

Interaction polluants et environnement maternel ou nutritionnel

Période : septembre 2009 à décembre 2009

Brigitte LE MAGUERESSE-BATTISTONI

Université de médecine Lyon 1 – Inserm U870/INRA 1235 – Oullins

Mots clés : Acrylamide, Fertilité, Glucocorticoïdes, Interaction gène-environnement, Perturbateur endocrinien, Phtalate, Qualité spermatique

L'ensemble de la population est exposé de façon chronique à de nombreux résidus chimiques et contaminants de l'environnement. Un certain nombre d'entre eux sont susceptibles d'altérer les fonctions de reproduction ou d'être néfastes pour la descendance, avec des variations selon les individus exposés. Dans cette veille scientifique, nous avons sélectionné deux articles qui démontrent une aggravation des effets délétères des polluants comme les phtalates dans un contexte de stress maternel, ou de l'acrylamide dans un contexte d'obésité.

Les glucocorticoïdes accentuent l'action délétère des phtalates sur le développement de la fonction de reproduction chez le mâle

Analyse

Dans cette publication, **Drake et al. (2009)** étudient l'effet combiné d'une exposition *in utero* aux phtalates⁽¹⁾ et aux glucocorticoïdes⁽²⁾ sur le développement de la fonction de reproduction mâle en utilisant le rat comme modèle. En effet, les phtalates qui sont présents dans de nombreux produits de la vie quotidienne, peuvent traverser la barrière placentaire. Ils sont fabriqués en grande quantité car on les utilise comme additifs dans les plastiques pour les assouplir. Par ailleurs, le stress provoque une augmentation de la synthèse des glucocorticoïdes et la mère peut être en situation de stress pendant la gestation. Il est donc pertinent de tester l'interaction de ces deux molécules sur le développement de la fonction de reproduction chez le rat. Des rattes gestantes sont exposées entre les jours 13,5 et 21,5 post-coïtum (jpc), c'est-à-dire pendant la fenêtre de sensibilité⁽³⁾ à l'effet masculinisant des androgènes telle que définie récemment par la même équipe de chercheurs (**Welsch et al., 2008**). En effet, les phtalates sont anti-androgéniques. Deux doses de phtalates sont utilisées dans cette étude. Elles ont été choisies d'après les résultats d'une étude précédente (**Welsh et al., 2008**). La dose forte induit chez le fœtus mâle après 4 jours de traitement maternel (17,5 jpc) une réduction de la production de testostérone intra-testiculaire et une augmentation d'incidence de l'hypospadias⁽⁴⁾ et de la cryptorchidie⁽⁵⁾. À l'âge adulte cette dose entraîne une réduction de la distance ano-génitale⁽⁶⁾ et de la longueur du pénis ainsi qu'une baisse du poids des testicules et de la prostate, comme précédemment établi (**Welsch et al., 2008**). La dose faible de phtalates est sans effet sur les paramètres androgéno-dépendants. Les glucocorticoïdes (dexaméthasone) sont utilisés à une dose entraînant une réduction significative du poids de naissance. À cette dose, les glucocorticoïdes sont

sans effet sur les paramètres androgéno-dépendants suivis dans cette étude afin qu'il n'y ait pas d'interférence sur ces paramètres. Les résultats soulignent que la combinaison dexaméthasone-phtalates est plus délétère sur l'ensemble des paramètres regardés que l'action de la dexaméthasone seule ou des phtalates. De plus, la dose faible de phtalates en combinaison avec le dexaméthasone provoque une réduction du poids de naissance supérieure à l'effet engendré par l'hormone seule ainsi qu'une altération des paramètres androgéno-dépendants non-observés en absence de l'hormone.

Commentaire

L'étude de **Drake et al. (2009)** démontre qu'une exposition aux glucocorticoïdes accroît la sévérité des effets délétères induits par les phtalates. Plus grave, cette exposition additionnelle augmente la sensibilité aux phtalates puisqu'une dose sans effet devient une dose avec effet en présence de dexaméthasone. Les surrénales étant la source des glucocorticoïdes, il semble important en matière d'évaluation des risques d'identifier les perturbateurs endocriniens qui ciblent l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien⁽⁷⁾. L'originalité de cette étude est de démontrer qu'il est possible qu'un excès de stress maternel, en entraînant une augmentation de la sécrétion de glucocorticoïdes, pourrait abaisser le seuil de sensibilité à des perturbateurs endocriniens reprotoxiques.

Baisse de la fertilité chez les souris mâles rendues obèses et aggravation du phénomène en présence d'acrylamide

Analyse

Dans cette étude, **Ghanayem et al. (2009)** étudient les capacités de reproduction de souris mâles rendues obèses

grâce à l'utilisation d'un régime alimentaire riche en graisses. Les paramètres suivis incluent les réserves spermatiques et la mobilité des spermatozoïdes⁽⁸⁾, le taux de fécondations, le nombre de points d'implantation, le taux de résorptions⁽⁹⁾, la taille de la portée et la survie des nouveau-nés.

Les animaux sont soumis soit à un régime standard, soit à un régime obésogène et l'eau de boisson contient ou non de l'acrylamide à 25 mg/kg/jour pendant 5 jours. Les deux variables que sont l'obésité et l'acrylamide sont étudiées indépendamment ou conjointement. Les auteurs observent en l'absence de modification du poids des testicules, des épидидymes ou d'une altération des réserves spermatiques, une baisse de 20 % de la mobilité des spermatozoïdes et une réduction du taux de fécondations dans les expériences d'accouplement avec une souris mâle obèse. L'analyse comparée des transcriptomes⁽¹⁰⁾ testiculaires de souris obèses par comparaison aux souris minces souligne que plusieurs gènes importants de la fonction testiculaire ont une expression réduite chez l'individu obèse. Dans un second temps, les auteurs démontrent que la baisse de la fertilité observée chez la souris mâle obèse est très fortement aggravée lorsque les animaux ont reçu de l'acrylamide dans leur eau de boisson. Précisément, le taux de gestation est pratiquement nul, le nombre de points d'implantation a considérablement chuté, les résorptions sont nombreuses et le nombre de fœtus vivants très faible. Les effets délétères de l'acrylamide sont moins prononcés sur ces paramètres chez un individu de poids normal.

Commentaire

Les aliments frits riches en carbohydrates contiennent des taux importants d'acrylamide. Cette découverte faite conjointement en 2002 par l'université de Stockholm et les autorités suédoises en matière alimentaire (Claus *et al.*, 2008) provoqua un émoi considérable dans la mesure où l'acrylamide est mutagène pour la cellule germinale de rongeur, neurotoxique et probablement cancérigène pour l'homme à forte dose (au-delà de 300 microgrammes/kg/jour quand l'exposition moyenne est de l'ordre du microgramme/kg/jour). Dans le testicule, la cellule de Leydig est également une cible avérée de l'acrylamide (Wang *et al.*, 2009). Dans cette étude, les auteurs (Ghanayem *et al.*, 2009) posent puis étayent l'hypothèse selon laquelle le fait d'être obèses constitue un facteur de susceptibilité aux polluants environnementaux reprotoxiques, en particulier ceux métabolisés par le cytochrome CYP2E1⁽¹¹⁾. En effet, le CYP2E1 est induit en cas d'obésité, et il a été démontré que les souris invalidées génétiquement pour ce cytochrome P450 étaient insensibles aux effets délétères de l'acrylamide (Ghanayem *et al.*, 2005).

Le deuxième aspect important de cette étude est la relation fertilité-obésité. En effet, les auteurs ont identifié que l'expression du gène *desert hedgehog* (Dhh) était fortement réduite (3 fois) dans le testicule de souris obèses. Or, le gène Dhh joue un rôle essentiel dans la fonction testiculaire. Il est indispensable à la formation du testicule pendant la vie fœtale. Synthétisé par la cellule de Sertoli⁽¹²⁾ en réponse à une stimulation par Sry, le gène du déterminisme sexuel, Dhh agit après liaison à un

récepteur spécifique localisé au niveau des cellules de Leydig⁽¹³⁾ et le maintien de son expression est dépendant des androgènes produits par ces dernières. Par ailleurs, des mutations du gène Dhh ont été trouvées chez des hommes infertiles (Umehara *et al.*, 2000) et plusieurs travaux suggèrent que Dhh pourrait constituer un marqueur d'exposition aux perturbateurs endocriniens prédictif d'une anomalie de la différenciation sexuelle chez le fœtus (Fowler *et al.*, 2008; Brokken *et al.*, 2009) (cf. *Bulletin de veille* n° 7 et n° 10). Il serait donc intéressant de comprendre les mécanismes fins de régulation de Dhh chez l'animal adulte et les conséquences directes de la dérégulation de son expression sur les productions endocrines (testostérone) et exocrines (spermatozoïdes) du testicule.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les deux articles sélectionnés soulignent que la sensibilité aux polluants est fortement dépendante de l'environnement. Deux situations ont été présentées, la première mimant le stress maternel par injection de glucocorticoïdes et la seconde une situation d'obésité. Dans la première situation, il est rapporté que le seuil de sensibilité aux phtalates est abaissé. Or, les phtalates sont des polluants reprotoxiques avérés. Ceci pourrait expliquer pourquoi certains enfants présentant des retards de croissance à la naissance présentent aussi des troubles du développement de l'appareil reproducteur. Il est donc important que se multiplient les travaux sur l'impact des polluants sur l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien. Dans la seconde situation, il est démontré que non seulement l'obésité est un facteur de risque pour la fertilité mais que de surcroît elle entraîne une aggravation des effets délétères induits par l'acrylamide. Or, l'acrylamide est retrouvé dans les aliments frits riches en carbohydrates, aliments dont la surconsommation est mise en cause dans la pandémie d'obésité qui frappe le monde industrialisé. Les populations d'hommes et de femmes en surpoids ou obèses et leurs descendants constituent donc des populations à risque, non seulement par rapport aux maladies métaboliques (diabète de type II...), mais également vis-à-vis de l'infertilité.

Lexique

- (1) Phtalates : les phtalates sont un groupe de produits chimiques apparentés du point de vue structural à l'acide organique connu sous le nom d'acide phtalique. Ils sont composés d'un noyau benzénique et de deux groupements carboxylates placés en ortho et dont la taille de la chaîne alkyle peut varier. Les phtalates sont couramment utilisés comme plastifiants des matières plastiques (en particulier du PVC, pour former par exemple des plastisols) pour les rendre souples. Le MEHP

ou mono-(2-ethylhexyl) phthalate (MEHP) est un métabolite du di-(2-ethylhexyl) phtalate (DEHP).

- (2) Glucocorticoïdes : les glucocorticoïdes comme le cortisol, sont des stéroïdes sécrétés par les surrénales qui agissent essentiellement sur le métabolisme glucidique et protéique. En plus du cortisol, l'hormone endogène, les glucocorticoïdes comprennent plusieurs dérivés de synthèse sélectionnés en fonction de l'intensité de certains de leurs effets.
- (3) Fenêtre de sensibilité : période durant laquelle le fœtus est extrêmement sensible à l'action des perturbateurs endocriniens.
- (4) Hypospadias : l'hypospadias est une malformation du fœtus masculin, qui se manifeste par l'ouverture de l'urètre dans la face intérieure du pénis au lieu de son extrémité.
- (5) Cryptorchidie : absence du testicule dans sa bourse, d'un côté ou des deux côtés à la fois.
- (6) Distance ano-génitale : distance entre l'anus et les parties sexuelles. Cette distance est contrôlée par les androgènes chez le fœtus. Une distance ano-génitale inférieure à la normale chez le rongeur mâle a été corrélée avec une exposition fœtale à des perturbateurs endocriniens de type estrogénique.
- (7) Axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien : les glandes surrénales sécrètent des gluco-corticoïdes qui agissent sur l'hypothalamus, lequel sécrète le CRF exerçant un effet sur l'hypophyse qui produit l'ACTH et contrôle ainsi les glandes surrénales. Il existe donc une boucle régulatrice.
- (8) Réserves spermatiques, mobilité des spermatozoïdes : les réserves spermatiques sont la quantité de spermatozoïdes stockés dans l'épididyme. Le % de mobilité des spermatozoïdes est un des critères prédictifs d'une fertilité normale. Un spermatozoïde non motile n'est pas fécondant dans les conditions physiologiques.
- (9) Taux de fécondation, nombre de points d'implantation et résorptions : le taux de fécondation est le nombre de femelles gestantes rapportées au nombre d'accouplement. Le nombre de points d'implantation est prédictif de la taille de la portée. Le taux de résorption traduit le nombre de fœtus qui se résorbent pendant la gestation.
- (10) Transcriptome : l'ensemble des ARN d'un tissu donné.
- (11) Cytochromes : les cytochromes P450 (CYP) constituent une superfamille de 57 gènes codant pour des enzymes qui jouent un rôle majeur dans le métabolisme des xénobiotiques, dont les médicaments, et ont un rôle primordial dans la protection de l'organisme contre les agressions extérieures (polluants, pesticides...).
- (12) Cellules de Sertoli : les cellules de Sertoli sont les cellules de soutien à la lignée germinale tant sur un plan nutritif que sur un plan structural. En termes de développement, elles sont les premières à se différencier en réponse à une stimulation par SRY, le gène du déterminisme sexuel.
- (13) Cellules de Leydig : les cellules de Leydig sont localisées dans l'espace localisé entre les tubes séminifères (site de production des cellules germinales). Elles synthétisent la testostérone en réponse à l'hormone lutéinisante (LH).

Publications analysées

- Drake AJ, van den Driesche S, Scott HM et al.** Glucocorticoids amplify dibutyl phthalate-induced disruption of testosterone production and male reproductive development. *Endocrinology*. 2009; 150(11):5055-64.
- Ghanayem BI, Bai R, Kissling GE et al.** Diet-induced obesity in male mice is associated with reduced fertility and potentiation of acrylamide-induced reproductive toxicity. *Biol. Reprod.* sous presse.

Publications de référence

- 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 fetal rat testis. *Endocrinology*. 2009; 150(1):445-51.
- Claus A, Carle R, Schieber A.** Acrylamide in cereal products: A review. *J Cereal. Sci.* 2008; 47:118-133.
- 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.
- Ghanayem BI, Witt KL, El-Hadri L et al.** Comparison of germ cell mutagenicity in male CYP2E1-null and wild-type mice treated with acrylamide: evidence supporting a glycidamide-mediated effect. *Biol. Reprod.* 2005; 72(1):157-63.
- Umehara F, Tate G, Itoh K et al.** A novel mutation of desert hedgehog in a patient with 46, XY partial gonadial dysgenesis accompanied by minifascicular neuropathy. *Am. J. Hum. Genet.* 2000; 67(5):1302-5.
- Wang H, Huang P, Lie T et al.** Reproductive toxicity of acrylamide-treated male rats. *Reprod. Toxicol.* 2010; 29(2):225-30.
- Welsh M, Saunders PTK, 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

- Arima A, Kato H, Ooshima Y et al.** In utero and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) induces a reduction in epididymal and ejaculated sperm number in rhesus monkeys. *Reprod. Toxicol.* 2009; 28(4):495-502.
- Dans ce travail, les auteurs ont étudié les effets d'une exposition anté- et néo-natale à la TCDD sur la fonction de reproduction à l'âge adulte. Ils rapportent malgré une histologie des testicules normale, une réduction du nombre de spermatozoïdes épididymaires et éjaculés. Ce déficit spermatique résulterait d'une réduction de la taille du conduit épididymaire. Ces travaux illustrent que l'épididyme serait une cible de la TCDD.*

Barenys M, Macia N, Camps L et al. Chronic exposure to MDMA (ecstasy) increases DNA damage in sperm and alters testes histopathology in male rats. *Toxicol. Lett.* 2009; 191(1):40-6.

L'objectif de ce travail était d'évaluer l'impact d'une exposition occasionnelle à l'ectasy sur la fonction de reproduction dans une population jeune. Les expériences ont été réalisées sur le rat mâle jeune. Les résultats obtenus soulignent l'absence d'effets sur les paramètres spermatiques des animaux exposés et le taux de gestation dans les expériences d'accouplement est normal. Cependant, l'histologie du testicule montre différentes lésions (tubules dégénérés, œdème du tissu interstitiel), les réserves spermatiques sont abaissées et l'analyse de l'ADN des spermatozoïdes par le test des comètes révèle une incidence supérieure de cassures de l'ADN par rapport au groupe contrôle. Or même avec d'importantes anomalies, l'ADN de sperme peut encore être fécondant. Cela peut être à l'origine d'avortements, de malformations congénitales ou d'autres maladies. Il est donc important que ces études soient poursuivies et que la réversibilité des effets de l'ectasy soit étudiée, pour qu'une information claire soit faite à l'encontre des populations à risque.

Wang H, Huang P, Lie T et al. Reproductive toxicity of acrylamide-treated male rats. *Reprod. Toxicol.* 2010; 29(2):225-30.

Dans ce travail, les auteurs évaluent la reprotoxicité de l'acrylamide administré oralement pendant 8 semaines à dater du sevrage (21 jours). Les animaux traités présentent un retard pondéral dès la première semaine de traitement et ce déficit pondéral est de 25 % après 8 semaines de traitement chez les animaux ayant reçu la plus forte dose. Les poids des testicules et des épидидymes sont également abaissés mais aucune différence n'est observée lorsque les poids sont rapportés aux poids corporels. Les réserves spermatiques exprimées par g de tissu sont significativement abaissées chez les animaux traités. En revanche, le pourcentage de spermatozoïdes normaux est inchangé chez ces mêmes animaux. L'histologie testiculaire révèle une hyperplasie des cellules de Leydig, une baisse de la testostérone sérique et un épithélium séminifère vacuolé, témoin d'une perte de cellules germinales. Ces résultats soulignent que les cellules de Leydig et les cellules germinales sont des cibles de l'acrylamide.

Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Endocrine disrupters and testis, Male reproductive health, Male reproductive toxicity, Testicular dysgenesis syndrome.