

Environnement professionnel et fertilité humaine un nouvel enjeu de la prévention

Jeanne Perrin, JL Bergé-Lefranc, MR Guichaoua

Résumé

La médecine de la reproduction éprouve un intérêt grandissant pour l'environnement en raison de l'altération régulière des paramètres spermatiques des donneurs fertiles dans les pays industrialisés, ainsi que de l'incidence croissante de l'infertilité conjugale et des cancers du testicule dans ces pays. L'allongement constant de la liste des substances des reprotoxiques et des perturbateurs endocriniens référencés ouvre une nouvelle aire de recherche dans le domaine de la prévention du risque toxique pour la reproduction.

Cette communication présente les principaux reprotoxiques chimiques et perturbateurs endocriniens référencés, leurs effets connus sur l'appareil reproducteur animal et/ou humain.

Elle met l'accent sur l'intérêt de la prévention et de la recherche clinique multidisciplinaire et prospective faisant intervenir les aspects très variés de cette discipline.

Introduction

La diminution des paramètres du sperme, observée depuis plusieurs décades dans les pays industrialisés, a soulevé le problème du déclin de la fertilité des hommes. La proportion de couples en âge de procréer consultant pour infertilité atteint 15% dans ces pays ; la moitié d'entre eux présente une infertilité d'origine masculine. Cette notion s'accompagne, toujours dans les pays industrialisés, d'une augmentation régulière de la fréquence des cancers du testicule. Ces notions ont été corrélées à l'accroissement des concentrations et des variétés de toxiques dans notre environnement.

1. Evaluation du risque en reproduction

La fonction sexuelle et la fertilité sont des fonctions de reproduction complexes. Pour apprécier l'altération de la fonction de reproduction humaine, des critères objectifs se sont révélés indispensables. Les paramètres utilisés pour évaluer la fertilité humaine proviennent essentiellement d'études cliniques comme les analyses du sperme des donneurs fertiles, et de données épidémiologiques telles que le Délai Moyen à Concevoir ou le Taux de

Naissance Standardisé, calculés d'après l'étude de populations.

L'évaluation du potentiel toxique d'un produit pour l'homme prend en compte les données fournies par différents types d'études : les études épidémiologiques, les études in vivo chez l'animal et les études toxicologiques in vitro. Il existe en effet dans les processus de reproduction un très grand nombre de cibles potentielles dont l'atteinte peut perturber cette fonction, de manière immédiate ou différée dans le temps.

Il est parfois possible d'étudier in vitro chez l'humain la réponse des cellules cibles sélectionnées à un produit toxique, en les exposant à ce toxique puis en analysant les dommages provoqués. Jusqu'à présent, très peu d'études de ce type ont été réalisées sur les cellules de la lignée germinale humaine, et les effets des toxiques sur le déroulement de la spermatogenèse sont mal connus dans l'espèce humaine.

2. Les principaux reprotoxiques

2.1. Les composés chimiques

L'Union Européenne a établi une classification des produits chimiques toxiques pour la reproduction (1). Elle tient compte du niveau de preuve résultant des études épidémiologiques, in vivo et in vitro chez l'animal menées sur ce produit pour définir trois catégories :

- **catégorie 1** : substance connue pour altérer la fertilité et/ou le développement dans l'espèce humaine, c'est à dire qu'il existe assez d'éléments pour établir une relation de cause à effet entre l'exposition humaine à cette substance et une altération de la fertilité et/ou du développement de la descendance.

Adresse de correspondance et demande de tirés-à-part

Dr. Jeanne Perrin
Laboratoire de Biogénotoxicologie et Mutagenèse
Environnementale
Faculté de Médecine
27, boulevard Jean Moulin
13385 Marseille Cedex 5
tél : 04 91 32 45 48 / fax : 04 91 32 45 72
E-mail <Jeanne.Perrin@ap-hm.fr>

- **catégorie 2** : substance devant être assimilée à des substances altérant la fertilité et/ou le développement dans l'espèce humaine, c'est à dire qu'il existe une forte présomption que l'exposition humaine à cette substance peut altérer la fertilité et/ou le développement de la descendance.

- **catégorie 3** : substance préoccupante pour la fertilité et/ou le développement dans l'espèce humaine, c'est à dire qu'il existe une forte suspicion de toxicité de cette substance pour la fertilité et/ou le développement de la descendance dans l'espèce humaine.

Nous ne présentons ici que les principaux représentant de ces différentes catégories, susceptibles soit d'entraîner de malformations de l'appareil génital chez le fœtus, soit d'être responsable d'un trouble fonctionnel de la reproduction chez l'adulte.

2.1.1. Catégorie 1

- **Le Plomb**, chez le rat in vitro, interrompt les liaisons cellules germinales-cellules de Sertoli et entraîne une perte des cellules germinales. In vivo, il est responsable de la fragmentation des noyaux spermatiques et d'un gonflement de l'acrosome des spermatides rondes. Une vacuolisation du cytoplasme des cellules de Sertoli avec gonflement du noyau (9) et l'altération fonctionnelle des cellules de Leydig avec chute du taux de testostérone (10) ont aussi été observées. Chez l'homme, l'intoxication au plomb est associée à altération des paramètres spermatiques (11).

- **Les Haloalcanes** tels que le 1-bromopropane, le 2-bromopropane, le dibromopropane, et le dibromochloropropane sont utilisés dans l'industrie électronique comme alternative aux chlorofluorocarbones. Il a été montré par des études in vivo chez le rat que le 1-bromopropane et le 2-bromopropane ont des effets différents sur la reproduction mâle : le 1-bromopropane altère la spermiation, il génère de nombreuses anomalies morphologiques des spermatozoïdes ainsi qu'une hypotrophie de l'épididyme, des vésicules séminales et de la prostate (12). L'exposition au 2-bromopropane affecte plus spécifiquement les spermatogonies et aboutit à haute dose à une atrophie testiculaire incomplètement réversible (13). Chez la femelle, les Haloalcanes sont responsables d'une hypoplasie utérine, d'un allongement des cycles ovulatoires avec diminution du nombre d'ovules émis lors de l'ovulation. L'atteinte ovarienne affecterait plus

particulièrement les follicules préovulatoires (14). Enfin l'exposition des femelles gestantes puis allaitantes au 2-bromopropane a non seulement un effet négatif sur le taux d'accouchement et la survie néonatale des rats, mais diminue également le développement des organes reproducteurs chez les fœtus. En effet, l'exposition fœtale in utero au 2-bromopropane est responsable chez les nouveaux-nés mâles d'une hypotrophie testiculaire avec atrophie des tubes séminifères, perte de cellules germinales et prolifération des cellules de Leydig aux doses les plus importantes ; chez les nouveaux-nés femelles, on observe une décroissance du nombre de follicules à hautes doses (15).

2.1.2. Catégorie 2 et 3

□ Les dérivés minéraux

- **L'Arsenic : acide arsenique** et ses sels. Sa toxicité est étroitement dépendante de son état d'oxydation, la forme trivalente étant la plus toxique. Il agit par interaction avec les groupes SH des protéines de membrane du spermatozoïde aussi bien que des microtubules axonémaux, la cible étant le groupement thiol de la tubuline, principal composant de l'axonème. L'autre mécanisme possible de toxicité est la génération de radicaux libres (ROS).

Chez l'homme, l'exposition des spermatozoïdes à l'arsenic entraîne une diminution rapide des paramètres du mouvement (16).

- **Le Cadmium**. C'est un métal lourd présent de manière ubiquitaire dans l'environnement. Il intervient avec des éléments essentiels tels le zinc, le cuivre, le fer et le calcium. Le mode d'intoxication chronique le plus répandu est le tabagisme. Chez la femme, la toxicité du cadmium réside essentiellement dans sa capacité à s'accumuler dans le placenta, il est donc toxique pour le développement du fœtus (17).

Chez l'animal, l'administration de Cadmium s'accompagne d'une diminution du volume testiculaire, du volume de l'éjaculat et de la numération des spermatozoïdes. Les autres paramètres ne sont pas modifiés. Des lésions des tubes séminifères affectant les spermatocytes I et II, les spermatides et les cellules de Sertoli ont été mises en évidence, sans lésion apparentes des cellules de Leydig (20).

Chez l'homme, un certain nombre d'études ont montré que le cadmium pouvait entraîner une altération de la qualité des spermatozoïdes : altération de la réaction acrosomique et anomalie de la formation du cytosquelette (18). Une exposition excessive au Cadmium a aussi été impliquée dans l'infertilité associée au varicocèle.

□ *Les dérivés organiques*

- **Le Benzo[a]pyrene** est un hydrocarbure polycyclique aromatique carcinogène résultant en particulier de la combustion de la cigarette. Ses métabolites sont capables de se lier de façon covalente à l'ADN, formant des adduits pouvant provoquer des mutations. Des adduits de Benzo[a]pyrene diol epoxyde (BPDE) ont été détectés chez des patient(e)s fumeur(se)s dans les cellules de la granulosa, les ovocytes, les spermatozoïdes et les embryons préimplantatoires (19).

Une étude de Watanabe (2) en 2001 a montré que l'action directe du Benzo[a]pyrene sur les spermatozoïdes humains in vitro accroît de manière significative le nombre de gamètes présentant une aberration chromosomique, rendant possible un déséquilibre dans la descendance en cas de fécondation.

- **Les éthers de glycol** constituent une famille de substances formées des dérivés éthers des glycols. On les retrouve généralement sous forme liquide, le plus souvent associés à d'autres solvants : cétones (acétone), solvants aromatiques (toluène, xylènes), chlorés (trichloréthylène), les esters (acétate d'éthyle) et les mélanges d'hydrocarbures (White spirit). Deux grandes familles se distinguent à la fois sur le plan chimique et toxico-cinétique. Seuls les composés de la série E, dérivés de l'éthylène glycol, sont considérés comme pouvant représenter un danger majeur pour l'homme.

De nombreuses études ont montré la toxicité des éthers de glycol sur l'appareil génital masculin de plusieurs espèces animales. Ces travaux montrent chez le mâle une diminution de la taille et du poids des testicules et une oligoasthénospermie. L'histologie met en évidence une atrophie des tubes séminifères, une altération de la spermatogenèse avec blocage de la différenciation des spermatocytes I au stade pachytène, apparition de cellules germinales géantes multinucléées, ainsi qu'une apoptose massive après ce stade.

Chez la femelle exposée, une diminution de la fertilité par diminution du nombre de follicules ovariens avec suppression des cycles a été montrée (3).

Chez l'Humain, deux études menées sur des petits échantillons ont porté sur les résultats de l'exposition à l'EGME (éthylène glycol monométhyl ether) et l'EGEE (éthylène glycol éthyl ether) (4,5). Elles mettent en évidence une diminution significative du volume de l'éjaculat et du nombre des spermatozoïdes. Des résultats contradictoires ont été publiés chez les femmes exposées aux éthers de glycol, montrant ou non des altérations du cycle menstruel et des avortements spontanés.

2.2. Les perturbateurs endocriniens

Les perturbateurs endocriniens sont des substances chimiques d'origine naturelle ou synthétique pouvant modifier le fonctionnement du système endocrinien. Ils sont susceptibles d'agir à de nombreux niveaux des axes hormonaux naturels (synthèse, stockage, transport, métabolisme, fixation, activité, élimination), par des mécanismes moléculaires variables en mimant et/ou bloquant l'action d'une hormone, en se liant à sa protéine transporteur ou en bloquant les récepteurs à ces protéines dans l'organe cible. Ainsi, par ces mécanismes, les perturbateurs endocriniens peuvent altérer la fonction de reproduction.

Il existe de nombreuses variétés de perturbateurs endocriniens comme les PCB (polychlorobiphényles), les dioxines, les phtalates, les pesticides organo-chlorés. La nature persistante et ubiquitaire d'un grand nombre d'entre eux en fait un danger potentiel pour les générations à venir (6). En effet, les perturbateurs endocriniens sont retrouvés dans le plasma séminal humain des individus même non exposés professionnellement. Ils traversent le placenta et maintiennent leur activité chez le fœtus ; ils affectent alors le développement testiculaire directement ou indirectement après accumulation dans le foie du fœtus (6). Ils seraient responsables d'une dysgénésie testiculaire (TDS pour testicular dysgenesis syndrom décrit par Skakkebaek) (7). Ce syndrome associe : hypotrophie testiculaire, défaut de développement des tubes séminifères avec présence de tubes sertoliens, anomalie de descente testiculaire, fréquente malformation du gubernaculum testis, association fréquente avec un cancer testiculaire. Chez l'adulte ce syndrome se manifeste par une altération des paramètres spermatiques.

Les PCB (polychlorobiphényles) ont une grande affinité pour le tissu adipeux dans lequel ils s'accumulent. Toute exposition aux PCB peut

être associée à des troubles de la reproduction avec détérioration de tous les paramètres spermatique. On observe alors une altération de la morphologie, de la mobilité et de la numération des spermatozoïdes et de leur pouvoir fécondant (8).

La Dioxine et ses dérivés restent très persistants dans l'atmosphère. Comme les PCB, ils sont très lipophiles et s'accumulent dans le tissu adipeux (9). Chez le rat, une exposition à la Dioxine se manifeste par une diminution quantitative de la spermatogenèse, s'accompagnant d'une baisse des androgènes circulants.

Les Phtalates constituent le polluant d'origine humaine le plus abondant dans l'environnement (6). Comme les PCB ils peuvent avoir une activité anti-androgène. Les effets in utero des Phtalates sont aussi ceux du syndrome TDS décrit pour les perturbateurs endocriniens (7). Ils altèrent aussi bien les cellules germinales pré-méiotiques que les spermatozoïdes testiculaires et dissocient précocément les cellules germinales des cellules de Sertoli. (6)

Les pesticides organochlorés. Le plus connu est le DDT (Dichlorodiphénylthane) qui a été le plus utilisé jusque dans les années 1960. Ils entraînent chez le fœtus des syndromes TDS (8). Une augmentation des cas de puberté précoce dans les deux sexes a été observée chez les enfants d'immigrés exposés précocement aux pesticides organochlorés dans leur pays d'origine (9).

Conclusion

Les connaissances sur l'effet et la nature des reprotoxiques sont encore incomplètes. La plupart des études publiées concernent l'expérimentation animale, celles qui concernent l'Homme sont peu nombreuses et souvent d'effectif limité.

Les données connues imposent bien sûr l'application de mesures de protection appropriées tant au niveau de la Médecine du travail que des pouvoirs publics.

L'étendue des voies de recherche dans ce domaine sont très étendues. Il apparaît important qu'elles impliquent des équipes multidisciplinaires pouvant regrouper les aspects très variés de cette discipline.

Références bibliographiques

1 International Programme on Chemical Safety Environmental Health Criteria 225 Principles for Evaluating Health Risks to Reproduction Associated with Exposure to Chemicals World Health Organisation, 2001

- 2 Watanabe S, Kamiguchi Y. Chromosome analysis of human spermatozoa following in vitro exposure to cyclophosphamide, benzo(a)pyrene and N-nitrosodimethylamine in the presence of rat liver S9. *Mutat Res.* 2001 Apr 5;491(1-2):57-63.
- 3 Watanabe A, Nakano Y, Endo T, Sato N, Kai K, Shiraiwa K. Collaborative work to evaluate toxicity on male reproductive organs by repeated dose studies in rats 27). Repeated toxicity study on ethylene glycol monomethyl ether for 2 and 4 weeks to detect effects on male reproductive organs in rats. *J Toxicol Sci.* 2000 Oct;25 Spec No:259-66.
- 4 Ratcliffe JM, Schrader SM, Steenland K, Clapp DE, Turner T, Hornung RW. Semen quality in papaya workers with long term exposure to ethylene dibromide. *Br J Ind Med.* 1987 May;44(5):317-26.
- 5 Ahmadi A, Ng SC. Developmental capacity of damaged spermatozoa. *Hum Reprod.* 1999 Sep;14(9):2279-85.
- 6 Boisen KA, Main KM, Rajpert-De Meyts E, Skakkebaek NE. Are male reproductive disorders a common entity? The testicular dysgenesis syndrome. *Ann N Y Acad Sci.* 2001 Dec; 948:90-9.
- 7 Skakkebaek NE, Rajpert-De Meyts E, Main KM. Testicular dysgenesis syndrome: an increasingly common developmental disorder with environmental aspects. *Hum Reprod.* 2001 May;16(5):972-8.
- 8 Rozati R, Reddy PP, Reddanna P, Mujtaba R. Role of environmental estrogens in the deterioration of male factor fertility. *Fertil Steril.* 2002 Dec;78(6):1187-94.
- 9 Murthy RC, Gupta SK, Saxena DK. Nuclear alterations during acrosomal cap formation in spermatids of lead-treated rats. *Reprod Toxicol.* 1995 Sep-Oct;9(5):483-9.
- 10 Thoreux-Manlay A, Velez de la Calle JF, Olivier MF, Soufir JC, Masse R, Pinon-Lataillade G. Impairment of testicular endocrine function after lead intoxication in the adult rat. *Toxicology.* 1995 Jun 26;100(1-3):101-9.
- 11 Alexander BH et al. Paternal Occupational Lead Exposure and Pregnancy outcome. *Int J Occup Environ Health,* 1996 2(4):p280-285
- 12 Ichihara G, Yu X, Kitoh J, Asaeda N, Kumazawa T, Iwai H, Shibata E, Yamada T, Wang H, Xie Z, Maeda K, Tsukamura H, Takeuchi Y. Reproductive toxicity of 1-bromopropane, a newly introduced alternative to ozone layer depleting solvents, in male rats. *Toxicol Sci.* 2000 Apr;54(2):416-23. Erratum in: *Toxicol Sci* 2000 Jun;55(2)
- 13 Son HY, Kim YB, Kang BH, Cho SW, Ha CS, Roh JK. Effects of 2-bromopropane on spermatogenesis in the Sprague-Dawley rat. *Reprod Toxicol.* 1999 May-Jun;13(3):179-87.

- 14 Sekiguchi S, Suda M, Zhai YL, Honma T. Effects of 1-bromopropane, 2-bromopropane, and 1,2-dichloropropane on the estrous cycle and ovulation in F344 rats. *Toxicol Lett.* 2002 Jan 5;126(1):41-9.
- 15 Kang KS, Li GX, Che JH, Lee YS. Impairment of male rat reproductive function in F1 offspring from dams exposed to 2-bromopropane during gestation and lactation. *Reprod Toxicol.* 2002 Mar-Apr;16(2):151-9.
- 16 Uckun FM, Liu XP, D'Cruz OJ. Human sperm immobilizing activity of aminophenyl arsenic acid and its N-substituted quinazoline, pyrimidine, and purine derivatives: protective effect of glutathione. *Reprod Toxicol.* 2002 Jan-Feb;16(1):57-64.
- 17 Semczuk M, Semczuk-Sikora A. New data on toxic metal intoxication (Cd, Pb, and Hg in particular) and Mg status during pregnancy. *Med Sci Monit.* 2001 Mar-Apr;7(2):332-40.
- 18 Benoff S, Hurley IR, Barcia M, Mandel FS, Cooper GW, Hershlag A. A potential role for cadmium in the etiology of varicocele-associated infertility. *Fertil Steril.* 1997 Feb;67(2):336-47.
- 19 Zenzes MT, Bielecki R, Reed TE. Detection of benzo(a)pyrene diol epoxide-DNA adducts in sperm of men exposed to cigarette smoke. *Fertil Steril.* 1999 Aug;72(2):330-5.
- 20 Lymberopoulos AG, Kotsaki-Kovatsi VP, Taylor A, Papaioannou N, Brikas P. Effects of cadmium chloride administration on the macroscopic and microscopic characteristics of ejaculates from Chios ram-lambs. *Theriogenology.* 2000 Oct 15;54(7):1145-57.