysis of alkylphenols and bisphenol A in bivalve molluscs.** J Chromatogr A. 2012 Nov 14 (Epub aheadof print) Espagne

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23218190>

En bref :

Les auteurs décrivent une nouvelle méthode pour détecter les alkylphénols en utilisant comme support des mollusques bivalves et comme technique une extraction sélective d'un liquide sous pression, couplée avec une spectrométrie de masse en mode négatif et une chromatographie liquide avec ionisation.

Les avantages de cette méthode sont la sensibilité, la spécificité, l'automatisme. Elle a été utilisée sur des échantillons de moules dans lesquelles des nonylphénol et 4-tert-octylphenol ont été retrouvés à des niveaux suggérant l'absence de risques pour la santé humaine.

F. REVUES GENERALES

➤ Mécanismes d'action des PE

De Coster S, van Larebeke N. **Endocrine-disrupting chemicals: associated disorders and mechanisms of action.** J Environ Public Health. 2012. Epub 2012 Sep 6 *Belgique*
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22991565>

En bref :

Vue d'ensemble des mécanismes d'action des perturbateurs endocriniens_au niveau des récepteurs nucléaires, des récepteurs membranaires aux œstrogènes, en relation avec des éléments du cytosol, au niveau du métabolisme des hormones, mécanismes aussi liés à l'interférence avec les mécanismes de feed back dans les cellules neuro-endocriniennes, et en dernier lieu mécanismes de nature épigénétique (méthylation de l'ADN ou modification des histones).

➤ Troubles de la reproduction - stress oxydatif

Ménézo Y, Entezami F, Lichtblau I, Cohen M, Belloc S, Brack M. **Oxidative stress and fertility: False evidence and bad recipes.** Gynecol Obstet Fertil 2012 Dec. Epub 2012 Nov 21. France
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23177978>

En bref :

Une grande proportion de pesticides, PCB, BPA, phtalates et autres alkylphénols augmentent le stress oxydant, ce qui aboutit in fine à une baisse de la fertilité. De son côté, le stress oxydant est à l'origine de certaines maladies chroniques comme l'endométriose. Si l'ovocyte peut réparer les lésions de l'ADN occasionnées par ce stress (telles que la fragmentation et l'oxydation des bases de l'ADN), sa capacité de réparation diminue avec l'âge. Aussi la prescription d'anti-oxydants_est-elle proposée pour en limiter les dégâts. L'article met en avant des arguments pour arrêter/ou mieux administrer ce type de traitement, en particulier quand il est donné au hasard à une population en âge de se reproduire, et met en garde contre les risques de surdosage, ce qui impose une prescription précise et particulièrement adaptée.

LISTE DES ETUDES NON ANALYSEES

➤ Revue générale - reproduction humaine.

Knez J. Endocrine-disrupting chemicals and male reproductive health. *Reprod Biomed Online*. 2013 Feb 18.2013.02.005. [Epub ahead of print] *r, Slovenia*.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23510680>

➤ Méthodes analytiques - biotechnologies

Toyama T, Kainuma Y, Kikuchi S, Mori K. Biodegradation of BPA and 4-alkylphenols by *Novosphingobium* sp. Strain TYA-1 and its potential for treatment of polluted water. *Water Sci Technol*. 2012 Japon
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22949252>

Zhou GJ, Peng FQ, Yang B, Ying GG. Cellular responses and bioremoval of nonylphénol and octylphénol in the fresh water green microalga *Scenedesmusobliquus*. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2013 Jan. Epub 2012 Oct 30. *Chine*
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pumed/23116624>