46

Effets cellulaires et tissulaires

Peu d'études sont disponibles sur les effets cellulaires ou tissulaires des polybromés. Seul le TBBPA a été analysé sur les tissus mâles. Des mélanges de PBDE ont été testés sur des cellules issues de follicules ou des lignées de cellules de cancer du sein.

Effets sur les cellules du testicule

Les effets *in vitro* du TBBPA sur les cellules de Sertoli de souris TM4 ont été étudiés (Ogunbayo et coll., 2008). Les auteurs ont montré que le TBBPA provoquait une augmentation du Ca^{2+} intracellulaire dans un intervalle de concentrations de 5 à 60 μM (concentration efficace 50 % : $\text{CE}_{50}=21 \mu\text{M}$). De plus, le TBBPA provoquait une mort cellulaire (concentration létale 50 % : $\text{CL}_{50}=18 \mu\text{M}$) en partie par apoptose, impliquant une dépolarisation mitochondriale Ca^{2+} dépendante. Les études sur les transporteurs intracellulaires de Ca^{2+} montrent que le TBBPA peut inhiber la Ca^{2+} -ATPase du reticulum sarcoplasmique/endoplasmique (Serca) à de faibles concentrations (concentration inhibitrice 50 % : CI_{50} de 0,4 à 1,2 μM). Les auteurs suggèrent que les effets cytotoxiques du TBBPA sur les cellules sont partiellement dus à un dérèglement de la signalisation Ca^{2+} , par une atteinte directe des protéines de transport de Ca^{2+} . Il est cependant clair que les effets aigus du TBBPA sur les cellules de Sertoli se produisent pour une gamme de concentration environ 100 fois plus élevée que les plus hauts niveaux de TBBPA mesurés chez l'homme. On ne sait pas si une exposition chronique à des niveaux beaucoup plus bas de TBBPA pourrait également compromettre les fonctions cellulaires par les mécanismes mis en évidence dans ce travail.

Effets sur les cellules de la thèque et de granulosa de l'ovaire

Des cellules de granulosa et des cellules de la thèque issues de follicules prélevés sur des truies prépubères ont été cultivées *in vitro* avec un mélange de foies de barbots prélevés dans le lac Mjosa en Norvège. Ce mélange de

polluants environnementaux contient essentiellement des PBDE et des HBCD. Cet extrait est utilisé à la concentration de 1,4 µg/ml. Les surnageants de culture sont analysés après 48 h. Cette étude montre que le mélange Mjosa est un inducteur du récepteur bêta des œstrogènes et qu'il a un effet stimulateur sur la sécrétion des œstrogènes basale et induite par la FSH. Cette stimulation se fait par une augmentation de l'activité de l'aromatase (Gregoraszcuk et coll., 2009).

La même équipe polonaise a étudié l'effet d'un mélange de différentes concentrations (faibles, moyennes et fortes) de PBDE (BDE 47, BDE 99, BDE 100, BDE 209) sur des cellules isolées ou des co-cultures de cellules de granulosa et de thèques provenant de truies cycliques dont les ovaires ont été récupérés à l'abattoir. Les cellules sont cultivées pendant 24 h ou 48 h avec le mélange puis les milieux sont changés et les cellules cultivées sans PBDE pendant 48 h afin d'évaluer la réversibilité des effets. Après 24 h de culture, seules les doses les plus faibles (0,5 ; 0,25 ; 0,1 ; 0,05 ng/ml) induisent une sécrétion augmentée de tous les stéroïdes dosés (progestérone, testostérone et œstradiol) tandis qu'après 48 h la stimulation de la sécrétion d'œstradiol et de testostérone est observée pour les doses faibles et moyennes.

Il est également montré une augmentation de la sécrétion de progestérone (P4) aux doses les plus faibles quel que soit le temps de culture. Il en résulte une modification des ratios P4/T et T/E2 qui pourrait engendrer une lutéinisation prématurée des follicules pré-ovulatoires. Il est également à noter qu'il n'est pas possible de restaurer des dosages normaux après suppression des mélanges de PBDE dans le milieu (Karpeta et Gregoraszcuk, 2010).

Effets sur des cellules mammaires

Des cellules MCF-7 issues de tumeurs mammaires humaines, sensibles aux œstrogènes, ont été utilisées pour tester la capacité œstrogénique du mélange penta-BDE (DE-71). Il a été montré que le DE-71 augmente la prolifération des cellules MCF-7, cet effet peut être prévenu par traitement par un anti-œstrogène (ICI) suggérant que l'effet du DE-71 est médié par un récepteur aux œstrogènes. Cependant, le mélange DE-71 possède un faible potentiel œstrogénique (Mercado-Feliciano et coll., 2008).

Autres effets en marge du domaine couvert par la présente expertise

Hamers et coll. (2008) ont étudié, sur des microsomes hépatiques de rat exposés au tri-BDE 47 (25 µM), différents effets biologiques de type perturbateur endocrinien induits par les produits de biotransformation hydroxylés de

ce composé. Les résultats ont notamment montré une compétition de ces métabolites avec la thyroxine pour la liaison à la transthyrétine (TTR), et dans une moindre mesure une inhibition de l'œstradiol sulfotransférase (E2SULT). Considérant ces métabolites de façon individuelle, ces effets sont apparus très significativement supérieurs à ceux observés pour le composé parent (BDE 47), ceci d'un facteur 160 à 1 600 pour la compétition avec l'hormone thyroïdienne et d'un facteur 2 à 200 pour l'inhibition de l'œstradiol sulfotransférase.

En conclusion, quelques études *in vitro* semblent indiquer que les PBDE pourraient avoir un effet sur la stéroïdogénèse des cellules des follicules ovariens et de glandes mammaires en agissant via le récepteur des œstrogènes. Les pistes ouvertes méritent d'être explorées grâce notamment à des analyses moléculaires plus fines. Une étude sur les cellules de Sertoli de souris montre des effets de dérégulation de la signalisation Ca^{++} à des concentrations 100 fois supérieures à celles mesurées chez l'homme. Ces résultats préliminaires nécessitent d'être reproduits et confirmés.

BIBLIOGRAPHIE

GREGORASZCZUK EL, PTAK A, SKAARE JU, MULARZ K, CHMIELOWIEC A, coll. Mechanisms of action of two different natural mixtures of persistent organic pollutants (POPs) in ovarian follicles. *Xenobiotica* 2009, **39** : 80-89

HAMERS T, KAMSTRA JH, SONNEVELD E, MURK AJ, VISSER TJ, coll. Biotransformation of brominated flame retardants into potentially endocrine-disrupting metabolites, with special attention to 2,2',4,4'-tetrabromodiphenylether (BDE-47). *Mol Nutr Food Res* 2008, **52** : 284-298

KARPETA A, GREGORASZCZUK E. Mixture of dominant PBDE congeners (BDE-47, -99, -100 and -209) at levels noted in human blood dramatically enhances progesterone secretion by ovarian follicles. *Endocr Regul* 2010, **44** : 49-55

MERCADO-FELICIANO M, BIGSBY RM. The polybrominated diphenyl ether mixture DE-71 is mildly estrogenic. *Environ Health Perspect* 2008, **116** : 605-611

OGUNBAYO OA, LAI PF, CONNOLLY TJ, MICHELANGELI F. Tetrabromobisphenol A (TBBPA), induces cell death in TM4 Sertoli cells by modulating Ca^{2+} transport proteins and causing dysregulation of Ca^{2+} homeostasis. *Toxicol In Vitro* 2008, **22** : 943-952