

59

Mécanismes d'action

Plusieurs études *in vivo* ont mis en évidence des effets œstrogéniques des parabènes (Darbre et coll., 2002 et 2003 ; Vo et Jeung, 2009). L'étude des mécanismes d'action a été centrée sur la liaison aux récepteurs aux hormones stéroïdes (ER et AR).

Récepteurs nucléaires : activité œstrogénique

Dès 1998, des études ont mis en évidence la capacité des parabènes à se lier au récepteur œstrogénique. Les parabènes ont cependant une capacité de liaison au récepteur des œstrogènes de 10 000, 30 000, 150 000 et 2 500 000 fois plus faible (respectivement pour le butyl, le propyl, l'éthyl et le méthyl parabène) que le ligand naturel, le 17 β -œstradiol (Routledge et coll., 1998).

Dans un test d'inhibition compétitive, Blair et coll. (2000) ont testé sept parabènes pour leur capacité à déplacer l'œstradiol tritié du récepteur aux œstrogènes isolé de l'utérus de rate ovariectomisée : l'éthyl hexyl parabène était le plus puissant (RBA – *relative binding affinity* – 0,018 %) suivi par l'heptyl (0,008 %), le benzyl (0,003 %), le butyl (0,0009 %), le propyl (0,0006 %), l'éthyl (0,0006 %), et le méthyl parabène (0,0004 %). Pour comparaison dans cet essai, le bisphénol A avait un RBA de 0,008 %. Des résultats similaires ont été rapportés par Nishihara et coll. (2000), dans un test de levure recombinante transfectée avec le gène *ERA* et utilisant la β -galactosidase comme gène rapporteur. Dans le test de levure recombinante, l'intensité de l'activité œstrogénique mesurée augmente avec la longueur de la chaîne (méthyl<éthyl<propyl<butyl parabène) (Routledge et coll., 1998). Le PABA, métabolite principal, n'a aucune affinité pour ce récepteur.

De nombreuses études ont étudié l'affinité des parabènes pour le récepteur aux œstrogènes dans le test de prolifération des cellules issues de la lignée tumorale mammaire MCF-7 (Darbre et coll., 2002 et 2003 ; Pugazhendhi et coll., 2005 et 2007 ; Van Meeuwen et coll., 2008 ; Sadler et coll., 2009). La capacité de stimulation est 10⁵ à 10⁷ fois inférieure à celle du 17 β -œstradiol (Okubo et coll., 2001 ; Byford et coll., 2002). L'activité œstrogénique augmente dans l'ordre méthyl, éthyl, propyl, butyl, isopropyl et isobutyl parabènes ; les RBA

sont similaires pour les récepteurs alpha et beta (Okubo et coll., 2001). Ces résultats sont confirmés par Byford et coll. (2002) qui rapportent également qu'à 10^{-6} M, les parabènes augmentent l'expression des gènes régulés dans les cellules MCF-7. Darbre et coll. (2002 et 2003) ont confirmé l'activité œstrogénique de l'isobutyl et du benzyl parabène dans les cellules MCF-7. Ces parabènes augmentent l'expression des gènes régulés par les œstrogènes à des concentrations de 10^{-5} M.

Pugazhendhi et coll. (2007) ont analysé l'expression de 19 881 gènes dans les cellules MCF-7 après 7 jours d'exposition à 5×10^{-4} M de méthyl parabène, 10^{-5} M de n-butyl parabène et 10^{-8} M de 17β -œstradiol. L'étude a identifié des gènes sur- ou sous- régulés à la même intensité par les parabènes et le 17β -œstradiol. Cependant, la majorité des gènes était régulée différemment par les trois traitements et des différences existaient entre les parabènes eux-mêmes. De telles différences sont également rapportées par Sadler et coll. (2009). Ainsi, parmi les gènes régulés par les œstrogènes, seuls 39 % le sont par le méthyl parabène et 27 % par le butyl parabène. Certains gènes sont régulés de la même façon par l'œstradiol et les deux parabènes comme le récepteur B de l'IL17. Certains gènes ne sont régulés que par l'œstradiol (*syndecan 2*), le méthyl parabène (*connexine 37*) ou le butyl parabène (*HSPC157*).

Pour Terasaka et coll. (2006), la longueur des chaînes alkyles des parabènes est importante pour l'effet œstrogénique dans les cellules MCF-7. Il existe une corrélation forte entre l'expression des gènes dépendants des œstrogènes et ceux induits par le propyl parabène, comparativement au méthyl parabène ou à l'éthyl parabène. Cet effet a également été rapporté par d'autres groupes (Gomez et coll., 2005).

Le tableau 59.I présente les relations entre un œstrogène et les parabènes par différentes méthodes.

Tableau 59.I : Résumé des corrélations entre le 17β -œstradiol et les parabènes (Terasaka et coll., 2006)

Composé	Corrélation avec Gènes œstrogène dépendant (coefficient R)	Liaison à ER (RBA %) ^a	Test de double hybride en levure (REC10, M) ^b
Œstrogène (17β -œstradiol)	0,91 ^c	100	3×10^{-10}
Méthyl parabène	-0,21	0,0004	4×10^{-4}
Éthyl parabène	0,19	0,0006	1×10^{-4}
Propyl parabène	0,74	0,0006	1×10^{-5}
Butyl parabène	0,60	0,0009	3×10^{-6}

^a Données Blair et coll. (2000). RBA est l'affinité de liaison relative par rapport à celle du 17β -œstradiol de 10 % ;

^b Données Nishihara et coll. (2000). REC10 indique la concentration (M) des parabènes donnant 10 % de l'activité de 10 nM de 17β -œstradiol, quantifiée par l'activité de la β -galactosidase dans un système de gènes rapporteurs ;

^c Moyenne de 9 essais pour 120 gènes (S.D. = 0.024)

Rajakpaxe et coll. (2002) ont observé que les combinaisons de xénoœstrogènes qui incluent le benzyl parabène, peuvent produire un effet même si les concentrations de chaque composé sont inférieures à celle requise lorsqu'ils sont testés isolément.

Une hypothèse concernant l'activité œstrogénique des parabènes a été proposée par Prusakiewicz et coll. (2007). Les auteurs ont rapporté que les parabènes inhibent les sulfotransférases de la peau et des kératinocytes. Ces enzymes participent au métabolisme des œstrogènes et leur inhibition pourrait conduire à une augmentation du taux des œstrogènes endogènes. Dans cette étude, le butyl parabène possédait la plus forte activité inhibitrice.

Récepteur nucléaires : activité anti-androgénique

Une très faible activité anti-androgénique a également été observée *in vitro* avec le méthyl, propyl et butyl parabène (Chen et coll., 2007 ; Kim et coll., 2010).

En conclusion, un certain nombre d'études ont mis en évidence la capacité des parabènes à se lier au récepteur des œstrogènes avec cependant une affinité 10 000 à 2 500 000 fois plus faible que le ligand naturel. Dans plusieurs tests, l'intensité de l'activité œstrogénique augmente avec la longueur de la chaîne (méthyl<éthyl<propyl<butyl parabène).

BIBLIOGRAPHIE

BLAIR RM, FANG H, BRANHAM WS, HASS BS, DIAL SL, MOLAND CL, TONG W, SHI L, PERKINS R, SHEEHAN DM. The estrogen receptor relative binding affinities of 188 natural and xenochemicals: structural diversity of ligands. *Toxicol Sci* 2000, **54** : 138-153

BYFORD JR, SHAW LE, DREW MG, POPE GS, SAUER MJ, et coll. Œstrogenic activity of parabens in MCF7 human breast cancer cells. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2002, **80** : 49-60

CHEN J, AHN KC, GEE NA, GEE SJ, HAMMOCK BD, et coll. Antiandrogenic properties of parabens and other phenolic containing small molecules in personal care products. *Toxicol Appl Pharmacol* 2007, **221** : 278-284

DARBRE PD, BYFORD JR, SHAW LE, HORTON RA, POPE GS, et coll. Œstrogenic activity of isobutylparaben *in vitro* and *in vivo*. *J Appl Toxicol* 2002, **22** : 219-226

DARBRE PD, BYFORD JR, SHAW LE, HALL S, COLDHAM NG, et coll. Œstrogenic activity of benzylparaben. *J Appl Toxicol* 2003, **23** : 43-51

GOMEZ E, PILLON A, FENET H, ROSAIN D, DUCHESNE MJ, et coll. Estrogenic activity of cosmetic components in reporter cell lines: parabens, UV screens, and musks. *J Toxicol Environ Health A* 2005, **68** : 239-251

KIM TS, YOON CY, JUNG KK, KIM SS, KANG IH, BAEK JH, JO MS, KIM HS, KANG TS. In vitro study of Organization for Economic Co-operation and Development (OECD) endocrine disruptor screening and testing methods- establishment of a recombinant rat androgen receptor (rrAR) binding assay. *J Toxicol Sci* 2010, **35** : 239-243

NISHIHARA T, NISHIKAWA J, KANAYAMA T, DAKEYAMA F, SAITO K, et coll. Estrogenic activities of 517 chemicals by yeast two-hybrid assay. *J Health Sci* 2000, **46** : 282-298

OKUBO T, YOKOYAMA Y, KANO K, KANO I. ER-dependent estrogenic activity of parabens assessed by proliferation of human breast cancer MCF-7 cells and expression of ERalpha and PR. *Food Chem Toxicol* 2001, **39** : 1225-1232

PRUSAKIEWICZ JJ, HARVILLE HM, ZHANG Y, ACKERMANN C, VOORMAN RL. Parabens inhibit human skin estrogen sulfotransferase activity: possible link to paraben estrogenic effects. *Toxicology* 2007, **232** : 248-256

PUGAZHENDHI D, POPE GS, DARBRE PD. Estrogenic activity of p-hydroxybenzoic acid (common metabolite of paraben esters) and methylparaben in human breast cancer cell lines. *J Appl Toxicol* 2005, **25** : 301-309

PUGAZHENDHI D, SADLER AJ, DARBRE PD. Comparison of the global gene expression profiles produced by methylparaben, n-butylparaben and 17beta-oestradiol in MCF7 human breast cancer cells. *J Appl Toxicol* 2007, **27** : 67-77

RAJAPAKSE N, SILVA E, KORTENKAMP A. Combining xenoestrogens at levels below individual no-observed-effect concentrations dramatically enhances steroid hormone action. *Environ Health Perspect* 2002, **110** : 917-921

ROUTLEDGE EJ, PARKER J, ODUM J, ASHBY J, SUMPTER JP. Some alkyl hydroxy benzoate preservatives (parabens) are estrogenic. *Toxicol Appl Pharmacol* 1998, **153** : 12-19

SADLER AJ, PUGAZHENDHI D, DARBRE PD. Use of global gene expression patterns in mechanistic studies of oestrogen action in MCF7 human breast cancer cells. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 2009, **114** : 21-32

TERASAKA S, INOUE A, TANJI M, KIYAMA R. Expression profiling of estrogen-responsive genes in breast cancer cells treated with alkylphenols, chlorinated phenols, parabens, or bis- and benzoylphenols for evaluation of estrogenic activity. *Toxicol Lett* 2006, **163** : 130-141

VAN MEEUWEN JA, VAN SO, PIERSMA AH, DE JONG PC, VAN DEN BERG M. Aromatase inhibiting and combined estrogenic effects of parabens and estrogenic effects of other additives in cosmetics. *Toxicol Appl Pharmacol* 2008, **230** : 372-382

VO TTB, JEUNG EB. An Evaluation of Estrogenic Activity of Parabens Using Uterine Calbindin-D9k Gene in an Immature Rat Model. *Toxicological Sciences* 2009, **112** : 68-77