



**HAL**  
open science

# Toxicologie de la reproduction : la montée en puissance

Emmanuel Lemazurier

► **To cite this version:**

Emmanuel Lemazurier. Toxicologie de la reproduction : la montée en puissance. Rapport Scientifique INERIS, 2005, 2004-2005, pp.29-32. ineris-01868973

**HAL Id: ineris-01868973**

**<https://ineris.hal.science/ineris-01868973>**

Submitted on 6 Sep 2018

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# Toxicologie de la reproduction : la montée en puissance

EMMANUEL LEMAZURIER

L'unité de toxicologie expérimentale de l'INERIS possède, depuis 2000, les moyens de développer une thématique de toxicologie de la reproduction. Cette thématique se justifie par l'impact démontré ou suspecté d'un grand nombre de polluants sur la fertilité et le développement de l'espèce humaine (exemple des éthers de glycol). Le développement d'une recherche de pointe permettra d'apporter des conclusions en ce qui concerne

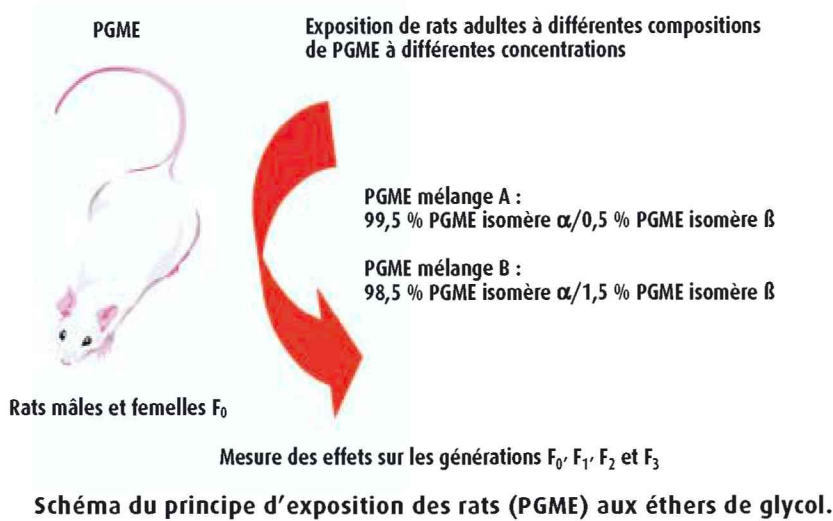
leur implication dans les troubles de la fertilité et du développement observés depuis plusieurs années (exemple des perturbateurs de la fonction endocrinienne). Depuis quelques années, les frontières entre la toxicologie de la reproduction et la cancérologie fusionnent. En effet, les troubles de la fertilité et les cas de cancer du testicule pourraient avoir une (ou des) cause(s) commune(s). Ils pourraient être le résultat d'un dysfonctionnement de la programmation embryonnaire et du développement gonadique pendant la vie fœtale. Dans ce sens, l'impact étiologique des facteurs environnementaux néfastes tels que les perturbateurs de la fonction endocrinienne doit donc être considéré.

## Les éthers de glycol : toxiques connus pour la reproduction

Les éthers de glycol sont des solvants amphiphiles largement utilisés pour des applications industrielles ou domestiques. Leurs effets toxiques sur la reproduction et le développement des mammifères ont été largement étudiés et des recommandations voire des interdictions concernant leur utilisation ont été édictées. Cependant, cette famille de produits présente des différences structurales importantes entraînant des comportements variés quant à leur métabolisme et leurs effets toxiques. Au cours d'un premier programme, ont été comparés

▶ ▶ ▶ [suite page 30](#)

FIGURE 1.



les effets délétères sur la reproduction et le développement des mammifères de deux éthers de glycol de générations différentes : l'éther méthylique de l'éthylène glycol (EGME), appartenant à la série éthylénique (ancienne) des éthers de glycol, et l'isomère  $\alpha$  de l'éther méthylique du propylène glycol (PGME), appartenant à une nouvelle famille d'éthers propyléniques (Fig. 1). Alors que l'altération de la spermatogenèse et l'effet tératogène de l'EGME sont bien établis, les effets du PGME réclament un certain nombre d'études complémentaires, notamment en ce qui concerne les différences entre l'isomère  $\alpha$  et l'isomère  $\beta$ .

Dans cette étude nous avons utilisé un protocole sur 3 générations (Fig. 1). Des rats mâles et femelles ont été exposés pendant un cycle de gamétogenèse à un mélange de PGME  $\alpha$  (99,5 %) et  $\beta$  (0,5 %).

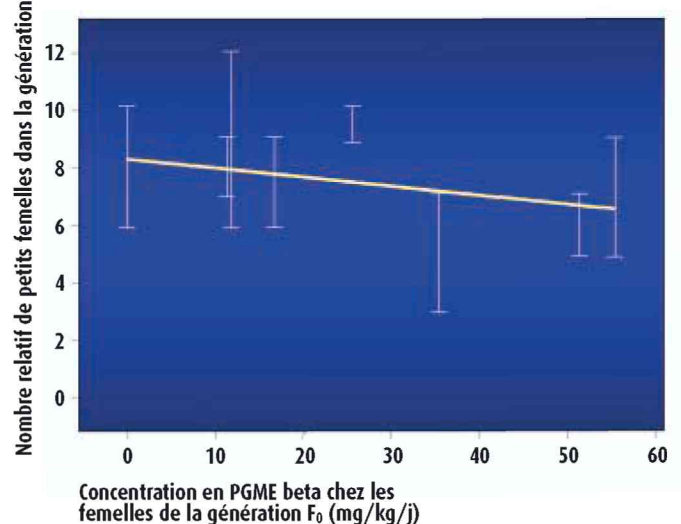
Les résultats les plus intéressants concernent les effets du PGME. L'exposition de rats mâles pendant un cycle de spermatogenèse à un mélange de PGME  $\alpha$ , (99,5 %) et  $\beta$  (0,5 %) a montré une diminution du nombre de spermatozoïdes avec une concentration de PGME  $\beta$  de 11,5 mg/kg/jour (Fig. 2). Des troubles non dépendants de la dose ont été observés sur le sexe ratio des générations 2 et 3 (Fig. 3). Cependant, seules des études complémentaires pourraient permettre de conclure quant à des effets persistant sur plusieurs générations du PGME au travers d'un mécanisme génotoxique.

### Les perturbateurs de la fonction endocrinienne et la santé humaine : mythe ou réalité

La diminution du nombre de spermatozoïdes chez l'homme et l'augmentation des hypospadias et des cancers testiculaires au cours des 40-50 dernières années semblent en relation notamment avec l'exposition *in utero* à des perturbateurs de la fonction endocrinienne. Les mécanismes sous-jacents à ces phénomènes doivent donc être élucidés afin d'estimer les risques réels de l'exposition à ces

Exemple de résultats obtenus sur le sexe ratio. La portée  $F_2$  montre par exemple une inversion du sexe ratio chez des petits issus de couple dans lequel seule la femelle a été traitée. Cependant, ces résultats ne semblent pas en relation avec la dose, des études complémentaires sont nécessaires avant de pouvoir conclure.

FIGURE 2.



agents chimiques mais également de prévenir leurs effets délétères.

Afin de mener ces études, a été mis en œuvre un programme BCRD comprenant trois grands volets (Fig. 3). Tout d'abord l'étude des mécanismes de protection contre les perturbateurs de la fonction endocrinienne (PE) au niveau testiculaire (Fig. 3A). Puis, la mesure de l'effet des PE sur le développement et la reproduction avec une attention particulière pour le testicule embryonnaire (Fig. 3A). Enfin, le développement d'un test de toxicité dose-réponse des PE permettant de discriminer l'effet perturbateur endocrinien de l'effet hormono-mimétique (Fig. 3B).

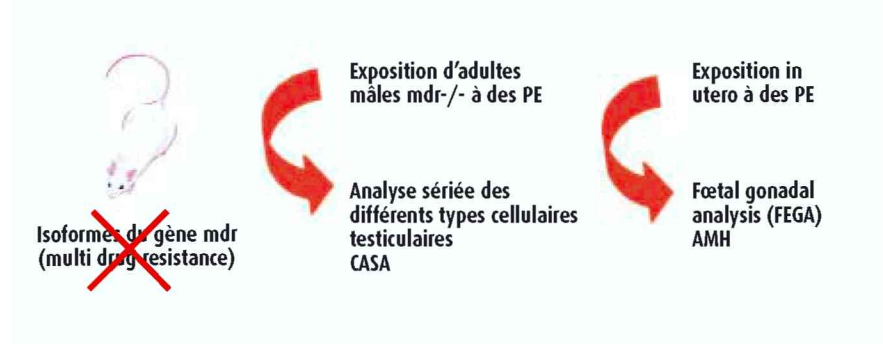
Grâce à la méthode mise en point, il a pu être montré que l'exposition aux PE entraînait une diminution de l'expression des gènes codant pour une protéine de résistance aux xénobiotiques (isoforme multi-drug-resistance *mdr-1a*) fragilisant ainsi certaines défenses intrinsèques de la barrière hémato-testiculaire. Cependant, de façon concomitante, une autre isoforme de ces gènes de résistance aux xénobiotiques montre une augmentation de son expression. Ceci suggère que les défenses intrinsèques de la barrière hémato-testiculaire semblent régulées après exposition aux PE.

### Les outils de la recherche

Depuis 2001, l'équipe de toxicologie de la reproduction s'est dotée d'outils d'analyse de pointe. Le programme sur les éthers de glycol a permis de valider l'utilisation d'un analyseur des caractéristiques spermatozoaires assisté par ordinateur : le CASA (Computer Assisted Sperm Analysis) de chez Hamilton Thorne. Grâce à cet outil, il est possible de gagner un temps important dans l'évaluation des caractéristiques spermatozoaires de 3 générations de rats mâles. L'assistance par ordinateur permet de standardiser les mesures contribuant ainsi à l'acceptation de notre article sur le PGME. Une plate-forme d'outils de biologie moléculaire a également été développée. Elle permet d'amplifier les gènes cibles des perturbateurs de la fonction endocrinienne (Mastercycler®, Eppendorf), de suivre l'expression de ces gènes en temps réel

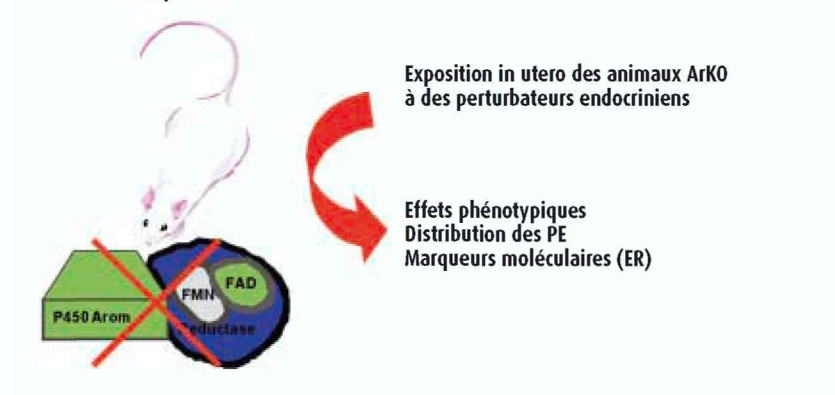
**FIGURE 3A.**

#### Rôle des P-glycoprotéines dans la résistance aux atteintes des PE



**FIGURE 3B.**

#### ArKO : nouveau modèle animal pour l'effet hormono-mimétique des PE



#### Approche des effets des perturbateurs de la fonction endocrinienne sur la reproduction. A) Étude des systèmes intrinsèques de défense du testicule vis-à-vis des xénobiotiques. B) Utilisation du modèle animal aromatase knock out pour distinguer les effets estrogéniques des effets anti-androgéniques.

(Light Cycler®, Roche) et maintenant de lire des séquences d'ADN et de caractériser leur état de méthylation (Pyrosequencing®, Biotage). La partie *in vivo* de la thématique n'est pas en reste. Un développement en collaboration avec l'Institut Supérieur d'Agriculture de Beauvais (ISAB) porte actuellement sur une plate-forme d'animalerie expérimentale (ANIMEX).

▶ ▶ ▶ [suite page 32](#)



## ANIMEX en cinq points clés

⊕ Partenaire industriel : ANIMEX bénéficie déjà de l'implication de l'INERIS dans son activité commerciale et industrielle de prestations de services, en particulier auprès des entreprises du secteur agro-industriel. Trois organismes de recherche de la région (UTC, UPJV, Biobanque de Picardie) ont d'ores et déjà indiqué leur intérêt pour ce projet.

⊕ Taille critique : ANIMEX est une plateforme à deux pôles (INERIS et ISAB) pour un coût total estimé aux alentours de 6 M€.

⊕ Marché potentiel : les études réglementaires de toxicologie, notamment dans le cadre du règlement REACH, vont nécessiter des adaptations pour l'expérimentation animale (animaux transgéniques, couplage biologie moléculaire - méthodes *in vivo*, types d'exposition en relation plus étroite avec les situations humaines comme les expositions chroniques par inhalation, expositions à des microorganismes pathogènes, etc.).

⊕ Recherche publique : ANIMEX souhaite développer une recherche publique de haut niveau basée sur les financements du Budget Civil de Recherche et Développement (60%). À titre d'exemple, des programmes de recherche ont déjà été lancés sur les pesticides et leur impact sur la reproduction. L'INERIS et l'ISAB souhaitent déposer, en partenariat avec l'UPJV, un projet sur les produits de la réaction de Maillard dans l'alimentation auprès d'IBFBio.

⊕ Recherche privée/impact international : ANIMEX, c'est également une opportunité de transformer des activités

commerciales en études de Recherche et Développement financées par les industriels (40%). Ce type d'étude pourrait profiter du financement de partenaires régionaux comme cela s'est déjà fait (commande du CETIM : une étude de toxicologie par inhalation) mais également nationaux et surtout européens. En effet, les nouveaux outils du 6<sup>e</sup> et du 7<sup>e</sup> PCRD donnent l'opportunité de déposer des projets à titre d'infrastructure, mais également de coopération avec les industries (COLT en préparation avec le Syndicat International du Traitement de Surface). ●

## Références

### ■ Perturbateurs de la fonction endocrinienne et santé : un point non exhaustif sur les connaissances.

Sophie Desmots, Catherine Brulez, Emmanuel Lemazurier. *Soumis à Environnement, Risques et Santé*, 2005 ; vol. 4, n° 3, pp. 195-204.

### ■ Expression of both Mrp1 and Mdr1a genes, two members of the ABC transporter family, is regulated by estrogenic environmental pesticide methoxychlor.

Desmots S., Lecomte A., Robidel F., Bois F.Y., Lemazurier E. *Soumis à Toxicology and Applied Pharmacology*.

### ■ Rôle de la P-glycoprotéine dans le passage de la barrière hémato-testiculaire par les perturbateurs endocriniens.

Sophie Desmots, Emmanuel Lemazurier. *Journées École Doctorale ABIES, Institut National d'Agronomie, Paris-Grignon (INA-PG), novembre 2003.*

### ■ Rôle de la P-glycoprotéine dans le passage de la barrière hémato-testiculaire par les perturbateurs endocriniens.

Sophie Desmots, Emmanuel Lemazurier. *Congrès "Génomique, expression de gènes", Institut Pasteur, Paris, mai 2003.*

### ■ Mécanisme de la toxicité de l'éthylène glycol méthyl éther (EGME) et des isomères du propylène glycol méthyl éther (PGME) sur la reproduction et le développement.

Emmanuel Lemazurier, Luc Multigner, Anthony Lecomte, Franck Robidel, Frédéric Y. Bois. *Environnement, Risques et Santé*. 2003 ; volume 2, n° 2, mars.

### ■ Propylene glycol monomethyl ether. A 3-generation study of isomer β effects on reproductive and developmental parameters in rats.

Emmanuel Lemazurier, Anthony Lecomte, Franck Robidel, Frédéric Y. Bois. *Toxicology and Industrial Health*. 2005 ; vol. 485, n° 4, pp. 304-320.