

Expositions gestationnelles et postnatales à la génistéine et à la vinclozoline, seules et en association, à des doses compatibles avec l'exposition alimentaire humaine chez le rongeur.

Impact au niveau de plusieurs tissus et organes cible et devenir des substances dans l'organisme

J. Auger^{1,*}, MC. Canivenc-Lavier², M. Perrot-Applanat³, R. Habert⁴, JF. Savouret⁵ and JP. Cravedi⁶

¹ Service de Biologie de la Reproduction, Hôpital Cochin, Paris, ² INRA UMR 1129 FLAVIC, Dijon, ³ U553 INSERM, Hôpital St Louis, Paris, ⁴ U566 INSERM/ CEA, Université Paris 7, Fontenay aux Roses, ⁵ INSERM UMR-S530, Université Paris 5, Paris, ⁶ INRA/ENVIT UMR 1089 Xénobiotiques, Toulouse. *e-mail: jacques.auger@cch.aphp.fr

Introduction

Cette recherche s'est appuyée sur les données de la littérature récente et les résultats originaux acquis dans une pré-étude initiale, indiquant de possibles effets négatifs des perturbateurs endocriniens (PE) lors d'expositions *in vivo* à faibles doses. Ses objectifs initiaux étaient de :

- déterminer les impacts d'un mélange à faibles doses de génistéine et de vinclozoline sur divers tissus et organes régulés par les androgènes et/ou oestrogènes (appareil reproducteur, mais aussi, cartilage, glandes salivaires, glande mammaire),
- étudier la part respective des expositions gestationnelles/ lactationnelles et adultes dans les effets observés chez l'adulte,
- évaluer si les expositions à doses faibles chez le père ont un impact dans la descendance (en première génération),
- tenter de préciser les mécanismes en cause,
- compléter les données sur le devenir dans l'organisme et les concentrations tissulaires des molécules et/ou de leurs métabolites, notamment lorsque vinclozoline et génistéine sont associées.

Méthodes

Le programme proposé reposait principalement sur une exposition aux deux composés, isolément ou en association (1mg/kg/jour, par voie orale) permettant d'étudier les organes et tissus choisis à des temps variés du développement selon deux modalités d'exposition comme dans la Figure ci-dessous.

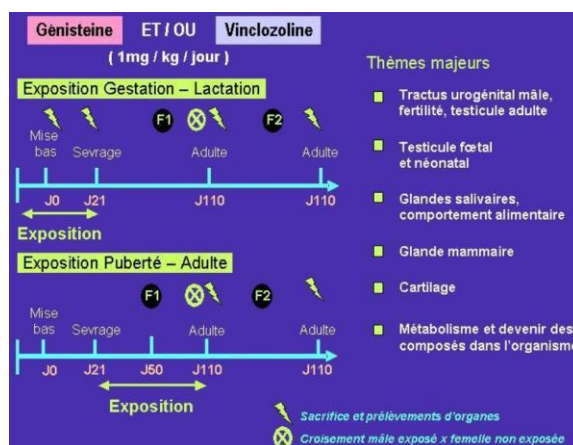


Figure : Protocole principal d'exposition chez le rat. F1= première génération exposée ; F2 : deuxième génération non exposée issue de pères exposés

En relation avec la question actuellement débattue de possibles effets trans-génération après exposition à des PE, le programme prévoyait de rechercher de tels effets dans la génération F2 non exposée issue de mâles exposés.

Dans le but de mieux comprendre les possibles mécanismes d'action, le programme se fondait sur l'utilisation de divers modèles expérimentaux complémentaires : souris invalidée pour les récepteurs aux oestrogènes et aux androgènes, approches variées *in vitro*, approches « omiques » (moléculaires) et étude du devenir des molécules dans l'organisme.

Le programme prévoyait également une exposition cette fois-ci continue, de la conception à l'âge adulte avec des doses environnementales, c'est à dire des doses encore plus faibles très similaires aux doses d'exposition humaines, pour étudier les mêmes tissus, organes et fonctions chez le rat. Malheureusement la complexité de ce

protocole se poursuivant sur de nombreux mois du fait de l'élevage de deux nouvelles générations allié à des difficultés organisationnelles et des retards dans les financements n'ont pas permis de réaliser cette deuxième exposition qui sera cependant faite de manière élargie dans le cadre du programme CIME (PNRPE 2008) débutant fin 2009 compte tenu des résultats du présent programme.

Résultats

L'exposition *in utero* à la vinclozoline diminue le nombre de gonocytes dans la période néonatale sans conséquence à long terme sur la production de spermatozoïdes. D'une manière générale, les expositions pendant la gestation/lactation ne retiennent pas sur la stéroïdogénèse en période néonatale. Des anomalies développementales de l'appareil reproducteur mâle, principalement des testicules non descendus, sont observées pour environ 1/3 des animaux exposés au mélange. Les petits continuent à être exposés aux deux composés pendant la lactation. La vinclozoline n'est pas détectée dans le lait ou dans le sang des rats, seuls les métabolites actifs M1 et M2 de la vinclozoline sont détectés. L'exposition pendant la gestation/ lactation à la vinclozoline ou au mélange retarde la puberté chez le mâle. Les trois modalités d'exposition féminisent le comportement alimentaire chez les mâles en début de puberté, modifient l'histologie et la vitesse de maturation des glandes salivaires avec un effet lié au sexe, elles perturbent sévèrement le développement pubertaire de la glande mammaire. Curieusement, il a été trouvé que l'exposition à la vinclozoline ou au mélange induisait la formation de nodules cartilagineux ectopiques paravertébraux. Un poids épидidymaire diminué et une moindre production spermatique ont été trouvés chez les mâles exposés de manière chronique à la génistéine ou à la vinclozoline à partir de la période postlactation, alors que l'anomalie de la reproduction la plus importante après une exposition gestationnelle/lactationnelle

consistait en une augmentation des taux de pertes post-implantatoires lors du croisement des mâles exposés avec des femelles témoin. Enfin, des formations ectopiques paravertébrales, des anomalies du comportement alimentaire et de l'appareil génital mâle ont été observées en deuxième génération non exposée issue de pères exposés. Les premiers résultats sur les modes d'action produisant les effets rapportés indiquent des voies nombreuses et complexes dépassant les définitions de la perturbation endocrinienne, comme l'illustre par exemple les modifications trouvées du transcriptome testiculaire adulte (analyse des testicules des animaux de la pré-étude, exposition continue, de la conception à l'âge adulte). Le décryptage des mécanismes d'action est toujours en cours dans la plupart des équipes.

Discussion et conclusion

En conclusion, ce programme multidisciplinaire est à notre connaissance le premier montrant de manière concomitante des altérations notables de la physiologie de plusieurs organes en réponse à une exposition à dose alimentaire de génistéine et/ou une dose faible, inférieure au NOAEL, de vinclozoline, principalement après une exposition gestationnelle et lactationnelle mais aussi avec une exposition post-lactationnelle jusqu'à l'âge adulte.

Références

- J. Merlet, C. Racine, E. Moreau, S.G. Moreno, R. Habert. Male fetal germ cells are targets for androgens which physiologically inhibit their proliferation. Proc Natl Acad Sci U S A 2007, 104: 3615-3620.
- J. Merlet, E. Moreau, R. Habert, C. Racine. Development of fetal testicular cells in androgen receptor deficient mice. Cell cycle 2007, 6: 2258-2262.
- F. Eustache, F. Mondon, M.C. Canivenc-Lavier, C. Lesaffre, Y. Fulla, R. Berges, J.P. Cravedi, D. Vaiman, J. Auger. Chronic Dietary Exposure to a Low-Dose Mixture of Genistein and Vinclozolin Modifies the Reproductive Axis, Testis Transcriptome and Fertility. Environmental Health Perspectives 2009, 117 : 1272-1279.