

SYNDROME DE DYSGÉNÉSIE TESTICULAIRE ET ENVIRONNEMENT

René Habert*

Christophe Rousselle**

*Université Paris Diderot, CEA, INSERM, Centre CEA de Fontenay aux roses, France

**Anses, Département de l'Évaluation des Risques, Maisons-Alfort, France

Une exposition à certains perturbateurs endocriniens pendant la grossesse est soupçonnée d'être à l'origine de diverses pathologies du système reproducteur masculin regroupées sous le terme de « syndrome de dysgénésie testiculaire » (TDS). L'année 2017 a été marquée par la mise en exergue de l'importance des fenêtres d'exposition au cours de la vie fœtale. De plus, les effets TDS observés sur des animaux de laboratoire avec certains phtalates ont conduit l'Agence européenne des substances chimiques (ECHA) à proposer en 2017 de nouvelles mesures de gestion des risques de ces composés.

La toxicologie environnementale de la reproduction masculine est un champ d'investigation multidisciplinaire qui a émergé il y a une trentaine d'années. Il a permis l'évolution de nouveaux concepts comme celui de TDS.

Naissance de l'hypothèse du syndrome de dysgénésie testiculaire

Cette hypothèse résulte de l'observation d'une augmentation temporelle des troubles des fonctions de reproduction masculines au cours des dernières décennies [1, 2].

De nombreuses études ont montré une réduction temporelle qualitative et quantitative de la production spermatique humaine. Même si la diminution de la production de spermatozoïdes n'a pas été observée dans certaines études locales, les études prospectives à grande échelle, utilisant des méthodes normalisées, ont mis en évidence un déclin moyen de la concentration spermatique qui passe de 130 à 70 millions de spermatozoïdes par millilitre de sperme entre 1940 et 1990 en Europe et de 74 à 50 millions de spermatozoïdes par millilitre entre 1989 et 2005 en France.

En outre, une augmentation au cours des dernières décades de la prévalence du cancer du testicule (qui ne représente que 2 % des cancers masculins mais qui est le plus fréquent chez l'homme jeune) a systématiquement été observée dans tous les pays où les études ont été réalisées. En France la prévalence est passée de 0,2 à 0,8 % entre 1940 et 1980 et l'incidence a continué d'augmenter de 2,5 % par an entre 1980 et 2008.

Enfin, plusieurs études ont montré une augmentation temporelle de certaines malformations des organes génitaux externes à la naissance, bien que cette augmentation soit plus ou moins marquée, voire inexistante selon les régions et les périodes d'études. C'est le cas de l'hypospadias (méat urogénital situé sur la face inférieure du pénis ou du scrotum) et de la cryptorchidie (non-descente d'un ou des deux testicules dans le scrotum). Globalement, on peut estimer qu'en moyenne l'incidence de ces deux anomalies de la différenciation sexuelle *in utero* a été multipliée par deux, voire plus, au cours des 40 dernières années. L'hypospadias affecte, selon les études, de 0,3 à 0,8 % des nouveaux-nés à terme et la cryptorchidie de 2 à 7 %.

En 2001, un Danois, Niels Skakkebaek, émet l'hypothèse selon laquelle ces quatre affections (baisse du nombre de spermatozoïdes, cancer testiculaire, hypospadias et cryptorchidie) sont les manifestations d'un même syndrome, qu'il appelle le syndrome de dysgénésie testiculaire (*Testicular Dysgenesis Syndrome*) [3]. Selon cette hypothèse, le TDS résulterait d'altérations du développement du testicule pendant la vie fœtale et serait provoqué par les perturbateurs endocriniens (PE) dont la variété et les quantités produites ont considérablement augmenté au cours des dernières décennies. En effet, les quatre altérations sont statistiquement liées entre elles : l'incidence de chacune des quatre altérations est la plus forte au Danemark, la plus faible en Finlande, moyenne en France et en Ecosse. Un antécédent de cryptorchidie augmente de 3 à 17 fois selon les auteurs le risque de cancer testiculaire. Il existe également un lien entre l'hypospadias ou l'oligospermie et le risque de développer un cancer testiculaire. Enfin, la réduction de la production de testostérone pendant la vie fœtale (évaluée par la réduction de la distance anogénitale) est associée à une réduction de la production spermatique à l'âge adulte.

Importance de l'hypothèse du syndrome de dysgénésie testiculaire

L'hypothèse TDS a constitué une révolution conceptuelle dans le domaine de la toxicologie de la reproduction masculine [2]. Elle a généré plusieurs dizaines d'études épidémiologiques [4-6]. En ce qui concerne les pathologies congénitales, la plupart des études ont décrit un lien entre l'hypospadias ou la cryptorchidie et l'exposition fœtale aux PE. On peut cependant noter que l'essentiel des données n'est fondée que sur une seule mesure de l'exposition, ce qui est un biais important pour les PE à courte demi-vie. En ce qui concerne les pathologies adultes, mettre en évidence, dans la population générale, l'existence d'une corrélation entre une exposition *in utero* et un déficit reproductif plusieurs dizaines d'années plus tard est extrêmement difficile. En effet :

- l'évaluation de l'exposition fœtale chez un patient adulte est très peu fiable, voire impossible (délai de plusieurs dizaines d'années, multiexposition à de nombreux polluants qui peuvent avoir des effets cumulatifs, soustractifs ou synergiques, prise en compte de la période précise d'exposition puisqu'il existe des variations de la sensibilité aux polluants selon la période de développement fœtal (voir ci-dessous) ;
- les pathologies du TDS sont multifactorielles et dépendent également de causes génétiques, du mode de vie, de facteurs psychosociaux (stress, dépression) et physiopathologiques (obésité, infections). Malgré ces difficultés, l'équipe danoise a récemment montré que l'exposition environnementale pendant la vie fœtale était le principal facteur de risque du TDS [5]. L'importance des facteurs environnementaux a été bien montrée en particulier par des études sur des populations scandinaves. Les altérations de la reproduction masculine sont beaucoup plus fréquentes au Danemark qu'en Finlande et, parallèlement, il en est de même du taux de composés organochlorés persistants dans le placenta et le lait maternel. Un argument épidémiologique très convaincant de l'hypothèse TDS a été l'observation suivante. Les jeunes hommes danois et finlandais qui migrent en Suède conservent la prévalence du cancer testiculaire de leur pays d'origine (16 pour 100 000 au Danemark et 4 pour 100 000 en Finlande), mais leur descendance masculine, qui est née en Suède, acquiert l'incidence générale de la Suède (9 pour 100 000), quel que soit le pays d'origine de leurs parents.

L'hypothèse TDS a également suscité de nombreuses études en toxicologie expérimentale [7-9]. Des centaines de publications ont très majoritairement rapporté que l'exposition pendant la vie fœtale et/ou néonatale à des PE à activité antiandrogénique ou œstrogénomimétique induit effectivement un ou plusieurs troubles composant le TDS. Les expérimentations ont été réalisées chez le rat principalement, mais également chez d'autres espèces. Cependant, il est important de noter que ce protocole n'a jamais permis d'induire le cancer testiculaire. La création d'un modèle expérimental d'induction du cancer testiculaire par une exposition fœtale aux PE serait d'un intérêt majeur pour valider définitivement l'hypothèse d'une causalité environnementale fœtale du TDS.

Importance de la précision de la fenêtre d'exposition pour valider l'hypothèse du syndrome de dysgénésie testiculaire

L'article de van den Driesche *et al.*, publié en 2017, renforce et précise l'hypothèse TDS [10]. Dans cet article, les équipes de Sharpe et Skakkebaek étudient la fenêtre de sensibilité à une forte dose de dibutyl-phtalate ou DBP (750 mg/kg/j). Ils comparent les effets d'un gavage de rates gestantes entre deux périodes : 15,5 à 18,5 jours post-conception (jpc) d'une part et 19,5 à 21,5 jpc d'autre part. Il y a presque 10 ans, l'équipe de Sharpe avait montré qu'une diminution de la synthèse (par le DBP) ou de l'action (par la flutamide) de la testostérone fœtale induisait des défauts de masculinisation à la naissance si le traitement avait lieu entre 15,5 et 18,5 jpc, alors qu'un traitement ultérieur n'induit qu'une simple diminution de leur taille [11]. Or, on sait que chez le rat, la masculinisation des organes reproducteurs ne commence qu'à partir de 18,5 jpc. La période critique 15,5-18,5 jpc est donc une période de programmation à la sensibilité ultérieure aux androgènes et elle a été appelée la *Masculinization Programming Window* (MPW).

Dans ce nouvel article de van de Driesche [10], les auteurs confirment que les effets antimasculinisants congénitaux d'une exposition au DBP (cryptorchidie, réduction de la distance anogénitale, taille du pénis) ne s'observent qu'après une exposition pendant la MPW, et non après une exposition plus tardive. Mais, surtout, cet article s'intéresse aux conséquences à l'âge adulte du traitement fœtal. La distance anogénitale adulte est réduite seulement chez les animaux exposés pendant la MPW. L'hypospadias et la cryptorchidie sont d'autant plus sévères que la distance anogénitale est plus courte. De plus, le poids du testicule, la longueur du pénis et le poids de la prostate sont également positivement corrélés avec la distance ano-génitale. Tout ceci confirme que, à l'âge adulte, la distance anogénitale est un indicateur de l'action des androgènes fœtaux [12]. Une publication de cette année a d'ailleurs montré qu'une distance anogénitale réduite chez le garçon à l'âge de 3 mois restait réduite à l'âge de 18 mois [13].

Van den Driesche *et al.* [10] rapportent également que le ratio testostérone/LH plasmatiques est diminué chez les animaux exposés pendant la MPW mais pas chez les animaux exposés plus tardivement. Sachant que les cellules de Leydig adultes sont une population différente des cellules de Leydig fœtales et qu'elles ne se différencient qu'à la puberté, cette observation montre que les précurseurs des cellules de Leydig adultes sont sensibles au DBP seulement pendant la MWP.

La donnée la plus novatrice de cet article est la suivante : c'est seulement dans le groupe d'animaux traités pendant la MWP que l'on observe des tubes séminifères dysgénésiques, ou présentant une spermatogenèse incomplète ou inexistante (*syndrome Cell Sertoli Only*). Notons que la surface cumulative des dysgénésies séminifères dans un testicule est négativement corrélée avec la distance anogénitale. Or, ces images des altérations histologiques des testicules de rats adultes exposés pendant la MPW sont comparables à celles observées chez les jeunes hommes atteints d'une néoplasie *in situ* des cellules germinales, c'est-à-dire d'un cancer préinvasif des cellules germinales. Ainsi, cet article apporte, pour la première fois, un modèle expérimental allant dans le sens d'une induction du cancer testiculaire humain par les PE.

L'article de Lara *et al.* [14], paru également en 2017, précise l'ontogenèse des régions dysgénésiques testiculaires qui ne s'observent, ici encore, qu'après exposition pendant la MPW au DBP. Les auteurs observent la présence de cellules de Sertoli et de cellules germinales à l'extérieur des cordons séminifères parallèlement avec une diminution de l'expression des marqueurs fonctionnels des cellules périvitubulaires. Ils émettent l'hypothèse d'une action négative du DBP sur les cellules périvitubulaires qui serait donc postérieure à la formation des cordons séminifères.

La Figure 1 schématise le mécanisme d'action mise en jeu dans le TDS incorporant les nouvelles données de 2017.

Ces deux nouveaux articles [10, 14] confortent et approfondissent le concept TDS. On peut cependant noter qu'ils s'appuient sur le choix d'un phtalate comme PE. Cependant, les mécanismes d'action des phtalates sont probablement partiellement différents chez le rat et chez l'homme. En effet, alors que l'effet antiandrogénique des phtalates sur le testicule est une donnée parfaitement solide chez le rat, toutes les études expérimentales sont concordantes aujourd'hui pour démontrer une absence d'effet antiandrogénique sur le testicule fœtal humain, aussi bien pendant la période corres-

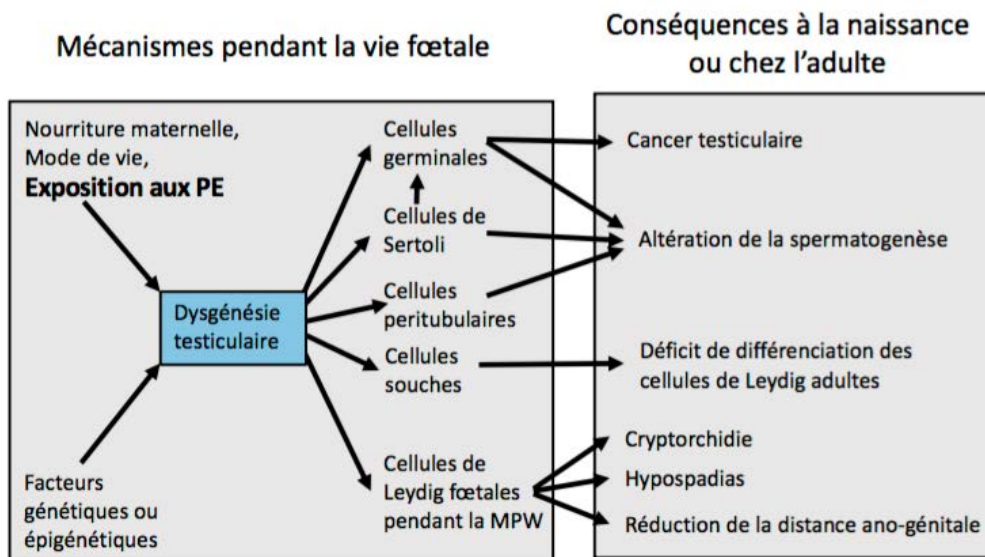


Figure 1. Des facteurs environnementaux (dont en particulier les PE) ainsi que, pour une faible part, des facteurs génétiques ou épigénétiques modifient la différenciation et la prolifération de tous les types cellulaires du testicule fœtal. Les actions les plus étudiées sont celles qui portent sur les cellules de Sertoli et les cellules de Leydig fœtales. De plus, les interactions de type paracrine entre les différents types cellulaires (non représentées sur le schéma) ont également une grande importance, en particulier les cellules germinales fœtales expriment le récepteur des androgènes [15]).

pondante à la MPW que plus tardivement [16]. En revanche, chez le rat, comme chez l’homme, les phtalates altèrent le développement des cellules germinales. Il en est de même chez la souris, dont les phtalates stimulent la production de testostérone et altèrent le développement germinal. Ceci soulève évidemment la question de la pertinence d’utiliser la mesure de l’effet antiandrogénique chez le rat pour évaluer, par extrapolation, le risque des phtalates en toxicologie réglementaire humaine.

Mais ces nouveaux articles de 2017 renforcent la tendance actuelle des recherches fondamentales à s’intéresser de plus en plus aux effets des PE sur le développement des cellules germinales, lesquels sont beaucoup moins dépendants de l’espèce que leurs effets sur la fonction endocrine testiculaire [16]. Cette tendance est prometteuse d’une meilleure évaluation du risque.

Une gestion des risques visant à prévenir le syndrome de dysgénésie testiculaire

En 2017, les comités d’évaluation des risques (Risk Assessment Committee [RAC]) et d’analyse socioéconomique (Socio Economic Analysis Committee [SEAC]) de l’Agence européenne des substances chimiques (ECHA) ont adopté un avis concernant la restriction de 4 phtalates dans des articles. Cet avis s’appuie sur un rapport conjoint de l’ECHA et des autorités danoises qui ont proposé de limiter à 0,1 % les DEHP (di(2-ethylhexyl)-phtalate), DBP, BBP (butylbenzyl-phtalate) et DiBP (di-iso-butyl-phtalate) dans tous les articles mis sur le marché en Europe afin de limiter leurs effets sur la santé. Étaient particulièrement visés dans ce rapport les risques de malformations pour les enfants comme celles que l’on peut observer chez les rongeurs dans le TDS. Les états-membres ont ainsi identifié en juillet 2017 ces 4 phtalates comme des substances très préoccupantes (*Substance of Very High Concern [SVHC]*) en raison de leurs propriétés de perturbation endocrinienne. Les effets suspectés chez l’homme, médiés par une activité antiandrogénique pris en compte pour justifier la restriction, sont : les malformations congénitales du système reproducteur masculin, une baisse de la qualité du sperme, une baisse des hormones males et des modifications de l’âge de la puberté. Ces effets auraient une origine commune

liée à une exposition aux phtalates pendant la vie fœtale. Le RAC souligne toutefois que les études épidémiologiques ne permettent pas, en raison de nombreuses incertitudes, de confirmer un lien de causalité. La part attribuable aux phtalates dans ces pathologies est donc difficile à quantifier. L'exposition interne a été estimée à partir des données d'imprégnation à ces 4 phtalates issues de l'étude Democophes. Sur la base du 95^e percentile d'exposition interne, des dépassements des valeurs toxicologiques de référence ont été mis en évidence dans 93 % des pays membres de l'Union européenne. En 2014, 5 % des garçons nouveau-nés (soit 130 000 garçons) au sein de l'Europe des 28 étaient donc à risque en raison d'une exposition *in utero* trop élevée à ces 4 phtalates et 15 % (soit 400 000) en raison d'une exposition directe post-natale.

Une proposition de classification du DinP (di-iso-nonyl-phtalate, CAS n° 28553-12-0 et 68515-48-0) comme substance reprotoxique de catégorie 1B en raison de ses effets sur le développement et de catégorie 2 en raison de ses effets sur la fertilité (H360Df) faite par le Danemark a été publiée par l'ECHA en avril 2017 pour consultation publique. Cette proposition est en cours de discussion au niveau européen. Elle fait suite à la classification récente du DCHP (di-cyclo-hexyl-phtalate, CAS n°84-61-7) publiée en juin 2017 dans la 9^e Adaptation to Technical Progress (ATP). Enfin, en 2016, la France a soumis par l'intermédiaire de l'Anses une proposition de classification du DiOP (di-iso-octyl-phtalate, CAS n°27554-26-3) comme substance reprotoxique de catégorie 1B pour ses effets sur le développement et la fertilité. Cette proposition a été publiée par l'ECHA pour consultation publique entre mars et avril 2017 et la proposition de l'Anses, les commentaires et leurs réponses, devront être évalués par le RAC, qui rendra son avis final au plus tard le 30 août 2018.

Les données disponibles montrent que le DiOP induit des effets néfastes lors du développement embryonnaire des rongeurs, en particulier sur le système reproducteur mâle des petits. Ces effets sont également observés avec d'autres phtalates à chaînes moyennes tels que le DEHP.

Ces mesures de gestion sont justifiées par les risques identifiés surtout à partir d'études chez les rongeurs. Les travaux en cours visant à montrer la pertinence de ces effets chez l'homme pourront conduire à mieux proportionner la gestion de ces risques.

Liens d'intérêt en rapport avec le texte publié : **aucun**

Références

1. Rolland M, Le Moal J, Wagner V, Royere D, de Mouzon J. Decline in semen concentration and morphology in a sample of 26 609 men close to general population between 1989 and 2005 in France. *Human Reprod* 2013 ; 28 : 462-70.
2. Habert R, Livera G, Rouiller-Fabre V. Toxicologie de la Reproduction. In : Saint-Dizier M &, Chastant S eds. *La Reproduction animale et humaine*. Paris : Editions Quae, 2014 : 507-31.
3. Skakkebaek NE, Rajpert-De Meyts E, Main KM. Testicular dysgenesis syndrome : an increasingly common developmental disorder with environmental aspects. *Human Reprod* 2001 ; 16 : 972-8.
4. Main KM, Skakkebaek NE, Virtanen HE, Toppari J. Genital anomalies in boys and the environment. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2010 ; 24 : 279-89.
5. Skakkebaek NE, Rajpert-De Meyts E, Buck Louis GM, Toppari J, Andersson A-M, et al. Male reproductive disorders and fertility trends : influences of environment and genetic susceptibility. *Physiol Rev* 2016 ; 96 : 55-97.
6. Xing JS, Bai ZM. Is testicular dysgenesis syndrome a genetic, endocrine, or environmental disease, or an unexplained reproductive disorder? *Life Sci* 2017 ; S0024-3205 : 30616-1.
7. Delbès G, Levacher C, Habert R. Estrogen effects on fetal and neonatal testicular development. *Reproduction* 2006 ; 132 : 527-38.
8. Scott HM, Mason JI, Sharpe RM. Steroidogenesis in the fetal testis and its susceptibility to disruption by exogenous compounds. *Endocr Rev* 2009 ; 30 : 883-925.

9. Rouiller-Fabre V, Guerquin MJ, N'Tumba-Byn T, Muczynski V, Moison D, Tourpin S, *et al.* Nuclear receptors and endocrine disruptors in fetal and neonatal testes : a gapped landscape. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2015 ; 6 : 1-13.
10. van den Driesche S, Kilcoyne KR, Wagner I, Rebourcet D, Boyle A, Mitchell R, *et al.* Experimentally induced testicular dysgenesis syndrome originates in the masculinization programming window. *JCI Insight* 2017 ; 2 : e91204.
11. Macleod DJ, Sharpe RM, Welsh M, Fisker M, Scott HM, Hutchison GR, *et al.* Androgen action in the masculinization programming window and development of male reproductive organs. *Int J Androl* 2010 ; 33 : 279-87.
12. Thankamony A, Pasterski V, Ong KK, Acerini CL, Hughes IA. Anogenital distance as a marker of androgen exposure in humans. *Andrology* 2016 ; 4 : 616-25.
13. Priskorn L, Petersen JH, Jørgensen N, Kyhl HB, Andersen MS, Main KM, *et al.* Anogenital distance as a phenotypic signature through infancy. *Pediatr Res* 2017.
14. Lara NLM, Driesche SVD, Macpherson S, França LR, Sharpe RM. Dibutyl phthalate induced testicular dysgenesis originates after seminiferous cord formation in rats. *Sci Rep* 2017 ; 7 : 2521 : 1-13.
15. Merlet J, Racine C, Moreau E, Moreno SG, Habert R. Male fetal germ cells are targets for androgens that physiologically inhibit their proliferation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007 ; 104 : 3615-20.
16. Habert R, Muczynski V, Grisin T, Moison D, Messiaen S, Frydman R, *et al.* Concerns about the widespread use of rodent models for human risk assessments of endocrine disruptors. *Reproduction* 2014 ; 147 : R119-29.

Pour en savoir plus

Rapport de l'ECHA et des autorités danoises

<https://echa.europa.eu/fr/previous-consultations-on-restriction-proposals/-/substance-rev/13919/term>

Étude Democophes

<http://www.eu-hbm.info/democophes>