

# **Toxicologie de la reproduction**

## **Introduction:**

La toxicologie de la reproduction et du développement et les études associées visent à mettre en évidence tout risque toxique au niveau de la fonction de la reproduction afin de mieux cerner ces effets d'un point de vue explicatif et mécanistique.

Les différents risques, notamment les problèmes de tératogénèse et de fertilité,... soulignent son importance dans l'évaluation de la sécurité d'un nouveau produit pharmaceutique, phytosanitaire ou chimique. À cette fin, il existe un certain nombre de recommandations dans le choix des études à mettre en œuvre et des paramètres à évaluer.

L'objectif de ce manuel pédagogique est de présenter les principaux aspects de cette discipline, l'état de la situation présente et les évolutions futures. Elle permettra aux étudiants et aux lecteurs d'acquérir une vision approfondie

La toxicologie pour la reproduction étudie les effets négatifs d'un médicament qui interfère avec la fonction sexuelle normale et la fertilité chez les hommes et femmes adultes. Ces effets négatifs incluent des réactions indésirables sur la fonction sexuelle et la fertilité chez les adultes hommes et femmes, ainsi qu'une toxicité pour le développement de la descendance.

La reprotoxicité est tout phénomène de toxicité pour la reproduction, en particulier quand elle entraîne la stérilité, ou pour les substances ou rayonnements tératogènes. Pour des raisons de santé publique et/ou de protection de l'environnement la mise sur le marché et l'emploi de certains produits reprotoxique peuvent être réglementés (limités ou interdits). Les reprotoxique affectent la fécondité et/ou la fertilité, soit par une toxicité directe pour les gonades ou le système reproducteur, soit en induisant un comportement ne permettant plus la reproduction. Ces produits peuvent dans le cas des perturbateurs endocriniens agir à très faible dose. Ils peuvent parfois aussi agir *in utero* en bloquant le développement normal des organes sexuels ou de glandes les contrôlant, bien avant la naissance de l'individu ; on les dits alors embryotoxiques ou fœtotoxiques.

Il existe des périodes de vulnérabilité aux reprotoxique ; ce sont notamment ceux de la formation des organes génitaux *in utero* et la phase de puberté.

Les réglementations dans le monde tendent à regrouper les substances Cancérogènes, Mutagènes et Reprotoxiques (ou « *CMR* »).

Ce travail sera scindé en cinq parties :

La première partie comprend un descriptif des différentes cibles toxicologiques de la reproduction et du développement.

La deuxième partie comprend les généralités Perturbateurs endocriniens et la reproduction masculine et féminine.

La troisième partie est consacrée aux principes de base de l'Epidémiologie de la reproduction.

La quatrième partie est consacré a l'étude de Toxicologie de la grossesse.

Et enfin une cinquième et dernière partie qui résume les aspects les plus pertinents de la Radiosensibilité des cellules germinales.

## **I-Cibles toxicologiques de la reproduction et du développement.**

Selon un certain nombre d'études, une augmentation de la prévalence des troubles du versant masculin de la fonction de reproduction a été observée dans plusieurs pays occidentaux au cours des dernières décennies. Les données les mieux documentées concernent le cancer du testicule.

Il a été montré de manière non ambiguë que l'incidence du cancer du testicule, le cancer le plus fréquent chez l'homme jeune, a augmenté depuis plus de 50 ans dans de nombreux pays d'Europe. Cet accroissement est de 0,1 à 0,2 cas pour 100 000 personne-année, conduisant à un doublement de l'incidence dans les pays européens depuis 1970. En France, on observe une élévation moyenne de 2,5 % par an sur la période 1980-2005. En 2010, le taux d'incidence en France est estimé à 7 cas pour 100 000 personne / année. Cette élévation ne peut être expliquée ni par un vieillissement de la population ni par une évolution des pratiques de dépistage.

Deux types de malformations relativement fréquentes, l'hypospadias (anomalies des voies génitales externes mâles) et la cryptorchidie (anomalie de la descente testiculaire constatée à la naissance) semblent également en augmentation ; les données issues des registres sont cependant moins fiables que pour le cancer du testicule et les études ponctuelles sont en nombre limité. D'importantes variations géographiques sont constatées.

Les données disponibles en France montrent une nette augmentation de l'incidence de l'hypospadias depuis la fin des années 1970 jusqu'au début des années 2000. Pour la cryptorchidie, il n'y a pas de données suffisantes en France permettant d'estimer son évolution.

Parallèlement, une baisse de la concentration spermatique a été rapportée en Amérique du Nord et en Europe. En France, les études menées à partir des données des Centres d'études et de conservation des œufs et du sperme (CECOS) indiquent également dans certaines régions, une baisse significative de la concentration spermatique et une baisse de la mobilité des spermatozoïdes morphologiquement normaux. Globalement, la détérioration temporelle de plusieurs caractéristiques spermatiques peut être considérée comme plausible dans certains pays industrialisés.

Les connaissances sur les évolutions temporelles de la fertilité des couples sont beaucoup plus limitées. Les quelques études fondées sur des indicateurs tels que la fécondabilité (estimée à partir du délai nécessaire pour concevoir), et qui avaient souvent des limitations méthodologiques, ne montrent pas de modification dans le temps de la fertilité des couples dans certaines zones de la Suède, du Danemark ou du Royaume-Uni. Des travaux indirects indiquent qu'une détérioration des caractéristiques spermatiques aurait pu avoir un impact sur la proportion de couples souffrant d'infécondité involontaire ou éligibles pour une assistance médicale à la procréation. Dans l'ensemble, ces travaux ne permettent pas d'apporter de conclusion forte concernant l'évolution temporelle de la fertilité des couples au cours des dernières décennies dans les pays industrialisés. En l'absence de système de surveillance de la fertilité dans la plupart de ces pays, une réponse à cette question est peu susceptible d'être apportée prochainement.

Au début des années 2000, l'équipe du professeur Skakkebaek à Copenhague a formulé l'hypothèse que la survenue d'un cancer du testicule, une altération de la production et de la qualité spermatique, la cryptorchidie et l'hypospadias pouvaient avoir une origine et des causes communes résultant d'une perturbation du développement du testicule pendant la vie fœtale. Le concept de « syndrome de dysgénésie testiculaire » qui a été proposé, reste cependant controversé.

Chez les filles, dans les pays occidentaux, l'observation la plus marquante concerne la tendance séculaire à une puberté plus précoce. La courbe de cette évolution varie d'un pays à l'autre.

Une diminution est estimée à 0,3 an par décennie ; en France, une diminution de 0,18 an par décennie est observée.

En l'absence de données historiques sur les expositions environnementales à l'échelle des populations, les études descriptives sur les évolutions temporelles de la fonction de reproduction ne permettent pas d'explorer les causes de ces évolutions. De nombreuses études étiologiques ont été réalisées pour tenter d'expliquer les différences observées entre individus ; ces études ne peuvent qu'indirectement renseigner les variations. À l'heure actuelle, c'est pour les facteurs tels que le tabagisme (à l'âge adulte ou subi durant la vie intra-utérine), pour certaines expositions professionnelles et pour les polluants les plus persistants dans l'organisme que les données suggérant un impact éventuel sur la fonction de reproduction sont les plus complètes. Pour analyser l'impact d'une exposition à des composés chimiques sur la santé reproductive, de nombreux travaux en toxicologie animale et en épidémiologie ont été conduits dans différents contextes de recherche ou d'évaluation de risque. La transposition des résultats des travaux d'une espèce à une autre implique une connaissance des similitudes et des différences dans les différentes étapes du développement de la fonction de reproduction.

## **A-Fonction de reproduction et différences entre les espèces**

Chez tous les vertébrés, le testicule et l'ovaire se développent à partir d'une ébauche embryonnaire initialement bi potentielle mâle et femelle. À différents moments de son développement, variables en fonction des espèces, cette ébauche évolue vers une différenciation mâle ou femelle selon son patrimoine génétique (mammifères, oiseaux) ou des facteurs environnementaux comme la température ou le comportement (certains reptiles et poissons). On distingue donc une détermination génétique du sexe et une détermination environnementale. Il est important de prendre en considération ces différents modes de différenciation sexuelle pour évaluer les effets de facteurs environnementaux comme les perturbateurs endocriniens. Une modification du milieu aura plus de conséquences chez les poissons et les reptiles que dans d'autres espèces de vertébrés.

Chez les mammifères, le sexe est déterminé génétiquement à la fécondation selon que le spermatozoïde est porteur ou non du chromosome Y. Le gène *SRY* sur le chromosome Y induit la différenciation mâle des cellules somatiques de la gonade en cellules de Sertoli. Chez la femelle, en l'absence de Y, la différenciation de l'ovaire s'effectue à partir de la gonade bipotentielle. Le développement fœtal et néonatal des gonades est une phase particulièrement sensible, et toute substance chimique capable de perturber ces étapes précoces aura des répercussions sur la fonction de reproduction.

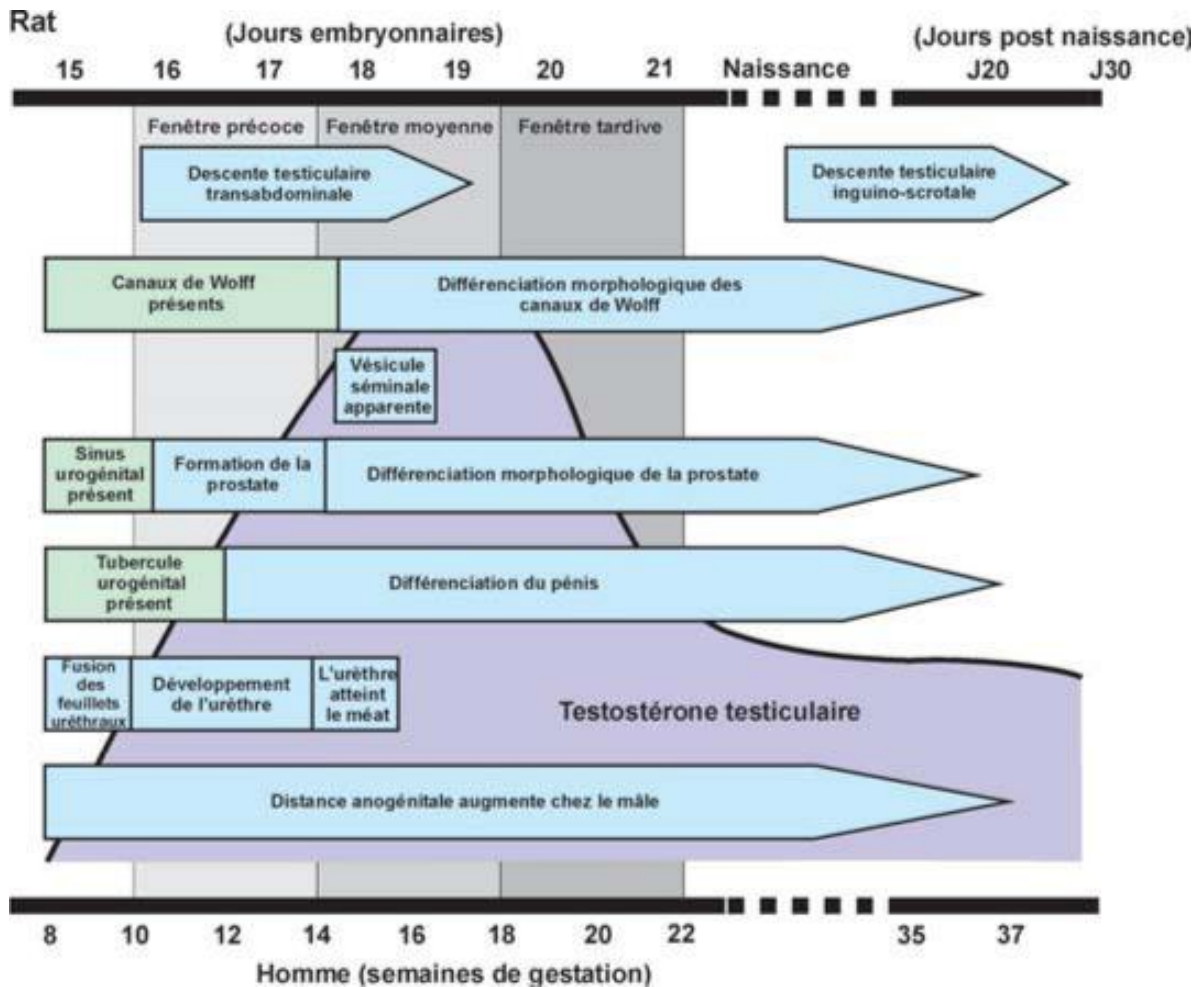
En fonction du sexe, les gonades se différencient pour produire des gamètes (gamétogenèse des cellules germinales) et synthétiser des hormones (stéroïdogénèse) sous l'effet desquelles le tractus génital interne et externe va évoluer pour permettre la reproduction : mise en place d'un appareil reproducteur accordé au sexe de la gonade qui assurera les fonctions de maturation des gamètes, insémination, fécondation, gestation ou parturition.

Chez les mâles, la stéroïdogénèse débute pendant la vie fœtale dans toutes les espèces, alors que chez les femelles, sa mise en route varie selon les espèces. Ainsi, les espèces avec un système hormonal actif pendant la vie fœtale (ruminants, espèce humaine) pourraient être plus sensibles aux effets par exemple des perturbateurs endocriniens. Très précocement, le testicule fœtal sécrète deux types d'hormones : l'hormone anti mullérienne sécrétée par les cellules de Sertoli et la testostérone sécrétée par les cellules de Leydig. La testostérone est responsable de la différenciation des voies génitales mâles. La protéine *Insulin-like 3* (INSL3), produite par les cellules de Leydig fœtales et adultes, est responsable du développement du gubernaculum impliqué dans la descente des testicules.

Chez les mammifères, les gonades se forment pendant la vie intra-utérine au cours du premier tiers de la gestation. Il existe un décalage dans le temps entre la différenciation mâle et femelle.

La différenciation testiculaire est plus précoce que la différenciation ovarienne. Cela implique qu'une exposition à un perturbateur endocrinien à un moment donné du développement *in utero* n'aura pas les mêmes effets chez un fœtus mâle ou femelle.

La différenciation du tractus génital mâle est beaucoup plus dépendante de la production d'hormones que ne l'est celui de la femelle. En effet, les ovaires du fœtus ne sont pas indispensables à la féminisation de l'organisme alors que les testicules le sont pour la masculinisation. Cela est à prendre en considération pour comprendre pourquoi certaines substances induisent des effets plus marqués chez le mâle que chez la femelle. Tout dérèglement de la fonction hormonale précoce aura certainement des conséquences plus marquées chez le mâle que chez la femelle.



**Figure 1** Diagramme représentant les principales périodes du développement du tractus génital mâle chez l'homme et le rat, en relation avec le niveau de production de testostérone (d'après Welsh et coll., 2008)

En revanche, la disparition ou la diminution brutale d'un grand nombre de cellules germinales aura des répercussions sur la différenciation de l'ovaire alors que l'absence de spermatogonies n'influence pas la différenciation du testicule.

Le stock de follicules primordiaux formé dans l'ovaire fœtal, est fixe et déterminé pour toute la vie reproductive de la femelle tandis que la spermatogenèse produit des gamètes de façon continue, de la puberté à la sénescence, chez le mâle. Toute altération quantitative des cellules germinales survenue très tôt chez la femelle sera donc irréversible et peut avoir des effets à très long terme (20 à 30 ans) sur la fertilité. Chez le mâle, ce sont les altérations qualitatives qui risquent d'avoir des effets à long terme.

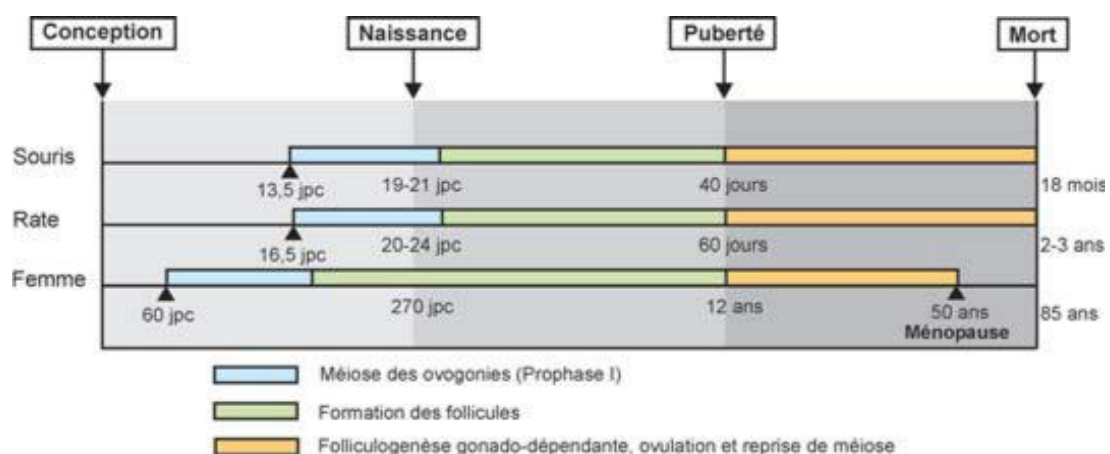
Les différentes étapes du développement ovarien et testiculaire, bien que globalement similaires chez tous les mammifères, présentent des variations importantes entre espèces et ne se déroulent pas pendant des périodes similaires. Ainsi par exemple, la formation des follicules débute dans l'ovaire pendant la vie fœtale chez l'être humain et pendant la vie Postnatale chez les rongeurs.

Cependant, les rongeurs sont le souvent utilisés comme modèles en toxicologie de la reproduction.

Il existe également des différences physiologiques (et pathologiques) au niveau du développement et de la fonction reproductive entre mammifères qui rendent l'extrapolation entre rongeurs et espèce humaine parfois difficile. Ainsi, l'ouverture vaginale qui signe le début de la puberté chez la souris n'existe pas chez les primates. À l'inverse, l'endométriase est une pathologie spécifique des primates.

Par ailleurs, les rongeurs sont des animaux polyovulants : à chaque cycle une dizaine, voire plus, de follicules vont arriver à l'ovulation et une dizaine d'ovocytes seront produits. Les mécanismes qui régulent la folliculogénèse et l'ovulation sont donc différents chez le rat ou la souris et dans les espèces mono-ovulantes comme l'homme ou les ruminants.

Les rongeurs naissent beaucoup plus immatures que la plupart des autres mammifères, ce qui limite l'extrapolation des expositions reçues après la naissance. La période néonatale des rongeurs correspond du point de vue du développement à la fin de la grossesse chez l'homme. En conséquence, la période où ont lieu, par exemple, la folliculogénèse ovarienne, ou le développement du système nerveux central diffère entre l'homme et le rat, de sorte que des perturbations durant la gestation auront plus d'impact sur ces deux mécanismes chez l'homme que chez les rongeurs.



**Figure 2 Comparaison des périodes de différenciation ovarienne chez différents mammifères (d'après Monniaux et coll., 2009)**

Chez l'homme, le testicule, comme toutes les glandes endocrines, est sous le contrôle du complexe hypothalamo-hypophysaire.

La gonadotrophine (GnRH) libérée par l'hypothalamus stimule la sécrétion de deux hormones hypophysaires : la folliculostimuline (FSH) et l'hormone luthéinisante (LH). La FSH agissant sur les cellules de Sertoli, participe à l'initiation de la spermatogénèse. À la puberté, la LH augmente la production de testostérone qui agit directement sur les cellules de Sertoli pour assurer le bon déroulement de la spermatogénèse.

Chez la femme, les ovaires sécrètent deux hormones, l'œstradiol et la progestérone. Au cours de la folliculogénèse, les cellules de la granulosa (qui ont la même origine que les cellules de



Sertoli) deviennent sensibles à la FSH et vont continuer à se multiplier et à se différencier (comme les cellules de Leydig chez le mâle). Les androgènes sécrétés diffusent dans les cellules de la granulosa et, sous l'influence de la FSH, sont transformés en œstradiol. La différenciation des cellules de la granulosa produit également le liquide folliculaire et le follicule devient le follicule à antrum. La sécrétion brutale de LH déclenche la maturation finale de l'ovocyte et l'ovulation.

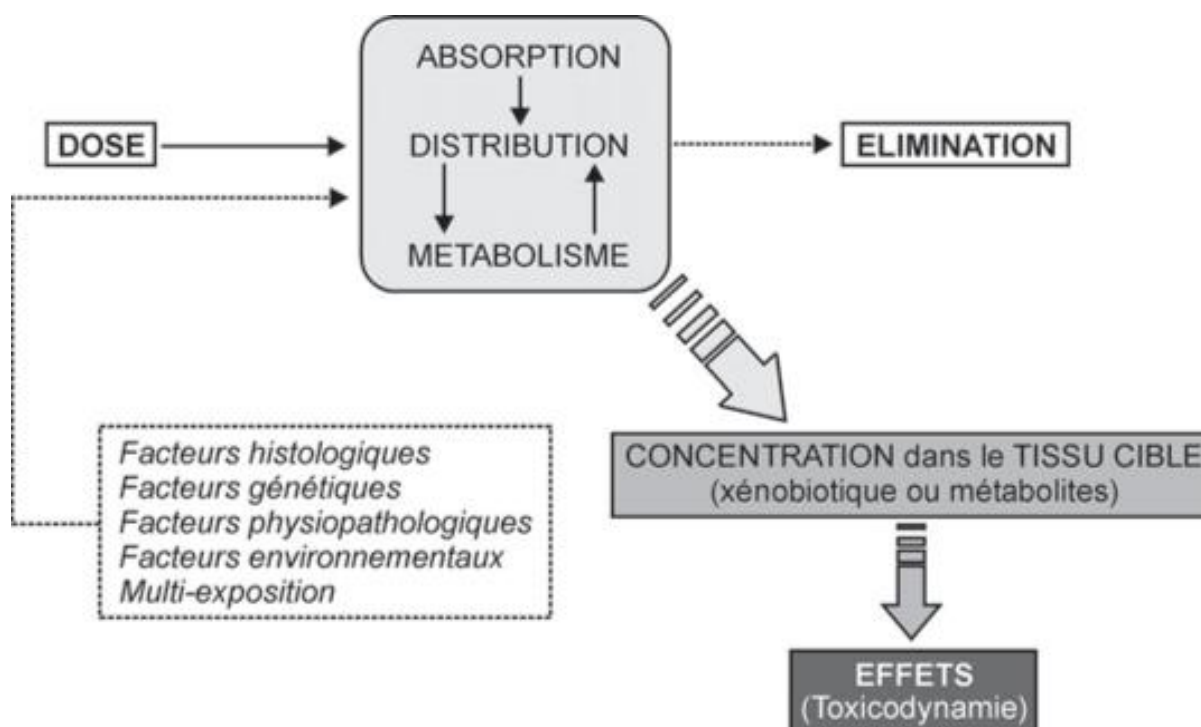
L'extrapolation des résultats obtenus chez les rongeurs (souris, rat) à l'homme exige de la prudence et doit prendre en compte les différences chronologiques et physiologiques qui existent entre les deux espèces. D'autres animaux apparaissent plus pertinents que les rongeurs, notamment ceux, comme par exemple les ruminants qui présentent de longues durées de gestation et de vie, qui sont mono-ovulants et ne portent qu'un seul petit par portée.

Les effets d'exposition *in utero* à des substances chimiques peuvent se révéler à très long terme ou parfois s'atténuer avec le temps. Il est donc indispensable de réaliser des études longitudinales avec plusieurs moments d'investigation (à la naissance, au sevrage, à la puberté, à l'âge adulte). L'intervalle de temps entre l'arrêt de l'exposition et le moment de l'étude doit être pris en compte car il peut expliquer une partie des résultats contradictoires de la littérature scientifique.

## **B-Devenir d'un xénobiotique dans l'organisme**

Le devenir d'un xénobiotique dans l'organisme peut se schématiser selon quatre étapes majeures : absorption ; distribution (avec stockage éventuel dans des organes ou des tissus cibles) ; biotransformation de la substance absorbée ; élimination.

L'absorption dépend en premier lieu des propriétés physico-chimiques de la substance elle-même, à savoir sa masse moléculaire, son degré d'ionisation, sa réactivité, sa solubilité. Les agents chimiques lipophiles sont mieux à même de traverser une membrane dont les constituants sont pour l'essentiel des lipides. Toutefois, en particulier au niveau de l'intestin, les substances très lipophiles sont moins bien absorbées en raison de la difficulté à former une solution ou une émulsion dans la lumière intestinale. La relation entre la dose externe et interne dépend donc en grande partie du niveau d'absorption, qui peut être lui-même affecté par le caractère lipophile de la substance ou encore, pour certains composés, de l'efficacité des systèmes de pompe à efflux tels que les P-glycoprotéines.



**Figure 3 Principales étapes pharmacocinétiques**

La différence entre l'absorption orale (c'est-à-dire la présence dans la paroi intestinale et la veine porte) et la biodisponibilité (c'est-à-dire la présence dans le sang systémique et dans les tissus) peut, entre autres facteurs, provenir de la dégradation chimique liée au métabolisme dans la paroi intestinale, de l'efflux vers la lumière intestinale ou encore du métabolisme présystémique dans le foie.

Bien que certaines barrières membranaires soient moins perméables que d'autres, les mécanismes de diffusion obéissent, de façon générale aux mêmes règles que celles qui régissent l'absorption et dépendent en premier lieu des caractéristiques physico-chimiques du xénobiotique. Le franchissement de la barrière placentaire est à examiner avec attention car la vie fœtale constitue une période particulièrement sensible du développement. Si l'exposition du fœtus aux œstrogènes maternels est limitée en raison de leur liaison à l' $\alpha$  fœtoprotéine (protéine qui n'est normalement produite que par le fœtus au cours de son développement), nombre de substances chimiques (étiquetées comme perturbateurs endocriniens) sont beaucoup moins affines à cette protéine et se retrouvent de ce fait facilement dans la circulation fœtale. C'est ce qui semble se passer pour le bisphénol A.

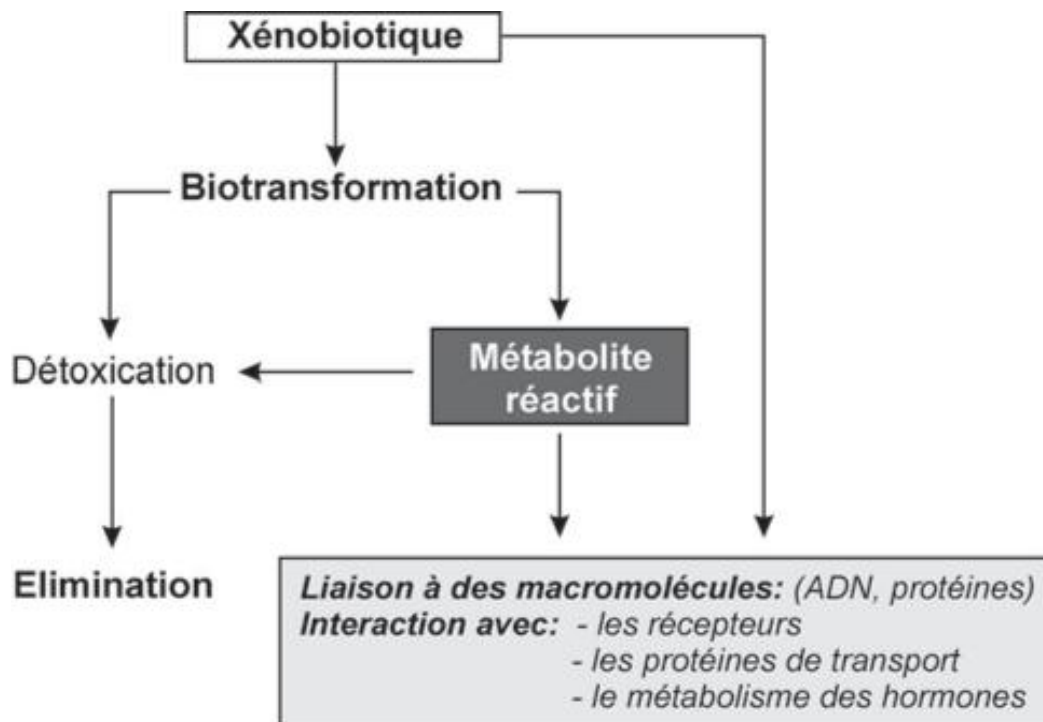
Afin de pouvoir être excrétées dans l'urine ou dans la bile, les molécules doivent être hydrosolubles. La transformation chimique du xénobiotique est essentiellement catalysée par des enzymes qui fonctionnent avec des co-facteurs endogènes.

Conceptuellement, ce processus a été séparé en deux phases au cours desquelles le xénobiotique est oxydé, réduit ou hydrolysé (phase I) et/ou conjugué à l'acide glucuronique, à un groupement sulfate ou acétate, au glutathion ou encore à un acide aminé (phase II). Ces réactions prennent en charge non seulement les xénobiotiques, mais également les composés endogènes comme les stéroïdes, les prostaglandines ou encore certaines vitamines.

Les monooxygénases à cytochrome P450 (CYP), enzymes membranaires localisées dans le réticulum endoplasmique, jouent un rôle majeur dans le métabolisme des xénobiotiques. On dénombre une soixantaine de CYP différents chez l'homme et une douzaine d'entre eux sont utilisés dans le métabolisme des xénobiotiques, parmi lesquels les formes 1A1/2, 2C9, 2C19, 2D6 et 3A4 sont les plus fréquemment impliquées. Une induction du CYP2C19 (aromatase) peut favoriser une surproduction d'œstrogènes et des effets féminisants. Un polymorphisme génétique, fréquent pour les formes 2C9, 2C19 et 2D6, se traduit par des différences inter-individuelles de susceptibilité à l'action des toxiques.

Les réactions de phase II les plus fréquemment utilisées par l'organisme sont la glucuronidation et la conjugaison au glutathion et au groupement sulfate. Même si un grand nombre de tissus peuvent exprimer des enzymes de biotransformation, c'est le foie qui est l'organe principal du métabolisme. Il est toutefois possible que certaines isoformes particulières soient spécifiquement exprimées dans un tissu extra-hépatique. C'est par exemple le cas de l'aromatase qui chez l'adulte est exprimée dans les ovaires, le placenta, le tissu adipeux, l'os ou dans une moindre mesure, le testicule, mais non dans le foie, alors que les niveaux d'expression sont très élevés dans le foie fœtal.

Les voies de bioactivation passent le plus souvent par la production d'un métabolite ayant une affinité ou une activité bien plus forte que la substance initiale vis-à-vis d'une protéine de transport ou d'un récepteur nucléaire. Ainsi, des substances, inactives dans leur état initial, peuvent devenir œstrogéniques après l'intervention d'une enzyme, généralement un cytochrome P450, (il en est ainsi pour les phtalates, les composés polybromés...).



**Figure 4 Voies de bioactivation/détoxication des Xénobiotiques**

Une fois formés, les métabolites sont excrétés dans l'urine par le rein ou éliminés dans les fèces via la bile. L'excrétion dans le lait maternel peut également intervenir de façon

substantielle, comme cela a été montré pour les composés polybromés (PBDE), les phtalates ou le bisphénol A. Généralement, les rongeurs excrètent davantage de métabolites par voie biliaire que le chien, le singe ou l'homme. Cela est dû à des différences entre espèces dans le seuil d'excrétion biliaire des métabolites. Après avoir été éliminés dans la bile, les conjugués glucuronides et sulfates peuvent facilement être hydrolysés dans le tube digestif. Les produits de biotransformation ainsi libérés sont ensuite réabsorbés par l'intestin et de nouveau métabolisés au niveau du foie. On parle alors de cycle entéro-hépatique, dont la conséquence première est une augmentation du temps de séjour du xénobiotique dans l'organisme.

## 1-Bisphénol A

Le 4,4-isopropylidènediphénol, plus couramment appelé bis-phénol A (ou BPA), est un composé chimique de synthèse utilisé notamment dans la fabrication industrielle des plastiques de type polycarbonates et de celle des résines époxy.

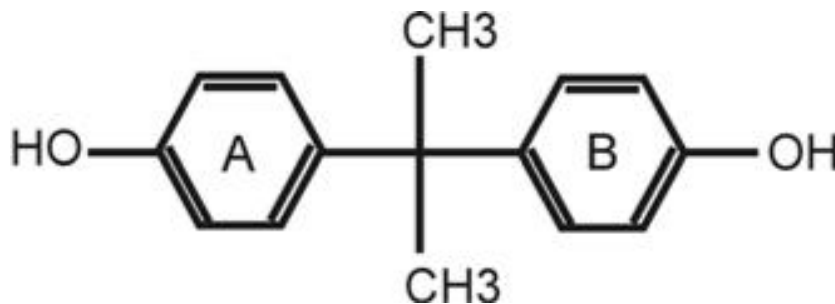


Figure 5 Structure chimique du bisphénol A

Les polycarbonates sont présents dans un grand nombre d'objets courants (CD, lunettes, certaines bouteilles plastiques, biberons) ; on retrouve les résines époxy dans les revêtements intérieurs des boîtes de conserve ou les composites dentaires. Le bisphénol A entre également dans la composition du PVC et de certains plastifiants ainsi que dans les papiers thermosensibles (délivrés par exemple par les caisses enregistreuses).

Le bisphénol A est actuellement classé en tant que substance reprotoxique de catégorie 3. Les évaluations de risque réalisées à la demande des agences sanitaires internationales (EFSA en Europe) ont conduit à définir une dose journalière tolérable de 50 µg de bisphénol A par kg de poids corporel et par jour, soit 2,5 mg par jour pour un individu de 50 kg. Depuis juillet 2010, la fabrication, l'importation, l'exportation et la mise sur le marché à titre gratuit ou onéreux de biberons produits à base de bisphénol A sont suspendues en France jusqu'à l'adoption par l'Agence française (Anses, Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) d'un avis motivé autorisant éventuellement à nouveau ces opérations.

Au cours des dernières années, un nombre croissant de travaux menés dans des laboratoires de recherche académiques ont documenté des effets divers du bisphénol A sur la reproduction.

## 1.1-Exposition

Selon les agences sanitaires internationales, la principale source d'exposition de la population générale est alimentaire. Elle résulte du passage du bisphénol A dans l'aliment ou la boisson à partir des polymères plastiques et résines époxy utilisés pour les emballer ou les contenir.

Chez l'adulte, certains auteurs estiment que la consommation de boissons contenues dans des bouteilles en polycarbonates, d'aliments en conserve ou de denrées chauffées au four à micro-ondes dans leur emballage, entraîne une ingestion moyenne de 0,1 µg de bisphénol A par kg de poids corporel et par jour.

Dans son avis de janvier 2010, l'Afssa estime, d'après les données de la littérature, que l'exposition des nourrissons résultant à la fois du biberon et de l'emballage du lait maternisé se situerait entre 0,2 et 2 µg de bisphénol A par kg de poids corporel et par jour. Des données similaires sont présentées dans un récent rapport (Joint FAO/WHO *Expert Meeting to Review Toxicological and Health Aspects of Bisphenol A Summary Report* 1-5 novembre 2010)<sup>9</sup>.

La manipulation de papiers thermosensibles (délivrés par les caisses enregistreuses) ou l'inhalation de poussières contaminées par le bisphénol A, pourraient constituer d'autres sources de contamination en particulier pour certaines populations. Par ailleurs, des dérivés du bisphénol A utilisés en tant que composites dentaires induisent des taux salivaires élevés en bisphénol A chez les patients. Ceci suggère que plusieurs voies d'exposition ou encore l'exposition à certains dérivés du bisphénol A doivent être envisagées.

Les mesures de bisphénol A effectuées dans le sang, l'urine, le lait maternel et d'autres tissus indiquent que plus de 90 % des personnes vivant dans les pays occidentaux sont exposées à des niveaux détectables de bisphénol A. Des taux supérieurs à la limite de détection de 0,5 µg/l ont été retrouvés dans le placenta, le liquide amniotique et le fœtus chez les rongeurs et dans l'espèce humaine. Le bisphénol A est donc capable de passer la barrière placentaire et d'atteindre le fœtus.

D'après une étude allemande, les enfants (3-5 ans) constituent le sous-groupe présentant la plus forte imprégnation, avec un taux urinaire moyen de 3,5 µg/l. En France, les taux urinaires dans un échantillon de femmes le jour de l'accouchement en bisphénol A total et libre sont en valeur médiane égales à 2,9 et 0,5 µg/g de créatinine respectivement et le ratio bisphénol A libre/bisphénol A total est de 0,17.

Les niveaux d'exposition chez l'adulte comme chez l'enfant estimés à partir des taux urinaires correspondent à une exposition inférieure à la dose journalière tolérable de 50 µg/kg/j.

Chez l'homme adulte, le bisphénol A absorbé par voie digestive est éliminé rapidement dans l'urine sous forme de BPA-glucuronide. La demi-vie plasmatique est de l'ordre de 4-6 h. Dans le contexte d'une exposition ponctuelle, une grande partie du BPA est éliminée en 24 h. Des valeurs semblables ont été récemment rapportées chez les rongeurs et le singe.

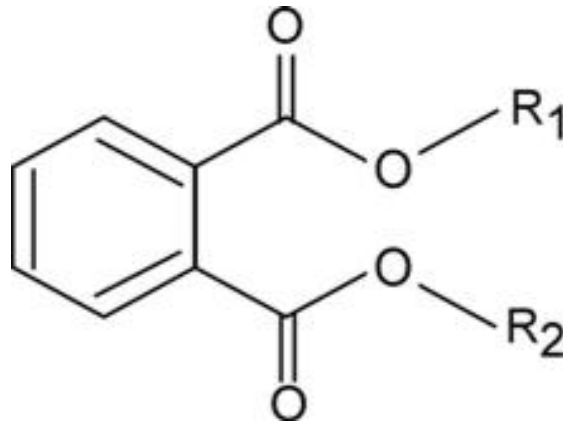
Les extrapolations des données de pharmacocinétique de l'animal à l'homme sont délicates en raison d'importantes différences interspèces dans les processus d'élimination. Des polymorphismes des enzymes de conjugaison chez l'homme pourraient entraîner d'importantes variations individuelles dans la capacité de détoxification. Enfin, des processus

de déconjugaison des métabolites (libérant du bisphénol A) pourraient intervenir dans certains organes cibles.

## 2-Phtalates

Les phtalates sont le produit d'estérification d'un acide phtalique avec un ou plusieurs alcools. On distingue des esters phtaliques dont les deux fonctions

acides sont estérifiées par le même alcool (DEHP, DBP), ou par des alcools différents (BBP) ou encore par des alcools de type oxo (DINP, DIDP).



**Figure 6 Structure chimique de base des phtalates**

R<sub>1</sub>,R<sub>2</sub> = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> : DEP Diéthyl-phtalate ;

R<sub>1</sub>,R<sub>2</sub> = C<sub>8</sub>H<sub>17</sub> : DEHP Di(2-éthyl-hexyl)-phtalate

R<sub>1</sub>,R<sub>2</sub> = C<sub>4</sub>H<sub>9</sub> : DBP Dibutyl-phtalate

R<sub>1</sub>,R<sub>2</sub> = C<sub>9</sub>H<sub>20</sub> : DINP Diisononyl-phtalate

R<sub>1</sub>,R<sub>2</sub> = C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>, C<sub>7</sub>H<sub>7</sub> : BBP Butylbenzyl-phtalate

Parmi les phtalates les plus fréquemment utilisés, outre le DEHP, mentionnons le BBP, le DBP, le DEP et le DINP.

Les phtalates sont retrouvés dans plusieurs produits utilisés couramment tels les adhésifs, les revêtements de sol en vinyle, les huiles lubrifiantes, les condensateurs électriques, les détergents, les solvants, les produits pharmaceutiques, les fils et les câbles électriques et les produits cosmétiques (parfums, déodorants, lotions après rasage, shampooings, aérosols pour cheveux, vernis à ongles...). La particularité des phtalates utilisés en plasturgie tient au fait qu'ils ne sont pas liés de manière covalente aux polymères auxquels ils confèrent leur souplesse. Ils peuvent donc facilement migrer dans les matériaux d'emballages et être

relargués dans le milieu environnant, en particulier lorsque les plastiques qui en contiennent sont soumis à des températures élevées.

Des interdictions et restriction d'usage ont été promulguées par la Commission européenne : dans les préparations à destination du grand public (peintures et colles...), tous les phtalates classés CMR1 et 2 sont interdits ; concernant les articles, interdiction du DEHP, DBP et BBP dans la production des jouets et les articles pour enfants ; interdiction du DINP, DIDP et DNOP(di-n-octyl phtalate) pour les jouets des enfants de moins de trois ans. Les phtalates tels que le DBP, DEHP, BBP ne sont pas autorisés dans les produits cosmétiques ; le DEHP est également interdit dans les matériaux de contact alimentaire. L'usage du DEHP dans les dispositifs médicaux est restreint si les nouveau nés, les femmes enceintes et allaitant, doivent y être exposés.

Les évaluations de risque effectuées par les autorités sanitaires, l'EFSA en Europe, sur le DEHP, le DBP, le DIDP, le BBP et le DINP ont abouti à des doses journalières tolérables (DJT) de respectivement 50, 10, 150, 500 et 150 µg par kg de poids corporel et par jour.

## **2.1-Exposition**

L'exposition humaine à certains phtalates est importante et croît régulièrement en raison de la très large utilisation de cette famille de composés et de l'augmentation des niveaux de production au cours des trente dernières années.

Cette exposition peut provenir du contact direct avec l'air, l'eau ou encore la nourriture et résulte à la fois de l'inhalation, de l'ingestion ou encore de l'absorption percutanée de ces produits. L'ingestion d'aliments ayant été en contact avec des emballages contenant des phtalates demeure la principale source d'exposition pour la population générale adulte. L'alimentation est en particulier la principale source d'exposition pour le DEHP, DBP et DIBP (diisobutyl-phtalate). Chez les enfants, l'ingestion via les contacts mains-bouche pourrait être également importante.

L'exposition chez l'adulte au DEHP est estimée en moyenne à environ 2 µg/kg de poids corporel par jour d'après les données de concentrations urinaires en DEHP ou de ses métabolites dans les populations occidentales. Elle est légèrement plus faible pour les autres phtalates. On observe peu de différences entre les hommes et les femmes.

Comparés (dans le même temps et dans les mêmes études) aux adultes, tous les enfants (0-3 ans) présentent des concentrations urinaires 3 à 5 fois plus élevées. D'après des données allemandes, 1,5 % des enfants en Allemagne présentent une exposition au DEHP supérieure au niveau d'exposition pour lequel l'absence d'effet adverse n'est pas certaine. En France, dans un échantillon de femmes le jour de l'accouchement, les taux urinaires en métabolites sont en valeur médiane égales à 42 µg/l et 28 µg/l respectivement pour le 5OH-MEHP et le 5oxo-MEHP.

Sur la base des teneurs en DEHP dans les aliments pour bébés, des auteurs ont estimé que l'exposition par la voie alimentaire des nourrissons de moins de 6 mois était de près de 10 µg/kg pc/j et de près de 20 µg/kg pc/j chez les enfants de plus de 6 mois.

Depuis les interdictions et restriction d'usage, d'autres phtalates (DINP) sont plus souvent retrouvés en particulier chez les enfants.

Les dispositifs médicaux (poches de sang, tubulures...) représentent pour certains sous-groupes de la population une source non négligeable d'exposition aux phtalates, en particulier au DEHP. L'exposition via les dispositifs médicaux touche principalement les hémodialysés, les donneurs et receveurs de plaquettes et les enfants prématurés. *L'European Chemicals Bureau* (ECB) estimait en 2008 que l'exposition pouvait atteindre 3 000 µg/kg pc/j, chez les hémodialysés adultes et 1700 µg/kg pc/j chez les nouveau-nés transfusés.

Selon les composés, la demi-vie plasmatique chez l'Homme est de 8 à 48 heures. Elle est de 18 heures pour le DEHP. Si on n'observe pas de bioaccumulation, il est important de signaler que comme pour le BPA, l'exposition est continue du fait de la diversité des sources de contamination (alimentaire, environnement, cosmétiques...). Les études réalisées chez l'homme ou la femme montrent que certains phtalates ou leurs métabolites sont retrouvés dans les urines, le plasma sanguin, le plasma séminal, le lait maternel, le liquide amniotique et le sang du cordon.

Le métabolisme des phtalates conduit à la production de métabolites non oxydés et oxydés. Des études récentes semblent indiquer que chez l'homme, les principaux métabolites dans les urines sont les métabolites oxydés. La mesure des métabolites oxydés dans les liquides biologiques permet d'exclure les contaminations liées au matériel utilisé lors du dosage.

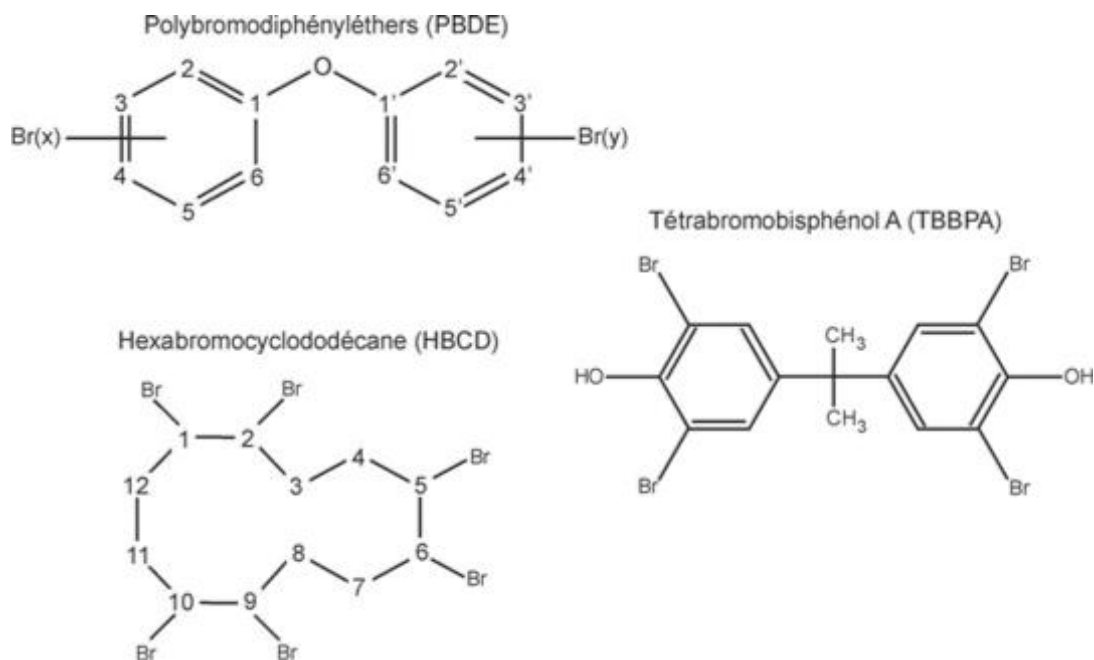
La concentration maximum sanguine en MEHP (métabolite du DEHP) est 7,5 fois plus faible chez le primate non humain (singe) que chez le rat. Chez l'homme et le singe, le MEHP est présent dans le sang et l'urine essentiellement comme glucuro-conjugué. Cependant, des métabolites de DEHP, avec des chaînes ester carboxylées, sont retrouvés sous formes conjuguées et libres dans les échantillons urinaires humains. Différents tissus peuvent être la cible de ces métabolites (testicule, ovaire...). Les différences dans l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion entre différentes espèces (rongeurs, singes et humains) peuvent expliquer des différences de sensibilité aux effets des phtalates.

### **3-Composés polybromés (retardateurs de flamme)**

Il existe aujourd'hui de nombreux types de retardateurs de flamme, agissant soit par voie chimique soit par voie physique. Ceux-ci sont incorporés dans les produits et matériaux concernés (textiles, rideaux, vêtements, sièges, plastiques, mousses, capitonnages, résines, circuits imprimés, câbles, téléviseurs, ordinateurs...) à des teneurs allant en général de 5 à 20 %.

Les retardateurs de flamme chimiques appartiennent à différentes familles dont les plus utilisées sont les composés polybromés (RFB) tels que les polybromodiphényléthers (PBDE), le 1,2,5,6,9,10 hexabromocyclododécane (HBCD) et le tétrabromobisphénol A (TBBPA). Ils représentent 30 % des retardateurs de flamme au niveau européen.





**Figure 7 Structures chimiques des principales familles de retardateurs de flamme bromés**

Du point de vue de leur structure chimique, les PBDE sont des éthers aromatiques bicycliques. Leur classification s'appuie sur le nombre et la position des atomes de brome dans le cycle.

Pour les différencier, la nomenclature usuelle consiste à les désigner par un nombre donnant des informations sur le degré de bromation (nombre d'atomes de brome dans la molécule) et sur la position des atomes de brome sur les cycles benzéniques.

Depuis août 2004, la réglementation européenne interdit les deux mélanges « techniques » de PBDE utilisés industriellement, l'octa-BDE et le penta-BDE, mais autorise toujours le deca-BDE. Ce dernier est essentiellement constitué de BDE 209 ou décabromodiphényléther, celui-ci pouvant se décomposer en congénères plus faiblement bromés par dégradation physique (notamment sous l'influence des rayonnements UV).

Le TBBPA a une structure chimique proche de celle du BPA, avec deux cycles aromatiques liés par un pont carbone. La présence de deux groupements hydroxyles rend ce composé plus polaire que les autres représentants de la famille des retardateurs de flamme bromés, et le distingue donc sur le plan des propriétés physico-chimiques. Le TBBPA est en particulier moins bioaccumulable dans les tissus gras et plus sujet aux réactions de métabolisme de phase II (conjugaison) que les PBDE.

L'HBCD occupe la troisième place au classement des retardateurs de flamme bromés les plus utilisés. L'HBCD « technique » est un mélange principalement constitué de trois diastéréoisomères (composés identiques sauf sur le plan de la disposition spatiale de leurs atomes). C'est l'isomère  $\gamma$  que l'on retrouve de façon prédominante dans les échantillons biologiques d'origine animale.

Les retardateurs de flamme polybromés se caractérisent globalement par des propriétés physico-chimiques qui les rendent lipophiles et bioaccumulables, au même titre que certains autres polluants organiques persistants (POP) halogénés (dioxines, polychlorobisphényles).

Bien que la production de certains RFB (notamment mélanges Penta-BDE et Octa-BDE) ait été stoppée dans certains pays dont l'Europe, leur présence s'est accrue ces dernières décennies dans l'environnement, dans la faune, mais également chez l'Homme.

Il n'y a pas à l'heure actuelle de DJT définie par les Agences sanitaires. Les évaluations sont en cours. À titre d'indication, les valeurs de référence émises par l'agence américaine (US-EPA) sont de 0,1 µg/kg pc/j pour le BDE 99 et de 7 µg/kg pc/j pour le BDE 209.

### **3.1-Exposition**

En raison du caractère lipophile de ces polluants, les produits alimentaires riches en lipides (viande, poisson, lait) contribuent de façon majeure à l'exposition de l'Homme aux retardateurs de flamme bromés. Toutefois, les habitudes alimentaires très diverses d'un continent à l'autre expliquent une disparité observée parmi les principaux contributeurs à l'exposition.

Les voies d'exposition aérienne (par l'ingestion de poussières) et directe (par contact avec certains matériaux plastiques) représentent d'autres voies d'exposition aux congénères les plus hautement bromés comme le BDE 209, en particulier chez les jeunes enfants.

En population générale, les niveaux d'exposition aux PBDE estimés sont de l'ordre de 1 ng/kg de poids corporel/jour.

La présence de plusieurs congénères dans certains fluides et tissus biologiques humains est avérée. Dans le sérum ou le lait maternel, les teneurs observées sont de l'ordre de quelques ng/g de lipide.

Depuis le début des années 2000, une tendance à une diminution des niveaux d'imprégnation a été rapportée pour les principaux congénères de type PBDE, correspondant à un arrêt de la production et de l'utilisation des deux mélanges industriels Penta- et Octa-BDE. En revanche, cette diminution ne semble pas concerner les autres composés toujours utilisés, en particulier le BDE 209, l'HBCD ou encore le TBBPA, mais pour lesquels les données disponibles sont limitées. D'après les rapports d'évaluations disponibles, les niveaux d'exposition à l'HBCD sont de 2 à 10 ng/kg/jour pour l'exposition provenant des poussières de textiles et de 20 ng/kg/jour via l'alimentation.

Pour le TBBPA, le niveau d'exposition est de 80 ng/kg/jour via l'environnement.

Les études conduites chez le rat indiquent qu'après administration orale le BDE 209 est éliminé principalement dans les fèces alors que l'élimination urinaire est négligeable. La demi-vie du BDE 209 est estimée à 2 jours chez le rat et 14 jours chez l'homme. Globalement, les demi-vies des PBDE varient de quelques semaines (BDE 209) à quelques années (BDE 47).

Pour les différents congénères, des métabolites hydroxylés se forment et des conjugués sulfates et glucuronides sont éliminés dans l'urine.

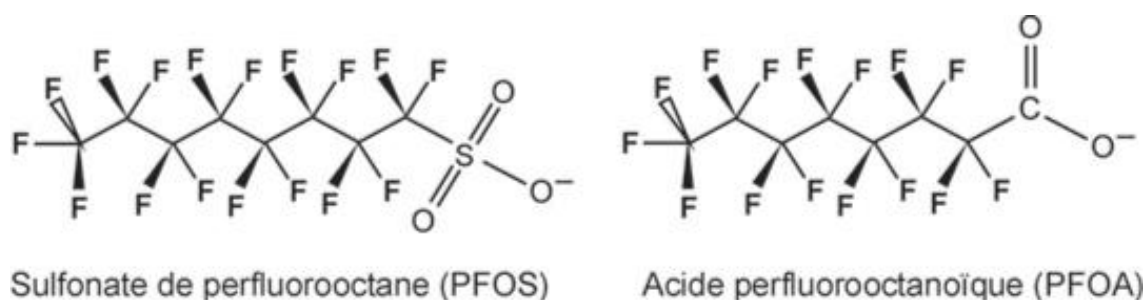
## 4-Composés perfluorés

Le terme « composés perfluorés » (PFC) se réfère à une vaste famille de molécules chimiques comprenant des oligomères et des polymères. Il s'agit de composés tensio-actifs, neutres ou anioniques, présentant une grande stabilité sur les plans thermique, chimique et biologique.

Les composés perfluorés ont été ou sont utilisés dans de nombreuses applications industrielles, notamment pour les traitements anti-taches et imperméabilisants de textiles (vêtements, tissus, tapis, moquettes...), les enduits résistants aux matières grasses, les emballages en papier et/ou carton autorisés pour le contact alimentaire, les revêtements anti-adhésifs, les mousses anti-incendie, les tensioactifs utilisés dans l'exploitation minière et les puits de pétrole, les cires à parquet, ou encore certaines formulations d'insecticides. En conséquence, les consommateurs des pays industrialisés sont aujourd'hui en contact avec ces composés dans leur vie quotidienne, à travers un grand nombre de produits manufacturés. Comme beaucoup d'autres polluants chimiques d'origine anthropique, les composés perfluorés peuvent être relargués dans l'environnement à chaque étape de leur cycle de vie, puis retrouvés dans la chaîne alimentaire et *in fine* dans les organismes vivants.

Un sous-groupe important au sein de cette famille de polluants chimiques émergents depuis quelques années, est celui des tensio-actifs organiques tels que le sulfonate de perfluorooctane (PFOS) et l'acide perfluorooctanoïque (PFOA), qui présentent une chaîne carbonée à huit atomes de carbone. Ces deux substances étant les principaux produits de dégradation finaux de nombreux composés perfluorés, elles sont retrouvées de façon généralement prépondérante dans les matrices environnementales ou biologiques, et sont le plus souvent les seules étudiées.

Par leur structure chimique comportant d'une part une chaîne carbonée polyfluorée apolaire et d'autre part un groupement fortement polaire, les PFC se caractérisent par des propriétés à la fois hydrophobes et lipophobes, et de ce fait ne s'accumulent pas dans les tissus adipeux. La demi-vie du PFOS et du PFOA est toutefois de plusieurs années chez l'Homme. Le PFOS a été récemment inclus dans la liste des polluants persistants de la convention de Stockholm (UNEP *United Nations Environment Programme*). Depuis 2006, le PFOS est interdit dans certains usages par la réglementation européenne.



**Figure 8 Structures chimiques du PFOS (sulfonate de perfluorooctane) et du PFOA (acide perfluorooctanoïque)**

Dans son rapport scientifique rendu public en 2008, le panel Contam de l'EFSA a établi une valeur de dose journalière tolérable pour le PFOS égale à 0,15 µg/ kg/jour et pour le PFOA de 1,5 µg/kg/jour.

## 4.1-Exposition

La source alimentaire apparaît comme la voie d'exposition principale aux composés perfluorés, en particulier pour l'adulte. D'autres sources notamment via le contact direct avec certains revêtements de type tapis ou moquette, représentent toutefois une voie non négligeable d'exposition pour les jeunes enfants. De façon générale, les valeurs estimées d'exposition aux composés perfluorés varient de quelques ng à quelques dizaines de ng/kg/jour. Elles apparaissent en deçà des limites tolérées pour l'adulte en population générale mais proches des limites pour des sous-populations particulièrement exposées. Pour les gros consommateurs de poisson, l'apport alimentaire en PFOS via le poisson a été estimé à 0,2 µg/kg/jour.

La présence de plusieurs représentants de cette classe de composés dans des fluides et tissus biologiques humains est avérée.

Dans le sérum, les teneurs observées sont de l'ordre de quelques ng à quelques dizaines de ng/ml. Le PFOS et le PFOA apparaissent comme étant deux principaux biomarqueurs d'exposition aux composés perfluorés.

Une tendance à la diminution des niveaux d'imprégnation en population générale est observée aux États-Unis depuis 2002, date correspondant à l'arrêt de la production d'une des principales sociétés productrices. En revanche, l'absence de données concernant les autres pays ne permet pas de généraliser cette observation.

Plusieurs études ont fait état d'un transfert mère-fœtus via le sang du cordon. Toutefois, les niveaux de concentration rapportés dans le sang du cordon sont systématiquement inférieurs aux teneurs observées dans le sang maternel (d'un facteur 1,5 à 3,5). L'existence d'une exposition du nourrisson allaité via le lait maternel est de même démontrée, même si cette voie de transfert de la mère à l'enfant apparaît plus limitée que pour d'autres classes de polluants organiques halogénés tels que les dioxines, les PCB, ou les retardateurs de flamme bromés.

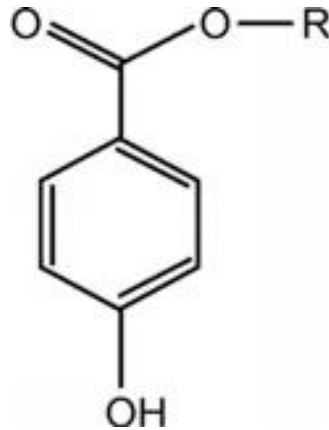
Les demi-vies plasmatiques estimées pour le PFOS et le PFOA sont de l'ordre de quelques heures chez le rongeur, quelques jours chez le primate et quelques années chez l'homme. Parmi les polluants bioaccumulables, ils sont moins persistants que d'autres substances plus lipophiles tels les dioxines ou les PCB.

Une élimination plus rapide chez la femelle a été montrée chez l'animal, cette différence étant toutefois moins significative dans l'espèce humaine. Par ailleurs, on observe une importante variabilité inter et intra-espèce des paramètres pharmacocinétiques selon les composés et en particulier selon la longueur de la chaîne carbonée, les composés à plus longue chaîne présentant un caractère plus persistant.

## 5-Parabènes

Les parabènes sont des esters de l'acide 4-hydroxybenzoïque, présentant un cycle benzénique substitué en para par un groupement ester avec des chaînes alkyles de taille variable. Les structures les plus courantes sont : méthyl parabène, éthyl parabène, propyl parabène, butyl parabène, benzyl parabène.

En raison de leurs propriétés antibactériennes et antifongiques, les parabènes sont très largement utilisés comme conservateurs dans les cosmétiques, les médicaments et les aliments. Leur première utilisation en tant que conservateur remonte à 1920.



**Figure 9 Structure chimique de base des parabènes**

R = chaîne alkyle (méthyl, éthyl, propyl, butyl, ...)

Les composés de la famille des parabènes autorisés comme additifs alimentaires sont: le méthyl parabène (E218) et son sel de sodium (E219) et l'éthyl parabène (E214) et son sel de sodium (E215). Leur emploi en tant qu'additifs alimentaires est régi par la directive européenne 95/2/CE du 20 février 1995.

Les parabènes les plus utilisés en cosmétique sont le méthyl, l'éthyl, le propyl, le butyl et l'isobutyl parabène. La directive 76/768/CEE régit l'utilisation des parabènes dans les produits cosmétiques et fixe leur emploi à 0,4 % (en acide) pour un ester et 0,8 % (en acide) pour les mélanges d'esters. Dans les médicaments, c'est le propyl parabène qui est principalement utilisé.

Les autorités sanitaires européennes (EFSA) ont défini une dose journalière tolérable pouvant aller jusqu'à 10 000 µg/kg/jour pour le mélange méthyl et éthyl parabènes.

## **5.1-Exposition**

Du fait de leur emploi comme conservateurs dans plus de 80 % des produits cosmétiques (shampoings, crèmes hydratantes, mousses à raser...), dans de nombreuses spécialités pharmaceutiques, et comme additif alimentaire, l'être humain est régulièrement exposé aux parabènes.

L'exposition aux méthyl, éthyl, propyl, et butyl parabènes a été évaluée dans un échantillon représentatif de la population générale des États-Unis (personnes âgées de 6 ans et plus) entre 2005 et 2006. Le méthyl et le propyl parabènes ont été détectés dans plus de 90 % des échantillons, l'éthyl et le butyl dans un peu moins de 50 %. La concentration médiane du méthyl parabène était de 63,5 µg/l d'urine et celle du propyl parabène de 8,7 µg/l. Les

adolescentes et les femmes adultes avaient des concentrations significativement plus fortes que les adolescents et hommes adultes.

Une estimation à partir des différentes sources possibles d'exposition indique un taux de 1 300 µg/kg/jour pour la population américaine.

La confirmation de la capacité des parabènes d'être absorbés systématiquement à partir d'applications topiques a été démontrée chez l'homme. Le n-butyl parabène est détecté dans le sérum en 1 h et dans l'urine avec un pic à 8-12 h, dont la majorité conjuguée sous forme de glucuronide.

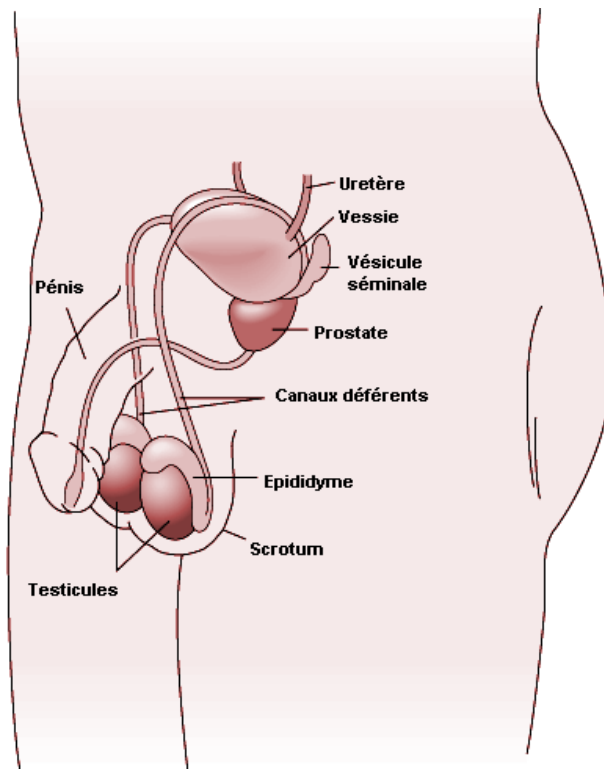
## **II-Perturbateurs endocriniens et reproduction masculine et féminine.**

Les effets d'agents toxiques sur la reproduction présentent nombre de différences importantes et tout à fait particulières par rapport aux effets sur d'autres systèmes. Tandis que les autres formes de toxicité liées à l'environnement impliquent habituellement le développement d'une maladie chez la personne exposée, du fait que la reproduction exige une interaction entre deux individus, la toxicité pour la reproduction s'exprime au niveau d'une unité reproductrice, ou couple. Cet aspect particulier, couple-dépendant, même s'il est évident, est distinctif de la toxicité pour la reproduction. Il est possible que l'exposition d'un membre du couple reproducteur (l'homme, par exemple) à un toxique se manifeste par une issue de la reproduction défavorable chez l'autre membre du couple (une augmentation de la fréquence des avortements spontanés). Toute l'étude des causes environnementales de la toxicité pour la reproduction doit prendre en compte cet aspect couple-dépendant.

D'autres aspects distinctifs reflètent les problèmes posés par la toxicité pour la reproduction. A l'inverse de la fonction rénale, cardiaque ou pulmonaire, la fonction génitale ne s'exerce que par intermittence, ce qui signifie que l'exposition professionnelle peut interférer avec la reproduction sans être remarquée au cours des périodes pendant lesquelles la fécondité n'est pas souhaitée. Ce caractère intermittent rend plus difficile l'identification d'un produit toxique pour la reproduction chez les êtres humains. Une autre caractéristique particulière de la reproduction, découlant directement des considérations précédentes, est qu'une évaluation complète de l'intégrité fonctionnelle du système reproducteur exige que le couple essaie d'avoir un enfant.

### **A-LE SYSTÈME REPRODUCTEUR MASCULIN ET LA TOXICOLOGIE**

La spermatogenèse et la spermio-genèse sont les processus cellulaires qui produisent des cellules sexuelles mâles matures. Ces processus ont lieu dans les tubes séminifères des testicules de l'homme pubère, comme le montre la figure 10. Les tubes séminifères de l'homme mesurent entre 30 et 70 cm de long et 150 à 300 µm de diamètre (Zaneveld, 1978). Les spermatogonies (cellules souches), disposées le long de la membrane basale des tubes séminifères, sont les cellules de base pour la production de spermatozoïdes.



**Figure 10 L'appareil reproducteur masculin**

Le spermatozoïde parvient à maturité par une série de divisions cellulaires au cours desquelles les spermatogonies prolifèrent et deviennent des spermatocytes de premier ordre. Ceux-ci, encore inactifs, traversent les étroits espaces formés par les cellules de Sertoli et atteignent la face lumineuse de cette barrière testiculaire. Au moment où les spermatocytes atteignent la barrière membranaire du testicule, la synthèse de l'ADN, le matériel génétique du noyau cellulaire, est, pour l'essentiel, achevée. Lorsqu'ils rencontrent la lumière du tube séminifère, ils passent par un type particulier de division cellulaire qui se produit uniquement dans les cellules germinales et qui s'appelle méiose. La division cellulaire méiotique provoque le clivage des paires de chromosomes du noyau, de sorte que chaque cellule germinale qui en résulte ne contient qu'une seule copie de chaque brin de chromosome au lieu d'une paire.

Au cours de la méiose, les chromosomes changent de forme: ils se condensent et deviennent filamenteux. A un moment, la membrane nucléaire qui les entoure se rompt et des fuseaux microtubulaires se fixent sur les paires de chromosomes, les obligeant à se séparer. Cela met fin à la première division méiotique, qui donne naissance à deux spermatocytes haploïdes de deuxième ordre. Ceux-ci passent par une seconde division méiotique à l'issue de laquelle il se forme un nombre égal de chromosomes X et Y portant des spermatides.

La transformation morphologique des spermatides en spermatozoïdes s'appelle la spermiogenèse. Lorsque celle-ci est terminée, chaque cellule spermatique est libérée par les cellules de Sertoli dans la lumière du tube séminifère par un processus appelé spermiation. Le spermatozoïde migre le long du tube vers le rete testis et dans la tête de l'épididyme. Les spermatozoïdes qui quittent le tube séminifère sont immatures: ils ne sont capables ni de féconder un ovule, ni de se déplacer. Les spermatozoïdes libérés dans la lumière du tube séminifère sont en suspension dans un liquide produit essentiellement par les cellules de Sertoli. En raison de légères modifications du milieu ionique du rete testis, du sperme

concentré en suspension dans ce liquide s'écoule en permanence depuis les tubes séminifères jusque dans l'épididyme par les canaux efférents. L'épididyme est un tube unique très enroulé (5 à 6 mètres de long) dans lequel les spermatozoïdes séjournent 12 à 21 jours.

Dans l'épididyme, les spermatozoïdes acquièrent progressivement leur motilité et leur pouvoir fécondant, peut-être en raison d'un changement de nature du liquide contenant la suspension qui se trouve dans l'épididyme. C'est-à-dire que, au fur et à mesure que les cellules mûrissent, l'épididyme absorbe les composants du liquide contenant les sécrétions des cellules de Sertoli (la protéine liant les androgènes, par exemple), ce qui augmente la concentration en spermatozoïdes. L'épididyme apporte également ses propres sécrétions au liquide, dont la glycérylphosphorylcholine et la carnitine, qui sont des substances chimiques.

La morphologie du spermatozoïde continue de se transformer dans l'épididyme. La gouttelette cytoplasmique est éliminée et le noyau du spermatozoïde se condense encore plus. Si l'épididyme est le principal réservoir de stockage des spermatozoïdes jusqu'à l'éjaculation, environ 30% des spermatozoïdes d'un éjaculat étaient stockés dans le canal déférent. Des éjaculations fréquentes accélèrent le passage du sperme dans l'épididyme et peuvent augmenter le nombre de spermatozoïdes immatures (stériles) dans l'éjaculat (Zaneveld, 1978).

### **A.1-L'éjaculation**

Une fois dans le canal déférent, les spermatozoïdes sont transportés par les contractions musculaires de l'éjaculation plutôt que par le flux liquidien. Au cours de l'éjaculation, des liquides sont expulsés énergiquement des glandes sexuelles annexes, produisant le plasma séminal. Ces glandes n'expulsent pas leurs sécrétions en même temps. La glande bulbo-urétrale (glande de Cowper) expulse d'abord un liquide clair, puis suivent les sécrétions prostatiques, les liquides contenant les spermatozoïdes issus de l'épididyme et de l'ampoule du canal déférent et, enfin, la plus grande partie provenant essentiellement des vésicules séminales. Le plasma séminal n'est donc pas un liquide homogène.

### **A.2-Les effets toxiques sur la spermatogenèse et la spermiogenèse**

Des toxiques peuvent perturber la spermatogenèse à différents niveaux. Les toxiques les plus nocifs sont ceux qui détruisent ou modifient les spermatogonies, ou les cellules de Sertoli, du point de vue génétique (sans réparation possible), car leur action est irréversible. Des études chez l'animal ont permis de déterminer le stade auquel un toxique attaque le processus de spermatogenèse. Pour ces études, on soumet les animaux à une exposition de courte durée à un toxique, puis on effectue des prélèvements destinés à en déterminer les effets. En connaissant la durée de chaque stade de la spermatogenèse, il est possible d'en déduire le stade affecté.

L'analyse biochimique du plasma séminal fournit un aperçu de la fonction des glandes sexuelles annexes. Les substances chimiques sécrétées principalement par chacune de ces dernières sont généralement choisies comme marqueur pour chaque type de glande. Ainsi, l'épididyme est représenté par la glycérylphosphorylcholine, les vésicules séminales par le fructose et la prostate par le zinc. Il faut noter que ce type d'analyse ne fournit que des informations grossières sur la fonction glandulaire et peu, ou pas, d'informations sur les autres constituants sécrétoires. La mesure du pH et de l'osmolalité du sperme donne des informations générales supplémentaires sur la nature du plasma séminal.



Il est possible d'analyser le plasma séminal, à la recherche d'un toxique ou de son métabolite. Des métaux lourds y ont été détectés grâce à la spectrophotométrie par absorption atomique, tandis que des hydrocarbures halogénés ont été dosés dans le sperme par chromatographie en phase gazeuse après extraction ou filtration protéine-limitante (Stachel et coll., 1989; Zikarge, 1986).

La viabilité et la motilité des spermatozoïdes dans le plasma séminal reflètent habituellement sa qualité. Des modifications de leur viabilité, mesurée par l'absence de coloration ou le gonflement hypo-osmotique, ou de leurs paramètres de motilité pourraient évoquer des effets toxiques post-testiculaires.

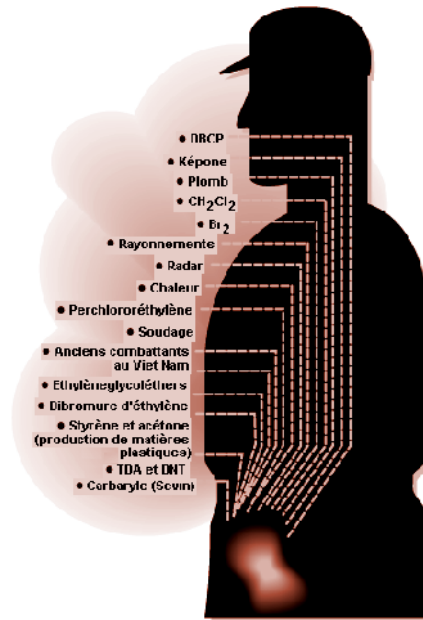
L'analyse du sperme peut également indiquer si la production de cellules spermatiques a été touchée par un toxique. Le nombre et la morphologie des spermatozoïdes donnent des indications sur l'intégrité de la spermatogenèse et de la spermiogenèse. Le nombre de spermatozoïdes présents dans l'éjaculat est directement lié au nombre de cellules germinales par gramme de testicule (Zukerman et coll., 1978), tandis qu'une morphologie anormale résulte probablement d'une spermiogenèse anormale. Des spermatozoïdes morts ou immobiles reflètent souvent les effets d'événements post-testiculaires. Le type d'effet toxique ou le moment de sa survenue donne des indications sur la cible du toxique. Par exemple, l'exposition de rats mâles au 2-méthoxyéthanol a entraîné une diminution de la fécondité après quatre semaines (Chapin et coll., 1985). Ce signe, confirmé par l'examen histologique, indique que la cible de l'effet toxique est le spermatocyte (Chapin et coll., 1984). S'il n'est pas acceptable du point de vue éthique d'exposer intentionnellement des sujets humains à des produits que l'on suspecte d'être toxiques pour la reproduction, l'analyse du sperme provenant d'éjaculats en série d'hommes accidentellement exposés sur une courte durée à des toxiques potentiels peut fournir des informations similaires utiles.

L'exposition professionnelle au 1,2-dibromochloropropane (DBCP) a diminué la concentration de spermatozoïdes dans les éjaculats, la faisant passer de 79 millions de cellules/ml en moyenne chez des hommes n'ayant pas été exposés à 46 millions de cellules/ml chez des travailleurs exposés (Whorton et coll., 1979). Une fois soustraits à cette exposition, les hommes dont le nombre de spermatozoïdes avait diminué ont récupéré partiellement, tandis que ceux qui étaient azospermiques sont restés stériles. La biopsie testiculaire a révélé que la cible du DBCP était la spermatogonie. Cela confirme la gravité de l'effet lorsque les cellules souches sont la cible des toxiques. Rien n'indiquait que l'exposition d'hommes au DBCP était associée à une issue défavorable de la grossesse (Potashnik et Abeliovich, 1985). L'étude de travailleurs exposés au dibromure d'éthylène constitue un autre exemple de toxiques ayant pour cible la spermatogenèse/spermiogenèse. Ces travailleurs avaient plus de spermatozoïdes à tête fuselée et moins de spermatozoïdes par éjaculat que les témoins (Ratcliffe et coll., 1987).

L'atteinte génétique est difficile à déceler dans le sperme humain. Plusieurs études chez l'animal utilisant le test de mutation létale dominante (Ehling et coll., 1978) indiquent que l'exposition du père peut entraîner une issue pathologique de la grossesse. Des études épidémiologiques portant sur des populations importantes ont montré une augmentation de la fréquence des avortements spontanés chez des femmes dont le mari travaillait dans la mécanique automobile (McDonald et coll., 1989). De telles études indiquent la nécessité de trouver des méthodes permettant de déceler l'atteinte génétique du sperme humain. Plusieurs laboratoires sont en train de mettre au point certaines techniques, notamment des sondes d'ADN destinées à détecter les mutations génétiques (Hecht, 1987), le caryotypage des

chromosomes des spermatozoïdes (Martin, 1983) et l'évaluation de la stabilité de l'ADN par cytométrie de flux (Evenson, 1986).

La figure 11 donne la liste des toxiques connus pour affecter la qualité du sperme et le tableau 1 présente un résumé des résultats des études épidémiologiques concernant les effets de l'exposition paternelle sur la reproduction.



**Figure 11 Expositions associées à des effets nuisant à la qualité du sperme**

**Tableau 1 Etudes épidémiologiques concernant les effets de l'exposition paternelle sur l'issue de la grossesse**

Référence	Type d'exposition ou de profession	Association avec une exposition <sup>1</sup>	Effet
<b>Etudes de populations basées sur le dossier médical</b>			
Lindbohm et coll., 1984	Solvants	–	Avortement spontané
Lindbohm et coll., 1984	Station-service	+	Avortement spontané
Daniell et Vaughan, 1988	Solvants organiques	–	Avortement spontané
McDonald et coll., 1989	Mécanique	+	Avortement spontané
McDonald et coll., 1989	Traitement des aliments	+	Anomalies du développement
Lindbohm et coll., 1991a	Oxyde d'éthylène	+	Avortement spontané
Lindbohm et coll., 1991a	Raffinerie de pétrole	+	Avortement spontané
Lindbohm et coll., 1991a	Produits d'imprégnation du bois	+	Avortement spontané

Lindbohm et coll., 1991a	Produits chimiques utilisés dans l'industrie du caoutchouc	+	Avortement spontané
Olsen et coll., 1991	Métaux	+	Risque de cancer chez l'enfant
Olsen et coll., 1991	Machinistes	+	Risque de cancer chez l'enfant
Olsen et coll., 1991	Forgerons	+	Risque de cancer chez l'enfant
Kristensen et coll., 1993	Solvants	+	Naissance prématurée
Kristensen et coll., 1993	Plomb et solvants	+	Naissance prématurée
Kristensen et coll., 1993	Plomb	+	Mort périnatale
Kristensen et coll., 1993	Plomb	+	Morbidity des enfants de sexe masculin
<b>Etudes cas-témoins</b>			
Kucera, 1968	Imprimerie	(+)	Fente labiale
Kucera, 1968	Peinture	(+)	Fente palatine
Olsen, 1983	Peinture	+	Atteinte du système nerveux central
Olsen, 1983	Solvants	(+)	Atteinte du système nerveux central
Sever et coll., 1988	Rayonnements de faible intensité	+	Malformations du tube neural
Taskinen et coll., 1989	Solvants organiques	+	Avortement spontané
Taskinen et coll., 1989	Hydrocarbures aromatiques	+	Avortement spontané
Taskinen et coll., 1989	Poussière	+	Avortement spontané
Gardner et coll., 1990	Rayonnements	+	Leucémie de l'enfant
Bonde, 1992	Soudure	+	Difficultés de conception
Wilkins et Sinks, 1990	Agriculture	(+)	Tumeur cérébrale de l'enfant
Wilkins et Sinks, 1990	Construction	(+)	Tumeur cérébrale de l'enfant
Wilkins et Sinks, 1990	Traitement des aliments/du tabac	(+)	Tumeur cérébrale de l'enfant
Wilkins et Sinks, 1990	Métaux	+	Tumeur cérébrale de l'enfant
Lindbohm et coll., 1991b	Plomb	(+)	Avortement spontané
Sallmen et coll., 1992	Plomb	(+)	Malformations congénitales
Veulemans et coll., 1993	Ethylèneglycoléther	+	Anomalies du spermogramme
Chia et coll., 1992	Métaux	+	Cadmium dans le sperme

<sup>1</sup> Pas d'association significative; (+) association légèrement significative; + association significative

Source: d'après Taskinen, 1993.

### **A.3-Le système neuroendocrinien**

Le fonctionnement global du système reproducteur est contrôlé par le système nerveux et les hormones produites par les glandes (système endocrinien). L'axe neuroendocrinien reproducteur de l'homme comprend essentiellement le système nerveux central, l'antéhypophyse et les testicules. Les afférences du système nerveux central et de la périphérie sont intégrées par l'hypothalamus, qui régule directement la sécrétion de gonadotrophines par l'antéhypophyse. Les gonadotrophines, à leur tour, agissent essentiellement sur les cellules de Leydig contenues dans l'interstitium et sur les cellules de Sertoli et les cellules germinales contenues dans les tubes séminifères, afin de réguler la spermatogenèse et la production d'hormones par les testicules.

### **A.4-L'axe hypothalamo-hypophysaire**

L'hypothalamus sécrète une neurohormone, la gonadostimuline, dans le système porte hypophysaire, qui la transporte vers l'antéhypophyse. La sécrétion pulsatile de ce décapeptide provoque la libération concomitante de l'hormone lutéinisante (LH) et, d'une manière moins synchrone et avec cinq fois moins de puissance, celle de l'hormone folliculo-stimulante (FSH) (Bardin, 1986). Il existe des preuves convaincantes de la présence d'une hormone libératrice de la FSH particulière, bien qu'elle n'ait pas encore pu être isolée (Savy-Moore et Schwartz, 1980; Culler et Negro-Vilar, 1986). Ces hormones sont sécrétées par l'antéhypophyse. La LH agit directement sur les cellules de Leydig afin de stimuler la synthèse et la libération de testostérone, tandis que la FSH stimule l'aromatisation de la testostérone en œstradiol par les cellules de Sertoli. La stimulation gonadotrope entraîne la libération de ces hormones stéroïdiennes dans la veine spermatique.

La sécrétion de gonadotrophines, à son tour, est contrôlée par la testostérone et l'œstradiol au moyen de mécanismes de rétroaction négative. La testostérone agit principalement sur l'hypothalamus pour réguler la sécrétion de gonadostimuline et, ainsi, diminue la fréquence des pulsations libérant essentiellement la LH. D'autre part, l'œstradiol agit sur l'hypophyse afin de diminuer l'amplitude de la libération de gonadotrophines. Par ces boucles endocriniennes rétroactives, la fonction testiculaire en général, et la sécrétion de testostérone en particulier, sont maintenues relativement constantes.

### **A.5-L'axe hypophyso-testiculaire**

La LH et la FSH sont généralement considérées comme nécessaires à une spermatogenèse normale. Il est probable que l'effet de la LH est secondaire à l'induction d'une concentration intratesticulaire élevée de testostérone. Par conséquent, la FSH de l'hypophyse et la testostérone des cellules de Leydig agissent sur les cellules de Sertoli contenues dans l'épithélium du tube séminifère afin de déclencher la spermatogenèse. La production de spermatozoïdes se poursuit, bien que quantitativement réduite, après la disparition soit de la LH (et probablement de la forte concentration intratesticulaire de testostérone), soit de la FSH. La FSH est nécessaire pour déclencher la spermatogenèse à la puberté et, dans une moindre mesure, pour relancer la spermatogenèse lorsqu'elle a été interrompue (Matsumoto, 1989; Sharpe, 1989).

La synergie hormonale qui sert à entretenir la spermatogenèse pourrait comporter le recrutement par la FSH de spermatogonies différenciées afin qu'elles entament la méiose, tandis que la testo-stérone contrôlerait des stades ultérieurs spécifiques de la spermatogenèse. La FSH et la testostérone peuvent également agir sur les cellules de Sertoli afin de stimuler la production d'un ou de plusieurs facteurs paracrines pouvant modifier le nombre de cellules de Leydig et leur production de testostérone (Sharpe, 1989). La FSH et la testostérone stimulent la synthèse de protéines par les cellules de Sertoli, notamment la synthèse de la protéine liant les androgènes (ABP), tandis que la FSH seule stimule la synthèse de l'aromatase et de l'inhibine. L'ABP, sécrétée essentiellement dans le liquide du tube séminifère, est transportée vers la partie proximale de la tête de l'épididyme, où elle sert probablement de support local pour les androgènes (Bardin, 1986). L'aromatase catalyse la conversion de la testostérone en œstradiol dans les cellules de Sertoli et dans d'autres tissus périphériques.

L'inhibine est une glycoprotéine composée de deux sous-unités différentes, a et b, liées par un pont disulfure. Si l'inhibine entrave préférentiellement la libération de FSH, elle peut également diminuer la libération de LH en présence d'une stimulation par la gonadostimuline (Kotsugi et coll., 1988). La FSH et la LH stimulent la libération d'inhibine avec sensiblement la même puissance (McLachlan et coll., 1988). Il est intéressant de noter que l'inhibine est excrétée dans le sang de la veine spermatique par des pulsations synchrones avec celles de la testostérone (Winters, 1990). Cela ne reflète probablement pas une action directe de la LH ou de la testostérone sur l'activité des cellules de Sertoli, mais plutôt les effets d'autres produits des cellules de Leydig excrétés soit dans les espaces interstitiels, soit dans la circulation.

La prolactine, également sécrétée par l'antéhypophyse, agit en synergie avec la LH et la testostérone pour activer la fonction de reproduction chez l'homme. La prolactine se fixe sur des récepteurs spécifiques portés par les cellules de Leydig et augmente la quantité du complexe récepteur d'androgènes dans le noyau des tissus sensibles aux androgènes (Baker et coll., 1977). L'hyperprolactinémie s'accompagne d'une réduction de la taille des testicules et de la prostate, du volume de sperme et de la concentration de LH et de testostérone circulante (Segal et coll., 1979). L'hyperprolactinémie a également été associée à une impuissance, apparemment non liée à une modification de la sécrétion de testostérone (Thorner et coll., 1977).

Si on mesure la quantité de métabolites des hormones stéroïdes dans l'urine, il faut tenir compte du fait que l'exposition étudiée peut en modifier le métabolisme. Cela est d'autant plus pertinent que la plupart des métabolites sont formés par le foie, cible de nombreux toxiques. Le plomb, par exemple, diminue la quantité de stéroïdes sulfatés excrétés dans l'urine (Apostoli et coll., 1989). Chez l'homme, le taux sanguin de chaque gonadotrophine s'élève au cours du sommeil au début de la puberté, tandis que la testostérone se maintient à son taux diurne pendant tout l'âge adulte (Plant, 1988). C'est pourquoi les prélèvements de sang, d'urine et de salive doivent être faits à peu près à la même heure du jour afin d'éviter des variations liées au schéma sécrétoire diurne.

Il est très vraisemblable que les effets patents de l'exposition à un toxique ayant pour cible le système neuroendocrinien reproducteur se manifestent par des modifications biologiques des androgènes. Chez l'homme adulte, les manifestations régulées de manière significative par les androgènes et pouvant être décelées au cours d'un examen physique de base sont les suivantes:

- 1) la rétention azotée et le développement musculaire;
- 2) l'état des organes génitaux externes et des organes génitaux annexes;
- 3) l'hypertrophie du larynx et l'épaississement des cordes vocales à l'origine de la voix masculine;
- 4) la croissance de la barbe et des poils axillaires et pubiens, les golfes temporaux et la calvitie;
- 5) la libido et les performances sexuelles;
- 6) la présence dans certains tissus (foie, reins, glandes salivaires) de protéines spécifiques d'organes;
- 7) un comportement agressif (Bardin, 1986). Une modification de l'un ou l'autre de ces traits peut indiquer une altération de la production d'androgènes.

#### **A.6-Exemples d'effets des toxiques**

Le plomb est un exemple classique de toxique qui atteint directement le système neuroendocrinien. Chez des hommes exposés au plomb pendant moins d'un an, la concentration sérique de LH était élevée. Cet effet n'était pas supérieur chez les hommes exposés pendant plus de cinq ans. Le taux sérique de FSH n'était pas modifié. D'autre part, le taux sérique d'ABP avait augmenté et celui de testostérone totale diminué chez les hommes exposés au plomb pendant plus de cinq ans. Le taux sérique de testostérone libre avait baissé de manière significative après une exposition au plomb de trois à cinq ans (Rodamilans et coll., 1988). En revanche, la concentration sérique de LH, de FSH, de testostérone totale, de prolactine et de 17-cétostéroïdes neutres n'était pas modifiée chez les travailleurs ayant une plombémie basse, même si la fréquence de distribution des spermatozoïdes était modifiée (Assennato et coll., 1986).

L'exposition de peintres de chantiers navals au 2-éthoxyéthanol avait entraîné une diminution du nombre de spermatozoïdes sans modification concomitante du taux sérique de LH, de FSH ou de testostérone (Welch et coll., 1988). Ainsi, des toxiques peuvent affecter séparément la production d'hormones et le taux de spermatozoïdes.

Chez des travailleurs affectés à la fabrication du DBCP, un nématocide, le taux sérique de LH et de FSH avait augmenté, tandis que le nombre de spermatozoïdes et la fécondité avaient diminué. Ces effets sont apparemment des séquelles de l'action du DBCP sur les cellules de Leydig, qui modifie la production ou l'action des androgènes (Mattison et coll., 1990).

Plusieurs composés peuvent être toxiques en raison de leur similitude structurale avec les hormones stéroïdiennes de la reproduction. C'est ainsi qu'en se fixant sur le récepteur endocrinien correspondant des toxiques peuvent se comporter en agonistes ou en antagonistes et perturber les réponses biologiques. La chlordécone (Képone), un insecticide qui se fixe sur les récepteurs œstrogéniques, avait fait diminuer le nombre et la motilité des spermatozoïdes, stoppé leur maturation et fait régresser la libido. S'il est tentant de supposer que ces effets sont dus à l'interférence de la chlordécone avec les œstrogènes au niveau neuroendocrinien ou testiculaire, les variations du taux sérique de testostérone, de LH et de FSH n'étaient pas, dans

ces études, comparables à celles obtenues à la suite d'un traitement par l'œstradiol. Le DDT et ses métabolites possédant également des propriétés stéroïdiennes, on pourrait s'attendre à ce qu'ils modifient la fonction génitale de l'homme en interférant avec les fonctions des hormones stéroïdiennes. Des xénobiotiques comme les biphényles polychlorés, les biphényles polybromés et les pesticides organochlorés peuvent également perturber les fonctions reproductrices de l'homme par une activité œstrogénique agoniste ou antagoniste (Mattison et coll., 1990).

### **A.7-La fonction sexuelle**

On entend par fonction sexuelle humaine l'ensemble des activités intégrées des testicules et des glandes sexuelles secondaires, des systèmes de contrôle endocriniens et des composantes comportementales et psychologiques de la reproduction, basées sur le système nerveux central (libido). L'érection, l'éjaculation et l'orgasme sont trois événements physiologiques et psychodynamiques distincts et indépendants qui surviennent normalement en même temps chez l'homme.

En raison des problèmes décrits plus haut, les données fiables concernant les effets d'une exposition professionnelle sur la fonction sexuelle sont peu nombreuses. Il a été montré que les médicaments peuvent affecter chacun des trois stades de la fonction sexuelle masculine (Fabro, 1985), ce qui donne à penser qu'une exposition professionnelle peut exercer des effets similaires. Les antidépresseurs, les antagonistes de la testostérone et les stimulants de la libération de prolactine diminuent effectivement la libido chez l'homme. Les antihypertenseurs agissant sur le système nerveux sympathique provoquent une impuissance chez certains hommes, mais, chose surprenante, un priapisme chez d'autres. La phénoxybenzamine, un antagoniste des récepteurs adrénergiques, a été utilisée en clinique pour éviter l'émission du sperme sans empêcher l'orgasme (Shilon, Paz et Homonnai, 1984). Les antidépresseurs anticholinergiques permettent l'émission du sperme tout en bloquant son éjection et en empêchant l'orgasme, de sorte que le sperme suinte de l'urètre au lieu d'en être éjecté.

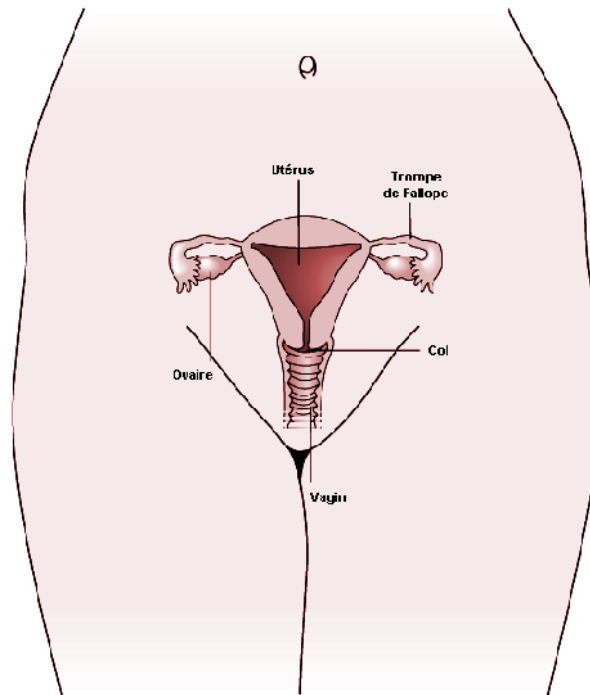
Les drogues douces affectent également la fonction sexuelle (Fabro, 1985). L'alcool peut diminuer l'impuissance en augmentant la libido. La cocaïne, l'héroïne et les cannabinoïdes à forte dose diminuent la libido. Les opiacés retardent ou entravent également l'éjaculation.

Le grand nombre et la grande variété des produits pharmaceutiques qui se sont avérés avoir une action sur le système reproducteur masculin viennent étayer l'idée que des produits chimiques présents sur le lieu de travail peuvent aussi être toxiques pour la reproduction. Des méthodes de recherche fiables et pratiques dans les conditions d'étude sur le terrain sont nécessaires pour évaluer ce domaine important qu'est la toxicologie de la reproduction.

### **B-LA STRUCTURE DU SYSTÈME REPRODUCTEUR FÉMININ ET LA VULNÉRABILITÉ DES ORGANES CIBLES**

L'appareil reproducteur féminin est contrôlé par des éléments du système nerveux central, notamment l'hypothalamus et l'hypophyse. Il se compose des ovaires, des trompes de Fallope, de l'utérus et du vagin (voir figure 12). Les ovaires, gonades féminines, sont la source des ovocytes; ils synthétisent et sécrètent également les principales hormones sexuelles féminines: œstrogènes et progestérone. Les trompes de Fallope amènent les ovocytes vers l'utérus et permettent aux spermatozoïdes d'en sortir. L'utérus est un organe musculaire en

forme de poire, dont la partie supérieure communique, par les trompes de Fallope, avec la cavité abdominale et la partie inférieure, par l'étroit canal du col, avec le vagin et, de là, avec l'extérieur. Le tableau 2 présente les composés, ainsi que les manifestations cliniques, le site et les mécanismes d'action des produits potentiellement toxiques pour la reproduction.



**Figure 12 L'appareil reproducteur féminin**

**Tableau 2 Produits potentiellement toxiques pour la reproduction chez la femme**

Produit	Manifestation clinique	Site	Mécanisme/cible
<b>Réactivité chimique</b>			
Agents alkylants	Troubles des règles Aménorrhée Atrophie ovarienne Baisse de la fécondité Ménopause prématurée	Ovaire  Utérus	Toxicité pour les cellules de la granulosa Toxicité pour les ovocytes Toxicité pour les cellules de l'endomètre
Plomb	Troubles des règles Atrophie ovarienne Baisse de la fécondité	Hypothalamus Hypophyse Ovaire	Diminution du taux de FSH Diminution du taux de progestérone
Mercure	Troubles des règles	Hypothalamus  Ovaire	Modification de la production et de la sécrétion de gonadotrophines Toxicité folliculaire Prolifération des cellules de la granulosa



Cadmium	Atrésie folliculaire Diœstrus persistant	Ovaire Hypophyse Hypothalamus	Toxicité vasculaire Toxicité pour les cellules de la granulosa Cytotoxicité
<b>Similarité structurale</b>			
Azathioprine	Réduction du nombre de follicules	Ovaire  Ovogenèse	Analogue de la purine  Perturbation de la synthèse de l'ADN/ARN
Chlordécone	Baisse de la fécondité	Hypothalamus	Agoniste des œstrogènes
DDT	Troubles des règles	Hypophyse	Perturbation de FSH, LH
2,4-D	Stérilité		
Lindane	Aménorrhée		
Toxaphène	Hyperménorrhée		
BPC, BPB	Troubles des règles		Perturbation de FSH, LH

Source: d'après Plowchalk, Meadows et Mattison, 1992. Ce sont essentiellement des tests de toxicité chez l'animal qui laissent supposer que ces produits sont des toxiques agissant directement sur la reproduction.

### **B.1-L'hypothalamus et l'hypophyse**

L'hypothalamus est situé dans le diencephale, qui se trouve au sommet du tronc cérébral, entre les hémisphères cérébraux. C'est le principal intermédiaire entre les systèmes nerveux et endocrinien, qui sont les deux grands systèmes de contrôle du corps. Il régule l'hypophyse et la production d'hormones.

Les mécanismes par lesquels un produit chimique peut perturber la fonction reproductrice de l'hypothalamus sont, de façon générale, tous les événements susceptibles de modifier la production pulsatile de gonadostimuline. Cela peut impliquer une modification de la fréquence ou de l'amplitude des pulsations de gonadostimuline. Les processus sensibles à une agression chimique sont ceux participant à la synthèse et à la sécrétion de gonadostimuline, plus spécifiquement la transcription ou la traduction, l'encapsulation ou le transport axonal, ainsi que les mécanismes sécrétoires. Ces processus représentent des sites au niveau desquels des composés chimiquement réactifs agissant directement peuvent interférer avec la synthèse ou la libération hypothalamique de gonadostimuline. Une modification de la fréquence ou de l'amplitude des pulsations de gonadostimuline pourrait être due à la perturbation des voies stimulatrices ou inhibitrices qui en régulent la libération. Des études sur la régulation du générateur de pulsations de gonadostimuline ont montré que les catécholamines, la dopamine, la sérotonine, l'acide gamma-aminobutyrique et les endorphines sont tous susceptibles, dans une certaine mesure, de modifier la libération de gonadostimuline. Par conséquent, des xéno-biotiques agonistes ou antagonistes de ces composés pourraient modifier la libération de gonadostimuline, perturbant ainsi la communication avec l'hypophyse.

La prolactine, l'hormone folliculo-stimulante (FSH) et l'hormone lutéinisante (LH) sont trois hormones protéiniques sécrétées par l'antéhypophyse qui sont essentielles à la reproduction. Elles jouent un rôle fondamental dans l'entretien du cycle ovarien en dirigeant le recrutement et la maturation folliculaires, la stéroïdogénèse, l'achèvement de la maturation des ovules, l'ovulation et la lutéinisation.

Le contrôle exact du système reproducteur, réglé avec précision, est assuré par l'antéhypophyse en réponse à des signaux de rétroaction positive et négative provenant des gonades. La libération adéquate de FSH et de LH au cours du cycle ovarien contrôle le développement folliculaire normal; l'absence de ces hormones entraîne une aménorrhée et une atrophie des gonades. Les gonadotrophines jouent un rôle déterminant par le fait qu'elles provoquent des modifications morphologiques des follicules ovariens et de leur micro-environnement stéroïdien en stimulant la production de stéroïdes et en induisant des populations de récepteurs. Une libération opportune et adéquate de ces gonadotrophines est également essentielle à l'ovulation et à une phase lutéale correcte. Etant donné que les gonadotrophines sont essentielles à la fonction ovarienne, une modification de leur synthèse, de leur stockage ou de leur sécrétion peut compromettre sérieusement la capacité de reproduction. Une interférence avec l'expression génique, que ce soit dans la transcription ou dans la traduction, au cours d'événements post-traductionnels, de l'encapsulation ou des mécanismes sécrétoires, risque de modifier le taux de gonadotrophines atteignant les gonades. Des produits chimiques agissant par le biais d'une similarité structurale ou d'une modification de l'homéostasie endocrinienne pourraient avoir des effets en interférant avec les mécanismes de rétroaction normaux. Des agonistes et des antagonistes des récepteurs stéroïdiens pourraient amorcer une libération inappropriée de gonadotrophines par l'hypophyse, ce qui provoquerait la production d'enzymes métabolisant les stéroïdes et diminuerait la demi-vie des stéroïdes et, par conséquent, le taux circulant de stéroïdes atteignant l'hypophyse.

## **B.2-L'ovaire**

Chez les primates, l'ovaire est responsable du contrôle de la reproduction par le biais de ses principaux produits, les ovocytes et les hormones stéroïdiennes et protéiniques. La folliculogénèse, qui implique des mécanismes de régulation à la fois intra- et extra-ovariens, est le processus de production des ovocytes et des hormones. L'ovaire lui-même se compose de trois sous-unités fonctionnelles: le follicule, l'ovocyte et le corps jaune. Au cours du cycle menstruel normal, ces composants, sous l'influence de la FSH et de la LH, fonctionnent de concert afin de produire un ovule viable pour la fécondation, ainsi qu'un milieu convenable pour l'implantation et la gestation qui s'ensuit.

Durant la période préovulatoire du cycle menstruel, la mobilisation et le développement des follicules ont lieu sous l'influence de la FSH et de la LH. Cette dernière stimule la production d'androgènes par les cellules thécales, tandis que la première entraîne l'aromatisation des androgènes en œstrogènes par les cellules de la granulosa et la production d'une hormone protéinique, l'inhibine. Celle-ci, au niveau de l'antéhypophyse, diminue la libération de FSH, ce qui empêche une stimulation excessive du développement des follicules, tout en permettant la poursuite du développement du follicule dominant destiné à l'ovulation. La production d'œstrogènes augmente, stimulant à la fois la poussée de LH (aboutissant à l'ovulation) et les modifications cellulaires et sécrétoires survenant dans le vagin, le col, l'utérus et les trompes de Fallope, qui accroissent la viabilité et le transport des spermatozoïdes.

Au cours de la phase postovulatoire, les cellules thécales et de la granulosa restant dans la cavité folliculaire de l'ovocyte de premier ordre ovulé forment le corps jaune et sécrètent de la progestérone. Cette hormone stimule l'utérus afin de fournir un environnement convenable pour l'implantation de l'embryon en cas de fécondation. A l'inverse de la gonade mâle, la gonade femelle possède un nombre fini de cellules germinales à la naissance; elle est donc particulièrement sensible aux produits toxiques pour la reproduction. Une exposition de la femme à ces produits risque de diminuer la fécondité, d'augmenter les avortements spontanés et d'aboutir à une ménopause précoce ou à la stérilité.

En tant qu'unité reproductrice de base de l'ovaire, le follicule fournit le délicat milieu hormonal nécessaire à la croissance et à la maturation d'un ovocyte. Comme nous l'avons noté précédemment, ce processus complexe, appelé folliculogénèse, implique une régulation à la fois intra- et extra-ovarienne. De nombreuses modifications morphologiques et biochimiques se produisent lorsqu'un follicule primordial se transforme en follicule préovulatoire (contenant un ovocyte en cours de développement), et chaque stade du développement folliculaire possède un schéma caractéristique de sensibilité aux gonadotrophines, de production de stéroïdes et de voies de rétroaction. Ces caractéristiques semblent indiquer qu'un certain nombre de sites sont disponibles pour une interaction avec des xénobiotiques. Par ailleurs, il existe dans l'ovaire diverses populations de follicules, ce qui complique encore la situation en entraînant une toxicité folliculaire différentielle. Cela crée une situation dans laquelle les schémas de stérilité induits par un produit chimique dépendent du type de follicule atteint. Par exemple, un effet toxique pour des follicules primordiaux ne donne pas de signes immédiats de stérilité, mais va finalement diminuer la durée de la période d'activité reproductrice. En revanche, un effet toxique pour les follicules antraux ou préovulatoires entraînera l'arrêt immédiat de la fonction reproductrice. Le complexe folliculaire se compose de trois éléments de base: les cellules de la granulosa, les cellules thécales et l'ovocyte. Chacun de ces composants possède des caractéristiques qui lui confèrent une sensibilité particulière à une agression chimique.

Plusieurs chercheurs se sont intéressés à une méthodologie destinée à détecter les xénobiotiques toxiques pour la granulosa en mesurant les effets sur la production de progestérone par les cellules de la granulosa en culture. L'œstradiol interrompt la production de progestérone par les cellules de la granulosa, phénomène qui a été utilisé pour étudier la réactivité de ces dernières. Le p,p'-DDT, un pesticide, et son isomère o,p'-DDT arrêtent la production de progestérone avec une puissance apparemment égale à celle de l'œstradiol. En revanche, le malathion, le parathion et la dieldrine, d'autres pesticides, ainsi que l'hexachlorobenzène, un fongicide, sont sans effet. Une nouvelle analyse détaillée de la réaction aux xénobiotiques des cellules de la granulosa isolées est nécessaire afin de définir l'utilité de cette méthode d'essai. L'attrait de ces systèmes isolés réside dans le fait qu'ils sont bon marché et faciles à utiliser; toutefois, il ne faut pas oublier que les cellules de la granulosa ne représentent qu'un composant du système reproducteur.

Les cellules thécales fournissent des précurseurs des stéroïdes synthétisés par les cellules de la granulosa. On pense qu'elles sont recrutées dans les cellules du stroma ovarien au cours de la formation et du développement des follicules. Leur recrutement peut impliquer une prolifération cellulaire du stroma aussi bien qu'une migration vers les zones entourant le follicule. Les xénobiotiques qui entravent la prolifération, la migration et la communication cellulaires ont un impact sur la fonction cellulaire thécale. Ceux qui modifient la production thécale d'androgènes peuvent aussi entraver la fonction folliculaire. Par exemple, les androgènes métabolisés en œstrogènes par les cellules de la granulosa proviennent des