

## 17

## Perturbations endocriniennes : nouveaux gènes cibles

Les hydrocarbures halogénés, polyaromatiques, les biphényles polychlorés (PCB), les polychlorodibenzodioxines dont la 2,3,7,8 tétrachlorodibenzo-*p*-dioxine (TCDD) et tous les composés industriels ou polluants qui lient le récepteur des arylhydrocarbures (AhR, également connu sous le nom de récepteur de la dioxine) sont des toxiques environnementaux (Okey et coll., 1994). Ils seront désignés ici par le terme de ligands AhR. Ils ont récemment reçu beaucoup d'attention du fait de leur résistance à la dégradation et de leur longue demi-vie (4 à 12 ans) dans les graisses du corps humain. Le benzo[a]pyrene (BaP) et les hydrocarbures polyaromatiques sont présents dans la fumée de cigarette, certaines émanations industrielles et les gaz d'échappement. Ces ligands AhR sont potentiellement plus importants que la 2,3,7,8 tétrachlorodibenzo-*p*-dioxine (TCDD) en termes d'exposition des populations, mais leur affinité pour le récepteur est inférieure. Cependant, aucun de ces ligands AhR ne peut être considéré comme physiologique, et le ligand naturel du récepteur AhR reste inconnu.

Le concept de la perturbation endocrine consiste en l'exposition à des molécules capables d'imiter ou de bloquer les hormones naturelles pendant des étapes cruciales de la vie *in utero* et du développement. Cela peut conduire à des troubles de la physiologie hormonale. Les expériences de laboratoire sur les animaux et un certain nombre d'études épidémiologiques ont validé ce modèle. Les questions qui se posent réellement sont : « Quel est l'impact réel de la perturbation endocrine sur la population humaine ? Doit-on rechercher des signes aigus ou des signes chroniques ? Peut-on agir et/ou traiter préventivement ? »

Waller et coll. (1996) décrivent bien la multitude de molécules disparates qui peuvent intervenir dans la perturbation endocrine. Rien qu'en considérant le récepteur AhR, qui n'est qu'un élément du problème, on compte environ 250 ligands dont 75 dioxines. Colborn et coll. (1993) ont récemment colligé de nombreuses études sur les perturbations endocrines et développementales de la faune qui pourraient être associées aux ligands AhR mais aussi aux pesticides organochlorés.

La pénétration dans l'organisme des dioxines est essentiellement intestinale, le passage des barrières physiologiques placentaire et hémato-méningée ayant

fait comparativement l'objet de moins d'études. Funseth et Ilback (1994) notent que les infections à coxsackie virus qui lèsent la barrière hémato-méningée augmentent la pénétration des dioxines dans le cerveau. Bachour et coll. (1998) rapportent que le cerveau capte proportionnellement moins de dioxines que les autres organes en dépit de sa composition riche en lipides, suggérant que la barrière hémato-méningée intacte s'oppose au passage des dioxines.

Le placenta contient des récepteurs AhR (Manchester et coll., 1987). Un passage important des dioxines et PCB à travers le placenta a été montré aussi bien chez le singe marmouset (Hagenmeier et coll., 1990) que chez les rongeurs (Nau et Bass, 1981).

## **Perturbations des hormones gonadotropes**

Avant même tout effet antagoniste direct, les dioxines perturbent la sphère endocrine en perturbant la stéroïdogénèse. Cela se produit tout au début, au niveau de la distribution du cholestérol. La dioxine s'oppose à l'induction de la synthèse du cortisol par l'hormone corticotrope (ACTH) en bloquant l'afflux de cholestérol vers les mitochondries, ce qui fait baisser l'activité du cytochrome CYP 450 (DiBartolomeis et coll., 1986). Chez le rat, un certain nombre d'enzymes de la synthèse des androgènes testiculaires diminuent (en activité) sous l'influence de la 2,3,7,8-TCDD (Cooke et coll., 1998).

### **Effets sur la spermatogénèse**

Une littérature très volumineuse fait état de nombreux effets pathogènes des dioxines et des PCB sur le tractus génital mâle, essentiellement chez le rat. Il est admis par la plupart des auteurs que les dioxines et les PCB exercent des effets négatifs sur l'ensemble de l'axe hypothalamo-hypophyso-testiculaire et jusqu'à la stéroïdogénèse leydigienne. Ces études se contentent le plus souvent de techniques descriptives portant sur l'induction de CYP1A1 (l'enzyme d'hydrolyse des arylhydrocarbures), l'histomorphologie, la spermatogénèse et/ou la mesure des taux d'hormones circulantes mais ne proposent pas de mécanisme (Mably et coll., 1992 ; Johnson et coll., 1994 ; Cooke et coll., 1998 ; Roman et Peterson, 1998 ; Roman et coll., 1998a ; Roman et coll., 1998b).

Carlsen et coll. (1999) ont repris 61 études de spermatogrammes humains publiées entre 1938 et 1991. L'analyse mathématique de ces données montre une diminution régulière du nombre de spermatozoïdes (de  $113 \cdot 10^6$  à  $66 \cdot 10^6$ /ml) et de la production de sperme pendant cette période. Ces résultats font l'objet d'une controverse car ils diffèrent en fonction des paramètres retenus pour l'analyse, certaines études qui font intervenir des paramètres démographiques et géographiques n'observent aucune diminution (Saidi et

coll., 1999). Il en est de même pour l'incidence croissante de l'hypospadias et de la cryptorchidie chez les enfants, qui fluctue considérablement. Pour Henriksen et coll. (1997), l'examen des anciens combattants du Viêt Nam ne décèle aucune anomalie des taux circulants de testostérone et de gonadotrophines tandis que d'autres études portant sur des cohortes d'ouvriers exposés confirment les effets des dioxines sur l'axe hypophyso-testiculaire observés chez le rat (Egeland et coll., 1994).

S'il est permis au vu de ces résultats de proposer un impact général des molécules xénoœstrogènes, antiandrogènes (dichlorodiphényldichloroéthylène ou DDE) et des autres perturbateurs, dont les ligands AhR, sur la reproduction masculine, la situation est plus difficile à cerner dans le cas des dioxines qui se présentent comme des inhibiteurs de toutes les hormones stéroïdes, et particulièrement des œstrogènes et androgènes.

### Effets sur l'hormone lutéinisante (LH)

L'essentiel des travaux se compose d'études des effets de la 2,3,7,8-TCDD sur les cellules de la granulosa humaine en culture et d'études *in vivo* sur le rat. Les études sur cellules de granulosa concernent la stéroïdogénèse, la voie des enzymes MAP kinases, la protéine kinase A, la prolifération cellulaire et le transport du glucose. Toutes ces voies sont inhibées par la 2,3,7,8-TCDD qui se présente comme un inhibiteur pléiotropique de la prolifération de ces cellules (Enan et coll., 1996a et b). Un effet proapoptotique a aussi été rapporté (Heimler et coll., 1998).

Il a été montré que la 2,3,7,8-TCDD bloque l'ovulation chez le rat : après stimulation avec des hormones gonadotropes provenant de juments gravides (PMSG), les ovules restent trappés dans les follicules qui ne s'ouvrent pas, et un grand nombre de follicules sont manquants (Gao et coll., 1999). La 2,3,7,8-TCDD diminue la sensibilité de la LH aux mécanismes de feed-back (Mably et coll., 1992) et paradoxalement augmente la LH et la FSH circulantes (Li et coll., 1997), ou ne les augmente pas (Chaffin et coll., 1997).

Sachant que l'interleukine 1-bêta apparaît très nettement impliquée dans l'ovulation (Adashi, 1998) et que cette cytokine est régulée efficacement par la dioxine, il serait intéressant d'étudier les effets de la 2,3,7,8-TCDD sur l'axe hypophyso-ovarien par ce biais. L'interleukine 1-bêta agit en synergie avec la LH pour l'ouverture du follicule : les observations de Gao et coll. (1999) soutiennent fortement l'intérêt d'une telle approche. Aucune étude n'a été faite dans ce sens.

### Effets sur les œstrogènes

Aucune étude sérieuse ne corrèle l'exposition aux dioxines et PCB au cancer du sein, au contraire, ceux-ci apparaissent moins nombreux dans la zone de Seveso que dans le reste de l'Italie (Bertazzi et coll., 1998). Ceci n'est pas

surprenant dans la mesure où les dioxines sont essentiellement des antioestrogènes (Safe, 1995). Il convient de dissocier les effets antioestrogènes par interférence entre les récepteurs et les effets dus aux sites de fixation (iDREs) des récepteurs sur certains gènes. La plupart de ces travaux ont été exécutés par le groupe de Safe dans la lignée de cancer du sein humain MCF-7. Dans les effets directs, on trouve la répression de la transcription du récepteur de la prolactine (Lu et coll., 1996) et de la progestérone (Harper et coll., 1994) ; la répression de l'expression de la cathepsine D par inhibition de l'interaction récepteur des œstrogènes (ER)/facteur de transcription Sp1 (Krishnan et coll., 1995) et la répression de l'activateur tissulaire du plasminogène (Gierthy et coll., 1987). Dans ce dernier cas, l'effet est spécifique à la 2,3,7,8-TCDD et n'est pas reproduit par les PCB ni par les dibenzofuranes.

Dans les effets liés aux iDRE on trouve l'inhibition de l'induction de pS2 (Gillesby et coll., 1997) et de *c-fos* par l'œstradiol (Astroff et coll., 1991 ; Safe et coll., 1998).

En outre, la 2,3,7,8-TCDD diminue la quantité de ER dans les cellules MCF-7, mais ce n'est pas un effet transcriptionnel (Gierthy et coll., 1996).

### Effets sur les progestagènes

Rier et coll. (1993) rapportent qu'un traitement par la 2,3,7,8-TCDD à long terme (4 ans) a produit une endométriose massive chez plus de la moitié des macaques. Ceci fut observé 10 ans après l'arrêt du traitement lors du sacrifice des animaux. Ce même effet est observé chez le rat et la souris (Cummings et Metcalf, 1995). Dans l'espèce humaine, seules les études de Koninkcx et coll. (1994) et de Mayani et coll. (1997) suggèrent un impact de polluants tels que les dioxines sur l'endométriose mais d'autres études sont en cours. Cependant, Ahlborg et coll. (1995) récusent tout lien entre 2,3,7,8-TCDD et endométriose humaine. Par ailleurs, l'étude de Matorras et coll. (1995) révèle une corrélation négative entre le tabac et l'endométriose dans une cohorte espagnole, qui semble liée aux effets antioestrogéniques. Le même effet négatif a été observé chez des souris traitées conjointement par la 2,3,7,8-TCDD et l'œstradiol (Yang et Foster, 1997).

Sur le plan expérimental, Kuil et coll. (1998) rapportent que les effets transcriptionnels de la 2,3,7,8-TCDD sont inhibés par la progestérone, mais sans réciproque. Toutefois, un travail récent sur l'expression des métallo-protéases matricielles dans un modèle expérimental d'endométriose humaine confirme l'existence d'un effet antiprogestérone de la 2,3,7,8-TCDD (Bruner-Tran et coll., 1999).

## Perturbations des systèmes neuroendocriniens

Quelques études font état, chez le rat, d'une induction du métabolisme de la sérotonine par la 2,3,7,8-TCDD, sans montrer de signe clinique particulier (Unkila et coll., 1994). Il en est de même pour la mélatonine (Linden et coll., 1991). L'intérêt de ces travaux réside dans l'exploration des liens mal connus entre le syndrome de mort subite du nouveau-né, la mélatonine et le tabac (Maurizi, 1997) ainsi que dans le rôle anti-oxydant de la mélatonine (Reiter et coll., 1997).

La dioxine pénètre dans le cerveau et y induit CYP1A1, l'enzyme d'hydrolyse des arylhydrocarbures. Des études de biodisponibilité montrent que le cerveau ne reçoit qu'une faible part de la charge corporelle en ligands du récepteur AhR (Bachour et coll., 1998). Cela peut être dû à l'efficacité de la barrière hémato-méningée. Or celle-ci est très détériorée par l'accumulation des dépôts amyloïdes lors de la maladie d'Alzheimer conduisant à une perméabilité accrue qui pourrait augmenter la pénétration des ligands AhR et aggraver la maladie.

Les radicaux libres et les phénomènes inflammatoires sont en effet considérés comme essentiels dans le développement des neuropathies dégénératives amyloïdes (maladie d'Alzheimer). Un travail récemment effectué avec le resveratrol a montré que l'activation des mécanismes inflammatoires se fait par l'interleukine-1bêta (IL-1bêta) et par la production accrue de radicaux libres (ROS) sous l'influence des ligands du récepteur AhR. La dioxine induit l'interleukine-1bêta et le facteur de croissance tumorale TGF-bêta2 au niveau transcriptionnel (TC) et/ou post-transcriptionnel (post-TC).

Le récepteur AhR module l'interaction du facteur de transcription NF-kappaB avec l'ADN en jouant sur son mécanisme d'activation (Gollapudi et coll., 1996) ou en interagissant directement (Tian et coll., 1999). Sans rentrer dans la controverse sur le rôle bénéfique ou aggravant de NF-KappaB dans les maladies neurodégénératives, il est clair que ce mécanisme soulève la question des ligands AhR dans les maladies neurovégétatives. La littérature actuelle ne contient aucun travail dans ce sens.

## Autres systèmes hormonaux perturbés

Le récepteur AhR interagit avec le facteur de transcription Sp1 (Wang et coll., 1998), le corépresseur SMRT (*silencing mediator of retinoic acid and thyroid hormone receptor*) (Nguyen et coll., 1999) et le système intégrateur cAMP Responsive Element Binding Protein (CREBP)/P300 (Kobayashi et coll., 1997). Ces facteurs étant des composés ubiquitaires et généraux de la régulation des gènes, il est évident que le récepteur AhR est susceptible de perturber un grand nombre de régulations lorsqu'il est activé par les ligands issus de la pollution industrielle.

Le récepteur AhR partage son translocateur nucléaire avec HIF-1 (hypoxia inducible factor) alpha, la protéine de réponse à l'hypoxie. Dans ce dernier cas, HIF-1 alpha peut séquestrer l'ARNT (*AhR nuclear translocator*) au détriment du récepteur AhR mais pas l'inverse. Il semble donc peu probable que les ligands AhR puissent perturber la réponse à l'hypoxie.

Les ligands du récepteur AhR sont connus pour stimuler la réplication des virus. Notamment, les ligands du récepteur AhR activent l'expression du VIH-1 directement par interaction avec un site de liaison à l'ADN spécifique (DRE ou *Dioxin responsive element*) présent dans la séquence du VIH-1 ainsi que par l'activation du facteur NF-kappaB (Yao et coll., 1995 ; Gollapudi et coll., 1996).

### **Effets sur l'ostéoporose**

De nombreuses données épidémiologiques montrent que le tabagisme est un facteur de risque de l'ostéoporose chez l'homme comme chez la femme (Francheschi et coll., 1996 ; Kiel et coll., 1996). Ceci est confirmé par la relation proportionnelle quantitative qui existe entre le tabagisme et la diminution de la densité osseuse (Hopper et Seeman, 1994 ; Egger et coll., 1996 ; Grisso et coll., 1997) et par la corrélation entre le tabagisme et le risque de fractures (Johansson et Mellstrom, 1996 ; Grisso et coll., 1997). Cependant, la relation entre le tabagisme et l'ostéoporose n'est pas explicitée. L'hypothèse admise est que les ligands AhR présents dans le tabac pourraient exercer un effet négatif sur l'os de trois façons : un effet anticérogénique ; un effet toxique sur l'os puisque le tissu osseux contient des récepteurs AhR (Abbott, 1995) ; un effet toxique sur la fonction ovarienne car les femmes qui fument font une ménopause plus précoce de 1 à 4 ans que celles ne fumant pas. Des expériences sur des souris démontrent un effet toxique direct du benzo[a]pyrène et des autres ligands du récepteur AhR sur les oocytes (Miller et coll., 1992).

### **Effets sur le système immunitaire**

Le système immunitaire est capable de reconnaître les cellules malignes comme des hôtes étrangers à l'organisme et de les attaquer. Par ailleurs, l'augmentation des cancers chez les patients immunodéprimés fait l'objet d'une vaste littérature. Ces faits suggèrent l'importance du système immunitaire dans la protection de l'organisme contre la tumorigenèse. Les ligands du récepteur AhR comme la dioxine sont de puissants immunosuppresseurs (Kerkvliet, 1995) et sont tumorigènes chez les rongeurs. À la suite de l'immunosuppression par les ligands du récepteur AhR, on observe une diminution de la résistance aux agents infectieux (Burlison et coll., 1996). Les ligands du récepteur AhR peuvent induire l'immunosuppression par de nombreux mécanismes : inhibition de la maturation des thymocytes fœtaux (Blaylock et coll., 1992), involution thymique (De Heer et coll., 1994) altération des lymphocytes ou diminution de leur viabilité (Yoo et coll., 1997) suppression de

l'activité des cellules T et B (Karras et Holsapple, 1994 ; Masten and Shiverick, 1996 ; Gehrs et coll., 1997), suppression de l'activité des cellules « tueuses » (Yang et coll., 1994), apoptose des cellules immunocompétentes (Kamath et coll., 1997), modulation de l'expression des cytokines (Yin et coll., 1994 ; Fan et coll., 1997) et/ou modification de la transcription de gènes cibles spécifiques du système immunitaire comme CD19 (Fan et coll., 1997), ou la cytokine TC-1 (Kerkvliet et coll., 1996). Le rôle des ligands AhR dans l'immunosuppression est soutenu par la présence du récepteur AhR, de ARNT ainsi que du gène inductible CYP1A1/AHH dans les lymphocytes (Masten and Shiverick, 1996).

### Effets sur le diabète

Une relation entre les dioxines et le diabète existerait selon Bertazzi et coll. (1998) qui rapportent un « excès de cas » de diabète dans la population de Seveso ; une relation également retrouvée par les études américaines de Henriksen et coll. (1997) sur les anciens combattants du Viêtnam, et de Vena et coll. (1998) sur des travailleurs exposés. Inversement, l'étude de Steenland et coll. (1999) ne trouve pas de corrélation entre la dioxine et le diabète dans une cohorte américaine d'ouvriers exposés. Il est à noter que le transport du glucose est fortement inhibé par les dioxines dans le tissu adipeux des rats et des souris (Enan et Matsumura, 1994).

### Effets sur la vitamine A

Les ligands du récepteur AhR sont de puissants inducteurs de l'acné chlorique (ou chloracné) (Suskind, 1985). Cette éruption acnéiforme s'observe à la suite d'une altération des processus de différenciation des cellules basales des glandes sébacées et des kératinocytes. Dans tous les accidents industriels où ces composés ont été impliqués (Allemagne, 1953 ; États-Unis, 1964 ; Japon, 1968 ; Italie, 1976 ; Chine, 1977-1979), l'acné chlorique fut considéré comme le symptôme spécifique majeur de l'intoxication (Suskind, 1985) et fut observé chez la majorité des personnes exposées. Une interférence de la dioxine avec le mécanisme d'action du récepteur de l'acide rétinoïque (dérivé oxydé de la vitamine A) a été proposée par Berkers et coll. (1995). Ces cellules expriment des taux croissants du récepteur AhR durant leur différenciation (Wanner et coll., 1996). De plus, les ligands du récepteur AhR augmentent la différenciation terminale des kératinocytes (Berkers et coll., 1995). Il est très probable que les ligands du récepteur AhR modifient l'expression de certains gènes dans la peau.

### Effets sur les hormones thyroïdiennes

De par leur analogie structurale avec les hormones thyroïdiennes, les PCB ont de multiples impacts sur les voies de régulation de ces hormones, que ce soit au

niveau des mécanismes de transport, des récepteurs nucléaires, ou au niveau du métabolisme énergétique mitochondrial (Sher et coll., 1998). Les hydroxy-PCB les plus aptes à imiter les hormones thyroïdiennes ont des  $K_i$  voisins de 20-50  $\mu\text{M}$  pour le récepteur T3, contre 10 nM pour l'hormone naturelle, alors qu'ils sont équivalents à la T3 pour lier la protéine de transport transthyréline (Cheek et coll., 1999). On peut donc supposer que l'essentiel de leurs effets aura lieu au niveau de la perturbation du transport des hormones thyroïdiennes. La 2,3,7,8-TCDD inhibe l'activité désiodinase chez le rat (Eltom et coll., 1992).

### Effets sur le cycle cellulaire et la prolifération des cellules

Des effets des ligands du récepteur AhR sur les protéines impliquées dans la régulation du cycle cellulaire ont été décrits chez le rat. La 2,3,7,8-TCDD induit p27kip (Kolluri et coll., 1999), réprime p21waf (Enan et coll., 1998). Une étude de Riniger et coll. (1997) montre au contraire que chez la souris, p53, Rb et p21 sont augmentées par la 2,3,7,8-TCDD. De nombreuses kinases sont aussi perturbées (Enan et coll., 1998). Une perturbation du cycle cellulaire a été montrée chez la souris où le gène du récepteur AhR a été invalidé (Weiss et coll., 1996). Il existe des éléments de réponse potentiels (DRE) dans les promoteurs de la protéine p53 et de la p21 (waf1). De même, un certain nombre d'inhibiteurs du récepteur AhR ont des effets sur le cycle cellulaire (Reiners et coll., 1999).

Les dioxines ont de multiples impacts, généralement inhibiteurs, sur l'expression de facteurs de croissance comme les TGF (pour revue Safe, 1995). Les travaux soulignent le lien entre la prolifération cellulaire et les dioxines, le plus souvent de façon obscure et contradictoire. On notera un effet réciproque : *in vitro* le TGF bêta 1 inhibe l'induction de CYP1A1 par la dioxine dans une lignée humaine de cancer du poumon (Vogel et coll., 1994).

### Effets sur le système cardiovasculaire

Les dioxines modulent de façon différentielle l'expression d'un panel de facteurs inflammatoires : interleukine 1-bêta, *nitric oxyde synthase* inductible, PGH2 synthase, cyclooxygénase 2, TNF alpha, TGF alpha, TGF bêta 3 (Yin et coll., 1994 ; Lee et coll., 1996 ; Charles et coll., 1997), et stimulent le cytochrome CYP1A1 qui induit une augmentation de la production de radicaux libres capables de provoquer des lésions membranaires dans les cellules endothéliales. Cette enzyme agit sur la peroxydation des lipides et conduit à leur hyperaccumulation dans les cellules favorisant l'athérogenèse. Un effet semblable est rencontré avec le tabagisme : la fumée de cigarette contient des PCDD dont la 2,3,7,8-TCDD et des PAH, dont le benzo[a]pyrène (BaP) (Bilimoria et Ecobichon, 1980). Les PCB présentent aussi ces effets (Toborek et coll., 1995).



Les plus récentes revues sur la perturbation endocrine font maintenant systématiquement mention du tabagisme (Sharara et coll., 1998). L'intoxication quotidienne par la dioxine seule est équivalente à 4,3 pg/kg de poids corporel pour 20 cigarettes (Muto and Takizawa, 1989). Chez le grand fumeur, la charge due à l'ensemble des ligands AhR peut aller jusqu'à 0,05 mg/kg. Tous ces composés présents dans la fumée de cigarette sont capables d'induire l'expression de CYP1A1/AHH dans les poumons (Bartsch et coll., 1992), le placenta (Gurtoo et coll., 1983), les reins (Bilimoria and Ecobichon, 1980), les ovaires (Mattison and Thorgeirsson, 1978) et les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins (Toborek et coll., 1995). L'induction de CYP1A1/AHH et des autres enzymes de la phase I conduit à la production de radicaux libres qui provoquent des lésions oxydatives sur l'ADN (Park et coll., 1998). Outre les cancers (pour revue, voir Boyle, 1997), le tabagisme a été mis en cause directement dans l'occurrence de l'ischémie cardiaque, la principale cause de mortalité dans le monde occidental (Boyle, 1997).

Dans le système cardiovasculaire, les ligands du récepteur AhR peuvent présenter des propriétés athérogènes en perturbant les fonctions des cellules endothéliales des vaisseaux sanguins. Ces ligands induisent CYP1A1/AHH dans les cellules endothéliales de porc avec une DE50 (dose induisant 50 % du phénomène) de 180 nM pour le BaP et 0,015 nM pour la 2,3,7,8-TCDD (Stegeman et coll., 1995). La stimulation de ces enzymes de phase I provoque une augmentation de la production de ROS (Park et coll., 1998) capable de provoquer des lésions membranaires dans les cellules endothéliales et la peroxydation des lipides. Les LDL (lipoprotéines de faible poids moléculaire) oxydées formées par ce mécanisme font l'objet d'une endocytose non régulée par un récepteur « éboueur » qui conduit à une suraccumulation dans les cellules endothéliales, et à la formation de cellules spumeuses (Steinberg et coll., 1989). Cette situation contraste avec l'endocytose normale des LDL par le récepteur des LDL qui est étroitement régulée. Outre les ligands du récepteur AhR, l'acide arachidonique et les eicosanoïdes vasoactifs sont aussi des substrats pour CYP1A1/AHH. Il a été proposé que c'est entre autres par la perturbation du métabolisme de l'acide arachidonique que les ligands du récepteur AhR pourraient être athérogènes (Rifkind et coll., 1990). Toborek et coll. (1995) ont aussi montré que ces ligands peuvent léser les cellules endothéliales et modifier leur perméabilité, ce qui pourrait conduire à une incorporation accrue de déchets des cholestérol-lipoprotéines dans la paroi artérielle conduisant à la formation d'athérome, et à la perturbation de l'expression des enzymes de la synthèse du cholestérol et de la stéroïdogénèse. Dans le cas des PCB, cet effet n'est observé qu'avec les ligands qui lient le récepteur AhR et qui induisent CYP1A1. De plus, ces mêmes PCB augmentent le stress oxydatif et la peroxydation des lipides dans les cellules endothéliales en culture, phénomène qui a été corrélé dans le temps avec l'induction de CYP1A1 ; ceci pourrait expliquer le mécanisme des lésions cellulaires. Ainsi l'athérogenèse induite par les ligands AhR pourrait être due à l'induction de CYP1A1 par ces composés.

Le taux bas des maladies cardiovasculaires en France comparé à celui des autres pays occidentaux, en dépit de facteurs de risque comparables, a été baptisé le « paradoxe français » (Renaud et De Lorgeril, 1992). La consommation particulière de vin en France a conduit à l'hypothèse que le vin contiendrait des facteurs cardioprotecteurs. Le vin (rouge) contient des polyphénols dont le resvératrol. Cette phytoalexine antifongique existe en configuration *cis/trans* dans une variété de plantes spermatophytes dont la vigne. Le resvératrol a été considéré comme cardioprotecteur pour ses effets sur les lipides et ses propriétés antioxydantes. Le resvératrol est un antagoniste compétitif du récepteur AhR (Casper et coll., 1999). Le resvératrol est capable de bloquer les effets des ligands AhR sur l'induction des gènes cibles, tels que CYP1A1, le promoteur du virus VIH-1 et l'interleukine 1- $\beta$ . L'inhibition de l'expression du gène de CYP1A1 par le resvératrol a été également rapportée (Ciolino et coll., 1998 ; Ciolino et Yeh, 1999) mais sans observer la liaison de l'antagoniste au récepteur AhR. L'hypothèse que les effets cardioprotecteurs du resvératrol soient médiés par l'inhibition du récepteur AhR au niveau des cellules vasculaires pourrait être retenue. Le resvératrol permettrait peut-être de prévenir les effets toxiques des ligands du récepteur AhR.

### Mécanismes d'action du récepteur AhR

Le récepteur AhR est présent dans le cytoplasme des cellules de vertébrés (Okey et coll., 1994). Une fois formé, le complexe ligand/AhR est transporté ensuite dans le noyau en s'associant avec une protéine nucléaire, le « translocateur » (ARNT). Dans le noyau, ce complexe régule l'expression de certains gènes en se liant à l'ADN au niveau de séquences définies, les « éléments de réponse à la dioxine » (DRE) Ces éléments sont localisés dans les gènes sensibles comme les cytochromes P-450 CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1 dénommés gènes de phase I, et d'autres comme la glutathion S-transférase Ya ou la NAD(P)H-quinone-oxydoréductase, qui sont des enzymes détoxifiantes dites de phase II. CYP1A1 est impliquée dans le métabolisme des hydrocarbures polycycliques, souvent pour conduire à des composés plus cancérigènes. Ces métabolismes oxydatifs résultent de l'augmentation de la production de radicaux libres oxygénés (ROS) qui provoquent des lésions oxydatives de l'ADN pouvant induire la cancérogenèse (Park et coll., 1998).

### Fonctions et antifonctions

La partie C-terminale du récepteur AhR contient plusieurs régions transactivatrices dont une principale. En plus, il a été mis en évidence une fonction de répression de la transcription dans la même région (Whitelaw et coll., 1994). On peut penser que, selon la conformation induite par un ligand donné, l'une ou l'autre des activités est prépondérante. L'équilibre entre ces fonctions n'est pas exploré. Il est peut-être à la base de l'observation de Vanden Heuvel et

coll. (1994) qui rapportent que, selon les gènes cibles, la concentration de ligand nécessaire à l'activation varie.

### Sites et antisites

En recherchant des gènes cibles potentiels du AhR possédant des sites DRE pour relier ce mécanisme au concept de perturbation endocrinienne, le groupe de Stephen Safe a découvert qu'il existe deux types de sites : des DRE « classiques » et des DRE « inhibiteurs » (iDRE) (Safe et coll., 1998). Ces derniers confèrent une répression liée à la dioxine, mesurée après une transfection cellulaire par l'expression du gène « rapporteur » CAT (chloramphénicol acétyl transférase) inséré dans une construction plasmidique sous leur contrôle. Ces sites, qui médient une activité répressive de la dioxine sur le gène qui les contient, sont des DREs dont les adénines extrêmes sont l'une et/ou l'autre mutées en cytidines. Souvent, une seule est remplacée, c'est alors presque toujours celle en 3' :

T/A N G C G T G A/G G/C A	DRE
C N G G C G T G A/G G/C C	iDRE

De nombreux gènes des systèmes endocriniens contiennent ce genre de site (ER, PS2, PR, *c-fos*, enzymes clés des prostaglandines et des lipides...). Ils sont souvent associés à des DRE positifs, comme c'est le cas pour CYP1A1. Leur fonctionnalité n'a été démontrée que pour *c-fos* (Duan et coll., 1999) et pS2 (Safe et coll., 1998).

### Batteries de gènes cibles des ligands du récepteur AhR

Lai et coll. (1996) ont publié une première série de gènes contenant des DRE et pouvant donc être régulés par les ligands du récepteur AhR. Les tableaux 17.I et 17.II en présentent une autre série.

Ces gènes contenant des séquences répressives iDREs dans leurs région régulatrices ne sont pas nécessairement connus pour être régulés d'une manière ou d'une autre par le récepteur AhR. Ils constituent les pistes à suivre lors de futures études visant à délimiter la sphère d'influence de ce système de régulation.

**En conclusion**, si l'on prend soin de séparer les perturbateurs endocriniens en classes pharmacologiques claires, on s'aperçoit que les dioxines, antioestrogènes, doivent être distinguées des innombrables xénoestrogènes de l'industrie des pesticides.

La découverte de sites répresseurs sur l'ADN, en plus des sites activateurs déjà connus, relance la nécessité de découvrir l'hormone physiologique du récepteur AhR et d'établir la carte de l'impact sur le génome.

**Tableau 17.I : Gènes contenant des DRE dans leurs régions régulatrices**

Gène	Ref. Genbank	Nombre de sites	Localisation	Commentaires
<b>Enzymes</b>				
NOS3 endothéliale	AF032908	4	Promoteur	
Cyclooxygénase 2	AF044206	3	Promoteur	
PG H Synthase	U44805	1	Promoteur	
PG endoperoxide synthase	M31812 D64068	1	Promoteur	
FMO 3	AL021026	4	Promoteur, 5'UTR	
Leukotriène A4 hydrolase	U27275	2	Promoteur	Aldostérone
Stéroïde 18-hydroxylase	D10170	3	Promoteur	
5-Lipoxygénase	M38191	5	Promoteur, Cds	
<b>Protéines impliquées en neuropathologie</b>				
Préséniline-1	AF029701	5	Promoteur	Alzheimer
STM2	NM000347	8	Promoteur	Alzheimer familial
S100-bêta	M59486	3	Promoteur	Alzheimer
Tau	L47238	2	Promoteur	Alzheimer
Protéine amyloïde	HUMAPPB01	4	Promoteur	Alzheimer
Neuropeptide Y	L47169	2	Promoteur	Hypothalamus
Orexine	AF118885	7	Promoteur	Hypothalamus
<b>Cycle cellulaire, oncogènes</b>				
PCNA	J05614	1	Promoteur	Cycle cellulaire
p53	U94788	2	Prom. Int.	Cycle cellulaire
p21 waf1	HSU24170	8	Promoteur	Cycle cellulaire
CDC6	AB010492	8	Promoteur	Cycle cellulaire
PRb110	M27845	1	Promoteur	Cycle cellulaire
c-Ha-Ras	M30539	7	Promoteur	Transduction, cancer
<b>Interleukines, chimiokines</b>				
IL1-RA	U65590	4	Introns	
RANTES	S64885	1	Promoteur	
CD40 ligand	D31793	1	Promoteur	
IL-1 récepteur 1	AF054830	1	Cds	
IL-1 récepteur 2	X59770	1	Cds	
IL-8 récepteur a	U11870	3	Promoteur	
IL-8 récepteur b	U11866	1	Promoteur	
NF Kappa B p65	L01459	2	Promoteur	
NF Kappa B p50	S57113	1	Promoteur	
I kappa B alpha	U08468	2	Promoteur	
<b>Récepteurs, transporteurs</b>				
glutamate, slc1a1	AF143773	4	Promoteur	
Glucocorticoid receptor	U10430	8	Promoteur	
Thyroid hormone receptor	S37458	2	Promoteur	

Cds : séquence codante ; UTR : région non traduite ; Prom. Int. : promoteur interne

Enfin, la découverte relativement récente de liens, encore peu nombreux, entre dioxines et maladies cardiovasculaires vient confirmer la nécessité du renouvellement des approches expérimentales et cliniques.

**Tableau 17.II : Gènes humains contenant des séquences répressives iDREs dans leurs région régulatrices**

Gènes	Réf Genbank	Nombre de sites	Localisation	Commentaires
<b>Sphère endocrine</b>				
MDR1	HSMDR1		Gène	Pompe membranaire
PS2		1	Promoteur	Cancer du sein
Récepteur progestérone		1	Promoteur	Gestation
Hormone <i>insulin-like</i>	HSLILH			Cellules Leydig
Récepteur aux androgènes	HUMHARA		Promoteur	
TNF-alpha	A20255			
TNF récepteur 1	HUMTNFR1		Gène	
Stéroïde 5a-réductase		1	Gène	
Stérol <i>carrier</i> protéine X		1	Gène	
<b>Divers</b>				
Transglutaminase	U13920	3	Promoteur	
MHC-HLA-DQ-alpha	...		Promoteurs	Nombreux allèles
Peptide natriurétique C	HUMCNPA			
Thrombine récepteur F2	HSU36755		Promoteur	
MUC2	HSU68061	1	Promoteur	
Protéine rein polykystique	HUMPKD1gEn		Promoteur	
Glut4	X58489	6	Promoteur	Transport glucose
EXT2	HSMEXT11		Promoteur	Exostose multiple
STM2	HSU50871			Alzheimer
<b>Oncogènes, cycle cellulaire</b>				
BRCA1	HUMBRCA1		Gène	Suppresseur tumeur
Blym1	HUMBLYM1	1	Promoteur	
ERCC2	HUMXPDG1			
c-fos		1	Promoteur	AP-1
P53	HSP53G		Gène	Suppresseur tumeur
p21 waf1	HSU24170	8	Promoteur	Cycle cellulaire

## BIBLIOGRAPHIE

ABBOTT BD. Review of the Interaction between TCDD and Glucocorticoids in Embryonic Palate. *Toxicology* 1995, **105** : 365-373

ADASHI EY. The potential role of interleukin-1 in the ovulatory process : an evolving hypothesis. *Mol Cell Endocrinol* 1998, **140** : 77-81

AHLBORG UG, LIPWORTH L, TITUS-ERNSTOFF L, HSIEH CC, HANBERG A et coll. Organochlorine compounds in relation to breast cancer, endometrial cancer, and endometriosis : an assessment of the biological and epidemiological evidence. *Crit Rev Toxicol* 1995, **25** : 463-531

ASTROFF B, ELDRIDGE B, SAFE S. Inhibition of the 17 beta-estradiol-induced and constitutive expression of the cellular protooncogene *c-fos* by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) in the female rat uterus. *Toxicol Lett* 1991, **56** : 305-315

BACHOUR G, FAILING K, GEORGII S, ELMADFA I, BRUNN H. Species and organ dependence of PCB contamination in fish, foxes, roe deer, and humans. *Arch Environ Contam Toxicol* 1998, **35** : 666-673

BARTSCH H, PETRUZZELLI S, DE FLORA S, HIETANEN E, CAMUS AM et coll. Carcinogen metabolism in human lung tissues and the effect of tobacco smoking : results from a case-control multicenter study on lung cancer patients. *Environ Health Perspect* 1992, **98** : 119-124

BERKERS JA, HASSING I, SPENKELINK B, BROUWER A, BLAAUBOER BJ. Interactive effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin and retinoids on proliferation and differentiation in cultured human keratinocytes : quantification of cross-linked envelope formation. *Arch Toxicol* 1995, **69** : 368-378

BERTAZZI PA, BERNUCCI I, BRAMBILLA G, CONSONNI D, PESATORI AC. The Seveso studies on early and long-term effects of dioxin exposure : a review. *Environ Health Perspect* 1998, **106** : 625-633

BILIMORIA MH, ECOBICHON DJ. Responses of rodent hepatic, renal and pulmonary aryl hydrocarbon hydroxylase following exposure to cigarette smoke. *Toxicology* 1980, **15** : 83-89

BLAYLOCK BL, HOLLADAY SD, COMMENT CE, HEINDEL JJ, LUSTER MI. Exposure to tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) alters fetal thymocyte maturation. *Toxicol Appl Pharmacol* 1992, **112** : 207-213

BOYLE P. Cancer, cigarette smoking and premature death in Europe : a review including the Recommendations of European Cancer Experts Consensus Meeting, Helsinki, October 1996. *Lung Cancer* 1997, **17** : 1-60

BRUNER-TRAN KL, RIER SE, EISENBERG E, OSTEN K. The Potential Role of Environmental Toxins in the Pathophysiology of Endometriosis. *Gynecol Obstet Invest* 1999, **48** : 45-56

BURLESON GR, LEBREC H, YANG YG, IBANES JD, PENNINGTON KN, BIRNBAUM LS. Effect of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) on influenza virus host resistance in mice. *Fundam Appl Toxicol* 1996, **29** : 40-47

CARLSEN E, GIWERCMAN A, KEIDING N, SKAKKEBAEK NE. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *Br Med J* 1992, **305** : 609-613

CASPER RF, QUESNE M, ROGERS IM, SHIROTA T, JOLIVET A et coll. Resveratrol has antagonist activity on the aryl hydrocarbon receptor : implications for prevention of dioxin toxicity. *Mol Pharmacol* 1999, **56** : 784-790

CHAFFIN CL, TREWIN AL, WATANABE G, TAYA K, HUTZ RJ. Alterations to the pituitary-gonadal axis in the peripubertal female rat exposed *in utero* and through lactation to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin. *Biol Reprod* 1997, **56** : 1498-1502

CHARLES GD, SHIVERICK KT. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin increases mRNA levels for interleukin-1beta, urokinase plasminogen activator, and tumor necrosis factor-alpha in human uterine endometrial adenocarcinoma RL95-2 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1997, **238** : 338-342

CHEEK AO, KOW K, CHEN J, MCLACHLAN JA. Potential mechanisms of thyroid disruption in humans : interaction of organochlorine compounds with thyroid receptor, transthyretin, and thyroid-binding globulin. *Environ Health Perspect* 1999, **107** : 273-278

CIOLINO HP, DASCHNER PJ, WANG TT, YEH GC. Effect of curcumin on the aryl hydrocarbon receptor and cytochrome P450 1A1 in MCF-7 human breast carcinoma cells. *Biochem Pharmacol* 1998, **56** : 197-206

CIOLINO HP, YEH GC. The flavonoid galangin is an inhibitor of CYP1A1 activity and an agonist/antagonist of the aryl hydrocarbon receptor. *Br J Cancer* 1999, **79** : 1340-1346

COLBORN T, VOM SAAL FS, SOTO AM. Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environ Health Perspect* 1993, **101** : 378-384

COOKE GM, PRICE CA, OKO RJ. Effects of *in utero* and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) on serum androgens and steroidogenic enzyme activities in the male rat reproductive tract. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1998, **67** : 347-354

CUMMINGS AM, METCALF JL. Induction of endometriosis in mice : a new model sensitive to estrogen. *Reprod Toxicol* 1995, **9** : 233-238

DE HEER C, VERLAAN AP, PENNINKS AH, VOS JG, SCHUURMAN HJ, VAN LOVEREN H. Time course of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD)-induced thymic atrophy in the Wistar rat. *Toxicol Appl Pharmacol* 1994, **128** : 97-104

DIBARTOLOMEIS MJ, WILLIAMS C, JEFCOATE CR. Inhibition of ACTH action on cultured bovine adrenal cortical cells by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin through a redistribution of cholesterol. *J Biol Chem* 1986, **261** : 4432-4437

DUAN R, PORTER W, SAMUDIO I, VYHLIDAL C, KLABDE M, SAFE S. Transcriptional activation of *c-fos* protooncogene by 17beta-estradiol : mechanism of aryl hydrocarbon receptor-mediated inhibition. *Mol Endocrinol* 1999, **13** : 1511-1521

EGELAND GM, SWEENEY MH, FINGERHUT MA, WILLE KK, SCHNORR TM, HALPERIN WE. Total serum testosterone and gonadotropins in workers exposed to dioxin. *Am J Epidemiol* 1994, **139** : 272-281

EGGER P, DUGGLEBY S, HOBBS R, FALL C, COOPER C. Cigarette smoking and bone mineral density in the elderly. *J Epidemiol Community Health* 1996, **50** : 47-50

ELTOM SE, BABISH JG, FERGUSON DC. The interaction of L-triiodothyronine and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin on Ah-receptor-mediated hepatic Phase I and Phase II enzymes and iodothyronine 5'-deiodinase in thyroidectomized rats. *Toxicol Lett* 1992, **61** : 125-139

ENAN E, MATSUMURA F. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD)-induced changes in glucose transporting activity in guinea pigs, mice, and rats *in vivo* and *in vitro*. *J Biochem Toxicol* 1994, **9** : 97-106

ENAN E, LASLEY B, STEWART D, OVERSTREET J, VANDEVOORT CA. 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) modulates function of human luteinizing granulosa cells *via* cAMP signaling and early reduction of glucose transporting activity. *Reprod Toxicol* 1996a, **10** : 191-198

ENAN E, MORAN F, VANDEVOORT CA, STEWART DR, OVERSTREET JW, LASLEY BL. Mechanism of toxic action of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) in cultured human luteinized granulosa cells. *Reprod Toxicol* 1996b, **10** : 497-508

ENAN E, EL-SABEAWY F, SCOTT M, OVERSTREET J, LASLEY B. Alterations in the growth factor signal transduction pathways and modulators of the cell cycle in endocervical cells from macaques exposed to TCDD. *Toxicol Appl Pharmacol* 1998 **151** : 283-293

FAN F, YAN B, WOOD G, VILUKSELA M, ROZMAN KK. Cytokines (IL-1beta and TNFalpha) in relation to biochemical and immunological effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) in rats. *Toxicology* 1997, **116** : 9-16

FLESCH-JANYNS D, BECHER H, GURN P, JUNG D, KONIETZKO J et coll. Elimination of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans in occupationally exposed persons. *J Toxicol Environ Health* 1996, **47** : 363-378

FRANCESCHI S, SCHINELLA D, BIDOLI E, DAL MASO L, LA VECCHIA C et coll. The influence of body size, smoking, and diet on bone density in pre- and postmenopausal women. *Epidemiology* 1996, **7** : 411-414

FUNSETH E, ILBACK NG. Coxsackievirus B3 infection alters the uptake of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin into various tissues of the mouse. *Toxicology* 1994, **90** : 29-38

GAO X, SON DS, TERRANOVA PF, ROZMAN KK. Toxic equivalency factors of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins in an ovulation model : validation of the toxic equivalency concept for one aspect of endocrine disruption. *Toxicol Appl Pharmacol* 1999, **157** : 107-116

GEHRS BC, RIDDLE MM, WILLIAMS WC, SMIALOWICZ RJ. Alterations in the developing immune system of the F344 rat after perinatal exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin : I [correction of II]. Effects on the fetus and the neonate. *Toxicology* 1997, **122** : 219-228

GIERTHY JF, LINCOLN DW, GILLESPIE MB, SEEGER JI, MARTINEZ HL et coll. Suppression of estrogen-regulated extracellular tissue plasminogen activator activity of MCF-7 cells by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin. *Cancer Res* 1987, **47** : 6198-6203

GIERTHY JF, SPINK BC, FIGGE HL, PENTECOST BT, SPINK DC. Effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin, 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate and 17 beta-estradiol on estrogen receptor regulation in MCF-7 human breast cancer cells. *J Cell Biochem* 1996, **60** : 173-184

GILLESBY BE, STANOSTEFANO M, PORTER W, SAFE S, WU ZF, ZACHAREWSKI TR. Identification of a motif within the 5' regulatory region of pS2 which is responsible for AP-1 binding and TCDD-mediated suppression. *Biochemistry* 1997, **36** : 6080-6089

GOLLAPUDI S, KIM CH, PATEL A, SINDHU R, GUPTA S. Dioxin activates human immunodeficiency virus-1 expression in chronically infected promonocytic U1 cells by enhancing NF-kappa B activity and production of tumor necrosis factor-alpha. *Biochem Biophys Res Commun* 1996, **226** : 889-894



GRISSE JA, KELSEY JL, O'BRIEN LA, MILES CG, SIDNEY S et coll. Risk factors for hip fracture in men. Hip Fracture Study Group. *Am J Epidemiol* 1997, **145** : 786-793

GURTOO HL, WILLIAMS CJ, GOTTLIEB K, MULHERN AI, CABALLES L et coll. Population distribution of placental benzo(a)pyrene metabolism in smokers. *Int J Cancer* 1983, **31** : 29-37

HAGENMAIER H, WIESMULLER T, GOLOR G, KROWKE R, HELGE H, NEUBERT D. Transfer of various polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans (PCDDs and PCDFs) *via* placenta and through milk in a marmoset monkey [published erratum appears in *Arch Toxicol* 1991, **65** : 262]. *Arch Toxicol* 1990, **64** : 601-615

HARPER N, WANG X, LIU H, SAFE S. Inhibition of estrogen-induced progesterone receptor in MCF-7 human breast cancer cells by aryl hydrocarbon (Ah) receptor agonists. *Mol Cell Endocrinol* 1994, **104** : 47-55

HEIMLER I, RAWLINS RG, OWEN H, HUTZ RJ. Dioxin perturbs, in a dose- and time-dependent fashion, steroid secretion, and induces apoptosis of human luteinized granulosa cells. *Endocrinology* 1998, **139** : 4373-4379

HENRIKSEN GL, KETCHUM NS, MICHALEK JE, SWABY JA. Serum dioxin and diabetes mellitus in veterans of Operation Ranch Hand. *Epidemiology* 1997, **8** : 252-258

HOPPER JL, SEEMAN E. The bone density of female twins discordant for tobacco use. *N Engl J Med* 1994, **330** : 387-392

JOHANSSON C, MELLSTROM D. An earlier fracture as a risk factor for new fracture and its association with smoking and menopausal age in women. *Maturitas* 1996, **24** : 97-106

JOHNSON L, WILKER CE, SAFE SH, SCOTT B, DEAN DD, WHITE PH. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin reduces the number, size, and organelle content of Leydig cells in adult rat testes. *Toxicology* 1994, **89** : 49-65

KAMATH AB, XU H, NAGARKATTI PS, NAGARKATTI M. Evidence for the induction of apoptosis in thymocytes by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin *in vivo*. *Toxicol Appl Pharmacol* 1997, **142** : 367-377

KARRAS JG, HOLSAPPLE MP. Inhibition of calcium-dependent B cell activation by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin. *Toxicol Appl Pharmacol* 1994, **125** : 264-270

KERKVLiet NI. Immunological effects of chlorinated dibenzo-*p*-dioxins. *Environ Health Perspect* 1995, **103** : 47-53

KERKVLiet NI, BAECHEr-STEPPAN L, SHEPHERD DM, OUGHTON JA, VORDERSTRASSE B et coll. Inhibition of TC-1 cytokine production, effector cytotoxic T lymphocyte development and alloantibody production by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin. *J Immunol* 1996, **157** : 2310-2319

KIEL DP, ZHANG Y, HANNAN MT, ANDERSON JJ, BARON JA, FELSON DT. The effect of smoking at different life stages on bone mineral density in elderly men and women. *Osteoporos Int* 1996, **6** : 240-248

KOBAYASHI A, NUMAYAMA-TSURUTA K, SOGAWA K, FUJII-KURIYAMA Y. CBP/p300 functions as a possible transcriptional coactivator of Ah receptor nuclear translocator (Arnt). *J Biochem* 1997, **122** : 703-710

- KOLLURI SK, WEISS C, KOFF A, GOTTLICHER M. p27(Kip1) induction and inhibition of proliferation by the intracellular Ah receptor in developing thymus and hepatoma cells. *Genes Dev* 1999, **13** : 1742-1753
- KONINCKX PR, BRAET P, KENNEDY SH, BARLOW DH. Dioxin pollution and endometriosis in Belgium. *Hum Reprod* 1994, **9** : 1001-1002
- KRISHNAN V, PORTER W, SANTOSTEFANO M, WANG X, SAFE S. Molecular mechanism of inhibition of estrogen-induced cathepsin D gene expression by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) in MCF-7 cells. *Mol Cell Biol* 1995, **15** : 6710-6719
- KUIL CW, BROUWER A, VAN DER SAAG PT, VAN DER BURG B. Interference between progesterone and dioxin signal transduction pathways. Different mechanisms are involved in repression by the progesterone receptor A and B isoforms. *J Biol Chem* 1998, **273** : 8829-8834
- LAI ZW, PINEAU T, ESSER C. Identification of Dioxin-Responsive Elements (Dres) in the 5' regions of Putative Dioxin-Inducible Genes. *Chem Biol Inter* 1996, **100** : 97-112
- LEE DC, BARLOW KD, GAIDO KW. The actions of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin on transforming growth factor-beta2 promoter activity are localized to the TATA box binding region and controlled through a tyrosine kinase-dependent pathway. *Toxicol Appl Pharmacol* 1996, **137** : 90-99
- LI X, JOHNSON DC, ROZMAN KK. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) increases release of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone from the pituitary of immature female rats *in vivo* and *in vitro*. *Toxicol Appl Pharmacol* 1997, **142** : 264-269
- LINDEN J, POHJANVIRTA R, RAHKO T, TUOMISTO J. TCDD decreases rapidly and persistently serum melatonin concentration without morphologically affecting the pineal gland in TCDD-resistant Han/Wistar rats. *Pharmacol Toxicol* 1991, **69** : 427-432
- LU YF, SUN G, WANG X, SAFE S. Inhibition of prolactin receptor gene expression by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in MCF-7 human breast cancer cells. *Arch Biochem Biophys* 1996, **332** : 35-40
- MABLY TA, MOORE RW, PETERSON RE. *In utero* and lactational exposure of male rats to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin. 1. Effects on androgenic status. *Toxicol Appl Pharmacol* 1992, **114** : 97-107
- MANCHESTER DK, GORDON SK, GOLAS CL, ROBERTS EA, OKEY AB. Ah receptor in human placenta: stabilization by molybdate and characterization of binding of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin, 3-methylcholanthrene, and benzo(a)pyrene. *Cancer Res* 1987, **47** : 4861-4868
- MASTEN SA, SHIVERICK KT. Characterization of the aryl hydrocarbon receptor complex in human B lymphocytes: evidence for a distinct nuclear DNA-binding form. *Arch Biochem Biophys* 1996, **336** : 297-308
- MATORRAS R, RODRIGUEZ F, PIJOAN JI, RAMON O, GUTIERREZ DE TERAN G et coll. Epidemiology of endometriosis in infertile women. *Fertil Steril* 1995, **63** : 34-38
- MATTISON DR, THORGEIRSSON SS. Smoking and industrial pollution, and their effects on menopause and ovarian cancer. *Lancet* 1978, **1** : 187-188

- MATTISON DR. The effects of smoking on fertility from gametogenesis to implantation. *Environ Res* 1982, **28** : 410-433
- MAURIZI CP. Could exogenous melatonin prevent sudden infant death syndrome ? *Med Hypotheses* 1997, **49** : 425-427
- MAYANI A, BAREL S, SOBACK S, ALMAGOR M. Dioxin concentrations in women with endometriosis. *Hum Reprod* 1997, **12** : 373-375
- MILLER MM, PLOWCHALK DR, WEITZMAN GA, LONDON SN, MATTISON DR. The effect of benzo(a)pyrene on murine ovarian and corpora lutea volumes. *Am J Obstet Gynecol* 1992, **166** : 1535-1541
- MOLLER H, JORGENSEN N, FORMAN D. Trends in incidence of testicular cancer in boys and adolescent men. *Int J Cancer* 1995, **61** : 761-764
- MUTO H, TAKIZAWA Y. Dioxins in cigarette smoke. *Arch Environ Health* 1989, **44** : 171-174
- NAU H, BASS R. Transfer of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) to the mouse embryo and fetus. *Toxicology* 1981, **20** : 299-308
- NGUYEN TA, HOIVIK D, LEE JE, SAFE S. Interactions of nuclear receptor coactivator/corepressor proteins with the aryl hydrocarbon receptor complex. *Arch Biochem Biophys* 1999, **367** : 250-257
- OKEY AB, RIDDICK DS, HARPER PA. Molecular biology of the aromatic hydrocarbon (dioxin) receptor. *Trends Pharmacol Sci* 1994, **15** : 226-232
- PARK R, KIM DH, KIM MS, SO HS, CHUNG HT et coll. Association of Shc, Cbl, Grb2, and Sos following treatment with 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in primary rat hepatocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1998, **253** : 577-581
- REINERS JJ JR, CLIFT R, MATHIEU P. Suppression of cell cycle progression by flavonoids : dependence on the aryl hydrocarbon receptor. *Carcinogenesis* 1999, **20** : 1561-1566
- REITER RJ, CARNEIRO RC, OH CS. Melatonin in relation to cellular antioxidative defense mechanisms. *Horm Metab Res* 1997, **29** : 363-372
- RENAUD S, DE LORGERIL M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet* 1992, **339** : 1523-1526
- RIER SE, MARTIN DC, BOWMAN RE, DMOWSKI WP, BECKER JL. Endometriosis in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) following chronic exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin. *Fundam Appl Toxicol* 1993, **21** : 433-441
- RIFKIND AB, GANNON M, GROSS SS. Arachidonic acid metabolism by dioxin-induced cytochrome P-450 : a new hypothesis on the role of P-450 in dioxin toxicity. *Biochem Biophys Res Commun* 1990, **172** : 1180-1188
- RININGER JA, STOFFREGEN DA, BABISH JG. Murine hepatic p53, RB, and CDK inhibitory protein expression following acute 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) exposure. *Chemosphere* 1997, **34** : 1557-1568
- ROMAN BL, PETERSON RE. *In utero* and lactational exposure of the male rat to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin impairs prostate development. 1. Effects on gene expression. *Toxicol Appl Pharmacol* 1998, **150** : 240-253

ROMAN BL, TIMMS BG, PRINS GS, PETERSON RE. *In utero* and lactational exposure of the male rat to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin impairs prostate development. 2. Effects on growth and cytodifferentiation. *Toxicol Appl Pharmacol* 1998a, **150** : 254-270

ROMAN BL, POLLENZ RS, PETERSON RE. Responsiveness of the adult male rat reproductive tract to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin exposure : Ah receptor and ARNT expression, CYP1A1 induction, and Ah receptor down-regulation. *Toxicol Appl Pharmacol* 1998b **150** : 228-239

SAFE S, KRISHNAN V. Cellular and molecular biology of aryl hydrocarbon (Ah) receptor-mediated gene expression. *Arch Toxicol Suppl* 1995, **17** : 99-115

SAFE SH. Modulation of gene expression and endocrine response pathways by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin and related compounds. *Pharmacol Ther* 1995, **67** : 247-281

SAFE S, WANG F, PORTER W, DUAN R, MCDUGAL A. Ah receptor agonists as endocrine disruptors : antiestrogenic activity and mechanisms. *Toxicol Lett* 1998, **102-103** : 343-347

SAIDI JA, CHANG DT, GOLUBOFF ET, BAGIELLA E, OLSEN G, FISCH H. Declining sperm counts in the United States ? A critical review. *J Urol* 1999, **161** : 460-462

SHARARA FI, SEIFER DB, FLAWS JA. Environmental toxicants and female reproduction. *Fertil Steril* 1998, **70** : 613-622

SHER ES, XU XM, ADAMS PM, CRAFT CM, STEIN SA. The effects of thyroid hormone level and action in developing brain : are these targets for the actions of polychlorinated biphenyls and dioxins ? *Toxicol Ind Health* 1998, **14** : 121-158

STEENLAND K, PIACITELLI L, DEDDENS J, FINGERHUT M, CHANG LI. Cancer, heart disease, and diabetes in workers exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin. *J Natl Cancer Inst* 1999, **91** : 779-786

STEGEMAN JJ, HAHN ME, WEISBROD R, WOODIN BR, JOY JS et coll. Induction of cytochrome P4501A1 by aryl hydrocarbon receptor agonists in porcine aorta endothelial cells in culture and cytochrome P4501A1 activity in intact cells. *Mol Pharmacol* 1995, **47** : 296-306

STEINBERG D, PARTHASARATHY S, CAREW TE, KHOO JC, WITZTUM JL. Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med* 1989, **320** : 915-924

SUSKIND RR. Chloracne, « the hallmark of dioxin intoxication ». *Scand J Work Environ Health* 1985, **11** : 165-171

TIAN Y, KE S, DENISON MS, RABSON AB, GALLO MA. Ah receptor and NF-kappaB interactions, a potential mechanism for dioxin toxicity. *J Biol Chem* 1999, **274** : 510-515

TOBOREK M, BARGER SW, MATTSON MP, ESPANDIARI P, ROBERTSON LW, HENNIG B. Exposure to polychlorinated biphenyls causes endothelial cell dysfunction. *J Biochem Toxicol* 1995, **10** : 219-226

UNKILA M, POHJANVIRTA R, MACDONALD E, TUOMISTO J. Characterization of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin-induced brain serotonin metabolism in the rat. *Eur J Pharmacol* 1994, **270** : 157-166

- VANDEN HEUVEL JP, CLARK GC, KOHN MC, TRITSCHER AM, GREENLEE WF et coll. Dioxin-responsive genes : examination of dose-response relationships using quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Cancer Res* 1994, **54** : 62-68
- VENA J, BOFFETTA P, BECHER H, BENN T, BUENO-DE-MESQUITA HB et coll. Exposure to dioxin and nonneoplastic mortality in the expanded IARC international cohort study of phenoxy herbicide and chlorophenol production workers and sprayers. *Environ Health Perspect* 1998 **106** : 645-653
- VOGEL C, DOHR O, ABEL J. Transforming growth factor-beta 1 inhibits TCDD-induced cytochrome P450IA1 expression in human lung cancer A549 cells. *Arch Toxicol* 1994, **68** : 303-307
- WALLER CL, OPREA TI, CHAE K, PARK HK, KORACH KS et coll. Ligand-based identification of environmental estrogens. *Chem Res Toxicol* 1996, **9** : 1240-1248
- WANG F, HOIVIK D, POLLENZ R, SAFE S. Functional and physical interactions between the estrogen receptor Sp1 and nuclear aryl hydrocarbon receptor complexes. *Nucleic Acids Res* 1998, **26** : 3044-3052
- WANNER R, PANTELEYEV A, HENZ BM, ROSENBAACH T. Retinoic acid affects the expression rate of the differentiation-related genes aryl hydrocarbon receptor, ARNT and keratin 4 in proliferative keratinocytes only. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Disease* 1996, **1317** : 105-111
- WEISS C, KOLLURI SK, KIEFER F, GOTTLICHER M. Complementation of Ah receptor deficiency in hepatoma cells : negative feedback regulation and cell cycle control by the Ah receptor. *Exp Cell Res* 1996, **226** : 154-163
- WHITELAW ML, GUSTAFSSON JA, POELLINGER L. Identification of transactivation and repression functions of the dioxin receptor and its basic helix-loop-helix/PAS partner factor Arnt : inducible versus constitutive modes of regulation. *Mol Cell Biol* 1994, **14** : 8343-8355
- YANG YG, LEBREC H, BURLESON GR. Effect of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) on pulmonary influenza virus titer and natural killer (NK) activity in rats. *Fundam Appl Toxicol* 1994, **23** : 125-131
- YANG JZ, FOSTER WG. Continuous exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin inhibits the growth of surgically induced endometriosis in the ovariectomized mouse treated with high dose estradiol. *Toxicol Ind Health*, 1997 **13** : 15-25
- YAO Y, HOFFER A, CHANG CY, PUGA A. Dioxin activates HIV-1 gene expression by an oxidative stress pathway requiring a functional cytochrome P450 CYP1A1 enzyme. *Environ Health Perspect* 1995, **103** : 366-371
- YIN H, LI Y, SUTTER TR. Dioxin-enhanced expression of interleukin-1 beta in human epidermal keratinocytes : potential role in the modulation of immune and inflammatory responses. *Exp Clin Immunogenet* 1994, **11** : 128-135
- YOO BS, JUNG KH, HANA SB, KIM HM. Apoptosis-mediated immunotoxicity of polychlorinated biphenyls (PCBs) in murine splenocytes. *Toxicol Lett* 1997, **91** : 83-89
- ZACHAREWSKI TR, BONDY KL, MCDONELL P, WU ZF. Antiestrogenic effect of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin on 17 beta-estradiol-induced pS2 expression. *Cancer Res* 1994, **54** : 2707-2713