

*Thèse soutenue le 9 novembre 2006*

## **Sensibilité de la fonction de reproduction aux atteintes des perturbateurs endocriniens : utilisation du modèle souris aromatase knockout (ArKO)**

**Catherine BRULEZ**

Directeurs de thèse : Hervé GOUDONNET, Dijon

Correspondant INERIS : Emmanuel LEMAZURIER, Direction des Risques Chroniques

Au cours de ces 20 dernières années, les inquiétudes quant aux risques, avérés ou potentiels, de l'exposition à un nombre croissant de produits perturbateurs de la fonction endocrinienne sur l'environnement ou sur la santé, se sont accrues. Des études épidémiologiques menées dans différents pays établissent une diminution de la fertilité, une augmentation de l'incidence de cancers hormono-dépendants et de malformations du tractus reproducteur, aussi bien mâle que femelle. L'hypothèse selon laquelle l'exposition à ce type de produits pourrait être responsable de ces effets néfastes observés sur le développement de la fonction reproductrice à des stades précoces de la vie et son fonctionnement à l'âge adulte retient l'attention d'un nombre croissant de scientifiques impliqués dans ce vaste champs d'investigation que représentent les perturbateurs endocriniens.

Les gonades, testicules et ovaires, sont les organes clés de la fonction de reproduction mâle et femelle. Ils représentent une cible vulnérable pour ces perturbateurs de la fonction endocrinienne. Les hormones sexuelles endogènes sont les facteurs les plus importants garantissant l'homéostasie et le fonctionnement optimal de la fonction sexuelle mâle et femelle. Aussi, les substances environnementales présentant la capacité de mimer ou antagoniser les hormones naturelles attirent l'attention de la communauté scientifique, désireuse d'établir un lien entre l'exposition à de tels composés et l'apparition des effets délétères observés.

Depuis plusieurs années, des tests se sont développés en vue de comprendre le mode d'action de ces molécules aussi bien *in vivo* qu'*in vitro*. Certaines études *in vivo*, bien qu'obsolètes, sont toujours utilisées. Les progrès nés de la science ont orienté le développement de nouvelles techniques vers des expérimentations *in vitro* présentant la capacité de discriminer ces molécules dans des catégories propres à leur fonctionnement, estrogénique/anti-oestrogénique ou androgénique/anti-androgénique. L'importance de l'impact de ces perturbateurs endocriniens a vu naître la création de comités scientifiques ayant pour mission d'évaluer, de standardiser et valider ces techniques. Cependant, à ce jour, des tests mis au point ces dernières décennies sont toujours en cours de validation et nombreux tests *in vitro* sont discutés quant à leur manque de discernement en comparaison aux tests *in vivo*. De plus, parallèlement, de nouvelles technologies émergent et apportent des

outils fiables et puissants dont le rôle dans le cadre des perturbateurs endocriniens ne peut être ignoré.

L'objectif de ce travail a donc été d'identifier *in vivo*, des marqueurs clés de la fonction de reproduction mâle et femelle aussi bien en période de différenciation et de détermination sexuelle, à des stades précoces du développement, qu'à l'âge adulte, au sein des modèles souris sauvage et ArKO. Le but était d'identifier les différences de sensibilité de ces modèles envers les perturbateurs de la fonction endocrinienne permettant ainsi de développer et proposer un nouvel outil de criblage de ces molécules dans lequel toutes les voies métaboliques sont exploitables.

Alors qu'une altération de la fonction reproductrice est observée chez les mammifères suite à une exposition *in utero* à des perturbateurs de la fonction endocrinienne, les données issues de la littérature ne relatent pas les relations éventuelles entre ces contaminants environnementaux et les gènes *sox9* et *amh* responsables de l'engagement dans l'une ou l'autre des voies de la différenciation sexuelle. C'est donc dans le but de mettre en évidence un lien entre ces gènes et des molécules perturbatrices de la fonction endocrinienne que nous avons conduit la première partie de nos expérimentations. Nos travaux ont été réalisés à la fois chez des souris sauvages et des souris déficientes en oestrogènes endogènes (ArKO), afin d'étudier l'impact de tels composés en fonction de la différence de sensibilité.

De plus, les données relatant de l'exposition à ces composés à l'âge adulte sont peu nombreuses et très divergentes quant à leur impact au niveau du profil de gènes susceptibles d'être modulés. Nous avons donc dans un second temps conduit des expérimentations visant à élucider la relation entre deux composés à activité oestrogénique (le méthoxychlore) et anti-androgénique (la vinclozoline) et des gènes de la stéroïdogénèse (AR, ER $\alpha$ , ER $\beta$ , PR), toujours en fonction du statut hormonal de nos modèles souris sauvages et souris ArKO.