

DES
(Distilbène - Stilboestrol)

Trois générations :
réalités - perspectives



Sous la direction
d'Anne Levadou et du Pr Michel Tournaire

Editeur
Réseau D.E.S. France
Centre administratif
1052 rue de de la Ferme de Carboué
40000 MONT DE MARSAN
Site internet : www.des-france.org
© Réseau D.E.S. France 2010

Avec le soutien du Ministère de la Santé et des Sports

LISTE DES AUTEURS

Dr Anne CASTOT

Chef du Service de l'évaluation, de la surveillance du risque et de l'information sur le médicament à l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSAPS), Saint-Denis

Dr Jean-Marie COHEN

Gérant et Directeur Scientifique d'OPEN ROME (Réseaux d'Observation des Maladies et des Epidémies), Paris

Dr Sylvie EPELBOIN

Praticien hospitalier en gynécologie-obstétrique et médecine de la reproduction
Co-responsable du Centre d'Assistance Médicale à la Procréation de la maternité de l'Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris

Pr Patrick FENICHEL

Professeur d'endocrinologie et médecine de la Reproduction, INSERM U895
Chef de Service au Centre Hospitalier Universitaire, Nice

Dr Christine HAIE MEDER

Oncologue Radiothérapeute
Chef de service de curiethérapie à l'Institut Gustave Roussy, Villejuif

Mme Anne LEVADOU

Présidente de Réseau D.E.S. France

Mme Barbara MINTZES

DES Action Canada,
Therapeutics Initiative, Université de Colombie Britannique

M. Laurent NEYRET

Maître de conférences en droit - Directeur du Master 2 « droit de la santé »
Université de Versailles St Quentin

Pr Christian QUEREUX

Professeur de gynécologie obstétrique, Centre Hospitalier Universitaire, Reims

Dr Jean-Marc RIGOT

Andrologue - Chef du service d'Andrologie du Centre Hospitalier Régional
Universitaire, Lille

M. Jean-Pierre SUEUR

Sénateur du Loiret, Vice-président de la Commission des Lois du Sénat, ancien ministre

Pr Michel TOURNAIRE

Professeur de gynécologie obstétrique, ancien chef de service à l'hôpital Saint-Vincent de Paul – Paris

TABLE DES MATIÈRES

Le Distilbène (DES) : une histoire exemplaire

Le DES : une histoire exemplaire. L'expérience française	11
Anne LEVADOU (Reseau D.E.S. France)	
« Nous n'avons pas eu de problème ici »	
L'expérience internationale du DES	21
Barbara MINTZES (DES Action Canada)	

Conséquences du DES et prises en charge

« Filles DES » (2^e génération)

Retentissement sur la fertilité féminine.	
De l'exposition au Distilbène® <i>in utero</i>	47
Sylvie EPELBOIN (Hôpital Bichat - Paris)	
Surveillance des grossesses chez les femmes exposées au DES <i>in utero</i>	81
Michel TOURNAIRE (Paris)	
Traitements médicaux et chirurgicaux	97
Aurélien BINET, Christian QUÉREUX (CHRU - Reims)	

« Fils DES » (2^e génération)

"Fils DES" (2 ^e génération) : anomalies, fertilité	119
Jean-Marc RIGOT (CHRU Lille)	

Questions actuelles

Filles et garçons de la 3 ^e génération. Influence de l'exposition intra-utérine au DES (Distilbène®) sur la descendance des femmes exposées	127
Sylvie EPELBOIN (Hôpital Bichat - Paris)	
Cancer et DES : 3 générations	143
Michel TOURNAIRE (Paris), Christine HAIE MEDER (IGR - Villejuif)	
Contribution de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSAPS) au dossier diéthylstilbestrol (DES)	161
Anne CASTOT, Marie-Laure VEYRIES (AFSSAPS - Paris)	
L'affaire du DES, moteur d'évolution du droit	167
Laurent NEYRET (Paris)	

Leçons/Avenir - le point de vue...

DES : dix leçons pour la santé publique	181
Jean-Marie COHEN (Paris)	
Une bataille de plus de cinq ans pour obtenir l'application de la loi.	
Le point de vue d'un Sénateur	191
Jean-Pierre SUEUR (Loiret)	
L'exposition au distilbène : une expérimentation humaine involontaire riche en enseignements	201
Patrick FENICHEL (CHU - Nice)	

Filles et garçons de la 3^e génération Influence de l'exposition intra-utérine au DES (Distilbène®) sur la descendance des femmes exposées

Dr Sylvie EPELBOIN

Praticien hospitalier en gynécologie-obstétrique et médecine de la reproduction
Co-responsable du Centre d'Assistance Médicale à la Procréation
de la maternité de l'Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris

Les interrogations sur des effets à long terme sur leurs enfants représentent une inquiétude majeure chez les adultes exposés *in utero*.

I. CONTEXTE

Le DES (diéthylstilbestrol : Distilbène® et Stilboestrol-Borne®) est un composé œstrogénique de synthèse prescrit à tort dans les années 1950 à 1980 à des femmes ayant des grossesses à risque, mais bien souvent aussi de façon préventive, sans indication avérée. On estime que dans le monde, le DES a été prescrit à plusieurs millions de femmes enceintes (génération 1) exposant leur enfant (génération 2) durant la vie intra-utérine. En France, le composé a été prescrit à environ 200 000 femmes entre les années 1950 et 1977, faisant de la France un des pays où le nombre « d'enfants DES » est le plus important, après les USA (vraisemblablement plus de 4 millions de grossesses traitées) et les Pays-Bas (220 000 femmes traitées), et où la contre-indication du DES chez la

femme enceinte a été la plus tardive, postérieure de 6 ans à celle ayant été édictée aux USA [1].

Les effets délétères du DES sur la santé de l'enfant exposé *in utero* (génération 2) ont été, au fil du temps, précisément caractérisés, notamment pour ce qui concerne les filles. Les effets les plus fréquents sont les troubles de la fertilité et les issues de grossesse défavorables (*se reporter aux chapitres concernant l'infertilité et les pathologies gravidiques des femmes exposées*) : les femmes exposées *in utero* ont, selon les études, par rapport aux femmes non exposées, un risque multiplié par 2 à 5 de fausses couches spontanées précoces et tardives, de grossesses extra-utérines. De même en est-il des complications tardives de la grossesse, dominées par la prématurité. En ce qui concerne les garçons exposés *in utero*, une augmentation du risque de survenue d'anomalies urogénitales, d'infertilité ou de cancer du testicule a été décrite (*se reporter au chapitre concernant les conséquences du DES sur les garçons exposés*).

En revanche, les effets sur la descendance (génération 3) des sujets exposés *in utero*, c'est-à-dire deux générations après celle de la femme traitée par DES, ont été moins étudiés. Ces effets peuvent être de deux ordres : il peut tout d'abord s'agir de conséquences des troubles de la fertilité d'un des parents ou des pathologies obstétricales de la mère (génération 2) ; il peut s'agir également d'effets propres induits par le DES à distance sur les générations suivantes. Nous envisagerons successivement ces deux problématiques.

II. EFFETS SUR LA DESCENDANCE DES FEMMES EXPOSÉES

1. DES et conséquences des pathologies de la grossesse de la mère exposée

a. Pathologies imputables aux complications obstétricales

Les premières conséquences de l'exposition maternelle au DES se manifestent par l'augmentation des complications obstétricales constamment décrites dans l'ensemble des études (*voir texte « grossesses »*). Ainsi, les enfants de la génération 3 sont-ils plus fréquemment exposés aux complications d'une rupture précoce des membranes

amniotiques, de la prématurité, du retard de croissance intra-utérin. Nous ne détaillerons pas ici les conséquences bien connues de ces accidents, eux-mêmes générateurs d'hospitalisations néonatales, et, dans les cas sévères, de handicap psychomoteur de l'enfant.

b. Les conséquences du contexte d'infertilité

Le risque d'infertilité est multiplié par deux chez les femmes exposées, en particulier du fait de problèmes utérins ou tubaires (*voir les références bibliographiques du chapitre sur la fertilité des femmes*). Ceci implique vraisemblablement une probabilité accrue de recours à l'Assistance Médicale à la Procréation (AMP) chez les « filles DES ».

Or, de nombreuses études de cohorte indiquent que les enfants issus de l'AMP, y compris d'une grossesse unique, présentent des taux de prématurité et de retard de croissance intra-utérin significativement plus élevés que ceux de populations-témoins d'enfants conçus naturellement. Parmi les facteurs pris en compte figurent l'âge maternel et paternel plus avancés dans un contexte d'infertilité et d'échecs de gestation antérieurs, l'effet propre des médicaments inducteurs de l'ovulation, les techniques d'AMP (Schieve, 2004, Helmerhorst, 2004, Kallen, 2004) [1-3].

Pour les femmes exposées au DES, l'hypothèse de l'influence de l'infertilité maternelle (génération 2) se combine à celle de l'infertilité ou des troubles de la reproduction de la génération 1 (grand-mères traitées).

2. Action du DES sur la troisième génération : malformations et anomalies congénitales

Des expérimentations chez la souris suggèrent la participation de modifications épigénétiques concernant la génération 2 par altération de l'expression de gènes causée par l'imprégnation hormonale excessive à des moments clés du développement embryonnaire (Newbold 2000, 2006, Mac Lachlan 2001), [4-6]. Les modifications épigénétiques causées par le DES pourraient être transmises à la descendance de ces souris exposées. L'expérimentation animale a montré une augmentation de tumeurs bénignes ou malignes, particulièrement utérines et ovariennes dans la troisième génération. La possibilité que des altérations épigénétiques puissent être transmissibles d'une génération à l'autre dans l'espèce humaine ouvre la réflexion sur les implications profondes de l'impact d'exposition *in utero* à des substances chimiques, incluant

les perturbateurs endocriniens [7]. La transposition des données expérimentales animales à l'homme est restée jusqu'à peu une hypothèse réfutable car non démontrée.

Aucune donnée n'est publiée sur la descendance des hommes exposés *in utero*, pour la simple raison que la population qu'ils forment est partout ignorée ou incomplètement identifiée. Les travaux sur la descendance des souris mâles exposés ne peuvent donc être ni infirmés, ni confirmés dans la population humaine.

Le questionnement sur les conséquences chez les garçons et filles nés de mères exposées est de deux ordres, celui de l'augmentation de certaines malformations, et celui d'une augmentation de fréquence dans la survenue de cancers. Nous envisagerons successivement ces deux volets à partir de la littérature médicale récente.

Les travaux les plus fournis et les plus ouverts sur l'avenir concernent la population américaine exposée au DES, puisqu'en 1992 le US National Cancer Institute -Institut National Américain du Cancer (NCI)- a institué le « DES Follow-Up Study », qui constitue une cohorte cas-témoins des effets du DES sur la santé des sujets traités et exposés. Nous choisissons cependant ici de présenter les travaux sur les malformations touchant la troisième génération par ordre chronologique, les deux articles majeurs de l'équipe de Linda Titus-Ernstoff sur la cohorte américaine étant postérieurs -2008 et 2010- [7, 8] à d'autres précédemment publiés, notamment sur la survenue d'hypospadias.

a. L'hypospadias

Dans les dernières années, la question de l'effet de l'exposition intra-utérine au DES sur la survenue d'hypospadias, une malformation congénitale de la verge correspondant à une anomalie de fermeture de l'urètre, dans la descendance masculine de la femme exposée *in utero*, a été posée. L'hypospadias peut se manifester sous plusieurs formes, de bénignes à très sévères, sa pathogénie relève de nombreuses hypothèses, dont celle de l'action des perturbateurs endocriniens.

Dans les études que nous allons ci-dessous envisager, l'objectif est de déterminer la différence de risque (mesuré en pourcentage de la population étudiée) d'avoir une pathologie chez les enfants des femmes exposées (risque RA) et chez la population témoin (risque RB). Le **risque relatif (RR)** est une mesure statistique souvent utilisée en épidémiologie,

mesurant le risque de survenue d'un événement entre deux groupes (A et B). Le risque relatif est défini comme le rapport entre RA et RB. L'Odds Ratio (OR) est une mesure statistique proche qui se définit comme le rapport des chances qu'un événement arrivant à un groupe de personnes A arrive également à un autre groupe.

Une première étude parmi des femmes consultant dans des centres hollandais de Procréation Médicalement Assistée (cohorte Omega) a indiqué un risque relatif pour l'hypospadias de 21,3 chez les enfants de femmes exposées *in utero* au DES, en comparaison aux femmes non exposées [9]. Cette première publication a été suivie par 5 autres études [10-13], dont les résultats sont résumés ci-dessous.

a.1. La cohorte hollandaise Omega était constituée de femmes consultant pour Fécondation *In Vitro* (FIV), dans 12 centres participants entre 1980 et 1995. Cette cohorte a été initialement constituée pour caractériser les effets à long terme de la stimulation hormonale dans le cadre de FIV [9]. Les femmes avaient décrit par questionnaire leur vie reproductive, et indiqué pour chaque enfant, l'existence de troubles importants. L'étude des effets du DES constitue donc une analyse secondaire de l'étude ; il n'y avait pas de question spécifique sur la survenue d'hypospadias, mais lorsque la femme déclarait qu'un de ses enfants avait été atteint d'hypospadias, un questionnaire spécifique détaillé lui était adressé. L'information sur l'exposition *in utero* de la femme au DES a été recueillie à partir d'une unique question posée à la femme après la naissance de son ou ses enfants. De plus, la population spécifique de cette étude ne permet pas de généraliser les conclusions à l'ensemble de la descendance des « filles DES » fertiles.

a.2. Une étude regroupant 4 cohortes de femmes américaines [10] a indiqué un odds-ratio pour l'hypospadias de 1,7, nettement plus faible que pour l'étude hollandaise, mais compatible avec un excès de risque. L'intérêt de l'étude était que l'information sur le DES avait été recueillie auprès de la mère de la femme exposée *in utero*. En revanche, l'information sur l'hypospadias était recueillie par questionnaire en 1997, donc avec un recul pouvant atteindre plusieurs dizaines d'années, à partir d'une question ouverte : « *Est-ce qu'un de vos enfants est né avec une anomalie congénitale ?* ». Les 4 cohortes constituaient, de plus, un ensemble hétérogène. Le taux de participation était de 80 %.

a.3. Une cohorte française réalisée à partir de femmes ayant accouché à la maternité parisienne de Port-Royal entre 1993 et 2002 [11] a indiqué un odds-ratio de survenue d'hypospadias de 5. Cette cohorte reposait sur l'ensemble des garçons nés à Port-Royal dans la période d'étude, le recueil de l'information sur l'exposition de la mère au DES *in utero* étant réalisé lors de la grossesse de celle-ci, avant la naissance de l'enfant. La présence d'hypospadias avait été mesurée de façon prospective à la naissance de l'enfant, et enregistrée dans le dossier pédiatrique.

a.4. La quatrième étude (cas-témoins) a été réalisée aux Pays-Bas [12]. Les cas d'hypospadias avaient été identifiés à partir du système d'information d'un hôpital. Les témoins avaient été recrutés par les parents des enfants concernés, à qui il avait été demandé de distribuer des questionnaires aux parents d'un enfant du même âge que leur fils. L'information sur l'exposition au DES était recueillie par questionnaire auprès de la mère après la naissance. L'analyse des résultats a abouti à un odds-ratio d'hypospadias associé à la prise de DES de 2,3 quand l'analyse était réalisée parmi l'ensemble des 583 cas et 251 témoins ; l'odds-ratio était deux fois plus élevé quand la comparaison était restreinte aux 232 cas dont le témoin apparié avait accepté de participer, et aux 232 témoins correspondants [4, 9].

a.5. Une étude réalisée en 2002 à la maternité de Saint-Vincent de Paul, spécialisée dans la prise en charge des « filles DES », a concerné les naissances de la période 1996-2002. Ses résultats sont colligés dans la thèse de Bauman [13]. La prévalence de l'hypospadias était de 3 pour 1 000 naissances mâles chez les enfants des 7 887 femmes non exposées *in utero* au DES, et de 17 pour 1 000 parmi les 237 naissances mâles survenues chez les femmes exposées, soit un risque relatif de l'ordre de 5. Une étude élargie, soutenue par L'AFSSAPS, est actuellement en cours. Elle prend en compte sur 12 ans (1996-2008) plus de 1 000 naissances de « petits-enfants DES », et a pour but de relever l'ensemble des malformations et pathologies néonatales dans les deux sexes.

Ces publications forment un ensemble relativement hétérogène du point de vue méthodologique. L'information sur l'exposition au DES était recueillie rétrospectivement auprès de la femme exposée *in utero*, après la naissance du garçon pour les deux études hollandaises, et prospectivement pour une partie de l'étude américaine de Palmer [12], ainsi que dans les dossiers obstétricaux des maternités Port-Royal et

Saint-Vincent [13, 14]. L'information sur la survenue d'hypospadias était recueillie par questionnaire rétrospectif souvent peu spécifique, posé à la mère, à l'exception de l'étude réalisée à Port-Royal, de celle de Saint-Vincent, et de l'étude cas-témoins hollandaise dans lesquelles l'information était recueillie prospectivement lors de l'examen pédiatrique suivant la naissance.

Si l'augmentation de fréquence de l'hypospadias est retrouvée dans les différentes études, elle l'est à des degrés divers. Le rôle exact de l'exposition maternelle au DES reste à être mieux défini, dans un contexte où de nombreux travaux récents signalent par ailleurs une augmentation de sa fréquence au fil du temps dans la population générale, et où d'autres contextes pathologiques ou facteurs hormonaux sont pointés dans l'environnement de la conception [14]. Ainsi dans la population de parents infertiles, notamment après AMP, et surtout dans les cas d'infertilité masculine, les techniques et les traitements hormonaux (essentiellement progestatifs) prescrits après conception assistée sont-ils mis en question ; or les études sur les cohortes d'enfants nés de mère exposée au DES précisent de façon inconstante le recours à l'AMP.

Enfin, sur un plan pratique, il n'existe pas de suivi de cohorte d'enfants nés de mère exposée au DES présentant un hypospadias à la naissance, ce qui laisse floue l'appréciation du degré des malformations et de leur impact sur la vie de l'enfant au fil de son développement vers l'âge adulte.

b. Anomalies congénitales des organes reproducteurs féminins

Divers travaux successifs chez la souris [15, 4] ont fait état d'une fréquence accrue d'adénocarcinome de l'utérus et du col dans la génération 3 (née de souris exposées au DES pendant la gestation), soulevant la question du développement d'anomalies génitales trans-générationnelles.

Cette question n'a été spécifiquement abordée, à notre connaissance, chez l'humain, que dans une étude publiée par Kaufman en 2002 auprès d'une petite série de 28 filles nées de femmes exposées *in utero* [16]. À la suite de leurs mères exposées, recrutées entre 1974 et 1980 pour participer au suivi du projet National Diethylstilbestrol Adenosis (DESAD) initié en 1974 par le National Institute of Cancer aux USA, et vivant encore au Texas, les filles de la génération 3 de plus de 16 ans ont été contactées en 1997. Les mères et leurs filles étaient invitées à répondre à

un questionnaire identique, et faisaient alors l'objet d'un examen gynécologique détaillé par le même gynécologue (comprenant une colposcopie). Tandis que 61 % des mères présentaient des anomalies génitales attribuées à l'exposition au DES, cela n'était le cas d'aucune des filles pour aucune de ces anomalies.

Cette conclusion, qui va dans le sens de la non-concordance entre les données animales alarmantes et les données humaines, est rassurante dans la mesure de la petitesse de la cohorte étudiée.

Dans l'étude de cohorte globale de la NCI [8], dont nous détaillons plus loin la méthodologie (questionnaires aux mères exposées et à une partie de leurs filles de plus de 18 ans après accord maternel), aucune mère exposée n'a non plus signalé d'anomalies de l'appareil génital de leurs filles, telles que malformations utérines ou anomalies du col.

Cependant, la population des filles des mères exposées est dans l'ensemble trop jeune pour qu'aient pu être détectées des malformations utérines uniquement retrouvées par l'imagerie médicale à l'occasion de l'exploration d'une infertilité ou de pathologies obstétricales. Des études ultérieures sont donc nécessaires pour confirmer dans l'avenir ces données rassurantes.

c. L'atrésie de l'œsophage : les travaux néerlandais

En 2007, Felix & coll. [17] ont rapporté une possible influence de l'exposition au DES dans des cas d'atrésie de l'œsophage (EA) ou de fistule trachéo-œsophagienne (TEF).

L'atrésie (ou rétrécissement) de l'œsophage, associée ou non à une fistule (communication pathologique) trachéo-œsophagienne, affecte approximativement 0,03 % des nouveaux-nés. Cette anomalie s'intègre dans 50 % des cas à un syndrome malformatif plus complexe. Les causes en sont encore mal connues, on retrouve des anomalies chromosomiques dans 10 % des cas, et quelques gènes sont connus pour être impliqués [18]. Des expositions environnementales pendant la grossesse, médicamenteuses, telles que des hormones de synthèse ou infectieuses, ont été considérées comme facteurs de risque.

La méthodologie de l'étude a permis de croiser 3 registres : le premier est celui de l'association qui regroupe les parents d'enfants ayant présenté EA ou TEF à la naissance, auxquels fut envoyé en 2001 un

questionnaire comportant, parmi 77 questions, une sur l'exposition maternelle au DES ; le second, celui de l'hôpital pédiatrique néerlandais de référence où sont opérés tous les enfants ; le troisième est le registre EUROCAT des anomalies congénitales du nord des Pays-Bas, dans lequel sont également reportées les données sur l'exposition maternelle au DES.

Entre 1981 et 2004, EUROCAT Northern Netherlands a enregistré 8 848 enfants présentant des anomalies congénitales, dont la mère était née entre 1947 et 1975, parmi lesquels 33 (0,37 %) étaient identifiés comme nés de mère exposée au DES.

Parmi les 117 cas d'enfants présentant l'une de ces pathologies néonatales, 4 (3,4 %) étaient nés de mère exposée (information recoupée et certifiée) : cette association est statistiquement significative.

Cette première et unique indubitable constatation d'une augmentation de fréquence d'atrésie de l'œsophage a conduit les auteurs à s'interroger sur les mécanismes par lesquels le DES pourrait être à l'origine de désordres génétiques ou épigénétiques, par effets mutagènes du DES sur les cellules germinales de la mère au moment de l'exposition [5, 15]. Ils se réfèrent aux modèles animaux déjà évoqués, dans lesquels des perturbateurs endocriniens pourraient induire pour la descendance des effets sur différents gènes impliqués dans la structuration de divers organes, autres que sexuels.

Ils appellent cependant à la prudence vis-à-vis de ces résultats issus d'enquêtes par questionnaires, génératrices de biais de sélection (le taux de réponse par le canal de l'association était de 58 %, avec possiblement un biais de recrutement des parents des cas les plus graves), et insistent sur la distinction à opérer entre association (DES-atrésie) et causalité.

Dans l'étude de Titus-Ernstoff sur la cohorte américaine du NCI [8], la fréquence de survenue de l'atrésie/TEF dans la descendance des femmes exposées est environ le double de celle attendue (5,9/10 000), mais cette différence n'est pas significative.

d. La surdité

Stoll & coll. [19] ont rapporté en 2003 des surdités congénitales chez des enfants de mère exposée au DES *in utero*, mais la série était petite, et les auteurs n'éliminaient pas un biais masquant une coïncidence.

e. La cohorte combinée mères-filles de l'US NCI (malformations)

Nous avons mentionné plus haut l'existence de la cohorte « DES Follow-up Study » initiée en 1992 par le NCI (Institut National du Cancer aux USA).

En 1994, un premier questionnaire a été envoyé à 6 551 femmes de la génération 2 (4 459 femmes exposées et 2 092 non exposées au DES *in utero*), avec un retour respectif de 88 % et 84 %.

Le second questionnaire de 1997 complétait l'investigation sur les malformations et anomalies présentées par leurs enfants, avec un taux de réponses de 95 % (2 517 femmes exposées, et 1 246 non exposées). Les femmes exposées avaient 2 640 garçons et 2 449 filles, les non exposées 1 389 garçons et 1 359 filles. L'ensemble des malformations et anomalies congénitales était exploré.

En 2001 fut constituée une cohorte de filles de plus de 18 ans de la génération 3 : 966 filles nées de 763 mères exposées, et 815 de mères non exposées. Environ la moitié des mères des deux groupes ont consenti à la prise de contact avec leurs filles, auxquelles fut envoyé un questionnaire, complété par 88 % d'entre elles (463 de mères exposées, 380 de mères témoins).

Les données de l'étude de Titus-Ernstoff & coll. publiée en 2010 [8] sont issues des deux sources : l'étude-questionnaire aux femmes de la génération 2 sur les anomalies présentées par leurs filles, et celles du sous-groupe constitué de ces mêmes filles adultes (> 18 ans), directement questionnées après accord maternel. Les données issues du questionnaire destiné aux mères retrouvent une distribution d'âge identique entre garçons et filles (12 % < 10 ans, 78 % 10-29 ans, 10 % > 30 ans).

Parmi les garçons, le taux de malformations est respectivement de 4,4 % (115/2 640) et 3,2 % chez ceux de mères exposées ou non, soit un Odds Ratio de 1,53. Les anomalies les plus souvent rapportées sont génito-urinaires (OR 1,68 pour hypospadias et cryptorchidie), squelettiques (OR 1,70) et cardiaques (OR 1,05). Cependant, ces résultats représentent une tendance et ne sont pas significatifs.

En ce qui concerne les filles, selon le témoignage des mères exposées ou non, le taux de malformations est respectivement de 3,5 % (86 sur 2 449) et 1,8 %. Les anomalies les plus souvent rapportées sont

squelettiques (OR 2,56), et surtout cardiaques (OR 4,56). Cependant, les auteurs mettent en avant le biais important que représente, dans l'interprétation de ce dernier résultat, la possible sous-déclaration des pathologies par les mères de la population témoin, ce qui invaliderait cette différence, ce d'autant qu'il n'y a aucune étude incriminant une quelconque exposition hormonale prénatale dans la genèse de malformations cardiaques. Aucune autre association n'a été relevée avec l'exposition au DES, notamment pour les anomalies de l'appareil génital.

Les anomalies rapportées par les filles dans leurs questionnaires sont proportionnellement en nombre plus élevé, ce que les auteurs expliquent essentiellement par le biais de sélection de filles présentant une pathologie, plus fréquemment encouragées par leurs mères à participer au suivi.

Au total, la conclusion prudente des auteurs est que leurs données pourraient suggérer une augmentation du taux de malformations chez les garçons et filles de mères exposées, mais sans démonstration de significativité, ou avec intervention de biais liés à la sous-déclaration dans la population témoin, expliquant l'augmentation de fréquence des malformations cardiaques. Ils observent que certains types d'anomalies attendues au regard des anomalies maternelles (telles que génitales), n'émergent pas, mais restent prudents, étant donné l'âge peu élevé de la troisième génération.

3. Les cancers

Le modèle murin, qui vise à reproduire les effets de l'exposition au DES, a suggéré, outre les effets tératogènes de la molécule, des effets oncogènes sur la descendance, par l'expression d'altérations de gènes (modifications épigénétiques) dues à la stimulation hormonale excessive contemporaine du développement prénatal.

La cohorte combinée mères-filles de l'US NCI a également été la base d'une étude menée en 2008 pour explorer la survenue de cancers dans la troisième génération [7]. Les déclarations des mères (exposées ou non) ont été exploitées en fonction des antécédents requis dans le questionnaire (vie reproductive, traitements hormonaux, antécédents de cancers dans la famille...). Le questionnaire destiné aux filles incluait

des questions sur leur fonction hormonale, leur vie reproductive, les résultats éventuels de biopsies mammaires, utérines, les diagnostics détaillés de cancers.

La comparaison entre les enfants des femmes exposées/non exposées a relevé, à partir des questionnaires maternels, un risque relatif de cancer de 1,5, soit pour chaque sexe : augmenté chez les garçons (4,2), mais non chez les filles (0,7). L'évaluation du risque de cancer chez les enfants de la population exposée, comparée par ailleurs à une population générale, n'a mis en évidence aucune augmentation.

Si l'on regarde dans le détail, il n'y a notamment aucune augmentation des cancers du testicule chez les garçons (à la différence de ce qui a été décrit dans la génération 2). Aucune fille n'a présenté d'adénocarcinome du col ou du vagin.

Seul le nombre de cancers de l'ovaire affectant 3 filles (documentés en croisant les questionnaires mères et filles), est plus élevé qu'attendu. Il s'agissait dans 1 cas d'une tumeur rapportée par la mère d'une fille trop jeune pour être incluse dans la cohorte « filles », et de deux tumeurs border-line (c'est-à-dire précancéreuses) rapportées par les filles elles-mêmes. Aucune des 3 mères n'avait suivi un traitement hormonal pour infertilité. Dans la littérature antérieure, 1 seul cas de cancer de l'ovaire avait jusque-là été rapporté par Blatt en 2003 [20].

Au total, malgré un pouvoir statistique limité en raison de la rareté de certains cancers, les données de cette seule étude sur les cancers de la troisième génération ne sont pas en faveur d'une augmentation globale de leur fréquence. La survenue d'un nombre de cancers de l'ovaire plus important qu'attendu incite à la vigilance, sans présumer de biais possibles, liés notamment au hasard.

EN CONCLUSION

- Les interrogations sur des effets à long terme sur leurs enfants représentent une inquiétude majeure chez les adultes exposés, ce d'autant que peu de réponses peuvent aujourd'hui leur être apportées avec certitude.

- Les conséquences les plus fréquentes de l'exposition maternelle au DES sur la troisième génération sont les complications des naissances prématurées.
- Le contexte d'infertilité présent dans 1 cas sur 2 chez les femmes exposées, et la probabilité accrue de recours à l'AMP, peuvent en eux-mêmes générer une légère augmentation des complications néonatales.
- En ce qui concerne une augmentation des malformations ou des cancers, des expérimentations chez la souris suggèrent la participation de modifications épigénétiques concernant la génération 2 (exposée) par altération de l'expression de gènes due à l'imprégnation hormonale excessive à des moments clés du développement embryonnaire, et leur transmission à la descendance (génération 3).
- Les données animales ne sont pas, pour la plupart, extrapolables à la population humaine, mais incitent à la vigilance.
- L'augmentation de la survenue d'hypospadias chez les fils de mères exposées est retrouvée dans plusieurs études-questionnaires de méthodologies diverses, et non dans une autre. Il n'existe pas de suivi de ces enfants permettant d'évaluer le degré de sévérité de ces anomalies.
- Aucune étude ne retrouve chez les filles d'anomalies de l'appareil génital comparables à celles présentées par leur mère. Étant donné leur jeune âge, ces données rassurantes devront être confirmées par des études plus à long terme sur leur fertilité et leurs grossesses futures.
- L'étude-questionnaire américaine issue du registre de l'Institut National du Cancer (NCI) suggère une augmentation du taux de malformations chez les garçons et filles de mères exposées, mais sans démonstration de significativité, ou avec intervention de biais, notamment concernant la tendance à l'augmentation de malformations cardiaques chez les filles.

- Il n'y a pas d'augmentation globale des cancers chez les enfants de mères exposées. Notamment, il n'y a aucune augmentation des cancers du testicule chez les garçons (à la différence de ce qui a été décrit dans la génération 2). Aucune fille n'a présenté d'adénocarcinome du col ou du vagin. Seul a été relevé un nombre de cancers de l'ovaire plus élevé qu'attendu, observation pouvant ou non être le fait du hasard, qui demande confirmation sur un plus long terme.
- Aucune donnée n'est publiée sur la descendance des hommes exposés *in utero*, pour la simple raison que la population qu'ils forment est partout ignorée ou incomplètement identifiée.

Bibliographie

- [1] Schieve LA, Rasmussen SA, Buck GM, Schendel DE, Reynolds MA, Wright VC. Are children born after assisted reproductive technology at increased risk for adverse health outcomes? *Obstet Gynecol* 2004 Jun;103(6):1154-63.
- [2] Helmerhorst FM, Perquin DA, Donker D, Keirse MJ. Perinatal outcome of singletons and twins after assisted conception: a systematic review of controlled studies. *BMJ*. 2004 Jan 31;328(7434):261. Epub 2004 Jan 23;222.
- [3] Morken NH, Källen K, Hagberg H, Jacobsson B. Preterm birth in Sweden 1973-2001: rate, subgroups, and effect of changing patterns in multiple births, maternal age, and smoking. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2005 Jun;84(6):558-65.
- [4] Newbold RR, Hanson RB, Jefferson WN, Bullock BC, Haseman J, McLachlan JA. Proliferative lesions and reproductive tract tumors in male descendants of mice exposed developmentally to diethylstilbestrol. *Carcinogenesis* 2000;21:1355-63.
- [5] Newbold RR, Padilla-Banks, Jefferson WN. Adverse effects of the model experimental estrogen diethylstilbestrol are transmitted to subsequent generations. *Endocrinol* 2006; 147:S11-17.
- [6] McLachlan JA, Burow M, Chiang TC. Gene imprinting in developmental toxicology: a possible interface between physiology and pathology. *Toxicol Ltrs* 2001;120:161-64.
- [7] Titus-Ernstoff L, Troisi R, Hatch EE, Hyer M, Wise LA, Palmer JR, Kaufman R, Adam E, Noller K, Herbst AL, Strohsnitter W, Cole BF, Hartge P, Hoover. Offspring of women exposed *in utero* to diethylstilbestrol (DES): a preliminary report of benign and malignant pathology in the third generation. *Epidemiology* 2008 Mar;19(2): 251-7.
- [8] Titus-Ernstoff L, Troisi R, Hatch EE, Palmer JR, Hyer M, Kaufman R, Adam E, Noller K, Hoover RN. Birth defects in the sons and daughters of women who were exposed *in utero* to diethylstilbestrol (DES). *Int J Androl* 2010 Apr;33(2):377-84. Epub 2009 Nov 30.
- [9] Klip H, Verloop J, van Gool JD, Koster ME, Burger CW, van Leeuwen FE. Hypospadias in sons of women exposed to diethylstilbestrol *in utero*: a cohort study. *Lancet* 2002;359(9312):1102-7.
- [10] Palmer JR, Wise LA, Robboy SJ, Titus-Ernstoff L, Noller KL, Herbst AL, Troisi R, Hoover RN. Hypospadias in sons of women exposed to diethylstilbestrol *in utero*. *Epidemiology* 2005; 16(4):583-6.
- [11] Pons JC, Papiernik E, Billon A, Hessabi M, Duyme M. Hypospadias in sons of women exposed to diethylstilbestrol *in utero*. *Prenat Diagn* 2005;25(5):418-9.
- [12] Brouwers MM, Feitz WF, Roelofs LA, Kiemeny LA, de Gier RP, Roelvelnd N. Hypospadias: a transgenerational effect of diethylstilbestrol? *Hum Reprod* 2006;21(3):666-9.
- [13] Bauman R. Incidence des hypospadias chez les garçons de la troisième génération nés de mères exposées au Distilbène* *in utero*, mémoire de DES en gynécologie-obstétrique, Direction Epelboin S, Paris, 2006.
- [14] Weidner IS, Moller H, Jensen TK, Skakkebaek NE. Risk factors for cryptorchidism and hypospadias. *J Urol* 1999;161(5):1606-9.
- [15] Walker BE Tumors of female offspring of mice exposed prenatally to diethylstilbestrol. *J Natl Cancer Inst* 1984;73:13-40.
- [16] Kaufman RH, Adam E. Findings in female offspring of women exposed *in utero* to diethylstilbestrol. *Obstet Gynecol* 2002;99(2): 197-200.
- [17] Felis JF, Steegers-Theunissen RPM, De Walde HEK, De Klein A, Torfs C, Tibboel D. Esophageal atresia and tracheoesophageal fistula in children of women exposed to diethylstilbestrol *in utero*. *AM J Obstet Gynecol* 2007;197:38.e1-38.e5.
- [18] Depaepe A, Dolk H, Lechat MF. The epidemiology of trachea-oesophageal fistula and oesophageal atresia in Europe. EUROCAT Working Group, *Arch Dis Child* 1993;68: 743-8.
- [19] Stoll C, Alembik Y, Dott B. Limb reduction defects in the first generation and deafness in the second generation of intrauterine exposed fetuses to diethylstilbestrol. *Ann Genet* 2003; 46:459-65.
- [20] Blatt J, Van Le L, Weiner T & coll. Ovarian carcinoma in an adolescent with transgenerational exposure to diethylstilbestrol. *J Ped Hem/Oncol* 2003;25:635-36.

L'exposition au Distilbène® : une expérimentation humaine involontaire, riche en enseignements

Pr Patrick FENICHEL

Endocrinologie et Médecine de la Reproduction
INSERM U895 - C.H.U. Nice

Le Distilbène®, nom commercial du diéthylstilbestrol (DES) régulièrement prescrit aux femmes entre 1950 et 1975 pour réduire le risque de fausses couches, a eu des conséquences dramatiques connues, mais paradoxalement a également permis l'émergence de concepts nouveaux à partir d'une véritable expérimentation humaine involontaire. Il est vraisemblable que nous n'ayons pas encore tiré toutes les leçons de la prescription malheureuse de cette hormone de synthèse, comme l'illustrent les trois publications récentes rapportant des faits inattendus sur le plan épidémiologique et physiopathologique. En effet, en 2006 Rovers *et al.* rapportent que les petits-fils des grands-mères qui ont été traités par le DES ont un risque plus élevé de présenter un hypospadias à la naissance, une anomalie de la différenciation sexuelle des organes génitaux externes masculins, suggérant la transmission trans-générationnelle de l'effet induit par l'exposition initiale.

En 2008, dans une étude prospective concernant une cohorte de femmes de plus de 40 ans qui ont été exposées dans le ventre de leur mère au DES, Palmer [15] rapporte un risque multiplié par 1,83 de développer un cancer du sein, illustrant ainsi la programmation à distance d'une pathologie adulte.

Enfin, en 2009 Volle *et al.* [16] démontrent la participation obligatoire d'un récepteur nucléaire orphelin NrOb-2 totalement différent des récepteurs des œstrogènes dans l'induction par le DES des anomalies masculines de la reproduction, suggérant que les mécanismes d'action du DES sont loin d'avoir été complètement élucidés.

Avant de développer ce que l'exposition au DES a apporté dans l'élaboration de ces nouveaux concepts physiopathologiques, il convient de commenter les enseignements devenus à présent classiques mais exemplaires de cette histoire, à savoir :

- 1- la nécessité d'obtenir des preuves objectives et solides, de l'efficacité d'une thérapeutique avant son utilisation ; il est clair que la conséquence avait été prise pour la cause, avec la chute des œstrogènes et de la progestérone chez la femme enceinte ayant démarré un processus de fausse couche ;
- 2- l'obligation de vérifier l'innocuité d'une thérapeutique, en particulier pendant les périodes à haut risque comme la grossesse ;
- 3- l'illustration qu'une molécule de synthèse qui avait été conçue en vue d'obtenir un estrogéno-mimétique puissant est susceptible, par une différence minime de sa structure chimique, d'exercer des effets imprévisibles et différents de la molécule native, ce qui est bien illustré par les modulateurs sélectifs des récepteurs des œstrogènes (SERM) tantôt agonistes, tantôt antagonistes.

Mais c'est vraisemblablement au-delà de ces données, aujourd'hui classiques, que l'exposition au DES représente dans l'histoire de la médecine, et probablement dans l'histoire des relations entre l'environnement et la santé, un modèle expérimental humain exceptionnel, à la base de nouveaux concepts susceptibles de bouleverser, dans les années à venir, les domaines de la physiopathologie, de la prévention et de la thérapeutique des maladies environnementales. Ces concepts (Tableau 1) qui concernent les perturbateurs endocriniens environnementaux vont être à présent développés sous l'angle de l'exposition au DES.

Tableau 1 - Les leçons du Distilbène : un modèle expérimental humain

<ul style="list-style-type: none"> • programmation fœtale ou périnatale des pathologies adultes • exposition aux perturbateurs endocriniens œstrogéno-mimétiques ou xéno-œstrogènes • la fenêtre d'exposition • implication des modifications épigénétiques dans l’empreinte environnementale • l’effet transgénérationnel

I - PROGRAMMATION FŒTALE OU PÉRINATALE À DISTANCE DES PATHOLOGIES ADULTES

Le tableau 2 représente les différentes anomalies qui ont été décrites à la fois dans l’espèce humaine et chez la souris après exposition prénatale au DES.

Tableau 2 - Effets de l'exposition prénatale au DES sur le développement chez la souris et dans l'espèce humaine. D'après Newbold, 2006 [13]

Anomalies	Descendance mâle	Descendance femelle
Fonctionnelles	Hypofertilité/stérilité Diminution de la numération spermatique	Hypofertilité/stérilité Fécondabilité diminuée
Structurales	Micropénis Hypospadias Cryptorchidie Restes müllériens	Anomalies anatomique - Trompe - Utérus - Col - Vagin - Kystes paraovariens d'origine mésonéphrotique
Cellulaires	Inflammation Kyste de l'épididyme Tumeurs : - testicules - prostate - vésicule séminale	Lésions : - Ovaires - Trompes - Vagin - Fibrome utérin - Adénome vaginal • Adénocarcinome vaginal • Tumeur ovarienne

On s’aperçoit que ces anomalies ont été décrites dans les deux sexes, qu’elles ont été reproduites expérimentalement chez la souris, et qu’elles sont de trois ordres :

- l'une concerne les anomalies du développement avec des malformations de l'appareil génital à la naissance, ce qui pourrait se rapprocher d'un effet tératogène touchant les perturbations de la régulation endocrinienne de la différenciation sexuelle ;
- les deux autres types d'anomalies sont des anomalies qui vont se révéler en fait plus tard, à l'âge adulte, et concernent la fertilité ou le développement de tumeurs bénignes ou malignes. C'est le cas pour la femme qui, exposée *in utero* au DES, va développer à l'âge adulte un adénocarcinome vaginal [9], ou après 40 ans un cancer du sein [15], alors que la mère qui a été traitée pendant sa grossesse par le DES ne développera pas ces deux cancers.

Ce concept de programmation fœtale d'une pathologie adulte a été énoncé pour la première fois par Barker dans les années 80, puis développé ensuite dans la relation qu'il a établie clairement entre l'hypotrophie fœtale et le risque de développement à l'âge adulte de diabète, d'obésité, et de maladies cardiovasculaires en insistant sur le fait que l'environnement fœtal, en particulier nutritionnel, pouvait entraîner des conséquences durables et s'exprimer à distance [2]. Cette théorie aujourd'hui est soutenue par de nombreuses études épidémiologiques humaines, par des modèles expérimentaux et c'est sur ces données associées à celles du DES que se développe l'hypothèse de l'induction de pathologies du développement, de la reproduction et de cancers hormono-dépendants par exposition fœtale à des substances chimiques environnementales à activité estrogénique (xéno-œstrogènes ou perturbateurs endocriniens œstrogéno-mimétiques).

II - LA FENÊTRE D'EXPOSITION

La période fœtale semble particulièrement propice à l'induction d'anomalies induites par l'exposition au DES. Ceci peut-être dû à l'importance des stéroïdes sexuels dans le contrôle du développement et de la différenciation de l'appareil génital. Il est possible également, dans la mesure où le DES se lie très peu aux protéines porteuses (SHBG faiblement sécrétée par le fœtus ou alphafoetoprotéine), que la forme libre soit prépondérante. Il existe également une immaturité enzymatique chez le fœtus touchant les enzymes de détoxification, les mécanismes de défense encore partiellement développés comme la barrière hémato-

testiculaire et les mécanismes de réparation de l'ADN. L'importance de la fenêtre d'exposition est par ailleurs bien illustrée par la différence de phénotype obtenue selon que la souris est exposée à une période fœtale ou néonatale. Ainsi chez la souris, une exposition néonatale entraîne à l'âge adulte un cancer de l'utérus [13] alors que ces lésions ne sont pas retrouvées chez les animaux exposés en prénatal. De la même façon chez le mâle, une exposition fœtale à des faibles doses de DES entraîne chez les animaux adultes une augmentation de la prostate et une augmentation du nombre de récepteurs aux androgènes [18].

III - LE DES COMME MODÈLE DE PERTURBATEURS ENDOCRINIENS

Les observations cliniques qui ont été faites chez des enfants de femmes traitées par DES pour prévenir le risque de fausses couches ont constitué, en fait, les premières observations d'anomalies liées à l'exposition *in utero* à un toxique environnemental œstrogéno-mimétique. Il a été ensuite démontré que le DES traversait bien le placenta et était capable d'induire directement des effets sur le développement fœtal.

Le fait de pouvoir reproduire ces anomalies chez le rongeur a permis de confirmer que ces effets impliquaient bien directement ou indirectement les récepteurs ER α car elles étaient diminuées chez les souris invalidées ou au contraire, augmentées chez les souris sur-exprimant ce récepteur. Les effets ont été également reproduits dans les mêmes conditions par d'autres œstrogéno-mimétiques, l'estradiol 17 β , l'éthinyl estradiol, ou des produits chimiques industriels comme le bisphénol A ou le nonylphénol, des pesticides organochlorés dont le prototype a été le DTT [13].

Néanmoins, les mécanismes d'action du DES restent encore imparfaitement compris et pourraient passer par d'autres récepteurs aux estrogènes comme ER-R (Estrogen Related Receptor) [8] et/ou impliquer d'autres récepteurs nucléaires, comme démontré dans notre laboratoire par Volle *et al.* [16] avec le récepteur nucléaire orphelin NROb-2.

L'implication de plusieurs récepteurs avec une affinité différente pour le DES pourrait expliquer le fait qu'il a pu être rapporté des effets totalement opposés selon la dose et l'exposition à l'estradiol et/ou au DES, comme par exemple une augmentation de la prostate pour de faibles doses avec augmentation de l'expression des récepteurs aux androgènes, et un effet totalement inverse à doses plus élevées avec un profil dose/réponse sous forme de U renversée [17]. Nous avons retrouvé le même profil pour l'effet du Bisphénol A sur la prolifération des cellules séminomateuses humaines corrélée à deux effets différents et opposés via deux récepteurs différents **ERb** et GPR30 [3].

Il semble par conséquent que l'exposition foétale aux différents xéno-œstrogènes joue un rôle important dans l'induction de pathologies multiples se développant à l'âge adulte, mais il est important de prendre en compte à la fois :

- la nature chimique de la molécule,
- et d'autre part son affinité pour les différents récepteurs des œstrogènes dont on sait aujourd'hui qu'ils peuvent être nucléaires, avec des récepteurs nucléaires qui sont eux-mêmes de plusieurs types ou membranaires.

Le meilleur exemple est le Bisphénol A dont il faut se souvenir qu'il a été synthétisé en même temps que le DES en 1936 par Dodds et Lawson [5] afin d'obtenir de puissants composés œstrogéniques. Si le Distilbène® a eu l'histoire que l'on sait, le Bisphénol A a rapidement été utilisé comme plastifiant, permettant la polymérisation des chaînes carbonées et se retrouve aujourd'hui présent dans de nombreux produits d'utilisation courante avec un risque de relargage, et donc d'exposition. Le Bisphénol A, le DES et l'estradiol semblent avoir des affinités respectives différentes pour les récepteurs classiques ER et les récepteurs non classiques.

IV - MÉCANISMES MOLÉCULAIRES : IMPLICATION DES MODIFICATIONS ÉPIGÉNÉTIQUES DANS LA PROGRAMMATION FŒTALE DES PATHOLOGIES ADULTES

C'est en reproduisant les effets délétères de l'exposition *in utero* au DES chez les rongeurs que les premiers arguments, en faveur de modifications épigénétiques à l'origine de la programmation foétale des

pathologies adultes, ont été mis en évidence. On ne peut exclure, bien sûr, l'effet mutagène des doses élevées de DES telles qu'elles ont été prescrites chez la femme enceinte, néanmoins de telles anomalies qui auraient pu être induites par les dérivés estrogéniques aux effets oxydants n'ont jamais été réellement mises en évidence. Des gènes régulant le développement et la différenciation structurale de l'appareil de reproduction comme les gènes HOX ont été par contre impliqués [11] sans que les mécanismes moléculaires à l'origine des différences de la modification d'expression de ces gènes soient élucidés.

C'est en 1997 que Li *et al.* [10] mettent en évidence pour la 1^{ère} fois des modifications épigénétiques d'un gène œstrogéno-dépendant, la lactoferrine, exprimée au niveau de l'utérus, ceci dans le modèle de la souris exposée au DES dans la période néonatale. Ce gène est surexprimé par déméthylation de son promoteur. Cette surexpression est dose-dépendante et associée avec une susceptibilité à développer à l'âge adulte un cancer de l'utérus. Cette expérience apparemment anodine constitue une des premières illustrations d'une modification épigénétique induite par l'environnement foetal et qui s'exprimera longtemps après, à l'âge adulte, par l'induction d'une tumeur maligne. Il est vraisemblable, comme montré chez le hamster [18], que ces modifications épigénétiques touchent également l'expression de gènes estrogénorégulés impliqués dans la prolifération et l'apoptose au niveau de l'utérus comme C-Jun, C-fos, C-Myc, Bax, Bcl-2 et Bcl-X.

V - EFFETS TRANSGÉNÉRATIONNELS

Ces modifications épigénétiques ont été également mises en évidence dans un modèle très intéressant développé par Anway *et al.* [1] chez le rat exposé *in utero* au méthoxychlore, un pesticide organochloré, estrogéno-mimétique ou à la vinclozoline, un fongicide antiandrogénique. Les descendants mâles développent une hypofertilité avec une diminution de production des spermatozoïdes et une augmentation de l'apoptose associée à une modification épigénétique de gènes exprimés par les cellules germinales. De façon étonnante, ces altérations sont retrouvées à la 3^e et à la 4^e génération, transmises par le mâle et non par la femelle par les cellules germinales, et sont associées à la transmission

et au maintien des modifications épigénétiques induites lors de l'exposition initiale.

Cette transmission transgénérationnelle a été également retrouvée avec le Distilbène® chez la souris après exposition néonatale dans le modèle du cancer de l'utérus [13] lors de la 3^e génération (petite-fille de la souris traitée par DES) ou pour des lésions malignes du rete testis chez le mâle [14]. L'illustration dans l'espèce humaine de ce phénomène a été récemment apportée, à savoir l'augmentation du risque pour les petits-fils des grands-mères traitées au DES de présenter à la naissance un hypospadias [4].

CONCLUSION

Si l'exposition au DES constitue un épisode douloureux et peu glorieux de l'histoire de la médecine par les conséquences qu'elle a entraînées sur une ou plusieurs générations, elle a aussi constitué de façon involontaire un modèle expérimental humain exceptionnel qui a contribué à l'émergence de nouveaux concepts essentiels dans la compréhension des causes environnementales des maladies, et plus précisément dans le rôle exercé par les perturbateurs endocriniens environnementaux dans la programmation à distance des pathologies adultes, comme par exemple le Bisphénol A, synthétisé en même temps que le DES et proche d'un point de vue chimique de cet estrogène de synthèse [3, 6, 7, 16].

Il est par conséquent souhaitable de continuer à poursuivre l'observation des cohortes des sujets dont l'un des parents a été exposé au DES, et de préciser pour les modèles animaux les mécanismes moléculaires d'action du DES.

Bibliographie

- [1] Anway MD, Cupp AS, Uzumcu M, Skinner MK. Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility. *Science* 2005;308:1466-9.
- [2] Barker DJ. The developmental origins of adult disease. *Eur J Epidemiol* 2003;18(8):733-6.
- [3] Bouskine A, Nebout M, Brücker-Davis F, Benahmed M, Fenichel P. Low doses of bisphenol A promote human seminoma cell proliferation by activating PKA and PKG via a membrane G-protein-coupled estrogen receptor. *Environ Health Perspect* 2009;117:1053-8.
- [4] Brouwers MM, Feitz WF, Roelofs LA, Kiemeny LA, de Gier RP, Roeleveld N. Hypospadias: a transgenerational effect of diethylstilbestrol? *Hum Reprod* 2006; 21:666-9.
- [5] Dodds EC, Lawson W. Synthetic estrogenic agents without the phenanthrene nucleus. *Nature* 1936;137:996.
- [6] Fenichel P. Perturbateurs endocriniens environnementaux et cancer du sein. Faut-il bannir le bisphénol A ? *Ref Gyn Obs* 2010:13.
- [7] Fenichel P. Cancer du sein et perturbateurs endocriniens. *Gyn Obst* 2009.
- [8] Greschik H, Flaig R, Renaud JP, Moras D. Structural basis for the deactivation of the estrogen-related receptor gamma by diethylstilbestrol or 4-hydroxytamoxifen and determinants of selectivity. *J Biol Chem* 2004; 279:33639-46.
- [9] Herbst AL. Clear cell adenocarcinoma and the current status of DES-exposed females. *Cancer* 1981;48:484-8.
- [10] Li S, Washburn KA, Moore R, Uno T, Teng C, Newbold RR, McLachlan JA, Negishi M. Developmental exposure to diethylstilbestrol elicits demethylation of estrogen-responsive lactoferrin gene in mouse uterus. *Cancer Res* 1997;57:4356-9.
- [11] Ma L, Benson GV, Lim H, Dey SK, Maas RL. Abdominal B (AbdB) Hoxa genes: regulation in adult uterus by estrogen and progesterone and repression in müllerian duct by the synthetic estrogen diethylstilbestrol (DES). *Dev Biol* 1998;197:141-54.
- [12] Nagel SC, vom Saal FS, Welshons WV. The effective free fraction of estradiol and xenoestrogens in human serum measured by whole cell uptake assays: physiology of delivery modifies estrogenic activity. *Proc Soc Exp Biol Med* 1998;217:300-9.
- [13] Newbold RR, Padilla-Banks E, Jefferson WN. Adverse effects of the model environmental estrogen diethylstilbestrol are transmitted to subsequent generations. *Endocrinology* 2006; 147:S11-7.
- [14] Newbold RR, Hanson RB, Jefferson WN, Bullock BC, Haseman J, McLachlan JA. Proliferative lesions and reproductive tract tumors in male descendants of mice exposed developmentally to diethylstilbestrol. *Carcinogenesis* 2000;21:1355-63.
- [15] Palmer JR, Wise LA, Hatch EE, Troisi R, Titus-Ernstoff L, Strohsnitter W, Kaufman R, Herbst AL, Noller KL, Hyer M, Hoover RN. Prenatal diethylstilbestrol exposure and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006;15:1509-14.
- [16] Volle DH, Decourteix M, Garo E, McNeilly J, Fenichel P, Auwerx J, McNeilly AS, Schoonjans K, Benahmed M. The orphan nuclear receptor small heterodimer partner mediates male infertility induced by diethylstilbestrol in mice. *J Clin Invest* 2009;119: 3752-64.
- [17] vom Saal FS, Timms BG, Montano MM, Palanza P, Thayer KA, Nagel SC, Dhar MD, Ganjam VK, Parmigiani S, Welshons WV. 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 4;94:2056-61.
- [18] Zheng X, Hendry WJ 3rd. Neonatal diethylstilbestrol treatment alters the estrogen-regulated expression of both cell proliferation and apoptosis-related proto-oncogenes (c-jun, c-fos, c-myc, bax, bcl-2, and bcl-x) in the hamster uterus. *Cell Growth Differ* 1997;8:425-34.

DES

(Distilbène®-Stilboestrol®)

Trois générations : réalités - perspectives

Le DES est la dénomination commune internationale d'un œstrogène de synthèse, le diéthylstilbestrol, découvert en 1938 par le médecin et chimiste anglais Charles Dodds. A l'époque, on estimait que les fausses couches précoces étaient dues à la chute des hormones. Le DES est alors considéré comme une « pilule miracle » permettant de les éviter. Le Dr Dodds n'ayant pas déposé de brevet, de nombreux laboratoires l'ont fabriqué dans le monde entier.

En France, il a été largement prescrit, sous les marques Distilbène® ou Stilboestrol-borne®. 200 000 femmes ont ainsi été traitées et sur les 160 000 naissances, 80 000 filles ont été exposées au produit *in utero*. En France, ces prescriptions iront de 1950 à 1977 avec un pic de 1967 à 1972.

Ce médicament était non seulement inefficace, il s'est avéré nocif, avec des conséquences multiples, qui restent d'actualité, dans la vie des personnes concernées.

Depuis 30 ans des recherches se poursuivent aux États-Unis, mais aussi aux Pays-Bas, en France sur les conséquences du DES, nous permettant d'actualiser nos connaissances.

Dès sa création en 1994, l'association Réseau D.E.S. France a eu comme objectif prioritaire l'information des personnes concernées par le DES.

En 1999, elle crée un Conseil Scientifique chargé d'actualiser les connaissances sur les conséquences du DES et de leur prise en charge.

Cet ouvrage collectif aborde tous les aspects du DES : conséquences et prises en charge, questions actuelles concernant la 3^e génération, mais également sa prise en compte par notre société et les leçons que l'on peut tirer de cette histoire.

Le Distilbène® (DES) est une histoire exemplaire qui concerne maintenant trois générations et intéresse toujours différentes spécialités : gynécologie, obstétrique, gynécologie médicale et chirurgicale, mais également andrologie, cancérologie...



www.des-france.org

20,00 €



9 782711 404124