

Fertilité masculine et xénobiotiques

Perturbateurs endocriniens, exposition multiple et biomarqueuse

Période : décembre 2008 à mars 2009

Brigitte LE MAGUERESSE-BATTISTONI

Faculté de médecine Lyon-sud - Inserm U870 / INRA 1235 - Oullins

Mots clés : Différenciation testiculaire, Perturbateurs endocriniens, Syndrome de dysgénésie testiculaire

Au cours des dernières décennies, de nombreuses études publiées signalaient un déclin régulier de la qualité du sperme, une augmentation de l'incidence du cancer du testicule et des malformations de l'appareil génital masculin, en particulier cryptorchidie¹ et hypospadias². Le Professeur Niels Skakkebaek et ses collègues (Toppari *et al.*, 1996) ont alors développé l'hypothèse que ces anomalies de la sphère génitale n'étaient pas des troubles distincts, mais qu'ils témoignaient d'une affection commune appelée syndrome de dysgénésie gonadique, dont l'origine serait à rechercher dans la vie fœtale. Un rôle possible des perturbateurs endocriniens dans l'étiologie³ de ce syndrome a alors été suggéré et la recherche de biomarqueurs d'exposition est devenue l'objectif de beaucoup d'études. La faune sauvage est, elle aussi, exposée de façon chronique aux mélanges de résidus chimiques qui constituent des contaminants de l'environnement. Certains de ces polluants restent dans les sols et sont appelés Polluants Organiques Persistants (POP). Leur production a été interdite, mais de par leur rémanence et leur propagation par le vent, ils sont retrouvés dans tous les compartiments de l'environnement, jusque dans l'Arctique et se concentrent dans les tissus adipeux en remontant dans la chaîne alimentaire. De nombreuses équipes dans le monde tendent à développer des modèles d'étude alternatifs ayant recours soit à des modèles expérimentaux animaux, comme le poisson zèbre, dont la génétique a été bien étudiée, soit à des modèles *in silico* prédictifs de l'impact des polluants sur la fonction endocrine. En même temps, devrait se développer la notion de toxicologie intégrative, pour prendre en compte les probables « cross-talk⁴ » entre tissus endocrines. Ces différents aspects sont traités dans les trois publications sélectionnées.

Le gène « desert hedgehog » pourrait être un bon marqueur testiculaire d'exposition aux perturbateurs endocriniens

Dans cette publication, Brokken *et al.* (2009) développent l'hypothèse que le gène desert hedgehog⁵ (dhh) est une cible des perturbateurs endocriniens à activité anti-androgénique. En effet, les souris mâles Dhh-/- (c'est-à-dire qu'ils n'expriment pas Dhh), présentent de petits testicules à la naissance et sont stériles à l'âge adulte. Dhh est un gène

déterminant dans la différenciation des lignées cellulaires. Dans le testicule fœtal, Dhh est exprimé dans la cellule de Sertoli⁶ immédiatement après l'expression du gène Sry⁷, gène du déterminisme sexuel, tandis que le récepteur de Dhh, Patch, est exprimé au niveau des cellules péricubulaires⁸ et des cellules de Leydig⁹ (Bitgood *et al.*, 1995; Clark *et al.*, 2000).

Les cellules de Sertoli jouent un rôle structurel et nourricier pour la lignée germinale. Elles forment les tubes séminifères qui sont délimités par une couronne de cellules péricubulaires, et sont le siège de la production des spermatozoïdes. Les cellules de Leydig sont localisées dans le tissu interstitiel entre les tubes séminifères. Elles synthétisent la testostérone et l'insulin-like factor 3. La testostérone est nécessaire au déroulement normal de la spermatogenèse, au développement des organes génitaux externes pendant la vie fœtale et des caractères sexuels secondaires à la puberté. L'insulin-like factor 3 est indispensable à la descente des testicules vers le scrotum.

Les auteurs exposent les femelles souris gestantes au flutamide entre le 10^{ème} jour embryonnaire 10 et la fin de la gestation. Le flutamide est un antiandrogène agoniste, c'est-à-dire qu'il se fixe au récepteur des androgènes et empêche de façon compétitive la liaison de la testostérone à son propre récepteur. La période d'exposition au flutamide inclut la phase de différenciation sexuelle des fœtus. Il est donc attendu que le flutamide interfère avec la production par les fœtus mâles de la testostérone, hormone nécessaire à la masculinisation du fœtus. Les résultats révèlent l'absence de modifications du poids des mères gestantes ou des fœtus pendant la durée de l'expérience. En revanche, l'analyse des ARN testiculaires montre une baisse de l'expression de Dhh, de son récepteur Patch, ainsi que de plusieurs enzymes de la stéroïdogénèse et de l'insulin-like factor 3. Afin d'étudier directement l'impact de la flutamide, les testicules des fœtus des mères exposées ont été prélevés au 14^{ème} jour embryonnaire, mis en culture et exposés soit à un inhibiteur spécifique de Dhh, soit à un stimulateur de l'action Dhh. La fonctionnalité de la cellule de Leydig est appréciée en suivant la production de testostérone et l'expression d'enzymes de la stéroïdogénèse et du récepteur à Dhh. Ces expériences permettent de montrer que l'altération de la fonction de la cellule de Leydig est la conséquence de la baisse de l'expression de Dhh.

Commentaire

Ces résultats mettent en évidence que le gène *dhh* est sous dépendance initiale de *Sry*, puisqu'il ne s'exprime ni dans une gonade fœtale indifférenciée, ni dans une gonade fœtale femelle. L'étude montre que *Dhh* active, après liaison à son récepteur Patch, le programme de différenciation de la cellule de Leydig, mais que le maintien de l'expression de *Dhh* est dépendant des androgènes. Le corollaire de cette expérience est l'activation expérimentale de la voie *hedgehog* dans une gonade fœtale femelle. En présence de cette activation, on assiste à la différenciation ectopique de cellules de Leydig qui produisent des androgènes et l'*insulin-like factor 3*, et on constate une virilisation des embryons femelles et la descente des ovaires (Barsoum *et al.*, 2009).

Ces résultats expérimentaux doivent être rapprochés de la découverte de mutations du gène *Dhh* chez des hommes infertiles (Umehara *et al.*, 2000). Par ailleurs, Fowler *et al.* (2008 ; voir Bulletin de Veille Scientifique numéro 7) ont rapporté une baisse significative de l'expression de *Dhh* dans les testicules de fœtus âgés de 11 à 21 semaines issus d'avortements provenant de femmes ayant fumé de 10 à 12 cigarettes par jour. *Dhh* pourrait donc constituer un bon marqueur d'exposition aux perturbateurs endocriniens. Il serait intéressant d'examiner les mécanismes de sa régulation au cours du développement et chez l'adulte, afin de définir s'il est une cible des perturbateurs endocriniens, et quelles sont les conséquences d'une baisse de son expression dans un testicule post-natal normalement constitué.

Le modèle poisson zèbre (ou *Danio rerio*) permet d'analyser les mécanismes délétères reprotoxiques induits par les polluants organiques persistants

Les poissons font partie des modèles expérimentaux les plus utilisés en écotoxicologie dans le cadre de l'évaluation des dangers des substances chimiques et du développement de méthodes d'expérimentation dites alternatives afin de limiter l'expérimentation animale. Dans cette publication, Nourizadeh-Lillabadi *et al.* (2009) développent un modèle d'étude sur l'impact à l'échelle transcriptomique d'un mélange de polluants organiques persistants (POP) sur le développement et les fonctions de reproduction du poisson zèbre. Les polluants sont apportés par l'alimentation dès l'éclosion des œufs jusqu'au sacrifice à 5 mois d'âge (maturation sexuelle). Le développement des poissons zèbres est suivi depuis le stade larvaire jusqu'au stade de maturation sexuelle. La préparation de la mixture de polluants est réalisée à partir du foie de lottes (*burbot lota lota*) pêchées dans les lacs norvégiens de Mjosa ou de Lota.

Les auteurs démontrent que les POP présents dans les foies de lotte sont en quantité différente selon le lieu de pêche. Les lottes pêchées dans le lac de Mjosa sont plus forte-

ment polluées que les lottes pêchées dans le lac de Lota. Chaque mixture incorporée dans l'alimentation des poissons est analysée pour sa teneur en POP. Les POP présents dans le foie des poissons zèbres sont également mesurés après sacrifice. La composition relative des POP détectés dans le foie des poissons zèbres exposés reflète celle présente dans le foie des lottes pêchées dans le lac de Mjosa ou le lac de Lota. Les poissons zèbres exposés ont une survie réduite. La mortalité a essentiellement lieu pendant la vie larvaire. Le nombre de poissons zèbres phénotypiquement mâles est augmenté chez les poissons exposés. Un avancement de l'âge de la puberté est également observé.

Ces observations suggèrent que les POP présents dans la mixture exercent une activité de type androgénique. Les poissons exposés sont également plus lourds à 5 mois d'âge que les poissons non exposés, suggérant une altération du métabolisme. Une analyse transcriptomique des foies et testicules des poissons exposés aux POP confirme une altération de l'expression i) des gènes relevant de la signalisation endocrine et de la croissance, incluant une altération de l'expression de co-activateurs des récepteurs¹⁰ aux hormones stéroïdiennes et thyroïdiennes et ii) de gènes de la signalisation insulinique et du métabolisme.

Commentaire

Le poisson zèbre représente un modèle d'étude intéressant pour évaluer l'impact des polluants sur les grandes étapes du développement du poisson depuis le stade larvaire jusqu'au stade adulte. Ce travail révèle que les perturbateurs endocriniens affectent non seulement le développement des fonctions de reproduction, mais également la régulation du métabolisme énergétique. Il serait donc important d'étudier le rôle que pourraient avoir les polluants, chez l'homme, dans l'épidémie d'obésité contemporaine et dans l'augmentation des troubles de la reproduction. A l'échelle économique, il devrait être possible de contrôler les niveaux de contamination par les polluants de la nourriture pour les poissons d'élevage afin de limiter l'exposition de ces animaux et *in fine* celle de l'homme. Cette méthode pourrait être développée à plus large échelle et permettre de mesurer l'impact des mélanges réels de polluants des différentes zones de pêche au niveau mondial sur le développement et les fonctions de reproduction du poisson zèbre. Ceci permettra alors une cartographie des taux de pollution des zones de pêche.

Impact d'une exposition in utero à un mélange d'anti-androgènes sur la fonction de reproduction du rat mâle

Dans cette publication, Rider *et al.* (2009) examinent l'impact cumulé sur la fonction de reproduction mâle de plusieurs perturbateurs endocriniens identifiés comme anti-androgènes, lorsqu'ils sont administrés *in utero*. L'originalité

Perturbateurs endocriniens, exposition multiple et biomarqueuse

Brigitte LE MAGUERESSE-BATTISTONI

du travail présenté tient dans la dose des substances administrées, ainsi que dans le choix des combinaisons de substances. En effet, les substances administrées diffèrent de par leur mécanisme d'action. Certains des anti-androgènes sont des agonistes, c'est-à-dire qu'ils se lient au récepteur des androgènes et entrent en compétition avec le ligand endogène¹¹, sans initier la cascade des événements normalement engendrés après liaison des androgènes à leur récepteur. C'est le cas des pesticides : vinclozoline (aujourd'hui interdit de production en Europe), procymidone, linuron et prochloraz. D'autres perturbateurs endocriniens ne sont pas des agonistes, mais altèrent la synthèse fœtale de testostérone et donc le développement des organes génitaux externes. Cela peut se traduire par un hypospadias ou une agénésie des épидидymes¹². Ils peuvent aussi agir sur la synthèse de l'insulin-like factor 3, l'hormone responsable de la descente des testicules vers le scrotum. L'absence de l'insulin-like factor 3 entraîne donc une cryptorchidie. Les phtalates, ces plastifiants produits en large quantité et aujourd'hui reconnus comme reprotoxiques, agissent sur les niveaux de ces deux hormones, testostérone et insulin-like factor 3 chez les rongeurs (Mahood *et al.*, 2007). Chez l'homme, une étude épidémiologique révèle une corrélation entre les taux urinaires de phtalates chez les mères et une altération de la distance ano-génitale chez les garçons nouveau-nés (Swan *et al.*, 2005). La distance ano-génitale est un excellent marqueur de l'exposition anténatale aux androgènes (Welsch *et al.*, 2008 ; cf. Bulletin de Veille Scientifique numéro 8). Par ailleurs, une étude récente (Lambrot *et al.*, 2009 ; voir Bulletin de Veille Scientifique numéro 9) suggère que la cellule germinale est également une cible directe des phtalates.

Dans une première étape du travail rapporté dans la publication, chaque perturbateur endocrinien est étudié seul en dose-réponse. Ensuite des associations d'anti-androgènes sont réalisées de façon à tester les effets combinés de molécules selon que leur mécanisme d'action antiandrogénique est commun ou non. Les résultats montrent que les effets sont bien plus délétères en association que lorsque les molécules sont utilisées seules. Par exemple, en utilisant une dose de vinclozoline entraînant une incidence de 10 % d'hypospadias dans la descendance en association avec une dose de procymidone sans effet sur l'hypospadias, les auteurs observent une incidence de 96 % d'hypospadias. Les mêmes résultats sont obtenus si le mélange contient quatre phtalates chacun à une dose n'entraînant aucun hypospadias : la résultante donne 50 % d'hypospadias dans la descendance. Les associations de molécules agonistes et non-agonistes produisent donc des effets supérieurs à la somme des effets individuels exercés par chacun des deux groupes.

Enfin, à partir des relations dose-réponse enregistrées pour chacun des perturbateurs endocriniens et des effets cumulés observés avec les associations testées, les auteurs ont

développé une équation mathématique prédictive des effets engendrés par les associations de polluants. Ils montrent que le modèle de l'additivité des doses pour prédire un effet (exemple : hypospadias) peut être appliqué aux substances agissant sur la voie de signalisation androgénique, qu'elles agissent ou non par le même mécanisme d'action (voir Bulletin de Veille Scientifique numéro 8, note concernant l'article de Rider *et al.*, 2008).

Commentaire

Ces résultats sont à rapprocher des travaux du groupe de Hass et collaborateurs (Hass *et al.*, 2007 ; Christiansen *et al.*, 2008) qui démontrent que l'addition de perturbateurs endocriniens à des doses sans effet sur les paramètres androgéno-dépendants étudiés produit des effets bien supérieurs à la somme des effets pris individuellement.

La notion de risque devient alors extrêmement complexe puisqu'elle nécessite l'identification de toutes les sources d'exposition et la catégorisation des molécules d'après leur mécanisme d'action.

Conclusion générale

Les hommes comme les animaux étant exposés à de multiples polluants, il est important de développer des modèles d'étude prédictifs d'une exposition réelle. Dans une première étape, il était nécessaire de s'appuyer sur l'expérimentation animale pour définir les interactions possibles entre les polluants. La mise en évidence du fait que les effets cumulés de plusieurs polluants peuvent être bien supérieurs à la somme des effets des polluants pris individuellement ouvre une nouvelle ère de recherche à plusieurs niveaux. Il faut développer des méthodes alternatives à l'expérimentation animale, non seulement en raison de la pression de l'opinion publique, opposée à ce type d'expérimentation, mais aussi en raison des coûts engendrés par de telles expériences. Les modèles *in vitro* présentent un certain nombre d'avantages dans la mesure où des biomarqueurs d'exposition ont été caractérisés, comme le gène Dhh. (Brokken *et al.*, 2009). Ses niveaux d'expression pourraient être suivis soit en culture de testicules fœtaux, soit en lignée ou en culture primaire de cellules de Sertoli. Le poisson zèbre est aussi une alternative au modèle rongeur. Enfin, les modèles *in silico* prédictifs d'une exposition peuvent s'avérer utiles. Il apparaît donc nécessaire de solliciter des compétences dans le domaine des mathématiques et d'associer des équipes de recherche de mathématiciens dans les programmes de recherche sur les perturbateurs endocriniens. Le travail *in vivo*

sur le poisson zèbre a également révélé que si la fonction de reproduction était une cible avérée des perturbateurs endocriniens, ce n'est pas la seule affectée. Des interactions sont attendues avec les autres fonctions endocrines et notamment la régulation du métabolisme énergétique. C'est le champ de la toxicologie intégrative.

Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Male Reproductive Health, Reproductive, Toxicology.

Publications analysées

Brokken LJ, Adamsson A, Paranko J et al. Antiandrogen exposure *in utero* disrupts expression of desert hedgehog and insulin-like factor 3 in the developing rat testis. *Endocrinology*. 2009; 150(1):445-51.

Nourizadeh-Lillabadi R, Lyche JL, Almaas C et al. Transcriptional regulation in liver and testis associated with developmental and reproductive effects in male zebrafish exposed to natural mixtures of Persistent Organic Pollutants (POP). *J. Toxicol. Environ. Health*. 2009; 72(3-4):112-30.

Rider CV, Wilson VS, Howdeshell KL et al. Cumulative effects of *in utero* administration of mixtures of "Antiandrogens" on male rat reproductive development. *Toxicol. Pathol.* 2009; 37(1):100-13.

Publications de référence

Barsoum IB, Bingham NC, Parker KL et al. Activation of the hedgehog pathway in the mouse fetal ovary leads to ectopic appearance of fetal Leydig cells and female pseudohermaphroditism. *Dev. Biol.* 2009; 329(1):96-103.

Bitgood MJ, Shen L, McMahon AP. Sertoli cell signaling by Desert hedgehog regulates the male germline. *Curr. Biol.* 1995; 6(3):298-304.

Clark AM, Garland KK, Russell LD. Desert hedgehog (Dhh) gene is required in the mouse testis for formation of adult-type Leydig cells and normal development of peritubular and seminiferous tubules. *Biol. Reprod.* 2000; 63(6):1825-38.

Christiansen S, Scholze M, Axelstad M et al. Combined exposure to anti-androgens causes markedly increased frequencies of hypospadias in the rat. *Int. J. Androl.* 2008; 31(2):241-8.

Fowler PA, Cassie S, Rhind SM et al. Maternal smoking during pregnancy specifically reduces human fetal desert hedgehog gene expression during testis development. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2008; 93(2):619-26.

Hass U, Scholze M, Christiansen S et al. Combined exposure to anti-androgens exacerbates disruption of sexual differentiation in the rat. *Environ. Health Perspect.* 2007; 115(S-1): 122-8.

Lambrot R, Muczynski V, Lécureuil C et al. Phthalates impair germ cell development in the human fetal testis *in vitro* without change in testosterone production. *Environ. Health Perspect.* 2009; 117(1):32-7.

Mahood IK, Scott HM, Brown R et al. *In utero* exposure to di(n-butyl)phthalate and testicular dysgenesis: comparison of fetal and adult end-points and their dose sensitivity. *Environ. Health Perspect.* 2007; 11(S-1): 55-61.

Swan SH, Main KM, Liu F et al. Decrease in anogenital distance among male infants with preantnatal phthalate exposure. *Environ. Health Perspect.* 2005; 113(8):1056-61.

Toppari J, Larsen JC, Christiansen P et al. Male reproductive health and environmental xenoestrogens. *Environ. Health Perspect.* 1996; 104 (S-4): 741-803.

Umehara F, Tate G, Itoh K et al. A novel mutation of desert hedgehog in a patient with 46,XY partial gonadal dysgenesis accompanied by minifascicular neuropathy. *Am. J. Hum. Genet.* 2000; 67(5):1302-5.

Welsch M, Saunders PT, Finken M et al. Identification in rats of a programming window for reproductive tract masculinization, disruption of which leads to hypospadias and cryptorchidism. *J. Clin. Invest.* 2008; 118(4):1479-90.

Publications non sélectionnées

Kumar V, Chakraborty A, Kural MR et al. Alteration of testicular steroidogenesis and histopathology of reproductive system in male rats treated with triclosan. *Reprod. Toxicol.* 2008; 27(2):177-85.

Le triclosan est une substance chimique antibactérienne rajoutée dans une grande diversité de produits. Dans la publication, les auteurs ont exposé des rats adultes à des doses de triclosan allant de 5 à 20 mg/kg pendant 60 jours, et la fonction de reproduction est analysée. Le produit est décrit comme exerçant une activité de type anti-androgénique pour des doses de 20 mg/kg, ce qui se traduit par une baisse de l'activité stéroïdogène et de la production des spermatozoïdes. Cependant, les doses utilisées de triclosan sont excessivement importantes, entre 5 et 20 mg/kg alors que la dose pour laquelle 50 % de létalité est observée chez le rat est de 89 mg/kg.

Jin MH, Hong CH, Lee HY et al. Toxic effects of lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) on development of male reproductive system: Involvement of antioxidants, oxidants, and p53 protein. *Environ. Toxicol.* 2008; sous presse.

La Dioxine de Seveso est le congénère le plus actif des dioxines, et la fonction de reproduction est une cible majeure

de la dioxine. Il s'agit d'un polluant persistant largement présent dans les différents compartiments, air, sol, sédiments. L'homme s'y trouve donc exposé de façon chronique à des doses de l'ordre du picogramme/jour/kg de poids corporel. Dans ce travail, des doses très importantes ont été administrées, de l'ordre du microgramme à des souris en phase de lactation, et le développement de la fonction de reproduction des mâles a été suivi jusqu'à la maturation sexuelle. Il est observé une baisse de la production de testostérone que les auteurs attribuent à une augmentation du stress oxydant consécutive à l'induction de p53. Cependant, l'exposition est 10^6 fois la Dose Journalière Admissible (DJA), et même en considérant une correction inter-espèces et inter-individus, cette dose n'a pas aujourd'hui de réalité physiologique.

Li YJ, Song TB, Cai YY et al. Bisphenol A exposure induces apoptosis and upregulation of Fas/FasL and caspase-3 expression in the testes of mice. *Toxicol. Sci.* 2009; 108(2):427:36.

Il existe une controverse sur les effets délétères du bisphénol A (BPA), un produit à demi-vie courte mais produit en grande quantité. L'homme s'y trouve donc fortement exposé. La controverse repose sur l'existence d'effets à faible et forte dose. Dans ce travail, des souris mâles juvéniles sont exposées à des doses extrêmement fortes proches du mg/kg c'est-à-dire 20 000 fois la Dose Journalière Admissible (DJA), et donc sans réalité environnementale. Les auteurs démontrent une augmentation de l'apoptose des cellules germinales et des cellules de Leydig par un mécanisme empruntant la voie Fas-Fas ligand, et provoquant in fine une baisse de la production de spermatozoïdes. Le BPA a probablement agi dans cette étude comme un agoniste des estrogènes en se liant au récepteur alpha de façon compétitive avec le ligand endogène.

Meeker JD, Johnson PI, Camann D et al. Polybrominated diphenyl ether (PBDE) concentrations in house dust are related to hormone levels in men. *Sci. Total Environ.* 2009; 407(10):3425-9.

Le travail présenté est très intéressant. L'homme est en effet exposé à de très nombreux polluants dans sa maison (meubles, peintures, mais aussi produits d'entretien). Les auteurs mettent en évidence une relation inverse entre les taux des hormones hypophysaires LH (luteinizing stimulating hormone) et FSH (follicle stimulating hormone) avec la concentration de poussières; et d'autre part, une corrélation positive entre les taux d'hormones inhibine B et la sex hormone binding globuline (SHBG) avec ce même paramètre. Malheureusement la cohorte recrutée est de 24 hommes, soit un effectif insuffisant pour permettre d'en tirer des conclusions. D'autres études épidémiologiques seraient à réaliser afin de mieux caractériser les sources de pollution et les conséquences de ces pollutions sur la fonction de reproduction masculine.

Lexique

- ¹ Cryptorchidie: Arrêt de la migration du testicule dans un point au niveau de son trajet de descente normale entre la région lombaire où il se forme et son emplacement naturel dans le scrotum (ou bourses).
- ² Hypospadias: Anomalie congénitale qui se définit par l'ectopie du méat urétral, c'est-à-dire un abouchement du méat urétral en dehors de la fossette naviculaire du gland, à la face ventrale de la verge.
- ³ Etiologie: Etude des causes directes des maladies. Ce terme désigne aussi les causes elles-mêmes.
- ⁴ Cross-talk: Interactions entre plusieurs voies de signalisation
- ⁵ Desert hedgehog: Il existe 3 gènes *hedgehog* chez les mammifères, le desert *hedgehog*, l'indian *hedgehog* et le sonic *hedgehog*. Ce sont des gènes du développement. Le gène desert *hedgehog* est impliqué dans le développement de la fonction testiculaire et des fibres neuronales.
- ⁶ Cellules de Sertoli: Cellules de soutien à la lignée germinale tant sur un plan nutritif que sur un plan structural. En effet, elles sont le relais hormonal aux hormones trophiques, FSH et testostérone; elles s'étendent de la base jusqu'à l'apex du tube séminifère; elles établissent des contacts étroits avec les cellules de la lignée germinale aux différents stades de la spermatogenèse, les spermatogonies à la base et les cellules méiotiques et post-méiotiques vers l'apex.
- ⁷ Sry (Sex determining region of Y): Gène du déterminisme sexuel. Il est porté sur le chromosome Y et l'absence de son expression conduit à la non différenciation phénotypique en mâle.
- ⁸ Cellules périvitubulaires: Cellules qui entourent les tubes séminifères. Elles ont une origine mésenchymateuse, possède des récepteurs aux androgènes et ont des propriétés tactiles.
- ⁹ Cellules de Leydig: Cellules stéroïdogènes du testicule. Elles produisent de la testostérone en réponse à une stimulation hormonale par leur hormone trophique et sont localisées dans le tissu interstitiel.
- ¹⁰ Co-activateurs des récepteurs: Protéines essentielles à l'activation de l'expression des gènes (ici des récepteurs). Ces co-activateurs ne se lient pas à l'ADN comme les facteurs de transcription, mais associés avec eux, ils permettent une transcription génique plus importante.
- ¹¹ Ligand endogène: Hormone ou facteur de croissance produits localement et de façon physiologique qui va se fixer sur son récepteur. Un xénobiotique agoniste va entrer en compétition avec le ligand endogène pour se fixer sur le même récepteur.
- ¹² Agénésie des épидидymes: Absence de formation des épидидymes pendant la vie embryonnaire.