

Fertilité féminine et xénobiotiques

Fertilité féminine: de la fumée de cigarette aux polluants environnementaux, le doute est-il encore permis ?

Période : décembre 2008 à mars 2009

Dominique OBERSON-GENESTE

Toxibio Consultant – Lescar

Mots clés : **Apoptose, Fertilité féminine, FIV, HAP, HAPH, Tabac**

Chez la femme, la fertilité normale passe par une orchestration de nombreuses fonctions, qui, jusqu'alors assez peu explorées - certainement en raison de leur complexité -, connaissent aujourd'hui un intérêt grandissant.

Ce sont incontestablement les problèmes d'infécondité qui sont à l'origine de ce regain d'intérêt. Les médias ont encore tout récemment relayé les scientifiques pour rappeler que la fertilité chez la femme baissait à partir de 30 ans.

Alors que les effets du tabac sur le développement du fœtus chez la femme enceinte sont depuis longtemps, à juste titre, dénoncés (augmentation d'avortements spontanés, baisse de poids des nouveaux nés, accouchements prématurés, mortalité périnatale, troubles comportementaux possibles, augmentation du risque de tumeur cérébrale, etc.), l'identification d'un effet sur la fertilité naturelle ne date que d'une dizaine d'années.

Les premières méta-analyses, dont celle d'Augood *et al.* (1998), ont pu établir une relation non contestée entre l'infertilité féminine et le tabagisme avec un Odds Ratio (OR) de 1,60 (IC 95 % = [1,34 - 1,91]). L'infertilité, dans la plupart des 12 études (cohortes et cas-témoins) analysées dans la méta-analyse d'Augood (Augood *et al.*, 1998), avait été définie à partir d'un délai de conception¹ supérieur à 12 mois. Plus récemment, l'essor des techniques de procréation médicalement assistée a indirectement offert un terrain de choix aux études portant notamment sur le tabagisme. Elles ont surtout permis d'affiner l'état des recherches dans ce domaine en permettant de suivre certaines des étapes de la conception, grâce en particulier à l'analyse des gamètes et des embryons au cours des fécondations *in vitro* (FIV). Il a notamment été observé chez les fumeuses une diminution de nombre d'ovocytes recueillis par ponction folliculaire après activation à la gonadotrophine² (Cooper et Moley, 2008). Le tabac a également été mis en cause lors de la maturation ovocytaire, renforcée par un effet-dose qui se traduit, pour une consommation supplémentaire de 10 paquets/année, par une baisse de 2,5 du nombre d'ovocytes matures et de deux fois celui d'embryons (Cooper et Moley, 2008). Les analyses cytologiques des ovocytes obtenus par FIV révèlent une fréquence bien plus importante d'ovocytes diploïdes ou de zygotes triploïdes chez les patientes fumeuses avec une forte corrélation dose-réponse, à mettre en relation avec un défaut

de formation du fuseau mitotique et l'expulsion du premier globule polaire³ (Younglay *et al.*, 2005).

La question de l'impact du tabac sur le taux de fécondation est encore controversée, même si la littérature fournit de nombreuses études où les échecs de fécondité sont supérieurs chez les femmes fumeuses, ou encore chez les femmes exposées au tabagisme passif (Neal *et al.*, 2005). Le tabac aurait également un impact sur l'augmentation de l'épaisseur de la zone pellucide⁴, ou encore pourrait accroître la future infertilité des fœtus de sexe féminin exposés *in utero* au tabac (Cooper et Moley, 2008).

Aujourd'hui, de nombreuses interrogations subsistent et les études détaillées ici sont là pour en témoigner. De plus, les 4 000 composés chimiques qui composent la fumée de cigarette, sont aussi pour certains d'entre eux, des polluants environnementaux qui ne manqueront pas de nous intéresser. Les études chez l'animal ou *in vitro*, donnent un éclairage précieux et une approche mécanistique des effets observés ou suspectés chez la femme.

Micro-exposition des follicules ovariens: tabac et HAP

Neal *et al.*, (2008) se sont intéressés à l'exposition aux hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), issus de la combustion incomplète des matières organiques. Ces HAP sont présents dans la fumée de cigarette (dix fois plus concentrés dans la fumée secondaire⁵), mais aussi dans l'air pollué, les gaz d'échappements de moteurs ou l'alimentation (viande ou céréales grillées au barbecue). Les analyses de 5 HAP (Benzo[*a*]pyrène (BaP), Acénaphthène, Phénanthrène, Pyrène, Chrysène) ont porté sur les sérums et fluides folliculaires de 36 femmes engagées dans un programme de FIV: 19 fumeuses (F), 7 exposées au tabagisme passif (TP) et 10 non fumeuses (NF). Les résultats ont montré une exposition des follicules au BaP significativement plus importante chez les fumeuses ($1,32 \pm 0,68$ ng/mL) que chez les non fumeuses ($0,03 \pm 0,01$ ng/mL), alors que dans le groupe exposé au tabagisme passif, la valeur est restée relativement faible ($0,05 \pm 0,01$), à l'inverse des résultats obtenus dans le sérum (TP ($0,98 \pm 0,56$ ng/mL); F ($0,40 \pm 0,13$ ng/mL) et NF ($0,22 \pm 0,15$ ng/mL)). Chez les femmes tabagiques, la concentra-

Fertilité féminine: de la fumée de cigarette aux polluants environnementaux, le doute est-il encore permis ? – Dominique OBERSON-GENESTE

tion dans le fluide folliculaire était positivement corrélée à la consommation de cigarettes ($p < 0,01$). Par ailleurs, les taux de réussite des FIV ont été significativement plus faibles dans les groupes de femmes exposées au tabac (actif 10,5 % ou passif 14,3 %) par comparaison aux femmes non fumeuses (40 %). Le résultat le plus intéressant correspond à la relation forte entre le taux de BaP folliculaire et l'échec de conception chez les femmes engagées dans un programme de FIV: $1,79 \pm 0,86$ ng/mL en cas d'échec $0,08 \pm 0,03$ ng/mL en cas de réussite ($p < 0,001$). Les autres HAP recherchés ont été plus inconstamment détectés que le BaP dans le sérum et dans le fluide folliculaire et aucune association de leurs concentrations dans l'un ou l'autre milieu avec le statut tabagique n'a été observée.

Ces résultats suggèrent que le BaP est bien l'un des protagonistes responsables des effets du tabac sur la fertilité. Malgré l'absence de données précises sur sa pharmacocinétique, il semblerait que sa nature lipophile lui permette de passer rapidement du plasma au travers de la membrane basale⁶ folliculaire, pour diffuser et se concentrer dans les fluides folliculaires. Ceci est conforté par deux résultats: la corrélation positive entre la consommation journalière de cigarettes et la concentration folliculaire de BaP, ainsi que la non détection des différents HAP plus fréquente dans le sérum (60 à 70 %) que dans les fluides folliculaire (10 à 30 %) dans le groupe de femmes non exposées.

Certains métabolites du BaP ont un effet perturbateur endocrinien démontré; d'autres sont capables de former des adduits⁷ à l'ADN et ces deux types d'effet pourraient participer à la diminution de la fertilité des femmes exposées à la fumée de tabac

Commentaire

Les fonctions de la reproduction peuvent être compromises par des expositions à de multiples niveaux incluant, l'hypothalamus, l'hypophyse, les ovaires et tout l'appareil génital (trompes utérines, utérus, vagin). Des études sur le tabac ont déjà pu montrer que la nicotine tritiée est 5 à 11 fois plus concentrée dans le fluide utérin que dans le plasma chez la lapine gravide (Cooper et Moley, 2008), ou encore que les taux de nicotine et de cotinine⁸ dosés dans la glaire cervicale sont chez la femme positivement corrélés au nombre de cigarettes quotidiennement fumées (McCann *et al.*, 1992). L'aspiration du liquide folliculaire chez les femmes impliquées dans les programmes de FIV constitue une opportunité de doser l'exposition à des contaminants qui se trouvent directement dans le micro environnement des gamètes femelles. Chez la femme, des concentrations de cadmium (marqueur non spécifique du tabac) ont été observées à la fois dans le fluide folliculaire et le tissu ovarien.

Cette étude a permis de mettre en évidence une relation forte entre l'exposition au tabac, la présence de BaP dans le

micro-environnement des follicules en pleine croissance et les échecs de FIV, à partir d'un échantillonnage relativement réduit de 36 femmes. Les effets du tabagisme passif sont néanmoins à nuancer en raison des effets cumulés du tabac à la fois chez la femme exposée passivement, mais aussi chez son partenaire fumeur. En effet, le tabac affecte la qualité des gamètes mâles qui peuvent également influencer la réussite des FIV. Il manque par ailleurs certainement à cette étude, des données sur le contrôle de l'exposition aux cigarettes (dosage de cotinine), auto-rapportée et plus encore sur la consommation de cigarettes dans les 24 heures qui ont précédé les dosages. Il semblerait, d'après la forte concentration de HAP retrouvée dans le sérum des femmes exposées passivement, que les couples ne sont certainement pas suffisamment sensibilisés à l'implication de ce type d'exposition et ne l'ont donc pas strictement évité.

Parmi les milliers de composants présents dans la fumée de cigarette, la plupart des travaux s'étaient jusqu'alors concentrés sur la nicotine (ou la cotinine), présente quasi exclusivement dans la fumée de tabac. La recherche de la présence des HAP, techniquement difficile, élargit le domaine d'investigation des substances potentiellement actives sur la fertilité féminine. L'exposition à ces composés, présents dans notre environnement, semble aujourd'hui inévitable, d'où très certainement les taux de HAP folliculaires retrouvés chez 70 à 90 % des non fumeurs (selon les HAP considérés), en concentration néanmoins bien plus faible que chez les fumeurs.

Enfin, le liquide folliculaire apparaît comme étant un outil de choix pour suivre les effets des substances chimiques dans le micro environnement des follicules en développement. On ne peut qu'encourager ce type d'études sur les milliers de femmes qui, chaque année en France et dans le monde, ont recours à ces techniques de procréation médicalement assistée.

Follicules ovariens et apoptose: tabac, HAP et dioxines

Le follicule, l'une des cibles privilégiées de la fumée de cigarette, pourrait être altéré dès la vie intra-utérine et cela se traduit chez la femme en attente de FIV par une diminution du nombre et de la qualité des ovocytes obtenus lors de la ponction folliculaire (Soares et Melo, 2008).

Par ailleurs, le BaP de la fumée de cigarette, est un composé chimique présent de manière ubiquitaire dans l'environnement et qui possède des propriétés mutagènes démontrées chez l'animal et fortement suspectées chez l'homme. Il a été démontré chez la souris que le BaP est notamment capable d'activer le récepteur de la dioxine et des hydrocarbures polycycliques (AhR) largement exprimé dans les cellules ovocytaires et pourrait réguler l'apoptose⁹ au cours de la

gamétogénèse. Cela expliquerait la baisse de réserve folliculaire observée notamment sur des modèles murins exposés aux HAP. Le récepteur AhR reconnaît par ailleurs plus de 250 ligands, dont les principaux appartiennent à la famille des hydrocarbures, des pesticides, et des polychlorodibenzodioxines qui peuvent déclencher l'expression de gènes spécifiques et inhiber les récepteurs aux hormones stéroïdes (œstradiol, progestérone), d'où son rôle dans la perturbation endocrinienne.

L'apoptose survient en particulier naturellement lors du développement embryonnaire dans la dégénérescence des cellules surnuméraires, puisque plus de deux tiers des ovocytes dégèrent pendant la vie fœtale. De nombreux facteurs interviennent pour déclencher l'apoptose, mais tous aboutissent à une voie commune passant par la mitochondrie, la protéine Bcl-2¹⁰ (anti-apoptotique), les caspases 11 et la protéine Bax¹⁰ (pro-apoptotique).

Mulligan-Tuttle et al. (2009) ont donc recherché, chez la souris, si la baisse folliculaire consécutive à l'exposition à la fumée de cigarette était déclenchée par un mécanisme mettant en jeu l'apoptose. Après une exposition de 8 semaines (5 jours/semaine), à raison de 2 cigarettes par jour (soit environ 11 à 14 cycles œstraux¹² en moyenne par souris), les examens microscopiques ont uniquement mis en évidence une diminution significative du pool de follicules primordiaux, les autres stades de maturation (primaire, secondaire ou antral¹³) n'étant pas modifiés. Par ailleurs, la méthode TUNEL¹⁴ n'a pas permis de mettre en évidence une augmentation significative du nombre de cellules en apoptose, et parmi les marqueurs recherchés, seule une baisse significative de l'expression de Bcl-2 a été observée.

En parallèle, les auteurs ont exposé directement au BaP les ovaires de très jeunes souris âgées de 4 jours. Hormis l'observation de l'augmentation de l'expression des protéines Bcl-2 uniquement aux doses intermédiaires (10 et 100 ng/ml), le BaP n'a pas modifié l'ADN des cellules du tissu ovarien exposé *in vitro* de 6 à 24 heures jusqu'à 1 000 ng/ml, cette dose étant considérée comme largement supérieure à celles testées *in vivo*.

Dans ces conditions expérimentales, le mécanisme d'apoptose n'a pas eu d'incidence sur les follicules de souris exposés *in vivo* à la fumée de tabac, ou *ex vivo* au BaP.

Commentaire

Ces résultats vont totalement à l'encontre de travaux antérieurs qui avaient montré, également chez la souris, que les HAP étaient responsables de l'activation en cascade du récepteur (AhR) et de l'expression de gènes dont Bax, qui régule la mort par apoptose des cellules ovariennes (Matikainen et al., 2001 ; Matikainen et al., 2002).

Les auteurs se sont attachés dans cette étude à exposer les cellules folliculaires (*in vivo* ou *in vitro*) à des doses réalistes

de tabac (la fumée de deux cigarettes par jour *in vivo*) ou de BaP (de 1 ng/ml à 10 µg/ml *in vitro*). Les concentrations de BaP testées ont été directement choisies en fonction des analyses des liquides folliculaires de femmes fumeuses (Neal et al., 2008).

Les auteurs concluent à un mécanisme mettant en jeu un défaut de sécrétion d'œstradiol, responsable d'un raccourcissement du cycle œstral, entraînant le recrutement plus rapide des follicules qui ne vont pas à maturité. Ce mécanisme expliquerait la baisse du taux de follicules primordiaux observée chez les souris exposées à la fumée de tabac ou encore l'accélération de la déplétion folliculaire et l'âge de la ménopause avancée en moyenne de 1 à 4 ans chez la femme fumeuse (Midgett et al., 1990).

Cette étude vient relancer le débat sur le rôle joué par l'apoptose dans la baisse de la réserve folliculaire, et rappelle, que la biologie est une science complexe, qui ne peut exclure l'interférence de plusieurs mécanismes.

Délai de conception et dérivés chlorés

Nous avons rapidement indiqué précédemment que non seulement les HAP, mais aussi les HAPH (hydrocarbures aromatiques polycycliques halogénés), parmi lesquels certains polychlorobiphényles (PCB), les polychlorodibenzodioxines (PCDD) et polychlorodibenzofuranes (PCDF), souvent plus simplement désignés par les noms de « dioxines et furanes », auraient tous en commun la capacité de se lier au récepteur AhR. La structure moléculaire de ces récepteurs est très similaire à la fois chez l'être humain et chez l'animal (rat, souris) et leur activation entraîne des effets toxiques qui peuvent survenir y compris aux faibles doses.

L'étude présentée ici (réalisée en 2003), concerne l'intoxication alimentaire accidentelle qui s'est produite dans la partie centrale de l'île de Taiwan en 1979, par l'ingestion d'huiles de riz contaminées par des PCB et des furanes (Yang et al., 2008). Cette intoxication collective est connue sous le nom de Yucheng (maladie de l'huile, en chinois). Cette étude rétrospective a été réalisée par questionnaire auprès de 186 femmes contaminées (âgées de 25 à 45 ans) et 226 femmes non exposées appariées par l'âge et leur proche situation géographique, toutes mariées (moyenne d'âge de 39 ans dans les 2 groupes) et sans grossesse déclarée avant décembre 1979. Les femmes exposées ont été sélectionnées à partir de la cohorte de Yucheng, représentant un total de 2061 victimes de la province de Taïwan, enregistrées entre 1979 à 1983. La sélection des femmes âgées de moins de 20 ans en 2003 (454) s'est faite à partir des numéros de téléphone datant de plus de 20 ans. En l'absence d'une communauté témoin établie au moment de l'intoxication, les auteurs ont eu recours au registre des adresses de 1979 afin d'identifier des familles géographiquement proches et

Fertilité féminine: de la fumée de cigarette aux polluants environnementaux, le doute est-il encore permis ? – Dominique OBERSON-GENESTE

de trouver des femmes témoins appariées par âge (au maximum 3 ans d'écart). Cette recherche ayant conduit à trouver 1293 témoins n'a finalement positivement abouti que dans 310 cas pour les témoins et 254 pour les femmes exposées (coordonnées erronées ou refus de répondre au questionnaire). Pour toutes ces femmes, seule la première grossesse a été prise en compte, afin d'éviter toute interférence entre le délai à concevoir et le nombre de grossesses. Les auteurs ont pu bénéficier de dosages sériques de PCB réalisés antérieurement à l'étude et classer les femmes exposées dans deux groupes selon qu'elles ont été fortement ou faiblement contaminées.

L'étude a révélé des différences dans le délai de conception entre les femmes Yucheng et les femmes non exposées, respectivement de 4 et 3 mois en moyenne ($p = 0,019$). L'analyse multivariée qui a permis d'utiliser simultanément toutes les données recueillies par questionnaire (groupe d'exposition, âge du père et de la mère au moment de la conception, éventuelle exposition professionnelle des parents, consommation de tabac et d'alcool de la mère, poids et taille de la mère, indice de masse corporelle, fréquence des rapports, durée des cycles), a permis de déterminer un taux de fécondité de 0,9 (IC 0,8 – 1,00) correspondant à un délai de conception plus long dans le groupe de femmes exposées aux PCB. En revanche aucune relation dose-effet n'a pu être établie. Il subsiste cependant une interrogation sur l'appartenance ou non du père à la cohorte de Yucheng. Les auteurs ont également mis en évidence un taux d'infertilité (absence de conception après 12 mois d'arrêt de la contraception) de 19,7 % chez les femmes Yucheng, largement supérieur à celui des femmes du groupe témoin 9,7 % (OR = 2,34 ; I.C. 95 % = [1,23 – 4,59]).

Commentaire

De précédentes études avaient permis d'observer sur cette population de femmes Yucheng des menstruations irrégulières et anormalement courtes, ainsi qu'un taux sérique élevé d'œstradiol et d'hormone folliculo-stimulante (FSH). La puissance statistique des tests utilisés, sur un échantillon relativement faible, a permis de montrer une association positive entre le délai de conception, ou l'augmentation du taux d'infertilité et l'exposition que l'on peut qualifier d'accidentelle aux PCB/PCDF. Les valeurs d'exposition individuelle, même si elles sont antérieures, sont précieuses dans ce type d'étude. Elles permettent de mesurer à long terme les effets de l'exposition de jeunes individus (de 2 à 23 ans au moment de la contamination) aux PCB/PCDF sur la capacité de reproduction des femmes à l'âge adulte. D'autres études rétrospectives ont déjà recherché aux Etats-Unis ou en Suède un lien entre la consommation de poisson contaminé par les PCB et le taux de fécondité, qui correspond à la probabilité d'être enceinte dans l'année). Dans l'Ontario, la baisse de

fécondité (<1) était de 0,73 IIC à 95 % = 0,54-0,98] alors et de 0,66 IIC à 95 %, 0,49-0,89] pour les femmes de pêcheurs suédois de la Baltique (Buck *et al.*, 2000 ; Axmon *et al.*, 2000). A contrario, la consommation de poisson par les pères n'a pas eu d'incidence sur le délai de conception dans l'Ontario (Buck *et al.*, 1999) et il semblerait, selon les derniers travaux réalisés toujours sur la Baltique, que les taux de PCB présents dans les familles de pêcheurs, bien que supérieurs à ceux de la population suédoise, ne soient pas suffisamment élevés pour atteindre la fertilité de ces couples (Axmon *et al.*, 2004). Plus récemment, des travaux préliminaires réalisés à partir de la cohorte de Seveso évoquent également de plus grandes difficultés à concevoir un enfant chez les femmes présentant les taux sériques de TCDD les plus élevés (Eskenazi *et al.*, 2007).

Chez l'animal, si le singe semble particulièrement sensible aux effets des PCB administrés par voie orale (baisse de la fertilité), les paramètres de la reproduction ne sont pas altérés chez le rat (Faroon *et al.*, 2001). S'il est probable que les propriétés œstrogéniques des molécules de la famille des PCB/PCDD/PCDF sont en cause, les mécanismes impliqués dans les effets sur la fertilité ne sont toujours pas élucidés.

Par ailleurs, le suivi de la cohorte sur plus de 20 ans permet d'appréhender les effets chroniques des substances organochlorées sur la fertilité de la femme. En revanche, ce suivi est sans doute également responsable du faible taux de répondants de 56 % chez les femmes Yucheng et de seulement 24 % dans le groupe témoin, sur un sujet de surcroît culturellement difficile à aborder, ce qui rend globalement cette étude peu fiable.

Effets précoces des dérivés chlorés sur le développement

L'exposition post-natale précoce aux PCB peut avoir des conséquences sur la capacité de reproduction de l'adulte. Par ailleurs, les PCB font partie de la grande famille des perturbateurs endocriniens, capables d'entraîner des effets sur les individus eux-mêmes, mais aussi sur les générations futures via l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien.

Steinberg *et al.* (2008) ont recherché chez la rate gravide les effets d'une exposition périnatale aux PCB (0,1 ; 1 ou 10 mg/kg d'Aroclor 1221¹⁵) par voie intra-péritonéale les 16^{ème} et 18^{ème} jours de la gestation, sur le développement sexuel et la croissance somatique des deux générations suivantes. Les fœtus ont été exposés à des doses correspondant à 0,2 ; 2 ou 20 µg/kg de PCB, soit 500 fois plus faibles que celles auxquelles ont été exposées les femelles gestantes. Le rapport des sexes, évalué à partir des deux générations confondues, a légèrement dévié en faveur des femelles. Par ailleurs, les effets de l'exposition périnatale sur la production d'hormones étaient

plus marqués chez les animaux de deuxième génération (F2), que chez ceux de première génération (F1). Alors que seule la concentration sérique d'hormone lutéinisante (LH)¹⁶ a été significativement altérée à la dose intermédiaire de 1 mg/kg chez les femelles de première génération, les auteurs ont relevé plusieurs anomalies sur la concentration sérique d'hormones et les cycles œstraux des femelles de deuxième génération. Ils ont en particulier mis en évidence une baisse substantielle des taux de LH et progestérone sérique chez les rates en pro-œstrus¹⁷, de même qu'une baisse significative du poids des ovaires et de l'utérus au cours de l'œstrus aux trois différentes doses testées.

Commentaire

L'exposition des fœtus au cours de la période critique du développement du système neuro-endocrinien a mis en évidence les effets transgénérationnels des PCB sur des marqueurs de la reproduction. La baisse de poids des organes de la reproduction chez les femelles de deuxième génération coïncide avec l'observation plus précoce de l'atteinte des hormones pro-œstrales (LH et progestérone). Les auteurs émettent plusieurs hypothèses en ce qui concerne les mécanismes mis en jeu : 1) les PCB pourraient avoir un effet génotoxique direct sur les cellules germinales F1 ; 2) les PCB pourraient agir sur les sites de méthylation des promoteurs de certains gènes de l'ADN des embryons F1, transmis ensuite à la génération F2 ; 3) l'exposition périnatale aux PCB modifie les taux d'hormones circulantes au cours de la gestation des animaux F1, qui exposent donc leurs embryons à un environnement hormonal anormal. De tels mécanismes transgénérationnels ont déjà été explorés dans le cadre des effets des xénobiotiques sur la fertilité masculine (cf. bulletin de veille n°7).

Conclusion générale

Les substances sont nombreuses à atteindre la fertilité féminine. La quantité d'études réalisées sur la fumée de cigarette, les nombreuses revues récemment publiées, sont unanimes pour affirmer que la fumée de tabac est dangereuse pour la fertilité des femmes, y compris chez celles qui sont exposées passivement. Le risque est grand, également, de transmettre avant même la naissance une baisse de la fertilité chez la femme exposée *in utero*.

Ces études réalisées sur le tabac, profitent également, en raison des quelques 4 000 produits chimiques qui le composent, à éclairer nos connaissances sur la toxicité de la reproduction de plusieurs classes de molécules. Elles amènent notamment des données précieuses sur la métrologie de l'ex-

position aux polluants qui progresse jusque dans le domaine de l'expérimentation *in vitro*, où le mécanisme mis en jeu, ici l'apoptose, semble dépendre directement de la dose.

La recherche de l'exposition réelle, par la biométrie dans les études épidémiologiques, par des techniques évoluées au niveau du follicule chez la femme ou du fœtus chez l'animal, est essentielle à prendre en compte pour tenter d'expliquer les effets immédiats, mais aussi ceux sur les générations futures...

Il faut savoir que, dans le domaine professionnel, la réglementation des substances vis-à-vis des effets sur la reproduction repose essentiellement sur données animales. Sur la centaine de fiches DEMETER¹⁸, dont une soixantaine sont déjà publiées, seules de rares substances bénéficient de données chez l'être humain parmi la vingtaine de substances classées pour une altération de la fertilité. Ajoutons que bien des substances n'ont pas été testées à ce jour.

Il faut souhaiter que la nouvelle réglementation sur les substances chimiques REACH, qui impose aujourd'hui pour les substances à fort tonnage la réalisation d'études de reprotoxicité (études sur deux générations), vienne rapidement enrichir nos connaissances dans ce domaine et permette de lever enfin le voile sur les trop nombreuses substances dont nous ignorons tout en termes d'effet sur la fertilité.

Mots clés utilisés

pour la recherche bibliographique

Feminine fertility, Reproduction, Toxicology, Xenobiotics.

Publications analysées

Mulligan Tuttle A, Stämpfli M, Foster WG. Cigarette smoke causes follicle loss in mice ovaries at concentrations representative of human exposure. *Hum. Reprod.* 2009; 24(6):1452-9.

Neal MS, Zhu J, Foster WG. Quantification of benzo[a]pyrene and other PAHs in the serum and follicular fluid of smokers versus non-smokers. *Reprod Toxicol.* 2008; 25(1):100-6.

Steinberg RM, Walker DM, Juenger TE *et al.* Effects of perinatal polychlorinated biphenyls on adult female rat reproduction : development, reproductive physiology, and second generational effects. *Biol. Reprod.* 2008; 78(6):1091-101.

Fertilité féminine: de la fumée de cigarette aux polluants environnementaux, le doute est-il encore permis ? – Dominique OBERSON-GENESTE

Yang CY, Wang YJ, Chen PC *et al.* Exposure to a mixture of polychlorinated biphenyls and polychlorinated dibenzofurans resulted in a prolonged time to pregnancy in women. *Environ. Health Perspect.* 2008; 116(5):599-604.

Publications de référence

Augood C, Duckitt K, Templeton AA. Smoking and female infertility: a systematic review and meta-analysis. *Human reprod.* 1998; 13(6):1532-9.

Axmon A, Rylander L, Strömberg U *et al.* Time to pregnancy and infertility among women with a high intake of fish contaminated with persistent organochlorine compounds. *Scand. J. Work Environ. Health.* 2000; 26(3):199-206.

Axmon A, Rylander L, Strömberg U *et al.* Polychlorinated biphenyls in serum and time to pregnancy. *Environ. Res.* 2004; 96:186-95.

Buck GM, Vena JE, Schisterman EF *et al.* Parental Consumption of contaminated sport fish from Lake Ontario and predicted fecundability. *Epidemiology.* 2000; 11(4):388-93.

Buck GM, Mendola P, Vena JE *et al.* Paternal Lake Ontario fish consumption and risk of conception delay, New York State Angler Cohort. *Environ. Res.* 1999; 80(2Pt2): S13-S8.

Eskenasi B, Warner M, Marks A *et al.* dioxin exposure and time to pregnancy in Seveso. *Epidemiology.* 2007; 18(5):S165-S6.

Faroon OM, Keith S, Jones D *et al.* Effects of polychlorinated biphenyls on development and reproduction. *Toxicol. Ind. Health.* 2001; 17(3):63-93.

Matikainen TM, Perez GI, Jurisicova A *et al.* Aromatic hydrocarbon receptor-driven Bax gene expression is required for premature ovarian failure caused by biohazardous environmental chemicals. *Nat Genet.* 2001; 28(4):355-60.

Matikainen TM, Moriyama T, Morita Y *et al.* Ligand activation of the aromatic hydrocarbon receptor transcription factor drives Bax-dependent apoptosis in developing fetal ovarian germ cells. *Endocrinology.* 2002; 143(2):615-20.

McCann MF, Irwin DE, Walton LA *et al.* Nicotine and cotinine in the cervical mucus of smokers, passive smokers, and nonsmokers. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 1992; 1(2):125-9.

Midgette AS, Baron JA. Cigarette smoking and the risk of natural menopause. *Epidemiology.* 1990; 1(6):474-80.

Neal MS, Hughes EG, Holloway AC *et al.* Sidestream smoking is equally as damaging as mainstream smoking on IVF outcomes. *Hum. Reprod.* 2005; 20(9):2531-5.

V. Younglai E, Holloway AC, Foster WG. Environmental and occupational factors affecting fertility and IVF success. *Hum. Reprod. Update.* 2005; 11(1):43-57.

Revues de la littérature

Cooper AR, Moley KH. Maternal tobacco use and its preimplantation effects on fertility: more reasons to stop smoking. *Semin. Reprod. Med.* 2008; 26(2):204-12.

Foster WG, Neal MS, Han MS *et al.* Environmental contaminants and human infertility: hypothesis or cause for concern? *J. Toxicol. Environ. Health B Crit. Rev.* 2008; 11(3-4):162-76. Soares SR, Melo MA. Cigarette smoking and IVF. *Expert Rev. Obstet. Gynecol.* 2008; 3(4):555-63.

Tiemann U. *In vivo* and *in vitro* effects of the organochlorine pesticides DDT, TCPM, methoxychlor, and lindane on the female reproductive tract of mammals: a review. *Reprod Toxicol.* 2008; 25(3):316-26.

Woodruff TK, Walker CL. Fetal and early postnatal environmental exposures and reproductive health effects in the female. *Fertil. Steril.* 2008; 89(2S):e47-51.

Publications non sélectionnées

Arnault E, Doussau M, Pesty A *et al.* Natural uranium disturbs mouse folliculogenesis *in vivo* and oocyte meiosis *in vitro*. *Toxicology.* 2008; 247(2-3):80-7.

Unique article sur les métaux, isolé.

Clementi M, Tiboni GM, Causin R *et al.* Pesticides and fertility: an epidemiological study in Northeast Italy and review of the literature. *Reprod. Toxicol.* 2008; 26(1):13-8.

L'effet des pesticides sur le taux de fertilité dans les zones rurales en Italie: homme et femme.

Ema M, Fujii S, Matsumoto M *et al.* Two-generation reproductive toxicity study of the rubber accelerator N,N-dicyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide in rats. *Reprod. Toxicol.* 2008; 25(1):21-38.

Étude sur 2 générations voie orale, industrie du caoutchouc, colle. Toxique pour la reproduction.

Hirata-Koizumi M, Noda A, Hirose A *et al.* Reproductive and developmental toxicity screening test of tetrahydrofurfuryl alcohol in rats. *Reprod. Toxicol.* 2008; 25(2):231-8.

Étude sur 2 générations de l'alcool tétrahydrofurfurylique: toxique pour la reproduction. Utilisation ?.

Joffe M, Paranjothy S, Fielder H *et al.* Use of time to pregnancy in environmental epidemiology and surveillance. *J. Public Health (Oxf).* 2008; 30(2):178-85.

Il s'agit d'une étude où l'effet recherché (délai de conception) concerne la fertilité du couple et non uniquement de la femme, pas d'effet.

Khan HM, Khan MY, Minhas LA. Effect of passive tobacco smoking on fertility of female mice. *J. Coll. Physicians Surg. Pak.* 2008; 18(11):708-12.

Sallmén M, Neto M, Mayan ON. Reduced fertility among shoe manufacturing workers. *Occup. Environ. Med.* 2008; 65(8):518-24.

Effet des solvants en milieu industriel: co-exposition à plusieurs solvants.

Tyl RW, Myers CB, Marr MC et al. Two-generation reproductive toxicity study of dietary bisphenol A in CD-1 (Swiss) mice. *Toxicol. Sci.* 2008; 104(2):362-84.

Pas d'effet sur la fonction de reproduction chez les femelles. Bisphénol classé reprotoxique pour la fertilité cat 3; il s'agit surtout des effets sur la fertilité des mâles, mais aussi baisse de la taille des portées. La précédente étude avait été réalisée par le NTP en 1984. Les résultats de cette dernière étude ne confirment pas ces résultats – ce qui illustre qu'il s'agit d'une querelle d'experts. Rien sur la fertilité dans l'espèce humaine.

Welsch F, Nemeč MD, Lawrence WB. Two-generation reproductive toxicity study of resorcinol administered via drinking water to CrI: CD (SD) Rats. *Int. J. Toxicol.* 2008; 27(1):43-57. *Etude 2 générations chez le rat: utilisation industrielle dans l'industrie du caoutchouc, colles, mais aussi produits pharmaceutiques ou teintures capillaires.*

Lexique

- ¹ Délai de conception: Nombre de cycles nécessaires à une grossesse après l'arrêt de tout moyen de contraception.
- ² Gonadotrophine: Groupe d'hormones qui sont dotées d'une action stimulante sur la sécrétion hormonale des glandes génitales: ovaires ou testicules.
- ³ Globule polaire: Au moment de l'ovulation, l'ovocyte subit rapidement deux divisions dans son développement. Le jaune ne se divise pas, mais devient en entier l'ovule mûr. Les petites cellules non fonctionnelles dégénèrent rapidement. On les appelle « globules polaires ».
- ⁴ Zone pellucide: Fine membrane fibrillaire entourant l'ovocyte, qui s'épaissit progressivement au cours de la maturation folliculaire. Elle joue un rôle prépondérant au moment de la fécondation et avant la nidation, lorsqu'elle celle-ci doit se produire.
- ⁵ Fumée secondaire: Fumée qui s'échappe de l'extrémité d'une cigarette allumée ou d'un autre produit du tabac.

⁶ Membrane basale: Membrane de nature mésenchymateuse séparant des cellules épithéliales du milieu conjonctif ambiant. Elle est composée de diverses structures (notamment d'un réseau très serré de fines fibrilles réticulaires) et peut être plus ou moins épaisse selon le type d'épithélium.

⁷ Adduit: Produit d'une réaction (ou d'une association) entre molécules de telle sorte que celles-ci ou leurs résidus possèdent leurs grands axes parallèles les uns aux autres.

⁸ Cotinine: Oxo-5'nicotine. Produit du métabolisme de la nicotine chez l'homme. On en trouve une petite quantité dans la fumée.

⁹ Apoptose: Processus physiologique de mort cellulaire faisant appel à la mise en œuvre d'un véritable programme de destruction de la cellule. Elle est normalement destinée à éliminer les cellules excédentaires ou nuisibles.

¹⁰ Protéines Bcl-2 et Bax: Protéines connues pour promouvoir le programme de l'apoptose, processus latent dans toutes les cellules. La protéine Bax est sous la dépendance de la protéine p53 qui entraîne l'apoptose lorsque la réparation de l'ADN n'est pas possible.

¹¹ Caspases: Groupe de protéases à cystéine qui jouent un rôle essentiel dans le phénomène d'apoptose.

¹² Cycles œstraux: Activités périodiques de l'ovaire des mammifères.

¹³ Follicule antral: Follicule présentant une cavité dans la granulosa où s'accumulent des œstrogènes.

¹⁴ Méthode TUNEL: « Terminal deoxynucleotide transferase-mediated dUTP Nick-End Labeling » consiste à marquer les brins d'ADN avec la terminale désoxynucléotidyle transférase afin d'évaluer l'intégrité du DNA (coupures simple- et double-brin).

¹⁵ Aroclor: Polychlorobiphényle de numéro CAS 11104-28-2

¹⁶ LH: Hormone lutéinisante

¹⁷ Pro-œstrus: Période du cycle sexuel correspondant au début des chaleurs.

¹⁸ DEMETER: Aide à l'évaluation du risque pour la reproduction lors d'exposition d'hommes ou de femmes en milieu professionnel à des produits chimiques. <http://www.inrs.fr/rubriques/basesdedonnees.html>