

Environnement, exposition fœtale et reproduction

Patrick Fénelichel

Endocrinologie et Médecine de la Reproduction, Inserm UMR 670, CHU Nice, Hôpital de L'Archet
<aubry.c@chu-nice.fr>

Depuis plusieurs décennies, des observations épidémiologiques animales et humaines avaient suggéré que des substances environnementales à activité estrogénique ou antiandrogénique pouvaient, en perturbant la balance androgènes/estrogènes, participer à la physiopathologie de plusieurs affections touchant, dans les deux sexes, le développement, le fonctionnement ou l'oncogenèse de l'appareil de reproduction. Se basant sur l'expérience clinique désastreuse du Distilbène®, une hypothèse a été élaborée impliquant le rôle délétère de ces perturbateurs endocriniens lors de l'exposition fœtale *in utero* conduisant à une véritable programmation à distance des pathologies induites. Le développement de modèles expérimentaux récents d'exposition fœtale ou périnatale à ces perturbateurs, a permis non seulement de reproduire plusieurs de ces anomalies chez les animaux adultes mais également de constater leur pérennité dans les générations suivantes associées à des modifications épigénétiques représentant vraisemblablement une des bases moléculaires de leur transmission.

Mots clés : perturbateur endocrinien, xénoestrogène, exposition fœtale, reproduction, cancer hormono-dépendant, épigénétique, hyperméthylation de l'ADN

L'hypothèse d'une programmation fœtale *in utero* d'une pathologie adulte chronique a été énoncée pour la première fois par Barker en 1989 lorsqu'il rapporta la mise en évidence d'une corrélation entre un faible poids à la naissance et la survenue de complications métaboliques et cardiovasculaires à l'âge adulte [1]. L'effet à distance de l'environnement métabolique maternel délétère, en cas de retard de croissance intra-utérin, sur le développement futur d'un syndrome métabolique avec insulino-résistance et le cortège de troubles cardiovasculaires associés, a été ensuite largement vérifié en tant que risque indépendant des facteurs génétiques de diabète ou d'obésité des parents, par des études épidémiologiques prospectives [2]. Un effet direct des perturbations métaboliques et nutritionnelles sur le pancréas fœtal et/ou sur le développement des adipocytes, associé à une

susceptibilité individuelle liée aux polymorphismes de certains gènes cibles comme par exemple PPAR-gamma 2 [3], a été évoqué ; mais l'effet transgénérationnel constaté dans les modèles animaux correspondants, suggère également la participation de modifications épigénétiques à l'origine de cette empreinte fœtale, traduite à l'âge adulte par des anomalies durables et transmissibles à la descendance [4].

Une hypothèse similaire d'induction fœtale à distance d'une pathologie chronique adulte liée à un environnement délétère *in utero*, a été élaborée dans les années 1990 pour les perturbateurs endocriniens environnementaux et la reproduction. Depuis quelques décennies, des observations épidémiologiques animales et humaines, avaient effectivement suggéré que des substances environnementales à activité estrogénique ou antiandrogénique pouvaient, en per-

turbant la balance androgènes/estrogènes, participer à la physiopathologie de plusieurs affections touchant dans les deux sexes, le développement, le fonctionnement ou l'oncogénèse de l'appareil de reproduction. Cette théorie reposait au départ sur de simples observations cliniques, des données épidémiologiques et quelques accidents sanitaires ou écologiques comme la prescription de Distilbène® aux femmes enceintes ou la catastrophe de Seveso. Elle a été renforcée ensuite par la mise en évidence du rôle effectif joué par les estrogènes dans la fonction de reproduction mâle et surtout par des données expérimentales récentes suggérant les mécanismes moléculaires mis en jeu. En effet, des modèles animaux sont capables de reproduire la plupart de ces pathologies [5] à la suite d'une exposition fœtale dans des fenêtres précises et à des doses parfois très faibles. Deux éléments fondamentaux et vraisemblablement liés sont en outre apparus lors des développements récents de ces modèles à savoir la possibilité d'observer ces anomalies chroniques adultes sur plusieurs générations et l'association à des modifications épigénétiques [6]. Aussi analyserons-nous ces données expérimentales récentes en évoquant les implications possibles.

Observations cliniques

C'est dans le monde animal et aux États-Unis que l'on a pour la première fois rapproché de simples observations cliniques et la présence de polluants industriels [7]. C'est le cas de la baisse drastique de la fertilité des visons du lac Michigan dans les années 1960, rapportée à la contamination des poissons par le PCB, un isolant des équipements électriques. Puis, les malformations chez les bébés goélands sur les bords du lac Ontario ont fait évoquer la maladie œdémateuse du poulet exposé à la dioxine et les femelles des goélands argentés nichant ensemble avec un comportement féminisé des mâles et une diminution des naissances, ont fait suspecter un effet éventuel du DDT. Cet effet allait être confirmé ensuite expérimentalement, le DDE et le méthoxychlore, deux pesticides estrogénomimétiques dérivés du DDT, étant capables d'induire chez les mouettes, une féminisation de l'appareil génital mâle et une inhibition du comportement sexuel, à des concentrations compatibles avec celles présentes chez les animaux des Grands Lacs [7]. En Floride, l'observation fréquente d'un micropénis chez les alligators du lac Apopka ou d'une cryptorchidie chez les panthères a été reliée dans le premier cas à un accident survenu dans une usine chimique produisant du difocol et pour le deuxième, à l'utilisation exagérée de DDE et de PCB [7].

En ce qui concerne l'espèce humaine, c'est le rapport du ministère danois de l'Environnement en 1995 qui a frappé l'opinion en mettant en parallèle à l'aide d'études épidémiologiques, dans les mêmes pays européens avec des différences géographiques évocatrices, une augmen-

tation de l'incidence des cryptorchidies, des hypospadias, des cancers testiculaires et une baisse de la fertilité masculine [8, 9]. Cette baisse des paramètres du spermogramme a été depuis confirmée par de nouvelles études [10, 11]. Concernant la responsabilité des produits organiques persistants (POP), on sait par exemple que le dibromochloropropane, un pesticide proche du DDT, a induit de façon non contestable au Costa Rica, en Californie et en Israël des troubles sévères de la fertilité chez les ouvriers agricoles des bananeraies [7]. Des taux sanguins de pesticides plus élevés ont été mis en évidence chez les habitants du Missouri, un état agricole des États-Unis et ont été comparés à ceux de la population du Minnesota, région urbaine, puis corrélés à des perturbations du spermogramme [11]. En ce qui concerne le cancer du testicule, il a été trouvé dans le sang des mères des taux plus élevés de certains POP par rapport à une population contrôle [12]. Pour la cryptorchidie, *Hosie et al.* [13] ont mesuré dans la graisse inguinale abdominale prélevée lors de la cure de la cryptorchidie, un certain nombre de POP dont le taux était plus élevé que ceux d'une série contrôle. Ces dosages ont néanmoins porté sur de petites séries et tous les travaux ne retrouvent pas une telle différence [14]. Des anomalies du développement fœtal [7] ou du développement psychomoteur infantile et de l'identité sexuelle chez le garçon ont été décrites dans la population vivant au bord des Grands Lacs et consommant régulièrement du poisson. Sur le plan gynécologique, des interrogations se font jour quant à l'évolution du *sex ratio* à la naissance, des pubertés précoces féminines, de l'endométriose et du cancer du sein. Dans la région de Seveso, la dioxine à activité estrogénique a entraîné pendant plusieurs années un *sex ratio* très nettement féminin. Si l'avance séculaire de la puberté féminine évaluée par l'âge de la ménarche et rapportée à l'amélioration des conditions nutritionnelles, a tendance à s'estomper dans les pays riches, il a été rapporté récemment aux États-Unis une avance de la thélarche, premier signe de développement pubertaire chez la fille. Une fréquence accrue de l'endométriose dans des zones particulièrement industrialisées, a été observée dans plusieurs pays et rapportée à la dioxine [15]. Enfin, plusieurs travaux ont relevé des taux plus élevés d'organochlorés ou de biphényles polychlorés dans le sang ou le tissu graisseux mammaire chez des femmes présentant un cancer du sein suggérant l'exposition aux pesticides comme un facteur environnemental de risque du cancer du sein bien que tous les auteurs ne soient pas d'accord [16].

Qu'est ce qu'un perturbateur endocrinien ?

Un perturbateur endocrinien est, selon la définition précisée lors du Workshop européen de Weybridge en

décembre 1996, « un agent exogène capable d’entraîner des effets délétères sur un organisme vivant ou sa descendance en interférant avec la synthèse, le stockage, le transport, le métabolisme, la fixation, l’action ou l’élimination d’une hormone endogène intervenant dans les mécanismes de régulation du développement ou de l’homéostasie ».

En fait, de nombreux xénobiotiques à activité estrogénique (tableau 1), androgénique ou anti-androgénique sont présents dans la vie quotidienne qu’ils soient de synthèse (produits chimiques à usage agricole ou industriel, médicaments humains ou vétérinaires, hormones utilisées dans l’élevage, solvants, plastiques ou produits cosmétiques) ou naturels comme les phytoestrogènes (soja, froment, pois chiches), qu’ils soient présents dans l’eau, le sol, l’air, les objets domestiques ou la chaîne alimentaire. Toutes ces substances seraient théoriquement susceptibles d’interférer avec les hormones stéroïdiennes endogènes.

L’hypothèse des perturbateurs endocriniens est-elle crédible ?

Que des molécules présentes dans l’environnement puissent interférer avec le système hormonal physiologique est connu depuis longtemps pour certaines d’entre elles, mais il reste à démontrer sur le plan scientifique que de telles substances puissent être responsables d’anomalies croissantes du développement et de la reproduction dans les deux sexes, de l’augmentation de cancers hormono-dépendants et/ou de l’apparition de troubles du développement psychomoteur et du comportement sexuel. Plusieurs types d’arguments sous-tendent

aujourd’hui cette hypothèse des perturbateurs endocriniens. D’abord, les données épidémiologiques faisant apparaître une augmentation dans le temps de plusieurs pathologies de l’appareil de reproduction dans les deux sexes, ainsi qu’une étonnante diversité géographique évoquent la responsabilité de facteurs environnementaux en particulier les perturbateurs endocriniens à activité estrogénique ou anti-androgénique. Les études cherchant à corréler la présence de POP dans le sang ou certains tissus humains à des pathologies spécifiques se heurtent à de nombreuses difficultés et possèdent elles-mêmes leurs limites. Les observations des adultes des deux sexes présentant des anomalies des organes génitaux, une hypofertilité et un risque majoré de cancers génitaux (tableau 1) et dont les mères ont été traitées entre 1948 et 1977 par le Distilbène®, un estrogène de synthèse proche chimiquement du DDT et dont les effets ont été strictement reproduits chez le rongeur [17] mettent en évidence l’importance cruciale de la fenêtre d’exposition dans la période fœtale ou néonatale [17]. Enfin, les données récentes sur le rôle des estrogènes et de leurs récepteurs dans le développement et la fonction de reproduction chez les deux sexes rendent un peu plus plausible cette hypothèse scientifique. Ainsi, il semble bien que les estrogènes à faible dose soient nécessaires à la fonction de reproduction masculine mais qu’une exposition anormalement élevée à certaines périodes critiques puisse induire des anomalies de type cryptorchidie ou hypospadias, des troubles de la spermatogénèse ou favoriser la croissance ultérieure d’un cancer du testicule [18]. Il existe une contradiction apparente entre des taux d’exposition dans l’environnement plus faibles que les taux retrouvés toxiques *in vitro*. Il convient néanmoins de considérer dans cette situation qu’il ne s’agit pas d’un effet toxique aigu mais d’une exposition chronique à

Tableau 1. Effets comparés de l’exposition prénatale au DES sur le développement chez la souris et dans l’espèce humaine. (D’après [17])

Anomalies	Descendance mâle	Descendance femelle
Fonctionnelles	<ul style="list-style-type: none"> • Hypofertilité/stérilité • Diminution de la numération spermatique 	<ul style="list-style-type: none"> • Hypofertilité/stérilité • Fécondabilité diminuée
Structurales	<ul style="list-style-type: none"> • Micropénis • Hypospadias • Cryptorchidie • Restes müllériens 	<ul style="list-style-type: none"> • Anomalies anatomiques <ul style="list-style-type: none"> - Trompe - Utérus - Col - Vagin - Kystes paraovariens d’origine mésonéphrotique
Cellulaires	<ul style="list-style-type: none"> • Inflammation • Kyste de l’épididyme • Tumeurs : <ul style="list-style-type: none"> - testicules - prostate - vésicule séminale 	<ul style="list-style-type: none"> • Lésions : <ul style="list-style-type: none"> - Ovaires - Trompes - Vagin - Fibrome utérin - Adénome vaginal - Adénocarcinome vaginal - Tumeur ovarienne

faibles doses. Dans ce sens, il paraît nécessaire de tenir compte de la bioaccumulation de la plupart de ces substances dans les tissus graisseux en particulier en raison de leur caractère lipophile fréquent, de la fenêtre d'exposition particulièrement vulnérable dans la période fœtale où la protéine de liaison des stéroïdes sexuels (SHBG) est peu abondante et peu affinée pour les pesticides et le pouvoir de détoxification hépatique immature en période pré- et post-natale immédiate, de la révélation possible de la pathologie à distance de l'exposition, de l'association des molécules en cause et de la vulnérabilité individuelle.

Les données expérimentales

En fait, ce sont les données expérimentales qui constituent les arguments les plus convaincants pour soutenir l'hypothèse d'une programmation fœtale à distance par l'exposition aux perturbateurs endocriniens environnementaux. L'un des premiers modèles et celui qui a été le plus étudié à ce jour est sans nul doute celui du diéthylstilbestrol ou Distilbène® ou DES, un estrogène de synthèse. En effet, les conséquences à long terme de l'exposition des fœtus humains au DES, et rapportées sur le plan clinique, sont à présent bien connues chez les deux sexes. Elles ont été répertoriées chez les individus adultes en âge de procréer dont les mères avaient reçu entre 1945 et 1970 du DES prescrit en cas de menace de fausses couches à répétition ou même à titre préventif lors de grossesses normales ; jusqu'à ce que l'on s'aperçoive qu'il entraînait chez les filles qui avaient été exposées dans l'utérus de leur mère un certain nombre de malformations du tractus génital, des tumeurs bénignes ou malignes et une hypofertilité, ce que connaissent bien à présent les gynécologues. Des troubles de la différenciation sexuelle chez les garçons avec hypospadias, cryptorchidie, restes müllériens, des tumeurs et une hypofertilité ont également été rapportés chez l'homme bien qu'ils soient moins bien connus par les médecins praticiens et ceci est développé dans un autre article de cette revue. Le *tableau 1* rapproche ces différentes anomalies du développement du tractus génital avec malformations et cancers chez les souris et les humains [17]. Les travaux expérimentaux menés en effet depuis, chez les rongeurs exposés au DES et à d'autres estrogène-mimétiques environnementaux, permettent non seulement de confirmer les effets délétères structuraux, fonctionnels et oncogéniques du DES sur les appareils de reproduction des deux sexes dans l'espèce humaine, mais constituent en outre un modèle privilégié pour préciser leur mode d'interférence hormonale et pour élucider les mécanismes cellulaires et moléculaires des effets toxiques induits par les autres xénoestrogènes.

La fenêtre d'exposition

Deux types d'exposition ont été particulièrement étudiés pour le Distilbène® chez la souris [17] : l'une en

période prénatale de J9 à J18 post-coïtal, l'autre en période néo-natale de J1 à J5 post-natal en considérant à la fois l'organogenèse et la différenciation cellulaire du tractus génital. Dans le premier cas, chez le mâle, sont retrouvées des malformations structurales (microphallus, hypospadias, restes müllériens, hypoplasie testiculaire) et fonctionnelles (hypofertilité, réduction du nombre de spermatozoïdes) et chez la femelle des anomalies de l'oviducte, du vagin, du col et de l'utérus, ainsi que des kystes para-ovariens d'origine mésonéphrotique associés à un faible pouvoir de reproduction. Lors de l'exposition néonatale, les mâles développent des tumeurs du testicule et des restes müllériens, des kystes épидидymaires et des tumeurs prostatiques, les femelles vont développer fréquemment des fibromes et un adénocarcinome utérin [17]. L'efficacité des faibles doses *versus* de fortes doses a été bien illustré une fois encore par le Distilbène® et par le bisphénol A. L'analyse des données toxicologiques concernant l'exposition fœtale ou périnatale aux perturbateurs endocriniens est rendue difficile par le fait que les effets ne suivent pas forcément une relation classique de type courbe dose/réponse monotonique linéaire ; ainsi l'exposition fœtale *in utero* chez la souris, au DES ou au méthoxychlor, un insecticide organo-chloré estrogénomimétique, entre J12 et J18 post-coïtal entraîne sur l'utérus adulte de la progéniture féminine un effet sur la taille et le poids plus important pour les très faibles doses que pour des doses 1 000 fois supérieures et suivant une courbe en U renversé [17] alors que l'effet sur le foie suit une courbe dose/réponse. De la même manière, l'exposition fœtale au DES ou à l'estradiol chez la souris est capable d'induire sur la prostate adulte des effets opposés à faibles et hautes doses [19, 20]. Concernant le bisphénol A utilisé dans l'industrie du plastique ou dans les résines époxy et possédant une action de xénoestrogène, des doses faibles équivalentes à celles manipulées quotidiennement par chacun d'entre nous, induisent chez le rat de J1 à J5 post-natal chez le mâle adulte des lésions prostatiques précancéreuses et une susceptibilité hormonale particulière à développer un véritable cancer [21].

Le caractère transgénérationnel des anomalies

Une des données les plus bouleversantes de ces dernières années concernant l'influence de l'environnement, réside dans le caractère permanent, transmissible aux générations suivantes de ces anomalies programmées lors de l'exposition fœtale. Il a été bien montré aussi bien chez la souris [17] que dans l'espèce humaine [22] que l'exposition *in utero* au DES induit chez la fille un risque d'adénocarcinome du vagin. Ces souris exposées *in utero* au DES lorsqu'elles sont accouplées à des mâles non exposés produisent une deuxième génération de filles qui, alors

qu'elles n'ont pas été exposées elles-mêmes, développent également un tel cancer rare du tractus génital [23]. L'exposition en période post-natale précoce favorise quant à elle la survenue à l'âge adulte d'un adénocarcinome de l'utérus qui ressemble au cancer de l'endomètre de la femme, et cette susceptibilité se transmet également à la génération suivante par la mère. De la même manière pour les mâles exposés au DES, il a été montré que les cancers du *rete testis*, cancer rare du tractus génital mâle pouvait se transmettre du grand-père au petit-fils [24]. Une telle transmission transgénérationnelle d'une lésion spécifique du tractus génital est difficile à expliquer en dehors d'un mécanisme épigénétique d'autant que l'altération de la méthylation de la lactoferrine, un gène spécifiquement exprimé dans l'utérus, a été mise en évidence chez la souris exposée au DES en période pré ou post-natale [25]. De façon significative, il vient d'être rapporté cette année sur le plan clinique un risque majoré de survenue d'un hypospadias chez les nouveau-nés garçons issus d'une grand-mère maternelle ayant reçu du DES pendant le début de sa grossesse [26]. La confirmation que des perturbateurs endocriniens environnementaux sont capables d'induire par exposition *in utero* des anomalies chroniques de la fonction de reproduction à l'âge adulte, transmissibles à plusieurs générations et associées à des modifications épigénétiques, a été apportée de façon élégante dans un article paru en 2005 dans la revue *Science* par l'équipe de Skinner [5]. Les auteurs ont utilisé un fongicide usuel, la vinclozoline, très utilisée dans la viticulture, et le méthoxychlore, un pesticide organochloré ayant remplacé le DDT et possédant une action estrogénomimétique. L'exposition fœtale entre E8 et E15 du développement embryonnaire, correspondant à la période de détermination gonadique et de développement testiculaire, a entraîné l'induction à distance d'un phénotype adulte [5]. Ce phénotype observé aussi bien avec la vinclozoline qu'avec le méthoxychlore comprend une réduction de la numération et de la mobilité des spermatozoïdes de 20 à 30 % chez plus de 90 % des animaux mâles adultes. Cette hypospérmatogenèse est associée à une apoptose exagérée des cellules germinales, observée sur les biopsies testiculaires mais 4 % seulement des mâles deviennent totalement stériles ; ce qui a permis de constater que ce phénotype se transmettait sans décliner entre la 1^e et la 4^e génération et toujours chez 90 % des animaux et par les cellules germinales mâles car les femelles exposées couplées à des mâles contrôles ne reproduisent pas ce phénotype dans leur progéniture mâle. Une exposition après J15 ne reproduit pas non plus le phénotype, illustrant l'importance de la fenêtre d'exposition dans la programmation de l'hypofertilité adulte. Ce phénotype était en outre associé à des changements épigénétiques retrouvés sur les profils de méthylation de l'ADN des cellules germinales mâles comprenant à la fois des événements d'hyperméthylation et d'hypométhylation de l'ADN.

L'hypothèse de l'épigénétique

Le fait que ces anomalies induites par l'exposition fœtale soient transmises sur plusieurs générations implique une modification génétique portant sur les cellules germinales. La haute fréquence maintenue sur des générations et le non-respect des lois de Mendel rendent peu vraisemblable l'implication de mutations touchant directement la séquence de l'ADN d'autant que les doses utilisées de perturbateurs ne sont pas considérées comme mutagènes. Il apparaît en fait aujourd'hui vraisemblable que les changements phénotypiques observés sous l'influence des perturbateurs endocriniens peuvent agir *via* des mécanismes épigénétiques entraînant des changements dans la structure des gènes sans changer la séquence de l'ADN, c'est-à-dire sans mutation. L'épigénétique se définit comme les mécanismes de régulation de l'expression des gènes liés à la modification de la structure de l'ADN comme par exemple son hyperméthylation ou le remodelage de la chromatine par modification des histones (méthylation, acétylation, phosphorylation) pouvant conduire à la mise en veilleuse de l'expression d'un des allèles [27]. Ce phénomène survient physiologiquement au cours du développement précoce chez les mammifères pour certains gènes soumis à empreinte parentale et conduit à l'expression exclusive soit de l'allèle paternel soit de l'allèle maternel. C'est ce qui se passe également pour l'inactivation de l'un des deux X dans le sexe féminin. L'un des principaux mécanismes de ce contrôle sélectif est donc la méthylation de l'ADN par addition d'un groupe méthyl sur la base cytosine dans des sites riches en motif CpG. L'hyperméthylation entraîne en général la suppression de l'expression du gène alors que l'hypométhylation est associée à une activation du gène. Ces modifications épigénétiques peuvent se transmettre au cours des mitoses lorsqu'elles touchent des cellules somatiques ou peuvent se transmettre aux générations suivantes lorsqu'elles touchent les cellules germinales même si celles-ci subissent physiologiquement lors de la gamétogenèse, une remise à niveau suivie d'une reprogrammation [28].

Ces mécanismes ont en tout cas été évoqués pour expliquer la programmation fœtale des troubles métaboliques et cardiovasculaires adultes en cas de retard de croissance intra-utérin [29], dans certains cancers avec mise en veilleuse de gènes suppresseurs [27] et pour expliquer la régulation hormonale exercée par les perturbateurs endocriniens. Une demi-douzaine de publications rapportent à ce jour une association de telles modifications en cas d'exposition fœtale à des perturbateurs endocriniens ayant entraîné à l'âge adulte des anomalies du développement de la fonction de reproduction ou de l'ontogenèse. Ainsi Andway *et al.* ont-ils décrit, associées au phénotype testiculaire sous l'effet de la vinclozoline ou du méthoxychlore, des modifications des profils de mé-

thylation de certains gènes dans la lignée germinale mâle [5] incluant à la fois des marques épigénétiques de type hyper- ou hypométhylation de l'ADN et retrouvées à la 2^e et 3^e génération de mâles. En fait, Li *et al.* [25] avaient déjà rapporté dans les expériences d'exposition au DES chez la souris une déméthylation du gène de la lactoferrine exprimée au niveau de l'utérus, ces modifications épigénétiques sont également transmises aux générations suivantes [23]. Une équipe japonaise a cette année de la même manière rapporté chez la souris exposée en postnatal précoce au DES des modifications des profils globaux de méthylation de l'ADN au niveau de l'épididyme ainsi qu'une surexpression des DNA méthyltransférase (Dnmt1 et Dnmt3a), enzymes régulant la méthylation des cytosines [30]. En 2004, Wu *et al.* [31] avaient quant à eux montré que l'exposition à la dioxine de l'embryon préimplantatoire de souris, réduisait le poids de naissance en stimulant l'activité méthyltransférase et en augmentant le niveau de méthylation des gènes H19 et Igf1 soumis à empreinte parentale. Au mois de juin 2006, Ho *et al.* ont décrit l'induction d'une susceptibilité à la carcinogenèse prostatique chez le rat adulte après exposition en période postnatale précoce à de faibles doses de bisphénol A, associée à des altérations permanentes du profil de méthylation de différents gènes impliqués dans la signalisation cellulaire et en particulier la phosphodiesterase de type 4 variant 4, une enzyme responsable de la dégradation de l'AMP cyclique [21].

Quels sont les gènes impliqués soumis à empreinte épigénétique sous l'influence des perturbateurs endocriniens ? Par quels mécanismes, cette nouvelle programmation épigénétique voit-elle le jour ? Et comment ces modifications de la structure de l'ADN sont-elles maintenues dans les cellules germinales pour être ensuite transmises de génération en génération ?

Ces questions commencent tout juste à être renseignées mais constituent certainement un challenge pour les années à venir. Il est probable que certains gènes impliqués soient des gènes hormonodépendants comme la lactoferrine [25] que d'autres impliquent le contrôle du développement comme suggéré pour Hoxa 10 sous l'effet du méthoxychlor [32] et/ou de la prolifération comme la phosphodiesterase [21] et que d'autres enfin concernent des protéines exerçant une activité enzymatique influençant la structure de l'ADN ; ainsi HSP90, une protéine de choc thermique associée aux récepteurs nucléaires, possède une activité méthyltransférase capable de modifier la chromatine et pourrait être impliquée dans les mécanismes induits par le DES [33] et certains coactivateurs des récepteurs nucléaires comme la *CREB-binding protein* (CBP) possèdent également une activité histone acétyltransférase [34].

Les mécanismes moléculaires précis par lesquelles les hormones et/ou les perturbateurs endocriniens induisent des modifications épigénétiques et les gènes cibles à l'ori-

gine des effets chroniques sur le développement, la fonction de reproduction ou l'ontogenèse des cancers hormono-dépendants restent encore largement à préciser. Ce domaine constitue à présent un challenge d'une importance grandissante étant donné les conséquences sur la santé publique, sur la prévention éventuelle, le diagnostic et même le traitement d'un certain nombre d'affections en particulier cancéreuses. Il convient de prêter une attention particulière à la période foetale d'exposition *in utero*.

Références

1. Barker DJP, Osmond C, Winter PD, *et al.* Weight in infancy and death from ischaemic heart disease. *Lancet* 1989 ; volume : 577-89.
2. Lévy-Marchal C, Jacquet D, Czernichow P. Long-term metabolic consequences of being born small for gestational age. *Seminars in Neonatology* 2004 ; 9 : 67-74.
3. Eriksson JG, Lindi V, Uusitupa M, *et al.* The effects of the pro12ala polymorphism of the peroxysome proliferators-activated receptor-gamma2 gene on insulin sensitivity and insulin metabolism interact with size at birth. *Diabetes* 2002 ; 51 : 2321-4.
4. Waterland R, Jirtle RL. Early nutrition, epigenetic changes at transposons and imprinted genes, and enhanced susceptibility to adult chronic diseases. *Nutrition* 2004 ; 20 : 63-8.
5. McLachlan JA, Newbold RR, Burow ME, Fang Li S. From malformations to molecular mechanisms in the male : three decades of research on endocrine disrupters. *APMIS* 2001 ; 109 : 263-72.
6. Andway MD, Cupp AS, Uzumcu M, Skinner MK. Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility. *Science* 2005 ; 308 : 1466-9.
7. Colborn T, Dumanovski D, Myers J-P. *Our stolen future*. New York : A Dutton Book, 1996 ; (307 pages).
8. Toppari J, Larsen JC, Christiansen P, *et al.* Male reproductive health and environmental xenoestrogens. *Env Health Persp* 1996 ; 104 : 741-803.
9. Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, Skakkebaeck NE. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *B Med J* 1992 ; 305 : 609-13.
10. Auger J, Kunstmann JM, Czyglik F, Jouannet P. Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. *N Engl J Med* 1995 ; 332 : 281-5.
11. Swan SH, Kruse RL, Bar DB, *et al.* Semen quality in relation to biomarkers of pesticide exposure. *Env Health Persp* 2003 ; 111 : 1478-14843 ; (??).
12. Joffe M. Increased concentrations of polychlorinated biphenyls, hexachlorobenzenes, and chlordaned in mothers of men with testicular cancer. *Env Health Persp* 2004 ; 112 : 21-2.
13. Hosie S, Loff S, Witt K, Niessen, Waag KL. Is there a correlation between organochlorine compounds and undescended testes? *Eur J Pediatr Surg* 2000 ; 10 : 304-9.
14. Brücker-davis F, Azuar P, Boda-Bucino M, *et al.* Cryptorchidie et exposition in utero à des xénobiotiques dans la région niçoise : absence de corrélation entre examen néonatal et concentrations de xénobiotiques au sang du cordon. *Ann Endocrinol* 2006 ; 67 : 380-1 ; (??).
15. Kogevinas M. Human health effects of dioxins : cancer, reproductive and endocrine system effects. *Human Reprod Uptake* 2001 ; 7 : 331-9.

16. Safe SH. Xenoestrogens and breast cancer. *N Engl J Med* 1997 ; 337 : 1303-4.
17. Newbold RR, Pailla-Banks E, Jefferson WN. Adverse effects of the model environmental estrogen diethylstilbestrol are transmitted to subsequent generations. *Endocrinology* 2006 ; 147 : S11-S17.
18. Roger C, Lambard S, Bouskine A, Nebout M, Pointis G, Fénelon P. Estrogen-induced growth inhibition of human seminoma cells expressing estrogen receptor β and aromatase. *J Mol Endoc* 2005 ; 35 : 191-9.
19. Alworth LC, Howdeshell KL, Ruhlen RL, et al. Uterine responsiveness to estradiol and DNA methylation are altered by fetal exposure to diethylstilbestrol and methoxychlor in CD-1 mice : effects of low versus high doses. *Toxicol Appl Pharmacol* 2002 ; 183 : 10-22.
20. Vom Saal FS, Timms BG, Montano M, et al. Prostate enlargement in mice due to fetal exposure to low doses of estradiol or diethylstilbestrol and opposite effects at high doses. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997 ; 94 : 2056-61.
21. Ho S, Tang W, Belmonte de Frausto J, Prins G. Developmental exposure to estradiol and bisphenolA increases susceptibility to prostate carcinogenesis and epigenetically regulates phosphodiesterase type 4 variant 4. *Cancer Res* 2006 ; 66 : 5624-32.
22. Herbst AL, Ulfelder H, Poskanzer DC. Adenocarcinoma of the vagina. Association of maternal stilbestrol therapy with tumor appearance in young women. *N Engl J Med* 1971 ; 284 : 373-8.
23. Newbold RR, Hanson RB, Jefferson WN, Bullock BC, Hase-man J, McLachlan JA. Increased tumors but uncompromised fertility in female descendants of mice exposed developmentally to diethylstilbestrol. *Carcinogenesis* 1998 ; 19 : 1655-63.
24. Newbold RR, Hanson RB, Jefferson WN, Bullock BC, Hase-man J, McLachlan JA. Proliferative lesions and reproductive tract tumors in male descendants of mice exposed developmentally to diethylstilbestrol. *Carcinogenesis* 2000 ; 21 : 1355-63.
25. Li S, Washburn KA, Moore R, et al. Developmental exposure to diethylstilbestrol elicits demethylation of the estrogen-responsive lactoferrin gene in mouse uterus. *Cancer Res* 1997 ; 57 : 4356-9.
26. Brouwers MM, Feitz WF, Roelofs LA, Kiemey LA, de Gier RP, Roeleveld N. Hypospadias : a transgenerational effect of diethylstilbestrol? *Hum reprod* 2006 ; 21 : 666-9.
27. Dolinoy DC, Weidman JR, Jirtle RL. Epigenetic gene regulation : linking early developmental environment to adult disease. *Reprod Toxicol* 2006 ; 10 : 8-12.
28. Gicquel C. Perturbation de la régulation épigénétique. *Médecine Clinique endocrinologie et diabète* 2004 ; 13 : 32-3.
29. Drake AJ, Walker BR. The intergenerational effects of fetal programming non-genomic mechanisms for the inheritance of low birth weight and cardio-vascular risk. *J Endocrinol* 2004 ; 180 : 1-16.
30. Sato K, Fukata H, Kogo Y, Ohgane J, Shiota K, Mori C. Neonatal exposure to diethylstilbestrol alters the expression of DNA methyltransferases and methylation of genomic DNA in the epididymis of mice. *Endocr J* 2006 ; 53 : 331-7.
31. Wu Q, Ohsako S, Ishimura R, Susuki JS, Toyama C. Exposure of mouse preimplantation embryos to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) alters the methylation status of imprinted genes H19 and Igf2. *Biol reprod* 2004 ; 70 : 1790-7.
32. Fei X, Chung H, Taylor HS. Methoxychlor disrupts uterine Hoxa10 gene expression. *Endocrinology* 2005 ; 146 : 3445-51.
33. Ruden DM, Xiao L, Garfinkel MD, Lu X. Hsp90 and environmental impacts on epigenetic states : a model for the transgenerational effects of diethylstilbestrol on uterine development and cancer. *Hum Mol Genet* 2005 ; 14 : 149-55.
34. Daujat S, Bauer UM, Shah V, Turner B, Berger S, Kouzarides T. Crosstalk between CARM1 methylation and CBP acetylation on histone H3. *Curr Biol* 2002 ; 12 : 2090-7.